

ICS 65.120

B 46

DB35

福建省地方标准

DB35/T 1141-2011

饲料中维吉尼霉素 M₁ 的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of virginiamycin M₁ in feeds- Liquid
chromatography-tandem mass spectrometry

2011-04-10 发布

2011-07-10 实施

福建省质量技术监督局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 和 GB/T 20001.4-2001 给出的规则编写。

本标准由福建省质量技术监督局提出并归口。

本标准起草单位：福建省产品质量检验研究院。

本标准主要起草人：陈永焯、黄永辉、欧阳立群、林钦、戴明、黄红霞、郑小严。

饲料中维吉尼霉素 M₁ 的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了液相色谱-串联质谱法测定饲料中维吉尼霉素 M₁ 含量的方法。
本标准适用于配合饲料、浓缩饲料和添加剂预混合饲料中维吉尼霉素 M₁ 含量的测定。
本方法中维吉尼霉素 M₁ 的检出限为 2 μg/kg, 定量限为 7 μg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件, 仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件, 其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试样中维吉尼霉素 M₁ 经乙腈-甲酸水溶液超声提取, 液相色谱-串联质谱仪测定, 外标法定量。

4 试剂与材料

除非另有说明, 所用试剂均为分析纯, 试验用水为 GB/T 6682-2008 规定的一级水。

- 4.1 甲醇: 色谱纯。
- 4.2 乙腈: 色谱纯。
- 4.3 甲酸: 优级纯。
- 4.4 0.2% 甲酸水溶液: 取 1 mL 甲酸 (4.3), 加水至 500 mL, 混匀。
- 4.5 0.3% 甲酸水溶液: 取 3 mL 甲酸 (4.3), 加水至 1 000 mL, 混匀。
- 4.6 提取溶液: 取 400 mL 乙腈 (4.2) 与 100 mL 甲酸水溶液 (4.4) 混匀。
- 4.7 标准物质: 维吉尼霉素 M₁ (CAS: 21411-53-0), 纯度 ≥ 95.0 %。
- 4.8 标准储备溶液: 准确称取 3.5 mg 维吉尼霉素 M₁, 用甲醇溶解配制成浓度为 0.33 mg/mL 标准储备溶液。-20 °C 保存, 有效期 6 个月。
- 4.9 标准中间溶液: 吸取适量维吉尼霉素 M₁ 标准储备溶液 (4.8), 用甲醇配成 13.3 μg/mL 和 2.7 μg/mL 两种浓度的标准中间溶液。-20 °C 保存, 有效期 1 个月。
- 4.10 基质标准工作溶液: 吸取适量维吉尼霉素 M₁ 标准中间溶液 (4.9), 用与试样基质相应的空白样品按 6.1 处理方法制备的空白样品提取液, 配成 0.3 ng/mL ~ 226.6 ng/mL 的基质标准工作溶液, 现配现用。

5 仪器

- 5.1 液相色谱-串联质谱仪: 配备电喷雾离子源 (ESI)。
- 5.2 超纯水纯化系统。
- 5.3 电子天平: 感量 0.000 1g。
- 5.4 冷冻离心机: 最大转速不低于 10 000 r/min。
- 5.5 聚丙烯离心管: 50 mL。
- 5.6 旋涡混匀器。
- 5.7 超声波清洗器: 频率为 40 kHz。
- 5.8 高速万能粉碎机。

5.9 尼龙膜过滤器：0.22 μm 。

6 分析步骤

6.1 试样预处理

称取适量试样（1 g~5 g，精确至 0.1 mg），置于 50 mL 离心管（5.5）中，加入 25 mL 提取溶液（4.6），涡旋后冰浴超声提取 40 min，于 4℃ 15 000 r/min 离心 5 min，将上清液转移至 50 mL 容量瓶中。再往残渣中加入 25 mL 提取溶液（4.6），同法重复提取一次，合并上清液，用提取溶液（4.6）定容至 50 mL，摇匀，过 0.22 μm 滤膜（5.9），供液相色谱-串联质谱仪测定。

6.2 测定

6.2.1 液相色谱条件

- 色谱柱：C18 柱，柱长 50 mm，柱内径 2.1 mm，柱填充物粒度 1.7 μm ，或相当者。
- 柱温：40 $^{\circ}\text{C}$ 。
- 进样量：2.0 μL 。
- 流速：0.5 mL/min。
- 流动相：35 % 的乙腈（4.2）和 65 % 的甲酸水溶液（4.5）。

