



中华人民共和国国家标准

GB/T 23883—2009

饲料中蓖麻碱的测定 高效液相色谱法

Determination of ricinine in feeds—
High performance liquid chromatography

2009-05-26 发布

2009-10-01 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

本标准的附录 A 为资料性附录。

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。

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

本标准主要起草人:王宗义、张丽英、杨文军、贺平丽、李冰颖。

饲料中蓖麻碱的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了用高效液相色谱法测定饲料中蓖麻碱(化学名为 3-氰基-4-甲氧基-N-甲基-2-吡啶酮, 分子式为 $C_8H_8N_2O_2$, 摩尔质量为 164.16 g/mol)的方法。

本标准适用于蓖麻粕、配合饲料和浓缩饲料中蓖麻碱的测定。

本法的检测限为 5 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 20195 动物饲料 试样的制备

3 原理

用甲醇提取试样中蓖麻碱,经固相萃取净化,高效液相色谱分离,紫外检测,外标法定量。

4 试剂和溶液

除特殊注明外,本标准所用试剂均为分析纯,水符合 GB/T 6682 二级用水规定。

4.1 无水甲醇

4.2 乙腈

色谱纯。

4.3 1%(体积分数)氨水溶液

移取 1.0 mL 浓氨水溶液于 100.0 mL 容量瓶中,用水定容至刻度。

4.4 30%(体积分数)的甲醇溶液

移取 30 mL 甲醇于 100.0 mL 容量瓶中,用水定容至刻度。

4.5 蓖麻碱标准品

纯度大于 99%。

4.6 蓖麻碱标准溶液

4.6.1 蓖麻碱标准储备液:称取蓖麻碱标准品适量,用甲醇溶解,配制成浓度为 1.00 mg/mL 标准储备液,于 -18°C 条件下储存。有效期为 6 个月。

4.6.2 蓖麻碱标准工作液 I:用甲醇逐次稀释蓖麻碱标准储备液至最终浓度分别为 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、30 $\mu\text{g/mL}$ 和 40 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作液。有效期为 30 d。

4.6.3 蓖麻碱标准工作液 II:用 30% 甲醇(4.4)逐次稀释储备液至最终浓度分别为 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 和 20 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作液。有效期为 30 d。

5 仪器与设备

5.1 分析天平:感量为 0.000 1 g。

- 5.2 离心机:转速大于 3 000 r/min。
- 5.3 恒温水浴。
- 5.4 涡旋振荡器。
- 5.5 定量滤纸。
- 5.6 固相萃取小柱:亲水亲油平衡型聚合物填料,30 mg,1 mL,或性能相当者。
- 5.7 固相萃取装置。
- 5.8 氮吹仪。
- 5.9 高效液相色谱仪:配有紫外检测器。

6 试样制备

按照 GB/T 20195 的规定制备试样,粉碎过孔径 0.45 mm 目筛,充分混匀,装瓶,备用。

7 测定步骤

7.1 提取

准确称取蓖麻粕试样 0.5 g(精确至 0.000 1 g)或饲料试样 5 g(精确至 0.001 g)于 50 mL 带螺口离心管中,加 20 mL 甲醇,拧紧盖子,于 75 °C 水浴中提取 4 h(约每 30 min 取出于涡旋振荡器上振荡 30 s)。取出于离心机上以 3 000 r/min 离心 10 min,将上层清液通过带有定量滤纸的 50 mL 漏斗过滤于 50 mL 容量瓶中,残渣再分别用 20 mL 和 10 mL 甲醇按上述方法提取 10 min,离心,合并提取液,最后用无水甲醇定容至刻度。

对于蓖麻粕试样,取上述提取液过 0.45 μ m 滤膜,可直接上机测定;饲料试样提取液则需作进一步净化处理。

7.2 净化

移取提取液(7.1)2.00 mL 于 10 mL 试管中,于氮气吹干仪上吹干,加入 2.00 mL 氨水溶液(4.3),于涡旋振荡器上振荡 30 s。

将固相萃取柱(5.6)置于固相萃取装置上,依次用 1.0 mL 甲醇和 1.0 mL 水活化;加载 1.00 mL 该试样溶液,控制流速不超过 1.0 mL/min;用 1.0 mL 水淋洗小柱,抽干 1 min;最后用 1.00 mL 30%的甲醇(4.4)洗脱,加压,完全收集洗脱液到进样瓶中。

7.3 测定

7.3.1 色谱条件

色谱柱: C_{18} 填料,长 150 mm,内径 3.9 mm,粒度 5 μ m,或相当者。

流动相:乙腈+水=10+90。

流速:1.0 mL/min。

进样体积:20 μ L。

检测波长:308 nm。

7.3.2 定量方法

使用蓖麻碱标准工作液 I(4.6.2),以峰面积对浓度的工作曲线,对蓖麻粕样品进行外标法定量;同样使用蓖麻碱标准工作液 II(4.6.3),以峰面积对浓度的工作曲线,对饲料样品进行外标法定量。蓖麻碱标准品的色谱图参见附录 A。

8 结果计算

试样中蓖麻碱质量分数 ω (mg/kg)按式(1)计算:

$$\omega = \frac{c \times V}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

c ——为根据工作准曲线计算的上机试样溶液蓖麻碱浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V ——为提取溶液体积,单位为毫升(mL);

m ——为试样质量,单位为克(g)。

测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留 3 位有效数字。

9 重复性

在重复性条件下,完成两次平行测定结果的相对偏差不大于 10%。

附录 A
(资料性附录)
蓖麻碱标准品的色谱图

蓖麻碱标准品的色谱图如图 A.1 所示。

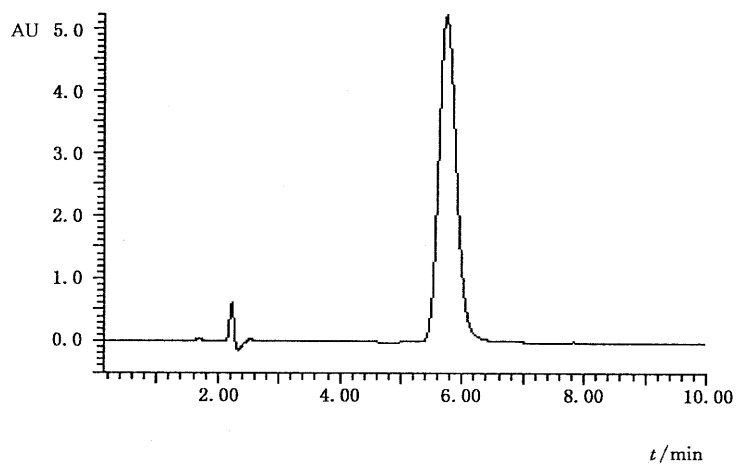


图 A.1 蓖麻碱标准品的色谱图