

中华人民共和国国家标准

农业部 2349 号公告—2—2015

饲料中赛杜霉素钠的测定 柱后衍生高效液相色谱法

Determination of semduramicin sodium in feeds—
High performance liquid chromatography with post-column derivatization

2015-12-29 发布

2016-04-01 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—2009 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:农业部农产品质量安全监督检验测试中心(宁波)、宁波出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:吴银良、许秀琴、孙亚米、陈若霞、张吉红、杨挺、吕燕、赵健、朱勇、王立君。

饲料中赛杜霉素钠的测定 柱后衍生高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了饲料中赛杜霉素钠的柱后衍生高效液相色谱测定方法。

本标准适用于畜禽配合饲料、浓缩饲料和预混合饲料中赛杜霉素钠的测定。

本标准的方法检出限为 0.75 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 14699.1 饲料 采样

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 原理

用乙腈提取试样中的赛杜霉素钠,然后在强酸和无水条件下利用对一二甲氨基苯甲醛对赛杜霉素钠进行柱后衍生反应,用高效液相色谱—紫外—可见检测器或二极管矩阵检测器分离测定,外标法定量。

4 试剂和材料

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

4.1 赛杜霉素钠标准品:纯度 $\geq 98.0\%$,分析时以赛杜霉素计,乘以 0.9754 系数换算成赛杜霉素的含量。

4.2 乙腈:色谱纯。

4.3 甲醇:色谱纯。

4.4 甲酸铵:色谱纯。

4.5 甲酸:色谱纯。

4.6 对一二甲氨基苯甲醛。

4.7 硫酸。

4.8 甲酸铵溶液(0.10 mol/L):称取 6.3 g 甲酸铵(4.4)于 1 L 容量瓶中,加水溶解,用甲酸调节 pH 至 3.0 后用水定容至刻度。

4.9 衍生液:量取 97 mL 甲醇(4.3)于 250 mL 三角瓶中,置于冰水中缓缓加入 3 mL 硫酸(4.7),搅匀后加入 3 g 对一二甲氨基苯甲醛(4.6),混匀,备用。

4.10 赛杜霉素钠标准储备液:准确称取 10 mg 赛杜霉素钠标准品(4.1)于 10 mL 容量瓶中,用乙腈(4.2)溶解并定容至刻度,配制成赛杜霉素钠含量为 1 000 mg/L 的标准储备液,−18℃冰箱中保存,有效期 6 个月。

4.11 赛杜霉素钠中间液:取 1 000 mg/L 赛杜霉素钠标准储备液,用乙腈(4.2)稀释为含赛杜霉素 50.0 mg/L 的中间液,于−18℃冰箱中保存,有效期 1 个月。

4.12 赛杜霉素钠标准工作液:分别准确吸取一定量的标准中间液(4.11),置于 10 mL 容量瓶中,用甲

醇(4.3)稀释、定容,配制成含赛杜霉素浓度为 0.10 mg/L、0.20 mg/L、0.50 mg/L、2.0 mg/L、5.0 mg/L 和 10.0 mg/L 的系列标准工作溶液。当日配制和使用。

5 仪器和设备

- 5.1 高效液相色谱仪:配柱后衍生装置和紫外—可见或二极管矩阵检测器。
- 5.2 离心机:转速 5 000 r/min 或以上。
- 5.3 天平:感量为 0.01 mg 和 0.01 g 各 1 台。
- 5.4 涡旋混合器。
- 5.5 振荡器。
- 5.6 有机微孔滤膜(0.45 μm)。

6 采样和试样制备

6.1 采样

按照 GB/T 14699.1 的规定抽取有代表性的饲料样品,用四分法缩减取样。

6.2 试样制备

按照 GB/T 20195 的规定制备样品,粉碎后过 0.45 mm 孔径的分析筛,混匀后装入密闭容器。

7 分析步骤

7.1 提取

称取一定量的试样(10 g 配合饲料,或 5 g 浓缩饲料,或 2 g 预混合饲料,精确到 0.01 g)置于 50 mL 离心管中。其中,配合饲料、浓缩饲料试样中加入 20 mL 乙腈(4.2),预混合饲料试样中加入 10 mL 乙腈(4.2)。涡旋 1 min,震荡 30 min,再以 5 000 r/min 的速度离心 5 min,移取上清液。同样步骤再提取一次后合并上清液,混匀,取 2 mL 提取液过微孔有机滤膜作为试样溶液,供高效液相色谱分析。

