



中华人民共和国国家标准

GB/T 23737—2009

饲料中游离刀豆氨酸的测定 离子交换色谱法

Determination of free canavanine in feeds—
Ion exchange chromatography

2009-05-12 发布

2009-09-01 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

本标准附录 A 为资料性附录。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会提出并归口。

本标准起草单位：中国农业科学院北京畜牧兽医研究所、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所[国家饲料质量监督检验中心(北京)]。

本标准主要起草人：佟建明、吴莹莹、董晓芳、张琪、苏晓鸥。

饲料中游离刀豆氨酸的测定 离子交换色谱法

1 范围

本标准规定了用离子交换色谱法测定饲料中游离刀豆氨酸的含量。

本标准适用于单一饲料及配合饲料中游离刀豆氨酸的测定。

定量限为 15 mg/kg。

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 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备

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

试样中的游离刀豆氨酸经磺基水杨酸振荡提取,过滤并定容。该提取液经离子交换色谱柱分离并以茚三酮柱后衍生后在波长为 570 nm 下测定。

4 试剂和溶液

除特殊注明外,本标准所用试剂均为分析纯,水符合 GB/T 6682 中二级用水规定,色谱用水符合 GB/T 6682 中一级用水规定,溶液按照 GB/T 603 配制。

4.1 盐酸溶液:移取 1.7 mL 浓盐酸用水稀释到 1 L。

4.2 磺基水杨酸溶液:50 g/L。取 5.0 g 磺基水杨酸用水稀释到 100 mL。

4.3 不同 pH 和离子强度的洗脱用柠檬酸钠缓冲液:按仪器说明书配制。

4.4 茚三酮溶液:按仪器说明书配制。

4.5 刀豆氨酸($C_5H_{12}N_4O_3$)标准品:纯度 $\geq 98\%$ 。

4.6 刀豆氨酸标准溶液:称取 0.001 g 刀豆氨酸,精确到 0.000 1 g,用盐酸溶液(4.1)溶解定容至 10 mL,此溶液浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$,置 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。

4.7 刀豆氨酸标准工作液:分别吸取刀豆氨酸标准溶液(4.6)0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、4.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,用盐酸溶液(4.1)定容至 10 mL,混匀,配制成 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 $\mu\text{g/mL}$ 、40.0 $\mu\text{g/mL}$ 的刀豆氨酸标准工作液。现用现配。

5 仪器和设备

5.1 旋转蒸发器。

5.2 实验室用样品粉碎机。

5.3 样品筛:孔径 0.25 mm。

- 5.4 分析天平:感量 0.000 01 g。
- 5.5 振荡器:往复 250 次/min。
- 5.6 离心机:15 000 r/min。
- 5.7 微孔滤膜:孔径 0.45 μm。
- 5.8 氨基酸自动分析仪。

6 采样

按照 GB/T 14699.1 的规定执行。

7 试样制备

按照 GB/T 20195 制备试样,磨碎,全部通过 0.25 mm 孔筛,混匀,装入密闭容器中,避光低温保存备用。

8 分析步骤

8.1 试样溶液的制备

称取 1 g~2 g 试样(精确至 0.1 mg),置于 50 mL 离心管中,加入 20 mL 磺基水杨酸溶液(4.2),振荡器(5.5)振荡提取 30 min,15 000 r/min 离心 10 min,过滤到 50 mL 容量瓶中。再对过滤后的试样用 20 mL 磺基水杨酸溶液(4.2)重复提取一次,合并两次滤液。最后用磺基水杨酸溶液(4.2)定容至 50 mL。取 1.0 mL 定容后的滤液,置旋转蒸发器(5.1)中、50 ℃水浴下减压蒸发至干,加入 1.0 mL 盐酸溶液(4.1)后用 0.45 μm 滤膜过滤,上机测定。

8.2 定量测定

用刀豆氨酸标准工作液(4.7),按仪器说明书,调整仪器操作参数和(或)洗脱用柠檬酸钠缓冲液的 pH,注入试样溶液(8.1)和相应浓度的刀豆氨酸标准工作液(4.7),得到色谱峰面积值,用外标法定量测定,参见附录 A。

9 结果计算

试样中刀豆氨酸的含量 X 以毫克每千克(mg/kg)表示,按式(1)计算:

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

式中:

- c ——标准工作液(4.7)中刀豆氨酸的浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);
- A_i ——试样溶液(8.1)中刀豆氨酸的峰面积值;
- V ——试样的定容体积,单位为毫升(mL);
- A_s ——标准工作液(4.7)中刀豆氨酸的峰面积值;
- m ——试样的质量,单位为克(g)。

平行测定结果用算术平均值表示,保留三位有效数字。

10 重复性

同一分析者对同一试样同时两次平行测定所得结果的相对偏差不大于 10%。

附 录 A
(资料性附录)
刀豆氨酸标准色谱图

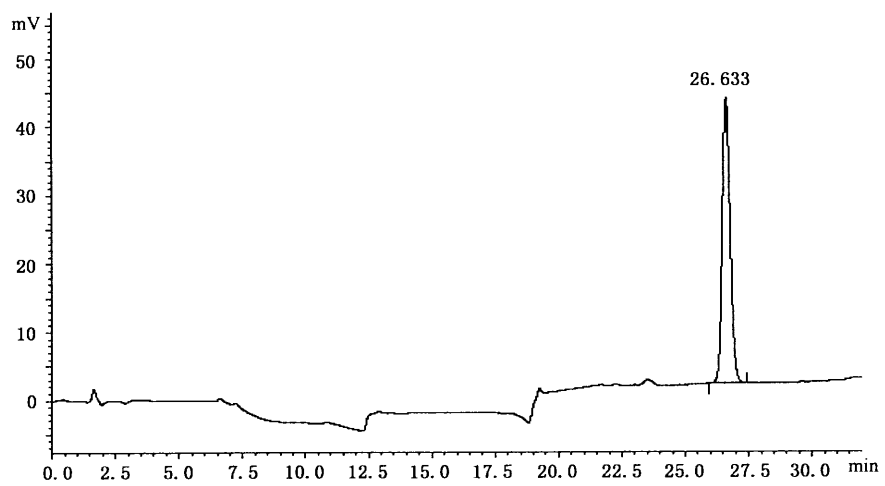


图 A.1 刀豆氨酸标准色谱图(20 $\mu\text{g/mL}$)