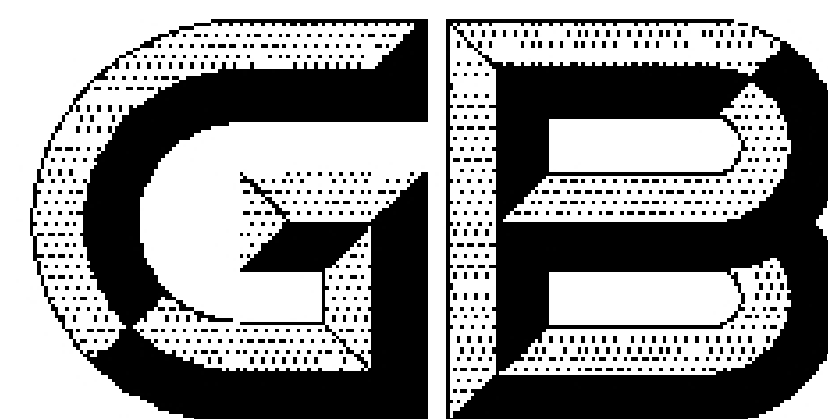




中华人民共和国国家标准

GB/T 19684—2005

饲料中金霉素的测定 高效液相色谱法

Determination of chlortetracycline in feeds—High performance liquid chromatography

2005-03-23 发布

2005-06-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准是在参阅了美国公职分析化学家协会(AOAC)方法及国内外大量文献的基础上,根据我国技术发展水平研究制定的。考虑微生物法和浊度分析法操作时间长,分析难度大,因此采用了高效液相色谱法(HPLC)。

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。

本标准负责起草单位:农业部饲料工业中心。

本标准参加起草单位:国家饲料工程技术研究中心、国家饲料质量监督检验中心(北京)。

本标准起草人:张丽英、李德发、杨文军、王燕华、常碧影、李兰。

饲料中金霉素的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了以高效液相色谱(HPLC)测定饲料中金霉素的方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料和预混合饲料中金霉素的测定,检测限为 1 ng,最低检出浓度为 4 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过在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 14699.1 饲料 采样

3 方法原理

使用盐酸-丙酮溶液提取饲料中的金霉素,调至 pH1.0~1.2,振荡,过滤,注入反相柱分离,紫外检测器检测,外标法定量分析。

4 试剂和材料

本标准所用试剂,除特别注明外,均为分析纯。水为蒸馏水,色谱用水为去离子水,符合GB/T 6682 用水的规定。

4.1 氢氧化钠溶液:400 g/L。

4.2 乙二酸(草酸)溶液:[$c(1/2H_2C_2O_4)=0.01\text{ mol/L}$]。

4.3 盐酸溶液:[$c(HCl)=4\text{ mol/L}$]。

4.4 提取液:丙酮+盐酸溶液(4.3)+水=13+1+6。

4.5 流动相:乙二酸溶液(4.2)+乙腈(色谱纯)+甲醇(色谱纯)=10+3+2。

4.6 金霉素标准液:

4.6.1 金霉素标准储备液 准确称取金霉素标准品 0.012 90 g(含量大于 96.9%,储存于硅胶干燥器中),精确至 0.1 mg,置于 50 mL 容量瓶中,用提取液(4.4)溶解并定容至刻度,摇匀,其浓度为 250 g/L,贮于 4℃~6℃冰箱中,有效期为一周。

4.6.2 金霉素标准工作液 准确移取 4 mL 金霉素标准储备液(4.6.1)于 10 mL 容量瓶中,用超纯水稀释至刻度,摇匀,其浓度为 100 g/L,现用现配。

5 仪器、设备

5.1 离心机:3 000 r/min。

5.2 pH 计:精度 0.01 mV。

5.3 恒温振荡器:300 r/min。

5.4 微孔滤膜(孔径 0.45 μm)。

5.5 分析天平:感量 0.1 mg。

5.6 分析天平:感量 0.01 mg。

5.7 高效液相色谱仪。

6 试样的选取和制备

按 GB/T 14699.1 选取有代表性样品 200 g~500 g,用四分法缩至 100 g,粉碎通过 0.45 mm 孔径筛,充分混匀,贮于磨口瓶中备用。

7 分析步骤

7.1 称取试样 1 g~10 g(金霉素含量大于等于 40 mg/kg),准确至 0.1 mg,置于具塞锥形瓶中,加入 100 mL 提取液(4.4),手摇 2 min,再用盐酸溶液(4.3)调 pH 至 1.0~1.2(记录盐酸溶液的消耗量,作为稀释倍数),盖紧塞子,置恒温振荡器(5.3)中(振荡速度 110 r/min)振荡 30 min。

7.2 将提取液(7.1)倒入离心管,3 000 r/min 离心 15 min。

7.3 取离心上清液用滤膜(5.4)过滤,滤液作为试样溶液。

7.4 HPLC 测定参数的设定:

分析柱 C₁₈:柱长 150 mm,内径 4.6 mm,粒度 5 μm(或类似分析柱);

柱温:室温;

检测器:紫外检测器,检测波长 375 nm;

流动相速度:1.0 mL/min;

进样量:10 μL~20 μL。

7.5 定量测定:采用多点外标法,根据浓度与峰面积的线性回归方程计算金霉素的含量(g/L)。

8 测定结果的计算

8.1 每千克试样中所含金霉素的质量 X(mg)按式(1)计算:

$$X = \frac{m_1}{m} \times n \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X——每千克试样中所含金霉素的质量,单位为毫克(mg);

m₁——HPLC 试样色谱峰对应的金霉素质量,单位为微克(μg);

m——试样质量,单位为克(g);

n——稀释倍数。

8.2 测定结果用平行样测定的算术平均值表示,保留至小数点后 1 位。

9 允许差

两个平行测定结果的相对偏差不大于 7%。