

中华人民共和国农业行业标准

NY/T ××××—202×

饲料中地昔尼尔的测定 高效液相色谱法

Determination of dicyclanil in feeds—High performance liquid chromatography

(公开征求意见稿)

202×-××-××发布

202×-××-××实施

中华人民共和国农业农村部 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。

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。

本文件由中华人民共和国农业农村部畜牧兽医局提出。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

饲料中地昔尼尔的测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了饲料中地昔尼尔含量的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料和添加剂预混合饲料中地昔尼尔的测定。

本文件的检出限为0.3 mg/kg，定量限为1.0 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 原理

试样中的地昔尼尔经乙腈提取后，用亲水-亲酯固相萃取柱净化，用高效液相色谱仪检测，外标法定量。

5 试剂或材料

除非另有说明，所用试剂均为分析纯。

5.1 水：GB/T 6682，一级。

5.2 乙腈：色谱纯。

5.3 0.1%甲酸水溶液：准确移取 1 mL 甲酸（色谱纯），用水稀释并定容至 1000 mL。

5.4 地昔尼尔标准储备溶液：准确称取 0.1 g（精确至 0.000 01 g）地昔尼尔对照品（CAS：112636-83-6，纯度≥99%）于 100 mL 棕色容量瓶中，用甲醇溶解并定容，配制成浓度为 1 mg/mL 的标准储备溶液，于 2 °C~8 °C 保存，有效期 3 个月。

5.5 标准工作溶液：将地昔尼尔标准储备溶液（5.4）用甲醇进行逐级稀释，配制成浓度分别为 0.2、1.0 μg/mL、2.0 μg/mL、5.0 μg/mL、10.0 μg/mL、50.0 μg/mL、100.0 μg/mL 的系列标准工作溶液。临用现配。

5.6 亲水-亲酯固相萃取柱：200 mg/6 mL 或相当性能的固相萃取柱。

5.7 滤膜：0.22 μm，有机系。

6 仪器设备

- 6.1 高效液相色谱仪：配备紫外检测器或二极管阵列检测器。
- 6.2 分析天平：感量 0.000 01 g、感量 0.001 g。
- 6.3 离心机：转速不低于 10 000 r/min。
- 6.4 超声波清洗器。
- 6.5 固相萃取装置。
- 6.6 氮吹仪。

7 样品

按照GB/T 20195规定制备试样，至少200 g，粉碎使其全部通过0.425 mm 分析筛，混合均匀，装入密闭容器中，避光保存备用。

8 试验步骤

8.1 提取

平行做两份试验。称取约2.0 g（精确至0.001 g）试样置于50 mL离心管中，加入20 mL乙腈，漩涡混合30 s，再置于超声波清洗器中超声提取30 min，期间摇动2次。10 000 r/min离心5 min，取上清液备用。

8.2 净化

固相萃取柱预先用3 mL乙腈活化，准确移取5 mL试样提取液（8.1）过柱，收集流出液。50 °C氮气吹干，残余物用 1 mL 乙腈/水（50：50）复溶，漩涡 1 min 使其充分溶解，过 0.22 μm 有机滤膜后供高效液相色谱仪测定。

8.3 液相色谱参考条件

色谱柱：NH₂ 色谱柱，长 250 mm，内径 4.6 mm，粒径 5 μm，或性能相当者。

流动相：乙腈 + 0.1%甲酸水溶液（98 + 2）。

流速：0.8 mL/min。

柱温：35 °C。

检测波长：270 nm。

进样量：20 μL。

8.4 定量测定

按照高效液相色谱仪说明书调整仪器操作参数，向色谱柱注入相应的地昔尼尔标准工作液（5.5）和试样溶液（8.2），得到色谱峰面积响应值，用外标法定量测定，地昔尼尔标准色谱图参见附录A。

9 试验数据处理

试样中地昔尼尔的含量以质量分数 w 计，数值以毫克每千克（mg/kg）表示。多点校准按式（1）计算；单点校准按式（2）计算：

$$w = \frac{\rho \times V \times n \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

ρ ——从标准曲线查得的试样溶液地昔尼尔的质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V ——提取溶液的体积，单位为毫升（ mL ）；

n ——稀释倍数；

m ——试样质量，单位为克（ g ）。

$$w = \frac{A \times \rho \times V \times n \times 1000}{A_{st} \times m \times 1000} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

A ——试样溶液中地昔尼尔色谱峰面积；

A_{st} ——标准溶液中地昔尼尔的色谱峰面积；

ρ ——标准溶液中地昔尼尔的质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V ——试样提取溶液的体积，单位为毫升（ mL ）；