7.2 测定

7.2.1 色谱参考条件

色谱柱:C₁₈柱,柱长 150 mm,柱内径 4.6 mm,粒径 5.0 μm 或相当者。

流动相:甲酸铵溶液—甲醇(5+95)。

流速:0.70 mL/min。

进样量:100 μL。

波长:578 nm。

柱温:35℃。

反应温度:92℃。

衍生液流速:0.90 mL/min。

7.2.2 定量测定

在仪器最佳工作条件下,标准工作液与试样溶液交替进样,样品中待测物质保留时间的偏差小于或等于标准溶液保留时间的±2.5%。采用外标法定量,样品溶液中待测物的响应值均应在仪器测定的线性范围内。当样品的上机液浓度超过线性范围时,需根据测定浓度,稀释后进行重新测定,直至上机液浓度在标准曲线的线性范围内。标准溶液图谱参见图 A.1。

7.3 结果计算

试样中赛杜霉素的含量 X,以质量分数表示,单位为毫克每千克(mg/kg),按式(1)计算。

$$X = \frac{A \times C_s \times V}{A_s \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X ——试样中赛杜霉素的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

A ——试样溶液中赛杜霉素钠衍生物的峰面积;

A_s ——标准工作液中赛杜霉素钠衍生物的峰面积;

C_s ——标准工作液中赛杜霉素钠(以赛杜霉素计)的浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——提取液体积,单位为毫升(mL);

m ——样品的质量,单位为克(g)。

测定结果用平行测定的算术平均值表示,计算结果保留 3 位有效数字。

7.4 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于这两个测定值的算术平均值的 10%。



附 录 A
(资料性附录)
赛杜霉素钠标准溶液色谱图

赛杜霉素钠标准溶液色谱图见图 A. 1。

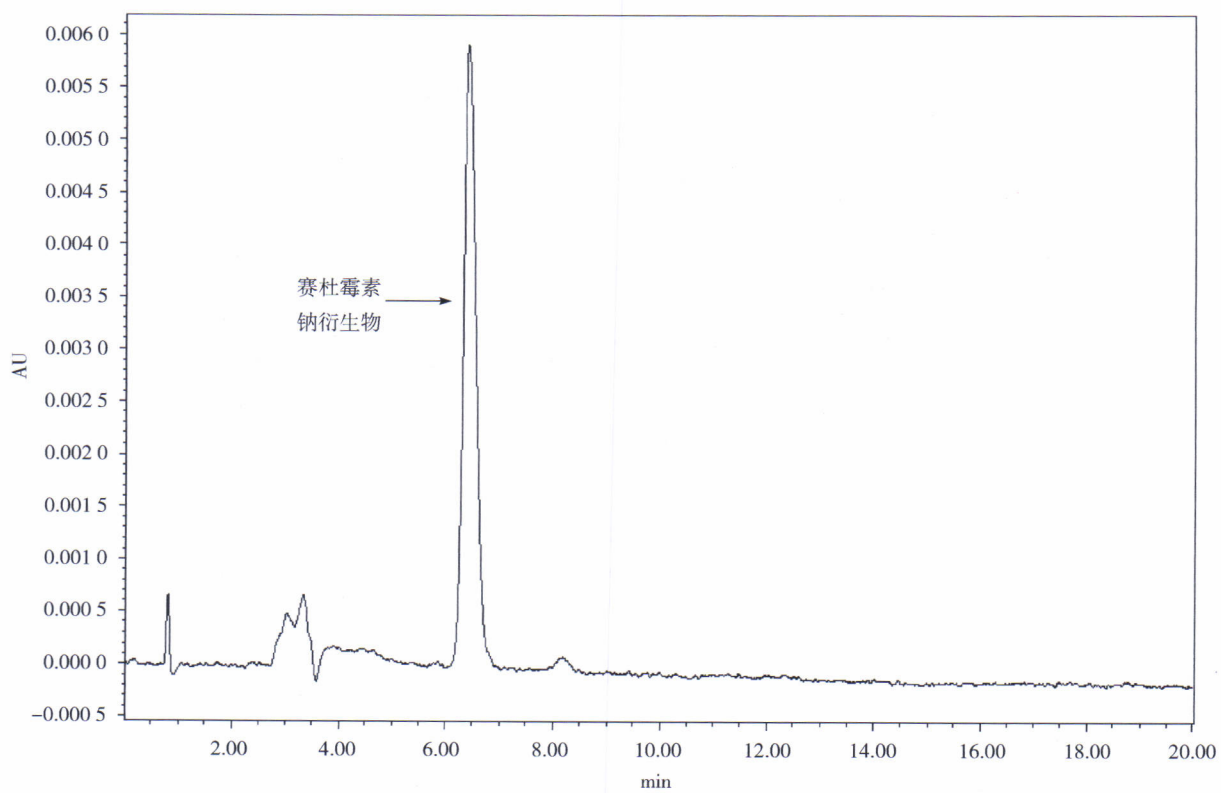


图 A. 1 赛杜霉素钠标准溶液(含赛杜霉素 5.0 mg/L)色谱图