

国家标准

**《实验动物 配合饲料
维生素和矿物质的测定》**

编制说明

联系人：王竹
联系电话：13366322019
编制单位：中国疾病预防控制中心营养与健康所
时 间：2025 年 11 月 14 日

《实验动物 配合饲料 维生素和矿物质的测定》编制说明

(一) 工作简况, 包括任务来源、协作单位;

根据《国家标准管理委员会关于下达 2023 年国家标准复审修订计划的通知》(2023 64 号), 由中国疾病预防控制中心营养与健康所组建队伍对《实验动物 配合饲料 维生素的测定》(GB/T 14924.11-2001) 和《实验动物 配合饲料矿物质和微量元素的测定》(GB/T 14924.12-2001) 进行修订(计划号为 20233402-T-306)。

中国疾病预防控制中心营养与健康所负责牵头组织标准修订; 协作单位包括北京市疾病预防控制中心、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、北京市营养源研究所有限公司、赣南创新与转化医学研究院、大成万达(天津)有限公司共同完成本标准文本的起草工作。协助单位涉及到营养研究领域、实验动物应用或管理领域、饲料生产加工和检测领域, 满足至少一家具备实验动物饲料验证资质的要求。

另外, 内蒙古自治区疾病预防控制中心、杭州市疾病预防控制中心、辽宁省检验检测认证中心参与了方法验证。

(二) 国家标准编制原则、主要内容及其确定依据, 修订国家标准时, 还包括修订前后技术内容的对比; 主要工作过程、标准主要起草人及其所做的工作等;

1. 标准编制原则

1.1 以现有法律法规为依据

本方法的主要参数、公式、性能要求等主要依据 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则》和 GB/T 20001.4-2015《标准编写规则第 4 部分: 化学分析方法》的要求进行编写。并且按照 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范、食品理化检测》、GB/T 27417-2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》对方法学进行了考察。标准修订符合我国国情, 方满足实验动物配合饲料的检测需求。

1.2 弥补现有国标方法的不足

随着营养成分科学概念、强化技术、分析技术的提升, 有关饲料、食品维生素、矿物质的来源、定义、测定方法发生了改变, 特别是色谱技术的广泛应用使检测的方便快捷性、检测目标的精准性得到了很大提高; 原标准中部分引用方法已经更新或废止, 因

此需要对比相应国标、行标的发展进度提出必要的修订。

1.3 分类修订确保方法的适用性

为了提高适用性、准确性，认真梳理有关饲料营养成分测定方法发展现状，研究分析步骤的要点和细节，确保描述准确，尽大可能降低歧义。考虑到配料及用途的相似性，所遵循的《饲料原料目录》和《饲料添加剂品种目录》一致性，在本次标准修订过程中，工作组查阅了国内外有关文献资料，参考了各行业部门制定的相关标准检测方法，遵循“先进性、实用性、统一性、规范性”的原则，建立分类修订方法。

1.4 等同采用饲料相关标准基础上发展新技术

如果缺少饲料的相关标准，则综合对照现行标准的技术原理、适用性，提出可行的优化修改方案，并通过实验室对比确保标准方法可操作性及可比性。

2. 主要内容、确定依据及与原标准的对比

2.1 标准名称的确立

标准立项提出要将 GB/T 14924.11 和 GB/T 14924.12 合并，因此中文名称改为《实验动物 配合饲料 维生素和矿物质的测定》。根据《实验动物 术语》(GB/T 39759-2021)，实验动物的英文为 laboratory animal，配合饲料的英文为 formula feed，故英文名称改为《Laboratory animals—Formula feeds Determination of vitamins and minerals》。

2.2 适用范围的确立

2.2.1 实验动物配合饲料的范围

原标准配合《实验动物 配合饲料通用要求》(GB/T 14924.3-2001)，提出适用范围为“适用于实验动物小鼠、大鼠、兔、豚鼠、地鼠、犬和猴的配合饲料及其原料的测定”。随着实验动物种类的增加，2021 年后《实验动物 术语》(GB/T 39759-2021)等标准关于实验动物资源术语指出，实验动物包括小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠、兔、犬、鸡、鸭、猪、鱼、猴、猫、树鼩、雪貂、土拨鼠、牛、羊、羊驼等；而且随着医学的发展，转基因动物或者模式动物也会逐渐应用到动物实验中来。从实验动物配合饲料的定义来看，更新版《实验动物 配合饲料通用要求》(GB 14924.1-2010)以及《实验动物 术语》(GB/T 39759-2021)等标准均明确指出，实验动物配合饲料是根据实验动物营养需要，将多种饲料原料和饲料添加剂按饲料配方生产的均匀混合物。配合饲料主

要包括维持饲料、生长饲料、繁殖饲料；在一些特殊要求下，也会制定特殊配方或特殊工艺制作的饲料。由此可见，对实验动物配合饲料的检测应是对混合物的测定，而不必对原料进行测定。

2.2.2 维生素、矿物质测定目标的确立

根据《实验动物 配合饲料营养成分》（GB14924.3-2010）、《实验动物 配合饲料 养分与卫生要求》（DB11/T 1808-2020）等标准，不同实验动物、不同阶段的配合饲料应满足维生素（包括维生素A、维生素D、维生素E、维生素K、维生素B₁、维生素B₂、维生素B₆、烟酸、泛酸、叶酸、生物素、维生素B₁₂、胆碱、维生素C）和矿物质（包括镁、钾、钠、铁、锰、铜、锌、碘和硒）的含量要求。由于配合饲料中应用的饲料原料和添加剂应符合农业农村部制定的《饲料原料目录》和《饲料添加剂品种目录》，根据允许添加的维生素、矿物质组成，市场占有份额，以及与饲料添加剂质量要求有关的国标、行标，其中：

- 1) 维生素D的允许添加剂包括维生素D₂（麦角钙化醇）、维生素D₃（胆钙化醇）和25-羟基维生素D₃，由于最常用的维生素D₃市场占有额达到90%以上，且国标《饲料添加剂 维生素D微粒》（GB/T 9840-2006）和《饲料添加剂 第2部分：维生素及类维生素 维生素D₃油》（GB 7300.202-2019）均明确指出了与维生素D₃有关的技术要求；另外，维生素D₂和25-羟基维生素D₃也可作为饲料添加剂，但是维生素D₂生物活性仅为维生素D₃的1/10~1/20，25-羟基维生素D₃稳定性较低，因此应用范围较为局限，经过调研，确定检测目标为维生素D₃。
- 2) 维生素K的母核为甲萘醌，即维生素K₃，允许的添加剂包括人工合成的亚硫酸氢钠甲萘醌、亚硫酸氢烟酰胺甲萘醌、二甲基嘧啶醇亚硫酸甲萘醌，为了区别于天然来源的维生素K₁和K₂，检测目标定为维生素K₃。
- 3) 维生素B₆是一类具有吡哆醛生物活性的2-甲基-3-羟基-5-羟甲基吡啶衍生物总称，天然来源包括吡哆醇、吡哆醇和吡哆醛等，饲料强化剂主要为吡哆醇，故实验动物配合饲料维生素B₆可以吡哆醇计。
- 4) 烟酸是具有烟酸生物学活性的吡啶-3-羧酸及其衍生物的总称，包括烟酸和烟酰胺，也是饲料添加剂的主要品种，因此二者均作为烟酸的测定目标。
- 5) 维生素B₁₂是一类呈现氰钴胺素生物活性的类咕啉的总称，含有不同形式的钴