n ——稀释倍数；

m ——试样质量，单位为克（ g ）。

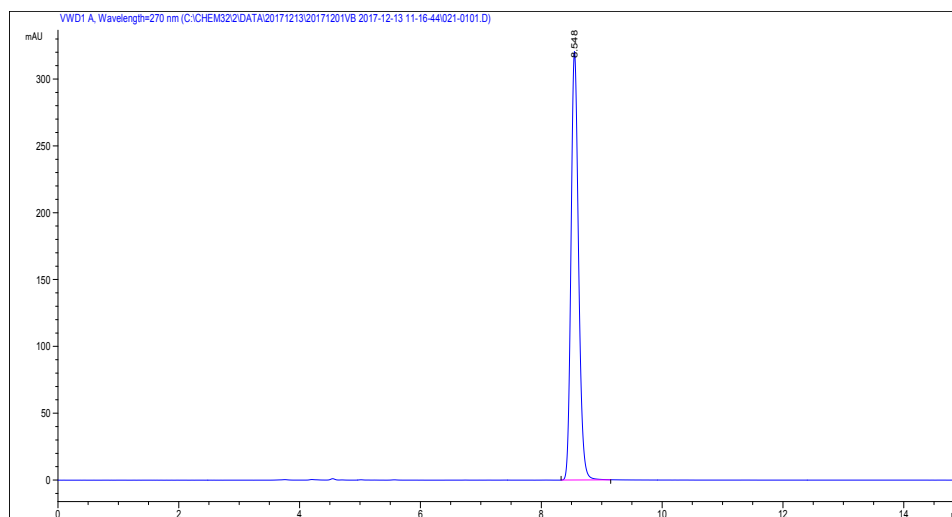
测定结果以平行测定的算术平均值表示，保留3位有效数字。

10 精密度

在重复性条件下，获得的两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不超过该算术平均值的20%。

附录 A
(资料性)
地昔尼尔标准溶液高效液相色谱图

地昔尼尔标准溶液高效液相色谱图见图 A.1。



图A.1 地昔尼尔标准溶液（10 μg/mL）高效液相色谱图

中华人民共和国农业行业标准

饲料中地昔尼尔的测定 高效液相色谱法

编制说明

(公开征求意见稿)

中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所

中华人民共和国农业行业标准

饲料中地昔尼尔的测定 高效液相色谱法

标准编制说明

一、标准制定背景及任务来源

1.1 任务来源

本项目为推荐性农业行业标准项目，是农业部 2016 年农业行业标准制定和修订任务（编号：2016-28-34），任务下达名称为《饲料中地昔尼尔的测定 高效液相色谱法》，由中华人民共和国农业农村部畜牧兽医局提出，全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）归口，中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所负责起草。

1.2 标准制定的意义

“国以民为本，民以食为天，食以安为先”，食品安全关系国计民生，关乎国家经济发展和社会和谐稳定，是当前我国乃至全球共同关注的热点问题。其中，随着人们生活水平的不断提高，消费者饮食结构中的肉类消费逐年攀升，由药物残留所引发的动物源性食品安全问题日渐突出。饲料质量安全与动物源性食品安全息息相关，将某些禁用药物或允许使用的药物超量添加于饲料中用于饲喂动物，以求达到减少疾病、促进生长的目的，是造成动物性食品中药物残留的重要原因。例如发生于我国的“氯霉素”污染事件、“瘦肉精”中毒事件、“苯乙醇胺 A”事件、“三聚氰胺”事件等，均为向饲料中非法添加药物所致。因此饲料质量是动物性食品安全的前提和根本保证，作为饲料质量安全监控体系中极其重要的一环，制定饲料中相关风险物质的检测方法标准则显得尤为重要。

地昔尼尔（Dicyclanil）又名丙虫啉，其化学结构式见下图 1。地昔尼尔是一种新型昆虫生长调节剂，强调对害虫种群进行控制和调节，可选择性地有效防治害虫，能保持正常的自然生态又不会导致环境污染。作为新一代体外杀虫剂，地昔尼尔对双翅目昆虫和蚤有高度杀灭作用，可阻止各种蝇、蚊及蚤的幼虫发育成蛹和成虫。地昔尼尔不易耐受，在动物组织中的残留量低，具有很高的生态社会效益，因而在畜牧养殖业中应用广泛。

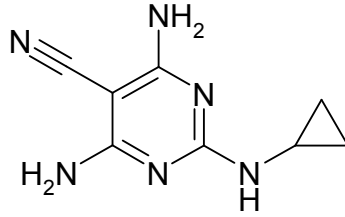


图 1 地昔尼尔的化学结构

然而，动物实验研究结果表明地昔尼尔对大鼠有 DNA 的氧化损伤和致癌作用，因此很多国家已经制定了动物食品中的最大残留限量。最近发现有非法将地昔尼尔作为饲料添加剂用于饲料生产的现象，直接威胁到我国的动物性食品安全，因此建立饲料中地昔尼尔的检测方法，对维护我国的饲料和畜产品安全具有重要作用。

本标准是在参阅大量相关文献资料和各个检测机构和饲料企业的合理建议，本着科学准确的原则，结合我国现阶段实验水平制定的。

二、主要工作过程

2016 年标准制定项目任务下达后，我单位及时成立了标准起草小组，负责标准的研制和编制起草工作。编制组进行了广泛的调查和深入研究工作，开展该项标准的制定工作，具体工作过程如下：

2016 年 7 月~12 月：检测技术资料收集分析及仪器分析条件的优化。通过检索收集国内外关于地昔尼尔的检测方法标准和文献资料，在现有研究基础上综合分析后，拟定样品前处理方法和仪器检测条件等初步实验方案。

2017 年 1 月~9 月：仪器分析方法和样品前处理方法的确定。在对高效液相色谱法和液相色谱串联质谱法进行研究的基础上，综合考虑到标准方法的精密性和适用性，本标准采用了高效液相色谱法进行饲料中地昔尼尔的检测，通过优化选择合适的提取溶剂、提取方式以及净化方法等，建立了饲料中地昔尼尔的高效液相色谱检测方法。

2017 年 9 月~12 月：方法学评价和验证比对。对建立检测方的法进行方法学评价，包括实验室内的准确度（回收率）、精密度、线性范围等。按照检测方法农业行业标准的格式，起草完成的征求意见稿和编制说明。

