



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 23882—2009

## 饲料中 L-抗坏血酸-2-磷酸酯的测定 高效液相色谱法

Determination of L-ascorbyl-2-monophosphate in 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 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。

本标准起草单位:国家饲料质量监督检验中心(武汉)、北京桑普生物化学技术有限公司、帝斯曼维生素(上海)有限公司。

本标准主要起草人:屈利文、施文娟、虞哲高、杨海鹏、何凤琴、黄婷。

## 饲料中 L-抗坏血酸-2-磷酸酯的测定

## 1 范围

本标准规定了饲料中 L-抗坏血酸-2-磷酸酯的高效液相色谱检测方法。

本标准适用于水产用配合饲料、浓缩饲料、添加剂预混合饲料中 L-抗坏血酸-2-磷酸酯含量的测定，方法检出限为 2 mg/kg(以 L-抗坏血酸计)，定量限为 10 mg/kg(以 L-抗坏血酸计)。

## 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 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 L-抗坏血酸-2-磷酸酯用磷酸盐缓冲溶液提取，离心，过滤，过滤液用高效液相色谱仪进行测定，外标法定量。

## 4 试剂和溶液

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和符合 GB/T 6682 规定的二级水的水。

4.1 甲醇：色谱纯。

4.2 磷酸。

4.3 磷酸二氢钾。

4.4 四丁基硫酸氢铵。

4.5 磷酸盐缓冲溶液：54 g 磷酸二氢钾溶于 900 mL 水中，用磷酸(4.2)调至 pH3.0 后，用水稀释至 1 000 mL。

## 5 仪器和设备

- 5.1 高效液相色谱仪,配有紫外或二极管阵列检测器。
- 5.2 离心机:3 500 r/min。
- 5.3 超声波水浴。

## 6 采样

按照 GB/T 14699.1 的规定执行。

## 7 试样制备

按 GB/T 20195 制备试样,磨碎,通过 0.45 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 提取

称取一定量的试样〔含 L-抗坏血酸-2-磷酸酯(以 L-抗坏血酸计)约 1 mg〕,精确至 0.1 mg,置于 100 mL 容量瓶中,加入约 70 mL 磷酸盐缓冲溶液(4.5),于超声波水浴中超声处理 15 min,用磷酸盐缓冲溶液(4.5)定容至刻度(V)。取适量溶液 3 500 r/min 离心 5 min,离心后上清液经过 0.45 μm 滤膜过滤,滤液用于高效液相色谱分析。

### 8.2 测定

#### 8.2.1 液相色谱参考条件

色谱柱:C<sub>18</sub>柱,长 250 mm,内径 4.6 mm,粒径 5 μm,或性能相当者。

柱温:室温。

流速:1.0 mL/min。

检测波长:250 nm。

进样量:20 μL。

#### 8.2.2 标准曲线的绘制

向基线平稳的 HPLC 分析仪连续注入 L-抗坏血酸-2-磷酸酯标准工作液(4.8),浓度由低到高,以峰面积-浓度作图,得到标准曲线回归方程。

#### 8.2.3 定量测定

注入待测样液(8.1),其中 L-抗坏血酸-2-磷酸酯的峰面积响应值应在标准曲线线性范围内,超过线性范围则应稀释后再进样分析。依据峰面积,从标准曲线中得到待测样液中 L-抗坏血酸-2-磷酸酯的浓

$m$ ——试样质量,单位为克(g);

$n$ ——稀释倍数。

测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留三位有效数字。

#### 10 重复性

同一实验室由同一操作人员使用同一仪器完成的两个平行测定结果的相对偏差不大于15%。

附录 A  
(资料性附录)  
L-抗坏血酸-2-磷酸酯色谱图

A.1 三-环己胺-L-抗坏血酸-2-磷酸酯标准工作液的色谱图见图 A.1。

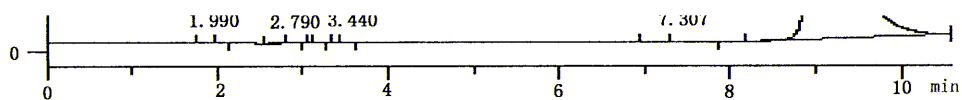


图 A.1 三-环己胺-L-抗坏血酸-2-磷酸酯标准工作液的色谱图

A.2 L-抗坏血酸-2-磷酸酯样品试液的色谱图见图 A.2。

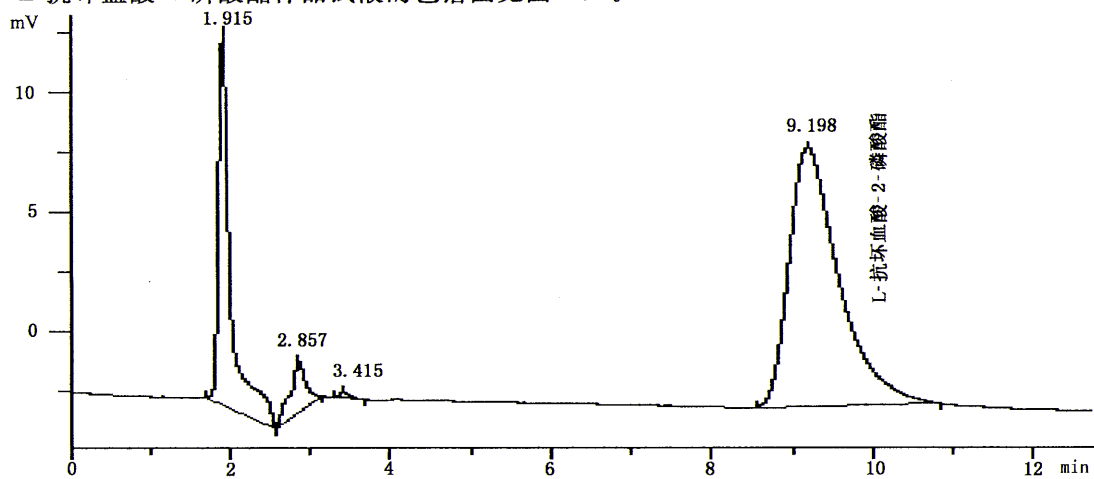


图 A.2 L-抗坏血酸-2-磷酸酯样品试液的色谱图