

ICS 65.120
CCS B 46



中华人民共和国国家标准

GB/T 20189—2025

代替 GB/T 22147—2008, GB/T 20189—2006



饲料中 β -受体激动剂的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of β -receptor agonists in feeds—
Liquid chromatography-tandem mass spectrometry

2025-06-30 发布

2026-01-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替 GB/T 20189—2006《饲料中莱克多巴胺的测定 高效液相色谱法》和 GB/T 22147—2008《饲料中沙丁胺醇、莱克多巴胺和盐酸克伦特罗的测定 液相色谱质谱联用法》，与 GB/T 20189—2006 和 GB/T 22147—2008 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 更改了适用范围、检出限和定量限，增加了检测对象为 21 种 β -受体激动剂(见第 1 章,GB/T 20189—2006 和 GB/T 22147—2008 的第 1 章)；
- b) 更改了原理(见第 4 章,GB/T 20189—2006 和 GB/T 22147—2008 的第 3 章)；
- c) 更改了试剂或材料(见第 5 章,GB/T 20189—2006 和 GB/T 22147—2008 的第 4 章)；
- d) 更改了仪器设备(见第 6 章,GB/T 20189—2006 和 GB/T 22147—2008 的第 5 章)；
- e) 更改了样品制备方法，删除了采样(见第 7 章,GB/T 20189—2006 和 GB/T 22147—2008 的第 6 章)；
- f) 更改了试验步骤(见第 8 章,GB/T 20189—2006 的 7.1 和 GB/T 22147—2008 的 7.1.1)；
- g) 更改了精密度(见第 10 章,GB/T 20189—2006 和 GB/T 22147—2008 的第 9 章)。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)提出并归口。

本文件起草单位：四川省饲料工作总站、四川威尔检测技术股份有限公司、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、四川省农产品质量安全中心、四川大学。

本文件主要起草人：赵立军、张凤枰、樊霞、吴亚姗、邓苹玲、刘文彬、张静、索德成、岳琴、李云、陈红、丁小莽、李沁芮、王莹、卞正容、陈晓春。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2006 年发布为 GB/T 20189—2006,2008 年发布为 GB/T 22147—2008；

——本次为第一次修订。

饲料中 β -受体激动剂的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件描述了饲料中 21 种 β -受体激动剂的液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料和添加剂预混合饲料中班布特罗、苯氧丙酰胺、卡布特罗、克伦潘特、克伦普罗、克伦塞罗、克伦特罗、莱克多巴胺、利托君、氯丙那林、马布特罗、马喷特罗、羟甲基克伦特罗、齐帕特罗、沙丁胺醇、特布他林、妥布特罗、西布特罗、西马特罗、溴布特罗和溴代克伦特罗的测定。

本文件中沙丁胺醇、莱克多巴胺、克伦特罗的检出限为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；其余化合物的检出限为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中待测物用盐酸-甲醇溶液提取，经固相萃取柱或滤膜净化，液相色谱-串联质谱仪测定，基质匹配标准曲线校准，外标法定量。

