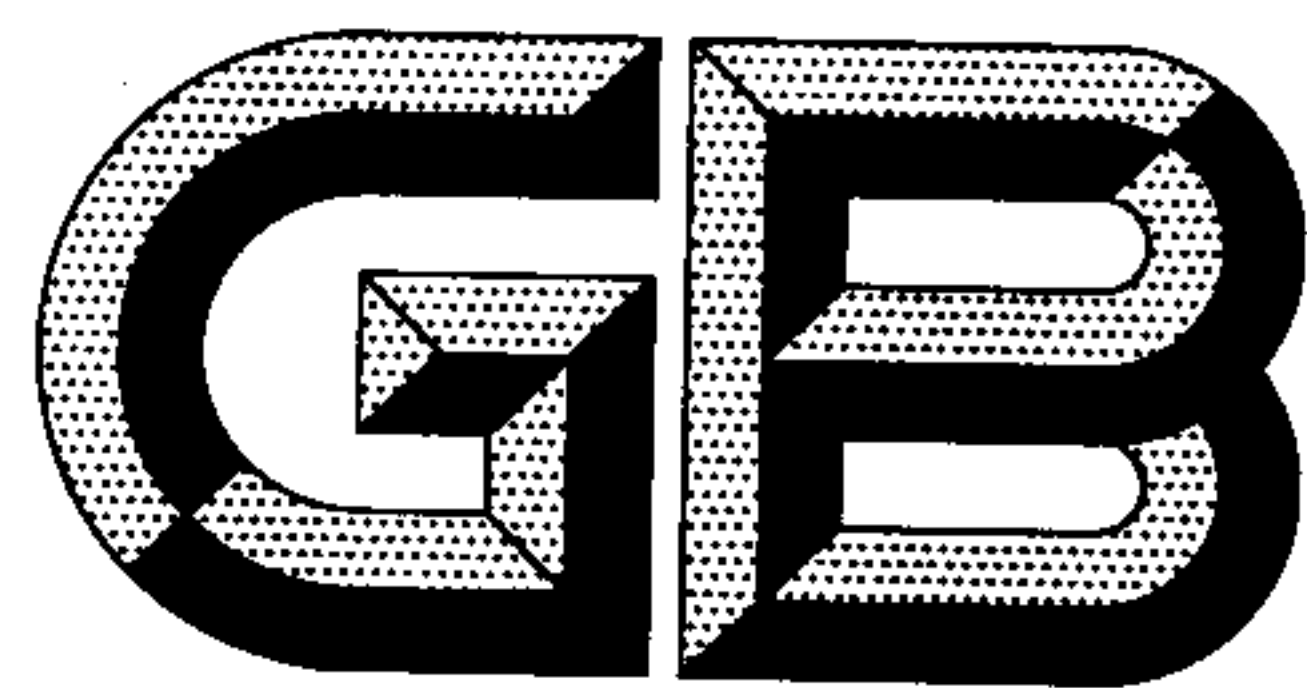




中华人民共和国国家标准

GB/T 21037—2007

饲料中三甲氧苄胺嘧啶的测定 高效液相色谱法

Determination of trimethoprim in feeds—
High performance liquid chromatography

2007-06-21 发布

2007-09-01 实施



中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布

饲料中三甲氧苄胺嘧啶的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了测定饲料中三甲氧苄胺嘧啶含量的高效液相色谱法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料和预混合饲料中三甲氧苄胺嘧啶含量的测定。本方法的最低检测限为 1.0 mg/kg,最低定量限为 2.0 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 14699.1 饲料 采样

3 方法原理

用二氯甲烷-乙酸钠溶液提取饲料中的三甲氧苄胺嘧啶,经离心除去固体物及部分杂质后,取下层有机相适量,氮气吹干后用 1% 冰乙酸溶液复溶,用正己烷除脂,下层水相经滤膜过滤后用高效液相色谱紫外检测器检测。

4 试剂和材料

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

4.1 甲醇:色谱纯。

4.2 二氯甲烷。

4.3 正己烷。

4.4 乙酸钠溶液(82 g/L):取 8.2 g 乙酸钠于 100 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,混匀。

4.5 乙酸溶液(1%):取 1 mL 冰乙酸于 100 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,混匀。

