

NYSL

新饲料和新饲料添加剂产品标准

NYSL—1007—2022

饲料中槲皮万寿菊素的测定

高效液相色谱法

Determination of quercetagenin in feeds—

High performance liquid chromatography

2022-11-03 发布

2022-11-03 实施

中华人民共和国农业农村部 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国农业农村部畜牧兽医局提出，由全国饲料评审委员会归口。

本文件由晨光生物科技集团股份有限公司、河北晨光检测技术服务有限公司起草，由国家饲料质量检验检测中心（北京）复核。

本文件主要起草人：吴迪、焦利卫、连运河、杨清山、钱建瑞、张晓芳。

饲料中槲皮万寿菊素的测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件描述了饲料中槲皮万寿菊素的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于配合饲料和添加剂预混合饲料中槲皮万寿菊素的测定。

检出限为 3.0 mg/kg，定量限为 9.0 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 20195 动物饲料 试样的制备

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中的槲皮万寿菊素用含有乙二胺四乙酸二钠（EDTA）和二叔丁基对甲酚（BHT）的甲醇水溶解液经加热回流提取后，高效液相色谱仪测定，外标法定量。

5 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

5.1 水：GB/T 6682，一级。

5.2 甲醇：色谱纯。

5.3 溶解液：称取 0.2 g EDTA 和 0.5 g BHT，于 100 mL 水中，超声使溶解，加入 1 mL 磷酸，再加入 900 mL 甲醇，混匀，用 0.45 μm 有机系微孔滤膜过滤后备用。

5.4 0.2%磷酸溶液：移取 1 mL 磷酸，加水溶解，定容至 500 mL。用 0.45 μm 水系微孔滤膜过滤后备用。

5.5 槲皮万寿菊素标准品：CAS 号：90-18-6，纯度 $\geq$ 95.0%。

5.6 标准储备溶液（200 $\mu\text{g/mL}$ ）：准确称取槲皮万寿菊素标准品（5.5）10 mg（精确至 0.01 mg），置于 50 mL 容量瓶中，用溶解液（5.3）溶解并定容至刻度，摇匀。溶液转移至试剂瓶中，-18 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存，有效期为 6 个月。

5.7 标准系列溶液：准确移取适量标准储备溶液（5.6）于 25 mL 容量瓶中，用溶解液（5.3）稀释并定容，配成浓度分别为 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准系列溶液。临用现配。

5.8 微孔滤膜：0.45 μm ，有机系。

6 仪器设备

- 6.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器或二极管阵列检测器。
- 6.2 分析天平：感量为 0.01 mg 和 0.1 mg。
- 6.3 超声波清洗器。
- 6.4 恒温水浴锅：控温精度 $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

7 样品

按 GB/T 20195 制备样品，至少 200 g，粉碎使其全部通过 0.425 mm 孔径的分析筛，充分混匀，备用。

8 试验步骤

8.1 试样溶液的制备

平行做两份试验。称取配合饲料试样 5 g（精确至 0.1 mg），添加剂预混合饲料试样 1 g（精确至 0.1 mg），置于 250 mL 磨口锥形瓶中，精密加入溶解液（5.3）150 mL，称量后在 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中回流 45 min，降温补重（质量差异控制在 0.1 g 以内），摇匀后取上清液过微孔滤膜（5.8），备用。

8.2 测定

8.2.1 液相色谱参考条件

色谱柱： C_{18} 柱，柱长 150 mm，内径 4.6 mm，粒径 5 μm 。或性能相当者。
流动相：A：0.2%磷酸溶液（5.4），B：甲醇（5.2）。梯度洗脱，洗脱程序见表 1。
流速：1.0 mL/min。
柱温：40 $^{\circ}\text{C}$ 。
检测波长：360 nm。
进样体积：10 μL 。

表 1 洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0.0	80	20
3.0	80	20
8.0	58	42
15.0	58	42
16.0	30	70
20.0	30	70
21.0	80	20
23.0	80	20

8.2.2 标准系列工作溶液和试样溶液测定

在仪器最佳条件下，标准系列溶液（5.7）和试样溶液（8.1），分别注入高效液相色谱仪中测定。标准溶液的液相色谱图见附录 A。

8.2.3 定量

以标准系列溶液的浓度为横坐标，色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，标准曲线的相关系数不应低于 0.99。试样溶液与标准溶液中槲皮万寿菊素的响应值均应在仪器检测的线性范围内。如超出线性范围，应将试样溶液用溶解液（5.3）稀释（稀释倍数 n ）至线性范围内，上机测定。

