ICS 65.120
CCS B 46

中华人民共和国国家标准

GB/T 46279—2025
代替 GB/T 8381.11—2005

饲料中盐酸氨丙啉、乙氧酰胺苯甲酯和磺胺喹噁啉的测定

Determination of amprolium hydrochloride, ethopabate and sulfaquinoxaline in feeds

2025-08-29 发布　　2026-03-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

前　言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则　第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替 GB/T 8381.11—2005《饲料中盐酸氨丙啉的测定　高效液相色谱法》，与 GB/T 8381.11—2005 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

——更改了适用范围、检出限，增加了定量限（见第 1 章，2005 年版的第 1 章）；

——更改了高效液相色谱法的原理（见第 4 章，2005 年版的第 3 章）；

——更改了高效液相色谱法的试验步骤（见 4.5，2005 年版的第 7 章）；

——更改了高效液相色谱法的试验数据处理（见 4.6，2005 年版的第 8 章）；

——增加了"液相色谱-串联质谱法"一章（见第 5 章）。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）提出并归口。

本文件起草单位：中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、陕西省畜牧技术推广总站、陕西中禾农检分析检测有限公司、陕西省农业检验检测中心。

本文件主要起草人：宋荣、李宏、魏书林、严华、肖红年、杨坤、晁娟娟、雒亚璇、李丽蓓、王素琴、张辉。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2005 年首次发布为 GB/T 8381.11—2005；

——本次为第一次修订。

饲料中盐酸氨丙啉、乙氧酰胺苯甲酯和磺胺喹噁啉的测定

1 范围

本文件描述了饲料中盐酸氨丙啉、乙氧酰胺苯甲酯和磺胺喹噁啉的高效液相色谱和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料和混合型饲料添加剂中盐酸氨丙啉、乙氧酰胺苯甲酯和磺胺喹噁啉的测定。

本文件高效液相色谱法中盐酸氨丙啉检出限为 10 mg/kg，定量限为 20 mg/kg；乙氧酰胺苯甲酯检出限为 0.2 mg/kg，定量限为 0.4 mg/kg；磺胺喹噁啉检出限为 6 mg/kg，定量限为 12 mg/kg。液相色谱-串联质谱法检出限均为 0.02 mg/kg，定量限均为 0.05 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 6682　分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 20195　动物饲料　试样的制备

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 高效液相色谱法

4.1 原理

试样中的待测物用甲醇溶液提取，经正己烷脱脂、亲水亲酯平衡固相萃取柱净化，高效液相色谱分离，紫外检测器串联荧光检测器测定，外标法定量。

4.2 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

4.2.1　水：GB/T 6682，一级。

4.2.2　甲醇：色谱纯。

4.2.3　正己烷。

4.2.4　提取溶液：甲醇（4.2.2）和水混合液，V（甲醇）+V（水）=4+1。

4.2.5　磷酸盐缓冲液：称取 0.2 g 磷酸二氢钾，13.68 g 三水合磷酸氢二钾，用水溶解并定容至 1 000 mL，混匀。

4.2.6　淋洗溶液：移取 10 mL 甲醇(4.2.2)，用水稀释并定容至 100 mL，混匀。

4.2.7　庚烷磺酸钠溶液(0.005 mol/L)：称取 1 g 庚烷磺酸钠于 800 mL 水中，搅拌溶解，加入 6 mL 三乙胺和 24 mL 冰乙酸，用水定容至 1 000 mL，混匀。

4.2.8　复溶液：庚烷磺酸钠溶液(4.2.7)和甲醇(4.2.2)混合液，V(庚烷磺酸钠溶液)＋V(甲醇)＝1＋1。

4.2.9　标准储备溶液(0.5 mg/mL)：准确称取盐酸氨丙啉(CAS 号：137-88-2，纯度不低于 98.0%)、乙氧酰胺苯甲酯(CAS 号：59-06-3，纯度不低于 98.0%)、磺胺喹噁啉(CAS 号：59-40-5，纯度不低于 98.0%)各 50 mg(精确至 0.01 mg)，分别置于 100 mL 容量瓶中，用甲醇(4.2.2)溶解并定容，混匀。－18 ℃以下保存，盐酸氨丙啉标准储备溶液、乙氧酰胺苯甲酯标准储备溶液有效期均为 9 个月，磺胺喹噁啉标准储备溶液有效期为 6 个月。

