

中华人民共和国国家标准

农业农村部 XXXX 号公告-X-XXXX

转基因植物及其产品食用安全检测 油菜中芥子碱的测定 液相色谱法

Food safety detection of genetically modified organisms and derived products—
Determination of sinapine in rape by liquid chromatography

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

中华人民共和国农业农村部 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国农业农村部提出。

本文件由全国农业转基因生物安全管理标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：中国农业科学院北京畜牧兽医研究所、农业农村部科技发展中心、中国疾病预防控制中心营养与健康所。

本文件主要起草人：陈亮、张连华、张宏福、孟庆石、张馨元、郝月、焦悦、卓勤。

转基因植物及其产品食用安全检测

油菜中芥子碱的测定 液相色谱法

1 范围

本文件规定了油菜籽中芥子碱的高效液相色谱测定方法。
本文件适用于油菜籽中芥子碱含量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

芥子碱 sinapine

十字花科油菜等植物种子中存在的酚类季铵生物碱，主要为芥子酸与胆碱形成的酯。

3.2

芥子碱硫氰酸盐 sinapine thiocyanate

芥子碱阳离子与硫氰酸根形成的季铵盐。

4 原理

试样用70%甲醇溶液超声提取，经离心过滤后，液相色谱仪测定，以保留时间定性，外标法定量。

5 试剂或材料

除非另有规定，所用试剂均为色谱纯，水为符合GB/T 6682规定的一级水。

5.1 甲醇（CH₄O，CAS 号：67-56-1）。

5.2 乙酸（C₂H₄O₂，CAS 号：64-19-7）。

5.3 乙腈（C₂H₃N，CAS 号：75-05-8）。

5.4 70%甲醇溶液：移取 70 mL 甲醇，加入到 100 mL 容量瓶中，用水定容，摇匀。

5.5 0.5%乙酸溶液：移取乙酸 0.5 mL，加入到 100 mL 容量瓶中，用水定容，摇匀。

5.6 20%乙腈溶液：移取乙腈 20 mL，加入到 100 mL 容量瓶中，用水定容，摇匀。

5.7 芥子碱硫氰酸盐标准储备溶液（1 mg/mL）：称取 10 mg 芥子碱硫氰酸盐标准品（CAS：7431-77-8，纯度≥98%）（精确至 0.1 mg）溶解于 70%甲醇溶液，定量移入 10 mL 容量瓶中，用 70%甲醇溶液定容，摇匀。临用现配。

5.8 芥子碱硫氰酸盐标准工作溶液：称取适量芥子碱硫氰酸盐标准储备溶液，用 70%甲醇溶液稀释定容，混匀，配制成浓度为 5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL、50 μg/mL、100 μg/mL 标准系列溶液。临用现配。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪：配备可变波长紫外检测器。

6.2 电子天平：精度为 0.1 g 和 0.1 mg。

6.3 超声波清洗仪：240 W。

6.4 离心机：转速不小于 10000 rpm。

6.5 食品粉碎机。

6.6 均质器。

7 试验步骤

7.1 试样的制备及提取

称取油菜籽样品 1.0 g（精确至 0.01 g），冰浴条件下用均质器辅助分散，均质后加入 20 mL 70%甲醇，超声提取 30 min，冷却后，10000 rpm 离心 5 min，上清液用 0.42 μm 滤膜，待测定。同时做平行试验 2 次。

7.2 样品测定

7.2.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

- a) 色谱柱：C18，柱长250 mm，内径4.6 mm，粒径5 μm，或性能相当者；
- b) 流动相：流动相A为0.5%乙酸，流动相B为20%乙腈，梯度洗脱程序见表1；
- c) 流速：0.8 mL/min；
- d) 柱温：30℃；
- e) 检测波长：326 nm；
- f) 进样量：10 μL。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A相/%	B相/%
0.00	80.00	20.00

1.00	80.00	20.00
8.00	0.00	100.00
10.00	0.00	100.00
10.10	80.00	20.00
15.00	80.00	20.00

7.2.2 标准曲线绘制

将系列标准工作液分别注入高效液相色谱中，测定相应的峰面积。以标准工作液的浓度为横坐标，以色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

7.2.3 试样测定

将试样溶液注入高效液相色谱仪中，以保留时间定性，测得目标化合物相应的色谱峰面积，根据标准曲线得到待测样液中目标组分的浓度。待测样液中目标组分的响应值应在仪器检测的线性范围之内，超过线性范围时应根据测定浓度进行适当倍数稀释后再进行测试。

8 试验数据处理

试样中芥子碱含量（以芥子碱硫氰酸盐计）按公式（1）计算：

$$\omega = \frac{\rho \times V}{m \times 1000} \times f \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- ω ——试样中芥子碱含量，单位为克每千克（g/kg）；
- ρ ——由标准曲线得到的试样溶液中待测组分的浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；
- V ——试样提取液体积，单位为毫升（mL）；
- f ——试样的稀释倍数；
- m ——试样质量，单位为克（g）；
- 1 000 ——换算系数。

测定结果以平行测定的算术平均值表示，保留 2 位有效数字。

9 精密度

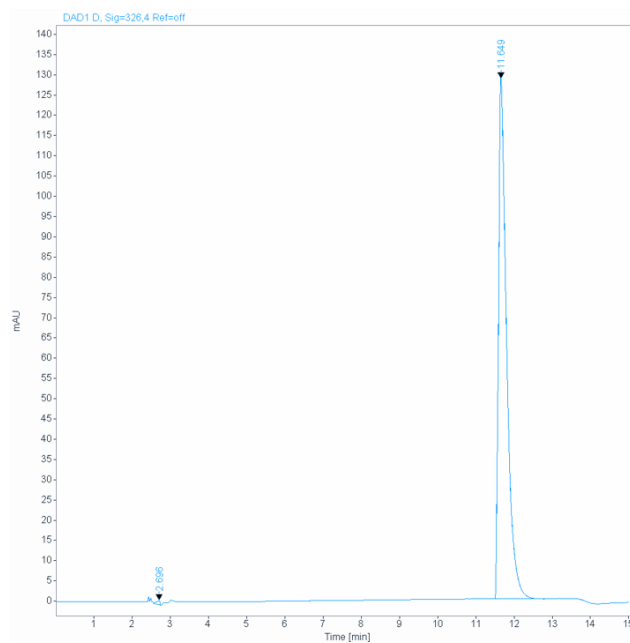
在重复性条件下，两次独立测试结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的15%。

10 其他

芥子碱的检出限为0.02 g/kg，定量限为0.06 g/kg。

附 录 A
(资料性)
芥子碱硫氰酸盐标准溶液色谱图

A.1 芥子碱硫氰酸盐标准溶液（50 $\mu\text{g/mL}$ ）色谱图见图 A.1。



图A.1 芥子碱硫氰酸盐标准溶液的液相色谱图