

月旭科技饲料中维生素测定方案

一. 水溶性维生素的测定(维生素 B₁、B₂、B₆)

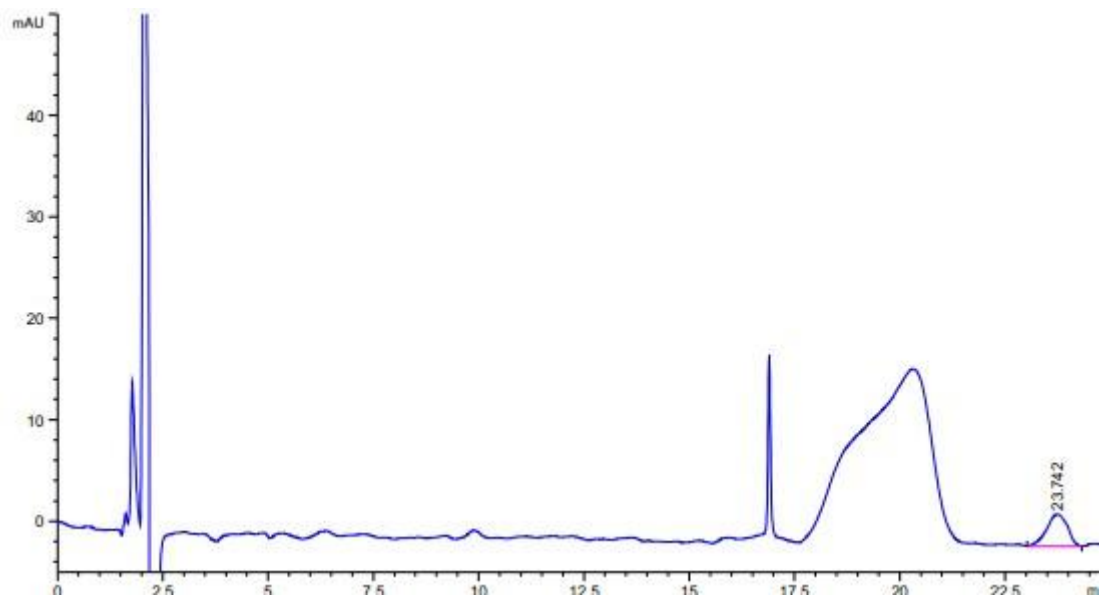
参考标准: GB/T 14700-2002 饲料种维生素 B₁ 的测定

GB/T 14701-2002 饲料种维生素 B₂ 的测定

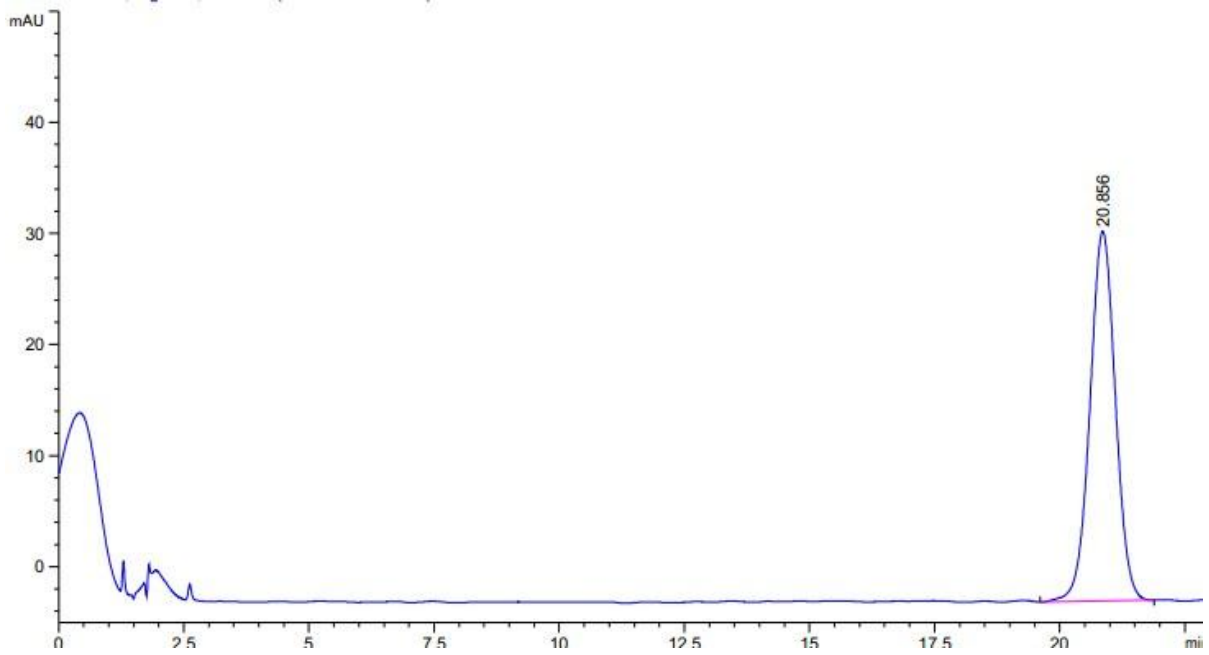
GB/T 14702-2002 饲料中维生素 B₆ 的测定

色谱柱:	月旭 Ultimate [®] XB-C18 (4.6 × 150 mm, 5 μm)
流动相:	在已装入约 700 mL 去离子水的 1000 mL 容量瓶中, 称入 50 mg EDTA、1.1 g 庚烷磺酸钠, 待全部溶解后加入 25 mL 冰乙酸, 5 mL 三乙胺, 用去离子水定容至刻度摇匀。用冰乙酸、三乙胺调节该溶液 pH 值至 3.4±0.02, 过 0.45 μm 滤膜。取该溶液 860 mL 与 140 mL 甲醇混合, 超声脱气, 待用。
检测波长:	维生素 B ₁ : 246nm; 维生素 B ₂ : 267nm; 维生素 B ₆ : 280 nm
柱温:	25 °C
流速:	0.8 ml/min
进样量:	5ul;
注意事项:	无