4.2.10　标准中间溶液(100 μg/mL)：准确移取标准储备溶液(4.2.9)各 10 mL，分别置于 50 mL 容量瓶中，用甲醇(4.2.2)稀释并定容，混匀。－18 ℃以下保存，有效期均为 3 个月。乙氧酰胺苯甲酯标准中间溶液用甲醇(4.2.2)稀释 20 倍后(5 μg/mL)使用。

4.2.11　混合标准系列溶液：准确移取适量的标准中间溶液(4.2.10)，用复溶液(4.2.8)配制成盐酸氨丙啉质量浓度为 1 μg/mL、2 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL 和 50 μg/mL，乙氧酰胺苯甲酯质量浓度为 0.05 μg/mL、0.1 μg/mL、0.25 μg/mL、0.5 μg/mL、1.0 μg/mL 和 2.5 μg/mL，磺胺喹噁啉质量浓度为 0.6 μg/mL、1.2 μg/mL、3 μg/mL、6 μg/mL、12 μg/mL 和 30 μg/mL 的混合标准系列溶液。临用现配。

4.2.12　固相萃取柱：亲水亲脂平衡柱，60 mg/3 mL，或性能相当者。

4.2.13　微孔滤膜：0.45 μm，有机系。

4.3　仪器设备

4.3.1　液相色谱仪：配有紫外检测器(或二极管阵列检测器)和荧光检测器，荧光检测器串联在紫外检测器之后。

4.3.2　分析天平：精度 0.1 mg、0.01 mg。

4.3.3　旋涡混合器。

4.3.4　超声波清洗器。

4.3.5　离心机：转速不低于 5 000 r/min。

4.3.6　固相萃取装置。

4.3.7　氮吹仪。

4.4　样品

按 GB/T 20195 制备样品，至少 200 g，粉碎使其全部通过 0.425 mm 孔径的试验筛，充分混匀，装入磨口瓶中，备用。

4.5　试验步骤

4.5.1　提取

平行做两份试验。称取 2 g(m，精确至 0.1 mg)试样于 50 mL 离心管中，准确加入 25 mL 提取溶液(4.2.4)，混匀，超声提取 30 min(期间每隔 10 min 振摇 1 次)，5 000 r/min 离心 5 min，收集上清液，残渣重复提取一次，合并上清液(V)，备用。

4.5.2　净化

4.5.2.1　除脂

移取 8 mL 备用液(4.5.1)，加入 5 mL 正己烷(4.2.3)，涡旋 1 min，5 000 r/min 离心 5 min。准确移

取下层溶液 5 mL(V_1)(添加剂预混合饲料或混合型饲料添加剂移取 1 mL),于 40 ℃下氮气吹至近干,用 3 mL 磷酸盐缓冲液(4.2.5)涡旋溶解,混匀,5 000 r/min 离心 5 min,取全部上清液,备用。

4.5.2.2 固相萃取

依次用 3 mL 甲醇(4.2.2)、3 mL 水和 3 mL 磷酸盐缓冲液(4.2.5)活化固相萃取柱(4.2.12),备用液(4.5.2.1)全部过柱,依次用 3 mL 水、3 mL 淋洗溶液(4.2.6)淋洗,抽干,用 3 mL 甲醇(4.2.2)洗脱,收集洗脱液于 40 ℃下氮气吹至近干。准确加入 1 mL(V_2)复溶液(4.2.8)溶解,涡旋混匀。微孔滤膜(4.2.13)过滤,待测。

