



中华人民共和国国家标准

GB/T 22259—2008

饲料中土霉素的测定 高效液相色谱法

Determination of oxytetracycline 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 发布
中国国家标准化管理委员会

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（南京）。

本标准主要起草人：宋慧敏、耿士伟、冯三令、储瑞武、冯群科、贾书静。



饲料中土霉素的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了饲料中土霉素含量的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料、添加剂预混合饲料中土霉素的测定,检出限为 0.5 mg/kg,定量限为 2 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

试样中土霉素经酸性溶液提取后,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(或二极管阵列检测器)检测,外标法计算土霉素的含量。

4 试剂和溶液

除特殊说明外,所用试剂均为分析纯,水为蒸馏水,色谱用水符合 GB/T 6682 中一级用水规定。

4.1 盐酸:优级纯。

4.2 盐酸溶液(0.05 mol/L):取盐酸(4.1)4.5 mL,溶解于 1 000 mL 水中。

4.3 乙腈:色谱纯。

4.4 磷酸二氢钠。

4.5 磷酸。

4.6 磷酸盐缓冲液:取磷酸二氢钠(4.4)1.2 g,加水使溶解并稀释至 1 000 mL,用磷酸(4.5)调 pH 值至 3.50,摇匀,过滤。

4.7 土霉素标准品:纯度应大于 97.0%。

4.8 土霉素标准贮备液:准确称取已知纯度的土霉素标准品 20 mg,置于 100 mL 棕色容量瓶中,用盐酸溶液(4.2)溶解定容、摇匀,其浓度为 0.2 mg/mL。贮存于 4 ℃ 冰箱中,溶液有效期 1 个月。

4.9 土霉素标准曲线工作液:分别准确移取标准贮备液(4.8)0.05、0.50、2.50、7.50、12.5、25 mL 于 100 mL 棕色容量瓶中,用水定容至刻度。该标准系列中土霉素的相应浓度分别为 0.1、1、5、15、25、50 μg/mL。现配现用。

5 仪器和设备

5.1 分析天平:感量 0.000 1 g。

5.2 振荡器。

- 5.3 超纯水处理器。
- 5.4 高效液相色谱仪：紫外检测器(或二极管阵列检测器)。
- 5.5 pH 计。
- 5.6 0.45 μm 滤膜。

6 试样制备

- 6.1 按 GB/T 14699.1 采样。
- 6.2 选取具有代表性的饲料样品至少 500 g,按 GB/T 20195 制备样品。

7 分析步骤

7.1 试样溶液的制备

称取试样适量(配合饲料 10 g、浓缩饲料 5 g、预混料 1 g)精确至 1 mg。置于 250 mL 具塞锥形瓶中,准确加入 100 mL 盐酸溶液(4.2),于振荡器上振荡提取 10 min ,溶液用滤纸过滤或用盐酸溶液(4.2)作适当稀释,滤液过 0.45 μm 滤膜(5.6),备用。

7.2 色谱条件

- 7.2.1 色谱柱：C₁₈柱,柱长 150 mm,内径 4.6 mm,粒径为 5 μm,或相当者。
- 7.2.2 柱温：室温。
- 7.2.3 流动相：磷酸缓冲液(4.6)+乙腈=84+16,混匀,脱气。
- 7.2.4 流速：1.0 mL/min。
- 7.2.5 检测器：紫外检测器(或二极管阵列检测器),检测波长 353 nm。
- 7.2.6 进样量：20 μL。

7.3 定量测定

按上述色谱条件,分别将土霉素标准曲线工作液(4.9)及试样溶液(7.1)上机测定,以单点或多点校准,以色谱峰面积积分值定量。

8 结果计算

试样中土霉素的含量(X)以质量分数(mg/kg)表示,按式(1)计算：

$$X = \frac{c_x}{m} \times V$$

.....(1)

式中：

- X——试样中土霉素的含量,单位为毫克每千克(mg/kg)；
- c_x——试样溶液中土霉素的含量,单位为微克每毫升(μg/mL)；
- m——试样质量,单位为克(g)；
- V——样品的稀释液总体积,单位为毫升(mL)。

结果用平行测定的算术平均值表示,保留三位有效数字。

9 精密度

在重复性试验条件下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)
土霉素标准溶液图谱

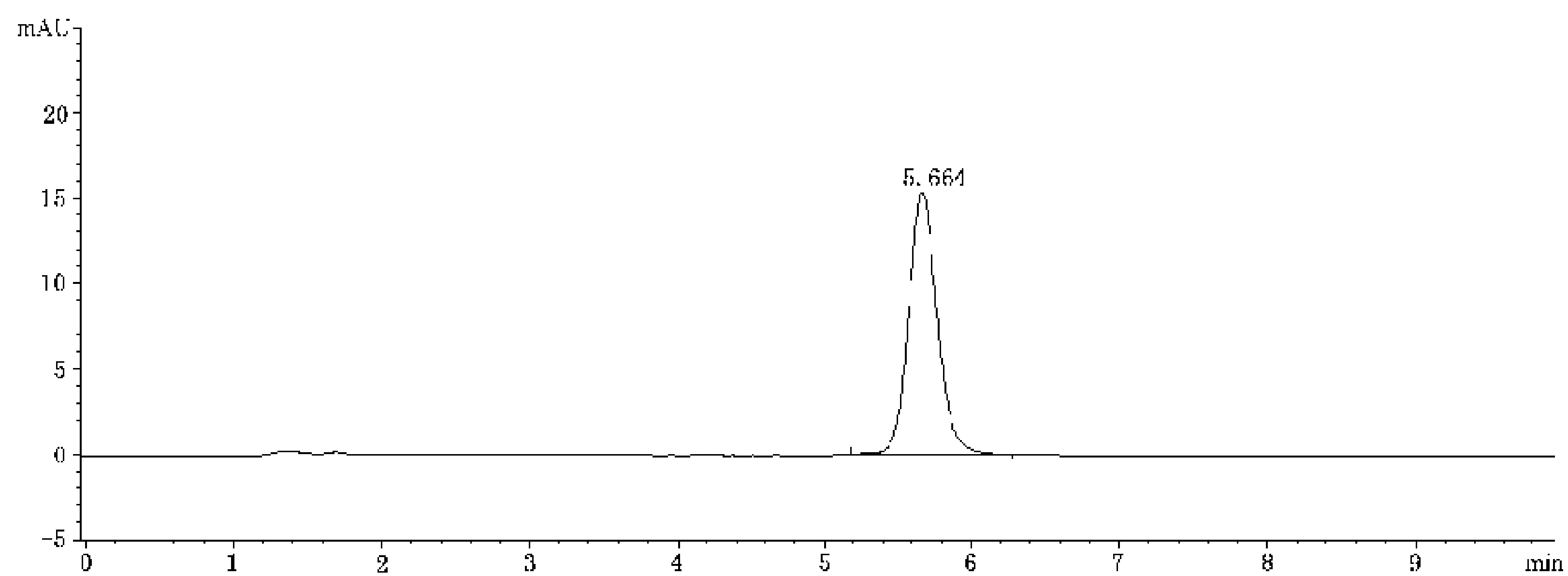


图 A.1 土霉素标准溶液图谱(1 $\mu\text{g/mL}$)