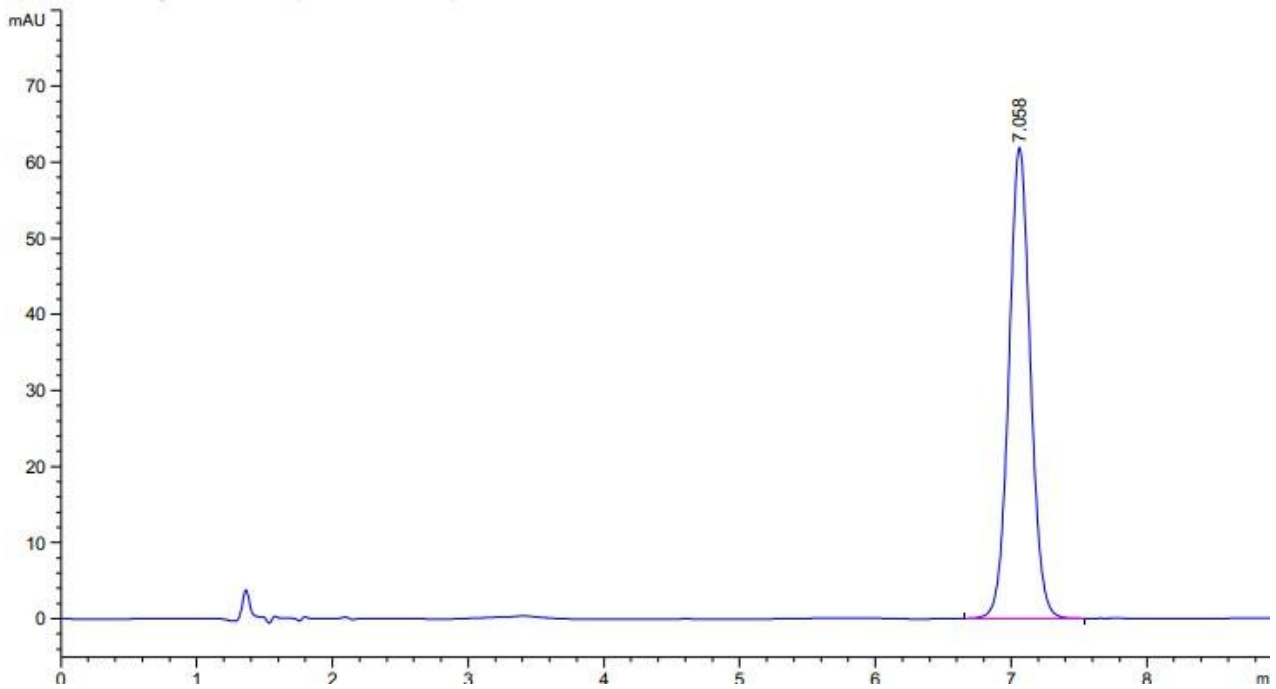
1. 维生素 B₁ 色谱图



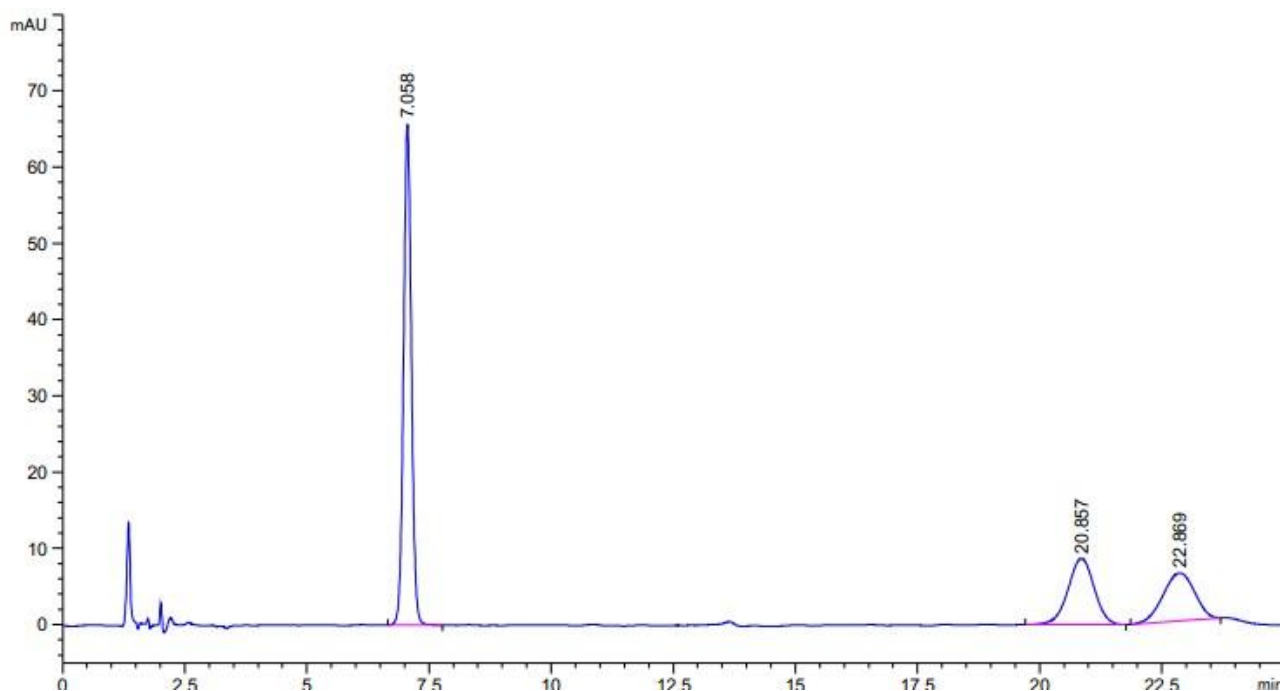
2. 维生素 B₂ 色谱图



3. 维生素 B₆ 色谱图



4. 维生素 B₁、B₂、B₆ 混标色谱图

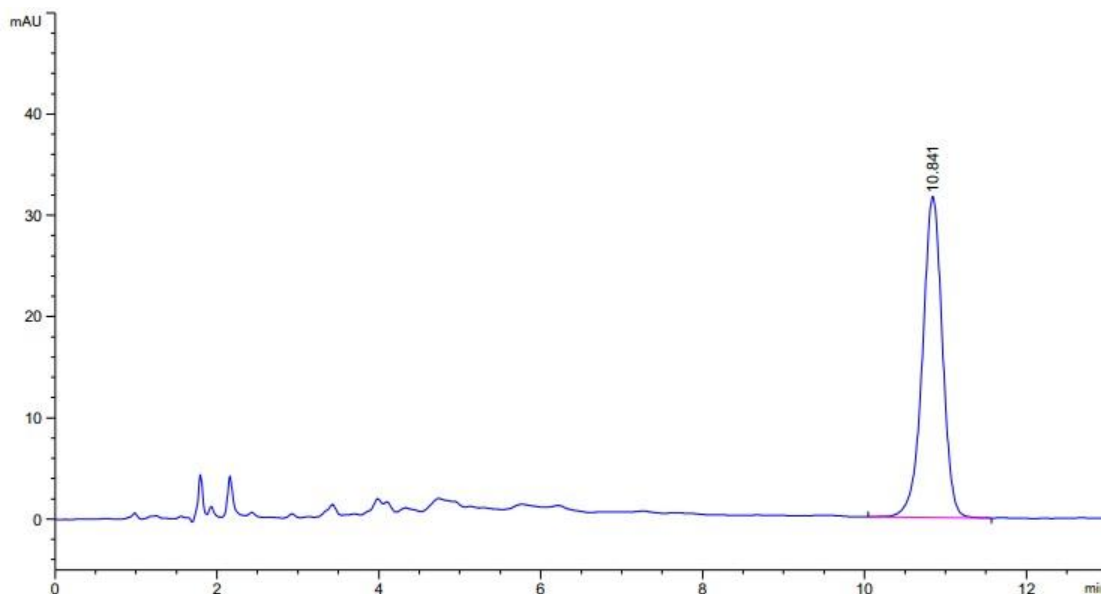


二. 脂溶性维生素的测定(维生素 D₃、维生素 K₃、维生素 A 乙酸酯、维生素 E)

1. 维生素 D₃ 的测定

参考标准：GB/T 17818-2010 饲料中维生素 D₃ 的测定 高效液相色谱法

色谱柱:	月旭 Ultimate [®] XB-C18 (4.6 × 150 mm, 5 μm)
流动相:	甲醇: 水=98:2
检测波长:	264 nm;
柱温:	25 °C
流速:	1.0 ml/min
进样量:	20 ul;
注意事项:	无