胺素，根据农业农村部制定的《饲料添加剂品种目录》、以及《饲料添加剂 第 2 部分：维生素及类维生素 氰钴胺(维生素 B₁₂)》(GB 7300.205)、《饲料添加剂 维生素 B₁₂ (氰钴胺) 粉剂》(GB/T 9841-2006) 等国标，明确饲料中维生素 B₁₂ 的来源仅为氰钴胺。

综上所述，本标准的适用范围修改为：“本文件规定了实验动物配合饲料中维生素和矿物质的测定方法。”“本文件适用于实验动物配合饲料中维生素 A、维生素 D₃、维生素 E、维生素 K₃、维生素 B₁、维生素 B₂、烟酸、烟酰胺、泛酸、维生素 B₆、生物素、叶酸、维生素 B₁₂、胆碱、总抗坏血酸、镁、钾、钠、铁、锰、铜、锌、碘和硒的测定。”

2.3 引用方法的修订

2.3.1 更新维生素 A 等 14 种成分的引用标准

梳理原标准(GB/T 14924.11-2001 和 GB/T 14924.12-2001)中各项维生素和矿物质测定的引用标准并对比制修订情况(表 1)，对比了方法原理和方法适用性。

原标准中维生素 A、维生素 E、维生素 D₃、维生素 B₁、维生素 B₂、抗坏血酸、铜、铁、镁、锰、钾、钠、锌和硒的检测方法中主要引用了食品和/或饲料中维生素的测定方法。目前有关饲料的引用标准已经更新，食品的引用标准均已废止，部分被食品安全国家标准 GB 5009 系列中对应成分的测定方法所替代。

考虑到更新后标准方法原理和技术手段的一致性、饲料基质相似性、方法通用成熟性，本研究分别经验证确立等同采用饲料相关标准(表 1)。另外 NY/T 3318 也是检测饲料中多种元素的标准方法，因此实验动物配合饲料中矿物质的测定可直接沿引这些标准。

表 1 更新实验动物配合饲料中维生素、矿物质测定引用标准的列表

检测目标	原引标准号	标准制修订情况	更新后引用标准
维生素 A	GB/T 12388-1990	废止，被 GB 5009.82 替代	GB/T 17817
	GB/T 17817-1999	2024 年更新	
维生素 E	GB/T 17812-199	2025 年更新	GB/T 17812
维生素 D ₃	GB/T 17818-1999	2025 年更新	GB/T 17818

检测目标	原引标准号	标准制修订情况	更新后引用标准
维生素 B ₁	GB/T 12390-1990	废止, 被 GB 5009.84 替代	GB/T 14700
	GB/T 14700-1993	2018 年更新	
维生素 B ₂	GB/T 12931-1990	废止	GB/T 14701
	GB/T 14701-1993	2019 年更新	
总抗坏血酸	GB/T 12392-1990	废止, 被 GB 5009.86 替代	GB/T 17816
	GB/T 17816-1999	于 2025 年更新	
铜、铁、镁、锰、 钾、钠和锌	GB/T 12396-1990	被 GB 5009.90、GB	
	GB/T 5009.13-1996	5009.241、GB 5009.242 替代	
	GB/T 5009.14-1996	或更新	GB/T 13885
	GB/T 12397-1990 GB/T 13885-1992	2017 年 11 月更新	
硒	GB/T 12399-1996	废止, 被 GB 5009.93 替代	GB/T 13883
	GB/T 13883-1992	于 2023 年更新	

2.3.2 引用维生素 K₃ 等 4 种成分标准方法

对于维生素 K₃、叶酸、胆碱、碘的测定, 原标准分别采用比色法、微生物法建立了方法; 随着检测技术的成熟, 国标委或农业部行标委相继出台了饲料中相应成分的测定方法。这些标准方法已成熟应用于饲料检测, 经过比较证实方法灵敏度可满足实验动物配合饲料的测定要求(表 2), 加上标准的可操作性更为简便, 重现性更强, 故直接引用相关标准。

1) 维生素 K₃: 维生素 K₃易溶于水或极性高的有机溶剂, 利用其还原性原标准采用了比色法, 标准曲线最低点含有 0.05 mg, 灵敏度较低。《饲料中维生素 K₃的测定 高效液相色谱法》(GB/T 18872-2017) 利用三氯甲烷和碳酸钠对维生素 K₃进行提取并分离出游离甲萘醌后采用 HPLC 法进行定量检测, 灵敏度达到微克级, 满足实验动物配合饲料的含量要求($\geq 0.1 \text{ mg/kg}$)。

2) 叶酸: 叶酸是一类具有蝶酰谷氨酸基本结构且生物活性相近的化合物, 天然来源叶酸包括蝶酰多谷氨酸、以及不同氧化、还原形式的蝶酰单谷氨酸, 其中 5-甲基四氢叶酸是动物体内的主要活性叶酸。实验动物配合饲料中添加的叶酸为结构单一的氧化型

蝶酰单谷氨酸，在液相、液质技术普及的时代，可以建立更快捷、有效的分析技术。2016年农业部颁发了行标《饲料中叶酸的测定 高效液相色谱法》（NY/T 2895），该法利用碳酸钠溶液提取饲料中叶酸，再经净化富集后进入HPLC测定，定量限为0.3 mg/kg，可以满足绝大多数动物维持饲料和生长繁殖饲料的检测要求（ $\geq 0.2\sim 6$ mg/kg），经方法实用性验证后决定引用该标准替代原方法。

3) 胆碱：氯化胆碱是饲料添加剂的主要形式，2009年农业部发布了行标《饲料中胆碱的测定 离子色谱法》（NY/T 1819），可以利用电导检测器予以测定，定量限（80 mg/kg）可以满足配合饲料的测定要求（ ≥ 1000 mg/kg），经方法实用性验证后决定引用该标准替代原方法。