6.2.2 参考质谱条件

- 离子源：电喷雾离子源（ESI）。
- 扫描方式：正离子扫描。
- 检测方式：多反应监测（MRM）。
- 毛细管电压：3500 V。
- 干燥气温度：325 $^{\circ}\text{C}$ 。
- 干燥气流速：5 L/min。
- 雾化气压力：45 psi。
- 鞘气温度：400 $^{\circ}\text{C}$ 。
- 鞘气流速：12 L/min。
- 其他质谱参数见表 1。

表 1 维吉尼霉素 M₁ 主要参考质谱参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	滞留时间 (ms)	裂解电压 (V)	碰撞能量 (eV)
维吉尼霉素 M ₁	526.3	508.2 ^a	200	125	7
		355.1	200	125	14
		337.1	200	125	18
^a 定量离子					

6.2.3 定性测定

被测组分选择 1 个母离子，2 个以上子离子，在相同实验条件下，试样中待测物质的保留时间与标准溶液中对应的组分保留时间偏差应在 2.5 % 之内。试样谱图中组分定性离子的相对丰度与浓度接近的基质标准工作溶液谱图中对应的定性离子的相对丰度进行比较，若偏差不超过表 2 规定的范围，则可判定为试样中存在对应的待测物。维吉尼霉素 M₁ 标准品的参考质谱图和色谱图参见附录 A。

表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	>50 %	>20 %	>10 %	≤10 %
最大允许偏差	±20 %	±25 %	±30 %	±50 %

6.2.4 定量测定

以外标法定量，在仪器最佳工作条件下，用基质标准工作溶液（4.10）分别进样，以基质标准工作溶液（4.10）浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线，用标准工作曲线对试样进行定量，基质标准工作溶液和试样溶液中维吉尼霉素 M₁ 的响应值应在仪器检测线性范围内。

6.3 平行试验

按照以上步骤，对同一试样进行平行试验测定。

7 结果计算

试样中维吉尼霉素 M₁ 含量 (X) 按式 (1) 计算：

$$X = c \times \frac{V}{m} \times \frac{1000}{1000} \times d \dots\dots\dots (1)$$

式 (1) 中：

X ——试样中维吉尼霉素 M₁ 浓度，单位为微克每千克 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)；