2018 年 01 月~04 月：起草标准征求意见稿。通过发函征询意见，形成标准预审稿，提交标准审查。

2018 年 04 月 22 日：组织专家对标准进行审查，专家组提出修改意见，包

括在试验数据处理处增加标准曲线校正法、编制说明中补充干扰试验数据、标准储备液、工作液稳定性数据、相关饲料的添加回收数据等。

2018年5月~2019年5月：根据审查会专家们提出的意见，补充实验数据，对标准进行修改。

2019年5月~2020年5月：针对修改后的标准内容，委托农业农村部饲料质量监督检验测试中心（济南）、湖北省饲料监测所和北京市饲料监察所等3家饲料质检机构对标准进行方法验证；同时，基于研究内容，在《农产品质量与安全》上发表《高效液相色谱法测定饲料中的地昔尼尔》和投稿《超高效液相色谱-串联质谱法测定饲料中的地昔尼尔》等2篇研究论文。

2020年9月~2021年6月：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》和GB/T 20001.4-2015《标准编写规则 第4部分：试验方法标准》的规定，对标准文本进行修改和完善，形成公开征求意见稿上报饲料工业标委会。

三、标准编制原则和主要技术内容确定的依据

3.1 标准编制原则

本标准按照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》和GB/T 20001.4-2015《标准编写规则 第4部分：试验方法标准》的规定进行编制和起草。

3.2 主要技术内容确定的依据

编制过程中，查阅了国内外的相关文献资料，参考了其他行业部门制定的类似的标准方法，本着严格遵循科学依据，与国际水平接轨，并且准确、实用的原则，完成了检测方法标准的研究工作，起草了标准的征求意见稿和编制说明，确保本方法标准的科学性、可行性和可靠性。

适用范围：本方法适用配合饲料、浓缩饲料、精料补充料和添加剂预混合饲料中地昔尼尔含量的测定。

技术指标：地昔尼尔（Dicyclanil）是一种脱皮激素类似物——嘧啶类化合物，因可以改变几丁质在表皮的沉着而控制昆虫的生长而作为新型昆虫生长调节剂，被广泛应用于棉花、果树、蔬菜及水稻、玉米等作物上预防双翅目害虫，其体外杀虫作用是环丙氨嗪和双氟苯隆的10倍以上。然而，有动物实验研究结果表明，地昔尼尔对于大鼠有氧化应激和致癌作用，因此许多国家和组织都制定了其在动物性食品中的最大残留限量。本标准中规定了地昔尼尔的检出限为0.3

mg/kg, 定量限为 1.0 mg/kg; 方法的回收率为: 80%~110%, 符合在一定浓度水平上的回收率范围; 变异系数 (CV) \leq 10%。

3.3 标准主要内容的确定

3.3.1 实验材料

3.3.1.1 仪器与设备

Agilent 1100 高效液相色谱仪, 配备紫外检测器; 3K15 高速冷冻离心机 (德国 Sigma 公司); 氮吹仪 (日本 EYELA 公司); Milli-Q 超纯水仪 (美国 Milli-Q 公司); BS 210S 分析天平 (德国 Sartorius 公司); ZM 100 旋风磨 (德国 Retsch 公司); MS2 Minishaker 旋涡振荡器 (德国 IKA 公司); 超声波清洗仪 (美国 Crest 公司)。

3.3.1.2 试剂或材料

地昔尼尔标准品 (纯度 \geq 99%), 购自 Sigma 公司; 乙腈和甲酸均为色谱纯, 购自美国 Fisher 公司; 实验用水为 Milli-Q 制备的超纯水。

3.3.1.3 其他耗材

Oasis PRiME HLB 固相萃取柱 (200 mg, 6 cc, 美国 Waters 公司); 饲料样品由国家饲料质量监督检验中心 (北京) 提供。

3.3.2 实验方法

3.3.2.1 标准溶液的配制

精确称取适量地昔尼尔标准品, 用乙腈溶解并定容, 配置成浓度为 500 μ g/mL 的标准储备溶液, 置于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存; 准确移取 2.0 mL 标准储备液于 100 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释定容, 配置成浓度为 10 μ g/mL 的标准工作液, 4 $^{\circ}$ C 冰箱避光保存。使用时用乙腈逐级稀释, 配置成浓度为 0.2 μ g/mL~10 μ g/mL 的系列标准溶液。

3.3.2.2 色谱条件

色谱柱: Agilent ZORBAX NH₂ 色谱柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 柱温 35 $^{\circ}$ C; 流动相为乙腈: 0.1% 甲酸溶液 (98: 2), 等度洗脱, 流速 0.8 mL/min; 进样体积 20 μ L; 紫外检测器, 检测波长为 270 nm。

3.3.2.3 样品处理

样品提取: 准确称取经粉碎过 40 目筛 (0.45 mm 孔径) 的饲料样品 2.0 g (精确至 0.001g) 于 50 mL 离心管中, 加入乙腈 20 mL, 旋涡混匀 30 s, 置于超声波水浴中超声提取 30 min。取出 4 $^{\circ}$ C 下 10000 r/min 离心 5 min, 取 5 mL 上清液,

备用。

3.3.2.4 净化

备用液过 Oasis PRiME HLB SPE 柱, 收集流出液, 在氮吹仪上 50 °C 下吹干, 残余物用 1 mL 乙腈/水 (50: 50) 复溶, 旋涡 1 min 使其充分溶解, 过 0.22 μm 有机滤膜后供 HPLC 测定。

3.3.3 标准曲线、线性范围

用乙腈将地昔尼尔标准工作液稀释成浓度分别为 0、0.2 μg/mL、1.0 μg/mL、2.0 μg/mL、5.0 μg/mL、10.0 μg/mL、50.0 μg/mL、100.0 μg/mL 的系列标准溶液, 进 HPLC 测定。以标准工作液的浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 见图 2。

