

饲料中维生素 A 测定的前处理条件研究

刘彩丽

(普研(上海)标准技术服务股份有限公司,上海 201600)

摘要:通过正交实验研究了前处理的3个主要因素(称样量、制样方式和提取方法)对维生素A测定结果的可靠性的影响。结果表明,饲料中维生素A测定的最佳前处理条件为样品不进行振荡、不进行打样、使用原样进行测定,称样量为10 g,用皂化的方法进行提取。

关键词:维生素A;皂化;酶解;饲料

中图分类号:TS 207.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2017)05-0056-03

Research on the pretreatment conditions for determination of vitamin A in feed

LIU Cai-li

(GRA-ST(SHANGHAI) STANDARDS TECHNICAL SERVICES CO., LTD, SHANGHAI 201600)

Abstract:The effect of the main factors in pretreatment, such as sample weight, sample preparation method and extraction method, on the reliability of the determination of vitamin A was researched by orthogonal experiment. The result showed that the optimal pretreatment conditions for determination of vitamin A in feeds were that the test was conducted by saponification with 10 g sample without being shaken or shaped.

Key words: vitamin A; saponification; enzymolysis; feed

维生素是饲料中的重要组成部分,《饲料添加品种目录》列出的维生素有32种,分为2类:一类是脂溶性维生素,包括VA、VD₃、VE和VK₃,另一类是水溶性维生素,包括B族维生素和VC。维生素A是视紫红质(感光色素)的重要组成部分,维持正常视觉功能;可保护上皮组织,防止上皮细胞萎缩、角化,保护呼吸道、消化道、生殖泌尿器官黏膜,利于公畜精子生成;增强动物免疫力,促进骨骼发育^[1]。但准确测定饲料中VA的难度较大,主要原因是VA以微胶囊形式加入预混剂中,然后与饲料进行干混,均匀度难以保证。VA微胶囊的粒径比其他维生素微胶囊的粒径大,壁材为明胶,而饲料的载体为米糠、石粉,VA颗粒在饲料中流动很好。VA的提取方法有皂化、超声、酶解超声等多种方法。

虽然维生素A是一种必须摄入的脂溶性维生素,

是维持机体正常代谢的重要营养素,但维生素A摄入过多同样会引起胚胎吸收、流产、出生缺陷等^[2]。只有准确掌握其正常需求量,才能真正发挥它的营养作用,因此准确测定饲料中VA的含量至关重要。

通过正交实验研究饲料中维生素A测定的最佳前处理条件,为准确测定VA提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

Maxatase 酶制剂/ SAVINASE 6.0 TK / 2709 碱性蛋白酶,异丙醇(色谱纯),焦性没食子酸,L-抗坏血酸乙醇溶液,氢氧化钾,无水乙醚,无水乙醇,甲醇(色谱纯),正己烷(色谱纯),环己烷(色谱纯)、伊利奶牛育成期精补料(标准规定值由饲料供应方提供)。

1.2 实验仪器

DS-8510DTH 生析超声仪;上海生析超声仪器

收稿日期:2017-05-06

作者简介:刘彩丽,1981年出生,女,工程师,工学硕士。

有限公司;EYELA 旋转蒸发器:东京理化器械株式会社;ANPEL 氮吹仪:上海安谱科学仪器有限公司;密理博纯水仪:密理博中国有限公司;梅特勒分析天平:梅特勒—托利多国际贸易(上海)有限公司;Agilent 1260 高压液相色谱仪(DAD 检测器):安捷伦科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 正交实验设计

因为 VA 在饲料中的均匀度、流动性和不同测定方法都会影响测定结果,对前处理的 3 个主要因素:称样量,制样方式,提取方法进行了分析,设计了 3 因素 3 水平的正交实验, $L_9(3^3)$ 正交实验因素水平表见表 1。

表 1 正交实验因素水平

水平	A(制样方式)	B(取样量)	C(提取方法)
1	打样	5 g	皂化提取
2	手工振摇	7 g	酶解超声
3	原样	10 g	酶解皂化

1.3.2 提取方法^[3]

1.3.2.1 皂化提取 按 GB/T 17817—2010 第一法进行操作。

1.3.2.2 酶解超声提取 按 GB/T 7292—1999 进行操作。

1.3.2.3 酶解皂化提取 对上述 2 个方法进行组合操作。

1.3.3 定量测定方法

仪器条件 色谱柱:ZORBAX SB - C18, 250 mm × 4.6 mm, 5 μm; 流动相: V(甲醇): V(水) = 98:2; 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 25 °C; 波长: 325 nm。

分别注入 20 μL 的工作溶液及样品提取溶液于液相色谱仪中,按上述色谱条件进行色谱分析,记录峰面积。根据标准样品的保留时间定性,外标法定量。

依据试样溶液测定的响应峰面积或峰高,在标准曲线上查出(或用回归方程计算出)试样溶液的

浓度 C 。

$$\text{样品中维生素 A 的含量: } X = C \times V/m$$

式中: X 为样品含量, mg/kg; V 为定容体积, mL; m 为称样量, g。

维生素 A 的分子量为 286.45, 维生素 A 乙酸酯的分子量为 328.49, 维生素 A 乙酸酯与维生素 A 的换算系数为 1.15。

维生素 A 的色谱图如图 1。

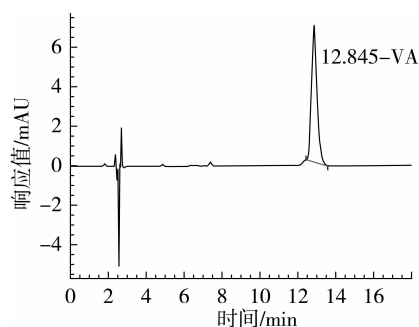


图 1 维生素 A 的色谱图

1.3.4 评分方法

根据 GB/T 17817—2010 饲料中维生素 A 的测定的重复性要求和 GB/T18823—2010 饲料检测结果判断的允许误差,以 2 次平行测定所得结果的相对偏差(RPD)及测定值与标准规定值(饲料供应商的添加量)的相对误差(δ)进行打分,评分原则见表 2。

