

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T XXXX-201X

---

## 饲料中9种解热镇痛类药物的测定 液相色谱串联质谱法

**Determination of 9 kinds of antipyretic and analgesic drugs in feeds—**

**Liquid chromatography-tandem mass spectrometry**

(公开征求意见稿)

20××-××-××发布

20××-××-××实施

---

中华人民共和国农业农村部 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。

本文件由农业农村部畜牧兽医局提出。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）归口。

本文件起草单位：北京市兽药饲料监测中心、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、上海市动物疫病预防控制中心、天津市农业生态环境监测与农产品质量检测中心、上海爱博才思分析仪器有限公司、北京精益捷检测科技有限公司。

本文件主要起草人：

# 饲料中 9 种解热镇痛类药物的测定 液相色谱串联质谱法

## 1 范围

本文件描述了饲料中9种解热镇痛类药物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、添加剂预混合饲料、饲料原料和混合型饲料添加剂中安替比林、保泰松、对乙酰氨基酚、安乃近、萘普生、双氯芬酸、吲哚美辛、布洛芬和阿司匹林的测定。

本文件的检出限均为0.05 mg/kg，定量限均为0.1 mg/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

试样中待测物经甲醇乙腈溶液提取，经增强型脂肪去除固相萃取柱净化后，用液相色谱-串联质谱仪检测，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 乙腈：色谱纯。

5.3 甲醇：色谱纯。

5.4 乙酸铵：优级纯。

5.5 乙腈甲醇溶液：取乙腈 200 mL，加入甲醇 800 mL，混匀。

5.6 1 mmol/L 乙酸铵溶液：称取 0.077 g 乙酸铵（5.4），加水溶解并定容至 1000 mL，混匀。

5.7 标准储备溶液（1 mg/mL）：准确称取 9 种解热镇痛类药物标准品（相关信息见附录 A）各 10 mg（精确至 0.01 mg），分别置于 10 mL 容量瓶中，用甲醇（5.3）溶解并定容，混匀。-18℃以下保存，有效期 6 个月。或购买有证标准物质。

5.8 混合标准中间溶液（10 μg/mL）：分别准确移取 1 mL 标准储备溶液（5.7）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 3 个月。

5.9 标准系列溶液：分别准确移取适量混合标准中间溶液（5.8），分别置 100 mL 容量瓶中，用甲醇（5.3）稀释并定容，混匀，配制成质量浓度分别为 10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、500 ng/mL 的标准系列溶液。临用现配。

5.10 增强型脂肪去除固相萃取柱：100 mg/3 mL，或性能相当者。

5.11 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：配有电喷雾离子源。

6.2 分析天平：精度 0.001 g 和 0.01 mg。

6.3 涡旋混合器。

6.4 旋转式振荡器。

6.5 离心机：转速不低于 8000 r/min。

6.6 固相萃取装置。

## 7 样品

按 GB/T 20195 制备，至少 200 g，粉碎使其全部通过 0.425 mm 孔径的分析筛，充分混匀，装入密闭容器中，备用。液态和膏状样品，分布均匀的直接装入密闭容器；分布不均匀的匀浆后装入密闭容器。2~8 °C 保存备用，6h 内完成检测。

空白样品：选取与待测样品类型相同、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。

## 8 试验步骤

### 8.1 提取

平行做两份试验。称取试样 2 g（精确到 0.001 g）于 50 mL 离心管中，准确加入 10 mL（V）乙腈甲醇溶液（5.5），涡旋混合 30 s，振荡提取 5 min，8000 r/min 离心 5 min，上清液备用。

### 8.2 净化

准确移取 2.4 mL 上清液，准确加入 0.6 mL 水（5.1），涡旋 30 s，全部过柱（流速小于 1 mL/min），收集全部流出液，涡旋混匀，微孔滤膜（5.11）过滤，待测。