5 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

5.1 水：GB/T 6682，一级。

5.2 甲醇：色谱纯。

5.3 乙腈：色谱纯。

5.4 甲酸：色谱纯。

5.5 盐酸溶液(0.1 mol/L)：移取 8.3 mL 盐酸，用水稀释、定容至 1 000 mL，混匀。

5.6 盐酸-甲醇溶液：移取 80 mL 盐酸溶液(5.5)，加入甲醇(5.2)20 mL，混匀。

5.7 5% 氨水甲醇溶液：移取 5 mL 氨水与 95 mL 甲醇(5.2)，混匀。

- 5.8 0.1% 甲酸溶液:移取 0.5 mL 甲酸(5.4),用水稀释、定容至 500 mL,混匀。
- 5.9 0.1% 甲酸乙腈溶液:移取 0.5 mL 甲酸(5.4),用乙腈(5.3)稀释、定容至 500 mL,混匀。
- 5.10 标准储备溶液(1 mg/mL,以化合物原型计):分别准确称取 21 种 β -受体激动剂(中英文名称、CAS 号、纯度等按附录 A 规定执行)标准品适量(精确至 0.01 mg),用甲醇(5.2)溶解、定容、混匀。于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下保存,有效期 12 个月。或购买有证标准溶液。
- 5.11 混合标准中间溶液(10 $\mu\text{g/mL}$):分别准确移取标准储备溶液(5.10)0.5 mL 于 50 mL 容量瓶中,用甲醇(5.2)稀释、定容、混匀。于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下保存,有效期 6 个月。
- 5.12 混合标准系列溶液:准确移取适量混合标准中间溶液(5.11),用 0.1% 甲酸溶液(5.8)稀释、定容、混匀,配制质量浓度分别为 1 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、25 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL 的混合标准系列溶液,临用现配。
- 5.13 固相萃取柱:混合型阳离子交换柱,60 mg/3 mL,或性能相当者。
- 5.14 微孔滤膜:0.22 μm ,有机系。

6 仪器设备

- 6.1 液相色谱-串联质谱仪:带电喷雾离子源。
- 6.2 分析天平:精度 0.01 g 和 0.000 01 g。
- 6.3 涡旋混合器。
- 6.4 超声波清洗器。
- 6.5 振荡混合器。
- 6.6 离心机:转速不低于 8 000 r/min。
- 6.7 固相萃取装置。
- 6.8 氮吹仪:温度可控制在 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

7 样品

按 GB/T 20195 制备试样,称取样品至少 200 g,粉碎后通过 0.425 mm 孔径的试验筛,充分混匀,装入密闭容器中保存,备用。选取类型相同,均匀一致、且在待测物保留时间处,仪器响应值小于方法定量限 30% 的饲料样品,作为空白试样。

8 试验步骤

8.1 提取

平行做两份试验。称取试样 2 g(精确至 0.01 g)于 50 mL 离心管中,准确加入 20 mL 盐酸-甲醇溶液(5.6),涡旋混匀,振荡提取 20 min,以 8 000 r/min 离心 5 min,上清液作为备用液。

8.2 净化

8.2.1 配合饲料、浓缩饲料和精料补充料

固相萃取柱依次用 3 mL 甲醇、3 mL 水活化。准确移取 5 mL 备用液(8.1)过柱,依次用 3 mL 水、3 mL 甲醇淋洗,抽干,用 5 mL 5% 氨水甲醇溶液(5.7)洗脱,收集洗脱液,于 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干,准确加入 1 mL 0.1% 甲酸溶液(5.8)溶解,涡旋混匀,过微孔滤膜(5.14),备用。

8.2.2 添加剂预混合饲料

取适量备用液(8.1),过两次微孔滤膜(5.14),备用。

8.3 基质匹配混合标准系列溶液制备

8.3.1 配合饲料、浓缩饲料、精料补充料

选取同类型空白基质试样,按 8.1 和 8.2.1 步骤处理至氮气吹干,准确加入 1 mL 混合标准系列溶液(5.12)复溶,配制成质量浓度分别为 1 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、25 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL 基质匹配混合标准系列溶液。

8.3.2 添加剂预混合饲料

选取同类型空白基质试样,按 8.1 和 8.2.2 步骤处理,准确移取适量上清液稀释混合标准中间溶液(5.11)至适宜浓度,再将其稀释成质量浓度分别为 1 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、25 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL 基质匹配混合标准系列溶液。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:C₁₈柱,柱长 100 mm,内径 2.1 mm,粒径 1.8 μm,或性能相当者;
- b) 柱温:35 °C;
- c) 流速:0.3 mL/min;
- d) 进样量:5 μL;
- e) 流动相:A:0.1% 甲酸溶液(5.8),B:0.1% 甲酸乙腈溶液(5.9),梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序



时间 min	A相 %	B相 %
0.00	95	5
0.50	95	5
3.00	85	15
6.00	70	30
7.00	10	90
9.00	10	90
9.10	95	5
12.00	95	5

8.4.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下:

- a) 电离模式:电喷雾电离,正离子模式(ESI⁺);

- b) 检测方式:多反应监测(MRM);
 c) 干燥气温度:230 °C;
 d) 干燥气流速:14 L/min;
 e) 雾化器压力:137.9 kPa(20 psi);
 f) 鞘气温度:400 °C;
 g) 鞘气流速:11 L/min;
 h) 毛细管电压:3 000 V;
 i) 喷嘴电压:1 500 V;
 j) 锥孔电压:380 V。

多反应监测(MRM)离子对及碰撞能量参考值见表 2。

表 2 多反应监测(MRM)离子对及碰撞能量参考值

序号	化合物名称	保留时间 min	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	碰撞能量 eV
1	班布特罗	6.518	368.2/294.2	368.2/294.2	18
			368.2/72.1		40
2	苯氧丙酰胺	6.500	302.1/283.6	302.1/283.6	12
			302.1/106.9		36
3	卡布特罗	2.235	267.8/133.8	267.8/194.2	24
			267.8/194.2		16
4	克伦潘特	6.556	291.1/202.7	291.1/202.7	16
			291.1/168.0		32
5	克伦普罗	5.017	263.0/245.2	263.0/245.2	6
			263.0/203.1		14
6	克伦塞罗	4.403	319.2/202.9	319.2/301.0	20
			319.2/301.0		12
7	克伦特罗	5.748	277.2/259.3	277.2/203.2	8
			277.2/203.2		20
8	莱克多巴胺	5.169	302.2/164.1	302.2/164.1	16
			302.2/107.2		40
9	利托君	4.052	288.2/270.2	288.2/270.2	12
			288.2/121.1		32
10	氯丙那林	5.032	214.0/154.3	214/154.3	16
			214.0/196.2		12
11	马布特罗	6.609	311.1/237.1	311.1/237.1	14
			311.1/217.2		28
12	马喷特罗	7.307	325.1/236.8	325.1/236.8	16
			325.1/216.9		28

表 2 多反应监测 (MRM) 离子对及碰撞能量参考值 (续)

序号	化合物名称	保留时间 min	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	碰撞能量 eV
13	羟甲基克伦特罗	6.555	293.1/132.1	293.1/205.0	32
			293.1/205.0		12
14	齐帕特罗	2.479	262.3/244.2	262.3/244.2	12
			262.3/185.2		28
15	沙丁胺醇	2.469	240.0/222.0	240.0/148.0	5
			240.0/148.0		15
16	特布他林	2.382	226.0/152.0	226.0/152.0	12
			226.0/125.0		24
17	妥布特罗	5.717	228.0/172.0	228.0/153.9	6
			228.0/153.9		14
18	西布特罗	3.533	234.2/160.1	234.2/160.1	10
			234.2/143.1		22
19	西马特罗	2.426	220.2/202.3	220.2/202.3	8
			220.2/160.1		16
20	溴布特罗	6.285	367.0/349.3	367.0/293.1	12
			367.0/293.1		16
21	溴代克伦特罗	6.032	322.6/304.7	322.6/248.6	12
			322.6/248.6		16

8.4.3 基质匹配混合标准系列溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下,分别取基质匹配混合标准系列溶液(8.3)和试样溶液(8.2)上机测定。基质匹配混合标准溶液的定量离子色谱图见附录 B。

8.4.4 定性

在相同试验条件下,试样溶液与基质匹配混合标准系列溶液中待测物的保留时间相对偏差应在 $\pm 2.5\%$ 之内。根据表 3 选择的定性离子对,比较试样谱图中待测物定性离子的相对离子丰度与质量浓度接近的基质匹配标准系列溶液中对应的定性离子的相对离子丰度,若偏差不超过表 3 的规定,则可判定为样品中存在对应的待测物。

表 3 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

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

8.4.5 定量

以基质匹配混合标准系列溶液中待测物的质量浓度为横坐标,定量离子的色谱峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,其相关系数应不低于 0.99。试样溶液中待测物的响应值应在标准曲线线性范围内,若超出线性范围,应重新测定。单点校准定量时,试样溶液中待测物的质量浓度与基质匹配混合标准溶液的质量浓度相差不超过 30%。