c ——从标准工作曲线上得到被测组分溶液的浓度，单位为纳克每毫升 (ng/mL)；

V ——试样溶液定容体积，单位为毫升 (mL)；

m ——试样称样量，单位为克 (g)。

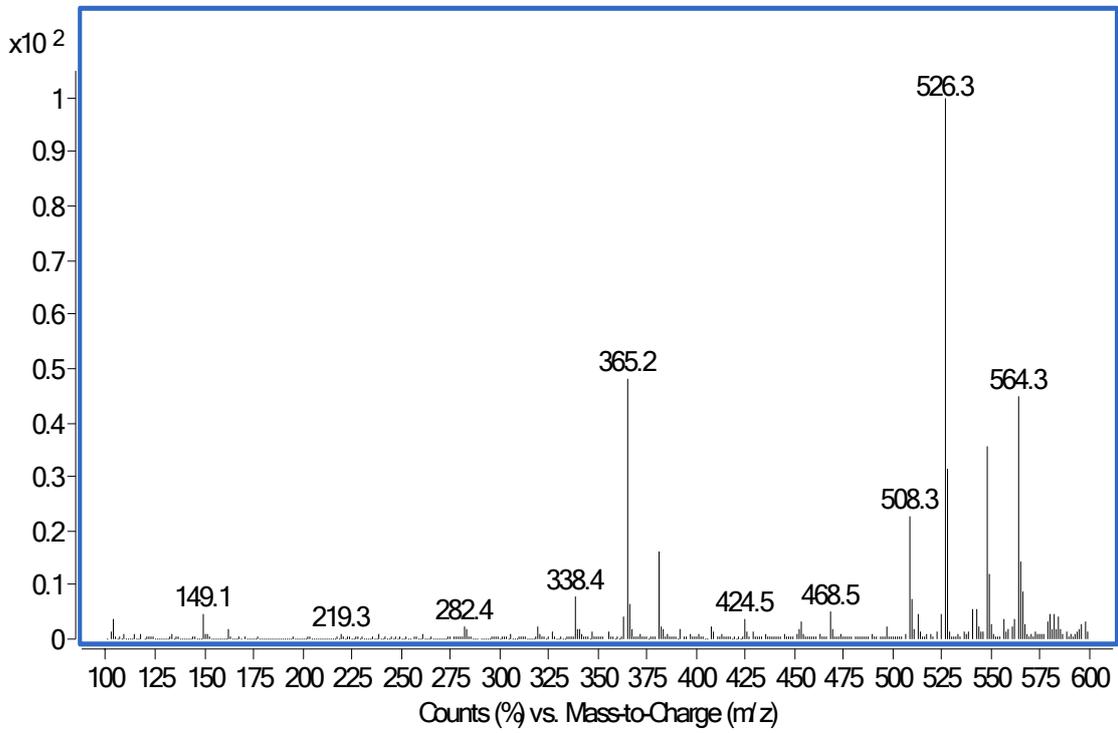
d ——稀释倍数；

结果保留两位有效数字。

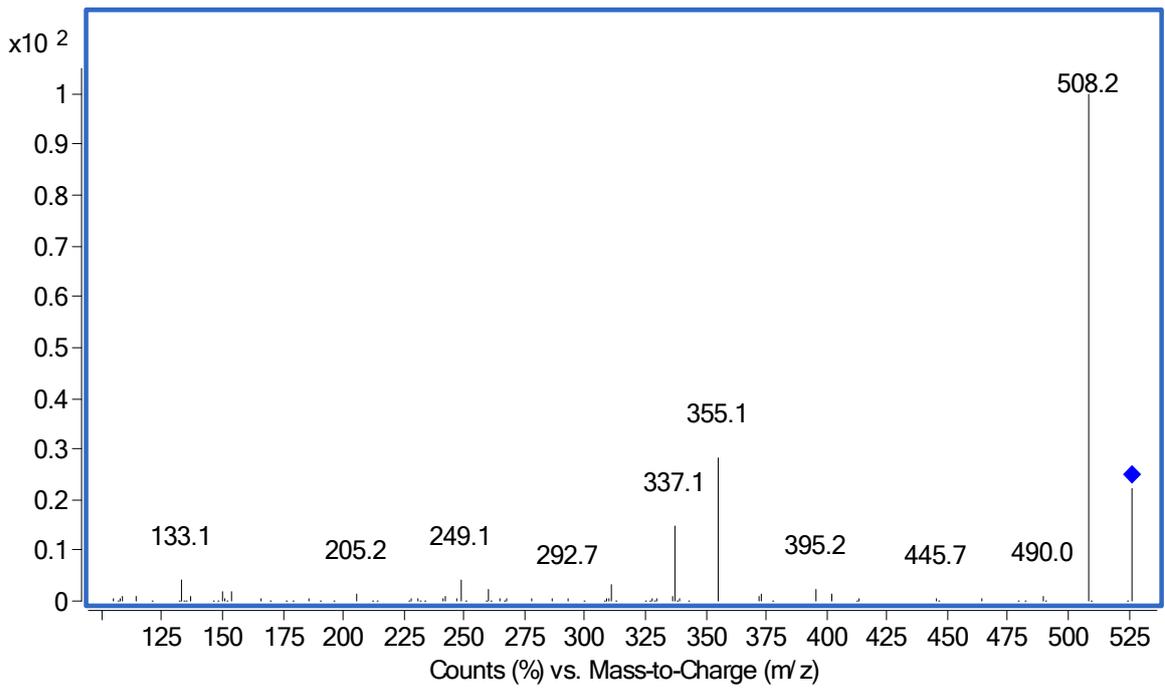
8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不得大于这两个测试值的算术平均值的 20%。方法的回收率和精密度的试验数据参见附录 B。

