

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 910—2004

饲料中盐酸氯苯胍的测定 高效液相色谱法

**Determination of robenidini hydrochloridum in feeds
—high-performance liquid chromatography**

2005-01-04 发布

2005-02-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

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。

本标准主要起草单位:农业部饲料质量监督检验测试中心(济南),农业部饲料质量监督检验测试中心(沈阳)。

本标准主要起草人:李俊玲、刘学江、徐强、周岚、田颖、张桂萍、朱良智。

饲料中盐酸氯苯胍的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了用高效液相色谱仪测定饲料中盐酸氯苯胍的方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料及添加剂预混合饲料中盐酸氯苯胍的测定,最低检测浓度为 2.5 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 饲料采样方法

3 原理

试料中的盐酸氯苯胍用甲醇提取。提取液经浓缩蒸干,用酸性甲醇溶解后,在 HPLC 反相柱上分离,紫外检测器(UV 检测器)352 nm 处测定。

4 试剂

除非另有说明,本标准所用试剂为分析纯,水为蒸馏水,符合 GB/T 6682 三级水的规定。色谱用超纯水符合 GB/T 6682 一级水的规定。

4.1 甲醇

4.2 甲醇

色谱纯,过 0.45 μm 有机滤膜。

4.3 乙酸

优级纯。

4.4 乙酸甲醇溶液

取 2 mL 乙酸(4.3)用甲醇(4.2)定容至 1 000 mL。

4.5 HPLC 流动相

取 900 mL 甲醇(4.2)与 100 mL 超纯水混匀,加 1 mL 三乙醇胺,混匀,用前超声脱气 5 min~10 min。

4.6 盐酸氯苯胍标准溶液

4.6.1 盐酸氯苯胍标准贮备液

称取盐酸氯苯胍对照品(含量不少于 99.8%)10 mg(准确至 0.1 mg),用甲醇(4.2)溶解并定容至 100 mL,其浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$,贮存于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~8 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。溶液有效期 1 个月。

4.6.2 盐酸氯苯胍标准工作液

取标准贮备液(4.6.1)2 mL 于旋转蒸发器蒸干,用乙酸甲醇溶液(4.4)溶解并定容至 10 mL。该溶

液浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。现用现配。

4.6.3 标准系列

精确移取标准工作液(4.6.2)0.100 mL、0.250 mL、0.500 mL、0.750 mL、1.000 mL、1.500 mL,用甲醇(4.2)稀释至 10 mL。该标准系列中盐酸氯苯胍的相应浓度分别为:0.20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、3.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。现用现配。

5 仪器

5.1 分析天平

感量 0.1 mg。

5.2 超纯水器

5.3 超声波清洗器

5.4 离心机

4 000 r/min。

5.5 旋转蒸发器

5.6 旋涡混合器

5.7 高效液相色谱仪

具有 C_{18} 柱和 UV 检测器。

6 采样

6.1 采样步骤

按 GB/T 14699 采取具有代表性的饲料样品 1 000 g。

6.2 试样的制备

用四分法缩减饲料样品(6.1),分取 200 g 左右,粉碎全部过 0.45 mm 孔径筛,充分混匀,装入磨口瓶中备用。

7 分析步骤

7.1 提取

称取适量试料(配合饲料 5 g,浓缩饲料、添加剂预混合饲料 1 g~2 g)精确至 0.1 mg,置于 100 mL 三角瓶中,准确加入甲醇(4.1)50 mL,振摇使试料全部润湿,放在超声波清洗器中超声提取 20 min,中间振摇 3 次~4 次。超声结束后,用手旋摇数秒,把溶液转移至离心管中,于离心机上 4 000 r/min 离心 10 min。

7.2 浓缩

取上清液 3 mL~5 mL,于 40℃ 旋转蒸发器中蒸干,残渣加 2 mL 乙酸甲醇溶液(4.4)溶解,并旋涡混合数十秒,置超声波清洗器中超声处理 2 min~3 min。用手旋摇数秒,过 0.45 μm 有机滤膜,滤液供上机用。

对于含盐酸氯苯胍较高的浓缩饲料和添加剂预混合饲料,可先取适量上清液,用甲醇(4.2)稀释,取稀释液浓缩蒸干,并用乙酸甲醇溶液(4.4)溶解,使试样溶液中盐酸氯苯胍最终浓度为 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

7.3 测定

7.3.1 高效液相色谱条件

色谱柱: C_{18} 柱,柱长 250 mm,内径 4.6 mm,粒度 5 μm 或类似分析柱。

柱温:室温。

流动相:甲醇+水+三乙醇胺=900+100+1。

流速:1.0 mL/min。

检测器:UV 检测器。

检测波长:352 nm。

进样量:20 μ L。

7.3.2 定量测定

向色谱仪分别注入标准溶液和试样溶液,积分得到峰面积,用单点或多点标准法定量。

8 结果计算

饲料中盐酸氯苯胍的含量 X ,以毫克每千克(mg/kg)表示,按式(1)计算:

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

式中:

X ——饲料中盐酸氯苯胍的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

m_1 ——试料色谱峰面积对应的盐酸氯苯胍的质量,单位为微克(μ g);

m ——试料质量,单位为克(g);

D ——稀释倍数。

计算结果保留3位有效数字。

9 精密度

9.1 重复性

在同一实验室、由同一操作人员完成的2个平行测定结果,相对偏差不大于5%,以2次平行测定结果的算术平均值为测定结果。

9.2 再现性

在不同的实验室、由不同的操作人员、用不同的仪器设备完成的测定结果,相对偏差不大于10%。