



中华人民共和国国家标准

GB 7300.202—2019

饲料添加剂 第2部分:维生素及类维生素 维生素 D₃ 油

Feed additives—Part 2: Vitamins, provitamins and chemically well-defined
substances having similar effect—Vitamin D₃ oily form

2019-12-17 发布

2020-07-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

前 言

本部分的第1章、第4章、第5章、第6章为强制性的,其余为推荐性的。

GB 7300《饲料添加剂》按产品分为若干部分。

本部分为GB 7300的第202部分。

本部分按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本部分由中华人民共和国农业农村部提出并归口。

本部分起草单位:中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所[国家饲料质量监督检验中心(北京)]、浙江省兽药饲料监察所、浙江花园生物高科股份有限公司、浙江新和成股份有限公司。

本部分主要起草人:赵小阳、钱国平、杨金枢、徐思远、田静、施杏芬、姚圆圆。

饲料添加剂 第2部分:维生素及类维生素 维生素 D₃ 油

1 范围

GB 7300 的本部分规定了饲料添加剂维生素 D₃ 油的要求、试验方法、检验规则及标签、包装、运输、贮存和保质期。

本部分适用于以羊毛脂胆固醇为起始原料经化学合成的维生素 D₃ 树脂油,溶于植物油中,并配以适量的抗氧化剂制得的饲料添加剂维生素 D₃ 油。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

- GB/T 601 化学试剂 标准滴定溶液的制备
- GB/T 602 化学试剂 杂质测定用标准溶液的制备
- GB/T 603 化学试剂 试验方法中所用制剂及制品的制备
- GB 5009.227 食品安全国家标准 食品中过氧化值的测定
- GB 5009.229—2016 食品安全国家标准 食品中酸价的测定
- GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
- GB 10648 饲料标签
- GB/T 13079—2006 饲料中总砷的测定
- GB/T 14699.1 饲料 采样

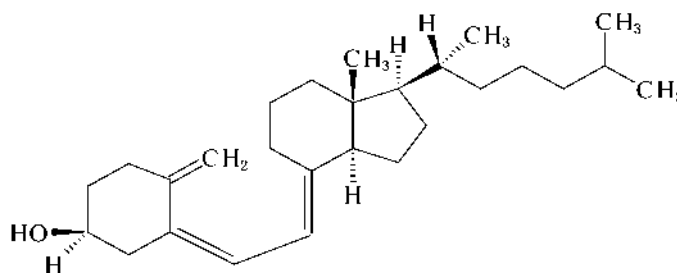
3 化学名称、分子式、相对分子质量和结构式

化学名称:(5Z,7E)-9,10-开环胆甾-5,7,10(19)-三烯-3 β -醇

分子式:C₂₇H₄₄O

相对分子质量:384.65(以 C₂₇H₄₄O 计,按 2016 年国际相对原子质量表计算)

结构式:



4 要求

4.1 产品规格

不低于 100 万 IU/g,一个国际单位维生素 D₃ 相当于 0.025 μ g。

4.2 外观和性状

本品为黄色至褐色、澄清液体,几乎不溶于水,可溶于乙醇、油脂,温度较低时可发生部分凝固或结晶析出现象。

4.3 技术指标

技术指标应符合表 1 规定。

表 1 技术指标

项目	指标
含量(以 C ₂₇ H ₄₄ O 计,占标示量的百分数)/%	95.0~110
酸值/(mg/g)	≤2.0
过氧化值/(mmol/kg)	≤10.0
重金属(以 Pb 计)/(mg/kg)	≤10.0
砷/(mg/kg)	≤2.0

5 试验方法

本部分所用的试剂和水,除特殊说明外,均指分析纯试剂和符合 GB/T 6682 中规定的三级水,色谱用水符合 GB/T 6682 中一级用水规定,试剂和溶液的制备应符合 GB/T 601、GB/T 602 和 GB/T 603 的规定。

