

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 724—2003

饲料中拉沙洛西钠的测定 高效液相色谱法

Determination of lasalocid in feeds—
High performance liquid chromatography

2003-12-01 发布

2004-03-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准是在参阅了美国全国饲料协会(NFIA)推荐的通用分析方法及国内外大量文献的基础上,根据我国技术发展水平研究制定的,采用了高效液相色谱(HPLC)-荧光检测法。

本标准由中华人民共和国农业部和全国饲料工业标准化技术委员会提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:国家兽药评价中心(中国农业大学动物医学院)。

本标准主要起草人:沈建忠、张素霞、刘金凤、芮于明。



饲料中拉沙洛西钠的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了检测动物饲料中拉沙洛西钠含量的高效液相色谱方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料和添加剂预混合饲料中拉沙洛西钠含量的测定。本方法检测限为 5 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，其随后所有修改单(不包括勘误内容)或修改版均不适合本标准，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最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 14699.1 饲料采样方法

3 方法原理

用甲醇提取试样中的拉沙洛西钠，以磷酸盐缓冲液-乙腈-甲醇作为流动相，用高效液相色谱——荧光检测法分离测定。

4 试剂和溶液

除非另有说明，本法所用试剂均为分析纯，水为去离子水，符合 GB/T 6682 二级用水的规定。

4.1 乙腈：色谱纯。

4.2 甲醇：色谱纯。

4.3 磷酸盐缓冲液(pH=7)：准确称取 3.121 g 磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)和 7.164 g 磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)，分别用水溶解，定容至 1 000 mL，得到浓度 $c(\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O})=0.02 \text{ mol/L}$ 磷酸二氢钠溶液(A液)和浓度 $c(\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O})=0.02 \text{ mol/L}$ 磷酸氢二钠溶液(B液)。将 A 液与 B 液按 3.9+6.1 的比例混合，配制成磷酸盐缓冲液(调 pH=7)。

4.4 拉沙洛西钠标准液：

4.4.1 拉沙洛西钠标准贮备液：准确称取拉沙洛西钠标准品(纯度 $\geq 98\%$)0.100 0 g，置于 100 mL 容量瓶中，用甲醇溶解，定容，其浓度为 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的储备液，置 4℃ 冰箱中保存。

4.4.2 拉沙洛西钠标准工作液：分别准确吸取一定量的标准贮备液(4.4.1)，置于 10 mL 容量瓶中，用甲醇稀释、定容，配制成浓度为 2.5 $\mu\text{g/mL}$ ，5.0 $\mu\text{g/mL}$ ，7.5 $\mu\text{g/mL}$ ，10.0 $\mu\text{g/mL}$ ，12.5 $\mu\text{g/mL}$ ，17.5 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作液。

5 仪器和设备

实验室常用仪器、设备。

5.1 高效液相色谱仪：配荧光检测器。

5.2 离心机。

5.3 振荡器。

- 5.4 玻璃具塞三角瓶(250 mL)。
- 5.5 微量进样器。
- 5.6 微孔滤膜(0.45 μm)。

6 试样制备

按 GB/T 14699.1 规定,取有代表性的样品,四分法缩减取约 200 g,经粉碎,全部过 1 mm 孔筛,混匀装入磨口瓶中备用。

7 测定步骤

7.1 试样提取

称取一定量的试样(10.0 g 配合饲料,或 5.0 g 浓缩饲料,或 1.0 g 添加剂预混合饲料),置于 250 mL 玻璃具塞三角瓶中,加入 40 mL 甲醇,往复震荡 30 min。静止 10 min,过滤。再向试样中分别加入 30 mL 甲醇,重复提取两次。合并三次提取液,用甲醇定容至 100 mL。取 10 mL 置离心管中,3 000 r/min 离心 5 min,取上清液用 0.45 μm 微孔有机滤膜过滤作为试样溶液,供高效液相色谱分析。

7.2 HPLC 色谱条件

- a) 色谱柱: C₁₈ 柱,长 150 mm,内径 4.6 mm,粒径 5 μm,或相当者。
- b) 柱温: 室温。
- c) 流动相: 磷酸盐缓冲液(4.3)+乙腈+甲醇(25+35+40)。
- d) 流动相流速: 1.0 mL/min。
- e) 激发波长: 310 nm。
- f) 发射波长: 420 nm。
- g) 进样体积: 20 μL。

7.3 HPLC 测定

取适量试样溶液(7.1)和相应浓度的标准工作液(4.4.2),作单点或多点校准,以色谱峰面积积分值定量。

8 结果计算与表述

8.1 试样中拉沙洛西钠的含量按式(1)计算:

$$X = \frac{m_1}{m} \times n \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X——试样中拉沙洛西钠的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- m₁——HPLC 试样色谱峰对应的拉沙洛西钠的质量,单位为微克(μg);
- m——试样质量,单位为克(g);
- n——稀释倍数。

8.2 测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留至小数点后一位。

9 允许误差

两个平行测定的相对偏差不大于 10%。

中华人民共和国农业
行业标准
饲料中拉沙洛西钠的测定
高效液相色谱法
NY/T 724—2003

*

中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

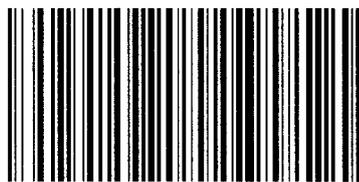
开本 880×1230 1/16 印张 1/2 字数 6 千字
2004年2月第一版 2004年2月第一次印刷
印数 1—600

*

书号: 155066·2-15558 定价 8.00 元

网址 www.bzcb.com

版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533



NY/T 724-2003