

预混合饲料中维生素 A 乙酸酯、维生素 D3、维生素 E 的测定——高效液相色谱法

本方法适用于配合饲料、浓缩饲料、复合预混料饲料、维生素预混合饲料维生素 A 及维生素 D、维生素 E 的测定。参考标准 GB/T17817-2010 《饲料中维生素 A 的测定高效液相色谱法》、GB/T 17818-2010 《饲料中维生素 D3 的测定高效液相色谱法》、GB/T 17812-2008 《饲料中维生素 E 的测定高效液相色谱法》。

1、方法原理

维生素预混料中的维生素 A 乙酸酯、维生素 D3、维生素 E (dl- α -生育酚乙酸酯) 用甲醇溶液提取，试液注入高效液相色谱柱，用紫外检测器在 275 nm 处测定，外标法计算维生素 A、维生素 D3、维生素 E (dl- α -生育酚乙酸酯) 含量。

2、主要仪器设备

- 1) 高效液相色谱仪 L210，带紫外检测器（上海仪电分析仪器有限公司）；
- 2) 超声波水浴；
- 3) 电子天平；
- 4) 真空抽滤装置。

3、实验方法

1、混合标样配置

维生素 A 乙酸酯、维生素 D3、维生素 E (dl- α -生育酚乙酸酯) 标准贮备液：准确称取维生素 A 乙酸酯、维生素 D3、维生素 E (dl- α -生育酚乙酸酯) 各 10.0 mg，置于 100 mL 棕色容量瓶中，用甲醇溶解并稀释到刻度，混匀，4℃下保存。该贮备液浓度为 0.1 mg/mL。

维生素 A 乙酸酯、维生素 D3、维生素 E (dl- α -生育酚乙酸酯) 混合标准工作液：准确吸取各标准贮备液若干毫升于 10 mL 棕色容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，混匀。

2、试样溶液的制备

称取试样 1.00 g 置于 100 mL 棕色容量瓶中，加入约 80 mL 甲醇，于 65℃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，充分摇匀后过 0.45 μ m 滤膜过滤。将试样溶液进一步稀释至合适浓度，用于实验分析。

3、高效液相色谱仪参考条件

色谱柱：C18 4.6 mm(i.d)×150mm；

流动相：95%甲醇

流速：1 mL/min;

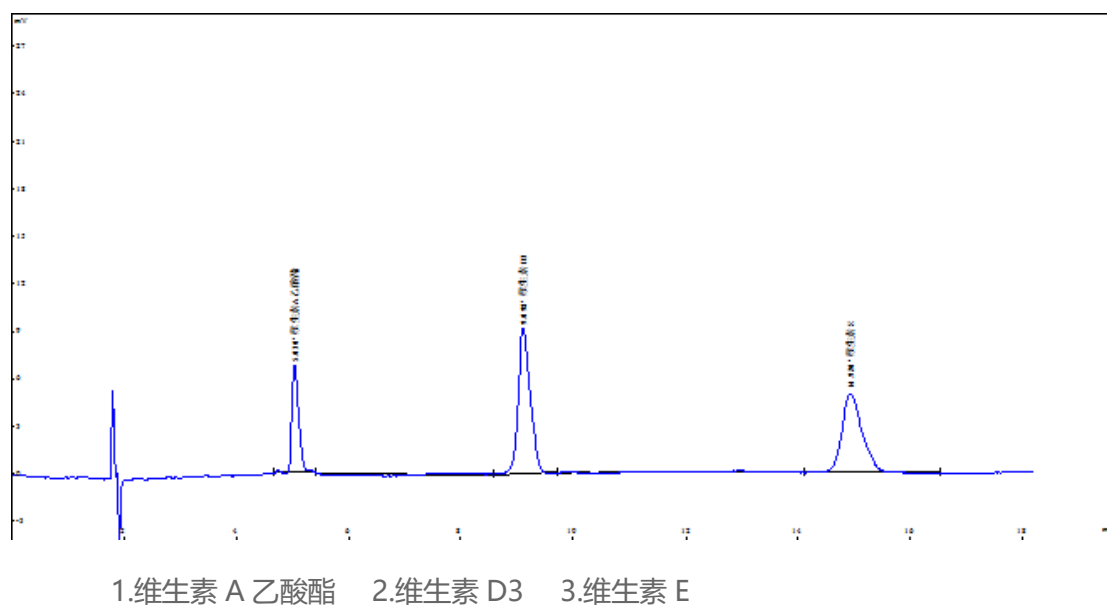
柱温：室温

波长：275 nm;