4.6 乙酸溶液(0.5%):取 0.5 mL 冰乙酸于 100 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,混匀。

4.7 三甲氧苄胺嘧啶标准贮备液:准确称取三甲氧苄胺嘧啶标准品(含量大于 98%)0.100 g 于 100 mL 的容量瓶中,用乙酸溶液(4.5)溶解并定容,配制成浓度为 1 mg/mL 的三甲氧苄胺嘧啶贮备液。4℃ 条件下贮藏,有效期三个月。

4.8 三甲氧苄胺嘧啶标准中间液:移取 10 mL 标准贮备液(4.7)置于 100 mL 的容量瓶中,用乙酸溶液(4.5)稀释并定容,配制成浓度为 100 µg/mL 的三甲氧苄胺嘧啶标准中间液。4℃ 条件下贮藏,有效期一个月。

4.9 三甲氧苄胺嘧啶标准工作液:分别移取三甲氧苄胺嘧啶标准中间液(4.8)0.025 mL、0.125 mL、0.250 mL、1.25 mL、2.50 mL、12.5 mL 于 25 mL 容量瓶中,用乙酸溶液(4.5)稀释定容配制成浓度为 0.1 µg/mL、0.5 µg/mL、1.0 µg/mL、5.0 µg/mL、10.0 µg/mL 和 50.0 µg/mL 标准工作液。

5 仪器和设备

5.1 实验室常用仪器、设备。

5.2 高效液相色谱仪(配有紫外检测器)。

5.3 分析天平:感量为 0.000 1 g。

5.4 旋涡混合器。

5.5 离心机。

5.6 超声波清洗器。

6 试样制备

按 GB/T 14699.1 规定,取有代表性的样品 1 kg,四分法缩减取约 200 g,经粉碎,全部过孔径 0.45 mm 孔筛,混匀装入磨口瓶中备用。

7 分析步骤

7.1 试样提取

称取一定量的试样(配合饲料约 2 g,浓缩饲料约 1 g,预混合饲料约 1 g,准确至 0.001 g),置于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 乙酸钠溶液(4.4)和 20 mL 二氯甲烷,水浴超声 15 min,每隔 5 min 涡动一次,每次涡动 1 min,3 800 r/min 离心 10 min。

7.2 净化

用 10 mL 注射器吸取 10 mL 的下层二氯甲烷于 10 mL 离心管中,3 800 r/min 离心 10 min。小心吸取再次离心过的二氯甲烷提取液 2 mL 于另一个 10 mL 离心管中,40℃ 下氮气吹干。加入 1 mL 乙酸溶液(4.5),涡动 10 s,再加入 2 mL 正己烷,涡动 20 s,3 800 r/min 离心 10 min。下层水相用 2 mL 正己烷重复洗涤一次。经孔径为 0.45 μ m 滤膜过滤后用高效液相色谱分析。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱条件

色谱柱: C_{18} 柱,长 250 mm,内径 4.6 mm,粒径 5 μ m,或相当者;

柱温:35℃;

流动相:0.5% 乙酸溶液(4.6)+甲醇,75+25(V_1+V_2);

流速:0.5 mL/min;

检测波长:270 nm;

进样体积:50 μ L。

7.3.2 液相色谱测定

分别取适量的标准工作液和试样溶液,按 7.3.1 列出的条件进行液相色谱分析测定。以标准工作液作单点或多点校准,并用色谱峰面积积分值定量。测定中应注意调整试样溶液的浓度,使三甲氧苄胺嘧啶的积分值落在标准曲线的相应范围内,并在试样溶液分析间适当穿插标准工作液,以确保定量的准确性。所得三甲氧苄胺嘧啶的色谱图见图 1。