4) 碘：原标准有关碘的测定主要采用了砷铈接触法，此法为碘测量的传统方法，操作时控要求较高，且试剂毒性大。2010年国家标委会颁布了《饲料中碘的测定》（GB/T 13882），并于2023年予以更新，该标准将电感耦合等离子体质谱法作为仲裁法，提供了检测灵敏度，定量限为0.10 mg/kg，可以满足配合饲料的测定要求（ ≥ 0.4 mg/kg）。

表2 引用标准与原标准满足检测需求的比较

检测目标	原方法		标准新方法		检测要求*
	原理	灵敏度	原理	灵敏度	
维生素K ₃	分光光度法	毫克级	HPLC-法	微克级	≥ 0.1 mg/kg
叶酸	微生物法	微克级	HPLC-法	定量限 0.3 mg/kg	0.2~6 mg/kg
胆碱	分光光度法	毫克级	离子色谱法	定量限 80 mg/kg	≥ 1000 mg/kg
碘	氧化还原法	毫克级	ICP-MS	定量限 0.10 mg/kg	≥ 0.4 mg/kg

*参照 GB/T14924.3-2010

2.3.3 引用标准适用性验证

为了验证引用标准在实验动物配合饲料中的应用，分别由中国医科院药物所实验动物中心、赣南创新与转化医学研究院收集大小鼠生长繁殖料、犬生长繁殖料、兔维持料、豚鼠维持料等，经粉碎、过筛、混匀、分装后，发送至协作单位按照引用标准进行维生素和矿物质的测定，结果见表3。经与GB/T 14924.3-2010比较，所有饲料各项指标达

到了营养成分含量要求。

表 3 引用标准在实验动物配合饲料的适用性分析

营养成分	饲料结果			
	大小鼠	豚鼠	兔	犬
维生素 A [*] , mg/kg	5.04	5.23	6.12	7.16
维生素 D ₃ [#] , μ g/kg	60.5	70.8	64.0	56.3
维生素 E ^{\$} , mg/kg	192	53.7	38.1	67.8
维生素 K ₃ , mg/kg	6.0	0.82	0.68	1.24
维生素 B ₁ , mg/kg	28.1	11.1	15.9	51.2
维生素 B ₂ , mg/kg	31.8	8.06	11.9	26.5
叶酸, mg/kg	7.20	1.69	8.42	1.25
胆碱, mg/kg	1528	1605	1486	2420
钠, g/kg	2.00	3.47	3.09	4.28
镁, g/kg	2.78	2.46	2.46	1.54
钾, g/kg	9.98	11.4	10.3	5.54
锰, mg/kg	121	73.0	80.4	52.0
铁, mg/kg	213	481	570	186
铜, mg/kg	14.3	17.6	16.8	11.9
锌, mg/kg	64.4	43.7	38.0	130.8
硒, mg/kg	0.235	0.187	0.207	0.283
碘, mg/kg	1.02	0.89	1.34	2.35

注: *维生素 A 国际单位 (IU) 和质量单位的换算关系为: 1 IU 活性维生素 A= 0.3 μ g;

[#]维生素 D 国际单位 (IU) 和质量单位的换算关系为: 1 IU=0.025 μ g

2.4 建立烟酸、烟酰胺、泛酸、维生素 B₆、生物素同时检测的液相色谱质谱法

原标准对于烟酸(含烟酰胺)、泛酸、维生素 B₆、生物素的测定均建立了微生物法, 由于操作复杂、用时长, 因此难以满足实验动物配合饲料时效性要求, 因此近年来的检测技术尝试探讨利用色谱技术加以完善, 特别是液相色谱-质谱法由于灵敏度高于 HPLC 法, 且可同时检测多种维生素及其异构体, 已经应用于食品中维生素 B₆、泛酸的测定, 并已纳入 GB 5009 系列标准。和天然食物相比, 实验动物配合饲料配方和添加的维生素剂型更为明确、无需区分复杂的异构体或衍生物结构, 维生素含量水平相对稳定, 因此可以考虑利用质谱系统进行选择性离子监测, 较大程度减少色谱共流出物的影响, 经过对试样最佳提取条件、色谱条件的筛选论证后, 建立了用于烟酸/烟酰胺、泛酸、维生素 B₆、生物素的液相色谱-质谱法。

2.4.1 标准溶液的配制与稳定性验证

按照表 4 信息准备水溶性维生素标准品及同位素内标标准品。精确称取相当于 10 mg 烟酸、烟酰胺、泛酸、吡哆醇、生物素的维生素标准品（精确到 0.01 mg），分别置于 10 mL 棕色容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，制成标准储备液。用水稀释配制成混合标准中间液（10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）后，再配制成浓度为 2、5、10、20、50、100、250、500、1 000、2 000 ng/mL 的混合标准系列工作溶液。另外，精确称取 1 mg（精确至 0.1 mg）稳定同位素标准品，同样配制成单标储备液以及内标混合液（10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）。向混合标准系列工作溶液中添加内标溶液，使内标溶液最终浓度为 20 ng/mL 。

表 4 水溶性维生素及内标标准品信息

化合物	英文名	分子式	CAS 号	纯度
烟酸	Nicotinic acid, NA	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$	59-67-6	$\geq 98\%$
烟酰胺	Nicotinamide, NAM	$\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$	98-92-0	$\geq 98\%$
D-泛酸钙	D-Calcium Pantothenate	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_{10}\text{N}_2\text{Ca}$	137-08-6	$\geq 98\%$
盐酸吡哆醇	Pyridoxine hydrochloride	$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_3 \cdot \text{HCl}$	58-56-0	$\geq 98\%$
D-生物素	D-Biotin	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$	58-85-5	$\geq 98\%$
烟酸内标	Nicotinic acid-D ₄ , NA-D ₄	$\text{C}_6\text{H}_4\text{D}_4\text{NO}_2$	66148-15-0	$\geq 98\%$
烟酰胺内标	Nicotinamide-D ₄ , NAM-D ₄	$\text{C}_6\text{H}_2\text{D}_4\text{N}_2\text{O}$	347841-88-7	$\geq 98\%$
泛酸内标	D-Pantothenic acid- ¹³ C ₃ ¹⁵ N, VB ₅ - ¹³ C ₃ ¹⁵ N	$\text{C}_6\text{C}_3\text{H}_{17}\text{NO}_5$	N/A	$\geq 98\%$
吡哆醇内标	Pyridoxine-D ₃ Hydrochloride, VB ₆ -D ₃	$\text{C}_8\text{H}_8\text{D}_3\text{NO}_3 \cdot \text{HCl}$	1189921-12-7	$\geq 98\%$
生物素内标	Biotin-D ₄ , VB ₇ -D ₄	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{D}_4\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$	1217850-77-5	$\geq 98\%$

