



中华人民共和国国家标准

GB/T 23884—2009

动物源性饲料中生物胺的测定 高效液相色谱法

Determination of biogenic amines in animal-derived feeds—
High performance liquid chromatography

2009-05-26 发布

2009-10-01 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

本标准的附录 A 和附录 B 为资料性附录。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)提出并归口。

本标准负责起草单位:中国农业大学、农业部饲料效价与安全监督检验测试中心(北京)。

本标准主要起草人:杨文军、张丽英、王宗义。

动物源性饲料中生物胺的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了以高效液相色谱测定鱼粉和肉骨粉中的组胺、腐胺、尸胺、酪胺、精胺和亚精胺的方法,6种生物胺的化学名称、分子式和相对分子质量(按1999国际相对原子质量)参见附录A。

本标准适用于动物源性饲料鱼粉和肉骨粉中组胺、腐胺、尸胺、酪胺、精胺和亚精胺的测定,检测限为0.5 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 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 原理

试样中的组胺、腐胺、尸胺、酪胺、精胺和亚精胺以5%三氯乙酸溶液提取,经碱化,苯甲酰氯衍生化后,乙醚萃取,氮气吹干,甲醇溶解残渣,反相液相色谱柱分离测定,紫外检测器检测,外标法定量分析。

4 试剂和材料

除特殊注明外,本标准所用试剂均为分析纯,水符合GB/T 6682 二级用水规定。

4.1 苯甲酰氯。

4.2 乙腈(色谱纯)。

4.3 三氯乙酸。

4.4 乙酸铵。

4.5 氢氧化钠。

4.6 乙醚。

4.7 5%三氯乙酸提取液:称取50 g三氯乙酸,用水溶解,并定容至1 000 mL。

4.8 $c(\text{CH}_3\text{COONH}_4)=0.02 \text{ mol/L}$ 乙酸铵溶液:称取1.54 g乙酸铵,用水溶解,并定容至1 000 mL。

4.9 $c(\text{NaOH})=2 \text{ mol/L}$ 氢氧化钠溶液:称取80 g氢氧化钠,用水溶解,并定容至1 000 mL。

4.10 标准储备液:分别准确称取组胺、腐胺、尸胺、酪胺、精胺和亚精胺标准品适量(含量 $\geq 99.0\%$),于棕色容量瓶中,用水溶解,定容至刻度,摇匀,使其溶液浓度为1 mg/mL,贮存于4℃冰箱中,有效期为一个月。

4.11 标准工作液:准确量取标准储备液(4.10)于容量瓶中,用水稀释,依次配制成浓度为0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、20.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液,现配现用。

5 仪器

5.1 分析天平(精度0.1 mg)。

- 5.2 超声波清洗器。
- 5.3 微孔有机相滤膜:孔径 0.45 μm。
- 5.4 恒温水浴锅。
- 5.5 涡旋振荡器。
- 5.6 氮吹仪。
- 5.7 摇床。
- 5.8 高效液相色谱仪:配置紫外检测器。

6 试样制备

按 GB/T 20195 的规定制备试样,粉碎过孔径 0.45 mm 筛,充分混匀,装瓶,备用。

7 分析步骤

7.1 试液的制备

7.1.1 提取

称取 1.00 g~2.00 g 试样(准确至 0.1 mg)于 50 mL 螺口离心管中,准确加入 20.00 mL 提取液(4.7),摇床中振荡提取,转速为 120 r/min,振摇 30 min。提取液在 3 000 r/min 离心 10 min,上清液作为衍生化使用。

7.1.2 衍生化

准确移取 2.00 mL 上清液(7.1.1)于 10 mL 离心管中,加入 2.00 mL 2 mol/L 氢氧化钠溶液(4.9),摇匀,再加入 20.0 μL 苯甲酰氯(4.1),涡旋振荡 30 s,置于 37.5 °C 水浴锅中 20 min,每隔 5 min 振荡 30 s。

7.1.3 萃取

离心管中加入 2.00 g 氯化钠,涡旋振荡 30 s,再加入 2.00 mL 乙醚(4.6),涡旋振荡 30 s,静置 2 min,在 3 000 r/min 离心 10 min。

7.1.4 氮吹

将离心管上层的乙醚层移取至另外 10.00 mL 离心管中,氮气吹干,向残渣中准确加入 1.00 mL 甲醇,甲醇液通过 0.45 μm 有机相滤膜,滤液上机测定。

7.2 标准工作液的衍生化、萃取和氮吹

同时移取标准工作液,衍生化、萃取和氮吹,步骤同 7.1.2、7.1.3 和 7.1.4。

7.3 色谱条件

7.3.1 色谱柱:具有 C₁₈ 填料的柱子(粒度为 5 μm):柱长 150 mm,内径 4.6 mm。

7.3.2 流动相及洗脱程序(如表 1):

表 1 梯度洗脱程序

时间/ min	0.02 mol/L 乙酸铵溶液/ %	乙腈/ %
0	70	30
5	25	75
10	25	75
15	70	30

7.3.3 流速:1.0 mL/min。

7.3.4 进样体积:10 μL~20 μL。

7.3.5 检测波长:254 nm。

8 定量测定

向液相色谱柱中注入待测定组胺、腐胺、尸胺、酪胺、精胺和亚精胺标准工作液及试样溶液(7.1.4),得到色谱峰面积响应值,用外标法定量。6种生物胺标准色谱图参见附录B。