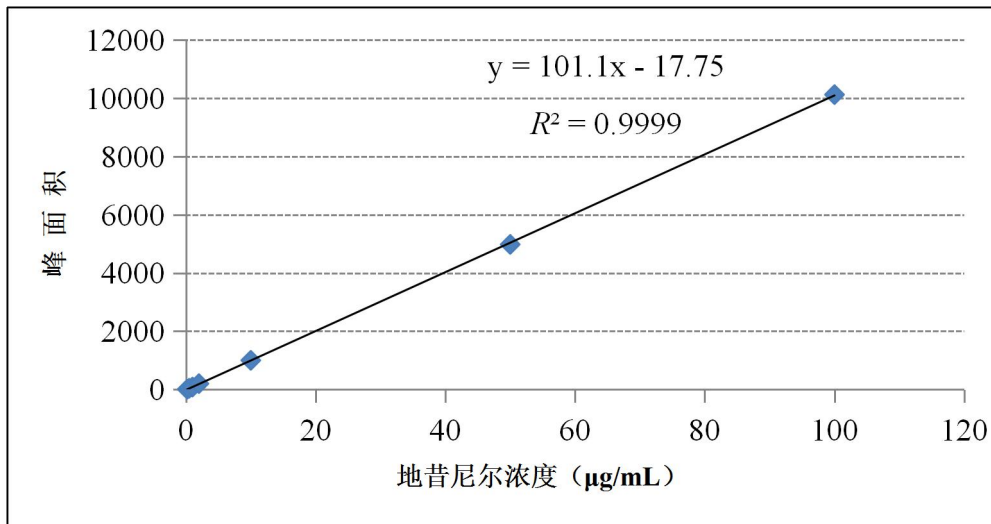


图 2 地昔尼尔在 0.2 μg/mL ~ 100 μg/mL 浓度范围内的线性关系

从图 1 中可以看出, 线性回归方程为 $y=101.1x-17.75$, 相关系数 $R^2=0.9999$, 表明在 0.2 μg/mL~100 μg/mL 浓度范围内, 地昔尼尔标准溶液浓度与峰面积间存在良好的线性关系 ($R^2 \geq 0.9999$)。

3.3.4 检出限和定量限

在空白饲料样品中添加地昔尼尔标准溶液进行回收实验, 以信噪比 (S/N) = 3 为检出限 (Limits of detection, LOD), S/N = 10 为定量限 (Limits of quantification, LOQ), 地昔尼尔的 LOD、LOQ 分别为 0.3 mg/kg 和 1.0 mg/kg。

3.3.5 准确度、精密度和重现性

空白饲料样品中添加 3 个不同浓度的混合标准溶液, 添加浓度分别为 1.0 mg/kg、2.0 mg/kg、10.0 mg/kg, 各浓度进行 5 个平行试验, 重复 3 天, 方法的准确度、精密度和重现性 (见表 1)。

表 1 饲料样品添加地昔尼尔的回收率和变异系数

样品名称	添加浓度 (mg/kg)	日内 (Intra-day)		日间 (Inter-day)	
		平均回收率	相对标准偏差	平均回收率	相对标准偏差
		(%)	(%, n=5)	(%)	(%, n=15)
仔猪配合饲料	1.0	98.5	3.8	97.9	4.3
	2.0	98.6	4.5	92.5	8.5
	10.0	84.5	3.2	83.7	9.1
鸡配合饲料	1.0	91.0	2.7	89.9	9.1
	2.0	92.3	3.4	90.8	8.5
	10.0	93.1	3.5	91.6	4.2
猪浓缩饲料	1.0	94.6	2.7	90.9	3.6
	2.0	93.9	4.0	91.5	2.4
	10.0	98.6	4.6	93.8	4.5
牛精料补充料	1.0	90.3	1.8	89.4	10.7
	2.0	92.9	2.8	90.6	8.8
	10.0	93.0	3.3	91.9	7.8
添加剂预混料	1.0	96.2	3.6	91.3	4.8
	2.0	96.0	4.2	91.6	8.9
	10.0	93.0	3.0	91.1	4.6

由表 1 可知, 对于饲料样品, 地昔尼尔的平均回收率在 83.7%~98.6%之间, 日内变异系数在 1.8%~4.6%之间, 日间变异系数在 2.4%~10.7%之间。

3.3.6 HPLC 条件优化

本研究首先考察了试验室常用的 C₁₈ 色谱柱 Phenomenex LC Column C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 和 Agilent ZORBAX NH₂ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 对地昔尼尔的分离效果, 流动相选择试验室常用的乙腈/水, 调整流动相比例, 等度洗脱。结果显示, 由于地昔尼尔的强极性, 其在普通的 C₁₈ 色谱柱上难以保留, 出峰时间均在 2 min 以内, 调整流动相组成及比例对地昔尼尔出峰时间基本没有影响, 且峰型拖尾严重 (如图 3)。相比较而言, 其在 ZORBAX NH₂ 色谱柱上保留较好, 峰型对称且尖锐, 因此本研究选择 ZORBAX NH₂ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 用于地昔尼尔的分离测定。