为了验证维生素标准储备液的稳定时间，分别于配制当天、及 2 °C~8 °C 避光保存后第 1 个月、第 2 个月、第 3 个月、第 6 个月移取适量维生素标准储备溶液，用水稀释制成 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准混合中间液以及 100 ng/mL 的混合标准工作液，测定各维生素的峰面积的变化（见表 5），结果证明标准储备溶液在 2 °C~8 °C 之间避光储存，有效期可达 6 个月。

表 5 标准溶液稳定性试验结果

维生素	峰面积					P
	第 1 天	第 1 月	第 2 月	第 3 月	第 6 月	
烟酸	1.22×10^6	1.32×10^6	1.45×10^6	1.28×10^6	1.34×10^6	
烟酰胺	2.17×10^6	2.35×10^6	2.56×10^6	2.48×10^6	2.62×10^6	>0.05
泛酸	1.74×10^6	1.86×10^6	1.93×10^6	1.63×10^6	1.89×10^6	

VB ₆	4.70×10^7	4.52×10^7	4.62×10^7	4.18×10^7	4.23×10^7
生物素	6.47×10^6	7.01×10^6	6.93×10^6	6.85×10^6	7.35×10^6

2.4.2 样品前处理条件优化

实验动物配合饲料的样品前处理过程需要既能保证维生素的提取效率，又要达到去除杂质的目的。

1) 维生素稳定性的初步评估

由于不同维生素对光热、酸碱环境的稳定性不同，为探讨维生素对不同 pH 敏感程度，经过单因素分析探讨了从酸性条件 pH1.0 到 pH 2.5、4.5、6.8 和 8.5 的环境下烟酸、烟酰胺、泛酸、吡哆醇、生物素的稳定度。结果显示，烟酸在酸性条件下最为稳定，烟酰胺也显示了酸性条件下更稳定的趋势；而泛酸在酸性条件下如加热到 100°C 会降低稳定性，其他成分尽管有一定波动但相对平稳（图 1），说明采用酸溶液提取并控制好温度是必要的。

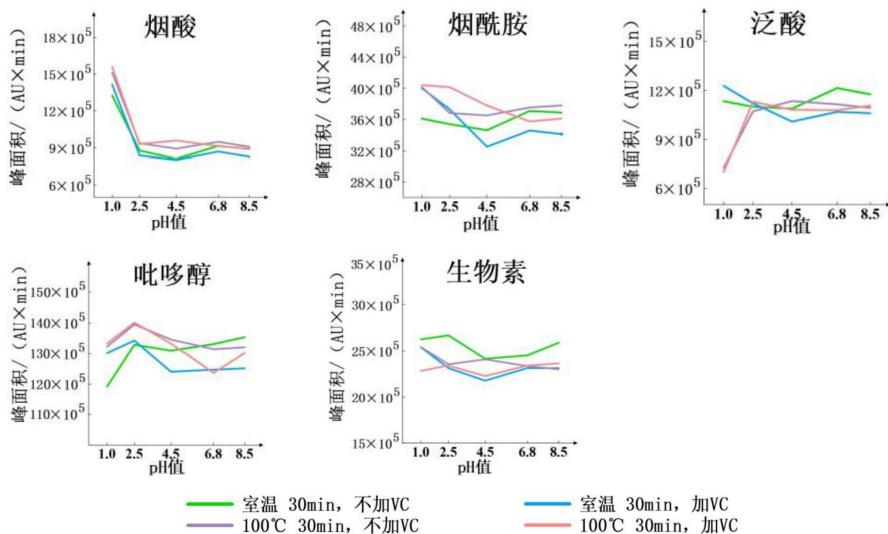


图 1 不同 pH 加热条件对维生素稳定性的影响

2) 最佳提取条件的确立

为确定最佳提取条件，采用单因素分析和交叉实验联合的方法，研究提取液、提取温度和提取时间对维生素提取效果和稳定性的影响。首先研究比较了不同提取液——1% 盐酸溶液 (1%HCl)、1% 乙酸溶液 (1%HAc)、1% 甲酸溶液 (1%FA) 的提取效果 (n=3)，结果发现 4 种提取剂均可溶出配合饲料中水溶性维生素，但方差分析结果表明，采用 1% HCl 提取获得烟酸的响应值更高 ($P<0.001$)，但对烟酰胺、泛酸、维

生素 B₆ (吡哆醇)、生物素不同提取液间没有明显差异,因此选择 1%HCl 作为提取剂。

进一步分析不同提取温度 (25°C、40°C、50°C、60°C、70°C、80°C、90°C 和 100°C) 和提取时间 (10 min、20 min、30 min、40 min、50 min、60 min 和 90 min) 对维生素检测值的影响。结果发现, 泛酸和吡哆醇在温度高于 60°C 时含量呈降低趋势, 其中泛酸在 100°C 的提取测定值为 60°C 时提取后 76%; 泛酸提取时间如果控制在 40 min 以内提取效果比较稳定, 烟酸和烟酰胺也有随时间延长测定值降低的趋势, 而生物素则需要较长的提取时间 (图 2)。综合分析, 确定以 1% HCl 为提取液, 60°C 水浴 40 min 为最佳提取条件, 这一结果与初步评估的结果基本一致。

