



中华人民共和国国家标准

GB/T 18397—2014
代替 GB/T 18397—2001

预混合饲料中泛酸的测定 高效液相色谱法

Determination of pantothenic acid in premix—
High performance liquid chromatography

2014-07-08 发布

2015-01-10 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

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 GB/T 18397—2001《复合预混合饲料中泛酸的测定 高效液相色谱法》。

本标准与 GB/T 18397—2001 相比主要变化如下：

- 标准名称由《复合预混合饲料中泛酸的测定 高效液相色谱法》改为《预混合饲料中泛酸的测定 高效液相色谱法》；
- 范围中删除了“也适用于浓缩饲料中泛酸的测定”；将“测量范围为每千克样品中含泛酸在 50 mg 以上”修改为“本标准测定泛酸的检出限为 5 mg/kg, 定量限为 20 mg/kg”；
- 样品提取剂不加 EDTA, 直接采用流动相进行提取；
- 流动相用乙腈与 0.05% 磷酸溶液的混合液代替磷酸缓冲液；
- 结果计算中, 用外标法多点校正或单点校正代替原来的“单点校正”。

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：江西省兽药饲料监察所、通威股份有限公司。

本标准主要起草人：符金华、杨发树、文虹、饶辉、刘耀敏、张凤枰、樊晶、赵艳。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 18397—2001。

预混合饲料中泛酸的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了用高效液相色谱仪测定预混合饲料中泛酸含量的方法。

本标准适用于复合预混合饲料、维生素预混合饲料中泛酸的测定。

本标准测定泛酸的检出限为 5 mg/kg, 定量限为 20 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

3 原理

试样中的泛酸经乙腈磷酸水溶液提取, 离心, 过滤, 用 C_{18} 色谱柱分离, 紫外检测器检测, 外标法定量。

4 试剂和溶液

除特殊注明外, 本标准所使用试剂均为分析纯, 水符合 GB/T 6682 中规定的二级用水。

4.1 磷酸: 含量 $\geq 85\%$ 。

4.2 乙腈: 色谱纯。

4.3 0.05% 磷酸溶液: 将 0.5 mL 磷酸(4.1)加入容量瓶中, 并定容至 1 000 mL。

4.4 D-泛酸(或 D-泛酸钙)标准溶液。

4.4.1 标准贮备液: 准确称取纯度大于 99.0% 的 D-泛酸或 D-泛酸钙标准纯品适量于 100 mL 容量瓶中, 用流动相溶解, 定容, 使该标准贮备液的浓度含泛酸为 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 。此标准溶液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 可保存三个月。泛酸浓度 = D-泛酸钙的浓度 $\times 0.920$ 。

4.4.2 标准工作溶液: 分别准确吸取标准贮备液(4.4.1) 0.5 mL, 1.0 mL, 2.0 mL, 5.0 mL, 10.0 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用流动相定容至刻度, 得到浓度分别为 5.0 $\mu\text{g/mL}$, 10.0 $\mu\text{g/mL}$, 20.0 $\mu\text{g/mL}$, 50.0 $\mu\text{g/mL}$, 100.0 $\mu\text{g/mL}$ 的泛酸标准工作液。现用现配。

5 仪器和设备

5.1 分析天平: 感量 0.000 1 g。

5.2 离心机: 转速 3 000 r/min。

5.3 摇床。

5.4 超声波清洗器。

5.5 样品筛:孔径 0.28 mm。

5.6 高效液相色谱仪,配有紫外检测器(或二极管矩阵检测器)。

6 试样的制备

按 GB/T 14699.1 规定,取有代表性饲料样品至少 500 g,四分法缩减至少 100 g,磨碎,过 0.28 mm 孔径样品筛,混匀装入密闭容器中,避光低温保存备用。

