

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 726—2003

饲料中杆菌肽锌的测定 高效液相色谱法

Determination of bacitracin zinc 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

本标准参考了 AOAC65,1168(1982)《预混料中杆菌肽锌的测定方法》和有关国内外文献,并结合我国的实际情况制定的。

本标准的附录 A 是规范性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会归口。

本标准由国家饲料质量监督检验中心(北京)负责起草。

本标准主要起草人:高生、饶正华、范理、李丽蓓、杨曙明。



饲料中杆菌肽锌的测定
高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了以液相色谱仪测定饲料中杆菌肽锌的方法。
本标准适用于猪、鸡添加剂预混料中杆菌肽锌含量的测定。

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，其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准，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的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

- 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

添加剂预混料中的杆菌肽锌可用酸化的有机溶剂体系提取，离心，取上清液用于液相色谱分析。

4 试剂和材料

以下试剂除特殊标明均为分析纯，水符合 GB/T 6682 二级用水的规定。

- 4.1 磷酸盐缓冲液：pH6.0，称取 1.5 g 磷酸氢二钾和 8.5 g 磷酸二氢钾，溶解于 1 L 水中。
- 4.2 磷酸盐-EDTA 缓冲液：pH4.5，称取 13.6 g 磷酸二氢钾和 2.5 g 乙二胺四乙酸二钠溶解于 1 L 水中。
- 4.3 杆菌肽锌标准液：
 - 4.3.1 标准贮备液的配制：准确称取杆菌肽锌标准品 150.0 mg，用提取溶液溶解，并定容 100 mL，此溶液杆菌肽锌浓度为 1 500 mg/L。
 - 4.3.2 中间液：吸取标准贮备液(4.3.1)10 mL，用提取溶液定容至 50 mL。该溶液杆菌肽锌的浓度为 300 mg/L。
 - 4.3.3 工作液：吸取中间液(4.3.2)0.20 mL、1.0 mL、5.0 mL，用提取溶液定容至 10 mL，该溶液杆菌肽锌的浓度分别为 6 mg/L、30 mg/L、150 mg/L。
- 4.4 溶剂系统：按表 1 配制。各溶剂标识的体积量取各溶剂置于 100 mL 容量瓶中，用水定容至刻度。

表 1 溶剂系统表

溶 剂	体 积/mL		
	A 溶液	B 溶液	提取溶液
乙 腈	0	40	4
甲 醇	0	12	1
磷酸盐-EDTA 缓冲液	20	20	
磷酸盐缓冲液	0	0	3
浓磷酸	0	0	1.2

NY/T 726—2003

5 仪器与设备

- 5.1 分析天平:感量 0.001 g;感量 0.000 1 g。
 5.2 超声波水浴。
 5.3 离心机:4 000 r/min。
 5.4 高效液相色谱仪:配有紫外检测器和 2.5×150 mm C₁₈ 色谱柱。

6 样品的制备

根据 GB/T 14699.1 取具代表性的饲料样品,粉碎通过 0.45 mm 孔径筛,充分混匀后装入磨口瓶中备用。

7 分析步骤

7.1 提取

称取试样 2.000 g,准确加入提取溶液 10 mL,充分摇动使试样与提取溶液完全混合,置超声波水浴中超声提取 15 min,其间不时用手摇动,取上层液于离心机上 4 000 r/min,离心 5 min。直接取上清液用于高效液相色谱测定。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱:2.5×150 mm,4 μm C₁₈ 色谱柱。
 b) 流动相:取溶剂系统表 1A 溶液:B 溶液为 41+59 混合,用浓度为 $c(\text{NaOH})=1 \text{ mol/L}$ 氢氧化钠溶液调 pH 为 6.8。
 c) 检测器:可调波长检测器,检测波长为 254 nm。
 d) 进样量:20 μL。

7.2.2 定性定量方法

在上述条件下,以杆菌肽锌三个主要活性成分(见附录 A)的峰保留时间,比较进行定性确认,以三个主要活性成分的峰面积加和值与相近浓度的杆菌肽锌标准液的峰面积加和值比较进行定量计算。

8 分析结果的表述

以质量分数表示的试样中杆菌肽锌的含量按式(1)计算:

$$x = \frac{A \cdot m_s \cdot V}{A_s \cdot m \cdot V_i} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- x ——以质量分数表示的试样中杆菌肽锌的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
 A ——试样中杆菌肽锌的加和峰值;
 A_s ——标准杆菌肽锌的加和峰值;
 m_s ——标准杆菌肽锌的进样质量,单位为纳克(ng);
 V_i ——注入 HPLC 的体积,单位为微升(μL);
 m ——称取试样的质量,单位为克(g);
 V ——试样的定容体积,单位为毫升(mL)。

9 允许差

两次平行检验结果的相对偏差小于等于 10%。

附录 A
(规范性附录)
杆菌肽锌标准图谱

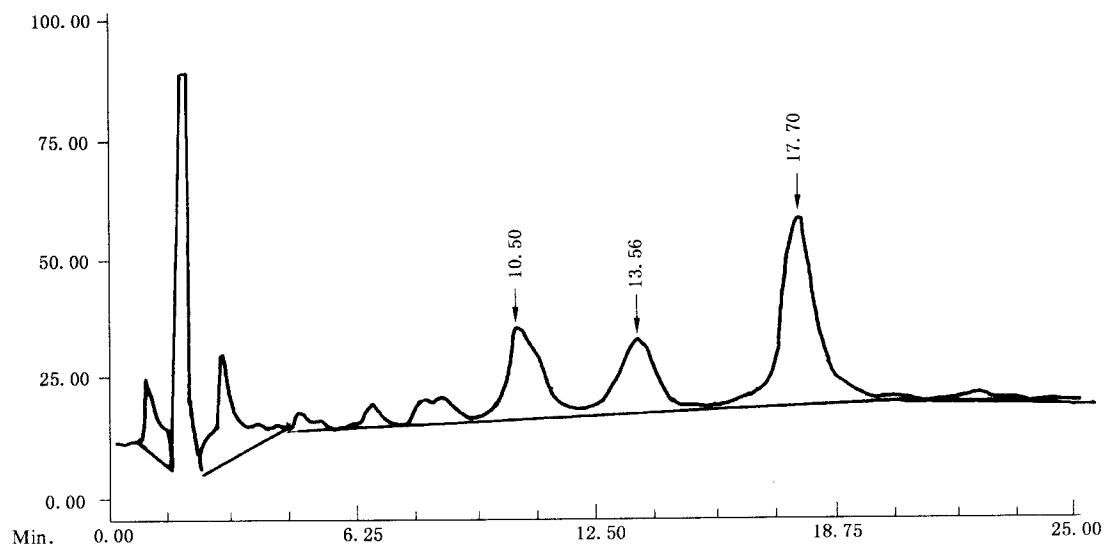


图 A.1 杆菌肽锌标准图谱

中 华 人 民 共 和 国 农 业
行 业 标 准
饲 料 中 杆 菌 肽 锌 的 测 定
高 效 液 相 色 谱 法
NY/T 726—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 8千字
2004年2月第一版 2004年2月第一次印刷
印数 1—800

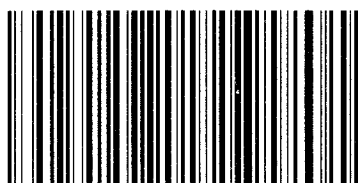
*

书号:155066·2-15560 定价:8.00元

网址:www.bzchs.cn

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



NY/T 726—2003