5.1 试剂和溶液

- 5.1.1 正己烷:色谱纯。
- 5.1.2 正戊醇:色谱纯。
- 5.1.3 甲醇:色谱纯。
- 5.1.4 环己烷。
- 5.1.5 无水乙醇。
- 5.1.6 2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)。
- 5.1.7 维生素 D₃ 对照品:≥98.0%。
- 5.1.8 维生素 D₃ 标准贮备溶液:称取约 100 mg(精确至 0.01 mg)维生素 D₃ 对照品(5.1.7),置于 100 mL 棕色容量瓶中,加适量溶剂(正相色谱用正己烷,反相色谱用无水乙醇)使其溶解,并稀释定容至刻度,摇匀。该标准贮备溶液浓度为 40 000 IU/mL,在-18℃~-20℃冰箱中保存,有效期 12 个月。
- 5.1.9 维生素 D₃ 标准工作溶液:准确吸取维生素 D₃ 标准贮备溶液(5.1.8)适量于 50 mL 棕色容量瓶中,加溶剂(正相色谱用正己烷,反相色谱用无水乙醇)稀释成浓度分别为 100 IU/mL、200 IU/mL、800 IU/mL、2 000 IU/mL、8 000 IU/mL 的标准工作溶液 a,在-18℃~-20℃冰箱中保存,有效期 3 个月。

5.2 仪器

- 5.2.1 实验室常用仪器设备。
- 5.2.2 超声波水浴。

5.2.3 分析天平:感量为 0.000 1 g,0.000 01 g。

5.2.4 紫外-可见分光光度计。

5.2.5 高效液相色谱仪,配有紫外可调波长检测器或二极管矩阵检测器。

5.3 感官检验

取适量样品置于清洁干燥的白瓷盘中,符合 4.2。

5.4 鉴别试验

5.4.1 制备含量相当于 400 IU/mL 维生素 D₃ 的环己烷溶液,在波长 250 nm~300 nm 之间检测,结果显示在(267±1)nm 处呈现最大吸收峰。

5.4.2 按照色谱条件(5.5.2.2),维生素 D₃ 标准工作溶液 a(5.1.9)和试样溶液(5.5.2.1)用液相色谱外标法测定,试样溶液中维生素 D₃ 的色谱峰保留时间与标准工作溶液 a(5.1.9)色谱峰保留时间一致。维生素 D₃ 色谱图参见附录 A 中的图 A.1、图 A.2、图 A.3 和图 A.4。

5.5 维生素 D₃ 含量的测定

5.5.1 原理

试样中维生素 D₃ 经适量溶剂(正相色谱用正己烷,反相色谱用无水乙醇)溶解后,用液相色谱测定,以 254 nm 为检测波长,经流动相洗脱分离后,外标法计算维生素 D₃ 的含量,待测样液中维生素 D₃ 的响应值应在工作曲线范围内。试样中维生素 D₃ 的总量包括色谱峰中能检测到的维生素 D₃ 的量以及由于温度因素而转化成预维生素 D₃ 的量。

5.5.2 分析步骤

5.5.2.1 试液的制备

称取试样约 50 mg~100 mg(精确至 0.01 mg),置于 100 mL 棕色容量瓶中,用适量溶剂(正相色谱用正己烷,反相色谱用无水乙醇)溶解定容至刻度,混匀,用 0.22 μm 滤膜过滤,供高效液相色谱仪分析。

5.5.2.2 参考色谱条件

5.5.2.2.1 正相色谱(仲裁法)

色谱柱:硅胶柱,柱长 250 mm,内径 4.6 mm,粒度 5 μm,或性能相当者。

流动相:正己烷+正戊醇=996+4。

流速:2.0 mL/min。

检测波长:254 nm。

进样量:20 μL。

5.5.2.2.2 反相色谱

色谱柱:C₁₈柱,柱长 250 mm,内径 4.6 mm,粒度 5 μm,或性能相当者。

流动相:甲醇+水=950+50。

流速:1.0 mL/min。

检测波长:254 nm。

进样量:20 μL。

5.5.2.3 预维生素 D₃ 校正因子的测定

准确移取 1.00 mL 维生素 D₃ 标准贮备溶液(5.1.8)至 100 mL 的三角瓶中,加入 5.00 mL 正己烷(反相用无水乙醇)、10 mg 2,6-二叔丁基对甲酚(BHT),于 90 °C 水浴中回流 45 min,取出冷却,用正己烷(反相用无水乙醇)转移至 50 mL 棕色容量瓶中,稀释定容至刻度,摇匀,得到标准工作溶液 b。将标准工作溶液 b 按上述色谱条件进样分析,至少做五个平行测定,得维生素 D₃ 峰面积的平均值 A^* 和预维生素 D₃ 峰面积的平均值 A_{pre}^* ,同样将标准工作溶液 a(5.1.9)直接进样,得维生素 D₃ 峰面积 A 和预维生素 D₃ 峰面积 A_{pre} ,预维生素 D₃ 校正因子 f 按式(1)计算:

$$f = (A - A^*) / (A_{pre}^* - A_{pre}) \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

