



中华人民共和国国家标准

GB/T 8381.7—2009
代替 GB/T 8381.7—2005

饲料中喹乙醇的测定 高效液相色谱法

Determination of olaquinox in feed—
High performance liquid chromatography

2009-05-12 发布

2009-09-01 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

前 言

本标准代替 GB/T 8381.7—2005《饲料中噻乙醇的测定 高效液相色谱法》。

本标准与 GB/T 8381.7—2005 相比主要变化如下：

——在试样提取过程中增加了固相萃取净化方法，流动相不再做 pH 调整。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)提出并归口。

本标准负责起草单位：农业部饲料工业中心、农业部饲料效价与安全监督检验测试中心(北京)、中国农业大学。

本标准主要起草人：杨文军、张丽英、王宗义、贺平丽。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

——GB/T 8381.7—2005。

饲料中喹乙醇的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了以高效液相色谱测定饲料中喹乙醇的方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料和添加剂预混合饲料中喹乙醇的测定,最低定量限为 1 mg/kg,检出限为 0.1 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 6682—2008,ISO 3696:1987,MOD)

3 原理

试样中的喹乙醇以甲醇溶液提取,固相萃取小柱净化,反相液相色谱柱分离测定,紫外检测器检测,外标法定量分析。

4 试剂和溶液

除非另有规定,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和符合 GB/T 6682 规定的三级用水。

警告——喹乙醇对光敏感,应避免光操作及使用棕色容器。

- 4.1 甲醇(色谱纯)。
- 4.2 提取液:甲醇+水=5+95。
- 4.3 高效液相色谱流动相:甲醇和超纯水(采用二元梯度)。
- 4.4 淋洗液 1: 0.02 mol/L 盐酸。移取 1.67 mL 盐酸定容至 1 000 mL。
- 4.5 淋洗液 2: 0.1 mol/L 盐酸。移取 8.33 mL 盐酸定容至 1 000 mL。
- 4.6 淋洗液 3: 甲醇+水=5+95。
- 4.7 洗脱液: 甲醇+水=40+60。
- 4.8 喹乙醇标准储备液:准确称取喹乙醇标准品 0.050 20 g(含量≥99.6%),于 50 mL 棕色容量瓶中,超声溶解,冷却至室温,定容至刻度,摇匀,使其溶液浓度为 1 mg/mL,储存于-18℃冰箱中,可使用一个月。
- 4.9 喹乙醇标准工作液:准确量取标准储备液(4.8)于容量瓶中,用洗脱液(4.7)稀释,依次配制成浓度为 0.1 μg/mL、1.0 μg/mL、5.0 μg/mL、10.0 μg/mL、20.0 μg/mL、50.0 μg/mL、100.0 μg/mL 的标准溶液,现配现用。

5 仪器

- 5.1 离心机:3 500 r/min。
- 5.2 摇床:转速可达 110 r/min。
- 5.3 螺口离心管:50 mL。

- 5.4 超声波清洗器。
- 5.5 微孔有机相滤膜:孔径 0.22 μm 。
- 5.6 固相萃取小柱(SPE);Oasis HLB 1 mL(30 mg)或性能相当者。
- 5.7 固相萃取仪。
- 5.8 恒温振荡器。

6 试样制备

选取有代表性饲料样品至少 500 g,四分法缩减至 100 g,磨碎,全部通过 0.42 mm 孔径筛,混匀,装入密闭容器中,避光低温保存,备用。

7 分析步骤

7.1 试液的制备

7.1.1 提取

称取 5 g 试样(准确至 0.1 mg)于具塞锥形瓶中,加入 50 mL 提取液(4.2),具塞置入摇床中,室温下恒温振荡器振荡速度 110 r/min,避光振荡 45 min。提取液在 3 500 r/min 下离心 10 min,上清液经滤纸过滤,滤液作为 SPE 小柱净化使用。

7.1.2 净化

SPE 小柱的活化:临用前分别向 SPE 小柱中加入 2 mL 甲醇(4.1)和 2 mL 超纯水,对小柱进行活化。将滤液(7.1.1)2 mL 加入活化好的 SPE 小柱,分别用 2 mL 淋洗液 1(4.4)、淋洗液 2(4.5)和淋洗液 3(4.6)淋洗小柱,并将小柱吹干。最后用 2 mL 洗脱液(4.7)洗脱。

7.1.3 上机

洗脱液过 0.22 μm 有机相滤膜,滤液上机测定。

7.2 色谱条件

7.2.1 色谱柱:具有 C_{18} 填料的柱子(粒度为 5 μm),柱长 250 mm,内径 4.6 mm。

7.2.2 流动相及洗脱程序:如表 1。

表 1 梯度洗脱程序

| 时间/min | 超纯水/% | 甲醇/% |
|--------|-------|------|
| 0 | 85 | 15 |
| 5 | 85 | 15 |
| 10 | 30 | 70 |
| 14 | 30 | 70 |
| 18 | 85 | 15 |
| 25 | 85 | 15 |

7.2.3 流速:1.00 mL/min。

7.2.4 进样体积:10 μL ~20 μL 。

7.2.5 检测器:紫外检测器,检测波长 260 nm。

8 定量测定

按高效液相色谱仪说明书调整仪器操作参数。向液相色谱柱中注入待测定噻乙醇标准工作液及试样溶液(7.1.3),得到色谱峰面积响应值,用外标法定量。

9 结果计算

9.1 试样中唑乙醇的质量分数 w_i (mg/kg) 按式(1)计算:

$$w_i = \frac{P_i \times V \times c_i \times V_{st}}{P_{st} \times m \times V_i} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

P_i ——试样溶液峰面积值;

V ——样品的总稀释体积,单位为毫升(mL);

c_i ——标准溶液浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

V_{st} ——标准溶液进样体积,单位为微升(μL);

P_{st} ——标准溶液峰面积平均值;

m ——试样质量,单位为克(g);

V_i ——试样溶液进样体积,单位为微升(μL)。

9.2 平行测定结果用算术平均值表示,保留三位有效数字。

10 重复性

同一分析者对同一试样同时两次平行测定结果的相对偏差不大于10%。