

ICS 65.120  
B 46



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 23873—2009

---

## 饲料中马杜霉素铵的测定

Determination of maduramicin ammonium in feeds

2009-05-26 发布

2009-10-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会

发布

## 前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)提出并归口。

本标准起草单位:农业部饲料质量监督检验测试中心(济南)。

本标准主要起草人:梁萌、汤文利、任爱丽、赵金毅、黄莹、李永山、刘学江。

饲料中己并雷丰烷的测定

4.2.12 马杜霉素铵贮备溶液(1 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ):准确称取 107.0 mg(精确到 0.1 mg)马杜霉素铵化学对照品(纯度 $\geq 93.7\%$ )于 100 mL 容量瓶中,用乙腈(4.2.3)溶解、定容,配制成浓度为 1 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的贮备溶液。置于 4  $^{\circ}\text{C}$ ~8  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中,有效期为 1 个月。

4.2.13 马杜霉素铵中间溶液 I (100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ):准确移取马杜霉素铵贮备溶液(4.2.12)5.00 mL 于 50 mL 容量瓶中,用乙腈定容。置于 4  $^{\circ}\text{C}$ ~8  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中,有效期为 1 周。

4.2.14 马杜霉素铵中间溶液 II (10.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ):准确移取马杜霉素铵中间溶液 I (4.2.13)5.00 mL 于 50 mL 容量瓶中,用乙腈定容。置于 4  $^{\circ}\text{C}$ ~8  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中,有效期为 1 周。

4.2.15 马杜霉素铵工作溶液:准确移取马杜霉素铵中间溶液 II (4.2.14)1.00 mL、5.00 mL 于 10 mL 容量瓶中,马杜霉素铵中间溶液 I 1.00 mL、5.00 mL 于 10 mL 容量瓶中,马杜霉素铵贮备溶液 1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL 于 10 mL 容量瓶中,用乙腈稀释、定容,配制成浓度分别为 1.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、10.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、300  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的工作溶液。现用现配。

### 4.3 仪器

4.3.1 实验室用样品粉碎机。

4.3.2 分析天平:感量 0.1 mg。

4.3.3 碘量瓶:150 mL。

4.3.4 超声波清洗器。

4.3.5 往复式振荡器。

4.3.6 带盖塑料离心管:100 mL。

4.3.7 离心机。

4.3.8 旋转蒸发器:配置 150 mL 鸡心瓶。

4.3.9 旋涡混合器。

4.3.10 高效液相色谱仪:具紫外检测器或二极管阵列检测器。

4.3.11 柱后衍生系统。

### 4.4 分析步骤

#### 4.4.1 提取

称取约 5 g 试样(精确到 0.1 mg)于碘量瓶(4.3.3)中,加入乙腈 50 mL,置于超声波清洗器(4.3.4)中超声 15 min,然后置于往复式振荡器(4.3.5)中快速振荡提取 20 min。转移到离心管(4.3.6)中,用适量乙腈清洗碘量瓶三次,清洗液合并到离心管中。置离心机(4.3.7)4 360g 离心 3 min;上清液转移到鸡心瓶(4.3.8)中,在旋转蒸发器上 60  $^{\circ}\text{C}$  浓缩定容至 5.00 mL,旋涡(4.3.9)混匀,分取适量提取液过有机滤膜上机测定。根据试样溶液中马杜霉素铵的浓度用乙腈进行稀释,使其上机浓度不高于 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

#### 4.4.2 测定

##### 4.4.2.1 液相色谱测定参数的设定

色谱柱: $\text{C}_{18}$ 柱,柱长 150 mm,内径 2.1 mm,粒度 5  $\mu\text{m}$  或类似的分析柱。

柱温:25  $^{\circ}\text{C}$ 。

检测波长:585 nm。

进样量:25  $\mu\text{L}$ 。

流动相:磷酸-磷酸二氢钾缓冲溶液(pH3.0)+四氢呋喃+甲醇=100+40+860(4.2.10)。

流速:0.4 mL/min。

##### 4.4.2.2 柱后衍生系统测定参数的设定

衍生化溶液:对-二甲氨基苯甲醛衍生化溶液(4.2.11)。

衍生化溶液流速:0.5 mL/min。

反应器容积:1.00 mL。

反应器温度:90℃。

#### 4.4.2.3 定量测定

在上述仪器条件下,分别注入马杜霉素铵工作溶液(4.2.15)和试料溶液(4.4.1)进行测定。用工作溶液做单点校准或多点校准,以色谱峰的峰面积进行定量计算。

#### 4.5 结果计算

饲料中马杜霉素铵的含量  $X$  以质量分数表示,单位为毫克每千克(mg/kg),按式(1)计算:

