



中华人民共和国国家标准

GB 7300.201—2019
代替 GB/T 19422—2003

饲料添加剂 第2部分：维生素及类维生素 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐

Feed additives—Part 2: Vitamins, provitamins and chemically well-defined
substances having similar effect—L-Ascorbyl-2-phosphate

2019-12-17 发布

2020-07-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

前 言

本部分的第1章、第3章、第4章、第5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201部分。

本部分按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本部分代替GB/T 19422—2003《饲料添加剂 L-抗坏血酸-2-磷酸酯》,与GB/T 19422—2003相比主要技术变化如下:

- 增加了产品规格(见3.2);
- 增加了L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐含量项目指标,定为标示量的95%~110%(见3.4);
- 增加了L-抗坏血酸-2-单磷酸酯盐占L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐的比例指标(见3.4);
- 增加了总磷的指标(见3.4);
- 将总砷含量 ≤ 5.0 (mg/kg)修改为 ≤ 2.0 (mg/kg)(见3.4,2003年版的3.2);
- 将铅含量 ≤ 30.0 (mg/kg)修改为 ≤ 10.0 (mg/kg)(见3.4,2003年版的3.2)。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

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)]、北京桑普生物化学技术有限公司。

本部分主要起草人:索德成、施文娟、田静、李宏、杨曙明、张苏、王石、魏书林。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为:

- GB/T 19422—2003。

饲料添加剂
第 2 部分：维生素及类维生素
L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐

1 范围

GB 7300 的本部分规定了饲料添加剂 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐的技术要求、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 L-抗坏血酸与偏磷酸盐(钠、钙、镁等)反应所制得的 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐。

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/T 6435 饲料中水分的测定
- GB/T 6437 饲料中总磷的测定 分光光度法
- GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
- GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定
- GB 10648 饲料标签
- GB/T 13079—2006 饲料中总砷的测定
- GB/T 13080 饲料中铅的测定 原子吸收光谱法
- GB/T 14699.1 饲料 采样
- GB/T 18634 饲用植酸酶活性的测定 分光光度法

3 技术要求

3.1 外观与性状

本品为类白色或淡黄色的粉末。

3.2 产品规格

产品规格可根据合同要求确定,但 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐(以 L-抗坏血酸计)含量不得低于 35%。

3.3 鉴别

应符合 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐的最大紫外吸收波长,或者 4.4 所描述的化学反应的特征。

3.4 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
L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐(以 L-抗坏血酸计,占标示量的百分数)/%	95.0~110.0
L-抗坏血酸-2-单磷酸酯盐占 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐的比例/% ≥	90.0
干燥失重/% ≤	10.0
总砷/(mg/kg) ≤	2.0
铅/(mg/kg) ≤	10.0
总磷/% ≤	11.0

4 试验方法

4.1 试剂或材料

除特殊说明外,所有使用的试剂均为分析纯和符合 GB/T 6682 中规定的三级水,色谱用水符合 GB/T 6682 中规定的一级水,试剂和溶液的制备应符合 GB/T 601、GB/T602 和 GB/T 603 的规定。