A ——标准工作溶液 a 中维生素 D₃ 峰面积;

A^* ——标准工作溶液 b 中维生素 D₃ 峰面积的平均值;

A_{pre}^* ——标准工作溶液 b 中预维生素 D₃ 峰面积的平均值;

A_{pre} ——标准工作溶液 a 中预维生素 D₃ 峰面积。

5.5.2.4 定量测定

按照色谱条件,维生素 D₃ 标准工作溶液及试样溶液用液相色谱测定,得到色谱峰面积响应值,用外标法定量。

5.5.3 结果计算

试样中维生素 D₃ (C₂₇H₄₄O)含量 X_1 [国际单位每克(IU/g)],按式(2)计算:

$$X_1 = \frac{(f \times A_{spre} + A_s) \times V \times C}{m \times (f \times A_{pre} + A)} \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

f ——预维生素 D₃ 校正因子;

A_{spre} ——试液中预维生素 D₃ 峰面积;

A_s ——试液中维生素 D₃ 峰面积;

V ——试液稀释倍数;

C ——维生素 D₃ 标准工作溶液 a 的浓度,单位为国际单位每毫升(IU/mL);

m ——试样质量,单位为克(g);

A_{pre} ——标准工作溶液 a 中预维生素 D₃ 峰面积;

A ——标准工作溶液 a 中维生素 D₃ 峰面积。

试样中维生素 D₃ (C₂₇H₄₄O)含量 X_1 相当于标示量的质量百分数 X_2 按式(3)计算:

$$X_2 = \frac{X_1}{\text{标示量}} \times 100 \quad \dots\dots\dots (3)$$

结果用平行测定的算术平均值表示,保留三位有效数字。

5.5.4 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测定结果与其算术平均值的差值不大于这两个测定值算术平均值的 2.0%。

5.6 酸值的测定

称取试样 1.0 g(精确至 0.000 1 g),按照 GB 5009.229—2016 第三法规定执行。

5.7 过氧化值的测定

称取试样 2.0 g~5.0 g(精确至 0.000 1 g),按照 GB 5009.227 规定执行。

5.8 重金属的测定

5.8.1 试剂与溶液

5.8.1.1 硫酸。注意:硫酸是强腐蚀液,操作者需戴防护眼镜、手套,以防灼伤。

5.8.1.2 硝酸。

5.8.1.3 盐酸。

5.8.1.4 铅标准溶液:1 000 $\mu\text{g/mL}$,称取硝酸铅 0.159 9 g,置 1 000 mL 量瓶中,加硝酸 5 mL 与水 50 mL 溶解后,用水稀释至刻度,摇匀,作为贮备液(按 GB/T 602 的规定)。

5.8.1.5 氨水溶液(10%):取氨水 40 mL,加水适量使成 100 mL,摇匀(按 GB/T 603 制备)。

5.8.1.6 盐酸溶液Ⅲ:取盐酸 63 mL,加水适量使成 100 mL,摇匀。

5.8.1.7 盐酸溶液Ⅳ:取盐酸 18 mL,加水适量使成 100 mL,摇匀。

5.8.1.8 硫化钠溶液:取硫化钠 100 g,加水使溶解成 1 000 mL。

5.8.1.9 醋酸盐缓冲液(pH 3.5):取醋酸铵 25 g,加水 25 mL 溶解,加盐酸溶液Ⅲ(5.8.1.6)38 mL,用盐酸溶液Ⅳ(5.8.1.7)或氨水溶液(5.8.1.5)准确调节 pH 值至 3.5(电位计指示),用水稀释至 100 mL,摇匀。

5.8.1.10 酚酞指示液:取酚酞 1 g,加乙醇 100 mL 使溶解,即得(按 GB/T 603 制备)。变色范围 pH 8.3~10.0(无色→红)。

5.8.1.11 铅标准工作液:精密量取铅标准溶液(5.8.1.4)2 mL,置 200 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀(每毫升相当于 10 μg 的 Pb)。