4.5.3 测定

4.5.3.1 高效液相色谱参考条件

高效液相色谱参考条件如下:

a) 色谱柱:C_{18}柱,柱长 250 mm,内径 4.6 mm,粒径 5 μm,或性能相当者;
b) 柱温:30 ℃;
c) 流动相:A 相为庚烷磺酸钠溶液(4.2.7),B 相为甲醇(4.2.2),梯度洗脱程序见表 1;
d) 流速:1 mL/min;
e) 进样量:20 μL;
f) 紫外检测波长:267 nm;
g) 荧光检测器:激发波长 306 nm,发射波长 350 nm。

表 1 梯度洗脱程序

时间 min	A 相(体积分数) %	B 相(体积分数) %
0.0	70	30
30.0	52	48
32.0	10	90
35.0	10	90
35.1	70	30
40.0	70	30

4.5.3.2 混合标准系列溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下,分别取混合标准系列溶液(4.2.11)和试样溶液(4.5.2.2)上机测定,紫外检测器(或二极管阵列检测器)测定盐酸氨丙啉和磺胺喹噁啉,荧光检测器测定乙氧酰胺苯甲酯。混合标准溶液的高效液相色谱图见附录 A。

4.5.3.3 定性

以保留时间定性,试样溶液与混合标准系列溶液(质量浓度相当)中待测物的保留时间一致,其相对偏差在±2.5%之内。

4.5.3.4 定量

以标准溶液中待测物质量浓度为横坐标、色谱峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,其相关系数应不低

于0.99。试样溶液中待测物的响应值应在标准曲线线性范围内,若超出线性范围,应将试样溶液用复溶液(4.2.8)稀释后重新测定。单点校准定量时,试样溶液中待测物的质量浓度与标准溶液的质量浓度相差不超过30%。

4.6 试验数据处理

试样中待测物的含量以质量分数 w_i 计,数值以毫克每千克(mg/kg)表示,多点校准按公式(1)计算,单点校准按公式(2)计算。

$$w_i = \frac{\rho_i \times V \times V_2 \times f \times 1\ 000}{V_1 \times m \times 1\ 000} \quad \cdots\cdots(1)$$

式中:

ρ_i ——由标准曲线查得的试样溶液中待测物质量浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

V ——试样提取溶液的总体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——氮气吹干后复溶液的体积,单位为毫升(mL);

f ——超出标准曲线后的稀释倍数;

V_1 ——净化过柱时所用试样提取溶液的体积,单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g);

1 000——换算系数。

$$w_i = \frac{A_i \times \rho_{is} \times V \times V_2 \times f \times 1\ 000}{A_{is} \times V_1 \times m \times 1\ 000} \quad \cdots\cdots(2)$$

式中:

A_i ——试样溶液中待测物的色谱峰面积;

ρ_{is} ——标准溶液中待测物的质量浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

V ——试样提取溶液的总体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——氮气吹干后复溶液的体积,单位为毫升(mL);

f ——超出标准曲线后的稀释倍数;

A_{is} ——标准溶液中待测物的色谱峰面积;

V_1 ——净化过柱时所用试样提取溶液的体积,单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g);