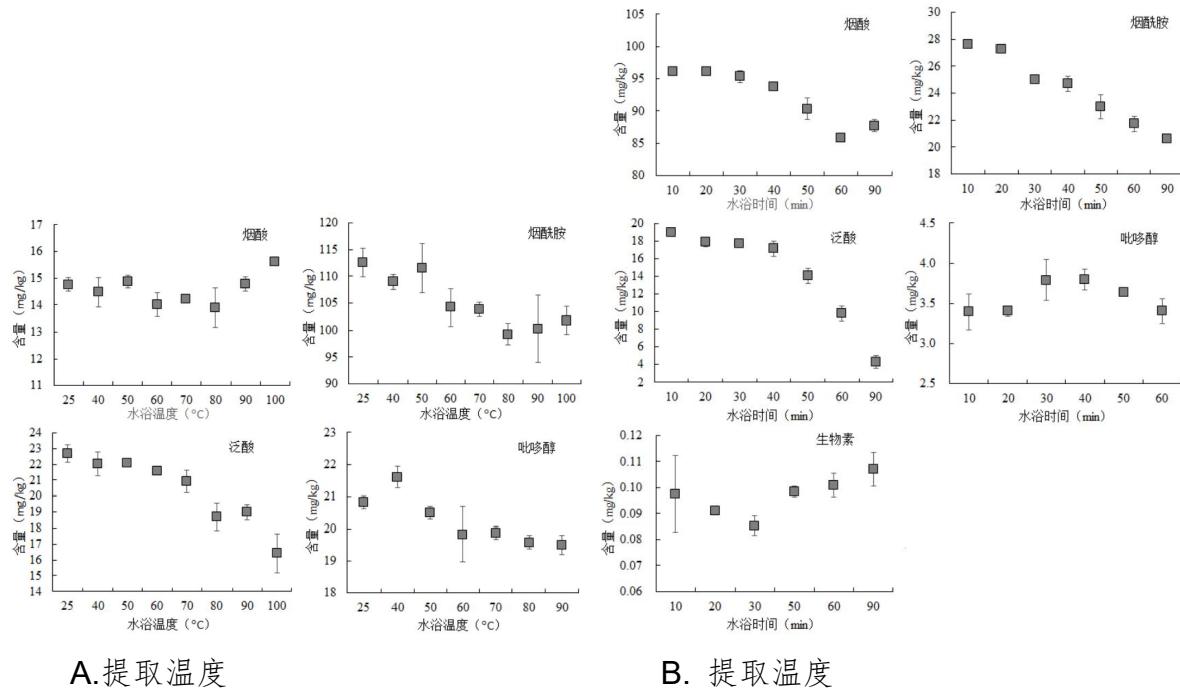


图 2 不同提取液和不同温度对提取维生素提取效果的影响

3) 样品纯化的最佳条件

在酸提取后, 需要用氨水溶液调节 pH 值使蛋白质等杂质有效沉淀, 以避免提取溶液出现浑浊、乳化等现象。由于 pH 过低或过高均不利于维生素稳定性, 因此在重复比较不同 pH 终点对检测的影响。结果发现 pH 在 4~7 范围内各维生素相对稳定, 且在此 pH 值范围内, 试样溶液沉淀速度快, 考虑到后续离子对检测的影响, 因此选择 pH 终点 6.0 为最佳条件。

2.4.3 检测方法的选择

水溶性维生素虽然大部分具有紫外吸收, 但由于配合饲料中含量低, 部分会低于检测器检出限, 且配合饲料基质干扰物质多, 因此难以准确定性, 故采用三重四极杆串联

质谱通过选择性离子监测模式是可采用的检测技术。

1) 质谱条件的优化

从分子结构式看(图3)，烟酸、烟酰胺、泛酸和VB₆均带有氨基，生物素既有氨基也有羧基，均可在正离子模式下结合H⁺产生[M+H]⁺母离子，可利用质谱进行检测。



图3 几种水溶性维生素的分子结构式

采用电喷雾离子源(ESI)在正离子模式对维生素进行全扫描，根据待测物质的相对分子质量理论值以及离子丰度响应水平确定母离子，再采用子离子扫描模式确定子离子，优化碰撞能量和去簇电压，确定质谱参数(表4)。

表6 B族维生素及其内标质谱参数

营养成分	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	碰撞能量/V	锥孔电压/V
烟酸	124.0	80.0 [*] /78.0	28.0/29.0	40
烟酰胺	123.0	80.0 [*] /78.0	28.0/29.0	40
D-泛酸	220.0	90.1 [*] /202.0	18.0/17.0	40
维生素B ₆ (吡哆醇)	170.0	152.1 [*] /134.2	19.0/30.0	40
D-生物素	245.0	227.0 [*] /167.2	23.4/17.3	60
烟酸-D ₄	128.2	84.0 [*] /54.1	28.6/26.2	40
烟酰胺-D ₄	127.0	84.0 [*] /56.0	41.0/41.0	40
泛酸- ¹³ C ₃ , ¹⁵ N	224.0	94.0 [*] /206.0	18.0/17.1	40
维生素B ₆ -D ₃	173.3	155.1 [*] /136.1	18.0/28.0	40
生物素-D ₄	249.2	231.0 [*] /171.0	13.4/19.0	60

注: *定量离子对

2) 色谱条件的确立

为确定最佳色谱条件，研究比较了不同色谱柱和不同流动相对色谱分离、待测物响应的影响。

A. 色谱柱的确立。研究比较各种维生素在AQ-C₁₈柱、Premier HSS T₃柱、HSS T₃柱上的色谱响应，结果发现Premier HSS T₃柱无法使生物素、烟酸、烟酰胺得到有效分离，AQ-C₁₈柱各营养成分的响应水平相对较低，对个别维生素有峰形拖尾现象，HSS T₃柱分离效果相对较佳(图4)，表7列出了不同色谱柱各维生素的响应峰面积。

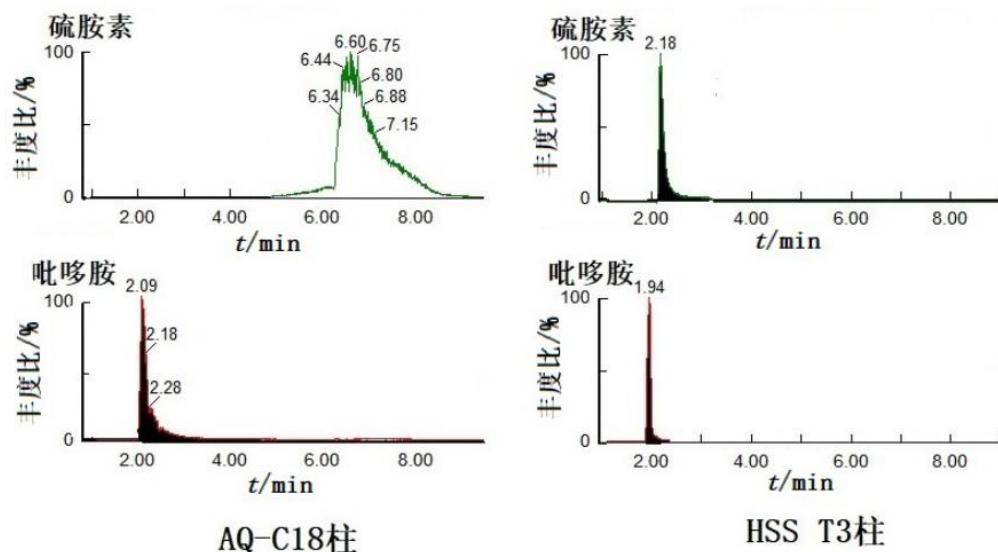


图 4 不同色谱柱对部分维生素峰形比较

表 7 浓度为 200 $\mu\text{g/L}$ 时不同色谱柱的维生素响应峰面积

维生素	峰面积/(AU*min)		
	HSS T ₃ 柱	AQ-C ₁₈ 柱	Premier HSS T ₃ 柱
烟酸	1.47×10^6	8.58×10^5	3.06×10^4
烟酰胺	8.97×10^6	5.25×10^6	1.08×10^6
泛酸	4.01×10^6	1.38×10^6	8.62×10^5
维生素 B ₆	5.02×10^7	2.93×10^7	4.35×10^7
生物素	7.87×10^6	4.22×10^6	1.51×10^6
P		<0.01	