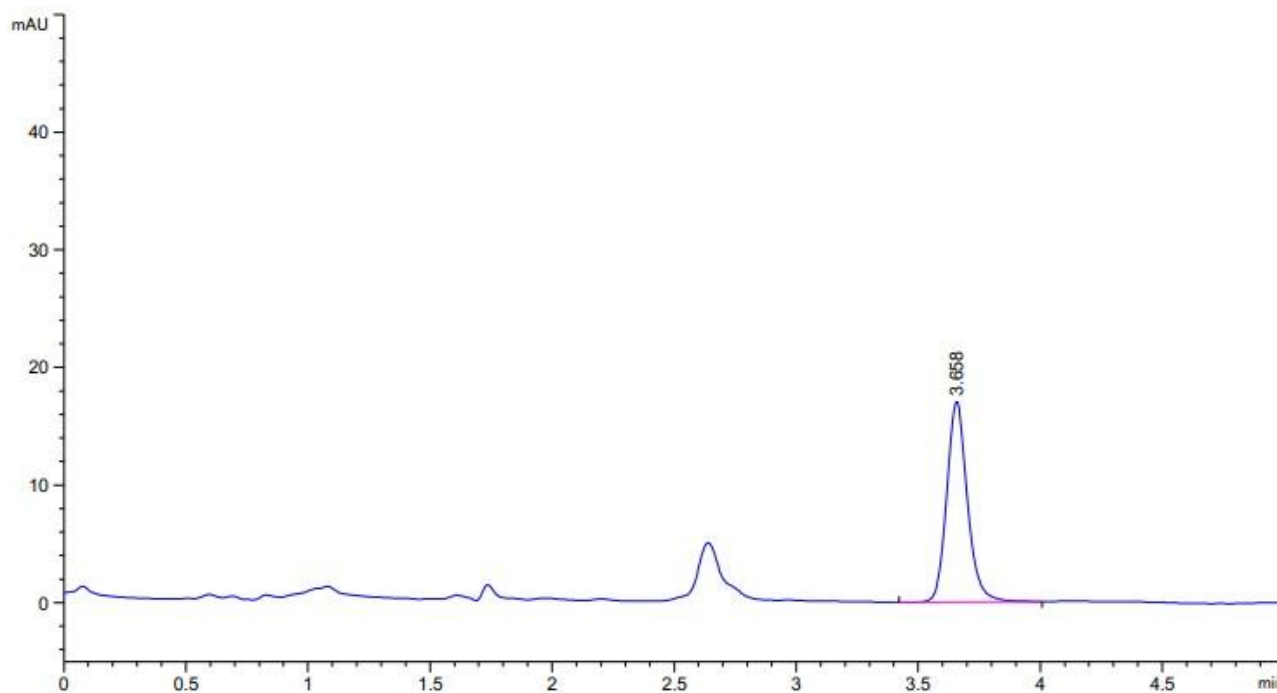


维生素 D₃ 色谱图

2. 维生素 K₃ 的测定

参考标准：GB/T 17881-2010 饲料中维生素 K₃ 的测定高效液相色谱法

色谱柱:	月旭 Ultimate [®] XB-C18 (4.6 × 150 mm, 5 μm)
流动相:	甲醇: 水=75:25
检测波长:	251nm;
柱温:	25 °C
流速:	1.0 ml/min
进样量:	2ul;
注意事项:	无