- 4.1.1 冰乙酸。
- 4.1.2 甲醇:色谱纯。
- 4.1.3 己烷磺酸钠:色谱级。
- 4.1.4 硝酸溶液:量取 10 mL 硝酸,加 90 mL 水,混匀。
- 4.1.5 氢氧化钠溶液(1 mol/L):称取 40 g 氢氧化钠,用水溶解定容至 1 000 mL,混匀。
- 4.1.6 硝酸银溶液(0.1 mol/L):称取 16.9 g 硝酸银,用水溶解定容至 1 000 mL,混匀。
- 4.1.7 氨水溶液:量取 40 mL 氨水,加 60 mL 水,混匀。
- 4.1.8 盐酸溶液(0.1 mol/L):吸取 9 mL 盐酸,用水溶解定容至 1 000 mL,混匀。
- 4.1.9 碳酸钠溶液(0.01 mol/L):称取 1.05 g 碳酸钠,用水溶解定容至 1 000 mL,混匀。
- 4.1.10 冰乙酸溶液:量取 5 mL 冰乙酸,加 95 mL 水,混匀。
- 4.1.11 2,6-二氯靛酚钠溶液:称取 295 mg 2,6-二氯靛酚钠溶于 1 000 mL 水中,此溶液可保存 1 周。
- 4.1.12 酸性植酸酶:活性单位 1 000 U 以上,酶活按 GB/T 18634 测定。
- 4.1.13 酸性植酸酶溶液:称取 1 g 酸性植酸酶,用冰乙酸溶液溶解定容至 100 mL,混匀。
- 4.1.14 偏磷酸溶液:称取 1 g 偏磷酸,用水溶解定容至 100 mL,混匀。
- 4.1.15 L-抗坏血酸标准溶液:称取 0.1 g (精确至 0.000 1 g)L-抗坏血酸标准品溶于 100 mL 冰乙酸溶液中,临用现配。
- 4.1.16 L-抗坏血酸-2-磷酸酯镁标准品:纯度大于 98.0%。
- 4.1.17 L-抗坏血酸-2-单磷酸酯镁标准储备溶液:称取约 0.1g(精确至 0.000 1 g)L-抗坏血酸-2-磷酸酯镁标准品(4.1.16),置于 100 mL 棕色容量瓶中,加适量 25%乙醇溶液使其溶解,并稀释定容至刻度,摇匀。该标准储备液每毫升含 L-抗坏血酸-2-单磷酸酯镁 1 mg。
- 4.1.18 L-抗坏血酸-2-单磷酸酯镁标准工作液:准确吸取 L-抗坏血酸-2-单磷酸酯镁标准储备液(4.1.17)10.0 mL 于 100 mL 棕色容量瓶中,用水稀释定容至刻度,摇匀。该标准工作液每毫升含 L-抗坏血酸-2-单磷酸酯镁 100 μg。

4.2 仪器设备

- 4.2.1 电子天平:感量 0.000 1 g、0.001 g。



- 4.2.2 超声波水浴。
- 4.2.3 紫外分光光度计。
- 4.2.4 石英比色皿(1 cm)。
- 4.2.5 高效液相色谱仪:带紫外可调波长检测器(或二极管矩阵检测器)。

4.3 感官检验

取适量试样置于清洁干燥的容器中,在自然光下观察其色泽。

4.4 鉴别试验

- 4.4.1 称取试样 2 g 于 100 mL 烧杯中,加水 30 mL 溶解,过滤。取滤液 10 mL,加硝酸溶液(4.1.4) 20 mL,加热 20 min。取试液 5 mL,滴加氢氧化钠溶液(4.1.5)至中性,加硝酸银溶液(4.1.6)1 mL,即生成浅黄色沉淀;分离,沉淀在氨水溶液或硝酸溶液中均易溶解。
- 4.4.2 称取试样 0.3 g 于 250 mL 的容量瓶中,加入 50 mL 盐酸溶液(4.1.8)溶解,用碳酸钠溶液(4.1.9)定容。吸取 1.0 mL 试液于 50 mL 容量瓶中,用碳酸钠溶液定容至刻度。用紫外分光光度计扫描(200 nm~400 nm),L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐在 261 nm~265 nm 处有最大吸收值。
- 4.4.3 称取试样 0.3 g ~0.5 g 于 100 mL 的容量瓶中,加入约 60 mL 的冰乙酸溶液(4.1.10),在超声水浴中超声 10 min,用冰乙酸溶液定容。精密吸取 2 mL 试液于 50 mL 小烧杯中,加入 2,6-二氯靛酚钠溶液(4.1.11)至溶液为粉红色后,加入 2 mL 酸性植酸酶溶液(4.1.13),于 37 °C 水浴上保持 30 min,红色褪去。

4.5 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐含量的测定——紫外分光光度法(快速检测法)

4.5.1 原理

在 pH 值为 10 的条件下,L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐在 263 nm 处有最大吸收,且符合朗伯比尔定律,据此可测出试样溶液的吸光值,根据摩尔吸收系数计算出试样中 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐含量。