1 000 ——换算系数。

测定结果以平行测定的算术平均值表示,保留3位有效数字。

4.7 精密度

在重复性条件下,两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的10%。

5 液相色谱-串联质谱法

5.1 原理

试样中的待测物用甲醇溶液提取,经正己烷脱脂、亲水亲酯平衡固相萃取柱净化后,液相色谱-串联质谱仪测定,基质匹配标准曲线校准,外标法定量。

5.2 试剂或材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

5.2.1 水:GB/T 6682,一级。

5.2.2　甲醇:色谱纯。

5.2.3　乙腈:色谱纯。

5.2.4　正己烷。

5.2.5　提取溶液:甲醇(5.2.2)和水混合液,V(甲醇)+V(水)=4+1。

5.2.6　磷酸盐缓冲液:称取 0.2 g 磷酸二氢钾,13.68 g 三水合磷酸氢二钾,用水溶解并定容 1 000 mL,混匀。

5.2.7　淋洗溶液:移取 10 mL 甲醇(5.2.2),用水稀释并定容至 100 mL,混匀。

5.2.8　0.1%甲酸溶液:移取 1 mL 甲酸,用水稀释并定容至 1 000 mL。

5.2.9　复溶液:0.1%甲酸溶液(5.2.8)和乙腈(5.2.3)混合液,V(0.1%甲酸溶液)+V(乙腈)=3+7。

5.2.10　标准储备溶液(0.5 mg/mL):称取盐酸氨丙啉(CAS 号:137-88-2,纯度不低于 98.0%)、乙氧酰胺苯甲酯(CAS 号:59-06-3,纯度不低于 8.0%)、磺胺喹噁啉(CAS 号:59-40-5,纯度不低于 98.0%)各 50 mg(精确至 0.01 mg),分别于 100 mL 容量瓶中,用甲醇(5.2.2)溶解并定容,混匀。−18 ℃以下保存,盐酸氨丙啉准储备溶液、乙氧酰胺苯甲酯标准储备溶液有效期均为 9 个月,磺胺喹噁啉标准储备溶液有效期为 6 个月。

5.2.11　混合标准中间溶液(100 μg/mL):准确移取标准储备溶液(5.2.10)各 10 mL 于 50 mL 容量瓶中,用甲醇(5.2.2)稀释定容,混匀。于−18 ℃以下保存,有效期为 3 个月。

5.2.12　混合标准系列溶液:准确移取适量的混合标准中间溶液(5.2.11),用复溶液(5.2.9)配制成质量浓度分别均为 1 ng/mL、2 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL 的混合标准系列溶液。临用现配。

5.2.13　固相萃取柱:亲水亲脂平衡柱,60 mg/3 mL,或性能相当者。

5.2.14　微孔滤膜:0.22 μm,有机系。

5.3　仪器设备

5.3.1　液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源。

5.3.2　分析天平:精度为 0.1 mg、0.01 mg。

5.3.3　旋涡混合器。

5.3.4　超声波清洗器。

5.3.5　离心机:转速不低于 5 000 r/min。

5.3.6　固相萃取装置。

5.3.7　氮吹仪。

5.4　样品

按 GB/T 20195 制备样品,至少 200 g,粉碎使其全部通过 0.425 mm 孔径的试验筛,充分混匀,装入磨口瓶中,备用。选取类型相同、均匀一致、且在待测物保留时间处,仪器响应值小于方法定量限 30% 的饲料样品,作为空白样品。

5.5　试验步骤

5.5.1　提取

平行做两份试验。称取 2 g(m,精确至 0.1 mg)试样于 50 mL 离心管中,准确加入 25 mL 提取溶液(5.2.5),超声提取 30 min(期间每隔 10 min 振摇 1 次),5 000 r/min 离心 5 min,收集上清液,残渣重复提取一次,合并上清液(V),备用。

5.5.2 净化

5.5.2.1 除脂

移取 8 mL 备用液(5.5.1),加入 5 mL 正己烷(5.2.4),涡旋 1 min,5 000 r/min 离心 10 min。准确移取下层溶液 5 mL(V_1)(添加剂预混合饲料或混合型饲料添加剂移取 1 mL),于 40 ℃下氮气吹至近干,用 3 mL 磷酸盐缓冲液(5.2.6)涡旋溶解,混匀,5 000 r/min 离心 5 min,取全部上清液,备用。

5.5.2.2 固相萃取

依次用 3 mL 甲醇(5.2.2)、3 mL 水和 3 mL 磷酸盐缓冲液(5.2.6)活化固相萃取柱(5.2.13),备用液(5.5.2.1)全部过柱,依次用 3 mL 水、3 mL 淋洗溶液(5.2.7)淋洗,抽干,用 3 mL 甲醇(5.2.2)洗脱,收集洗脱液于 40 ℃下氮气吹至近干,准确加入 2 mL(V_2)复溶液(5.2.9)溶解,涡旋混匀。微孔滤膜(5.2.14)过滤,待测。