注：如待测物含有阿司匹林、安乃近，自“准确加入 0.6 mL 水（5.1）”开始，需 6h 内完成净化和测定。

### 8.3 基质匹配标准系列溶液的制备

取空白试样，按8.1和8.2处理得到空白基质溶液。准确移取适量混合标准中间溶液（5.8），用空白基质溶液配制成质量浓度分别为10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、500 ng/mL基质匹配标准系列溶液，微孔滤膜（5.11）过滤，备用。

### 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：十八烷基键合硅胶色谱柱，柱长100 mm，内径3.0 mm，粒度2.7  $\mu\text{m}$ ，或性能相当者；
- b) 柱温：35  $^{\circ}\text{C}$ ；
- c) 流速：0.4 mL/min；
- d) 进样量：2  $\mu\text{L}$ ；
- e) 流动相：A：1 mmol/L 乙酸铵溶液（5.6）；B：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 (%)	B (%)
0.0	95	5
10.0	0	100
13.0	0	100
13.1	95	5
15.0	95	5

#### 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<sup>+</sup>）/负离子模式（ESI<sup>-</sup>）；
- b) 检测方式：多反应监测（MRM）；
- c) 毛细管电压：正离子 + 4.0 kV；负离子 - 4.7 kV；
- d) 离子源温度：500  $^{\circ}\text{C}$ ；

多反应监测（MRM）离子对、去簇电压及碰撞能量的参考值见表2。

表2 多反应监测（MRM）离子对、去簇电压及碰撞能量的参考值

待测物名称	监测离子 ( $m/z$ )	去簇电压(V)	碰撞能量(V)
安替比林	189.1>104.0 <sup>a</sup>	90	29
	189.1>131.0	90	32
保泰松	309.1>160.1 <sup>a</sup>	120	23
	309.1>190.1	120	27

对乙酰氨基酚	152.1>110.0 <sup>a</sup>	65	38
	152.1>65.1	65	21
安乃近	230.1>104.0 <sup>a</sup>	70	20
	230.1>97.1	70	30
萘普生	231.0>185.0 <sup>a</sup>	70	55
	231.0>141.0	70	20
双氯芬酸	296.0>250.0 <sup>a</sup>	60	26
	296.0>215.0	60	18
吲哚美辛	358.1>139.0 <sup>a</sup>	90	70
	358.1>111.0	90	26
布洛芬	205.1>161.0 <sup>a</sup>	-45	-12
	205.1>205.1	-45	-10
阿司匹林	178.8>137.1 <sup>a</sup>	-5	-12
	178.8>93.1	-5	-30
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色谱图见附录B。

#### 8.4.4 定性测定

在相同试验条件下，试样溶液与质量浓度相近的基质匹配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2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浓度接近的基质匹配标准系列工作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规定的范围，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	$\leq 10$
最大允许偏差，（%）	$\pm 20$	$\pm 25$	$\pm 30$	$\pm 50$

#### 8.4.5 定量测定

以基质匹配标准系列溶液中待测物的质量浓度为横坐标，色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，其相关系数应不小于0.99。试样溶液中待测物的响应值应在基质匹配标准曲线的线性范围内，如超出线性范围，应重新测定。单点校准定量时，试样溶液中待测物的质量浓度与标准溶液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  $w$  计，数值以毫克每千克 (mg/kg) 表示。多点校准按式 (1) 计算；单点校准按式 (2) 计算：

$$w = \frac{C_i \times V \times 1.25}{m \times 1000} \times f \dots \dots \dots (1)$$

式中：

$C_i$ ——由基质匹配标准曲线得到的试样溶液中待测物的质量浓度，单位为纳克每毫升 (ng/mL)；

$V$ ——提取溶液的体积，单位为毫升 (mL)；

$f$ ——上机测定的试样溶液超出线性范围后，进一步稀释的稀释倍数；

$m$ ——试样质量，单位为克 (g)；

1.25——提取过程中过柱前的试样稀释倍数；

1000——单位换算系数。

$$w = \frac{A_i \times C_i \times V \times 1.25}{A_{si} \times m \times 1000} \times f \dots \dots \dots (2)$$

