

ICS 65.120  
B 46

**NY**

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1345—2007

---

## 添加剂预混合饲料中肌醇的测定

Determination of the Inositol in Additive Premix

2007-04-17 发布

2007-07-01 实施

---



中华人民共和国农业部 发布

## 前 言

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：中国农业科学院饲料研究所。

本标准主要起草人：石波、张萍、梁平、赵丙超、李秀波、刘一峰。

## 添加剂预混合饲料中肌醇的测定

### 1 范围

本标准规定了以气相色谱法和离子色谱法测定水产添加剂预混合饲料中肌醇的含量。

本标准适用于水产添加剂预混合饲料中肌醇含量的测定；也适用于其他添加了肌醇的添加剂预混合饲料。

气相色谱方法最低检测限为 2  $\mu\text{g}$ ；离子色谱法方法最低检测限为 1 ng。

### 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

### 3 气相色谱法

#### 3.1 原理

试样用水在一定温度下振荡提取，过滤并定容。该提取液经烷基化衍生后，用气相色谱氢火焰检测器定性定量检测。

#### 3.2 试剂和材料

除特殊注明外，本法所用的试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 中二级用水的规定。

3.2.1 二甲基甲酰胺（色谱纯）。

3.2.2 三甲基氯硅烷（色谱纯）。

3.2.3 六甲基二硅氮烷（色谱纯）。

3.2.4 正己烷。

3.2.5 无水乙醇。

3.2.6 无水硫酸钠。

3.2.7 肌醇（标准品）：大于等于 99%。

3.2.8 肌醇标准溶液：

3.2.8.1 肌醇标准贮备液：准确称取已在 105℃ 条件下烘至恒重的肌醇标准品 0.05 g（准确至 0.000 1 g），用去离子水溶解，并稀释定容至 100 mL，该标准储备液的浓度为 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。4℃ 冰箱贮存备用。有效期半年。

3.2.8.2 肌醇标准工作液：分别吸取肌醇标准贮备液（3.2.8.1）0.0 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL、5.0 mL、10.0 mL 于 100 mL 容量瓶中，用去离子水定容至刻度，配制成浓度为 0.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、10.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、15.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、20.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的肌醇标准工作液。

#### 3.3 仪器设备

3.3.1 实验室常用设备。

3.3.2 分析天平，感量 0.000 1 g。

3.3.3 恒温水浴。

3.3.4 旋涡混合器。

3.3.5 烘箱,可控温度为  $105^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

3.3.6 色谱仪:附氢火焰检测器的气相色谱仪。

### 3.4 试样制备

取有代表性的样品,用四分法缩减至约 200 g,充分混匀,贮于磨口瓶中备用。

### 3.5 步骤

#### 3.5.1 试样溶液的制备

3.5.1.1 提取:称取经  $105^{\circ}\text{C}$  干燥至恒重的试样 2 g(精确至 0.000 2 g),置于 100 mL 容量瓶中,加水约 70 mL,混摇,在  $40^{\circ}\text{C}$  水浴上加热 10 min 提取,在旋涡混合器上振荡 10 min,冷却至室温,用水定容至 100 mL,中速滤纸过滤,吸取 0.5 mL 滤液于试管中,加入 1 mL~2 mL 无水乙醇,  $100^{\circ}\text{C}$  水浴中浓缩至干。

3.5.1.2 硅烷基化衍生:在浓缩至干的样品中加入 2 mL 二甲基甲酰胺,于旋涡混合器上使之完全分散,再加入 0.6 mL 六甲基二硅氮烷,0.3 mL 三甲基氯硅烷,旋涡混合器上混匀后密塞,  $80^{\circ}\text{C}$  水浴保温反应 20 min,取出,冷却至室温。加入 5 mL 去离子水,摇匀。准确加入 3 mL 正己烷,旋涡混合器上充分振荡后室温下放置 10 min,吸取正己烷层,加入适量无水硫酸钠,轻轻振摇后,取适量上清液上机测定。

#### 3.5.2 肌醇标准曲线的制备

分别移取肌醇标准工作液(3.2.8.2) 10.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、20.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、30.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、40.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和 100.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  各 0.02 mL、0.04 mL、0.06 mL、0.08 mL、0.10 mL 和 0.2 mL,加入 1 mL~2 mL 无水乙醇,  $100^{\circ}\text{C}$  水浴中浓缩至干。余下步骤同 3.5.1.2 硅烷基化衍生部分。

#### 3.5.3 色谱条件

色谱柱:HP-5(交联 5% 苯甲基聚硅氧烷)长 2.5 m,内径 0.32 mm,粒度 0.25  $\mu\text{m}$  的石英弹性毛细管柱。

气流速度:载气( $\text{N}_2$ )5.3 mL/min,尾吹气( $\text{N}_2$ )30 mL/min,氢气 30 mL/min,空气 400 mL/min,分流比 1:11。

温度:柱温  $190^{\circ}\text{C}$ ,检测器温度  $245^{\circ}\text{C}$ ,进样口温度  $245^{\circ}\text{C}$ 。