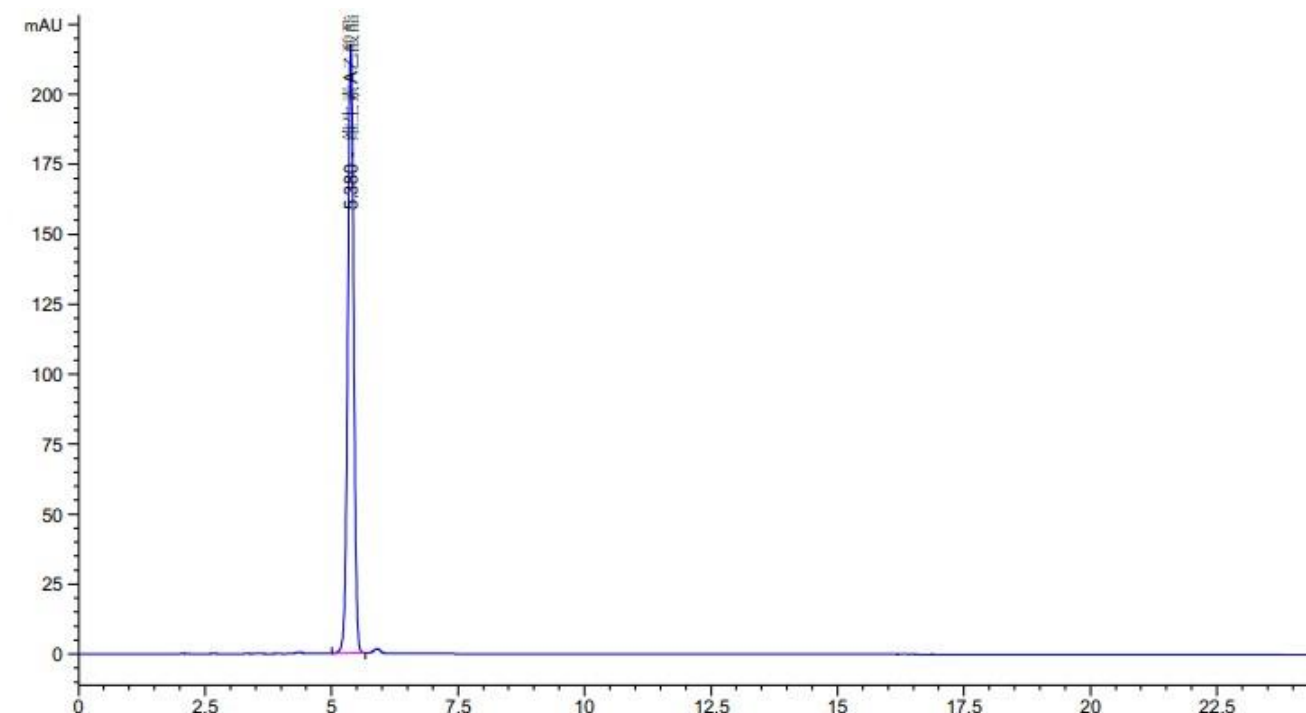


维生素 K₃ 色谱图

3. 维生素 A 乙酸酯的测定

参考标准：GB/T 17817-2010 饲料中维生素 A 的测定 高效液相色谱法

色谱柱:	月旭 Ultimate [®] XB-C18 (4.6 × 150 mm, 5 μm)
流动相:	甲醇: 水=95 : 5
检测波长:	326 nm;
柱温:	25 °C
流速:	1.0 ml/min
进样量:	2 ul;
注意事项:	无