$$X = \frac{A \times V}{m} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

$A$ ——试料溶液中马杜霉素铵峰面积的响应值对应的浓度,单位为微克每毫升( $\mu\text{g/mL}$ );

$V$ ——试料溶液的体积,单位为毫升(mL);

$m$ ——试料的质量,单位为克(g)。

每个试样取两份试料进行平行测定,以两次平行测定结果的算术平均值为测定结果,保留三位有效数字。

#### 4.6 重复性

在重复性条件下完成的两个平行测定结果的相对偏差不大于10%。

### 5 LC-MS 法

#### 5.1 原理

用乙腈提取饲料中的马杜霉素铵,提取液蒸干后用乙腈溶解,用 LC-MS 测定。

#### 5.2 试剂和材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

5.2.1 水,GB/T 6682,一级。

5.2.2 乙腈:色谱纯。

5.2.3 流动相:乙腈(5.2.2)+水(5.2.1)=90+10。超声脱气 5 min。

5.2.4 其他同 4.2.12~4.2.15。

#### 5.3 仪器

5.3.1 液相色谱-质谱仪。

5.3.2 其他同 4.3.1~4.3.9。

#### 5.4 分析步骤

##### 5.4.1 提取

同 4.4.1,但需要根据试料溶液中马杜霉素铵的含量用乙腈进行稀释,使上机溶液浓度不高于 50  $\mu\text{g/mL}$ 。

##### 5.4.2 测定

##### 5.4.2.1 液相色谱测定参数的设定

色谱柱: $\text{C}_{18}$ 柱,柱长 150 mm,内径 2.1 mm,粒度 5  $\mu\text{m}$  或类似的分析柱。

进样量:5  $\mu\text{L}$ 。

流速:0.2 mL/min。

柱温:30℃。

流动相:乙腈+水=90+10(5.2.3)。

##### 5.4.2.2 质谱测定参数的设定

离子化模式:电喷雾离子源,负离子模式(ESI-)。雾化气压力: $2.76 \times 10^5$  Pa(40.0 psi)。干燥气流速:9.0 L/min。干燥气温度:350℃。毛细管出口电压:-3 500 V。碰撞气:氦气。离子电荷控制

(ICC):on。扫描范围:100  $m/z$ ~1 200  $m/z$ 。化合物稳定性:30%。质谱振幅:1.00 V。开始振幅:30%。结束振幅:100%。定性离子:母离子( $m/z$ ):915,子离子( $m/z$ ):613,871。

5.4.2.3 定性测定

在相同试验条件下,利用质谱定性离子定性。样品与标准溶液中马杜霉素铵的保留时间偏差应在±2.5%之内;样品与浓度相近的标准溶液中马杜霉素铵的质谱定性离子进行比较,子离子匹配度在700~1 000之间(或者子离子相对丰度的偏差在表1规定的范围内)则判定样品中存在马杜霉素铵。

表1 定性确证时子离子相对丰度的允许偏差

|           |     |        |        |     |
|-----------|-----|--------|--------|-----|
| 子离子相对丰度/% | >50 | >20~50 | >10~20 | ≤10 |
| 偏差/%      | ±20 | ±25    | ±30    | ±50 |