9 试验数据处理

试样中待测物的含量以质量分数 w_i 计,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$),多点校准按公式(1)计算,单点校准按公式(2)计算:

$$w_i = \frac{\rho_i \times V \times V_2}{V_1 \times m} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- ρ_i ——由基质匹配混合标准曲线查得试样溶液中待测物的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- V ——试样提取溶液的体积,单位为毫升(mL);
- V_2 ——最终定容体积,单位为毫升(mL);
- V_1 ——净化时移取试样提取溶液的体积,单位为毫升(mL);
- m ——试样质量,单位为克(g)。

$$w_i = \frac{A_i \times \rho_{is} \times V \times V_2}{A_{is} \times V_1 \times m} \dots\dots\dots(2)$$

式中:

- A_i ——试样溶液中待测物的色谱峰面积;
- ρ_{is} ——基质匹配混合标准溶液中待测物的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- V ——试样提取溶液的体积,单位为毫升(mL);
- V_2 ——最终定容体积,单位为毫升(mL);
- A_{is} ——基质匹配混合标准溶液中待测物的色谱峰面积;
- V_1 ——净化时移取试样提取溶液的体积,单位为毫升(mL);
- m ——试样质量,单位为克(g)。

测定结果以平行测定的算术平均值表示,保留 3 位有效数字。

10 精密度

在重复性条件下,两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的 20%。

附 录 A

(规范性)

21种 β -受体激动剂标准品中文名称、英文名称、CAS号和纯度21种 β -受体激动剂标准品中文名称、英文名称、CAS号和纯度见表A.1。表 A.1 21种 β -受体激动剂标准品中文名称、英文名称、CAS号和纯度

序号	中文名称	英文名称	CAS号	纯度
1	班布特罗	Bambuterol	81732-65-2	$\geq 99\%$
2	盐酸苯氧丙酚胺	Isoxsuprine hydrochloride	579-56-6	$\geq 99\%$
3	卡布特罗	Carbuterol	34866-47-2	$\geq 99\%$
4	盐酸克伦潘特	Clenpenterol hydrochloride	37158-47-7	$\geq 99\%$
5	克伦普罗	Clenproperol	38339-11-6	$\geq 98\%$
6	克伦塞罗	Clencyclohexerol	157877-79-7	$\geq 99\%$
7	克伦特罗	Clenbuterol	37148-27-9	$\geq 98\%$
8	莱克多巴胺	Ractopamine	97825-25-7	$\geq 98\%$
9	利托君	Ritodrine	26652-09-5	$\geq 99\%$
10	氯丙那林	Clorprenaline	3811-25-4	$\geq 99\%$
11	马布特罗	Mabuterol	56341-08-3	$\geq 99\%$
12	盐酸马喷特罗	Mapenterol hydrochloride	54238-51-6	$\geq 99\%$
13	羟甲基克伦特罗	Hydroxymethyl clenbuterol	38339-18-3	$\geq 98\%$
14	齐帕特罗	Zilpaterol	117827-79-9	$\geq 95\%$
15	沙丁胺醇	Salbutamol	18559-94-9	$\geq 99\%$
16	特布他林	Terbutaline	23031-25-6	$\geq 99\%$
17	妥布特罗	Tulobuterol	41570-61-0	$\geq 98\%$
18	西布特罗	Cimbuterol	54239-39-3	$\geq 99\%$
19	西马特罗	Cimaterol	54239-37-1	$\geq 98\%$
20	溴布特罗	Brombuterol	41937-02-4	$\geq 99\%$
21	盐酸溴代克伦特罗	Bromchlorbuterol hydrochloride	78982-84-0	$\geq 99\%$

附录 B

(资料性)

