

中华人民共和国国家标准

农业农村部公告第 316 号—2—2020

代替 NY/T 910—2004

饲料中盐酸氯苯胍的测定 高效液相色谱法

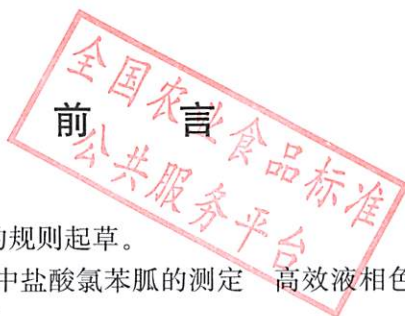
Determination of robenidine hydrochloride in feeds—
High performance liquid chromatography

2020-07-17 发布

2020-11-01 实施



中华人民共和国农业农村部 发布



本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 NY/T 910—2004《饲料中盐酸氯苯胍的测定 高效液相色谱法》。与 NY/T 910—2004 相比,除编辑性修改外主要技术变化如下:

- 增加了精料补充料(见 1)
- 将最低检测浓度修改为检出限和定量限(见 1,2004 年版的 1);
- 修改了提取方法(见 7.1,2004 年版的 7.1);
- 增加了净化处理方法(见 7.2);
- 修改了液相色谱的流动相(见 7.3,2004 年版的 7.3);
- 增加了单点校准公式(见 8);
- 删除了再现性规定(2004 年版的 9.2);
- 增加了附录(见附录 A)。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由农业农村部畜牧兽医局提出。

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:山东省饲料质量检验所。

本标准主要起草人:张芸、孙延军、李桂华、刘华阳、李会荣、李俊玲、杨智国、郭玉秋、刘婕、王英英。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

- NY/T 910—2004。

饲料中盐酸氯苯胍的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了饲料中盐酸氯苯胍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、精料补充料和添加剂预混合饲料中盐酸氯苯胍的测定。

本标准在配合饲料、浓缩饲料和精料补充料中盐酸氯苯胍的检出限为 0.5 mg/kg,定量限为 1.0 mg/kg; 添加剂预混合饲料中盐酸氯苯胍的检出限为 1.0 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 20195 动物饲料 试样的制备

3 原理

试样中的盐酸氯苯胍经提取,用阳离子交换固相萃取柱净化后,高效液相色谱仪测定,外标法定量。

4 试剂或材料

除另有规定外,所用试剂均为分析纯。

4.1 水:GB/T 6682,一级。

4.2 甲醇:色谱纯。

4.3 三乙醇胺。

4.4 提取液:将 70 mL 乙腈与 30 mL 水混合,然后加入 0.2 mL 甲酸,混匀。

4.5 2%甲酸溶液:2 mL 甲酸加水稀释至 100 mL,混匀。

4.6 5%氨化甲醇溶液:5 mL 氨水用甲醇稀释至 100 mL,混匀。

4.7 标准储备溶液(1 mg/mL):称取盐酸氯苯胍对照品(CAS 号:25875-50-7,纯度不低于 99.5%)10 mg (精确至 0.01 mg)于 10 mL 棕色容量瓶中,用甲醇(4.2)溶解定容。 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期为 3 个月。

4.8 标准中间溶液(100 $\mu\text{g/mL}$):准确移取标准储备液溶(4.7)1 mL 于 10 mL 棕色容量瓶中,用甲醇(4.2)稀释定容。 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期为 1 个月。

4.9 标准系列工作溶液:准确移取适量标准中间溶液(4.8)于 10 mL 棕色容量瓶中,用甲醇(4.2)稀释定容配成标准系列溶液,浓度分别为 0.10 $\mu\text{g/mL}$ 、0.20 $\mu\text{g/mL}$ 、0.50 $\mu\text{g/mL}$ 、1.00 $\mu\text{g/mL}$ 、2.00 $\mu\text{g/mL}$ 、5.00 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 。临用现配。

4.10 固相萃取柱:混合型阳离子交换柱,60 mg/3 mL;或性能相当者。

4.11 微孔滤膜:0.45 μm ,有机相。

5 仪器设备

5.1 高效液相色谱仪:配有紫外检测器或二极管阵列检测器。

5.2 分析天平:感量 0.000 1 g 和 0.000 01 g。

5.3 涡旋混合器。

5.4 离心机:转速不低于 5 000 r/min。

5.5 固相萃取装置。

5.6 氮吹仪。

6 样品

按 GB/T 20195 制备样品,至少 200 g,粉碎使其全部通过 0.42 mm 孔径的分析筛,充分混匀,装入磨口瓶中,避光保存,备用。选取类型相同,均匀一致且在待测物保留时间处仪器响应值小于方法定量限 30% 的饲料作为空白样品。

7 试验步骤

7.1 提取

平行做 2 份试验。称取试样 2 g(添加剂预混合饲料称取 1 g),精确至 0.000 1 g,置于 50 mL 离心管中,准确加入 20 mL 提取液(4.4),涡旋 10 min,于 5 000 r/min 离心 5 min,取上清液,备用。

7.2 净化

固相萃取柱依次用 3 mL 甲醇和 3 mL 水活化。准确移取上清液(7.1)3 mL 过柱,分别用 2% 甲酸溶液(4.5)3 mL、甲醇(4.2)3 mL 淋洗,用 5% 氨化甲醇(4.6)4 mL 洗脱,收集洗脱液,于 40℃ 下用氮气吹至近干,准确加入 1 mL 甲醇(4.2)溶解,涡旋混匀,用 0.45 μm 滤膜过滤备用。

