

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 3480—2019

饲料中那西肽的测定 高效液相色谱法

Determination of nosiheptide in feeds—
High performance liquid chromatography

2019-08-01 发布

2019-11-01 实施



中华人民共和国农业农村部 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：浙江省兽药饲料监察所、浙江汇能生物股份有限公司。

本标准主要起草人：陆春波、林仙军、陈慧华、罗成江、周芷锦、包爱情、周志强、陈贵才、王贤玉。



饲料中那西肽的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了饲料中那西肽组分 A 的高效液相色谱测定法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料和添加剂预混合饲料中那西肽组分 A 的测定。

本标准方法的检出限为 0.2 mg/kg,定量限为 0.5 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 603 化学试剂试验方法中所用制剂及制品的制备

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

试样中的那西肽组分 A 用乙二胺四乙酸二钠溶液和 N,N-二甲基甲酰胺提取,离心后采用高效液相色谱仪-荧光检测器进行测定,并用外标法定量。

4 试剂或材料

除特殊注明外,所用试剂均为分析纯,水应符合 GB/T 6682 中一级水的规定;溶液按照 GB/T 603 的规定配制。

4.1 乙腈:色谱纯。

4.2 N,N-二甲基甲酰胺。

4.3 那西肽标准品(以那西肽组分 A 计,含量 \geq 88.6%)。

4.4 磷酸溶液:量取磷酸 0.25 mL 加水至 1 000 mL,摇匀。

4.5 乙二胺四乙酸二钠溶液(0.2 mol/L):取乙二胺四乙酸二钠 7.44 g,加水溶解并稀释至 100 mL。

4.6 流动相:取磷酸溶液(4.4)570 mL,加乙腈(4.1)430 mL,摇匀。

4.7 标准储备液:称取那西肽标准品(4.3)约 25 mg(精确至 0.01 mg),置 25 mL 棕色量瓶中,用 N,N-二甲基甲酰胺配成浓度为 1 mg/mL 的标准储备液,置 -20°C 保存,有效期为 6 个月。

4.8 标准工作液:准确移取 1 mL 标准储备液(4.7)于 100 mL 棕色量瓶中,用 N,N-二甲基甲酰胺(4.2)稀释至刻度,摇匀。该溶液浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$,置 4°C 保存,有效期为 7 d。

4.9 标准系列溶液:分别吸取一定量的标准工作液(4.8),用 N,N-二甲基甲酰胺(4.2)稀释成浓度为 0.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准系列工作溶液。现用现配。

4.10 有机滤膜:0.45 μm 。

5 仪器设备

5.1 高效液相色谱仪:配有荧光检测器。

5.2 离心机:转速 \geq 8 000 r/min。

5.3 分析天平:感量 0.01 mg、1 mg。

5.4 超声波清洗器。

6 样品

按 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。按照 GB/T 20195 的规定将饲料样品粉碎,过 0.45 mm 孔径试验筛,混匀后装入密闭容器中,避光保存,备用。

7 试验步骤

警示:整个实验过程中,避免强光直接照射,试样提取和进样检测应在 12 h 内完成。

7.1 提取

称取 2 g 试样(精确至 1 mg),置于 50 mL 离心管中,加入乙二胺四乙酸二钠溶液(4.5) 1.0 mL,再加入 N,N-二甲基甲酰胺(4.2) 19.0 mL,振摇,使样品完全分散、浸湿,置超声波清洗器中超声提取 5 min,中间摇匀 3 次;取出,于 8 000 r/min 离心 5 min,取上清液过 0.45 μm 有机滤膜(4.10),测定。

7.2 液相色谱参考条件

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

流动相:见 4.6。

柱温:30℃。

进样量:20 μL。

流速:1.0 mL/min。

荧光检测器条件:激发波长 327 nm;发射波长 521 nm。

7.3 定性、定量测定

分别取标准系列溶液(4.9)及试样溶液(7.1)测定,以色谱峰保留时间定性,以色谱峰面积响应值做单点或多点校准定量。当试样的上机液浓度超过线性范围时,需用 N,N-二甲基甲酰胺(4.2)稀释后重新测定,直至上机液浓度在标准曲线的线性范围内。那西肽组分 A 标准溶液色谱图参见附录 A。

8 试验数据处理

试样中那西肽组分 A 的含量以质量分数 X 计,数值以毫克每千克(mg/kg)表示,按式(1)计算。

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

式中:

c_s —— 标准溶液中那西肽组分 A 的浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

A —— 试样溶液中那西肽组分 A 峰的峰面积;

A_s —— 标准溶液中那西肽组分 A 峰的峰面积;

m —— 试样质量,单位为克(g);

V —— 试样定容体积,单位为毫升(mL);

f —— 稀释倍数。

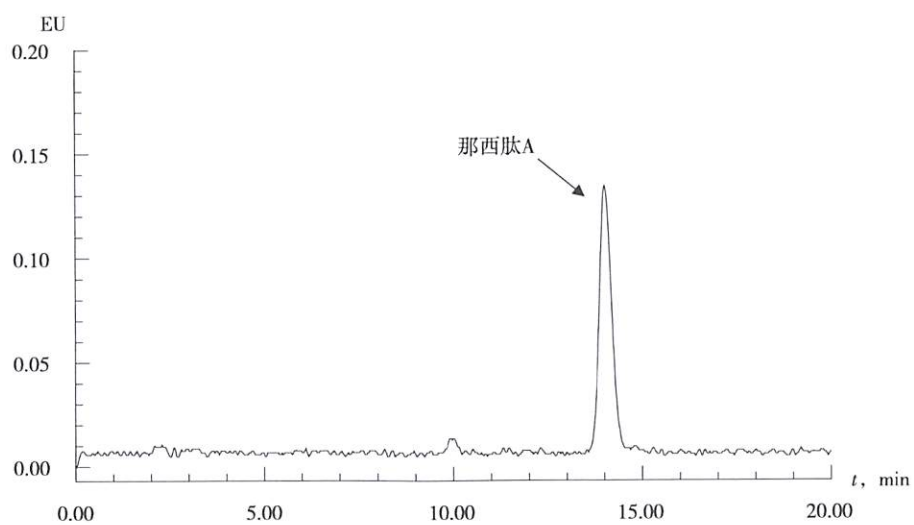
平行测定结果用算术平均值表示,保留 3 位有效数字。

9 精密度

在同一实验室,由同一操作者使用相同设备,按相同的测试方法,并在短时间内对同一被测对象相互独立进行测试获得的 2 次独立测试结果的绝对差值不大于这 2 个测定值的算术平均值的 15%,以大于 15%的情况不超过 5%为前提。

附录 A

(资料性附录)

那西肽组分 A 标准溶液(0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)液相色谱图那西肽组分 A 标准溶液(0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)液相色谱图见图 A.1。图 A.1 那西肽组分 A 标准溶液(0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)液相色谱图

中华人民共和国
农业行业标准
饲料中那西肽的测定 高效液相色谱法
NY/T 3480—2019

* * *

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 0.5 字数 10 千字

2019 年 10 月第 1 版 2019 年 10 月北京第 1 次印刷

书号: 16109·4845

定价: 12.00 元

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 59194261



NY/T 3480—2019