21种β-受体激动剂的基质匹配标准溶液定量离子色谱图

21种β-受体激动剂的基质匹配标准溶液定量离子色谱图见图 B.1。

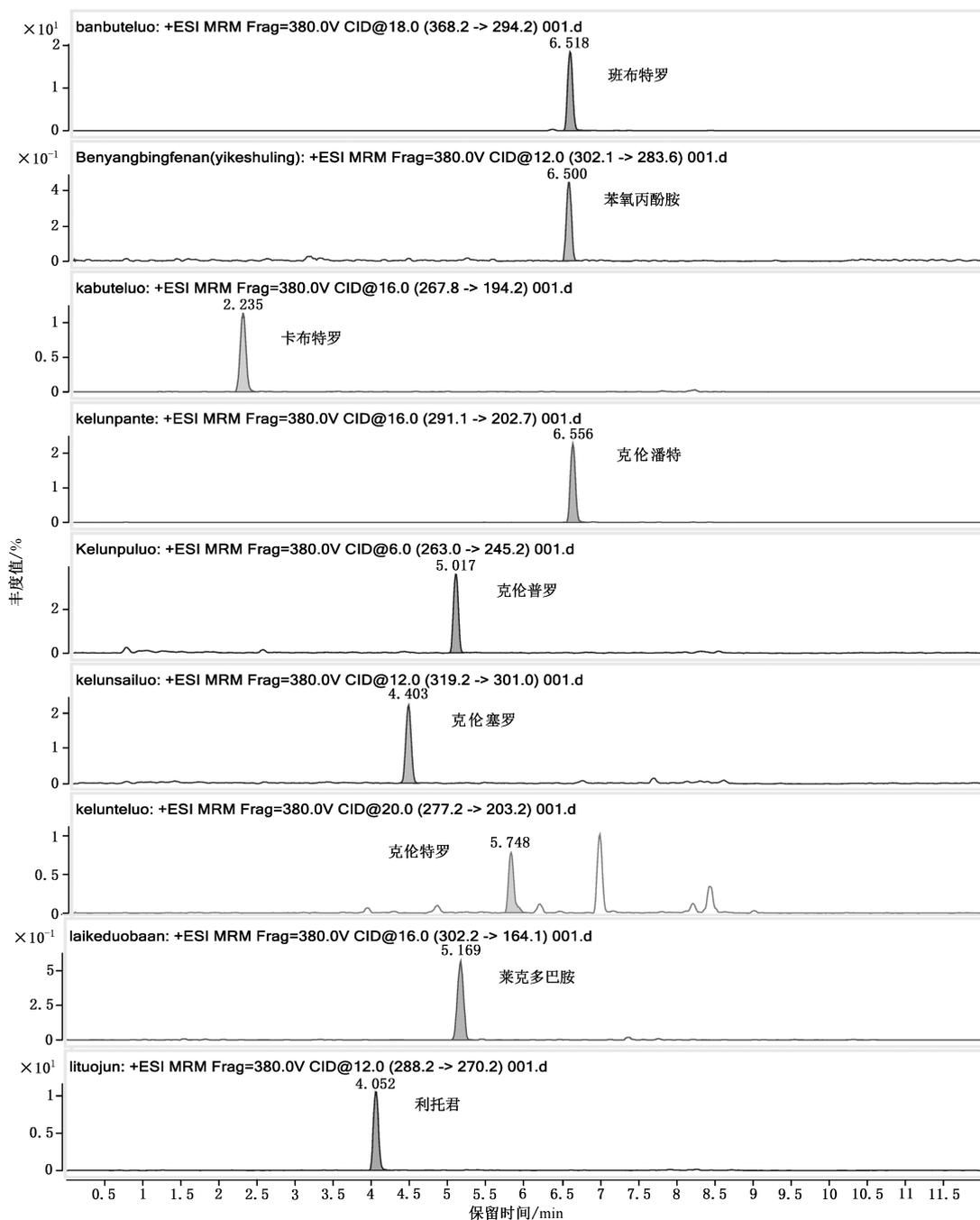


图 B.1 21种β-受体激动剂的猪配合饲料基质匹配标准溶液(10 