表 2 评分原则

平行测定相对偏差 RPD/%	与标准规定值的相对误差 δ /%	分值/分
1 ~ 10	1 ~ 10	5
10 ~ 20	10 ~ 20	4
20 ~ 30	20 ~ 30	3
20 ~ 30	≥ 30	2
≥ 30	≥ 30	1

注:对于评分可以根据实际情况取非整数的数值。

2 结果与分析

按照 $L_9(3^3)$ 正交实验因素水平表,每组数据进行了 2 次平行测定实验,正交试验结果及各组实验结果的评分见表 3。

表 3 正交试验结果及各组实验结果的评分

A	B	C	测定值 1/ (mg/kg)	测定值 2/ (mg/kg)	平均值/ (mg/kg)	RPD/%	δ/%	得分/分	备注
打样	5	皂化	2 383	10 361	6 372	125.2	29.2	1	
打样	7	酶解超声	16 443	13 185	14 814	22.0	64.6	2	
打样	10	酶解皂化	6 784	6 186	6 485	9.2	27.9	3.5	
手工振摇	5	酶解超声	3 490	6 079	4 785	54.1	46.8	1	
手工振摇	7	酶解皂化	15 524	4 296	9 910	113.3	10.1	1	标准规定值: 9 000 mg/kg
手工振摇	10	皂化	10 443	12 798	11 620	20.3	29.1	3	
原样	5	酶解皂化	7 934	9 077	8 506	13.4	5.48	4	
原样	7	皂化	9 046	9 624	9 335	6.2	3.74	5	
原样	10	酶解超声	9 375	8 941	9 158	4.7	1.78	5	

根据各组实验的评分结果,进行了方差分析,结果见表 4。

表 4 各组数据的方差分析

序号	A(样品处理)	B(称样量)	C(提取方法)	得分
1	打样	5	皂化	1
2	打样	7	酶解超声	2
3	打样	10	酶解皂化	3.5
4	手工振摇	5	酶解超声	1
5	手工振摇	7	酶解皂化	1
6	手工振摇	10	皂化	3
7	原样	5	酶解皂化	4
8	原样	7	皂化	5
9	原样	10	酶解超声	5
均值 1(K1)	2.167	2.000	3.000	
均值 2(K2)	1.667	2.667	2.667	
均值 3(K3)	4.667	3.833	2.833	
极差 R	3.000	1.833	0.334	

从表 4 的极差 R 值可以看出各因素对测定结果影响的主次顺序是: A > B > C, 即样品状态对测定结果影响最大,其次为称样量,最后为提取方法。最佳前处理方案为 A₃B₃C₁即:原样、称 10 g、皂化。

3 小结

在饲料中维生素 A 测定过程,样品状态对测定结果影响最大,其次为称样量。最佳的前处理方案为样品不进行振荡、不进行打样、使用原样进行测定,称样量为 10 g,用皂化方法进行提取。

皂化提取方法对数据的影响较小,选择酶解超声提取方法可提高提取效果。

建议饲料样品的送检时,要确保样品用容器装满并压实,以防止运输过程中样品在容器中来回振荡引起 VA 微胶囊颗粒流动。

参考文献:

- [1]谈曷媛,鲁小翠. 饲料中维生素 A 的测定方法解析[J]. 湖北畜牧兽医. 2014,35(12):62-63.
- [2]方桂红,程莉. 维生素 A 的生理功能及毒性研究进展[J]. 轻工科技. 2012(8):10-11.
- [3]邓国东,王亚吨,毛乾慧. 饲料中维生素 A 分析方法研究进展[J]. 中国饲料. 2016(12):32-34.

欢迎订阅 2018 年《中国稻米》杂志

《中国稻米》是由农业部主管,中国水稻研究所主办,全国农业技术推广服务中心等单位协办的全国性水稻科学技术期刊,兼具学术性、技术性、知识性、信息性等特点。2014 年被国家新闻出版广电总局认定为首批学术类期刊,为中文核心期刊和中国科技核心期刊,还荣获全国农业期刊金犁奖技术类一等奖、浙江省优秀科技期刊二等奖等奖项。据《中国科技期刊引证报告》(核心版)统计,《中国稻米》2016 年的影响因子为 0.572。适合我国水稻产区各级技术人员及农业与粮食行政管理人员、科研教学人员和稻农阅读。本刊为双月刊,标准大 16 开本,单月 20 日出版。每期定价 10.00 元,全年 60.00 元,全国公开发行,邮发代码:32-31,国内刊号:CN33-1201/S,国际统一刊号:ISSN 1006-8082。欢迎新老读者到当地邮局订阅,也可直接汇款到本刊编辑部订阅。

E-mail:zgdm@163.com,网址:www.zgdm.net。

地址:浙江省杭州市富阳区新桥水稻所路 28 号 邮政编码:311400

电话(传真):0571-63370271, 63370368