9 试验数据处理

试样中槲皮万寿菊素的含量以质量分数 ω 计，数值以毫克每千克（mg/kg）表示，按公式（1）计算：

$$\omega = \frac{\rho \times V \times n}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

ρ ——由标准曲线计算得到的样品溶液中槲皮万寿菊素的浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V ——试样溶液定容体积，单位为毫升（mL）；

n ——超出线性范围，稀释倍数；

m ——试样质量，单位为克（g）。

测定结果以两次平行测定结果的算术平均值表示，结果保留 3 位有效数字。

10 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于其算术平均值的 10%。

附 录 A
(资料性)

槲皮万寿菊素标准溶液高效液相色谱图

槲皮万寿菊素标准溶液高效液相色谱图见图 A. 1。

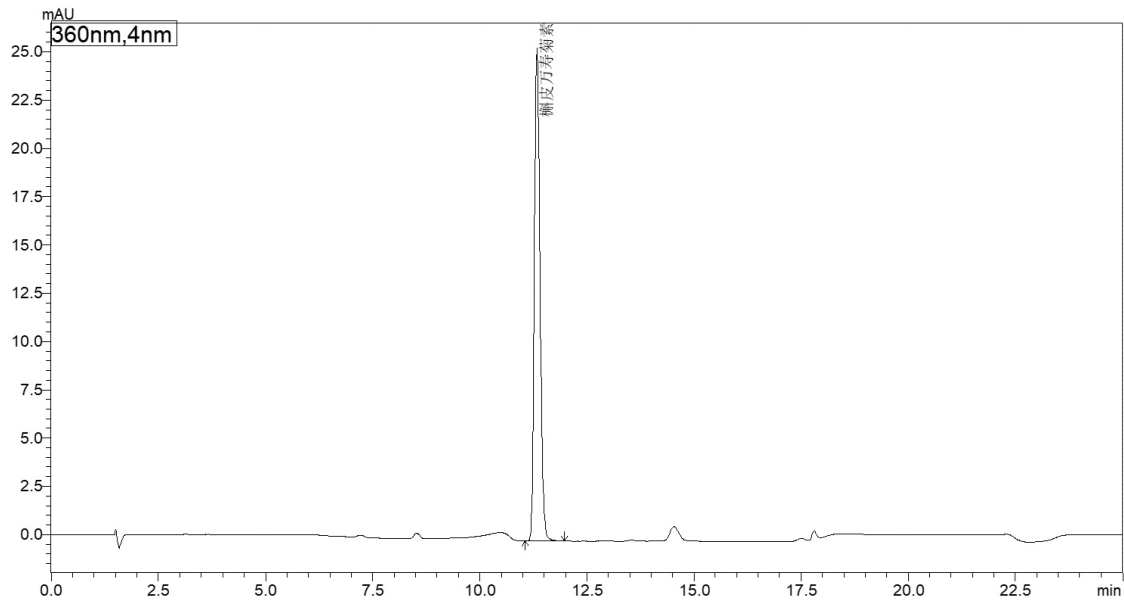


图 A. 1 槲皮万寿菊素标准溶液 (20 μg/mL) 高效液相色谱图

附件 9

饲料和饲料添加剂产品目录

申请单位	建明（中国）科技有限公司	
通用名称	丙酸铬	
英文名称	Chromium Propionate	
主要成分	丙酸铬 $[\text{Cr}_3(\text{O})(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}_2)_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	
产品类别	矿物元素及其络（螯）合物	
产品来源	以重铬酸钠和丙二醇为主要原料，丙酸过量的条件下氧化还原反应制得	
适用动物	肉仔鸡	
在配合饲料中的推荐添加量（以干物质含量为 88% 的配合饲料为基础）	0.2 mg/kg（以铬元素计，单独或与其他有机铬同时使用）	
在配合饲料中的最高限量（以干物质含量为 88% 的配合饲料为基础）	0.2 mg/kg（以铬元素计，单独或与其他有机铬同时使用）	
质量要求	外观与性状	深绿至黑色、粘稠状液体，具刺激性气味
	总铬/%	7.8~8.0
	丙酸铬/%	32.5~35.1

	丙酸/%	≥ 45.0
	总砷（以砷元素计）/（mg/kg）	≤ 1.00
	铅（Pb）/（mg/kg）	≤ 0.50
	汞（Hg）/（mg/kg）	≤ 0.50
	镉（Cd）/（mg/kg）	≤ 1.00
	六价铬（Cr ⁶⁺ ）/（mg/kg）	≤ 0.50