7.3 液相色谱参考条件

色谱柱: C₁₈ 柱,长 250 mm,内径 4.6 mm,粒径 5 μm,或性能相当者。

柱温: 35℃。

检测波长: 352 nm。

流动相: 750 mL 甲醇(4.2)与 250 mL 水(4.1)混合,加入 1 mL 三乙醇胺(4.3),混匀(用前超声脱气)。

流速: 1.0 mL/min。

进样量: 20 μL。

7.4 测定

7.4.1 标准系列工作溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下,分别取标准系列工作溶液(4.9)和试样溶液(7.2)上机测定。盐酸氯苯胍标准溶液液相色谱图参见附录 A。

7.4.2 定性

以保留时间定性,试样溶液中盐酸氯苯胍保留时间应与标准系列工作溶液(浓度相当)中盐酸氯苯胍的保留时间一致,其相对偏差在 ±2.5% 之内。

7.4.3 定量

以盐酸氯苯胍的浓度为横坐标、以色谱峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,其相关系数应不低于 0.99。试样溶液中盐酸氯苯胍的浓度应在标准系列工作溶液的线性范围内。如超出范围,应将试样溶液用甲醇进一步稀释后,重新测定。单点校准定量时,试样溶液中待测物的浓度与标准溶液浓度相差不超过 30%。

8 试验数据处理

试样中盐酸氯苯胍的含量以质量分数 w 计,数值以毫克每千克(mg/kg)表示。多点校准按式(1)计算,单点校准按式(2)计算。

$$w = \frac{\rho \times V \times V_2 \times 1000}{V_1 \times m \times 1000} \times n \dots\dots\dots (1)$$

式中:

ρ ——从标准曲线查得的试样溶液盐酸氯苯胍的质量浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

V ——提取液的体积,单位为毫升(mL);

V_1 ——净化时所用试样提取液的体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——氮气吹干后复溶液的体积,单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g);

n ——稀释倍数。

$$w = \frac{A \times \rho_s \times V \times V_2 \times 1000}{A_s \times V_1 \times m \times 1000} \times n \dots\dots\dots (2)$$

式中:

A ——试样溶液中盐酸氯苯胍色谱峰面积;

A_s ——标准工作溶液中盐酸氯苯胍的峰面积;

ρ_s ——标准工作溶液中盐酸氯苯胍的质量浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)。

测定结果以平行测定的算术平均值表示,保留 3 位有效数字。

9 精密度

在重复性条件下,2 次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的 10%。

附 录 A
(资料性附录)
盐酸氯苯胍标准溶液液相色谱图

盐酸氯苯胍标准溶液液相色谱图见图 A.1。

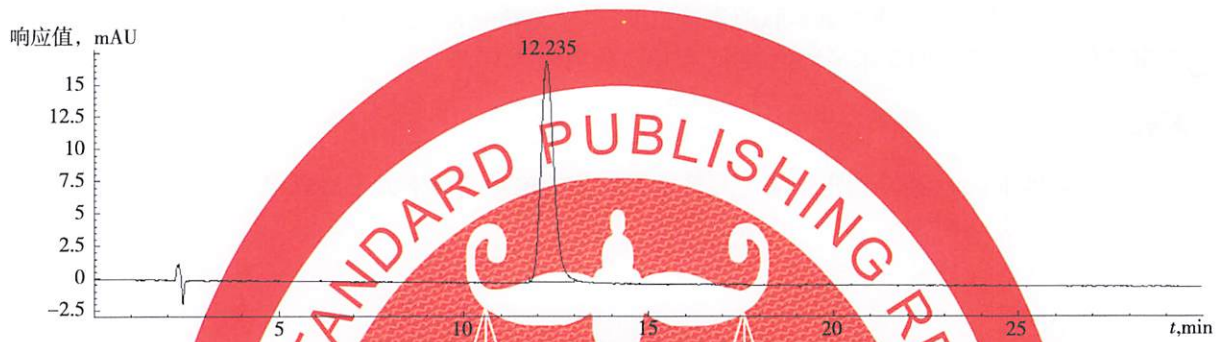


图 A.1 盐酸氯苯胍标准溶液 (10 $\mu\text{g/mL}$) 液相色谱图



中华人民共和国
国家标准

饲料中盐酸氯苯胍的测定
高效液相色谱法

农业农村部公告第316号—2—2020

* * *

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区麦子店街18号楼)

(邮政编码: 100125 网址: www.ccap.com.cn)

北京印刷一厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

* * *

开本 880mm×1230mm 1/16 印张 0.75 字数 15 千字

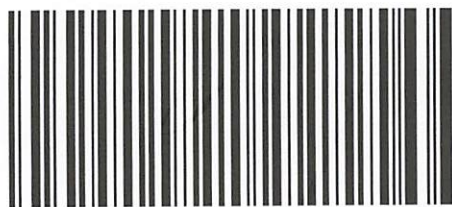
2020年10月第1版 2020年10月北京第1次印刷

书号: 16109·8151

定价: 18.00 元

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 59194261



农业农村部公告第316号—2—2020