

ICS 65.120
B 46



中华人民共和国国家标准

GB/T 17818—2010
代替 GB/T 17818—1999

GB/T 17818—2010

饲料中维生素 D₃ 的测定 高效液相色谱法

Determination of vitamin D₃ in feeds—
High-performance liquid chromatography

中华人民共和国
国家标准
饲料中维生素 D₃ 的测定
高效液相色谱法
GB/T 17818—2010

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街 16 号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 12 千字
2010 年 11 月第一版 2010 年 11 月第一次印刷

*

书号: 155066·1-40642 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533



GB/T 17818—2010

2010-09-26 发布

2011-01-01 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

附录 A
(资料性附录)
维生素 D₃ 标准色谱图

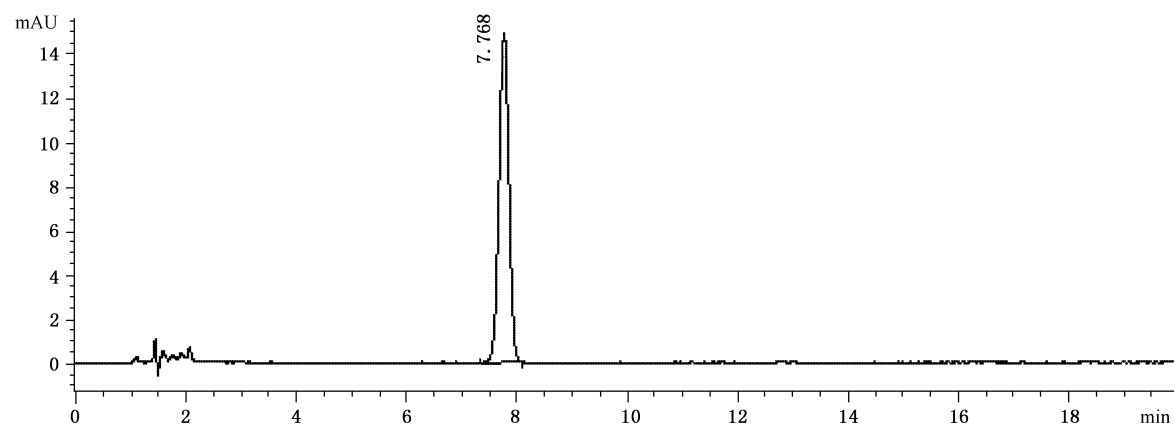


图 A.1 维生素 D₃ 标准色谱图

前 言

本标准代替 GB/T 17818—1999《饲料中维生素 D₃ 的测定 高效液相色谱法》。

本标准与 GB/T 17818—1999 主要差异如下：

- 增加资料性附录 A；
- 原标准方法为第一法皂化提取法；
- 补充第二法直接提取法，适用于维生素预混料中维生素 D₃ 的测定。

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(SAC/TC 76)提出并归口。

本标准起草单位：中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所[国家饲料质量监督检验中心(北京)]、北京桑普生物化学技术有限公司、广东爱保农科技有限公司、帝斯曼维生素(上海)有限公司、拜耳(四川)动物保健有限公司。

本标准主要起草人：赵小阳、施文娟、虞哲高、吴革华、李俊玲、李永才、张进、商军、郑秋峰。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 17818—1999。

式中:

P_1 ——试样溶液(3.6.1)峰面积值;

V_1 ——提取液的总体积,单位为毫升(mL);

V_3 ——试样溶液最终体积,单位为毫升(mL);

ρ_1 ——维生素 D₃ 标准工作液(3.2.18)浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

P_2 ——维生素 D₃ 标准工作液(3.2.18)峰面积值;

m_1 ——试样质量,单位为克(g);

