

ICS 65.020
B 04

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1382—2007

**棉籽中棉酚旋光体的测定
高效液相色谱法**

Determination of Gossypol Enantiomers in Cotton Seed by HPLC

2007-06-14 发布

2007-09-01 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准由中华人民共和国农业部提出并归口。

本标准起草单位：农业部棉花品质监督检验测试中心、中国农业科学院棉花研究所。

本标准主要起草人：杨伟华、许红霞、王延琴、周大云、冯新爱、夏俊英。

棉籽中棉酚旋光体的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了棉花种子中棉酚旋光体的高效液相色谱测定方法。
本方法适用于棉花种子及其相关产品中棉酚旋光体的测定。

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,鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可以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部分。

GB/T 6682 分析实验用水规格和试验方法(neq ISO 3696)

3 原理

使样品中的左旋(-)棉酚和右旋(+)棉酚与L-苯基丙胺醇充分反应后,分别生成(-)棉酚-L-苯基丙胺醇与(+)棉酚-L-苯基丙胺醇。以甲醇/磷酸水溶液为流动相,两种棉酚衍生物在碳十八柱上有不同的保留时间,从而达到分离目的。在254 nm处检测,根据色谱峰的保留时间定性,以峰面积外标法定量。

4 试剂

- 4.1 水,符合GB/T 6682 二级用水的规定。
- 4.2 甲醇,分析纯。
- 4.3 磷酸,分析纯。
- 4.4 三氯甲烷,分析纯。
- 4.5 石油醚(沸程30℃~60℃),分析纯。
- 4.6 L-苯基丙胺醇,分析纯。
- 4.7 (-)棉酚、(+)棉酚和消旋(±)棉酚标准品,纯度在99.9%以上。

5 仪器设备

- 5.1 高效液相色谱仪,配备紫外检测器,自动数据处理仪。
- 5.2 小型粉碎机。
- 5.3 超声波清洗器。
- 5.4 分析天平,精度 ± 0.1 mg。
- 5.5 微量注射器,10 μ L。
- 5.6 容量瓶,25 mL,100 mL等。

6 试样制备

6.1 标准样品

用分析天平称取10 mg棉酚标样和约20 mg L-苯基丙胺醇,用三氯甲烷溶解后定容于100 mL容量

瓶中,振荡后室温下避光放置 2 h 以上。用时根据需要稀释至合适的浓度。进样前用 0.5 μm 滤膜过滤。

6.2 棉籽样品

6.2.1 样品净化和提取

将棉籽剥壳,棉仁粉碎,过 60 目筛。称取棉仁粉 0.1 g~2 g(根据棉酚含量多少决定),置具塞三角瓶中,加入 20 mL 石油醚,振荡后放置 2 h。弃去上清液,加入 20 mL 三氯甲烷,用超声波处理 30 min,放置过夜。

6.2.2 棉酚的衍生化反应

称取 0.025 g L-苯基丙胺醇,用三氯甲烷溶解并定容至 25 mL 容量瓶中。

将提取液过滤到 25 mL 容量瓶中,加入适量 L-苯基丙胺醇的三氯甲烷溶液(棉酚与 L-苯基丙胺醇的摩尔比在 1+5 左右),用三氯甲烷定容至刻度,混合均匀,室温下避光放置 2 h 以上。进样前用 0.5 μm 滤膜过滤。

7 色谱条件

分离柱:μBondapak C₁₈(30 cm×3.9 mm)。

柱温:室温,约 25℃。

流动相:甲醇+水+磷酸=85+15+0.1,使用前用 0.45 μm 滤膜过滤并脱气。

流速:1 mL/min。

检测波长:254 nm。

灵敏度:0.1AUFS。

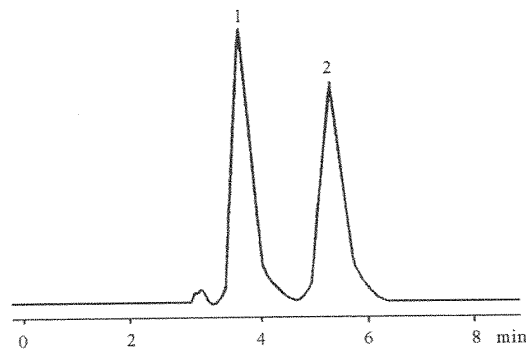
8 样品测定

8.1 标准样品进样

待系统走出平稳的基线,用微量注射器抽取 2 μL~10 μL 标准溶液进样,约 4 min 时第一个峰即(-)棉酚-L-苯基丙胺醇的馏分峰值出现,约 6 min 时第二个峰即(+)棉酚-L-苯基丙胺醇的馏分峰值出现。标准样品 8 min 可走完一个样品。色谱图如图 1 所示。

8.2 棉籽样品进样

在平稳基线条件下,用微量注射器抽取 2 μL~10 μL 测试样品进样。因试验样品中成分复杂,待两个棉酚旋光体的峰出现后,仍需冲洗 3 min~5 min 时间。每个样品约需 10 min~12 min,直到系统走出平稳的基线,方能下一次进样。



峰 1 为(-)棉酚-L-苯基丙胺醇

峰 2 为(+)棉酚-L-苯基丙胺醇

图 1 两种棉酚旋光体的 HPLC 图谱

9 结果计算

9.1 根据(1)式和(2)式分别计算试样中(-)棉酚和(+)棉酚的含量。

$$X_{(-)G} = \frac{A_1 \times m_{(-)G} \times V}{A_{1S} \times m \times V_1} \dots\dots\dots (1)$$

$$X_{(+)G} = \frac{A_2 \times m_{(+)G} \times V}{A_{2S} \times m \times V_1} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

$X_{(-)G}$ ——试样中左旋棉酚的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

$X_{(+)G}$ ——试样中右旋棉酚的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

A_1 ——试样溶液进样中左旋棉酚的峰面积;

A_2 ——试样溶液进样中右旋棉酚的峰面积;

A_{1S} ——标准溶液进样中左旋棉酚的峰面积;

A_{2S} ——标准溶液进样中右旋棉酚的峰面积;

$m_{(-)G}$ ——左旋棉酚标准品的进样质量,单位为纳克(ng);

$m_{(+)G}$ ——右旋棉酚标准品的进样质量,单位为纳克(ng);

m ——试样的质量,单位为克(g);

V ——试样溶液总体积,单位为毫升(mL);

V_1 ——试样的进样体积,单位为微升(μ L);

9.2 测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留一位小数。

10 精密度

两个平行测定的相对偏差不大于10%。

中华人民共和国
农业行业标准
棉籽中棉酚旋光体的测定
高效液相色谱法
NY/T 1382—2007

* * *

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区麦子店街18号楼)

(邮政编码: 100026 网址: www.ccap.com.cn)

中国农业出版社印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

* * *

开本 880mm×1230mm 1/16 印张 0.5 字数 5千字

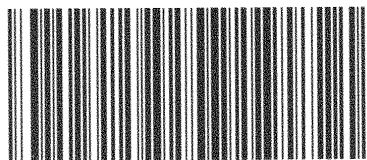
2007年8月第1版 2007年8月北京第1次印刷

书号: 16109·1255 印数: 1~500册

定价: 8.00元

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 65005894



NY/T 1382-2007