



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

饲料中泰拉霉素的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of tulathromycin in feeds—Liquid chromatography-tandem mass spectrometry

(公开征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 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。

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：浙江正明检测有限公司、宁波市农产品质量检测中心。

本文件主要起草人：

饲料中泰拉霉素的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件描述了饲料中泰拉霉素的液相色谱-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泰拉霉素（以泰拉霉素A计）的测定。

本文件方法的检出限为10 µg/kg，定量限为20 µg/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

试样中的泰拉霉素用甲酸甲醇溶液提取，经固相萃取柱净化后，用液相色谱-串联质谱仪测定，基质匹配标准溶液校准，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 甲酸：色谱纯。

5.3 甲醇：色谱纯。

5.4 乙腈：色谱纯。

5.5 甲酸甲醇溶液（0.25%，体积分数）：移取 2.5 mL 甲酸（5.2），用甲醇（5.3）稀释至 1 000 mL，混匀。

5.6 甲酸溶液（0.1%，体积分数）：移取 1 mL 甲酸（5.2），用水稀释至 1 000 mL，混匀。

5.7 甲醇甲酸溶液：移取 90 mL 0.1%甲酸溶液（5.6）和 10 mL 甲醇（5.3），混匀。

5.8 标准储备溶液（1 mg/mL）：称取泰拉霉素 A（CAS：217500-96-4，纯度不低于 97.0%）10 mg（精确至 0.01 mg）于 10 mL 容量瓶中，用甲醇（5.3）溶解并定容，混匀。-18 °C 以下保存，有效期 6 个月。

5.9 标准中间溶液（10 µg/mL）：准确移取 1 mL 标准储备溶液（5.8）于 100 mL 容量瓶中，用甲醇（5.3）稀释定容，混匀。-18 °C 以下保存，有效期 2 个月。

5.10 标准系列溶液：准确移取适量标准中间溶液（5.9）于容量瓶中，分别用甲醇甲酸溶液（5.7）稀释定容，混匀，配制成质量浓度分别为 0.5 ng/mL、1 ng/mL、2.5 ng/mL、10 ng/mL、25 ng/mL 和 50 ng/mL 的标准系列溶液。临用现配。

5.11 增强型脂肪去除固相萃取柱：EMR-lipid¹柱，300 mg/3 mL。

5.12 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：精度为 0.01 mg 和 0.01g。

6.3 离心机：转速不低于 9 000 r/min。

6.4 振荡器：转速不低于 300 r/min。

6.5 旋涡混合器。

6.6 固相萃取装置。

6.7 氮吹仪。

7 样品

按 GB/T 20195 制备样品，至少 200 g，粉碎使其全部通过 0.425 mm 孔径的试验筛，充分混匀，装入磨口瓶中，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，作为空白样品。

8 试验步骤

8.1 提取

平行做两份试验。称取试样 2.5 g（精确至 0.01g）于 50 mL 离心管中，准确加入 20 mL 甲酸甲醇溶液（5.5），300 r/min 振荡提取 15 min，9 000 r/min 离心 3 min，移取上清液于另一离心管中。重复提取一次，合并上清液，混匀，备用。

8.2 净化

准确移取 2 mL 备用液（8.1）过固相萃取柱（5.11），用 1 mL 甲醇（5.3）洗脱，收集洗脱液于 50 °C 氮气吹干，准确加入 2 mL 甲醇甲酸溶液（5.7）溶解残渣，涡旋混匀，微孔滤膜（5.12）过滤，待测。

¹) EMR-lipid 是由 Agilent 公司提供产品的商品名。给出这一信息是为了方便本文件的使用者，并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果，则可使用这些等效产品。

8.3 基质匹配标准系列溶液的制备

称取空白试样,按照8.1和8.2操作至“50 °C氮气吹干”后,分别准确移取2 mL标准系列溶液(5.10)溶解残渣,配制成质量浓度分别为0.5 ng/mL、1 ng/mL、2.5 ng/mL、10 ng/mL、25 ng/mL和50 ng/mL的基质匹配标准系列溶液。临用现配。

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50 mm,内径2.1 mm,粒度1.7 μm,或性能相当者;
- b) 柱温: 35 °C;
- c) 进样量: 5 μL;
- d) 流速: 0.3 mL/min;
- e) 流动相: A相为甲酸溶液(5.6); B相为甲醇(5.3),梯度洗脱程序见表1。

表1 梯度洗脱程序

时间 min	A相 %	B相 %
0.0	90	10
0.5	90	10
3.0	10	90
3.5	10	90
3.6	90	10
6.0	90	10

8.4.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下:

- a) 电离方式: 电喷雾电离,正离子模式(ESI⁺);
- b) 检测方式: 多反应监测(MRM);
- c) 毛细管电压: 3.0 kV;
- d) 离子源温度: 150 °C;
- e) 脱溶剂温度: 500 °C;
- f) 脱溶剂气: 氮气 1 000 L/Hr;

多反应监测(MRM)离子对、锥孔电压及碰撞能量见表2。

表2 待测物的多反应监测(MRM)离子对、锥孔电压及碰撞能量的参考值

待测物名称	监测离子对 <i>m/z</i>	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
泰拉霉素 A	806.8>158.2	2	38
	806.8>577.6 ^a	2	22
^a 为定量离子对。			

8.4.3 基质匹配标准系列溶液和试样溶液测定

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

8.4.4 定性

在相同试验条件下，试样溶液与基质匹配标准系列溶液中泰拉霉素A的保留时间一致，其相对偏差在±2.5%之内。根据表2选择的定性离子对，比较试样谱图中泰拉霉素A定性离子对的相对离子丰度与质量浓度接近的基质匹配标准溶液中对应的定性离子对的相对离子丰度，若偏差不超过表3规定的范围，则可判定为样品中存在泰拉霉素A。

表3 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

单位为百分号

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

以基质匹配标准溶液中泰拉霉素A质量浓度为横坐标，定量离子对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。试样溶液与基质匹配标准溶液中泰拉霉素A的响应值均应在仪器检测的线性范围内，如超出线性范围，应重新测定。单点校准定量时，试样溶液中泰拉霉素A质量浓度与基质匹配标准溶液质量浓度相差不超过30%。

9 试验数据处理

试样中泰拉霉素A的含量以质量分数 w 计，数值以微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）表示。多点校准按公式（1）计算；单点校准按公式（2）计算：

$$w = \frac{\rho \times V_1 \times V_3 \times 1000}{V_2 \times m \times 1000} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

- ρ ——由基质匹配标准曲线得到的试样液中泰拉霉素A的质量浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；
- V_1 ——提取后提取液定容体积，单位为毫升（ mL ）；
- V_2 ——用于过柱提取液体积，单位为毫升（ mL ）；
- V_3 ——试样的最终定容体积，单位为毫升（ mL ）；
- m ——试样质量，单位为克（ g ）；
- 1 000——换算系数。

$$w = \frac{A \times \rho_s \times V_1 \times V_3 \times 1000}{A_s \times V_2 \times m \times 1000} \dots \dots \dots (2)$$

式中：

- A ——试样溶液中泰拉霉素A的峰面积；
- A_s ——基质匹配标准溶液中泰拉霉素A的峰面积；

ρ_s ——基质匹配标准溶液中泰拉霉素A的质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V_1 ——提取后提取液定容体积，单位为毫升（mL）；

V_2 ——用于过柱提取液体积，单位为毫升（mL）；

V_3 ——试样的最终定容体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，单位为克（g）；

1 000 ——换算系数。

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

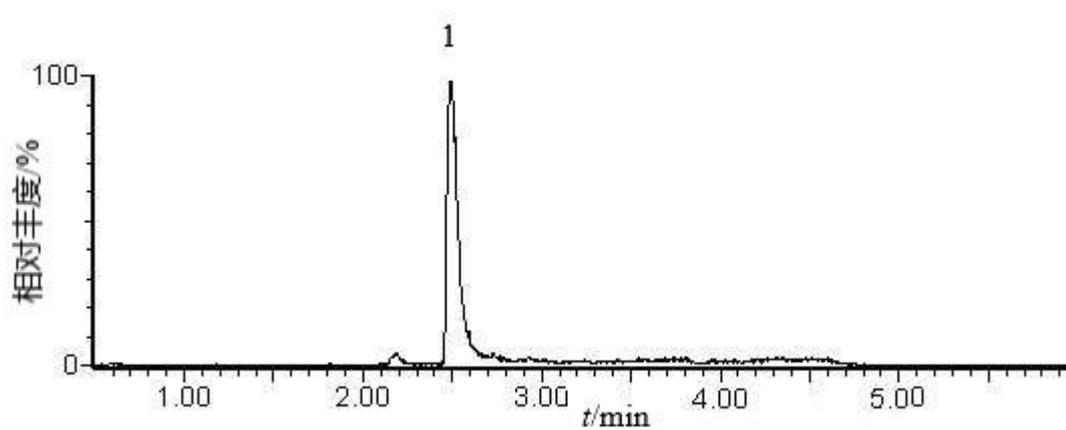
在重复性条件下，两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的 15%。

附录 A

(资料性)

基质匹配标准溶液定量离子对色谱图

基质匹配标准溶液定量离子对色谱图见图 A.1。



标引序号说明:

1—泰拉霉素A。

图A.1 基质匹配标准溶液 (1.0 ng/mL) 定量离子对色谱图