另外研究探讨了可防止在水性流动相中烷基相发生“相破坏”的 ZORBAX SB-AQ C₁₈ 色谱柱对维生素分离效果的应用, 结果证明该色谱柱具有较大侧立基空间位阻及未封端特点可获得更优异的峰形, 尤其对分子小、极性大的烟酸和烟酰胺具有良好的保留, 保留时间分别为 3.24min 和 3.41min, 这是传统 C₁₈ 柱上不能实现的。

B. 流动相的确立: 通过对文献的综述确立流动相以水和乙腈为主要的洗脱体系, 适量加入甲酸可以起到增强响应强度, 改善峰形的效果, 因此确定流动相 A (0.1% 甲酸水溶液) 和流动相 B (0.1% 甲酸乙腈) 梯度洗脱情况下可以完成 B 族维生素及其同位素的有效保留和分离(图 5)。目标维生素及其内标化合物的出峰顺序分别是、烟酸 (RT 3.24min)、吡哆醇 (RT 3.24min)、烟酰胺 (RT 3.41min)、泛酸 (RT 4.96min)、和生物素 (RT 6.71min), 离子色谱图见图 5, 可以看出 10 min 内均得到有效保留和分离色谱峰间无干扰峰。如个别维生素存在拖尾现象, 水相中适量加入甲酸铵 (2

mmol/L) 可更有利于提高这些营养成分的响应强度。

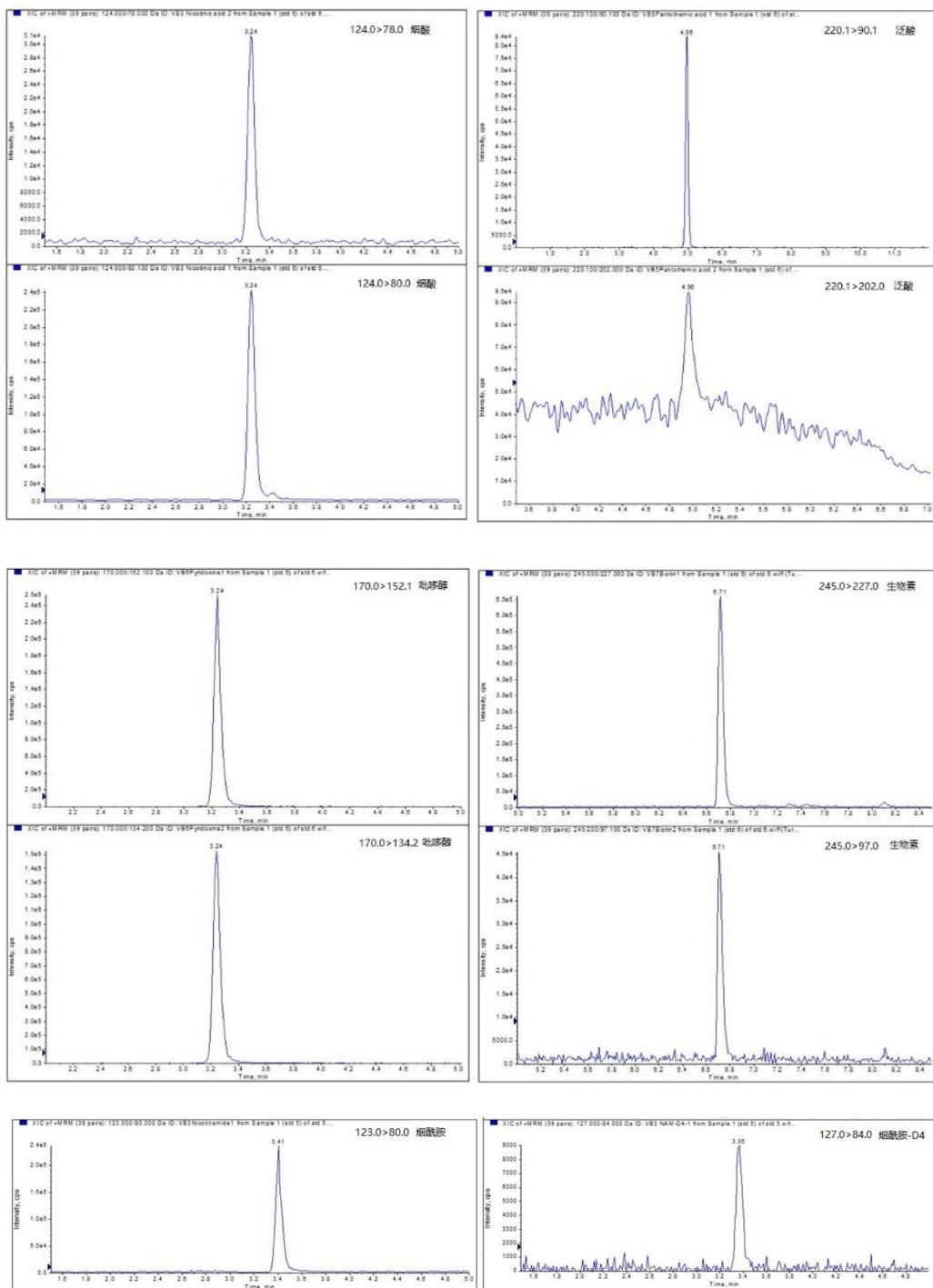


图 5 B 族维生素及其内标的色谱图

C. 定量方法的选择

高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)可用于多种有机化合物同时检测,但由于样品基质中内源性成分的影响,在质谱电离过程中会产生一定的基质效应,从而影响质谱检测的灵敏度和定量分析的准确性。同位素内标因与待测物的物理化学性