4.5.2 试验步骤

平行做两份试验。称取试样约 0.3 g(准确至 0.000 1 g),置于 250 mL 棕色容量瓶中,加 50 mL 盐酸溶液(4.1.8),在超声水浴中超声 10 min,用碳酸钠溶液(4.1.9)定容。准确吸取 1.0 mL 试液置于 50 mL 棕色容量瓶中,用 40 mL 碳酸钠溶液溶解,并用盐酸溶液(4.1.8)调节溶液 pH 值至 10,用碳酸钠溶液(4.1.9)稀释至刻度,摇匀。放置 20 min 后,将试液置于 1 cm 石英比色皿中,以 pH 值为 10 的碳酸钠溶液为空白对照,用紫外分光光度计于 263 nm±1 nm 处测定吸收值。

4.5.3 试验数据处理

试样中 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐含量(以 L-抗坏血酸计) w_1 以质量分数(%)表示,按式(1)计算:

$$w_1 = \frac{A \times 12.5M}{16\,000mb} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

- 式中:
- A —— 试样溶液的吸光值;
 - 12.5 —— 稀释体积,单位为升(L);
 - M —— L-抗坏血酸的摩尔质量,单位为克每摩尔(g/mol)(M=176.13);
 - 16 000 —— L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐的摩尔吸收系数(ε),单位为升每厘米摩尔[L/(cm · mol)];
 - m —— 试样质量,单位为克(g);

b ——比色皿厚度,单位为厘米(cm)。

试样中 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐占标示量的百分数(%)以 w_2 表示,按式(2)计算:

$$w_2 = \frac{w_1}{K_{\text{标}}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

$K_{\text{标}}$ ——产品中 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐标示量。

平行测定结果用算术平均值表示,保留三位有效数字。

4.5.4 精密度

在重复性条件下,获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于 0.5%。

4.6 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐含量测定——酶解法(仲裁法)

4.6.1 原理

在酸性条件下,酸性植酸酶可将 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐水解,用 2,6-二氯靛酚钠溶液滴定 L-抗坏血酸含量。

4.6.2 试验步骤

平行做两份试验。称取试样 0.3 g~0.5 g(精确至 0.000 1 g)于 100 mL 的容量瓶中,加入 5 mL 冰乙酸(4.1.10),加入约 60 mL 的水,在超声水浴中保持 10 min,用水定容。

准确吸取 10 mL 的上述试液于 100 mL 具塞三角瓶中,加入 5 mL 偏磷酸溶液(4.1.14),用 2,6-二氯靛酚钠溶液(4.1.11)滴定至粉红色并保持 30 s 即为终点。

分别准确吸取 2 mL 的上述试液和 L-抗坏血酸标准溶液(4.1.15)于 50 mL 具塞三角瓶中,分别准确加入 2 mL 的酸性植酸酶溶液(4.1.13),于 37 °C 水浴上水解 1 h 后,加入 5 mL 偏磷酸溶液,用 2,6-二氯靛酚钠溶液滴定至粉红色并保持 30 s 即为终点。同时做冰乙酸溶液(4.1.10)空白试验。

4.6.3 试验数据处理

试样中 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐含量(以 L-抗坏血酸计) w_3 ,以质量分数(%)表示,按式(3)计算:

$$w_3 = \frac{\left(V_1 - \frac{V_2}{5}\right) m_{\text{st}}}{(V_{\text{st}} - V_0) m_1} \times 100 \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中:

V_1 ——滴定酶解后的试液所消耗的 2,6-二氯靛酚钠溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——滴定未酶解的试液所消耗的 2,6-二氯靛酚钠溶液的体积,单位为毫升(mL);

m_{st} ——L-抗坏血酸标准品的质量,单位为克(g);

V_{st} ——滴定 L-抗坏血酸标准溶液所消耗的 2,6-二氯靛酚钠溶液的体积,单位为毫升(mL);