检测器:氢火焰检测器。

进样量:1  $\mu\text{L}$ 。

### 3.6 结果计算与表述

#### 3.6.1 计算公式

试样中肌醇的含量(X)以质量分数(mg/kg)表示,按式(1)计算。

$$X = \frac{m_0}{m} \times n \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$m_0$  ——试样色谱峰面积对应的肌醇的质量,单位为微克( $\mu\text{g}$ );

$m$  ——所称量的试样质量,单位为克(g);

$n$  ——稀释倍数。

计算结果保留小数点后两位数字。

### 3.7 精密度

#### 3.7.1 重复性

在同一实验室、由同一操做人员在同一台仪器上完成的两个平行测定结果,相对偏差不大于 5%,以两个平行测定结果的算术平均值为测定结果。

#### 3.7.2 再现性

在不同的实验室、由不同的操做人员用不同的仪器设备完成的平行测定结果,相对偏差不大于10%。

#### 4 离子色谱法

##### 4.1 方法原理

肌醇易溶于水,可直接用水浸提样品。鉴于肌醇分子具有电化学活泼性及在强碱溶液中呈离子化状态,对其可采用高效阴离子交换色谱分离—脉冲安培检测方法(HPAEC-PAD)进行测定。

##### 4.2 试剂和材料

除特殊注明外,本法所用的试剂均为分析纯,水符合 GB/T 6682 二级用水的规定。

4.2.1 氢氧化钠溶液: $c(\text{NaOH}) = 10 \text{ mol/L}$ ,称取 40.0 g 氢氧化钠在冷却状态下溶解定容至100 mL。

4.2.2 流动相[ $c(\text{NaOH}) = 0.6 \text{ mol/L}$  氢氧化钠溶液]:取 60 mL 氢氧化钠溶液(4.2.1)加水稀释至 1 L。

##### 4.2.3 肌醇标准溶液:

4.2.3.1 肌醇标准贮备溶液:准确称取在 105℃ 条件下烘至恒重的肌醇标准品(含量 $\geq 99\%$ )0.1 g(精确至 0.000 1 g),用去离子水溶解,并稀释至 100 mL。该溶液浓度为 1 mg/mL。

4.2.3.2 肌醇中间标准溶液:准确吸取肌醇标准贮备溶液(4.2.3.1)10 mL 稀释定容至 100 mL。该溶液浓度为 100.0  $\mu\text{g/mL}$ 。

4.2.3.3 肌醇标准工作溶液:分别准确吸取肌醇中间标准溶液(4.2.3.2)0.5 mL、1 mL、2 mL、5 mL、10 mL、20 mL 稀释定容至 100 mL。配制成浓度分别为 0.5  $\mu\text{g/mL}$ 、1.0  $\mu\text{g/mL}$ 、2.0  $\mu\text{g/mL}$ 、5.0  $\mu\text{g/mL}$ 、10.0  $\mu\text{g/mL}$ 、20.0  $\mu\text{g/mL}$  的标准工作溶液。

##### 4.3 仪器设备

实验室常用设备及:

4.3.1 分析天平,感量 0.000 1 g。

4.3.2 超声振荡器。

4.3.3 离心机。

4.3.4 色谱仪:具有梯度淋洗功能,配有脉冲安培电化学检测器。

##### 4.4 试样制备

同 3.4。

##### 4.5 步骤

##### 4.5.1 试样溶液的制备

称取经 105℃ 烘至恒重的试样 0.5 g(精确至 0.000 2 g),置于 100 mL 离心管中,加入 50 mL 去离子水,超声振荡 2 min~3 min 4 000 r/min 下离心 10 min,取适量上清液经 0.25  $\mu\text{m}$  微膜过滤器过滤,上机测定。

##### 4.5.2 色谱条件

色谱柱:柱长 250 mm,内径 4 mm,装有乙烯基氯/二乙烯基(粒径 7.5  $\mu\text{m}$ )、大孔季胺基胶乳阴离子交换树脂。

柱温:30℃。

流动相流速:0.4 mL/min。

检测器:脉冲安培电化学检测器,测量电极 Au,参比电极 Ag/AgCl。

进样量:20  $\mu\text{L}$ 。

##### 4.6 结果计算与表述

#### 4.6.1 计算公式

试样中肌醇的含量  $X_1$  以质量分数(mg/kg)表示,按式(2)计算。

$$X_1 = \frac{C \times V \times n_1}{m_1} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

$C$  ——标准工作液中肌醇浓度,单位为微克每毫升( $\mu\text{g}/\text{mL}$ );

$V$  ——试样提取液的体积,单位为毫升(mL);

$n_1$  ——稀释倍数;

$m_1$  ——所称量的试样的质量,单位为克(g)。

#### 4.7 精密度

##### 4.7.1 重复性

在同一实验室、由同一操做人员在同一台仪器上完成的两个平行测定结果,相对偏差不大于 5%,以两个平行测定结果的算术平均值为测定结果。

##### 4.7.2 再现性

在不同的实验室、由不同的操做人员用不同的仪器设备完成的测定结果,相对偏差不大于 10%。

---