



中华人民共和国国家标准

GB/T 19371.2—2007
代替 GB/T 19371.2—2003

饲料中蛋氨酸羟基类似物的测定 高效液相色谱法

Determination of methionine hydroxy analogue in feeds—
High-performance liquid chromatography

2007-06-21 发布

2007-09-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准是 GB/T 19371.2—2003《饲料中液态蛋氨酸羟基类似物的测定 高效液相色谱法》的修订版。

本标准与 GB/T 19371.2—2003 的主要差异如下：

- 对标准名称的修改，由“饲料中液态蛋氨酸羟基类似物的测定”改为“饲料中蛋氨酸羟基类似物的测定”。
- 对测定范围的修改，在范围中增加了预混料中羟基蛋氨酸钙的测定。
- 对结果计算的修改，增加了羟基蛋氨酸钙的计算公式。
- 将最低检出量规范为最低定量限。

本标准自实施之日起代替 GB/T 19371.2—2003。

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：国家饲料质量监督检验中心（北京）。

本标准主要起草人：闫惠文、赵小阳、索德成、怀明燕。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 19371.2—2003。

饲料中蛋氨酸羟基类似物的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了高效液相色谱法(HPLC)测定配合饲料和浓缩饲料中液态蛋氨酸羟基类似物及配合饲料、浓缩饲料和添加剂预混合饲料中羟基蛋氨酸钙的方法。

本标准适用于配合饲料和浓缩饲料中液态蛋氨酸羟基类似物的测定,也适用于配合饲料、浓缩饲料和添加剂预混合饲料中羟基蛋氨酸钙的测定。

本标准最低定量限为 0.03%。

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 14699.1 饲料 采样

GB/T 19371.1—2003 饲料添加剂 液态蛋氨酸羟基类似物

3 原理

用 10% 的乙腈水溶液提取样品中的蛋氨酸羟基类似物,用氢氧化钾将蛋氨酸羟基类似物水解为有活性的单体,磷酸调节水解液的 pH 值。反相高效液相色谱分离,紫外检测器 214 nm 处测定蛋氨酸羟基类似物含量。由蛋氨酸羟基类似物含量可以换算出羟基蛋氨酸钙的含量。

4 试剂

以下所用的试剂,除特别注明外均为优级纯试剂,水符合 GB/T 6682 一级用水的规定。

4.1 乙腈:色谱纯。

4.2 提取剂:10%乙腈水溶液。

4.3 氢氧化钾溶液:50%。

4.4 磷酸溶液:1+1(体积比)。

4.5 HPLC 流动相:5%乙腈水溶液,每升加入 0.5 mL 三氟乙酸。

4.6 蛋氨酸羟基类似物标准样品:除非购买标样,否则需按 GB/T 19371.1—2003 准确测定含量。

5 仪器设备

5.1 振荡器:水平方向振荡,频率 250 r/min~300 r/min。

5.2 超声水浴。

5.3 HPLC 系统,由下述部件组成。

5.3.1 紫外检测器,适合在 210 nm 处测定。

5.3.2 分析柱:填有粒度为 5 μm 键合硅胶的 C_{18} 柱或性能相当的其他分析柱。柱温为室温。

6 采样

6.1 采样步骤

按 GB/T 14699.1 采集实验室样品。

6.2 试样的制备

将实验室样品粉碎,全部通过 0.45 mm 筛,充分混匀,贮于磨口瓶中备用。

7 分析步骤

7.1 提取

称取适量制备好的试料 2 g~5 g(精确至 0.000 1 g),置于 150 mL 具塞三角瓶中,准确加入一定量的提取液,一般 50 mL~100 mL,混合后置于振荡器上剧烈振荡 30 min 或置于超声水浴中提取 30 min,静置 10 min,离心或过滤,滤液备用。

7.2 水解

准确移取滤液 5 mL 于 10 mL 具塞试管中,准确加入 0.1 mL 氢氧化钾溶液(4.3),手摇至少 10 s,准确加入 0.2 mL 磷酸溶液(4.4),手摇至少 10 s,水解液离心或过滤,滤液过 0.45 μm 滤膜后备用。

7.3 标准溶液的制备

准确称取 0.113 6 g 液态蛋氨酸羟基类似物(88.00%)标准样品,用提取剂(4.2)定容至 100 mL,蛋氨酸羟基类似物浓度为 1.00 mg/mL。

准确吸取 2.5、5.0、10.0、20.0 mL 以上溶液至 50 mL 容量瓶,用提取剂(4.2)定容至刻度后摇匀,此标准系列的浓度为 0.05、0.10、0.20、0.40、1.00 mg/mL。

用以上标准系列与试样提取液同时做水解,测定。

7.4 HPLC 测定

7.4.1 色谱条件

流速:1.0 mL/min。

检测波长:210 nm。

进样量:20 μL~50 μL。

7.4.2 测定

向 HPLC 分析仪连续注入蛋氨酸羟基类似物标准溶液,直至得到基线平稳、峰形对称且峰面积能够重现的色谱峰。

依次注入标准及试样水解液,积分得到峰面积,用标准系列进行单点或多点校准。

8 结果计算

试样中蛋氨酸羟基类似物的含量 X_1 以质量分数(%)表示,按式(1)计算:

$$X_1 = \frac{c \times V}{m \times 1\,000} \times 100 \quad \cdots \cdots (1)$$

试样中羟基蛋氨酸钙的含量 X_2 以质量分数(%)表示,按式(2)计算:

$$X_2 = \frac{c \times V}{m \times 1\,000} \times \frac{338.4}{300.4} \times 100 \quad \cdots \cdots (2)$$

式中:

c ——由标准曲线查得的试样测定液中蛋氨酸羟基类似物的浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);

V ——加到试样中的提取液体积,单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g);

338.4——羟基蛋氨酸钙的分子质量;

300.4——羟基蛋氨酸的分子质量。

平行测定结果用算术平均值表示,结果表示至小数点后两位。

9 允许差

当含量小于 0.5% 时,两个平行试料测定值相差不大于 0.05%;当含量大于或等于 0.5% 时,两个平行试料测定值的相对偏差不大于 5%。