5.8.2 分析步骤

5.8.2.1 试样溶液制备

称取试样 1 g(精确至 1 mg),置瓷坩埚中,缓缓炽灼至完全炭化,放冷。加硫酸(5.8.1.1)0.5 mL~1 mL 使湿润,低温加热至硫酸蒸气除尽后,在 550 $^{\circ}\text{C}$ 炽灼使完全灰化,放冷。加硝酸(5.8.1.2)0.5 mL,蒸干至氧化氮蒸气除尽后,放冷。加盐酸(5.8.1.3)2.0 mL,置水浴上蒸干后加水 15 mL,滴加氨水溶液(5.8.1.5)至对酚酞指示液(5.8.1.10)显微红色,再加醋酸盐缓冲液(5.8.1.9)2.0 mL,微热溶解后,移置纳氏比色管中,加水稀释成 25 mL,作为乙管。

5.8.2.2 标准比色溶液制备

另取制备试样溶液的试剂硫酸(5.8.1.1)0.5 mL~1 mL,置瓷坩埚中低温加热至硫酸蒸气除尽后,加硝酸(5.8.1.2)0.5 mL,蒸干至氧化氮蒸气除尽后,放冷。加盐酸(5.8.1.3)2.0 mL,置水浴上蒸干后加水 15 mL,滴加氨水溶液(5.8.1.5)至对酚酞指示液(5.8.1.10)显微红色,加醋酸盐缓冲液(5.8.1.9)2.0 mL,微热溶解后,移置纳氏比色管中,加铅标准工作液(5.8.1.11)1.00 mL,再用水稀释成 25 mL,作为甲管。

5.8.3 测定与结果判定

在甲、乙两管中分别加硫化钠溶液(5.8.1.8)各 5 滴,摇匀,放置 2 min,同置白纸上,自上向下透视,肉眼观察比较甲管与乙管的颜色,如乙管所显颜色未深于甲管,则判定为符合规定。

5.9 砷的测定

称取试样 2.5 g(精确到 0.001 g),按照 GB/T 13079—2006 中第 5 章测定,样品前处理按照 GB/T 13079—2006 中 5.4.1.3 规定执行。

6 检验规则

6.1 组批

以相同材料、相同的生产工艺、连续生产或同一班次生产的产品为一批,但每批产品不超过 60 t。

6.2 采样

按 GB/T 14699.1 的规定进行。

抽样时,用清洁适用的取样工具插入料层深度四分之三处,如果样品出现局部凝固,应将样品溶化,将所取样品充分混匀。

6.3 出厂检验

出厂检验项目为:外观和性状、维生素 D₃ 含量、酸值和过氧化值。

6.4 型式检验

型式检验项目为第 4 章的全部技术指标。产品正常生产时,每半年至少进行一次型式检验,但有下列情况之一时,应进行型式检验:

- a) 新产品投产时;
- b) 原料、配方、设备、生产工艺有较大改变时;
- c) 产品停产三个月以上,恢复生产时;
- d) 出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差异时;
- e) 饲料管理部门提出进行型式检验要求时。