ng/mL)定量离子色谱图

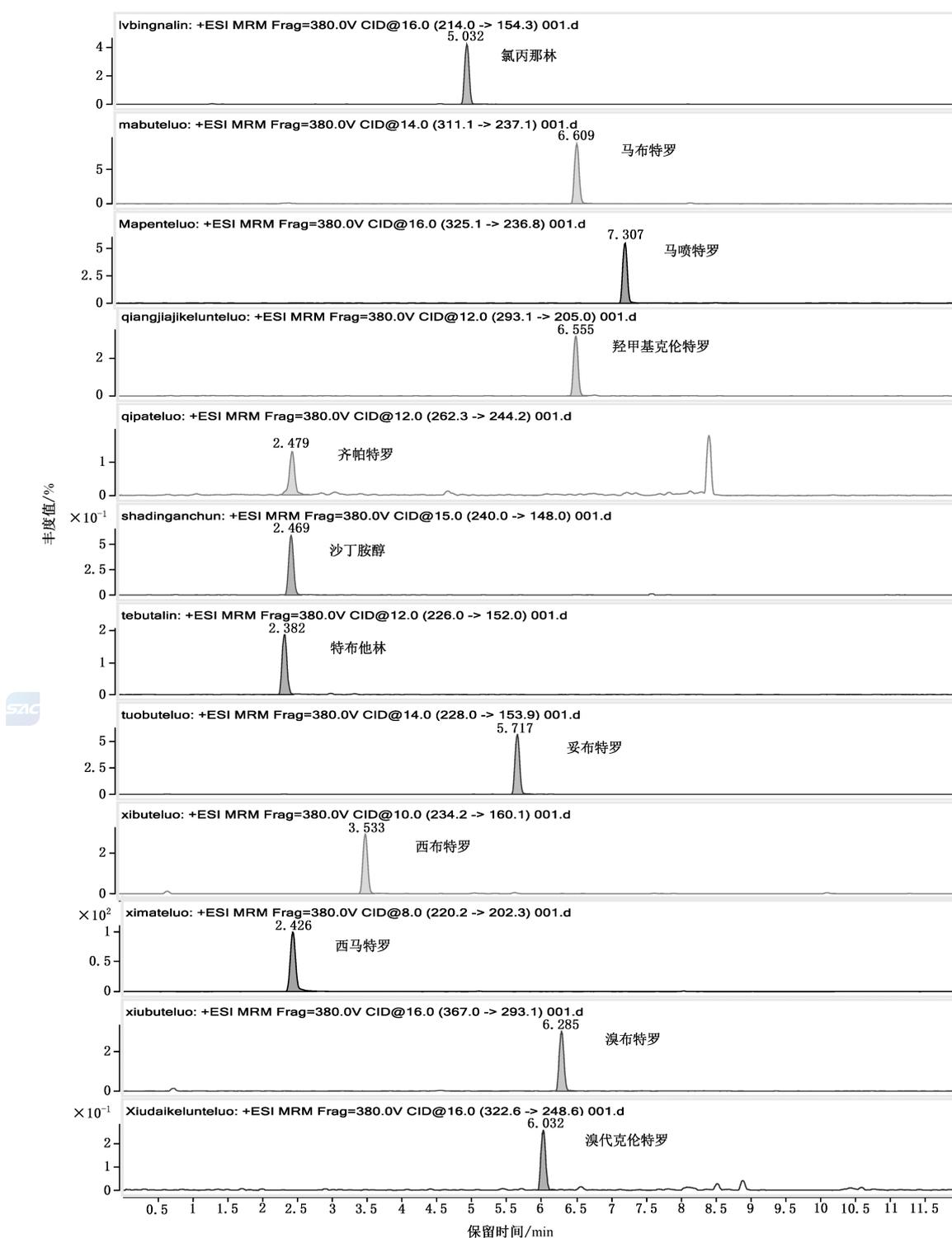


图 B.1 21 种 β -受体激动剂的猪配合饲料基质匹配标准溶液 (10 ng/mL) 定量离子色谱图 (续)