

附录 A
(资料性附录)

饲料样品标示量、称样量及甲萘醌提取液稀释度示例

表 A.1 饲料样品标示量、称样量及甲萘醌提取液稀释度

饲料类别	维生素 K ₃ 标示量 (mg/kg)	样品量(m)/g	三氯甲烷体积 (V)/mL	提取液中甲 萘醌浓度/ (μg/mL)	提取液稀释 倍数(n)	注入 HPLC 预计浓度/ (μg/mL)
维生素预混合饲料	20,000	0.25	50.0	100.0	20	5
	2,000	0.5	50.0	20.0	4	5
复合预混合饲料	1 000	1.0	50.0	20.0	4	5
	100	1.0	50.0	2.0	1	2
浓缩饲料	20	5.0	50.0	2.0	0.5	2
配合饲料	10	5.0	50.0	1.0	0.5	2
	2	10.0	75	0.27	0.2	1.35



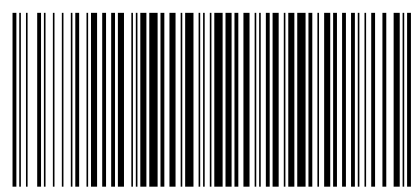
中华人民共和国国家标准

GB/T 18872—2002

GB/T 18872—2002

饲料中维生素 K₃ 的测定 高效液相色谱法

Determination of vitamin K₃ in feeds—
High-performance liquid chromatography



GB/T 18872—2002

版权专有 侵权必究

书号:155066·1-19187

定价: 8.00 元

2002-10-31 发布

2003-04-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

V ——提取液的总体积,单位为毫升(mL);

n ——提取液稀释倍数;

ρ_1 ——维生素 K₃(甲萘醌)标准溶液浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

V_{st} ——维生素 K₃(甲萘醌)标准溶液进样体积,单位为微升(μL);

V_i ——从试样溶液(7.2.2)中分取的进样体积,单位为微升(μL);

P_{st} ——与标准溶液进样体积(V_{st})相应的峰面积响应值;

P_i ——与从试样溶液(7.2.2)中分取的进样体积(V_i)相应的峰面积响应值;

f ——校正系数,结果按甲萘醌计时,系数为1;以亚硫酸氢钠甲萘醌计时系数为1.918 2。

8.2 平行测定结果用算术平均值表示,保留小数后一位。

9 重复性

同一操作者对同一试样同时两次平行测定所得结果相对偏差。

每千克试样中维生素 K ₃ 含量/mg	相对偏差/(%)
<100	≤±20
100~1 000	≤±15
>1 000	≤±10

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准

饲料中维生素 K₃ 的测定

高效液相色谱法

GB/T 18872—2002

*

中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号

邮政编码:100045

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

开本 880×1230 1/16 印张 1/2 字数 9 千字

2003年3月第一版 2003年3月第一次印刷

印数 1—2 000

*

书号: 155066·1-19187 定价 8.00 元

网址 www.bzcb.com

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533

- 5.3 旋转振荡器,200 r/min。
 5.4 旋转蒸发器。
 5.5 离心机,3 000 r/min。
 5.6 高效液相色谱仪,带紫外检测器、积分仪、记录仪。

6 试样制备

按 GB/T 14699 采样,选取有代表性的饲料样品至少 500 g,四分法缩减至 100 g,磨碎,全部通过 0.28 mm 孔径筛,混匀,装入密闭容器中,避光,低温保存备用。

7 分析步骤

7.1 总则

因维生素 K₃ 对空气和紫外光具敏感性,而且所用提取剂三氯甲烷氨溶液有异臭,所以全部操作均应避光并在通风厨内进行。

7.2 试样溶液的制备

7.2.1 称取试样(6):维生素预混合饲料 0.25 g~0.5 g(精确至 0.1 mg)或复合预混合饲料 1 g 或浓缩饲料、配合饲料 5 g(精确至 1 mg),置入 100 mL 具塞锥形瓶中,准确加入 50 mL 三氯甲烷(4.2)放在旋转振荡器(5.3)上旋转振荡 2 min。加 6 mL 25%氢氧化氨(4.4)旋转振荡 3 min。再加 10 g 硅藻土和无水硫酸钠混合物(4.5),于旋转振荡器上振荡 30 min,然后,用中速滤纸过滤(或移入离心管,离心 10 min)。

7.2.2 根据三氯甲烷提取液中甲萘醌的预计浓度(依据样品标示量、称样量和提取液量确定分取量,见附录 A),吸取一定量的提取液(7.2.1)移入蒸发瓶中,连接旋转蒸发器(5.4)真空减压浓缩,水浴温度不超过 40℃,小心蒸发至体积约为 0.5 mL,解除真空时通入氮气避免氧化。(或定量吸取三氯甲烷提取液置入小容量瓶内用氮气流吹干)。用甲醇(4.3)或移动相溶解残渣,稀释定容,使其最后溶液浓度为每毫升含甲萘醌 1 μg~5 μg,如果需要可通过 0.45 μm 滤膜过滤,供注入 HPLC 测定。

7.3 测定

7.3.1 高效液相色谱条件

色谱柱:NoVa-pak C₁₈,粒度 5 μm,长 15 cm,内径 3.9 mm,或相当的 C₁₈柱。

流动相:甲醇(4.3)+水(4.1)为 750 mL+250 mL。

流速:1 mL/min。

温度:室温。

检测器:紫外检测器,使用波长 251 nm。

7.3.2 定量测定

按高效液相色谱仪说明书调整仪器操作参数和灵敏度(AUFS),色谱峰分离 $R \geq 1.5$ 。用两次以上相应的标准工作液对系统进行校正,向色谱柱交替注入相应的甲萘醌标准工作液[4.7 b]和试样溶液(7.2.2)得到色谱峰面积响应值(P_{st} , P_i),用外标法定量测定。

8 结果计算

8.1 计算公式:饲料中维生素 K₃ 的含量,按式(1)计算。

$$\omega_1 = \frac{P_i \times V \times n \times \rho_1 \times V_{st} \times f}{P_{st} \times m \times V_i} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

ω_1 ——每千克试样中维生素 K₃ 的含量,单位为毫克(mg);

m ——试样质量,单位为克(g);

前 言

本标准在查阅国内外文献的基础上,参考《美国全国饲料协会(NFIA)分析方法概要》发表的方法《高效液相色谱法(HPLC)测定全价饲料、预混料和维生素浓缩制剂中的维生素 K₃》而制定。

本标准在技术内容上参考国外方法,其方法原理、基本操作步骤相同;对范围、称样量、试样提取条件、高效液相色谱测定条件进行了改进,并做了明确规定。

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:国家饲料质量监督检验中心(北京)。

本标准主要起草人:陈必芳、赵晓阳。