

# 饲料中维生素D<sub>3</sub>的测定

维生素D<sub>3</sub>是一类与动物体内钙、磷代谢相关的活性物质。饲料添加剂中多使用维生素D<sub>3</sub>。

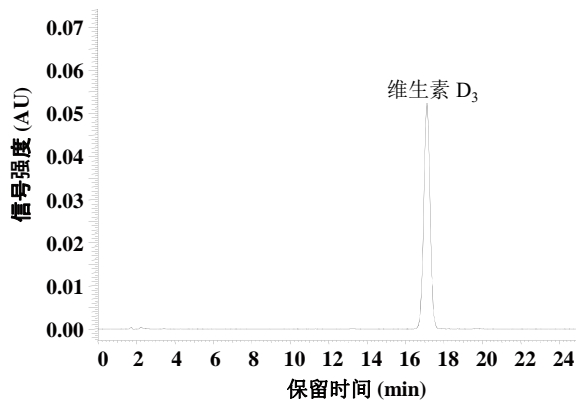
国标GB/T 17818-2010中规定了饲料中维生素D<sub>3</sub>的高效液相色谱法测定。介绍了皂化提取法和直接提取法测定饲料样品中的维生素D<sub>3</sub>，在此，对饲料中的维生素D<sub>3</sub>分析例予以介绍。



Primaide 系统

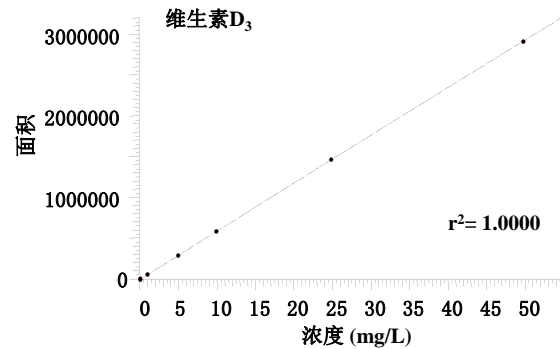
## 第一法 皂化提取法

### ■ 标准样品测定例



维生素D<sub>3</sub>标准样品的色谱图 (浓度: 10 mg/L)

### ■ 线性



标准曲线在0.05~50 mg/L的浓度范围内 $r^2=1.0000$ ，线性关系良好。

### ■ 分析条件

色谱柱 : HITACHI LaChrom C<sub>18</sub> (5 μm)  
4.6 mm I.D. × 150 mm

流动相 : 甲醇/水 = 95/5

流速 : 1.0 mL/min

柱温 : 25 °C

检测波长 : UV: 264 nm

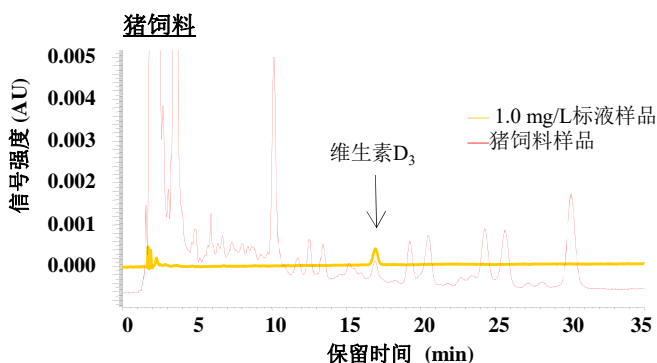
进样量 : 20 μL

### ■ 重现性 (10 μg/mL标准样品, n=6)

No	保留时间(min)	峰面积
1	17.118	587982
2	17.095	586726
3	17.100	587475
4	17.109	586841
5	17.124	587323
6	17.118	586580
AV.	17.111	587155
RSD%	0.07%	0.09%