V_0 ——滴定空白所消耗的 2,6-二氯靛酚钠溶液的体积,单位为毫升(mL);

m_1 ——试样的质量,单位为克(g)。

试样中 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐占标示量的百分数(%)以 w_4 表示,按式(4)计算:

$$w_4 = \frac{w_3}{K_{\text{标}}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中:

$K_{\text{标}}$ ——产品中 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐标示量。

平行测定结果用算术平均值表示,保留三位有效数字。

4.6.4 精密度

在重复性条件下,获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于 0.5%。

4.7 L-抗坏血酸-2-单磷酸酯盐占 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐的比例的测定

4.7.1 原理

试样中 L-抗坏血酸-2-单磷酸酯盐经水提取后,用液相色谱测定,外标法计算 L-抗坏血酸-2-单磷酸酯盐占 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐的比例。

4.7.2 试验步骤

4.7.2.1 试液的制备

平行做两份试验。称取试样约 0.1 g~1 g(精确至 0.000 1 g),置于 100 mL 棕色容量瓶中,加约 60 mL 水,在超声波水浴中超声提取 15 min,冷却至室温,用水定容至刻度,混匀,过滤,滤液过 0.45 μm 滤膜,供高效液相色谱仪分析。

4.7.2.2 色谱条件

- 固定相:C18 柱,内径 4.6 mm,长 150 mm,5 μm 或性能相当的色谱柱。
- 流动相:每升水溶液中含 300 mL 的甲醇,1 g 的己烷磺酸钠和 10 mL 的冰乙酸,过滤,超声脱气。
- 流速:0.5 mL/min。
- 检测器:紫外可调波长检测器(或二极管矩阵检测器),检测波长 261 nm。
- 进样量:20 μL。

4.7.2.3 定量测定

按高效液相色谱仪说明书调整仪器操作参数,向色谱柱中注入 L-抗坏血酸-2-单磷酸酯镁标准工作液(4.1.18)及试样溶液,得到 L-抗坏血酸-2-单磷酸酯盐色谱图,标准溶液色谱图和典型样品溶液色谱图参见附录 A,用外标法定量。

4.7.3 试验数据处理

试样中 L-抗坏血酸-2-单磷酸酯盐含量(以 L-抗坏血酸计) w_5 以质量分数(%)表示,按式(5)计算:

$$w_5 = \frac{P\rho \times 100}{P_{st}m} \times 10^{-4} f \dots\dots\dots (5)$$

- 式中:
- P ——样品试液峰面积;
 - ρ ——L-抗坏血酸-2-单磷酸酯镁标准工作液(4.1.18)质量浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);
 - P_{st} ——L-抗坏血酸-2-单磷酸酯镁标准工作液(4.1.18)峰面积;
 - m ——试样质量,单位为克(g);
 - f ——L-抗坏血酸-2-单磷酸酯镁转换成 L-抗坏血酸的换算系数。

试样中 L-抗坏血酸-2-单磷酸酯盐(以 L-抗坏血酸计)占 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐总含量的比例(%),以 w_6 表示,按式(6)计算:

$$w_6 = \frac{w_5}{K_{总}} \times 100 \dots\dots\dots (6)$$

式中：

$K_{\text{总}}$ ——L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐总含量，由 4.5 或 4.6 的方法得出。

平行测定结果用算术平均值表示，保留三位有效数字。

4.7.4 精密度

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 5%。

4.8 总砷的测定

平行做两份实验。称取试样 1 g(准确至 0.001 g)，按照 GB/T 13079—2006 中 5.4.1.3 干灰化法制备试液，进行总砷测定。

4.9 铅的测定

平行做两份实验。称取试样 1 g(准确至 0.001 g)，按照 GB/T 13080 规定执行。

4.10 总磷的测定

平行做两份实验。称取试样 1 g(准确至 0.001 g)，按照 GB/T 6437 规定执行。

4.11 干燥失重的测定

平行做两份实验。称取试样 1 g(准确至 0.001 g)，按照 GB/T 6435 规定执行。

5 检验规则

5.1 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同一规格的产品为一批，但每批产品不得超过 10 t。

