

## 饲料中维生素 A 的测定

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器与试剂

LC1620A 高效液相色谱仪（上海舜宇恒平科学仪器有限公司）；

FA2004 电子分析天平（上海舜宇恒平科学仪器有限公司）；

甲醇(色谱纯，美国 Tedia)，维生素 A 标准品（纯度>95%，阿拉丁试剂）。

#### 1.2 标准溶液的配制

参考 GB/T 17817-2010 饲料中维生素 A 的测定 高效液相色谱法，配制浓度为 3.44 $\mu$ g/ml 的标准工作液。

#### 1.3 色谱条件

色谱柱：Shodex C18-100-4D（4.6 $\times$ 150mm）

流动相：甲醇：水（95：5）

流速：1.0ml/min

柱温：室温

进样量：20 $\mu$ l

检测波长：326nm

### 2 实验结果

#### 2.1 精密度

将 1.2 中所配制的 3.44 $\mu$ g/ml 标准溶液，在 1.3 描述的高效液相色谱条件下进样，重复进样五次，结果如表 1 所示 RSD 均在 1.0%以内。

表 1 精密度实验结果

No	保留时间	峰高	峰面积
1	5.493	66.302	725.623
2	5.468	66.832	712.594
3	5.463	66.948	713.915
4	5.472	66.631	714.214
5	5.489	66.102	716.800
平均值	5.477	66.563	716.629

RSD	0.242%	0.534%	0.733%
-----	--------	--------	--------

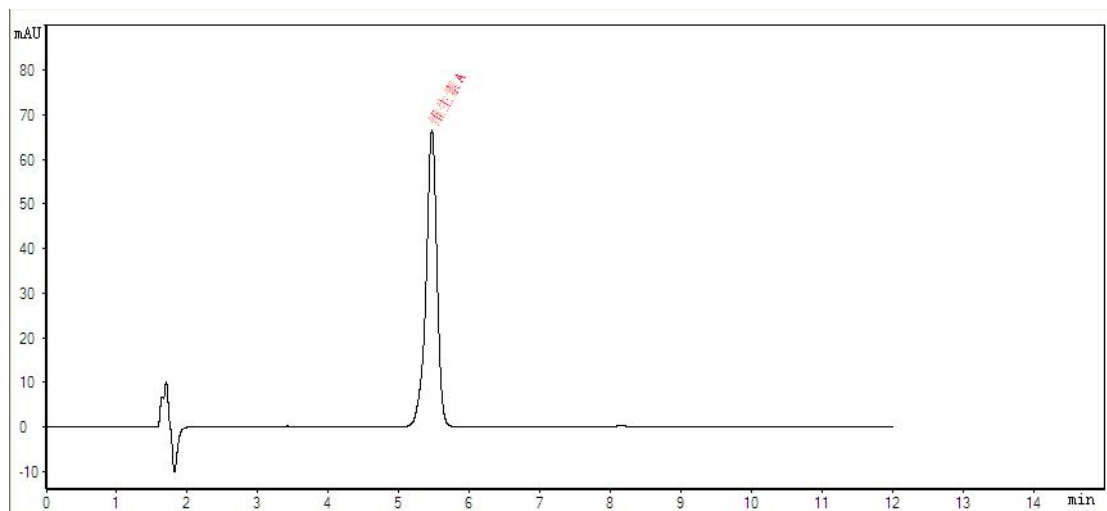
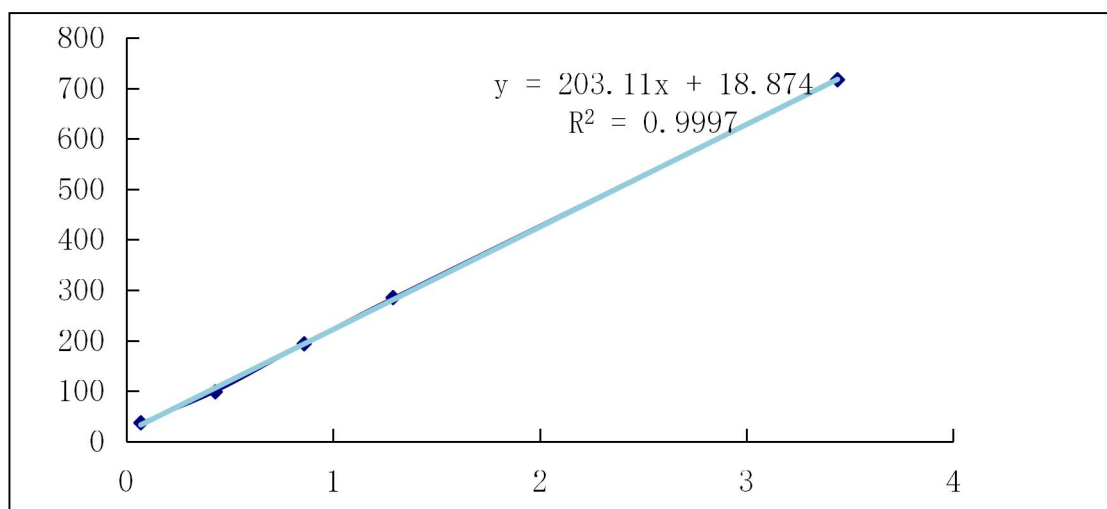