5.5.3 基质匹配混合标准系列溶液的配制

按 5.5.1 和 5.5.2 处理 6 份空白试样,空白试样溶液过柱吹干后,分别准确加入混合标准系列溶液(5.2.12)各 1 mL,涡旋混匀,配制成质量浓度分别为 1 ng/mL、2 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL 的基质匹配混合标准系列溶液。

5.5.4 测定

5.5.4.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

a) 色谱柱:C_{18}柱,柱长 100 mm,内径 2.1 mm,粒径 2.7 μm,或性能相当者;
b) 柱温:30 ℃;
c) 流速:0.2 mL/min;
d) 进样量:5 μL;
e) 流动相:A 相为 0.1%甲酸溶液(5.2.8),B 相为乙腈(5.2.3),梯度洗脱程序见表 2。

表 2 梯度洗脱程序

时间 min	A 相(体积分数) %	B 相(体积分数) %
0.0	70	30
2.0	70	30
3.0	5	95
4.0	5	95
4.1	70	30
6.0	70	30

5.5.4.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下:

a) 电离模式:电喷雾电离,正离子模式(ESI^+);

b) 检测方式：多反应监测(MRM)；
c) 毛细管电压：3.5 kV；
d) 离子源温度：150 ℃；
e) 脱溶剂温度：350 ℃；
f) 多反应监测(MRM)离子对及碰撞能量参考值见表3。

表3 多反应监测(MRM)离子对、锥孔电压及碰撞能量参考值

待测物名称	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
盐酸氨丙啉	243.3/150.1	243.3/150.1	14	15
	243.3/94.2		12	25
乙氧酰胺苯甲酯	238.3/136.2	238.3/136.2	27	35
	238.3/164.2		20	25
磺胺喹噁啉	301.2/156.1	301.2/156.1	27	11
	301.2/108.1		17	22

5.5.4.3 基质匹配混合标准系列溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下，分别取基质匹配混合标准系列溶液(5.5.3)和试样溶液(5.5.2.2)上机测定。基质匹配混合标准溶液的定量离子色谱图见附录B。

5.5.4.4 定性

在相同试验条件下，试样溶液与基质匹配混合标准系列溶液(质量浓度相当)中待测物的保留时间一致，其相对偏差在±2.5%之内。根据表3选择的定性离子对，比较试样谱图中待测物定性离子的相对离子丰度与浓度接近的基质匹配标准系列溶液中对应的定性离子的相对离子丰度，若偏差不超过表4规定，则可判定为样品中存在对应的待测物。

表4 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 %	>50	>20～50	>10～20	≤10
最大允许偏差 %	±20	±25	±30	±50

5.5.4.5 定量

以基质匹配混合标准系列溶液中待测物的质量浓度为横坐标、定量离子色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，其相关系数应不低于0.99。试样溶液中待测物的响应值应在标准曲线线性范围内，若超出线性范围，应调整称样量和(或)净化时移取备用液(5.5.1)的体积，重新测定。单点校准定量时，试样溶液中待测物的质量浓度与基质匹配混合标准溶液的质量浓度相差不超过30%。

5.6 试验数据处理

试样中待测物的含量以质量分数 ω_i 计，数值以毫克每千克(mg/kg)表示，多点校准按公式(3)计

算，单点校准按公式(4)计算。

$$\omega_i = \frac{\rho_i \times V \times V_2 \times 1\,000}{V_1 \times m \times 1\,000 \times 1\,000} \qquad \cdots\cdots (3)$$