式中：

$A_i$ ——试样溶液中待测物的峰面积；

$C_i$ ——基质匹配标准溶液中待测物的质量浓度，单位为纳克每毫升 (ng/mL)；

$V$ ——提取溶液的体积，单位为毫升 (mL)；

$f$ ——上机测定的试样溶液超出线性范围后，进一步的稀释倍数；

$A_{si}$ ——基质匹配标准溶液中待测物的色谱峰面积；

$m$ ——试样质量，单位为克 (g)；

1.25——提取过程中过柱前的稀释倍数；

1000——单位换算系数。

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，两次独立测定的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

(资料性)

## 9种解热镇痛类药物标准物质的中英文通用名称、CAS号、和化学分子式

9种解热镇痛类药物标准物质的中英文通用名称、CAS号、和化学分子式见表 A.1。

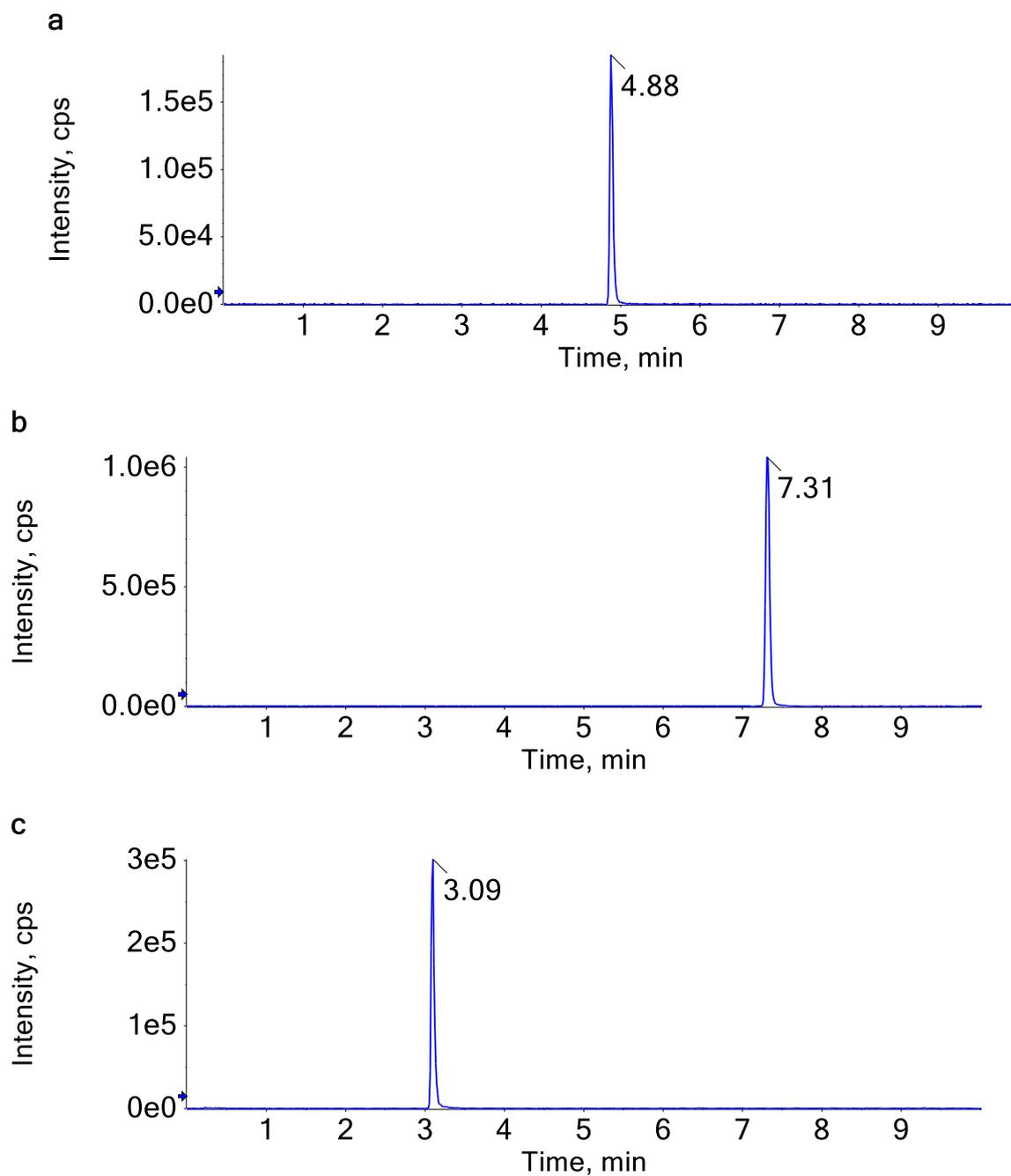
表 A.1 9种解热镇痛类药物标准物质的中英文通用名称、CAS号和化学分子式

