



中华人民共和国国家标准

GB/T 20189—2006

饲料中莱克多巴胺的测定 高效液相色谱法

Determination of ractopamine in animal feeds—
High performance liquid chromatographic method

2006-05-17 发布

2006-09-01 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

本标准是在参阅了国内外大量文献的基础上,根据我国技术发展水平研究制定的,采用了高效液相色谱-荧光检测法。

本标准由农业部和全国饲料工业标准化技术委员会提出并归口。

本标准负责起草单位:中国农业大学动物医学院、国家饲料质量监督检验中心(北京)。

本标准主要起草人:沈建忠、张素霞、苏晓鸥、徐百志、丁双阳、沈张奇、李兰。

饲料中莱克多巴胺的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了检测动物饲料中莱克多巴胺含量的高效液相色谱(HPLC)方法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料和添加剂预混合饲料中莱克多巴胺含量的测定。本方法检测限为 0.5 $\mu\text{g/g}$ 。

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—1992 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 14699.1 饲料 采样

3 方法原理

用酸性甲醇-水提取试样中莱克多巴胺,二氯甲烷和正己烷萃取净化,以 2%冰乙酸-乙腈-水作为流动相,用高效液相色谱-荧光检测法分离测定。

4 试剂和溶液

除非另有说明,本法所用试剂均为分析纯,水为去离子水,符合 GB/T 6682—1992 二级水的规定。

4.1 乙腈:色谱纯。

4.2 甲醇:色谱纯。

4.3 甲醇。

4.4 二氯甲烷。

4.5 正己烷。

4.6 乙酸溶液:取 5 mL 冰乙酸加水至 250 mL。

4.7 提取液:取 900 mL 甲醇(4.3)加水到 1 000 mL,再加 2 mL 浓盐酸,混匀。

4.8 流动相:取 320 mL 乙腈(4.1)加水到 1 000 mL,再加 20 mL 冰乙酸和 0.87 g 戊烷磺酸钠($\text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}_2\text{SNa} \cdot \text{H}_2\text{O}$),混匀。

4.9 莱克多巴胺标准储备液:准确称取莱克多巴胺标准品(纯度 $\geq 99\%$)0.100 0 g,置于 100 mL 容量瓶中,用甲醇溶解,定容,其浓度为 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的储备液,置 4℃冰箱中,可保存 3 个月。

4.10 莱克多巴胺标准工作液:分别准确吸取一定量的标准储备液(4.9),置于 10 mL 容量瓶中,用 2%冰乙酸稀释、定容,配制成浓度为 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 、0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液,分别进行 HPLC 检测。

5 仪器和设备

实验室常用仪器、设备及以下设备。

- 5.1 高效液相色谱仪:配荧光检测器。
- 5.2 离心机。
- 5.3 振荡器。
- 5.4 玻璃具塞三角瓶;250 mL。
- 5.5 微孔滤膜;0.45 μm。
- 5.6 漩涡混合器。

6 试样制备

按 GB/T 14699.1 规定,取有代表性的样品,四分法缩减取约 200 g,经粉碎,全部过 1 mm 孔筛,混匀装入磨口瓶中备用。

7 测定步骤

7.1 试样提取

称取一定量的试样(10.0 g 配合饲料,或 5.0 g 浓缩饲料,或 1.0 g 添加剂预混合饲料),置于 250 mL 玻璃具塞三角瓶中,加入 100 mL 提取液(4.7),振荡 30 min。静止 20 min,取上清液 1 mL 于离心管中,于 45℃ 下氮气吹干,加入 4 mL 乙酸溶液(4.6)溶解,涡动 30 s~60 s,加入 2 mL 二氯甲烷(4.4)萃取,涡动 30 s,3 000 r/min 离心 10 min,取上层乙酸相于另一离心管中,加入 2 mL 正己烷(4.5),涡动 30 s,1 000 r/min 离心 5 min,弃去上层,用 0.45 μm 微孔有机滤膜过滤作为试样制备液,供高效液相色谱分析。

7.2 HPLC 色谱条件

色谱柱: C₁₈ 柱,长 250 mm,内径 4.6 mm,粒径 5 μm,或相当者。

柱温:室温。

流动相:见 4.8。

流动相流速:1.0 mL/min。

激发波长:226 nm。

发射波长:305 nm。

进样量:50 μL。

7.3 HPLC 测定

取适量试样制备液(7.1)和相应浓度的标准工作液(4.10),作单点或多点校准,以色谱峰面积积分值定量。当分析物浓度不在线性范围内时,应将分析物稀释或浓缩后再进行检测。

8 结果计算与表述

8.1 试样中莱克多巴胺的含量 X,以质量分数(μg/g)表示,按式(1)计算:

$$X = \frac{m_1}{m} \times n \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

m_1 ——HPLC 试样色谱峰对应的莱克多巴胺的质量,单位为微克(μg);

m ——试样质量,单位为克(g);

n ——稀释倍数。

8.2 测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留至小数点后 1 位。

9 精密度

9.1 重复性

实验室内平行测定间的变异系数不大于 10%。

9.2 再现性

实验室间测定的变异系数不大于 20%。