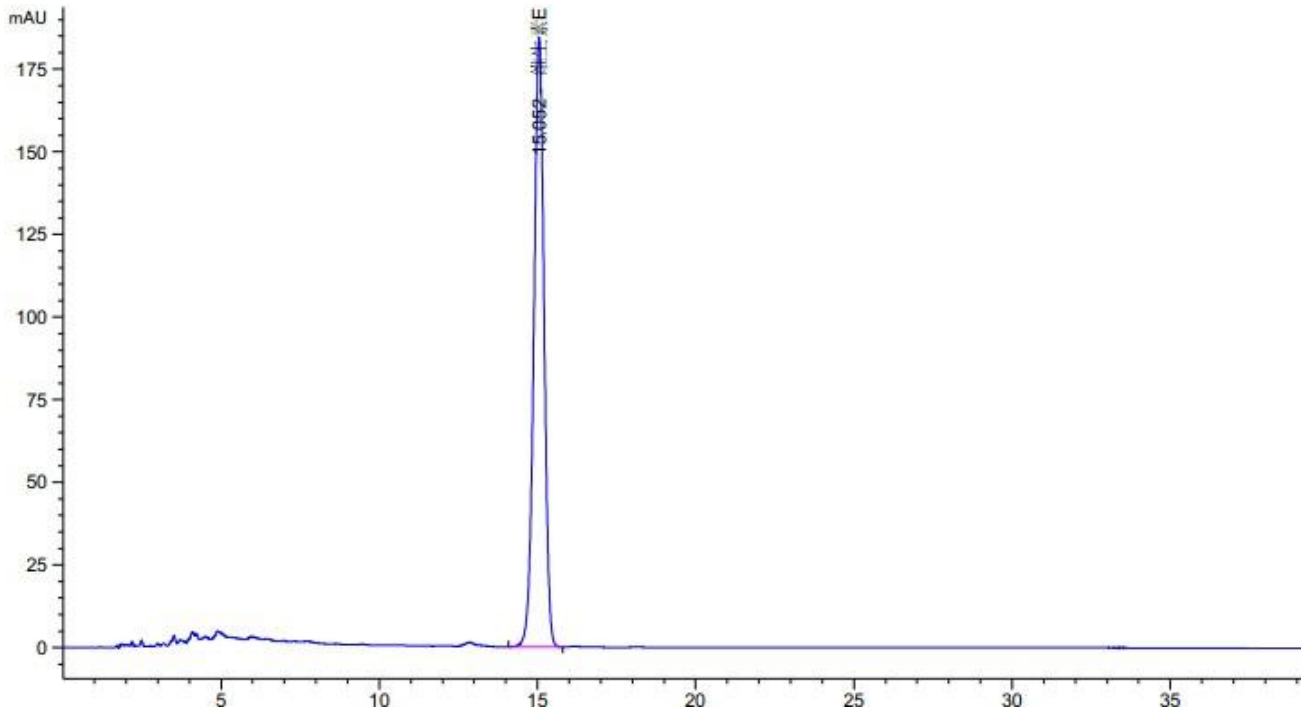


维生素 A 乙酸酯色谱图

4. 维生素 E 的测定

参考标准：GB/T 17812-2088 饲料中维生素 E 的测定 高效液相色谱法

色谱柱:	月旭 Ultimate [®] XB-C18 (4.6 × 150 mm, 5 μm)
流动相:	甲醇: 水=95 : 5
检测波长:	280 nm;
柱温:	25 °C
流速:	1.0 ml/min
进样量:	2 ul;