测定：取相同体积试样制备液和标准使用液分别注入高效液相色谱仪，根据保留时间按定性，外标峰面积法定量。

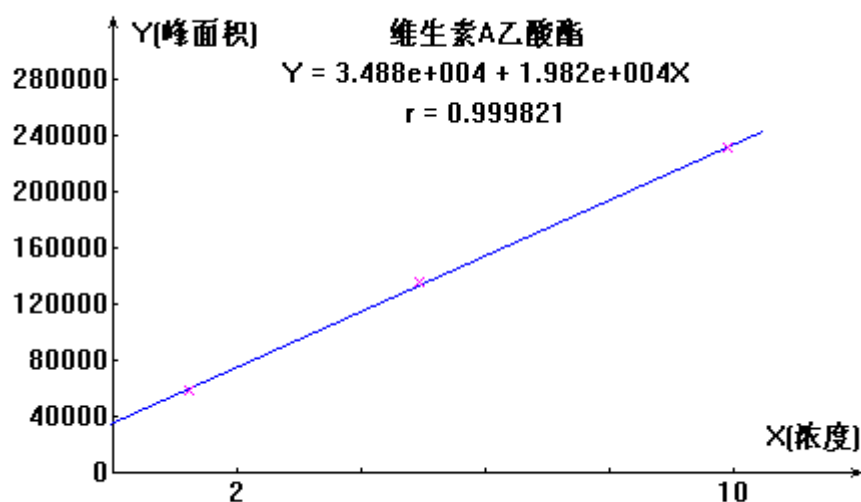
4、实验结果

4.1 混合标准溶液高效液相色谱图

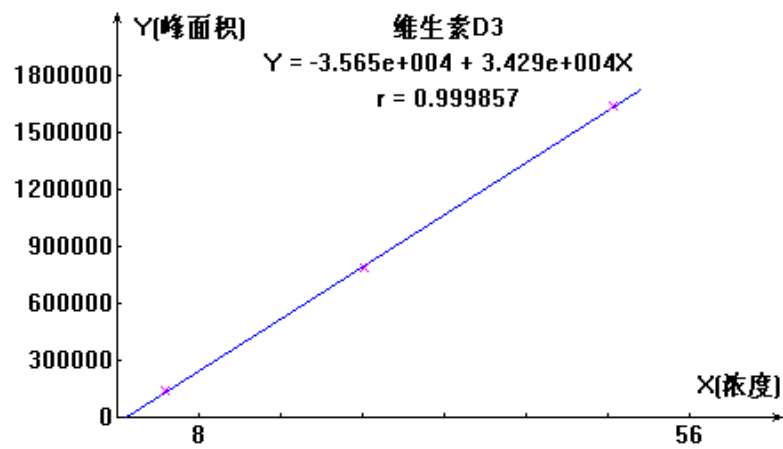


4.2 工作曲线的绘制

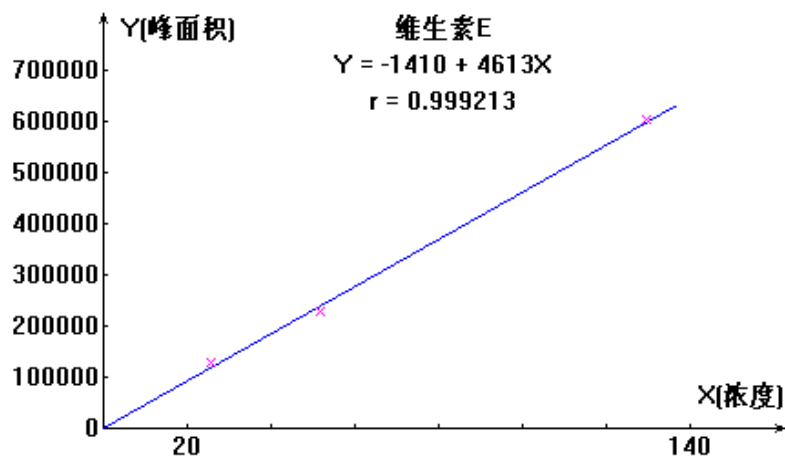
维生素 A 乙酸酯工作曲线见下图，线性相关系数：0.9998



维生素 D3 工作曲线见下图，线性相关系数：0.9998



维生素 E 工作曲线见下图，线性相关系数：0.9992



4.3 预混料实际样品色谱图