V_2 ——从提取液(V_1)中分取的溶液体积,单位为毫升(mL);

f_1 ——转换系数,1 国际单位(IU)维生素 D₃ 相当于 0.025 μg 胆钙化醇。

注:维生素 D₃ 对照品与试样同样皂化处理,所得标准溶液注入高效液相色谱分析柱以维生素 D₃ 峰面积计算时可不乘 1.25。

3.6.2.4.2 平行测定结果用算术平均值表示,保留三位有效数字。

3.6.2.5 重复性

同一分析者对同一试样同时两次平行测定所得结果的相对偏差见表 1。

表 1 相对偏差

维生素 D ₃ 含量/(IU/kg)	相对偏差/%
$1.00 \times 10^3 \sim 1.00 \times 10^5$	± 20
$>1.00 \times 10^5 \sim 1.00 \times 10^6$	± 15
$>1.00 \times 10^6$	± 10

4 第二法 直接提取法

4.1 原理

维生素预混合饲料中的维生素 D₃ 用甲醇溶液提取,试液注入高效液相色谱柱,在 264 nm 处测定,外标法计算维生素 D₃ 含量。

4.2 试剂和溶液

除特殊注明外,本标准所用试剂均为分析纯,水符合 GB/T 6682 中三级用水规定,色谱用水符合 GB/T 6682 中一级用水规定。

4.2.1 维生素 D₃ 标准品:维生素 D₃ 含量 $\geq 99.0\%$ 。

4.2.2 维生素 D₃ 标准贮备液:称取维生素 D₃ 标准品(4.2.1)100 mg(精确至 0.000 01 g),于 100 mL 棕色容量瓶中,用甲醇(3.2.5)溶解并稀释至刻度,混匀,4 °C 保存。该贮备液浓度为 1.0 mg/mL。

4.2.3 维生素 D₃ 标准工作液:准确吸取维生素 D₃ 标准贮备液(4.2.2)1.0 mL 于 100 mL 棕色容量瓶中,用甲醇(3.2.5)稀释至刻度,混匀,配制工作液浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

4.3 仪器和设备

4.3.1 超声波水浴。

4.3.2 其他同 3.3。

4.4 采样

同 3.4。

4.5 试样制备

同 3.5。

4.6 分析步骤

4.6.1 试样溶液的制备

称取试样 1 g,精确至 0.000 1 g,置于 100 mL 的棕色容量瓶中,加入约 80 mL 的甲醇,瓶塞不要拧

饲料中维生素 D₃ 的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了饲料中维生素 D₃ 的高效液相色谱法测定。

本标准第一法适用于配合饲料、浓缩饲料、复合预混合饲料、维生素预混合饲料中维生素 D₃ 的测定,定量限为 12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (500 IU/kg)。

本标准第二法适用于维生素预混合饲料中维生素 D₃ 的测定,定量限为 125 mg/kg(5×10^6 IU/kg)。

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 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备

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 第一法 皂化提取法

3.1 原理

用碱溶液皂化试样,乙醚提取维生素 D₃,蒸发乙醚,残渣溶解于甲醇并将部分溶液注入高效液相色谱反相净化柱,收集含维生素 D₃ 淋洗液,蒸发至干,溶解于适当溶剂中,注入高效液相色谱分析柱,在 264 nm 处测定,外标法计算维生素 D₃ 含量。

3.2 试剂和溶液

除特殊注明外,本标准所用试剂均为分析纯,水符合 GB/T 6682 中三级用水规定,色谱用水符合 GB/T 6682 中一级用水规定,溶液按照 GB/T 603 配制。

3.2.1 无水乙醚(不含过氧化物)

3.2.1.1 过氧化物检查方法:用 5 mL 乙醚加 1 mL 碘化钾溶液(3.2.9),振摇 1 min,如有过氧化物则放出游离碘,水层呈黄色,或加淀粉指示液(3.2.10),水层呈蓝色。该乙醚需处理后使用。

3.2.1.2 去除过氧化物的方法:乙醚用硫代硫酸钠溶液(3.2.11)振摇,静置,分取乙醚层,再用水振摇,洗涤两次,重蒸,弃去首尾 5% 部分,收集馏出的乙醚,再检查过氧化物,应符合规定。

3.2.2 无水乙醇。

3.2.3 正己烷:色谱纯。

3.2.4 1,4-二氧六环。

3.2.5 甲醇:色谱纯。

3.2.6 2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)。

3.2.7 无水硫酸钠。

3.2.8 氮气(纯度 99.9%)。

3.2.9 碘化钾溶液:100 g/L。