9 结果计算

9.1 试样中组胺、腐胺、尸胺、酪胺、精胺和亚精胺含量[以质量分数 w_i (mg/kg)计]分别按式(1)计算:

$$w_i = \frac{P_i \times V \times c_i \times V_{st}}{P_{st} \times m \times V_i} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

P_i ——试样溶液峰面积值;

V ——试样的总稀释体积,单位为毫升(mL);

c_i ——标准溶液浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V_{st} ——标准溶液进样体积,单位为微升(μL);

P_{st} ——标准溶液峰面积平均值;

m ——试样质量,单位为克(g);

V_i ——试样溶液进样体积,单位为微升(μL)。

9.2 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

在重复性条件下,完成的两次平行测定结果的相对偏差不大于10%。

附 录 A
(资料性附录)

6 种生物胺的化学名称、分子式和相对分子质量

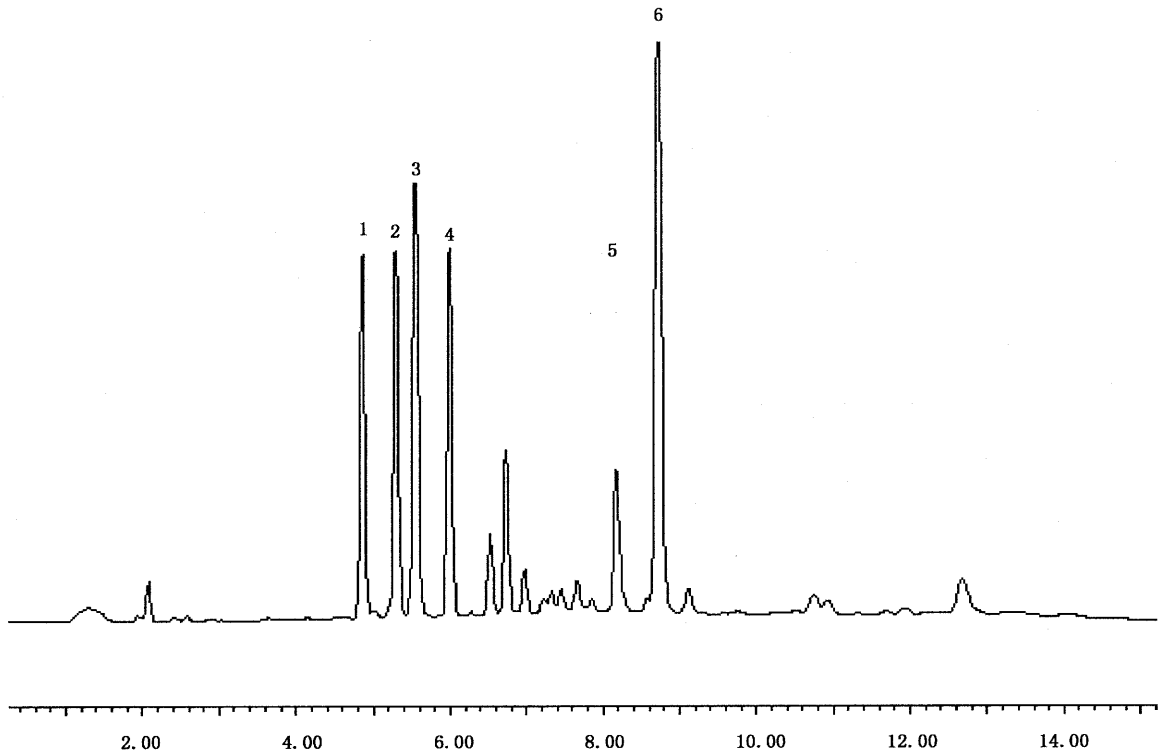
6 种生物胺的化学名称、分子式和相对分子质量见表 A.1。

表 A.1 6 种生物胺的化学名称、分子式和相对分子质量

名称	项目		
	化学名称	分子式	相对分子质量
组胺	2-(4-咪唑基)乙胺	$C_5H_9N_3$	111.0
腐胺	1,4-丁二胺	$C_4H_{12}N_2$	124.6
尸胺	1,5-戊二胺	$C_5H_{14}N_2$	138.6
酪胺	2-对羟基苯基乙胺	$C_8H_{11}NO$	137.1
精胺	NN' -双(3-氨基丙基)-1,4-丁二胺	$C_7H_{19}N_3$	145.2
亚精胺	N -(3-氨基丙基)-1,4-丁二胺	$C_{10}H_{26}N_4$	202.3

附录 B
(资料性附录)
6 种生物胺标准色谱图

6 种生物胺标准色谱图, 见图 B.1。



- 1—腐胺;
- 2—尸胺;
- 3—亚精胺;
- 4—精胺;
- 5—组胺;
- 6—酪胺。

图 B.1 6 种生物胺的色谱图

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
动物源性饲料中生物胺的测定
高效液相色谱法
GB/T 23884—2009

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

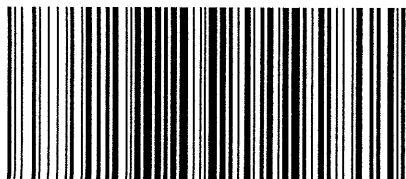
开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 10 千字
2009年8月第一版 2009年8月第一次印刷

*

书号:155066·1-38472 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



GB/T 23884-2009

打印日期:2009年10月14日