保留时间重现性为0.07%，面积的重现性为0.09%，结果良好。

### ■ 样品的测定例



猪饲料样品按照皂化提取法检测出含有维生素D<sub>3</sub>。含量为0.32mg/kg。

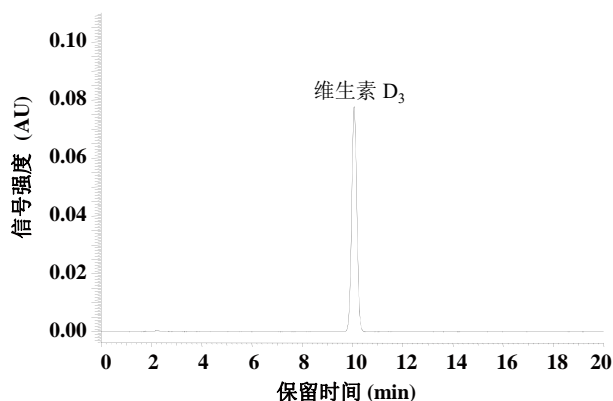
### ■ 样品预处理方法

猪饲料样品10.0 g  
↓  
皂化: 加入L-抗坏血酸50 mL, 500 g/L的氢氧化钾10 mL, 沸水浴回流30 min  
↓  
提取: 皂化液分别用100 mL, 100 mL, 60 mL无水乙醚萃取三次。合并乙醚相, 用纯水洗涤乙醚相至中性。无水硫酸钠干燥乙醚提取液。乙醚相转至250 mL棕色容量瓶, 加入100 mg BHT乙醚定容至250 mL。  
↓  
浓缩: 从容量瓶中取乙醚提取液100 mL, 旋蒸脱溶, 残渣用甲醇稀释至10 mL, 过0.45 μm滤膜, 待进样分析。



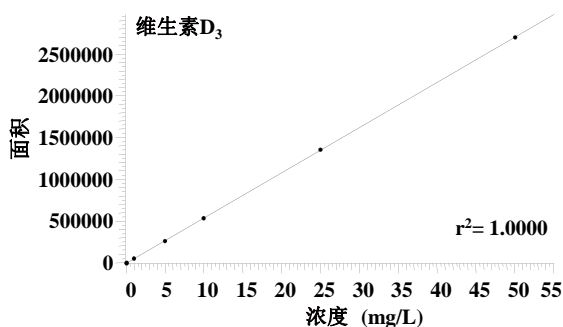
## 第二法 直接提取法

### ■ 标准样品的测定例



标准样品的色谱图(浓度: 10 mg/L)

### ■ 线性



维生素D<sub>3</sub>在0.5 ~ 50.0 mg/L标准溶液的浓度范围内得到了 $r^2 = 1.0000$ 良好的线性关系。

### ■ 分析条件

色谱柱 : HITACHI LaChrom C<sub>18</sub> (5 μm)  
4.6 mm I.D. × 150 mm

流动相 : 甲醇/水 = 98/2

流速 : 1.0 mL/min

柱温 : 25 °C

检测波长 : UV: 264 nm

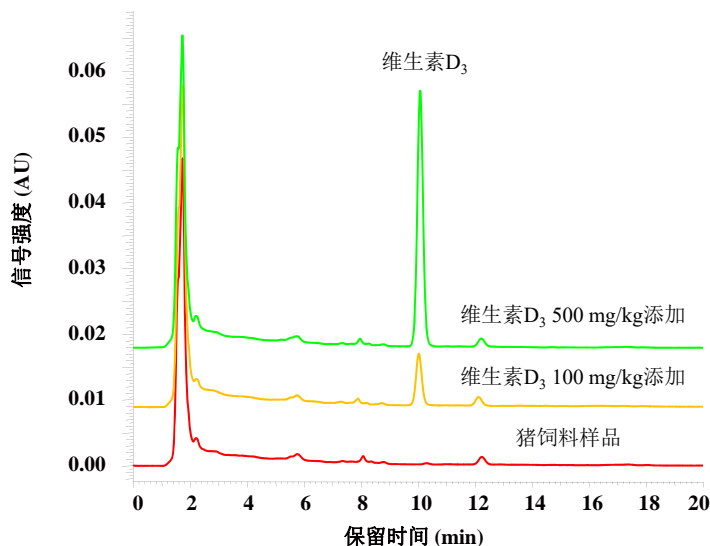
进样量 : 20 μL

### ■ 重现性 (10 μg/mL标准样品, n=6)

No	保留时间 (min)	峰面积
1	10.075	540399
2	10.072	540046
3	10.077	540079
4	10.078	540340
5	10.087	539685
6	10.089	540014
AV.	10.080	540094
RSD%	0.07%	0.05%

对维生素D<sub>3</sub>标准溶液进行了连续进样测定, 得到了良好的重现性。

### ■ 样品的测定例



猪饲料样品按照直接提取法没有检测到维生素D<sub>3</sub>, 对添加了100 mg/kg及500 mg/kg的样品进行了分析, 结果确认检测出了维生素D<sub>3</sub>。加样回收率为101.27% (添加量100 mg/kg), 101.29% (添加量500 mg/kg)。

仪器配置: Primaide 1110 泵, 1210 自动进样器, 1310 柱温箱, 1410 紫外检测器。

### ■ 猪饲料样品的预处理方法

猪饲料样品1.0 g (添加一定量维生素D<sub>3</sub>标准样品)



**提取:** 100 mL棕色容量瓶中, 加入约80 mL甲醇, 50°C下超声30 min, 冷却至室温, 甲醇稀释至100 mL, 将溶液过0.45 μm滤膜, 待进样分析。

注意: 本资料所示数据仅为测定例用数据而非可保证仪器性能的数据。本仪器只是研究用仪器, 而不是诊断、治疗或预防人或动物疾病的医疗仪器。