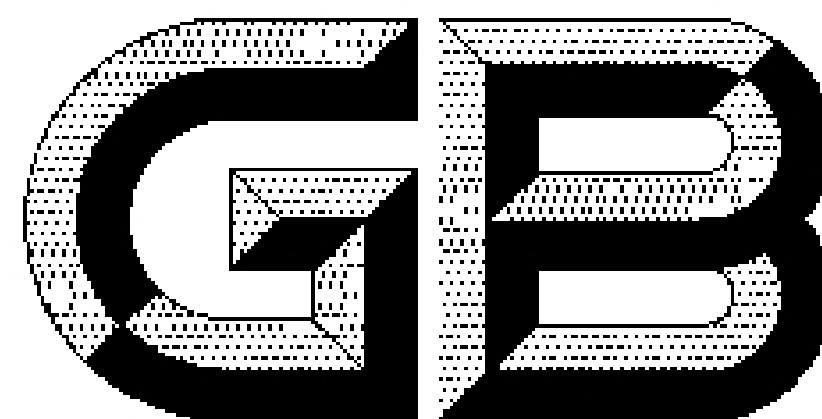




中华人民共和国国家标准

GB/T 28717—2012

饲料中丙二醛的测定 高效液相色谱法

Determination of malonaldehyde in feed—
High performance liquid chromatography

2012-09-03 发布

2013-02-01 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

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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：上海市饲料质量监督检验站、上海市农业科学院农产品质量标准与检测技术研究
所、广东恒兴集团有限公司、广东天科国际(集团)。

本标准主要起草人：赵志辉、杨海锋、林森、韩薇、陆天华、滕冰、凤懋熙、黄南。



饲料中丙二醛的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了饲料中丙二醛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、饲料原料中丙二醛的测定。

本标准方法的检测限为 0.015 mg/kg,定量限为 0.05 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

试样中丙二醛经三氯乙酸提取后,与硫代巴比妥酸(TBA)作用生成粉红色复合物,离心取上清液,用高效液相色谱法及荧光检测器检测,外标法计算丙二醛的含量。

4 试剂

除非另有规定,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和符合 GB/T 6682 中规定的一级水。

4.1 乙腈:色谱纯。

4.2 磷酸二氢钾溶液(50 mmol/L):称取 6.804 g(精确至 0.002 g)磷酸二氢钾,用水溶解,并定容至 1 000 mL。

4.3 硫代巴比妥酸(TBA)溶液(0.02 mol/L):称取 0.288 g(精确至 0.002 g)硫代巴比妥酸于烧杯中,加入适量水加热至全溶澄清,冷却后定容至 100 mL。

4.4 三氯乙酸混合液:准确称取 75.0 g(精确至 0.01 g)三氯乙酸及 1.0 g(精确至 0.01 g) EDTA(乙二胺四乙酸二钠),用水溶解,稀释至 1 000 mL。

4.5 丙二醛标准储备液(100 $\mu\text{g/mL}$):准确称取 0.315 g(精确至 0.002 g)1,1,3,3-四乙氧基丙烷(E. Mesck 97%),用水溶解后稀释至 1 000 mL,置冰箱保存,有效期 3 个月。

4.6 丙二醛标准工作储备液(1 $\mu\text{g/mL}$):准确移取丙二醛标准储备液(4.5)1.0 mL,用三氯乙酸混合液(4.4)稀释至 100 mL,置冰箱备用,有效期 2 周。

4.7 丙二醛标准系列:准确移取丙二醛标准工作储备液(4.6)1.0 mL、2.0 mL、4.0 mL、8.0 mL、10.0 mL 于 50 mL 容量瓶,以三氯乙酸混合液(4.4)稀释定容,该标准系列中丙二醛的相应浓度为 0.02 $\mu\text{g/mL}$ 、0.04 $\mu\text{g/mL}$ 、0.08 $\mu\text{g/mL}$ 、0.16 $\mu\text{g/mL}$ 、0.20 $\mu\text{g/mL}$,现配现用。

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 12 000 r/min。
- 5.3 振荡器。
- 5.4 恒温水浴箱。
- 5.5 样品筛:孔径 0.9 mm。
- 5.6 高效液相色谱仪:配有荧光检测器。

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 0.9 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

称取约 2 g 试样(饲用油脂称取约 1 g,精确至 0.001 g),置入 250 mL 三角瓶中,准确加入 50 mL 三氯乙酸混合液(4.4),180 r/min 振摇 30 min,取约 20 mL 提取液于 50 mL 离心管中,5 000 r/min 离心 5 min。

7.2 衍生化

准确移取上述试样溶液(7.1)上清液、丙二醛标准系列溶液(4.7)各 5 mL 分别置于 25.0 mL 比色管内,加入 5.0 mL TBA 溶液(4.3),混匀,置于 90 °C 水浴中保温 20 min,取出,用冰水浴迅速冷却,移入离心试管内,12 000 r/min 离心 5 min,取上清液上机测定,丙二醛标准系列和试样同步衍生化。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件

- 7.3.1.1 色谱柱: C_{18} 柱,长 250 mm,内径 4.6 mm,粒径 5 μ m,或性能相当者。
- 7.3.1.2 柱温:35 °C。
- 7.3.1.3 流动相:乙腈(4.1)+磷酸二氢钾溶液(4.2)=18+82(V+V),用前过 0.45 μ m 滤膜。
- 7.3.1.4 流速:1.0 mL/min。
- 7.3.1.5 进样体积:10 μ L。
- 7.3.1.6 激发波长:525 nm。
- 7.3.1.7 发射波长:560 nm。
- 7.3.1.8 色谱图:参见图 A.1。

