

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 725—2003

饲料中莫能菌素的测定 高效液相色谱法

Determination of monensin 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

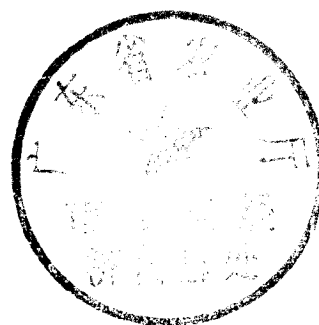
本标准是在参阅了美国全国饲料协会(NFIA)推荐的通用分析方法及国内外大量文献的基础上,根据我国技术发展水平研究制定的,采用了高效液相色谱(HPLC)-柱后衍生化法。

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:吕于明、沈建忠、张素霞、袁建敏。



饲料中莫能菌素的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了检测动物饲料中莫能菌素含量的高效液相色谱(HPLC)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莫能菌素含量的测定。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-水提取试样中的莫能菌素,以甲醇-冰乙酸-水作为流动相、香草醛为衍生剂,用高效液相色谱-柱后衍生化-紫外检测法分离测定。

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 试样提取液:[甲醇(色谱纯)+水](90+10)。

4.2 香草醛衍生液:量取 5 mL 浓硫酸,缓慢加入到 250 mL 甲醇中,置冰水浴中,缓缓加入 20 g 香草醛,混匀,脱气后避光保存,临用现配。

4.3 莫能菌素标准液:

4.3.1 莫能菌素标准贮备液:准确称取莫能菌素标准品(纯度 $\geq 90\%$)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。

4.3.2 莫能菌素标准工作液: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 2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、4.0 $\mu\text{g/mL}$ 、6.0 $\mu\text{g/mL}$ 、8.0 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、12.0 $\mu\text{g/mL}$ 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:配柱后衍生化装置和紫外检测器。

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)。

NY/T 725—2003

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 试样提取液(4.1),往复震荡 30 min。静止 10 min,过滤。再向试样中分别加入 30 mL 试样提取液(4.1),重复提取两次。合并三次提取液,用试样提取液定容到 100 mL。取 1 mL 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: 甲醇: 冰乙酸: 水(94: 3: 3)。
- d) 流动相流速: 0.7 mL/min。
- e) 衍生液流速: 0.7 mL/min。
- f) 反应管: 不锈钢长 10 m,内径 0.2 mm。
- g) 反应温度: 95℃。
- h) 检测波长: 520 nm。
- i) 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(4.3.2),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 试样中莫能菌素的含量按式(1)计算:

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

式中:

X——试样中莫能菌素的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

m_1 ——HPLC 试样色谱峰对应的莫能菌素的质量,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
饲料中莫能菌素的测定
高效液相色谱法
NY/T 725—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

*

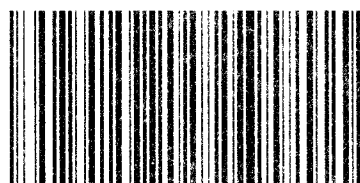
开本 880×1230 1/16 印张 1/2 字数 6 千字
2004年2月第一版 2004年2月第一次印刷
印数 1—600

*

书号: 155066·2-15559 定价 8.00 元

网址 www.bzbs.com

版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533



NY/T 725—2003