6.5 判定规则

6.5.1 所检项目检测结果均与本部分规定指标一致判定为合格产品。

6.5.2 检验结果中,如有一项指标不符合本部分规定时,可在原批中重新抽样对不符合项进行复检,若复检结果仍不符合本部分规定,则判定该批产品为不合格。

7 标签、包装、运输、贮存和保质期

7.1 标签

按 GB 10648 执行,还应注明有毒标记,并在使用说明中注明本品不能直接添加到饲料中。

7.2 包装

本品采用内衬环氧树脂铁桶或适当材料的避光密闭容器包装。

7.3 运输

在运输过程中应防潮、防高温、防止包装破损,搬运装卸,小心轻放,不得倒置,严禁与有毒有害物质

混运。

7.4 贮存

贮存在通风、干燥、无污染、无有害物质的地方,密闭、避光,开封的样品应尽快用完,开封后充氮保存。

7.5 保质期

符合规定的包装、运输和贮存条件下,保质期为 12 个月。



附录 A
(资料性附录)
维生素 D₃ 色谱图

A.1 维生素 D₃ 标准溶液正相色谱图见图 A.1。

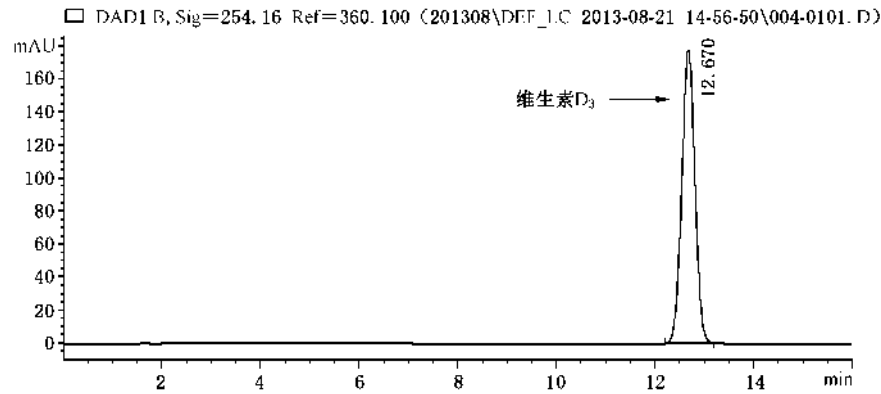


图 A.1 维生素 D₃ 标准溶液(浓度为 400 IU/mL)正相色谱图

A.2 预维生素 D₃ 与维生素 D₃ 标准溶液正相色谱图见图 A.2。

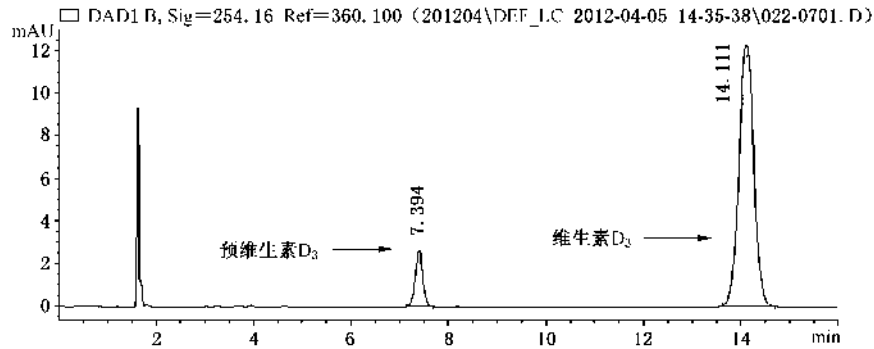


图 A.2 预维生素 D₃ 与维生素 D₃ 标准溶液(浓度为 400 IU/mL)正相色谱图

A.3 维生素 D₃ 标准溶液反相色谱图见图 A.3。

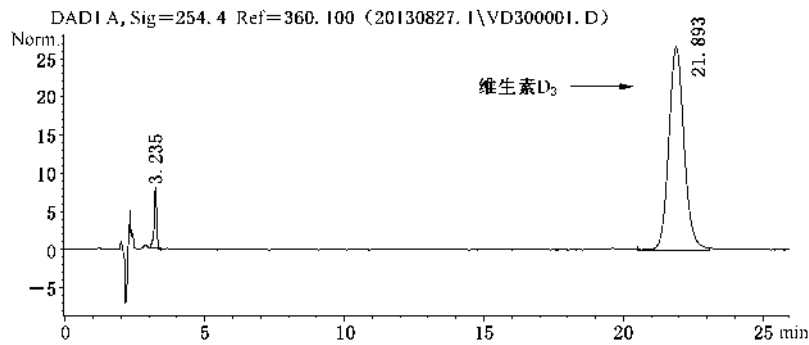


图 A.3 维生素 D₃ 标准溶液(浓度为 400 IU/mL)反相色谱图

A.4 预维生素 D₃ 与维生素 D₃ 标准溶液反相色谱图见图 A.4。

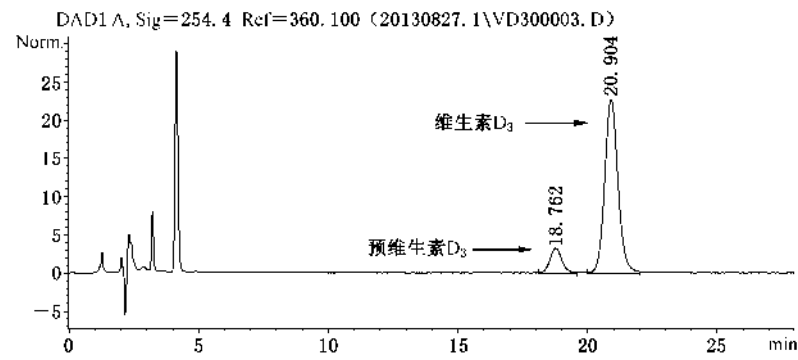


图 A.4 预维生素 D₃ 与维生素 D₃ 标准溶液(浓度为 400 IU/mL)反相色谱图