7 分析步骤

7.1 提取

称取维生素预混合饲料 0.25 g~0.5 g,复合预混合饲料 1 g~2 g,精确至 0.000 1 g,置于 150 mL 具塞锥形瓶中。准确加入 50 mL 流动相,于超声波水浴提取 15 min,或置于摇床上振摇提取 20 min,静置。取适量溶液 3 000 r/min 离心 5 min,离心后上清液经过 0.45 μm 滤膜过滤,滤液供高效液相色谱仪分析用。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱参考条件

色谱柱: C₁₈ 柱,柱长 150 mm,内径 4.6 mm,粒度 5 μm,或具有相同性能的色谱柱;

流动相: 将 50 mL 的乙腈加入到 950 mL 磷酸溶液(4.3)中混匀;

流速: 1.0 mL/min;

进样量: 10 μL;

柱温: 30 °C;

检测器: 紫外检测器(或二极管矩阵检测器 PDA)使用波长 200 nm。

7.2.2 液相色谱测定

分别取适量的标准工作液(4.4.2)和试样溶液(7.1),按 7.2.1 列出的条件进行液相色谱分析测定。按照保留时间进行定性,以标准工作液作单点或多点校准,并用色谱峰面积定量。待测样液中泛酸的响应值应在标准曲线范围内,超过线性范围则应稀释后再进样分析。泛酸色谱图参见附录 A。

8 结果计算与表示

8.1 结果计算

试样中泛酸的含量(X),以质量分数表示,按式(1)计算。

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

式中:

X —— 试样中泛酸的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c —— 试样溶液中泛酸的质量浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

V —— 提取时加入的流动相总体积,单位为毫升(mL);

m —— 试样质量,单位为克(g);

n —— 稀释倍数。

8.2 结果表示

测定结果用平行测定的算术平均值表示,计算结果保留三位有效数字。

9 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的相对偏差不大于 10%。

附 录 A
(资料性附录)
泛酸色谱图

泛酸色谱图见图 A.1。

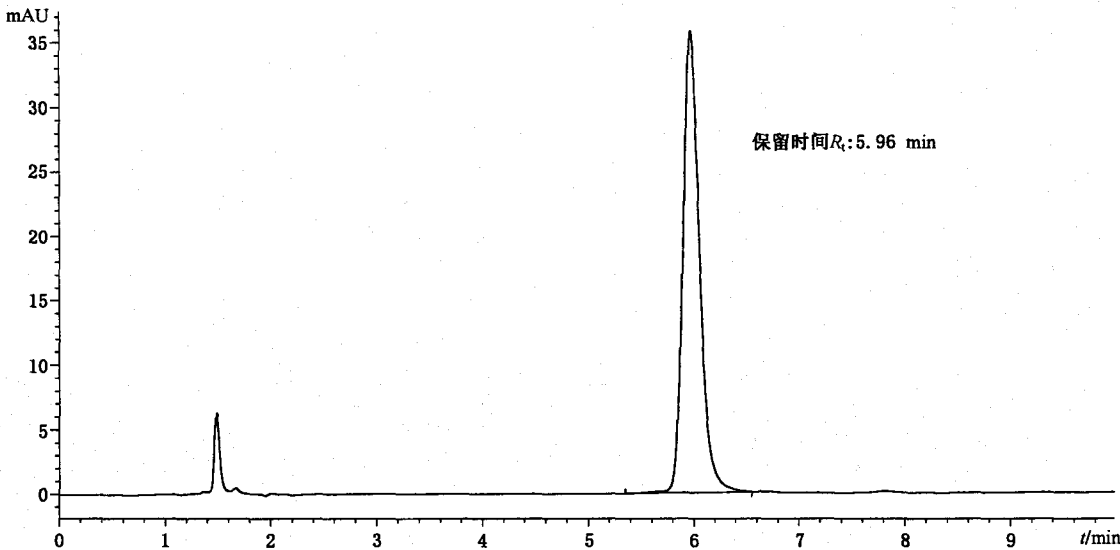


图 A.1 20 $\mu\text{g/mL}$ 泛酸色谱图