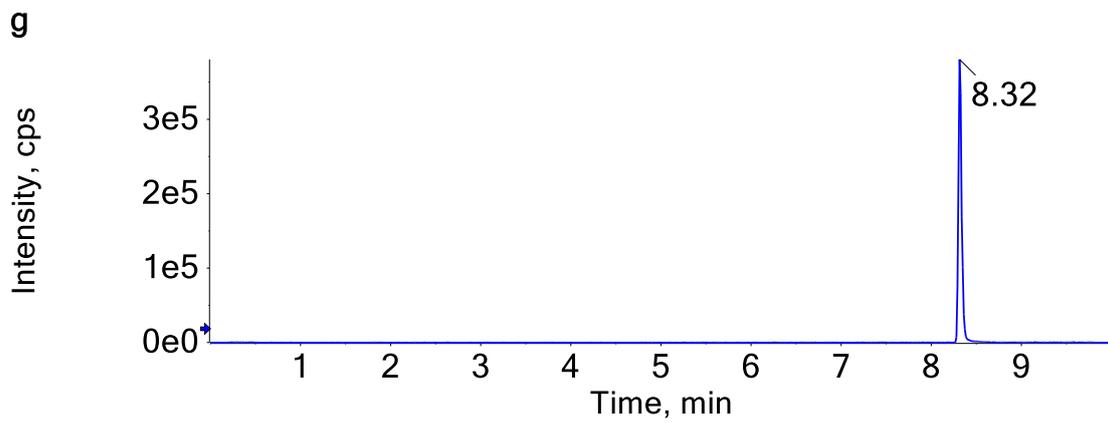
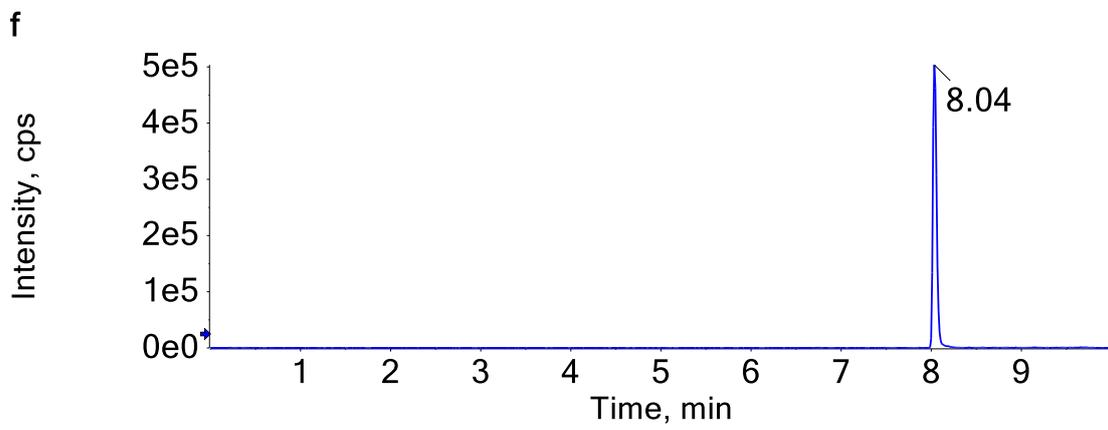
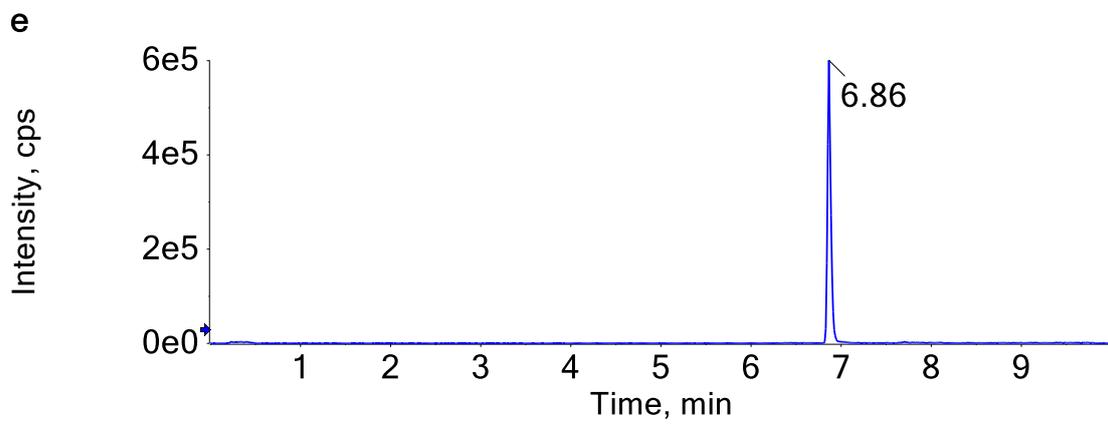
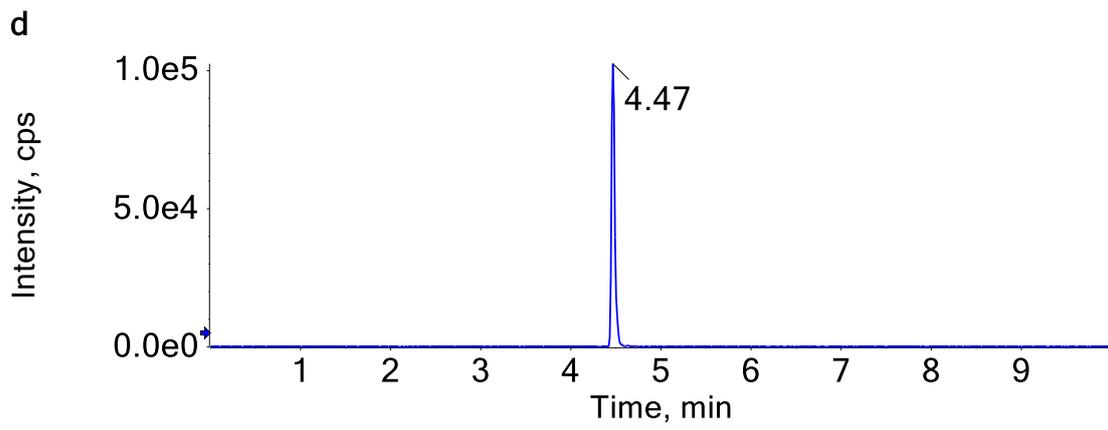
序号	中文通用名称	英文通用名称	CAS 号	化学分子式
1	阿司匹林	Aspirin	50-78-2	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>
2	对乙酰氨基酚	Paracetamol	103-90-2	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>
3	安乃近	Metamizole Sodium	68-89-3	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> NaO <sub>4</sub> S
4	吲哚美辛	Indomethacin	53-86-1	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> ClNO <sub>4</sub>
5	双氯芬酸	Diclofenac	15307-86-5	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>
6	布洛芬	Ibuprofen	15687-27-1	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>
7	安替比林	Antipyrine	60-80-0	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O
8	保泰松	Phenylbutazone	50-33-9	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
9	萘普生	Naproxen	22204-53-1	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>