图 1 标准品谱图

## 2.2 标准曲线

将 1.2 中所配制的标准待测溶液逐级稀释为 1.29 $\mu\text{g/ml}$ 、0.86 $\mu\text{g/ml}$ 、0.43 $\mu\text{g/ml}$ 、0.07 $\mu\text{g/ml}$  不同浓度，在 1.3 描述的高效液相色谱条件下由低浓度开始进样，所得标准曲线结果如下：



## 2.3 实际样品测定

参考 GB/T 17817-2010 第一法 皂化提取法对饲料样品进行处理，具体步骤如下：

- 1、皂化：称取试样5g，置于250ml圆底烧瓶中，加入50ml的L-抗坏血酸乙醇溶液（5g/L），使试样完全分散、浸湿，加10ml氢氧化钾溶液（500g/L），摇匀。置于沸水浴中回流30min，不时振荡。皂化结束后，分别用5ml无水乙醇、5ml水自

冷凝管顶端冲洗，取出烧瓶冷却至40℃；

2、提取：定量转移全部皂化液于盛有100ml二氯甲烷的500ml分液漏斗中，用50ml水分3次冲洗圆底烧瓶并入分液漏斗，加盖、放气、随后混合，激烈振荡2min，静置、分层。同样操作三次，合并二氯甲烷相。用水100mL 洗涤二氯甲烷提取液至中性。后用无水硫酸钠脱水，转移至250ml棕色容量瓶中，加100mgBHT 溶解，用二氯甲烷定容至刻度。

3、浓缩：从二氯甲烷提取液中分取10ml，氮吹浓缩至近干。残渣以甲醇溶解，定容至1ml。用甲醇稀释100倍，经0.45μm滤膜过滤，作为待测样品溶液。

待测溶液在 1.3 描述的高效液相色谱条件下进样，所得结果如下：

	峰面积	浓度 (μg/ml)
标准品	739.327	3.44
样品	893.989	4.16

按称量样品量及稀释倍数计算得实际样品含量为  $2.08 \times 10^3 \text{mg/kg}$ 。

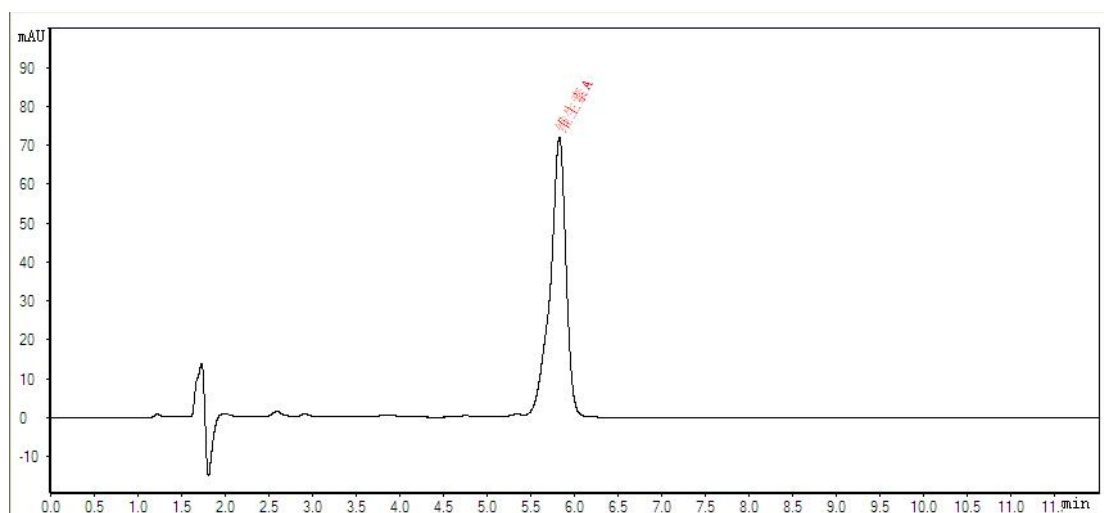


图 2 实际样品谱图

### 3 结论

采用 LC1620A 高效液相色谱仪，参考 GB/T 17817-2010 的方法对维生素 A 进行分析，分析精密度与线性关系结果良好，并对实际样品进行分析，分离检出良好，符合国家标准的分析需要。