质相近，因此可以最大限度的抵消基质效应带来的影响，但是内标物价格较高，因此本研究探讨了内标法和外标法对几种水溶性维生素测量的差异性。以配合饲料为基质，按照 $10 \mu\text{g/g}$ 的添加水平 ($n=6$)，评价外标法和内标法的回收率，结果发现采用内标法烟酸、泛酸、吡哆醇和生物素的回收率分别为 98.5%、95.6%、98.4% 和 95.8%，内标法与外标法的差值在 15% 以内；烟酰胺的基质效应较大，外标法比内标法平均回收率低 20% 以上，证明了内标法可有效抑制基质效应。综合考虑内标法的有效性、价格成本和各种维生素内标法和外标法的差异是否在可控范围内（平均回收率均介于 80%-120% 之间），确立烟酰胺采用内标法定量；其他成分优先采用外标法定量，如可证明检测结果的稳定性，且基质效应不足以对检测结果产生影响可以采用外标法。

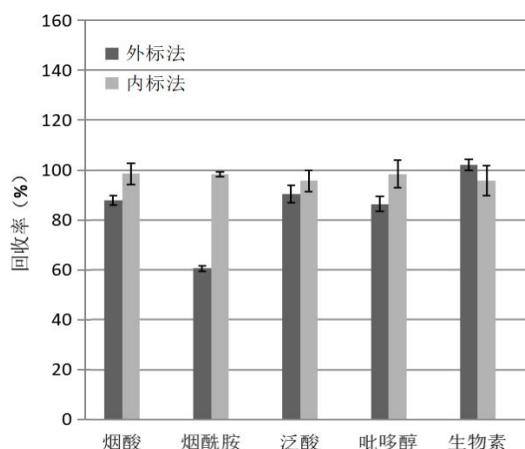


图 6 配合饲料外标法和内标法回收率的差异性比较

综合以上研究，确立采用液相色谱-质谱检测的测定技术，色谱柱可采用 ZORBAX SB-AQ C₁₈ 色谱柱或 HSS T₃ 色谱柱，流动相采用 0.1% 甲酸水溶液和 0.1% 甲酸乙腈的梯度洗脱。定量检测优先采用内标法，如可以证明检测稳定性，烟酸、泛酸、吡哆醇和生物素也可采用外标法。

2.4.4 方法线性范围和定量限

实验动物配合饲料中不同水溶性维生素的含量差异较大，生物素最低含量指标为 0.1 mg/kg，而烟酸则为 40 mg/kg，因此对仪器的检测灵敏度和线性范围要求较高。对不同浓度标准系列工作液进行测定，线性范围内相关系数 $R^2 > 0.99$ （见表 8），泛酸的线性范围甚至可低到 0.5 ng/mL。当标准曲线浓度为 2 ng/mL 时，各维生素的信噪比 (S/N) 均超过 18，考虑到实验动物配合饲料生物素的指标要求最低，因此按照已建立方法的最大称样量 (3 g) 及必要的样品提取与稀释，确定当 S/N 为 10 时对应样品中生物素含量为 0.03 mg/kg，证明各种维生素含量可以准确定量，并满足相应的营养指标要求。表

8列出了维生素的线性方程和定量限。

表8 几种维生素线性方程和定量限

营养成分	线性范围 (ng/mL)	线性方程	相关系数 (R^2)	定量限 (mg/kg)	指标要求 (mg/kg)
烟酸	2.0~2000	$y = 0.7650x + 0.8341$	0.9987	0.03	≥ 40
烟酰胺	2.0~2000	$y = 2.6018x + 2.0232$	0.9957	0.03	
泛酸	2.0~2000	$y = 1.5773x + 0.2026$	0.9991	0.03	≥ 9
吡哆醇	2.0~2000	$y = 6.7756x + 0.9932$	0.9952	0.03	≥ 5
生物素	2.0~2000	$y = 9.6560x + 2.3766$	0.9992	0.03	≥ 0.1

2.4.5 方法精确度和准确度评估

为了确立方法准确度和精密度，采用加标回收实验分析实验动物配合饲料，根据各维生素的含量水平，采用三水平加标，每个水平重复6次，试验结果见表9。结果显示配合饲料加标回收率为82.5%~108.7%，相对标准偏差为0.86%~8.35%，证明该方法准确、可靠。

表9 B族维生素加标回收实验和精密度实验结果 (n=6)

维生素	本底值 (mg/kg)	加标量 (mg/kg)	测定值 (mg/kg)	相对标准偏差	
				RSD (%)	回收率 (%)
烟酰胺	102	10	112±0.96	0.86	98.2±9.62
		20	122±1.85	1.52	101.6±9.26
		30	134±3.66	2.73	106.6±12.2
泛酸	20.7	10	29.7±1.06	3.56	90.3±10.6
		20	39.3±0.98	2.50	93.2±4.92
		30	48.7±1.42	2.91	93.3±4.72
VB ₆	15.5	10	24.3±0.73	2.99	88.8±7.28
		20	32.4±0.90	2.79	84.5±4.51
		30	40.2±2.01	5.00	82.5±6.69
生物素	2.38	2.5	4.93±0.11	2.19	102.0±4.32
		5.0	7.64±0.14	1.79	105.2±2.74
		7.5	10.5±0.26	2.50	108.7±3.51

2.4.6 实际样品测定

为了验证方法有效性，分别由中国医科院药物所实验动物中心、赣南创新与转化医学研究院收集大小鼠生长繁殖料、犬生长繁殖料、兔维持料、豚鼠维持料等，按已建立方法进行维生素检测（表10），为了确认检测结果的准确性，同时开展质控物检测，由于国内没有实验动物配合饲料标准参考物，因此采用美国国家标准与技术研究院

(National Institute of Standards and Technology, NIST)生成的标准参考样品 1869 作为质控物, 此质控物以奶粉为主要基质添加了营养添加剂。对照 GB14924.3 等标准判断测量值的合格性, 由于烟酸和烟酰胺均可作为添加剂, 因此检测结果转化为烟酸总量再进行判断, 结果显示所有成分均达到营养素含量要求。

表 10 不同实验动物配合饲料的维生素含量检测结果 (mg/kg)

类型	样品	维生素 B ₆	烟酸	烟酰胺	泛酸	生物素
配合饲料	大小鼠料	31.6	21.9	95.9	46.6	0.540
	豚鼠料	8.42	14.4	57.0	20.9	0.389
	兔料	9.24	13.7	56.7	25.0	0.429
	犬料	8.26	18.7	84.3	18.7	0.582
质控物	标示值	13.09 ± 0.32	/	98.4 ± 2.2	64.9 ± 6.6	1.89 ± 0.24
	测量值	13.2	/	99.4	65.0	1.94

