

中华人民共和国国家标准

农业部 1879 号公告—2—2012

饲料中磺胺氯吡嗪钠的测定 高效液相色谱法

Determination of sulfaclozine sodium in feeds—
High performance liquid chromatography

2012-12-24 发布

2012-12-24 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1 给出的规则起草。

本标准由农业部畜牧业司提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)归口。

本标准起草单位:农业部饲料质量监督检验测试中心(成都)、中国饲料工业协会。

本标准主要起草人:赵立军、栗胜兰、李云、高庆军、张静、林顺全、王宇萍、冯娅、曾晓芳。

饲料中磺胺氯吡嗪钠的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了饲料中磺胺氯吡嗪钠的高效液相色谱(HPLC)检测方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料和添加剂预混合饲料中磺胺氯吡嗪钠的测定。

本标准的检测限为 0.5 mg/kg,定量限为 2.0 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 14669.1 饲料 采样

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 原理

饲料中磺胺氯吡嗪钠经提取液提取、离心后,取部分上清液过碱性氧化铝固相萃取柱净化,用高效液相色谱仪—紫外检测器检测。外标法计算其含量。

4 试剂和材料

除非另有说明,在分析中仅使用分析纯的试剂。

4.1 色谱分析用水符合 GB/T 6682 中二级水的规定。

4.2 甲醇:色谱纯。

4.3 乙腈:色谱纯。

4.4 冰乙酸。

4.5 0.5%乙酸水溶液:取冰乙酸 5 mL,用水定容至 1 000 mL。

4.6 流动相:0.5%乙酸水溶液(4.5)+乙腈=70+30。

4.7 磺胺氯吡嗪钠标准品: $C_{10}H_8ClN_4NaO_2S$,纯度 $\geq 99\%$ 。

4.8 磺胺氯吡嗪钠标准溶液

4.8.1 标准储备液:准确称取适量磺胺氯吡嗪钠标准品,用甲醇(4.2)溶解、定容,配制成浓度为 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 标准储备液,密封贮于 -20°C 冰箱内,有效期为 3 个月。

4.8.2 标准工作溶液:分别准确移取磺胺氯吡嗪钠标准溶液储备液,用流动相(4.6)稀释成标准工作溶液:1.0 $\mu\text{g/mL}$,5.0 $\mu\text{g/mL}$,10.0 $\mu\text{g/mL}$,20.0 $\mu\text{g/mL}$,50.0 $\mu\text{g/mL}$ 。现用现配。

4.9 洗脱液:乙腈(4.3)+水+冰乙酸(4.4)=25+75+0.5。

4.10 碱性氧化铝固相萃取柱(2 g/12 mL)或性能相当者。

4.11 0.45 μm 有机滤膜。

5 仪器和设备

5.1 实验室用样品粉碎机。

- 5.2 天平:感量为 0.01 g。
- 5.3 分析天平:感量为 0.1 mg。
- 5.4 离心机:转速为 5 000 r/min 及以上。
- 5.5 超纯水器。
- 5.6 超声波清洗器。
- 5.7 涡旋混合器。
- 5.8 振荡器。
- 5.9 密封盖塑料离心管:50 mL。
- 5.10 固相萃取装置。
- 5.11 高效液相色谱仪:配备紫外检测器或二极管阵列检测器。

6 试样的制备

按 GB/T 14699.1 规定采集试样后,按 GB/T 20195 的规定,选取具有代表性的实验室样品 1 kg,四分法缩减分取 200 g,粉碎过 0.45 mm 孔筛,混匀装入磨口瓶中备用。

7 分析步骤

7.1 提取

准确称取试样 2 g(精确到 0.01 g),置于 100 mL 具塞锥形瓶中,加入乙腈(4.3)50.0 mL,置于振荡器(5.8)上振荡 30 min,静置 1 min~2 min,移取适量上清液于离心管(5.9)中,以 5 000 r/min 离心 5 min,上清液备用。

7.2 净化

用乙腈(4.3)10 mL 活化碱性氧化铝柱(4.10),精确吸取上清液 5.0 mL~10.0 mL 过此小柱(重力作用下过柱),至滤液全部流出,抽干碱性氧化铝柱,用洗脱液(4.9)4.0 mL 洗脱,收集洗脱液于 10 mL 试管内,涡旋混合,过 0.45 μm 滤膜,供高效液相色谱测定。

