

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2130—2012

饲料中烟酰胺的测定 高效液相色谱法

Determination of niacinamide in feeds—
High-performance liquid chromatography

2012-02-21 发布

2012-05-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业部畜牧业司提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)归口。

本标准起草单位:农业部饲料质量监督检验测试中心(西安)。

本标准主要起草人:贾青、张眉、冯西辉、李会玲、李胜、郭洁、王均良。

饲料中烟酰胺的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了饲料中烟酰胺含量的高效液相色谱检测方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料和添加剂预混合饲料中烟酰胺的测定。

本标准的定量限为 1 mg/kg。

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

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 原理

试样中的烟酰胺经提取液提取、离心后,取上清液过 0.45 μm 滤膜,用高效液相色谱仪—紫外/二极管阵列检测器检测,外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂和符合 GB/T 6682 中的三级用水,色谱用水符合 GB/T 6682 中一级用水的规定。

4.1 甲醇:色谱纯。

4.2 异丙醇:色谱纯。

4.3 辛烷磺酸钠:色谱纯。

4.4 0.1%辛烷磺酸钠($\text{pH}=2.1$):称取 1 g 辛烷磺酸钠(4.3)加约 800 mL 一级水溶解,用高氯酸调 $\text{pH}=2.1$,一级水定容至 1 000 mL,混匀,过 0.45 μm 滤膜。

4.5 样品提取液:800 mL 水中加入 50 mL 乙腈,10 mL 冰乙酸混合,用水定容至 1 000 mL,混匀。

4.6 烟酰胺标准储备液:称取烟酰胺标准品(纯度 $\geq 98\%$)0.1 g(精确至 0.000 1 g),置于 100 mL 容量瓶中,用提取液(4.5)溶解并定容,该溶液浓度为 1 mg/mL,置 4℃冰箱中保存,有效期 3 个月。

4.7 烟酰胺标准中间液:准确吸取 5.0 mL 烟酰胺标准储备液(4.6)于 100 mL 容量瓶中,用提取液(4.5)稀释至 100 mL。该溶液浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$,置 4℃冰箱中保存,有效期 1 个月。

4.8 烟酰胺标准工作液:准确移取 10.0 mL 烟酰胺标准中间液(4.7)至 100 mL 容量瓶中,用提取液(4.5)稀释定容。该系列标准溶液浓度为 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 。有效期 1 周。

4.9 0.45 μm 有机微孔滤膜。

5 仪器设备

实验室常用仪器、设备及以下设备。

5.1 高效液相色谱仪:配备紫外或二极管阵列检测器。

5.2 离心机:转速为 5 000 r/min 以上。

5.3 超声波清洗器。

6 试样采集及样品的制备

按 GB/T 14699.1 的规定采集试样后,按 GB/T 20195 的规定,选取具有代表性的样品,四分法缩减分取 200 g,粉碎过 0.45 mm 孔径(40 目)的分析筛,混匀,装入磨口瓶中备用。

7 分析步骤

7.1 提取

准确称取适量试样(配合饲料 5 g,浓缩饲料 2 g,添加剂预混合饲料 0.5 g,精确到 0.000 1 g),置 100 mL 容量瓶中,加入提取液(4.5)约 70 mL,超声振荡 10 min,放置室温,用提取液(4.5)定容至刻度混合均匀,然后在 5 000 r/min 离心机(5.2)上离心 5 min,移取上清液过 0.45 μm 滤膜(4.9)过滤,供高效液相色谱测定或提取液适当稀释后测定。