附录 A  
(资料性附录)  
马杜霉素铵谱图

A.1 马杜霉素铵色谱图(HPLC法)见图 A.1

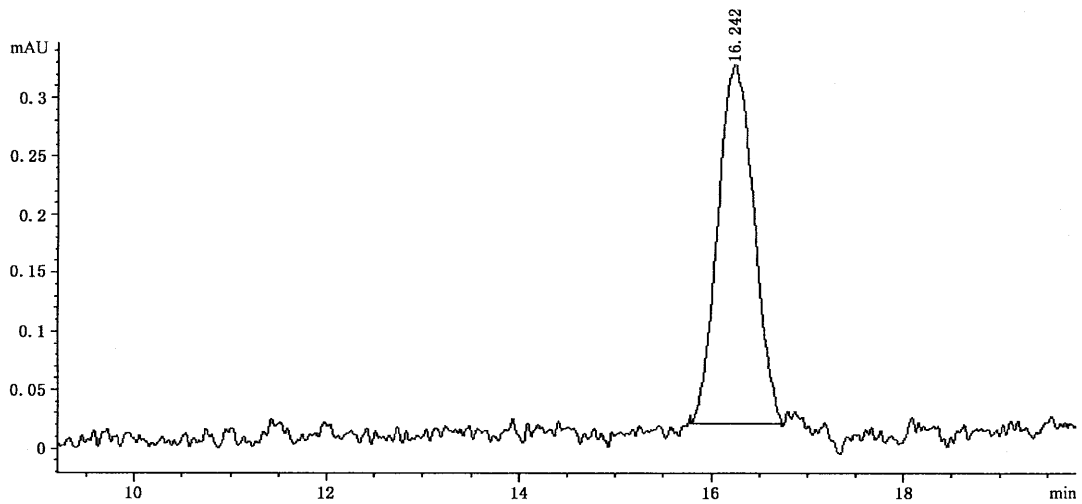


图 A.1 马杜霉素铵色谱图(1.00 μg/mL, HPLC 法)

A.2 马杜霉素铵质谱图见图 A.2

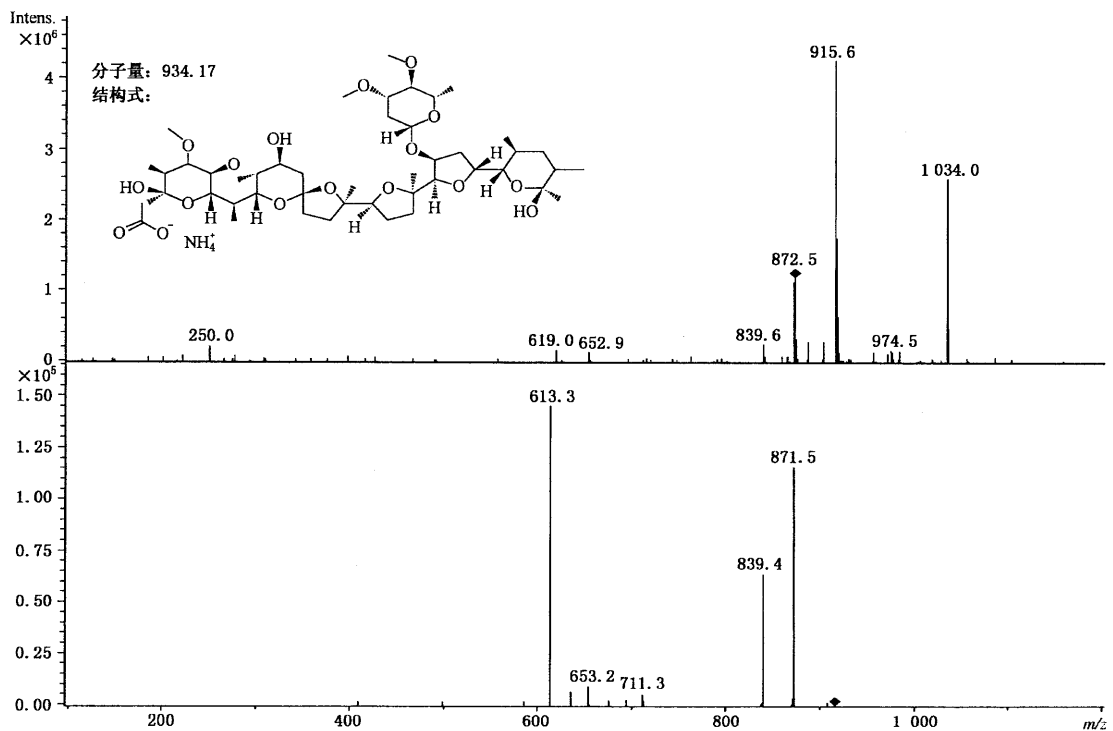


图 A.2 马杜霉素铵(Maduramicin Ammonium)质谱图





