

饲料中烟酸和叶酸的测定

1. 方法提要

目前饲料中都添加有多种维生素,以保证动物健康生长。如果动物完全缺少一种或数种维生素,或者是摄入量不足,某些代谢过程就将受到损害,从而导致生长受阻或者疾病。烟酸又称尼克酸是参与体内酶系统的一种维生素,对机体的碳水化合物、脂肪和蛋白质代谢起主要作用,当肌体缺乏烟酸时则可引起新陈代谢的障碍;叶酸是一种广泛存在于绿色蔬菜中的B族维生素,缺乏叶酸会使得雏鸡生长不良,羽毛不正常,贫血和骨短粗症等。本实验参照GB/T17813-1999《复合预混料中烟酸、叶酸的测定》,对4%蛋鸡产蛋期复合预混料进行测定。

2. 试剂及标准溶液配制

2.1 试剂

甲醇:色谱纯

冰乙酸:分析纯

三乙胺:分析纯

0.005mol/L 己烷磺酸钠溶液

0.1mol/L 碳酸钠溶液

提取液:在已装入500mL去离子水的1000mL容量瓶中,加入10mL冰乙酸,

1.3mL三乙胺,去离子水定容至刻度摇匀(PH=3.2)。取850mL上述溶液与150mL甲醇混合,超声脱气备用。

流动相:在已装入500mL去离子水的1000mL容量瓶中,加入10mL冰乙酸,

1.3mL三乙胺,20mL0.005mol/L己烷磺酸钠溶液,去离子水定容至刻度摇匀,

调PH值至3.2,过0.45 μ m滤膜。取该溶液750mL与250mL甲醇混合,超声脱气备用。

烟酸和叶酸标准品

2.2 标准溶液配制

标准溶液的浓度为 1、2、5、10、15、20 μ g/mL。

3. 仪器及工作条件

3.1 仪器

3.1.1 LC5510 高效液相色谱仪 (北京东西分析仪器有限公司)。

3.1.2 DM-100 在线脱气机 (北京东西分析仪器有限公司)。

3.1.3 超声波水浴

3.2 色谱条件

色谱柱：C18 柱，250 mm $\times$ 4.6 mm，5 μ m。

流动相：甲醇+己烷磺酸钠+冰乙酸+三乙胺。

流速：1.0 mL/min。

检测波长：275nm。

柱温：30 $^{\circ}$ C。

进样量：20 μ L。

4. 分析步骤及分析结果

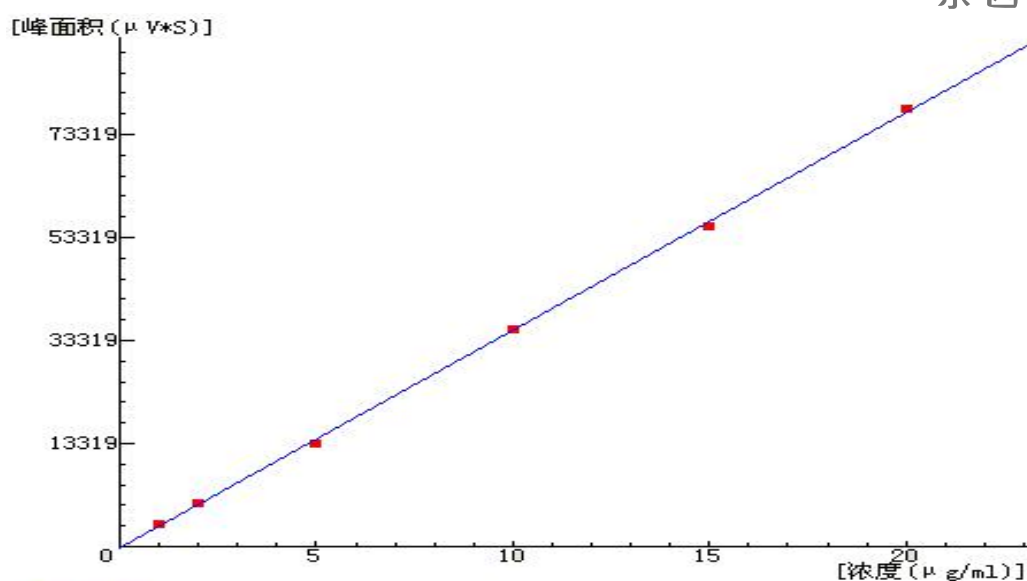
4.1 试样处理

称取饲料样品 2g 左右 (精确至 0.0001g) 于 50mL 棕色容量瓶中，加入 5mL 0.1mol/L 碳酸钠溶液，浸湿样品，加入 70mL 的提取液，混匀，超声提取 20min，冷却至室温，用提取液定容至刻度，充分摇匀，过滤待测。