7.2 色谱参考条件

检测波长:267 nm。

色谱柱:C₁₈柱,5 μm,柱长 150 mm,内径 4.6 mm,或性能类似的色谱柱。

流动相:0.1%辛烷磺酸钠 pH=2.1(4.4):甲醇(4.1):异丙醇(4.2)=91:7:2。

流速:1.0 mL/min。

柱温:25℃。

进样量:20 μL。

7.3 HPLC 测定

取适量标准工作液(4.11)和试样制备液(7.1)测定,以色谱峰保留时间定性,以色谱峰面积积分值作单点或多点校准定量。烟酰胺标准色谱图参见图 A.1。

8 结果计算及表示

8.1 结果计算

饲料中烟酰胺的含量 X_1 ,以毫克每千克(mg/kg)表示,做单点校正按式(1)计算。

$$X_1 = \frac{P_0 \times C_s \times V}{P_s \times m} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

P_0 ——试样溶液峰面积值;

C_s ——标准溶液浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

V ——试样总稀释体积,单位为毫升(mL);

P_s ——标准溶液峰面积值;

m ——试样的质量,单位为克(g)。

8.2 结果表示

测定结果用平行测定的算术平均值表示,计算结果保留 3 位有效数字。

9 重复性

在同一实验室,由同一操作人员完成的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)
烟酰胺标准色谱图

烟酰胺标准(5.0 $\mu\text{g/mL}$)色谱图见图 A.1。

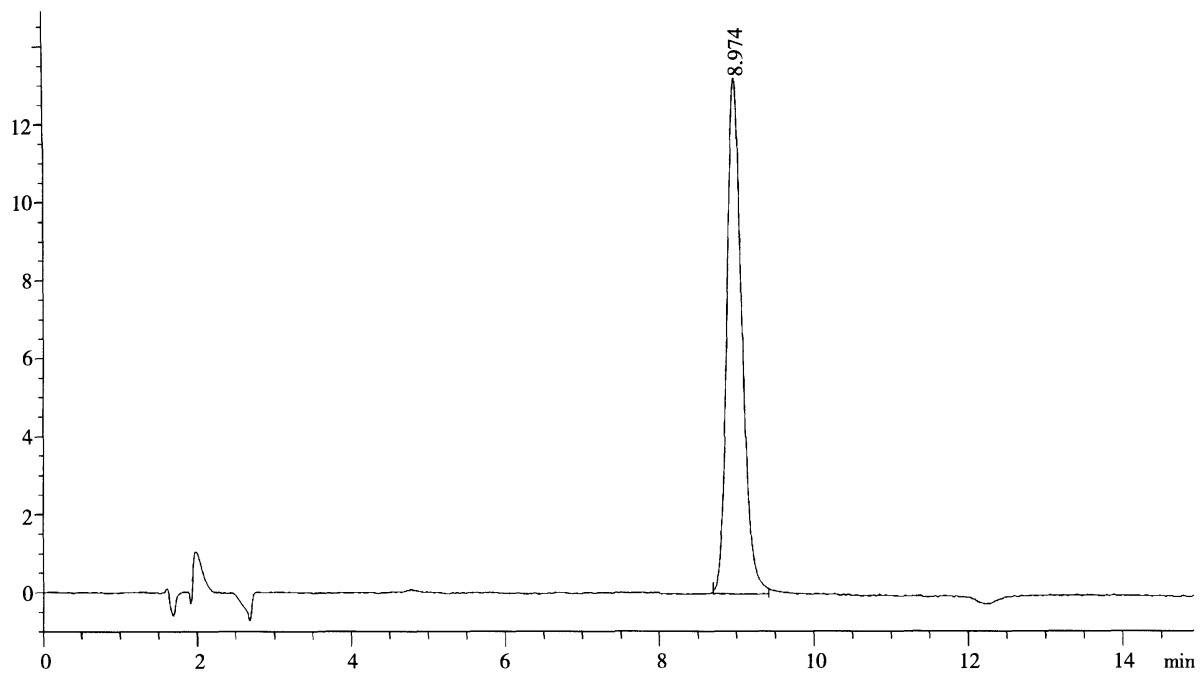


图 A.1 烟酰胺标准(5.0 $\mu\text{g/mL}$)色谱图