

HPLC 法检测饲料中的烟酸叶酸

烟酸属于 B 族维生素，又称尼克酸或维生素 B5，具有促进细胞新陈代谢，扩张血管的作用，也有缓解末梢血管痉挛的效果。烟酸作为微量营养素对动物脂肪代谢、生产性能、疾病预防、预防奶牛酮血症有积极的作用；肌体缺乏烟酸时会引起新陈代谢障碍。

叶酸是一种广泛存在于绿色蔬菜中的 B 族维生素，通过对一碳基团的传递参与嘌呤、嘧啶的合成以及氨基酸的代谢，从而影响核酸的合成和蛋白质的代谢，对正常血细胞的形成有促进作用，并能促进免疫球蛋白的生成。动物缺乏叶酸会引起贫血、红细胞减少、生长停止等病症。

对于烟酸和叶酸的检测，经典的方法有微生物法和分光光度法，近年来普遍采用高效液相色谱法。本次实验根据 GB/T 17813.7-1999《复合预混料中烟酸、叶酸的测定 高效液相色谱法》，采用日立高效液相色谱仪 Primaide 配紫外检测器对烟酸和叶酸进行检测，重现性良好。

● 仪器

- 1) 四元梯度泵 PM1110
- 2) 自动进样器 PM1210
- 3) 柱温箱 PM1310
- 4) 紫外检测器 PM1410
- 5) PSM 色谱工作站。

● 色谱条件

色谱柱：Hitachi LaChrom C18(5 μ m) 4.6mm I.D.x250mm L

柱温：30 $^{\circ}$ C

流速：1.0 mL/min

波长：275 nm

进样量：20 μ L

流动相：取 500mL 去离子水，加 10mL 冰乙酸，1.3mL 三乙胺，20mL 己烷磺酸钠 (0.005mol/L)，用去离子水定容至 1L，调 pH=3.2，过滤；取上述溶液 850mL 与 150mL 甲醇混合，脱气。

天美（中国）科学仪器有限公司
TECHCOMP (CHINA) LTD.

中国北京朝阳区天畅园 7 号楼 1、3 层
TEL:010-64010651
FAX:010-64060202
E-MAIL :techcomp@techcomp.cn

● 溶液制备

烟酸贮备液：准确称取约 25mg 烟酸置 25mL 容量瓶中，用流动相溶解并定容；

叶酸贮备液：准确称取约 25mg 叶酸置 25mL 容量瓶中，用 0.1mol/L 碳酸钠溶液溶解并定容；

分别移取一定量烟酸和叶酸贮备液，用流动相稀释成浓度为 10μg/mL 的混合标准品溶液，用 0.45μm 滤膜过滤，进样测定。

● 实验结果

1、标样测定

根据 GB/T 17813.7-1999 的色谱条件进行实验，烟酸出峰时间为 3.84min，叶酸出峰时间为 30.86min，图 1 为混合标样的色谱图。

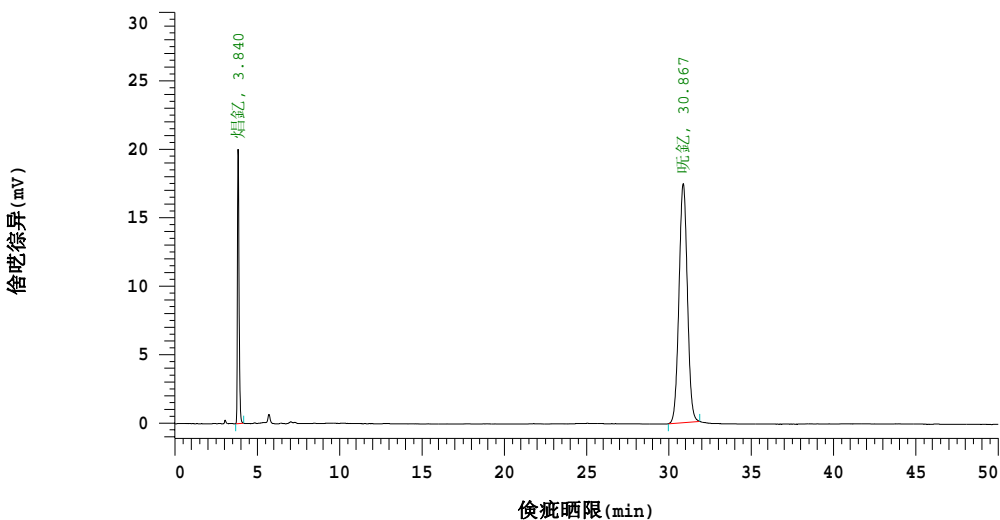


图 1 混合标样色谱图

2、重复性实验

对混合标准品溶液重复进样，烟酸 6 次进样峰面积的 RSD 为 0.22%，叶酸 6 次进样峰面积的 RSD 为 0.11%，重现性良好，结果见下表：

表 1 烟酸峰面积的重现性结果

	Rep-1	Rep-2	Rep-3	Rep-4	Rep-5	Rep-6	Average	SD	RSD(%)
Area	123933	123800	123797	123688	124160	123343	123786	271	0.22

表 2 叶酸峰面积的重现性结果

	Rep-1	Rep-2	Rep-3	Rep-4	Rep-5	Rep-6	Average	SD	RSD(%)
Area	596254	597331	596120	595945	596852	597521	596670	662	0.11

天美（中国）科学仪器有限公司
TECHCOMP (CHINA) LTD.

中国北京朝阳区天畅园 7 号楼 1、3 层
TEL:010-64010651
FAX:010-64060202
E-MAIL :techcomp@techcomp.cn

3、饲料样品检测

某品牌维生素预混饲料经前处理后测定，检测结果见图 2。

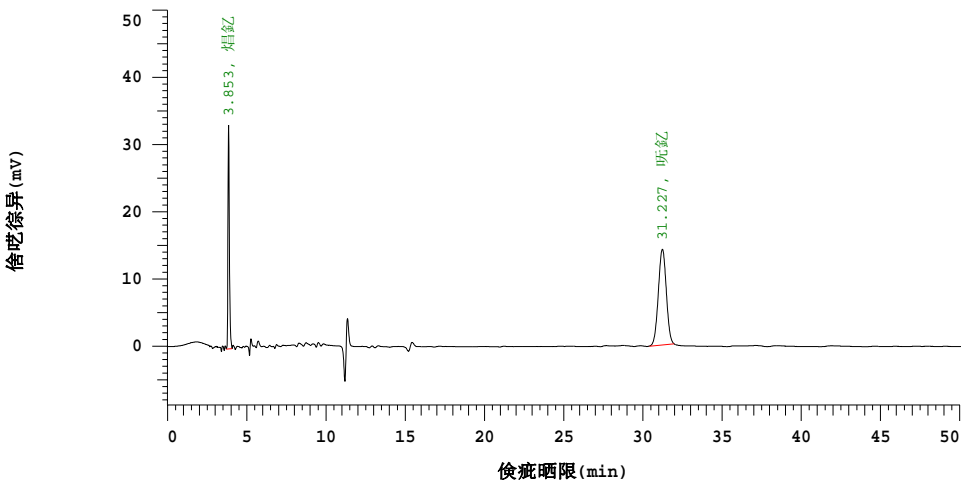


图 2 预混饲料样品色谱图

- 结论

采用日立高效液相色谱仪 Primaide 四元梯度系统配紫外检测器，在上述色谱条件下，烟酸和叶酸峰面积的重现性良好；并可以对饲料实际样品中的烟酸和叶酸进行定性和定量，紫外检测器灵敏度高，适用于常规定量测定。