7.3.2 液相色谱测定

分别取适量的标准工作液(7.2)和试样溶液(7.2),按 7.3.1 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,以标准工作液做单点或多点校准,并用色谱峰面积积分值定量。待测样液中丙二醛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,并在试样溶液分析间适当穿插标准工作液,以确保定量的准确性。

8 结果计算与表示

8.1 结果计算

试样中丙二醛的含量(以质量分数 X 计)按式(1)计算:

$$X = \frac{c \times V \times n \times 10^{-3}}{m \times 10^3} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X ——试样中丙二醛的含量(以质量分数计),单位为毫克每千克(mg/kg);

c ——试样溶液中对应的丙二醛浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V ——定容体积,单位为毫升(mL);

n ——稀释倍数;

m ——试样质量,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绝对差值不大于这两个测定值的算术平均值的 10%。

附录 A
(资料性附录)
丙二醛硫代巴比妥酸复合物色谱图

丙二醛硫代巴比妥酸复合物色谱图见图 A.1。

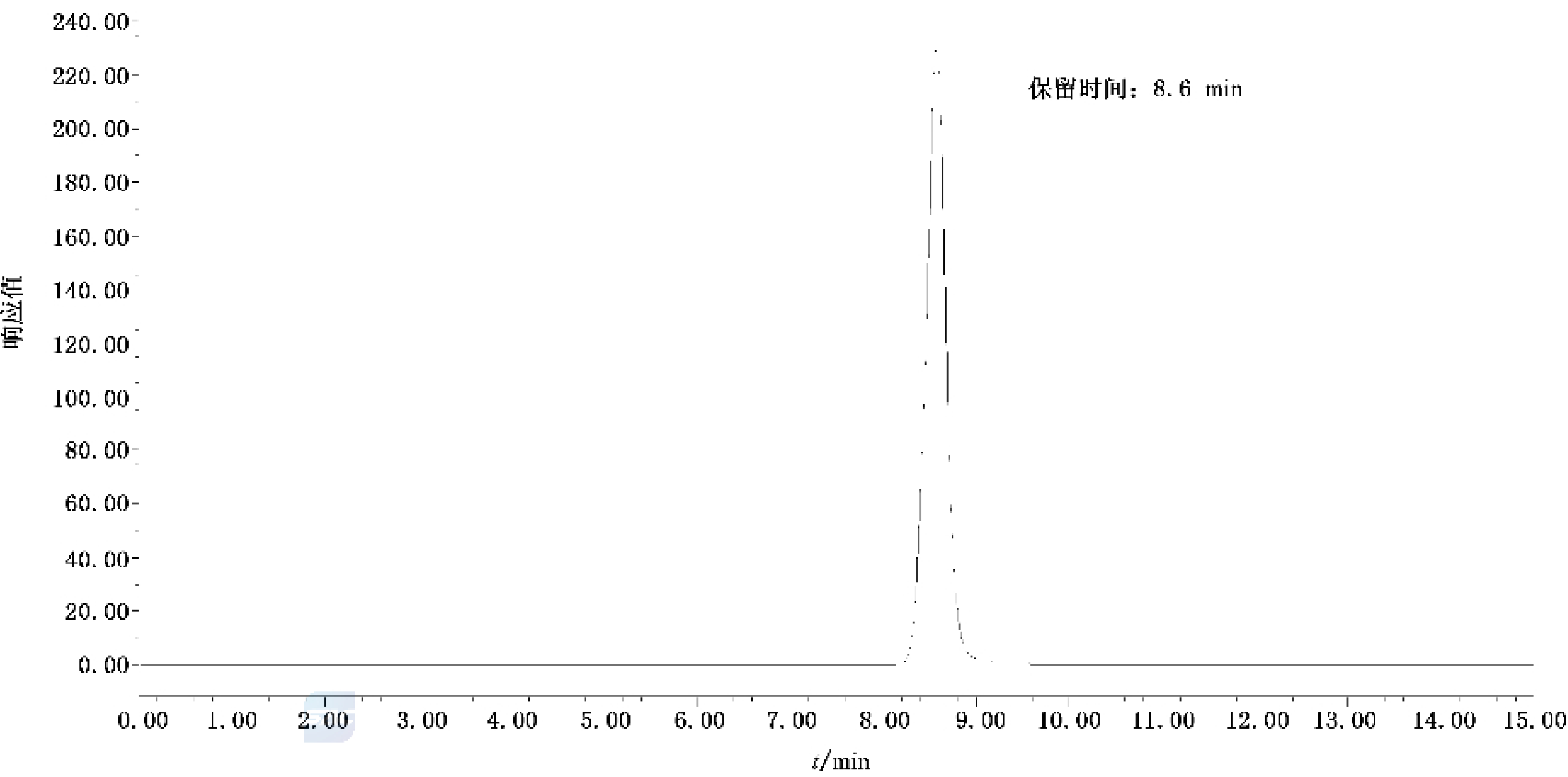


图 A.1 0.20 μg/mL 丙二醛硫代巴比妥酸复合物色谱图