式中：

ρ_i ——由基质匹配标准曲线查得试样溶液中待测物的质量浓度，单位纳克每毫升(ng/mL)；

V ——试样提取溶液的总体积，单位为毫升(mL)；

V_2 ——氮气吹干后复溶液的体积，单位为毫升(mL)；

V_1 ——净化过柱时所用试样提取溶液的体积，单位为毫升(mL)；

m ——试样质量，单位为克(g)；

1 000——换算系数。

$$\omega_i = \frac{A_i \times \rho_{is} \times V \times V_2 \times 1\,000}{A_{is} \times V_1 \times m \times 1\,000 \times 1\,000} \qquad \cdots\cdots (4)$$

式中：

A_i ——试样溶液中待测物的色谱峰面积；

ρ_{is} ——基质匹配混合标准溶液中待测物的质量浓度，单位为纳克每毫升(ng/mL)；

V —— 试样提取溶液的总体积，单位为毫升(mL)；

V_2 ——氮气吹干后复溶液的体积，单位为毫升(mL)；

A_{is} ——基质匹配混合标准溶液中待测物的色谱峰面积；

V_1 ——净化过柱时所用试样提取溶液的体积，单位为毫升(mL)；

m ——试样质量，单位为克(g)；

1 000 ——换算系数。

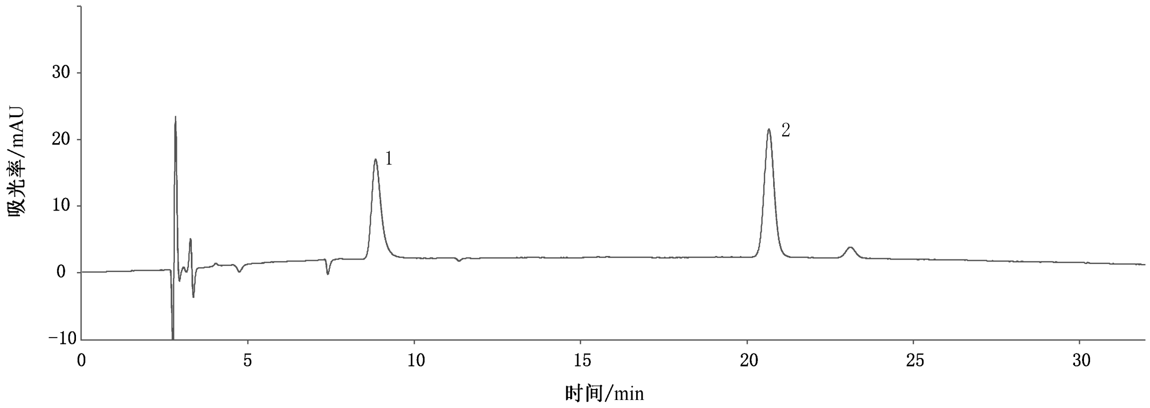