注意事项:	无



维生素 E 色谱图

三. 饲料样品的前处理

1 水溶性维生素饲料样品的提取

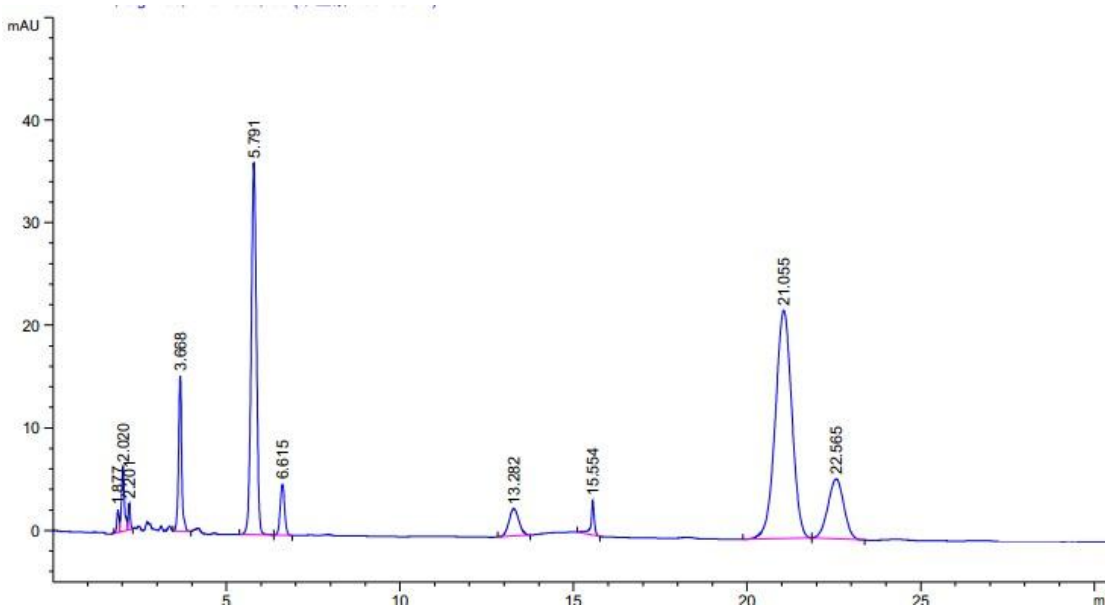
采用直接水提法，称取维生素预混饲料 0.25-0.6 g，精确 0.0001 g，置于 100 mL 棕色容量瓶中，加入三分之二的提取液在超声波提取器中超声提取 20 min(中间旋摇一次以防止样品附着瓶底)，待温度降至室温后用提取液定容至刻度，过滤，滤液过 0.45 μm 滤膜，待分析。