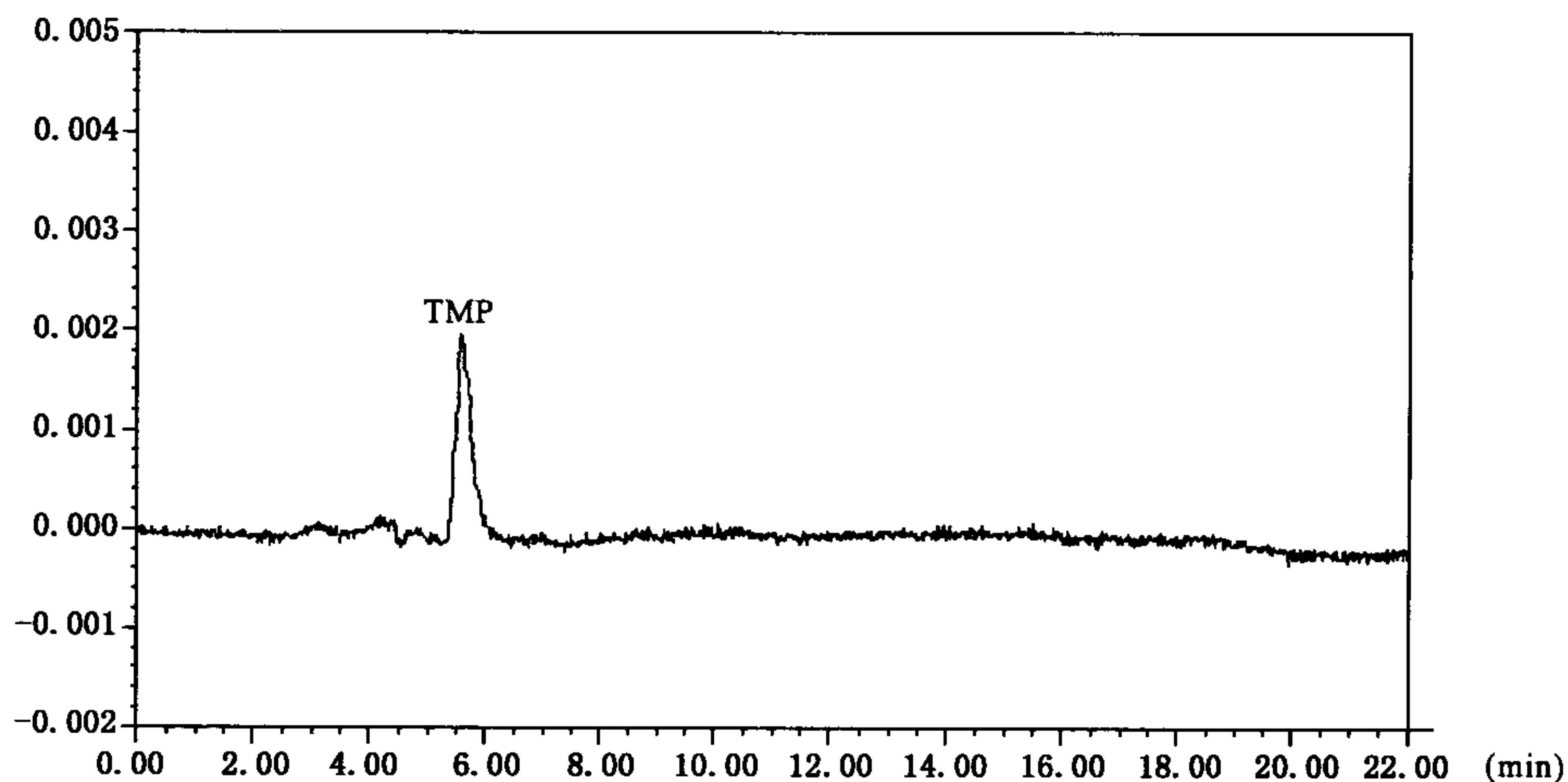


图 1 400 ng/mL 标准溶液色谱图

8 结果计算与表述

饲料中三甲氧苄胺嘧啶的含量 X , 以质量分数 (mg/kg) 表示, 按式(1)计算:

$$X = \frac{c \cdot V \cdot n}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

c ——试样液中对应的三甲氧苄胺嘧啶的浓度, 单位为微克每毫升 ($\mu\text{g/mL}$);

V ——试样液总体积, 单位为毫升 (mL);

n ——稀释倍数;

m ——饲料样品质量, 单位为克 (g)。

测定结果用平行测定的算术平均值表示, 保留三位有效数字。

9 精密度

同一实验室由同一操作人员使用同一台仪器完成的两个平行测定结果的相对偏差不大于 15%。