附录 B  
(资料性)

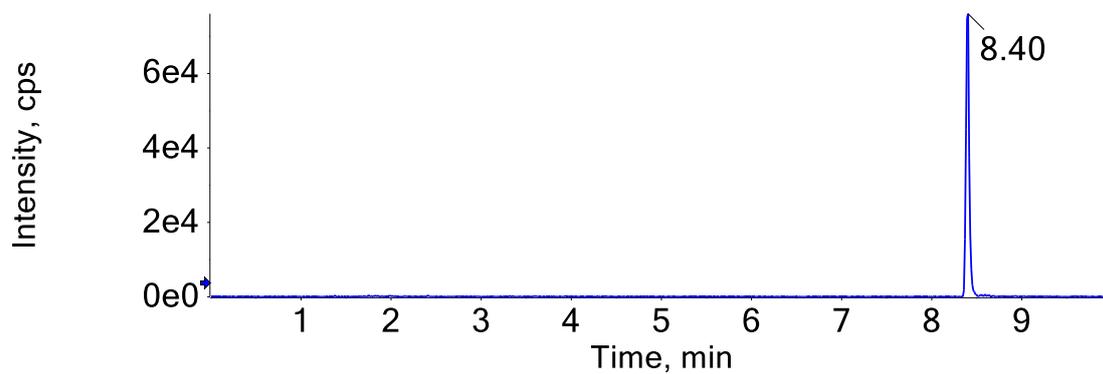
## 9种解热镇痛类药物基质匹配标准溶液定量离子色谱图

9种解热镇痛类药物基质匹配标准溶液定量离子色谱图见图 B.1。

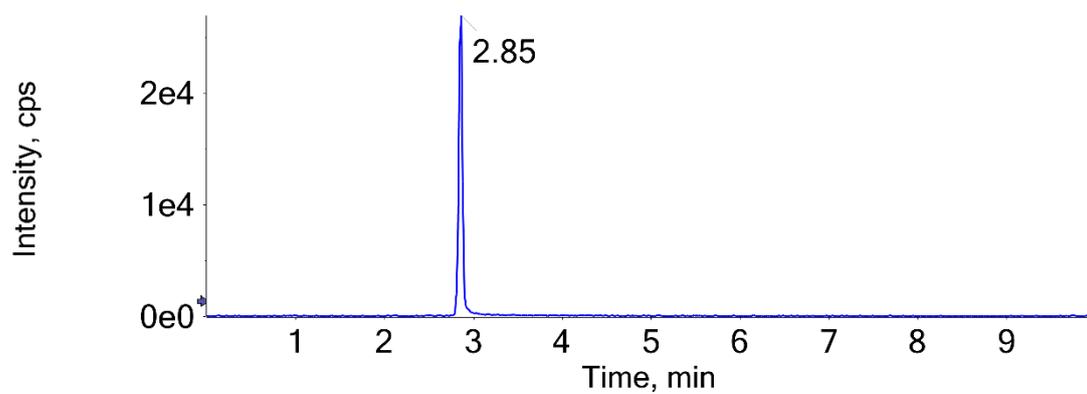




h



i



标引序号说明：

- a—安替比林
- b—保泰松
- c—对乙酰氨基酚
- d—安乃近
- e—萘普生
- f—双氯芬酸
- g—吲哚美辛
- h—布洛芬
- i—阿司匹林

图 B.1 9种解热镇痛类药物基质匹配标准溶液（100 ng/mL）定量离子色谱图