2 脂溶性维生素饲料样品的提取

采用直接醇提法，称取 1 g 试样，精确至 0.0001 g，置于 100 mL 棕色容量瓶中，加入约 80 mL 的甲醇，瓶塞不要拧紧，于 65 $^{\circ}\text{C}$ 超声波水浴中超声提取 30 min，冷却至室温，用甲醇稀释至刻度，充分摇匀，待测定。

四 饲料中维生素测定结果(以水溶性维生素 B 和脂溶性维生素 D₃ 为例)

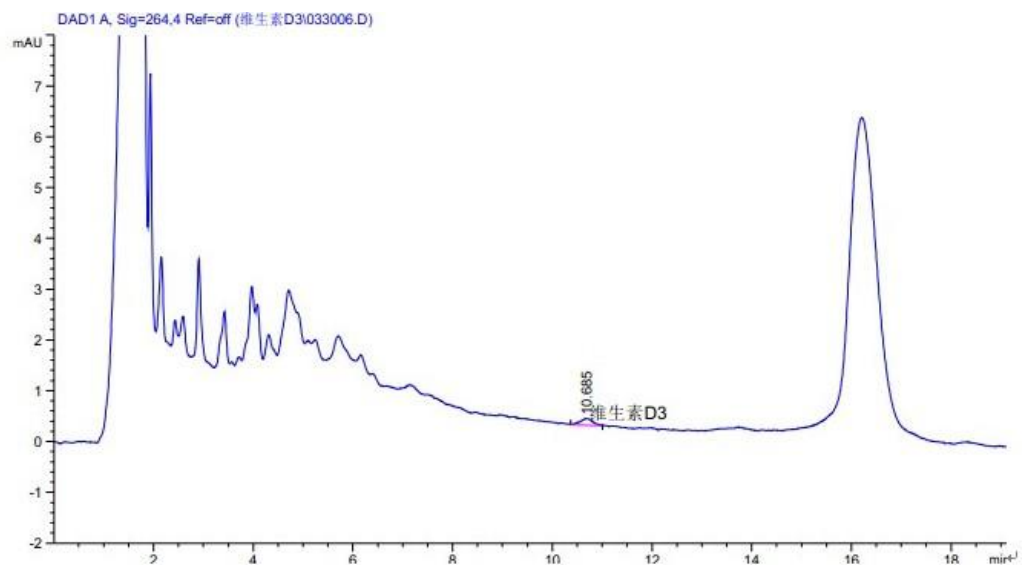
1 饲料中水溶性维生素 B 的测定结果



根据外标法计算出结果:

	维生素 B ₁ (mg/kg)	维生素 B ₂ (mg/kg)	维生素 B ₆ (mg/kg)
饲料 1	2642.3	5198.4	未检出

2. 饲料中脂溶性维生素 D₃ 的测定结果



根据外标法计算出结果：

	维生素 D ₃ (mg/kg)
饲料 2	4.2086