

# DB34

安 徽 省 地 方 标 准

DB 34/T 1358—2011

---

## 饲料中黄霉素的测定—高效液相色谱法

Determination of flavomycin in feed—High efficiency liquid chromatographymethod

2011 - 03 - 16 发布

2011 - 04 - 16 实施

---

安徽省质量技术监督局 发布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

本标准由安徽省畜牧兽医局提出。

本标准由安徽省农业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：安徽省兽药饲料监察所(安徽省畜产品质量安全检测中心)。

本标准主要起草人：明文庆、刘红云、张莉、蔡一杰、吴蕾、丁作坤、陶小平、钱志平、吴昊。

# 饲料中黄霉素的测定—高效液相色谱法

## 1 范围

本标准规定了饲料中黄霉素检验的高效液相色谱法测定方法。  
本标准适用于饲料中黄霉素的测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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 14699.1 饲料 采样

## 3 试样制备

按 GB/T 14699.1 抽取有代表性的饲料样品，用四分法缩减取约 200 g，粉碎至过 0.45 mm 孔径的分析筛，混匀，装入磨口瓶中备用。

## 4 原理

饲料中黄霉素经 50% 的甲醇提取后，用 pH 6.0 磷酸盐缓冲液稀释至所需浓度，反相色谱柱进行分离，紫外检测器检测，外标法定量。

## 5 试剂和溶液

5.1 除非另有说明，本法所用试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 二级水的规定。

5.2 黄霉素对照品：纯度 100%。

5.3 黄霉素储备液：精密称取黄霉素对照品适量，用甲醇配制成 1 mg/mL，作为标准储备液（贮存 4℃ 冰箱保存 10 天）。

5.4 黄霉素标准工作液：量取适量黄霉素储备液，用 pH 6.0 磷酸盐缓冲液稀释成浓度为 0.05、0.10、0.25、0.50、1.00、2.50 μg/mL 的系列标准工作液（4℃ 保存 7 天）。

5.5 甲醇：色谱纯。

5.6 乙腈：色谱纯。

5.7 甲酸铵。

5.8 磷酸。

5.9 pH 6.0 磷酸盐缓冲液：称取磷酸氢二钾 2 g 与磷酸二氢钾 8 g，加水使溶解成 1000 mL，即得。

## 6 仪器设备

- 6.1 高效液相色谱仪(配紫外检测器)。
- 6.2 饲料粉碎机。
- 6.3 分析天平, 感量 0.0001 g, 0.001 g。

## 7 测定步骤

### 7.1 试样提取

称取粉碎后的饲料样品 5 g (精确至 0.001 g), 加入 50.0 mL 50% 甲醇溶液提取后, 过滤, 滤液用磷酸盐缓冲液 pH 6.0 稀释至所需的适当浓度, 经 0.45 μm 滤膜过滤后供高效液相色谱仪分析。

### 7.2 色谱条件

色谱柱: C<sub>18</sub> 柱(4.6×150 mm, 5 μm)或性能相当的色谱柱。  
流速: 0.7 mL/min。  
检测波长: 258 nm。  
进样量: 20 μL。  
流动相: 乙腈: 0.2% 甲酸铵水溶液=45:55 (用 10% 磷酸调节至 pH 4.9)

### 7.3 上机测定

取标准工作液和样品试液分别注入液相色谱仪, 记录谱图, 按外标法以峰面积进行计算。

## 8 结果计算

按照下式计算试样中药物的含量:

$$X = \frac{A \times C_s \times V \times 1000}{A_s \times m \times 1000} \times n \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X —— 试样中药物的含量, 单位为毫克每千克 (mg/kg);
- A —— 应的色谱峰面积响应值;
- A<sub>s</sub> —— 标准溶液对应的色谱峰面积响应值;
- V —— 定容体积, 单位为毫升 (mL);
- C<sub>s</sub> —— 标准溶液的浓度, 单位为微克每毫升 (μg/mL);
- m —— 试样质量, 单位为克 (g);
- n —— 稀释倍数。

平行测定结果用算术平均值表示, 结果保留 3 位有效数字。

## 9 检测方法灵敏度、准确度、精密度

### 9.1 灵敏度

本方法的检测限为 0.5 mg/kg。

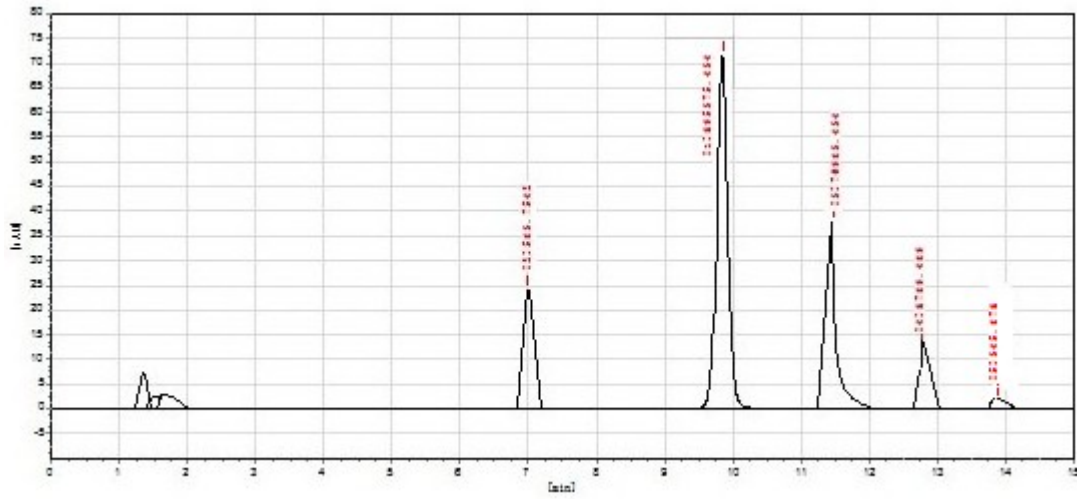
### 9.2 准确度

本方法添加浓度 1.0 mg/kg, 回收率为 80%~120%。

### 9.3 精密度

本方法的批内变异系数  $CV \leq 10\%$ ，批间变异系数  $CV \leq 15\%$ 。

附录 A  
(资料性附录)  
黄霉素标准溶液色谱图



图A.1 黄霉素标准溶液色谱图