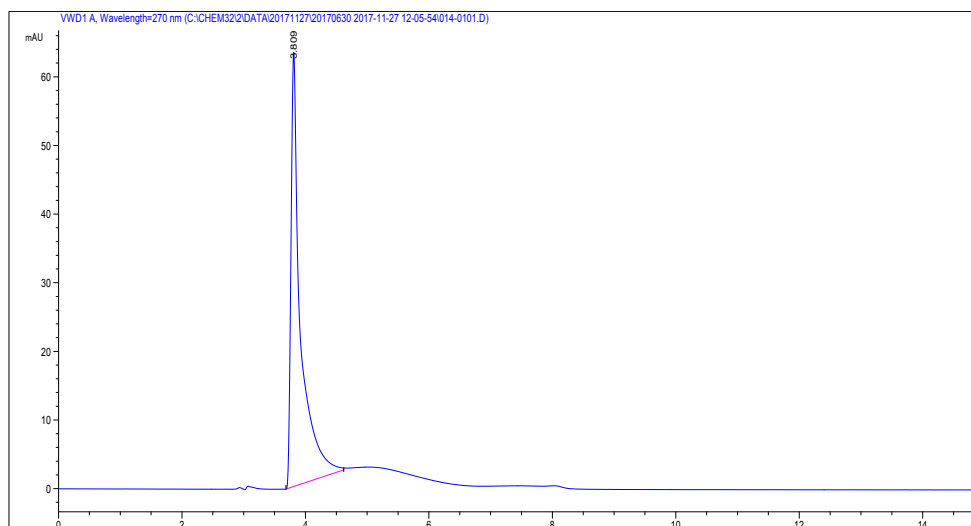


图3 地昔尼尔在 C18 色谱柱保留色谱图

地昔尼尔具有强极性，在流动相比例为乙腈/0.1%甲酸水（98:2，v/v）时地昔尼尔在色谱柱上的保留较好（如图4），因此最终选择该流动相比例进行洗脱。

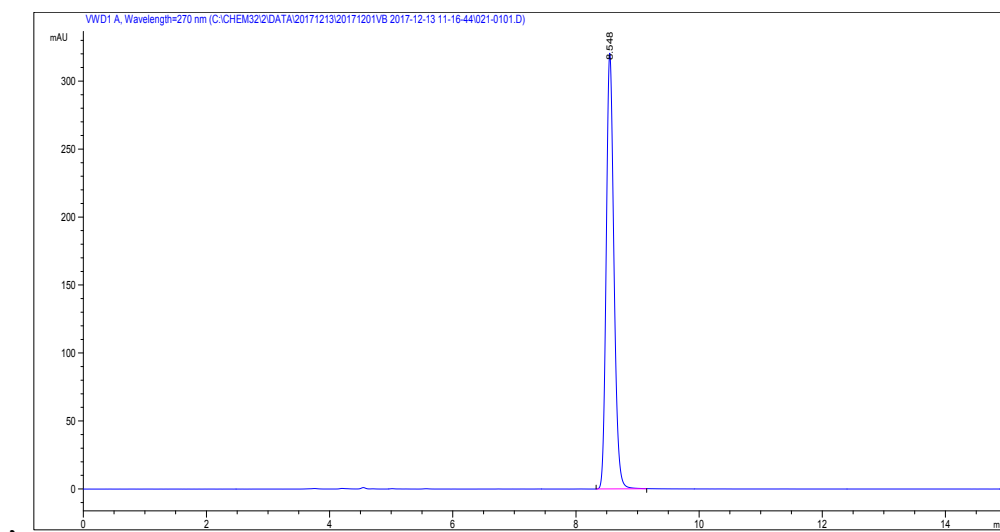


图4 地昔尼尔标准溶液（10 µg/mL）在 NH₂ 色谱柱保留色谱图

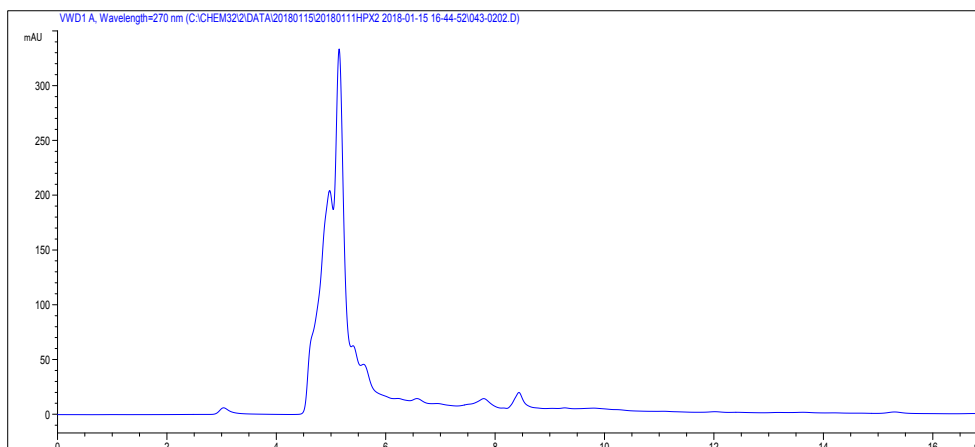


图5 空白配合饲料色谱图

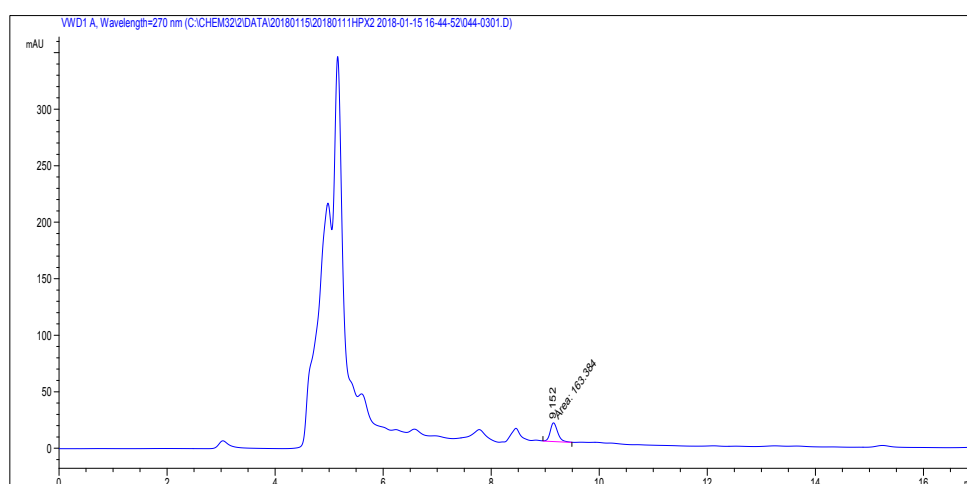


图6 空白配合饲料添加地昔尼尔色谱图 (1.0 mg/kg)

3.3.7 样品的提取和净化

饲料中药物的提取多用甲醇和乙腈，由于饲料中含有大量的蛋白质，考虑到乙腈有较好的沉淀蛋白质的效果，因此该实验最终选择乙腈作为提取溶剂。

饲料基质较为复杂，添加有大量的蛋白质、氨基酸、矿物质、维生素等物质，因此样品的净化在检测过程中显得尤为重要，净化方法主要有固相萃取技术和超临界流体萃取两种^[11]。实验过程中比较了 C₁₈、碱性氧化铝、中性氧化铝、Oasis HLB、Oasis PRiME HLB 等五种不同类型的固相萃取柱 (SPE) 对地昔尼尔的保留情况，各 SPE 柱的回收率如下表 2。

表 2 5 种固相萃取柱的回收率

固相萃取柱类别	回收率 (%)
C18 柱	82.4
碱性氧化铝	24.4
中性氧化铝	37.0
Oasis HLB	106.5
Oasis PRiME HLB	105.5

结果显示, Oasis HLB 柱和 Oasis PRiME HLB SPE 柱对地昔尼尔的回收率均较好。Oasis HLB 和 Oasis PRiME HLB 柱填充的吸附剂均为二乙烯苯单体(有亲脂性)与 N-乙烯基吡咯烷酮单体(有亲水性)按特定比例聚合成的多孔共聚物,亲水亲脂,有独特的水浸润性平衡特性。