7.3 高效液相色谱参考条件

色谱柱: C_{18} 柱,柱长 250 mm,内径 4.6 mm,粒径 5 μm;或性能类似的色谱柱。

流动相:0.5%乙酸水溶液+乙腈=70+30。

流速:1.0 mL/min。

检测波长:270 nm。

柱温:30℃。

进样量:10 μL。

7.4 高效液相色谱测定

取适量试样制备液(7.2)和相应浓度的标准工作溶液(4.8.2),作单点或多点校准,以色谱峰面积积分值定量。标准色谱图参见图 A.1。当分析物浓度不在线性范围内时,应增加过柱体积进行浓缩或将提取液稀释后净化、检测。

8 结果计算与表示

8.1 结果计算

饲料中磺胺氯吡嗪钠的含量 X ,以质量分数[毫克每千克(mg/kg)]表示,单点校正按式(1)计算:

$$X = \frac{A_i \times C_i \times V_i \times V \times n \times 1000}{A_s \times m \times V_i \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- A_i ——试样溶液峰面积值;
 C_s ——标准工作液浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
 V_s ——标准工作液进样体积,单位为微升(μL);
 V ——洗脱液体积,单位为毫升(mL);
 A_s ——标准工作液峰面积值;
 m ——称取试料的质量,单位为克(g);
 V_i ——试样溶液进样体积,单位为微升(μL);
 n ——稀释倍数。

多点校正按式(2)计算:

$$X = \frac{C_s \times V \times n \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- C_s ——标准曲线上查得的试样中磺胺氯吡嗪钠的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
 V ——洗脱液体积,单位为毫升(mL);
 m ——称取试料的质量,单位为克(g);
 n ——稀释倍数。

8.2 结果表示

测定结果用平行测定的算术平均值表示,计算结果保留三位有效数字。

9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果相对偏差不大于 10%。

附 录 A
(资料性附录)
磺胺氯吡嗪钠标准液相色谱图

磺胺氯吡嗪钠(10.0 $\mu\text{g/mL}$)标准液相色谱图见图 A. 1。

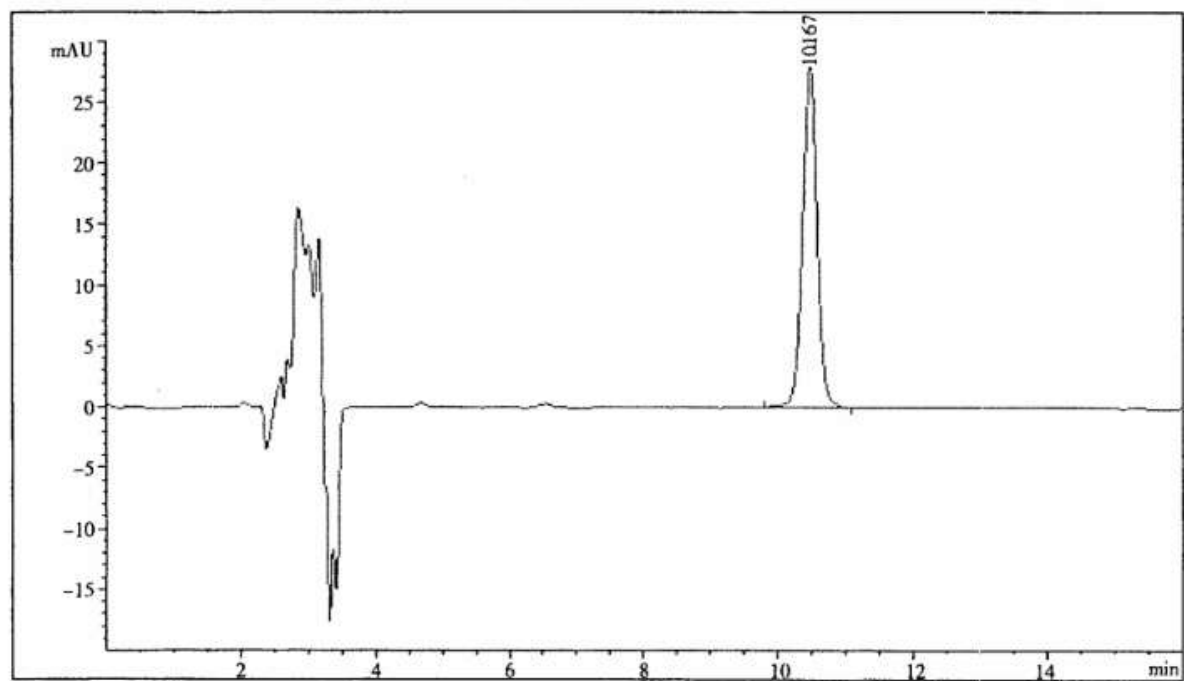


图 A. 1 磺胺氯吡嗪钠(10.0 $\mu\text{g/mL}$)标准液相色谱图