



中华人民共和国国家标准

GB/T 22262—2008

饲料中氯羟吡啶的测定 高效液相色谱法

Determination of clopidol in feeds—
High performance liquid chromatography

2008-08-01 发布

2008-11-01 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。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所〔国家饲料质量监督检验中心（北京）〕。

本标准主要起草人：索德成、李兰、魏书林。

饲料中氯羟吡啶的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了高效液相色谱仪测定饲料中氯羟吡啶的方法。

本标准适用于配合饲料、预混合饲料及浓缩饲料中氯羟吡啶的测定。方法最低定量限为 1 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—1992, neq ISO 3696:1987)

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 原理

试样中氯羟吡啶经甲醇提取，用氧化铝柱净化分离，浓缩后用甲醇溶解，注入高效液相色谱仪反相色谱系统中进行分离，用紫外检测器进行测定。

4 试剂和溶液

除非另有规定，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和符合 GB/T 6682 规定的一级用水。

4.1 乙腈：色谱纯。

4.2 甲醇。

4.3 流动氧化铝(中性，层析用)：粒度 150 μm ~75 μm ，在 800 $^{\circ}\text{C}$ 灼烧 3 h，并在 130 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘烤 1 h 后，放入干燥器中备用。

4.4 氯羟吡啶标准品：纯度均应大于 95%。

4.5 氯羟吡啶标准溶液

4.5.1 氯羟吡啶标准贮备液：分别准确称取已知纯度的氯羟吡啶标准品 10 mg(精确至 0.000 1 g)，置于 100 mL 棕色容量瓶中，加甲醇(4.2)超声使之完全溶解，并定容至刻度，摇匀。该溶液中氯羟吡啶浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ ，于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存可使用 6 个月。

4.5.2 氯羟吡啶标准工作液：准确移取氯羟吡啶 5 mL，置于 50 mL 棕色容量瓶中，用甲醇(4.2)定容至刻度，该溶液中氯羟吡啶浓度均为 10 $\mu\text{g/mL}$ ，于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存可使用 1 个月。

5 仪器和设备

除实验室常用仪器和设备外，还包括以下仪器和设备。

5.1 电子天平：精度为 0.000 1 g。

5.2 振荡器。

5.3 高效液相色谱仪：配二极管矩阵检测器或紫外检测器。

5.4 滤膜：孔径为 0.45 μm 。

5.5 离心机:5 000 r/min。

5.6 旋转蒸发器:50 ℃。

5.7 涡轮混合器:2 500 r/min。

5.8 氧化铝净化柱:长度 200 mm,内径 10 mm 玻璃柱。柱底部装有 G4 砂芯板,装入氧化铝约 10 cm 的高度,使用前用 20 mL 甲醇淋洗。

6 试样的选取和制备

6.1 按 GB/T 14699.1 采样。

6.2 选取有代表性饲料样品至少 500 g,按 GB/T 20195 制备样品。

7 分析步骤

7.1 试液的制备

7.1.1 提取

准确称取配合饲料 5 g~10 g 或浓缩饲料 1 g~5 g、复合预混合饲料 1 g~5 g(精确至 0.001 g),于 50 mL 离心管中,加入甲醇 25 mL,旋涡混合,于振荡器振荡 30 min,3 000 r/min 离心 5 min,取上清液备用。

7.1.2 净化

准确吸取上清液 10 mL,移入氧化铝净化柱中,用 10 mL 甲醇洗柱内壁。将过柱溶液及洗脱液全部接收于旋转蒸发瓶中,用 50 ℃水浴的旋转蒸发器将溶剂蒸干。用 1 mL 甲醇溶解残渣,过 0.45 μm 的滤膜,滤液进液相色谱仪检测。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱条件

色谱柱:具有 C₁₈ 填料的柱子(粒度为 5 μm),柱长 150 mm,内径 4.6 mm。

流动相:乙腈+水=10+90(体积比),以 1.0 mL/min 流速洗脱。

检测器:二极管矩阵检测器或紫外检测器,检测波长为 270 nm。

7.2.2 定量测定

按高效液相色谱仪说明书调整仪器操作参数。向液相色谱柱中注入待测定氯羟吡啶标准工作液(4.5.2)及试液(7.1),得到色谱峰面积响应值,用外标法定量。

7.2.3 结果计算

试样中氯羟吡啶的含量 X 以质量分数(mg/kg)表示,按式(1)计算:

$$X = \frac{P_i \times V \times c_i \times V_{st}}{P_{st} \times m \times V_i} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

P_i ——试样溶液峰面积值;

V ——样品的总稀释体积,单位为毫升(mL);

c_i ——标准溶液浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

V_{st} ——标准溶液进样体积,单位为微升(μL);

P_{st} ——标准溶液峰面积平均值;

m ——试样质量,单位为克(g);

V_i ——试样溶液进样体积,单位为微升(μL)。

平行测定结果用算术平均值表示,保留三位有效数字。

8 重复性

同一分析者对同一试样同时两次平行测定结果的相对偏差不大于 10%。

附 录 A
(资料性附录)
氯羟吡啶标准图谱

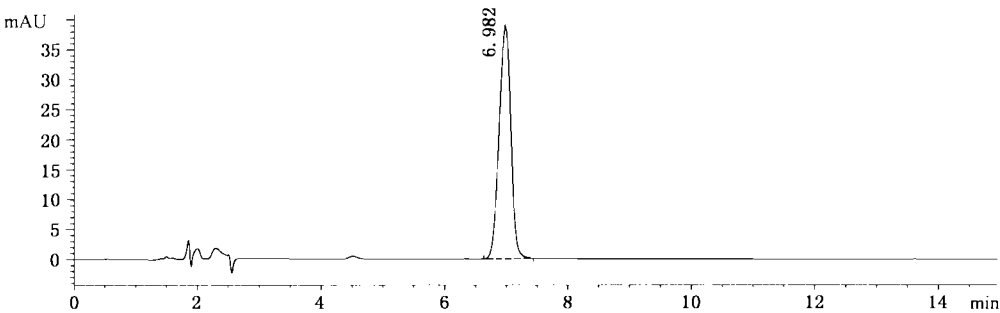


图 A.1 氯羟吡啶标准溶液色谱图