但 Oasis PRiME HLB 柱与 Oasis HLB 柱不同之处在于, Oasis PRiME HLB 柱在使用前不需要对吸附剂进行活化与平衡,无需淋洗。此外, Oasis PRiME HLB 柱可以比需要活化的 Oasis HLB 柱多除去 90% 的脂肪,特别是磷脂。因此实验最终选择 Oasis PRiME HLB 柱用于地昔尼尔的净化。

3.3.8 干扰试验

地昔尼尔是一种较新型的昆虫生长调节剂,属嘧啶类化合物。以磺胺二甲氧嘧啶、磺胺甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶和磺胺吡啶等 4 种物质对地昔尼尔进行干扰试验,以下为 4 种药物的理化性质(见表 3):

表 3 4 种药物的理化性质

药物名称	理化性质	常用溶解试剂	紫外吸收特性
地昔尼尔	溶于有机试剂	甲醇、乙腈	270 nm
磺胺二甲氧嘧啶	不溶于水、氯仿,微溶于乙醇,可溶于丙酮,易溶于稀无机酸和强碱溶液	甲醇	270 nm
磺胺甲氧嘧啶	几乎不溶于水、醚或乙醇,微溶于酸,易溶于碱	碱性溶液、甲醇	270 nm
磺胺间甲氧嘧啶	丙酮中略溶,在乙醇中微溶,在水中不溶;在稀盐酸或氢氧化钠溶液中易溶	甲醇、乙腈	267 nm、273 nm
磺胺吡啶	微溶于水	甲醇、乙腈	270 nm

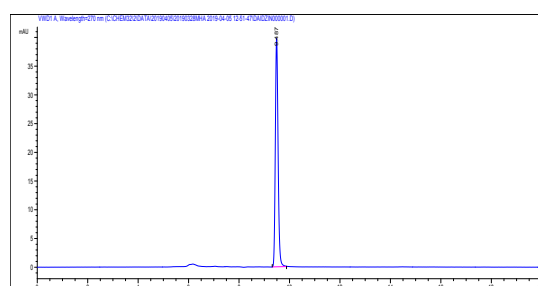
将 4 种药物和地昔尼尔用以下几种方式添加于阳性饲料样品中:

(1) 磺胺二甲氧嘧啶、磺胺甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶和地昔尼尔含量均为10 mg/kg添加于配合饲料样品中；

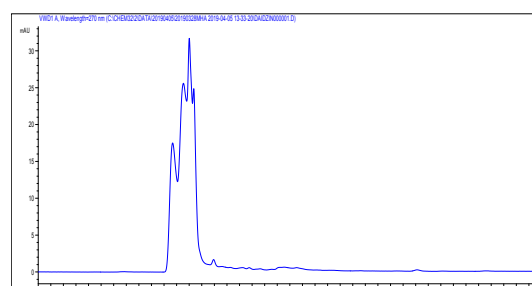
(2) 磺胺二甲氧嘧啶、磺胺吡啶和地昔尼尔含量均为2 mg/kg添加于配合饲料样品中；

