



中华人民共和国国家标准

GB/T 17481—2008
代替 GB/T 17481—1998

预混料中氯化胆碱的测定

Determination of choline choride in premix

2008-04-09 发布

2008-07-01 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 GB/T 17481—1998《预混料中氯化胆碱的测定 分光光度法》的修订版。

本标准代替 GB/T 17481—1998。

本标准与 GB/T 17481—1998 相比主要差异如下：

- 补充了离子色谱法为第一测定法(仲裁法)、原标准的雷氏盐分光光度法作为第二测定法；
- 离子色谱法主要参考 Metrohm 文献制定,方法的范围、称样量、试样提取条件进行了改进；
- 雷氏盐分光光度法增加了“方法的检出限”。

本标准的附录 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:中国饲料工业协会、国家饲料质量监督检验中心(武汉)、上海市饲料行业协会。

本标准主要起草人:刘小敏、辛盛鹏、栗胜兰、凤懋熙、杨先奎。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 17481—1998。

预混料中氯化胆碱的测定

1 范围

本标准规定了预混料中氯化胆碱的离子色谱检验方法和雷氏盐分光光度检验方法。

本标准适用于预混料中氯化胆碱的测定,离子色谱检验方法为仲裁法。离子色谱法定量限为 0.05 g/kg;雷氏盐分光光度法定量限为 2.5 g/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 6682—1992, neq ISO 3696:1987)

GB/T 14699.1 饲料 采样(GB/T 14699.1—2005, ISO 6497:2002, IDT)

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备(GB/T 20195—2006, ISO 6498:1998, IDT)

3 方法 1:离子色谱检验方法(仲裁法)

3.1 原理

用纯水提取样品中氯化胆碱,采用阳离子交换色谱-电导检测器检测,外标法定量。

3.2 试剂和材料

除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂。

3.2.1 水:GB/T 6682,一级。

3.2.2 丙酮:色谱纯。

3.2.3 嘧啶二羧酸($C_7H_5NO_4$)。

3.2.4 流动相:0.600 0 g 柠檬酸+0.125 0 g 嘧啶二羧酸加水 300 mL,加热溶解,冷却后加入150 mL 丙酮定容至1 000 mL 容量瓶中。

3.2.5 氯化胆碱标准溶液

3.2.5.1 氯化胆碱标准储备溶液

精确称取氯化胆碱标准品(含量 $\geq 99.5\%$)0.100 5 g,置于100 mL 容量瓶中,用水溶解,稀释至刻度,摇匀,其浓度为1 000 $\mu\text{g/mL}$,保存在4℃冰箱中,有效期为一个月。

3.2.5.2 氯化胆碱标准工作溶液

分别准确移取一定量氯化胆碱储备液(3.2.5.1),用水稀释成浓度为25.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作液,以上溶液应当日配制和使用。

3.3 仪器与设备

3.3.1 恒温水浴锅。

3.3.2 振荡器:往复式。

3.3.3 色谱仪:具弱酸型阳离子交换柱配电导检测器。

3.3.4 实验室常用玻璃器皿。

3.4 试样的制备

按GB/T 14699.1 采样,按GB/T 20195 制备试样,磨碎,通过0.42 mm 孔筛,混匀,装入密闭容器中,避光低温保存备用。

3.5 分析步骤

3.5.1 试液制备

3.5.1.1 准确称取 2 g 试样(含氯化胆碱 0.01 g~0.2 g),精确至 0.000 1 g,于 100 mL 容量瓶中,加约 60 mL 水,摇匀,在 70℃ 水浴锅中加热 20 min,在往复振荡器上振荡 10 min,冷却至室温,用水稀释至刻度,摇匀,干过滤,滤液备用。

3.5.1.2 吸取 5.0 mL 滤液(3.5.1.1)置于 100 mL 容量瓶中,摇匀,用水稀释至刻度。过 0.45 μm 滤膜,上机测定。

3.5.2 测定

3.5.2.1 色谱分析条件

推荐的色谱操作条件见表 1,典型离子色谱图见附录 A。

表 1 推荐的色谱操作条件

色谱柱	柱长 150 mm×内径 4 mm,粒径 4 mm,阳离子交换柱(Na ⁺ 形式)
流动相	见 3.2.4
流动相流速/(mL/min)	1.0
柱温	常温
注:方法中所列色谱柱和流动相仅提供可参考的选择,同等性能色谱柱和流动相均可使用。	

3.5.2.2 测定

向离子色谱分析仪连续注入氯化胆碱标准工作溶液,直至得到基线平稳,峰形对称且峰面积能够重现的色谱峰。

氯化胆碱标准溶液与相邻的离子分离度大于 1.5。

依次注入标准溶液、试样溶液,积分得到峰面积,用标准系列溶液进行单点或多点校准。

3.6 结果计算

3.6.1 试样中氯化胆碱 X 以质量分数计,数值以克每千克表示,按式(1)计算:

$$X = \frac{P \times n \times c \times V}{P_0 \times m \times 1000} \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X——试样中氯化胆碱的含量,单位为克每千克(g/kg);

P——试样峰面积值;

n——稀释倍数(3.5.1.2 中的稀释倍数);

c——标准工作液(3.2.5.2)中氯化胆碱浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

V——试样体积,单位为毫升(mL);

P₀——标准工作液峰面积值;

m——称取试样的质量,单位为克(g)。

3.6.2 平行测定结果用算术平均值表示,保留三位有效数字。

3.7 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的测定值的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