4.2 测定

4.2.1 标准曲线的绘制

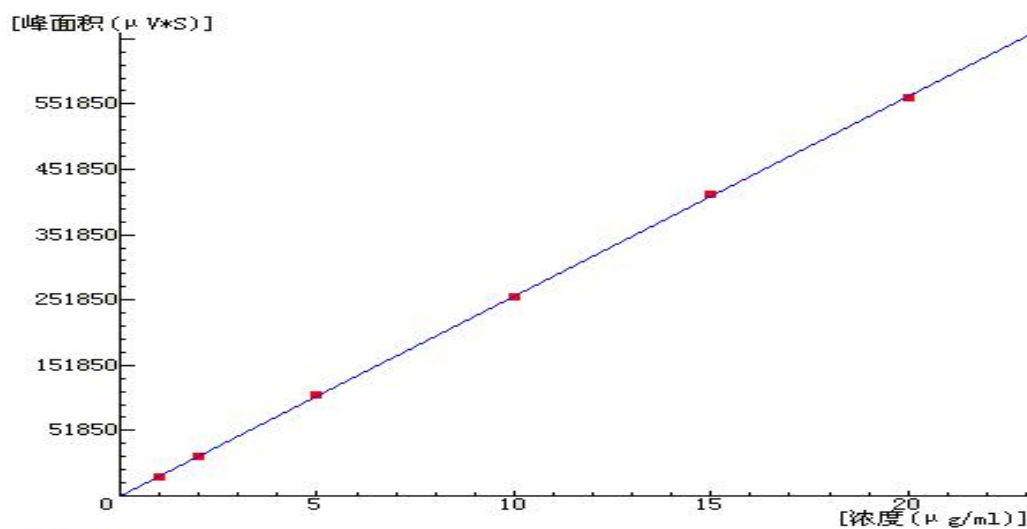
将标准系列工作液依次按上述色谱条件上机测定，记录色谱峰面积。以峰面积为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线。



曲线信息

回归方程: $Y = 4226.22 X - 243.29$
 相关系数: 0.99973
 曲线点数: 6

图 1 烟酸标准曲线



曲线信息

回归方程: $Y = 30604.18 X - 388.79$
 相关系数: 0.99997
 曲线点数: 6

图 2 叶酸标准曲线

4.2.2 样品的测定

将样品溶液按上述色谱条件上机测定，记录色谱峰面积，计算含量。

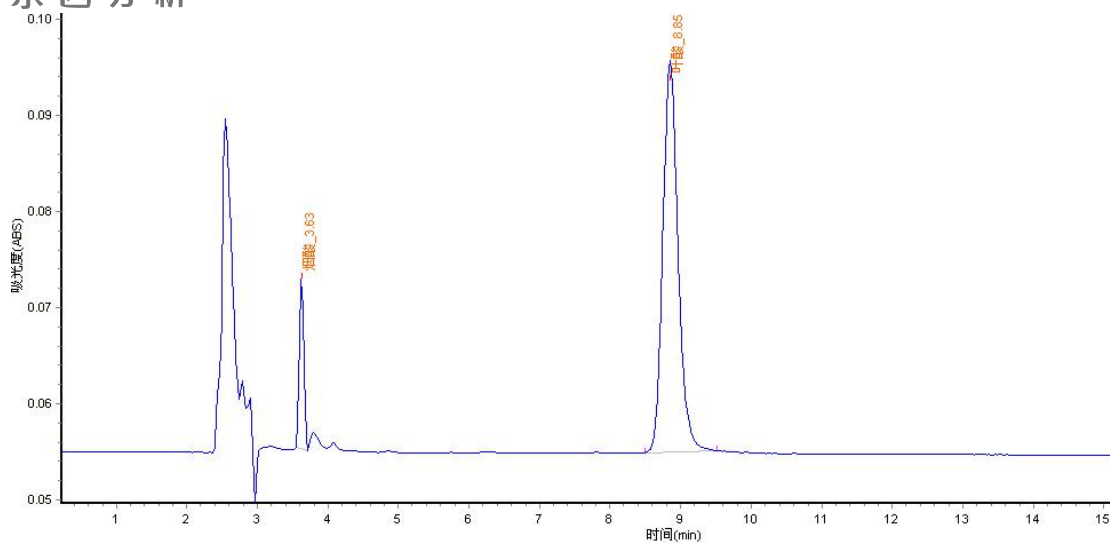


图 3 10µg/mL 烟酸、叶酸标样谱图

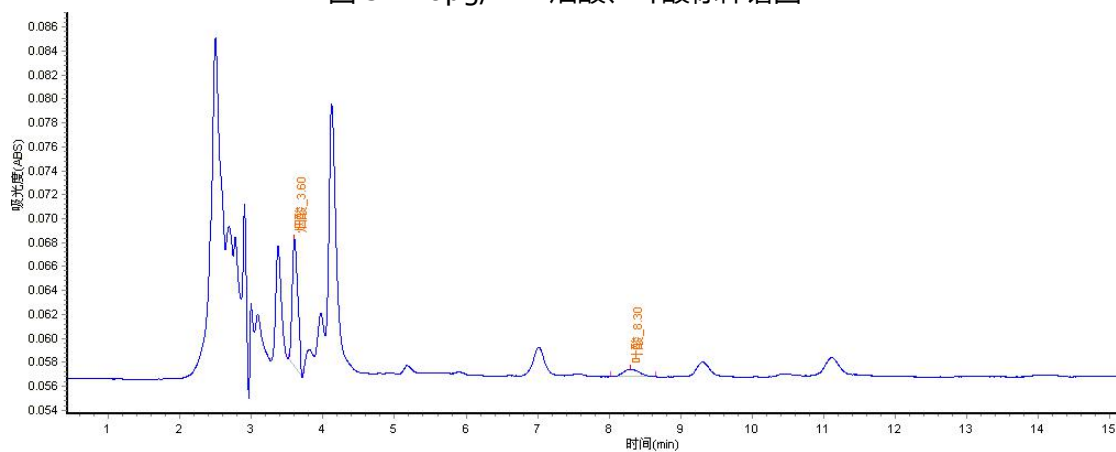


图 4 样品谱图