(3) 磺胺吡啶和地昔尼尔含量均为2 mg/kg添加于配合饲料样品中。

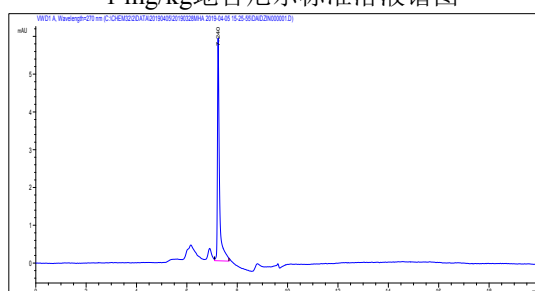
3个阳性添加样品，按方法进行提取、净化和液相色谱测定。5种药物的标准溶液和3种测试溶液HPLC测定结果见图7。



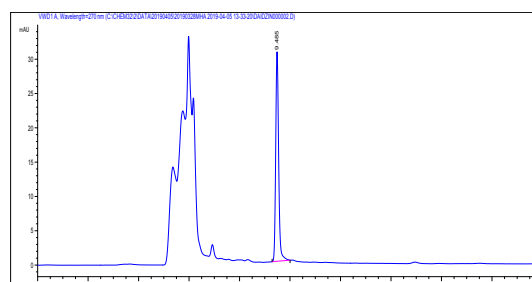
1 mg/kg地昔尼尔标准溶液谱图



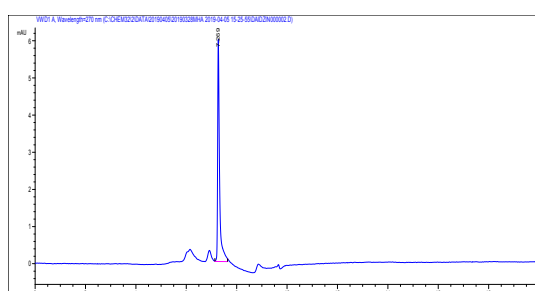
空白饲料样品谱图



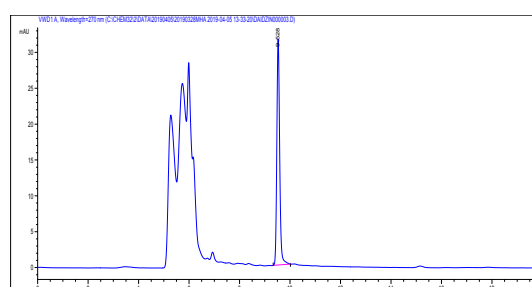
1 mg/kg磺胺二甲氧嘧啶标准溶液谱图



含磺胺二甲氧嘧啶、磺胺甲氧嘧啶、磺胺甲氧嘧啶和地昔尼尔均为1 mg/kg的添加配合饲料



1 mg/kg磺胺甲氧嘧啶标准溶液谱图



含磺胺二甲氧嘧啶、磺胺吡啶和地昔尼尔均为1 mg/kg的添加配合饲料

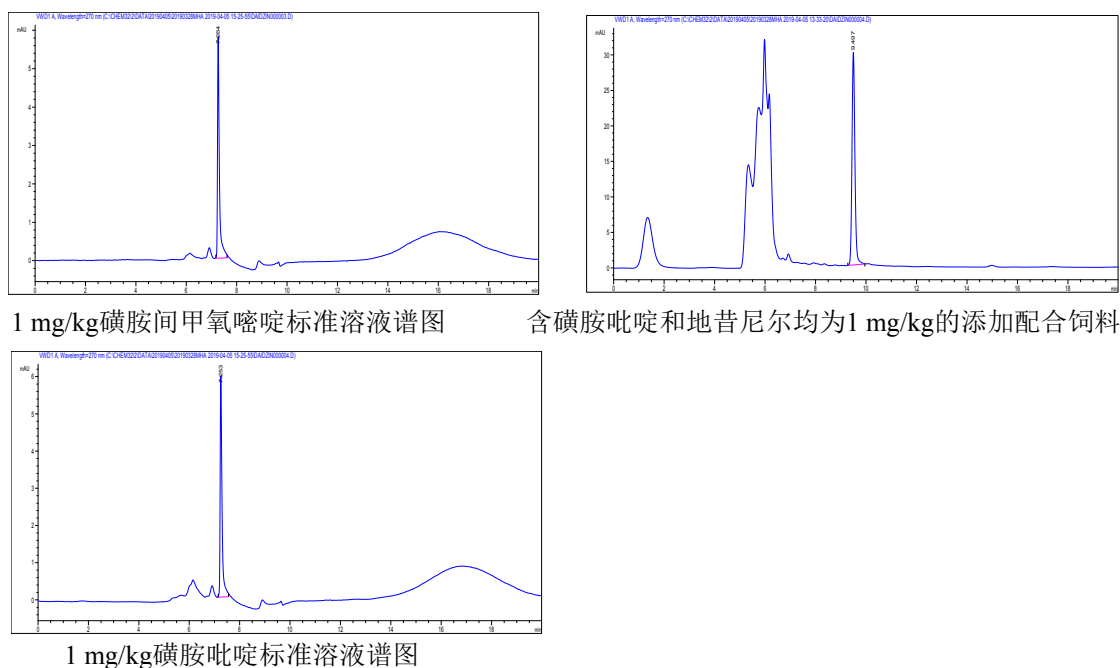


图7 地昔尼尔干扰试验色谱图 (1.0 mg/kg)

由图7可看出,磺胺二甲氧嘧啶、磺胺甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶和磺胺吡啶标准品在液相色谱仪上响应较低,且出峰时间与地昔尼尔的出峰时间相距2 min以上。结果表明,磺胺二甲氧嘧啶、磺胺甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶和磺胺吡啶对地昔尼尔无干扰。