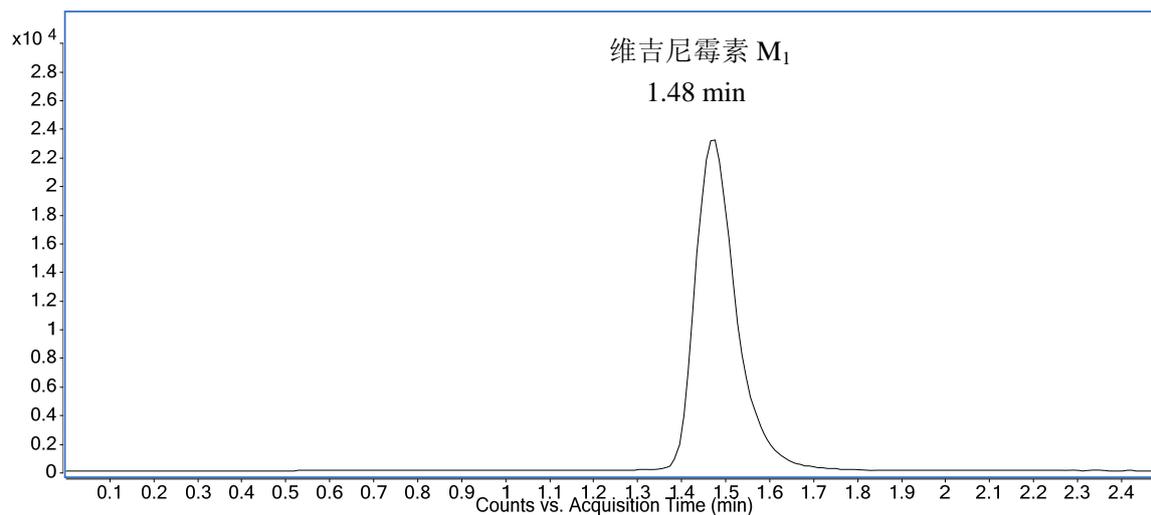
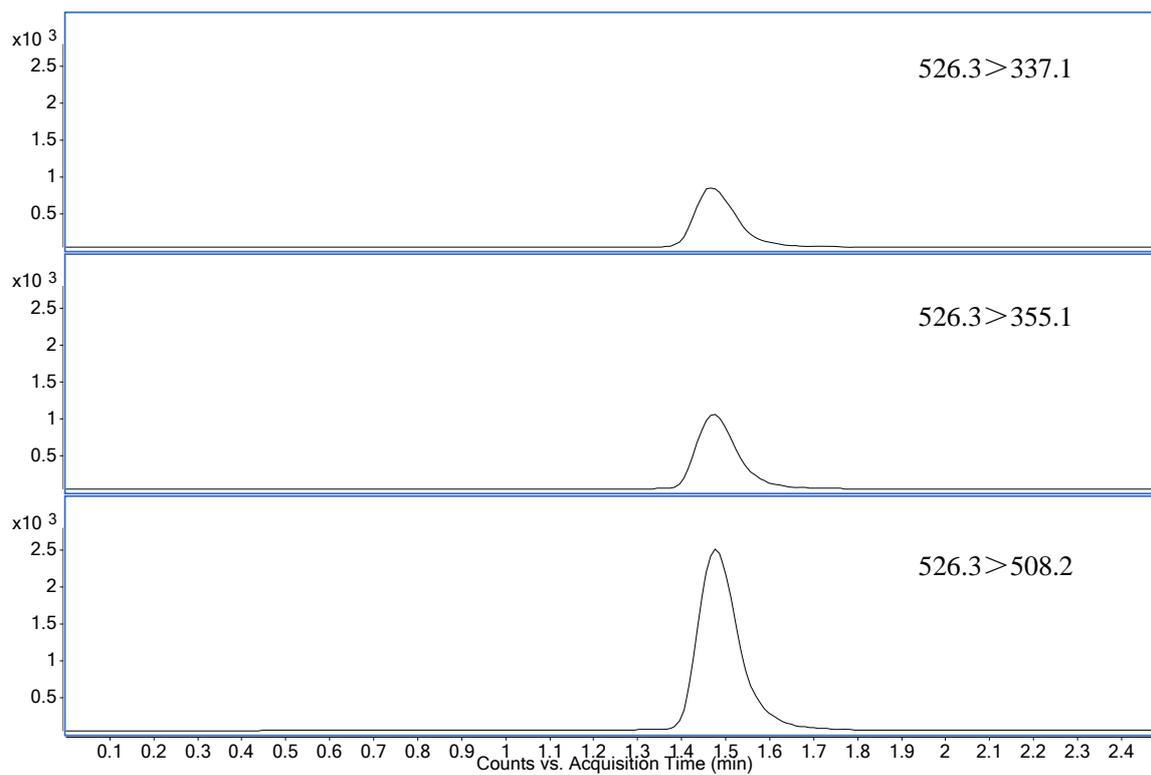
附录 A
(资料性附录)
维吉尼霉素M₁标准品质谱图和色谱图



图A.1 维吉尼霉素M₁标准品母离子扫描质谱图



图A.2 维吉尼霉素M₁标准品子离子扫描质谱图

图 A.3 维吉尼霉素 M₁ 标准品总离子流图图A.4 维吉尼霉素M₁标准品多反应监测 (MRM) 色谱图

附 录 B
 (资料性附录)
 维吉尼霉素M₁的回收率和精密度

表B.1 饲料中维吉尼霉素M₁的回收率和精密度 (n=6)

试样种类	加标水平/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均 回收率/ (%)	相对标 准偏差/ (%)
配合饲料	2.7	90.4	10.5
	13.3	82.9	6.3
	66.5	82.6	0.9
浓缩饲料	6.6	96.8	8.3
	33.2	102.7	4.3
	166.2	102.0	5.2
添加剂预混合饲料	13.3	83.0	6.2
	66.5	86.6	7.0
	332.5	87.8	3.1