5.2 采样

按 GB/T 14699.1 规定执行。

5.3 出厂检验

出厂检验项目为：L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐含量、干燥失重。

5.4 型式检验

型式检验项目为第 3 章规定的所有项目，在正常生产情况下，每半年至少进行 1 次型式检验。有下列情况之一时，亦应进行型式检验：

- a) 产品定型投产时；
- b) 生产工艺、配方或主要原料来源有较大改变，可能影响产品质量时；
- c) 停产 3 个月以上，重新恢复生产时；
- d) 出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差异时；
- e) 饲料行政管理部门提出检验要求时。

5.5 判定规则

5.5.1 所验项目全部合格,判定为该批次产品合格。

5.5.2 检验结果中有任何指标不符合本部分规定时,可自同批产品中重新加一倍取样进行复检。复检结果有一项指标不符合本部分规定,即判定该批产品不合格。

5.5.3 各项目指标的极限数值判定按 GB/T 8170 中全数值比较法执行。

6 标签、包装、运输、贮存和保质期

6.1 标签

按 GB 10648 规定执行。

6.2 包装

包装材料应无毒、无害、防潮。

6.3 运输

运输工具应清洁卫生,能防暴晒、防雨淋、防受潮,不应与有害有毒物质混装、混运,避免包装破损。

6.4 贮存

贮存于防晒、通风、干燥处,防虫、防鼠,不应与有毒有害物混贮。

6.5 保质期

未开启包装的产品,在规定的运输、贮存条件下,原包装自生产之日起的保质期为 24 个月。

附 录 A
(资料性附录)