3.3.9 实际样品测定

应用该方法对收集的36份实际饲料样品(包括猪配合饲料8份、猪浓缩饲料5份、鸡配合饲料5份、添加剂预混合饲料5份、豆粕3份、DDGS 8份、鱼粉2份)进行检测,所有样品中均未检出地昔尼尔。

3.4 总结

建立了高效液相色谱(HPLC)测定饲料中地昔尼尔的分析方法,该方法在0 mg/L ~ 100 mg/L浓度范围内呈现良好的线性关系,地昔尼尔的检出限为0.2 mg/kg,定量限为1.0 mg/kg,3个添加水平下的平均回收率为83.7% ~ 98.6%,日内变异系数小于4.6%,日间变异系数小于10.7%。该方法操作简便、快速、稳定,适用于饲料中地昔尼尔的测定。

3.5 验证实验结果

根据标准复核要求,标准起草小组请北京市饲料监察所、湖北省饲料监察所、农业农村部饲料质量监督检验测试中心(济南)等3家单位进行了方法验证。验证结果满意,表明该方法适用于饲料中地昔尼尔的测定。

3.6 征求意见

本标准征求意见共发出 20 份，收回 14 份，对部分意见作相应修改，共整理出 18 条意见，详见《征求意见汇总表》，已根据意见对标准文本及编制说明作修改，并形成标准送审稿。

四、采用国际标准和国外标准的程度

无。

五、与有关的现行法律法规和强制性国家标准的关系

本标准的制定可为饲料质量安全的评价和贯彻执行提供直观的指导。本标准内容与《饲料和饲料添加剂管理条例》等法律和相关管理办法协调一致、相互衔接，与有关的现行法律法规和强制性国家标准没有冲突和重复。

六、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准的制定广泛征求意见，包括科研院所、检验机构、生产企业，根据反馈意见对标准的《征求意见稿》进行修改，无重大分歧意见。

七、标准作为强制性或推荐性国家标准的意见

该标准经制定后建议作为推荐性标准发布。

八、贯彻国家标准的要求和措施建议

为了贯彻实施本国家标准，标准经审定、发布后，建议有关部门应指定科研机构积极组织和开展相关的技术培训和推广，同时应对目前市场流通领域和养殖场的饲料中地昔尼尔的使用情况进行普查，推动标准实施，确保广大消费者的身体健康。

九、废止现行有关标准的建议

无。

十、其他应予说明的事项

无。

参考文献

- [1] 方忠意, 刘素梅. 超高效液相色谱法测定饲料中地昔尼尔[J]. 中国饲料, 2010(6): 38-40.
- [2] 樊苑牧, 俞雪钧, 顾晓俊, 等. 高效液相色谱法测定含脂羊毛中灭蝇胺和环虫脒[J]. 分析化学, 2010, 38(1): 113-116.
- [3] 潘明明, 季辉, 江善祥. 新型抗体外寄生虫药地昔尼尔的研究进展[C]. 中国畜牧兽医学会兽医药理毒理学分会第十二次学术讨论会. 2013.
- [4] 张勇. 地昔尼尔的药理学研究进展[J]. 四川畜牧兽医, 2013, 40(6):31-32.
- [5] 吴海霞, 冯培生, 张素霞, 等. 高效液相色谱法测定动物性食品中地昔尼尔残留量[J]. 中国畜牧兽医, 2010, 37(11): 224-226.
- [6] 沈奇英. 地昔尼尔作为兽药的研究进展及应用前景[J]. 健康研究, 2009, 29(4): 303-305.
- [7] Umemura T, Kuroiwa Y, Tasaki M, et al. Detection of oxidative DNA damage, cell proliferation and in vivo, mutagenicity induced by dicyclanil, a non-genotoxic carcinogen, using gpt, delta mice[J]. Mut.Res.-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2007, 633(1): 46-54.
- [8] Moto M, Okamura M, Muguruma M, et al. Gene expression analysis on the dicyclanil-induced hepatocellular tumors in mice[J]. Toxicologic Pathology, 2006, 34(6): 744.
- [9] Amelin V G, Andoralov A M. High-performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry in the identification and determination of 111 pesticides in food, feed, water, and soil[J]. Journal of Analytical Chemistry, 2016, 71(1): 82-93.
- [10] 高丽丽, 刘利锋, 季辉, 等. 高效液相色谱法测定地昔尼尔含量方法的建立[J]. 畜牧与兽医, 2011, 43(4): 59-61.
- [11] 赵瑜, 彭丽, 张发旺, 等. 超高效液相色谱串联质谱法测定饲料中康力龙[J]. 农产品质量与安全, 2014(2): 48-53.
- [12] 于彦彬, 万述伟, 谭培功, 等. OASIS (R) HLB 固相萃取-高效液相色谱柱衍生荧光检测花生中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂[J]. 色谱, 2004, 22(6): 658-659.
- [13] 劳哲, 江恩源, 等. Oasis HLB 固相萃取-超级快速液相-三重四级杆质谱法测

定花生和花生油中黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂[J]. 国外医学地理分册, 2015, 36(2): 137-141.

[14] 刘洪斌, 李颖, 李艳华, 等. UPLC-MS/MS 方法同时检测猪肉中 67 种禁限用药物残留[J]. 农产品质量与安全, 2017(5): 65-72.

[15] 杜珍妮. 含乳食品接触材料中塑化剂的检测及迁移规律研究[D]. 武汉轻工大学, 2016.