测定结果以平行测定的算术平均值表示，保留3位有效数字。

5.7 精密度

在重复性条件下，两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的20%。

附　录　A
（资料性）
盐酸氨丙啉、乙氧酰胺苯甲酯和磺胺喹噁啉混合标准溶液高效液相色谱图

A.1　盐酸氨丙啉和磺胺喹噁啉标准溶液的高效液相色谱图见图 A.1。



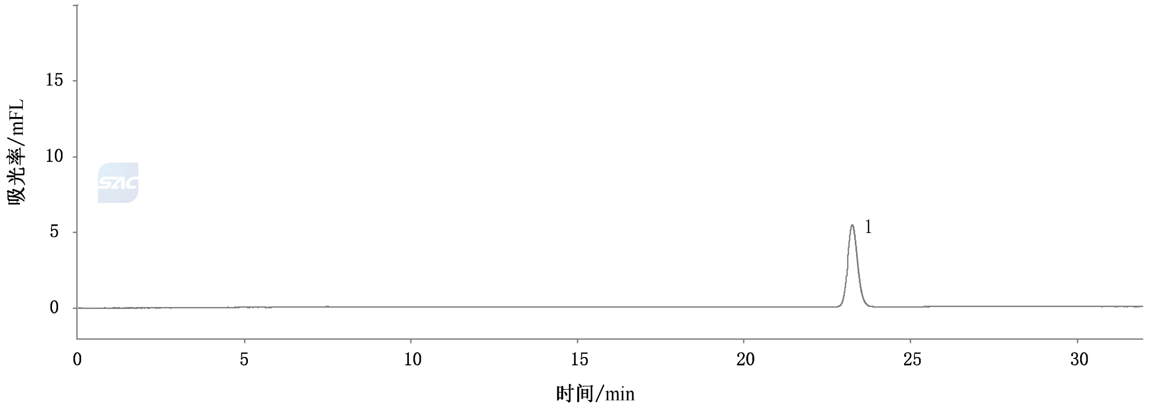
标引序号说明：

1——盐酸氨丙啉；

2——磺胺喹噁啉。

图 A.1　盐酸氨丙啉（10 μg/mL）、磺胺喹噁啉（6 μg/mL）标准溶液的高效液相色谱图

A.2　乙氧酰胺苯甲酯标准溶液的高效液相色谱图见图 A.2。



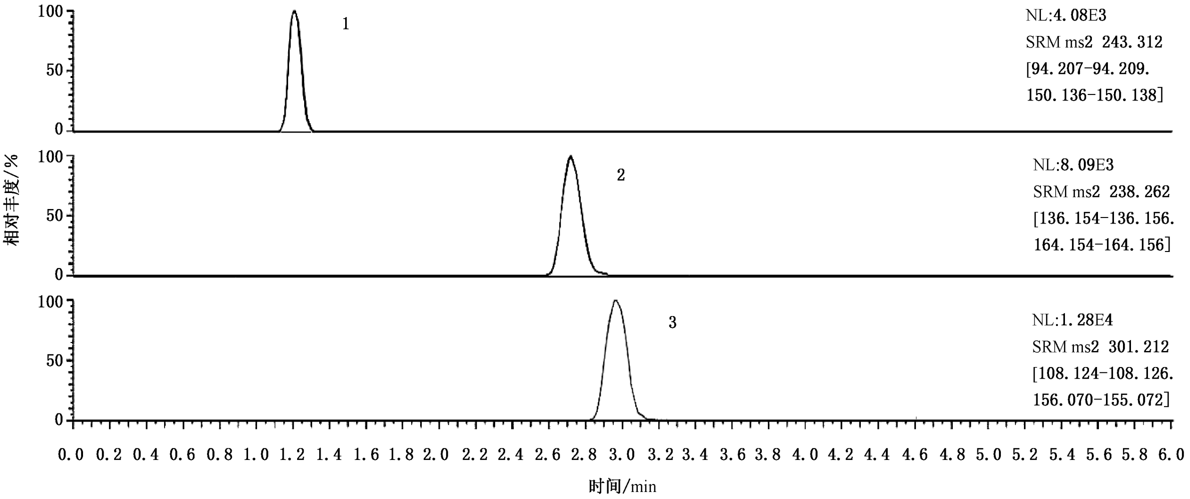
标引序号说明：

1——乙氧酰胺苯甲酯。

图 A.2　乙氧酰胺苯甲酯（0.5 μg/mL）标准溶液的高效液相色谱图

附　录　B
（资料性）
盐酸氨丙啉、乙氧酰胺苯甲酯和磺胺喹噁啉定量离子色谱图

盐酸氨丙啉、乙氧酰胺苯甲酯和磺胺喹噁啉定量离子色谱图见图 B.1。



标引序号说明：

1——盐酸氨丙啉；

2——磺胺喹噁啉；

3——乙氧酰胺苯甲酯。

图 B.1　基质匹配混合标准溶液中盐酸氨丙啉、乙氧酰胺苯甲酯和磺胺喹噁啉(20 ng/mL)定量离子色谱图