L-抗坏血酸-2-单磷酸酯盐色谱图

L-抗坏血酸-2-单磷酸酯盐标准溶液色谱图和典型样品色谱图见图 A.1 和图 A.2。

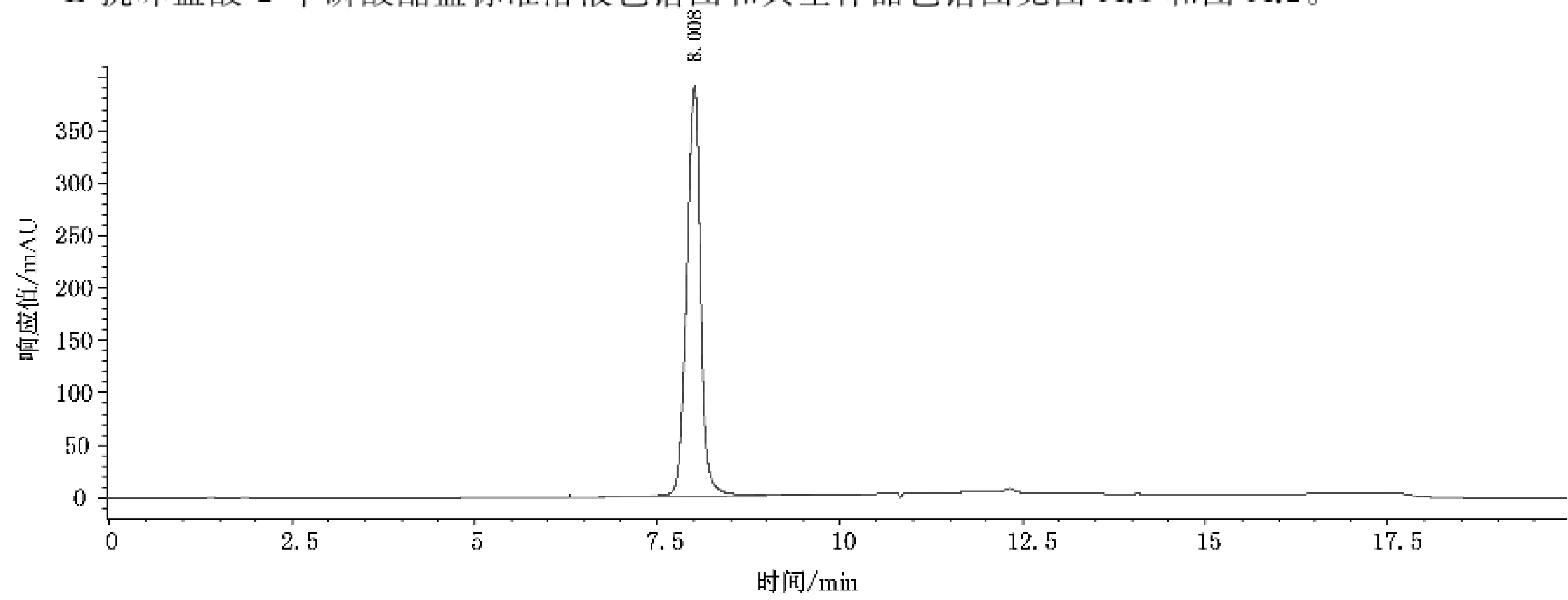


图 A.1 L-抗坏血酸-2-单磷酸酯盐标准溶液(100 µg/mL)色谱图

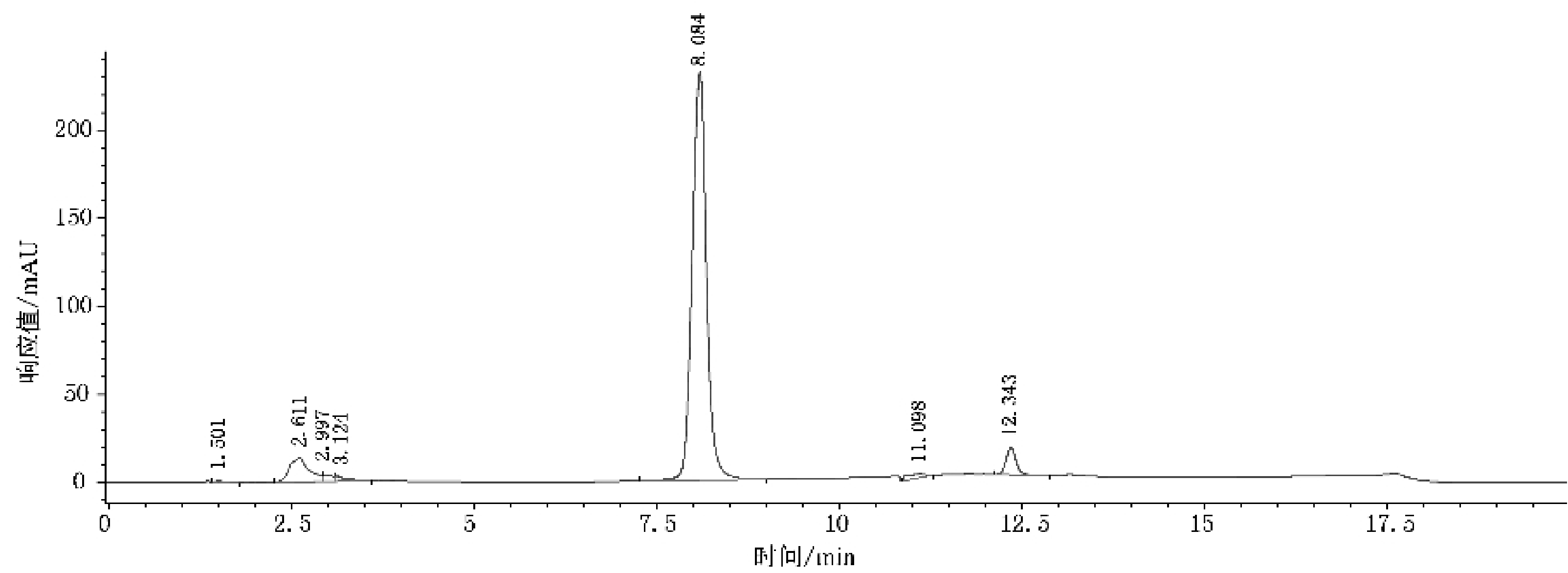


图 A.2 L-抗坏血酸-2-磷酸酯盐典型样品溶液色谱图