4 方法 2:雷氏盐分光光度检验方法

4.1 原理

用甲醇-三氯甲烷混合溶剂提取试样中的氯化胆碱,将溶剂蒸干后用水溶解残渣,再在低温下加入雷氏盐生成氯化胆碱雷氏盐的结晶,过滤出结晶,用丙酮溶解,定容。将其丙酮溶液在波长 525 nm 下进行分光光度测定。

4.2 试剂和材料

除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂。

4.2.1 水:GB/T 6682,二级。

4.2.2 甲醇。

4.2.3 丙酮。

4.2.4 甲醇-三氯甲烷混合液(10+1):量取 900 mL 甲醇和 90 mL 三氯甲烷,混匀。

4.2.5 雷氏盐(二氨基四硫代氰酸铬铵) $[\text{NH}_4\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]$ 甲醇溶液(40 g/L):称取 4 g 雷氏盐溶于甲醇,加甲醇稀释至 100 mL,混匀,置冰箱内保存。

4.3 仪器与设备

4.3.1 实验室常用玻璃器皿。

4.3.2 振荡器:往复式。

4.3.3 恒温水浴锅。

4.3.4 离心机。

4.3.5 分光光度计:有 1.0 cm 比色皿,可在 525 nm 下测定吸光度。

4.3.6 具塞锥形瓶:200 mL。

4.3.7 高形烧杯:100 mL。

4.3.8 抽滤瓶:250 mL。

4.3.9 坩埚式过滤器:孔径 $4\ \mu\text{m}\sim 7\ \mu\text{m}$ 。

4.4 试样的制备

见 3.4。

4.5 分析步骤

4.5.1 试液提取

精确称取试样约 5 g(含氯化胆碱约 0.04 g~0.4 g)于具塞锥形瓶中,精确移入甲醇-三氯甲烷混合液(4.2.4)100.0 mL,加塞,在振荡器上振荡 30 min 后,用慢速滤纸过滤,得试样提取液。

4.5.2 氯化胆碱雷氏盐的生成和溶出

精确吸取上述提取液 5.00 mL~10.00 mL 于 100 mL 高形烧杯中,在 50℃ 水浴上蒸发至干,加水 40 mL 使残渣溶解,再在冰浴中冷却到 5℃ 以下,加 3 mL 雷氏盐溶液(4.2.5),间断搅拌反应 30 min,得到氯化胆碱雷氏盐的结晶。

将生成的结晶转入坩埚式过滤器中真空抽滤,烧杯用水洗净,洗液一并抽滤。滤毕,结晶用 5 mL 水洗 3 次,再用 5 mL 甲醇洗,抽干,向过滤器中加入丙酮,使结晶溶解,转入 50 mL 容量瓶中,用丙酮洗净过滤器,洗液一并转入 50 mL 容量瓶中,加丙酮至刻度,混匀,得试样溶液。

4.5.3 测定

4.5.3.1 试样的测定

吸取 5.0 mL 所得试样液(4.5.2)于 10 mL 离心管中,离心 5 min,转速为 3 000 r/min,取上层清液,以丙酮作参比,用 1.0 cm 比色皿在 525 nm 波长下,用分光光度计测定吸光度,在工作曲线上查得试样中氯化胆碱的含量。

4.5.3.2 工作曲线的绘制

精确吸取氯化胆碱标准贮备液(3.2.5.1)5.00,10.00,15.00,20.00 mL 分别置于 100 mL 高形烧杯中,加水 40 mL,以下按 4.5.2 中“再在冰浴中冷却到 5℃ 以下”以后的操作及 4.5.3.1 进行,测各标准工作液的吸光度,绘制工作曲线。

4.6 结果计算

4.6.1 试样中氯化胆碱 X 以质量分数计,数值以克每千克表示,按式(2)计算:

$$X = \frac{m_1 \times V}{m \times V_1} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

X ——试样中氯化胆碱的含量,单位为克每千克(g/kg);

m_1 ——标准曲线上查得测定样液中氯化胆碱的质量,单位为毫克(mg);

V ——试样总体积,单位为毫升(mL);

m ——称取试样的质量,单位为克(g);

V_1 ——试样测定时吸取试样提取液的体积,单位为毫升(mL)。

4.6.2 平行测定结果用算术平均值表示,保留三位有效数字。

4.7 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的测定值的绝对差值不得超过算术平均值的 15%。

附录 A
(资料性附录)
预混料中氯化胆碱离子色谱图

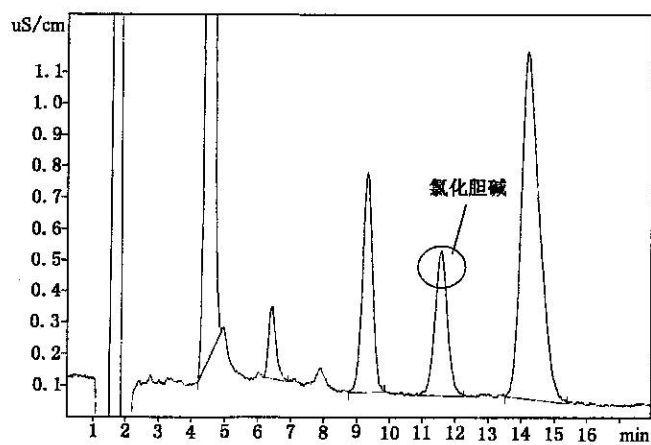


图 A.1 预混料中氯化胆碱离子色谱图