2.5 修改维生素 B₁₂的检测方法

目前有关维生素 B₁₂的国标方法主要包括《添加剂预混合饲料中维生素 B₁₂的测定 高效液相色谱法 (GB/T 17819-2017)》、《食品安全国家标准 食品中维生素 B₁₂的测定》(GB 5009.285-2022) , 其中 GB/T 17819-2017 的定量限为 0.50 mg/kg, 不能满足实验动物饲料的检测要求 (≥ 0.020 mg/kg), 而 GB 5009.285-2022 中液相色谱法和液相色谱-质谱法的定量限分别为 5 μ g/kg 和 2 μ g/kg, 因此可以参考此方法修改采用相关的技术条件。

2.5.1 样品提取

天然来源的维生素 B₁₂包括氰钴胺素和其他形式的钴胺素, 因此在样品提取时需要氰化钾或氰化钠进行转化后再测定氰钴胺总量。对于实验动物配合饲料, 根据农业农村部制定的《饲料添加剂品种目录》、以及《饲料添加剂 第 2 部分: 维生素及类维生素 氰钴胺 (维生素 B₁₂)》(GB 7300.205)、《饲料添加剂 维生素 B₁₂ (氰钴胺) 粉剂》(GB/T 9841-2006) 等国标, 明确维生素 B₁₂的来源仅为氰钴胺, 因此可以免除有毒试剂 (氰化钾或氰化钠) 的使用, 直接通过酶解提取样品, 再经过净化去除干扰物或杂质。

2.5.2 检测技术的确定和样品测量

GB 5009.285-2022 的液相色谱法和液相色谱-质谱法可以适用于婴幼儿食品、乳及乳制品、肉及肉制品，两种方法均采用了相同的酶解处理和净化的前处理方法；由于实验动物配合饲料中的维生素 B₁₂同样主要源于动物性原料和添加剂，因此可以借鉴采用相应的技术条件。为了比较液相色谱分离后哪种检测条件更适合实验动物配合饲料中的维生素 B₁₂的测定，因此分别采用液相色谱法和液相色谱-质谱法实验动物饲料样品进行检验，可以证明两种方法色谱峰形和线性范围良好，其中液相色谱-质谱法的标准曲线在 2 ng/mL~150 ng/mL 的浓度范围内线性方程为 $y=0.01124x+0.00723$ ， R^2 为 0.99678，检出限低于液相色谱法。通过对样品的检测，证实液相色谱-质谱法同一实验室批内误差和多实验室见的检测误差均可控制在 10% 以内，符合 GB/T 14924.3-2010 规定的添加量（见表 11）。最终确定修改采用 GB 5009.285-2022 中液相色谱-质谱法的技术条件。维生素 B₁₂的定量色谱图见图 7。

表 11 实验动物配合饲料样品维生素 B₁₂的测量 (mg/kg)

方法	n	大小鼠料	豚鼠料	兔料	犬料
液相色谱法	批内(6)	0.0416±0.0041	0.0446±0.0043	0.0461±0.0014	0.0420±0.00318
	批内(6)	0.0374±0.0008	0.0269±0.0018	0.0363±0.0025	0.0352±0.0023
	实验室 (3)	0.0372±0.0013	0.0286±0.0025	0.0338±0.0036	0.0326±0.0036

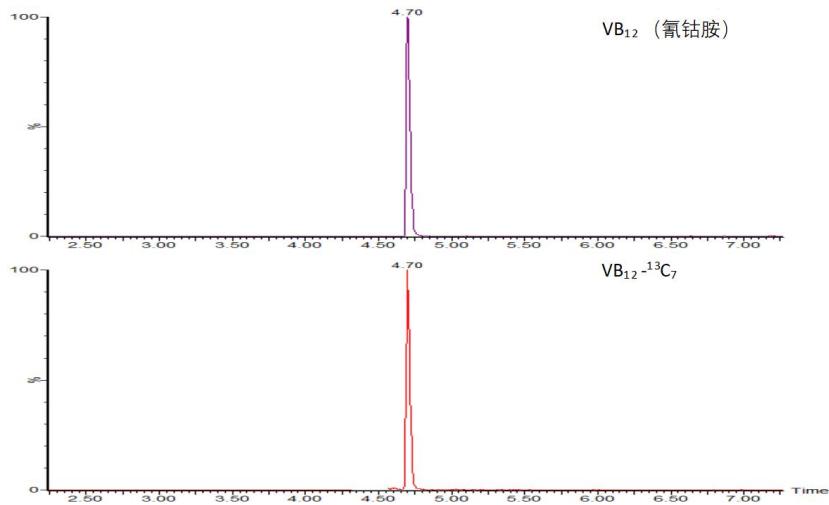


图 7. 维生素 B₁₂的定量色谱图

3. 主要工作过程

3.1 前期准备

2023年10月-2024年2月，中国疾病预防控制中心营养与健康所组织专家对《实验动物 配合饲料 维生素的测定》（GB/T 14924.11-2001）和《实验动物 配合饲料矿物质和微量元素的测定》（GB/T 14924.12-2001）两项标准的修订展开了前期调研。鉴于当前国内有关饲料和食品营养成分检测技术日趋成熟，标准的修订重点应放在适用性验证，因此将2项标准进行合并并更名为《实验动物 配合饲料 维生素和矿物质的测定》。

3.2 实验研究

2024年3-4月，中国疾病预防控制中心营养与健康所组织工作组，针对原标准的使用情况、与饲料和食品中维生素、矿物质测定的相关标准的进展情况进行了梳理和总结；工作组在北京召开了工作研讨会，听取了来自实验动物标准管理、实验动物配合饲料生产企业、检测机构等方面专家的意见反馈和建议。综合考虑实验动物配合饲料的营养要求、检测的精度要求，以及配制过程与饲料的相似性。

2024年5-12月，开展方法学研究，比较了各方法的原理、适用范围和技术参数，分析了现行标准在实施过程中面临的主要问题，提出相应解决办法，优化了样品前处理方法，并开展了方法学研究，形成《实验动物 配合饲料 维生素和矿物质的测定》的初级文本及编制说明。

3.3 延期申请

2024年12月，工作组向全国实验动物标委会做了工作进展汇报，再次听取来自科研、实验动物生产、饲料检测相关企业的专家意见，确立了尽可能与饲料标准一致的检测要求，及时调整工作路线。由于标准涉及的成分及测定方法较多，部分饲料相关标准也在修订后发布环节，因此于2025年1-2月，工作组向国家标准化管理委员会提交了延期申请并予许可。

3.4 方法验证及征求意见

2025年3-7月，工作组再次组织专家论证，广泛征求各方面意见，对样品前处理条件、仪器设备、检测条件进行优化和确认，并组织包括中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所在内的4家实验室对部分方法适用性进行确认，形成《实验动物 配合饲料 维生素和矿物质的测定》（征求意见稿）及编制说明。

2025年8月，工作组召开了征求意见会，形成意见汇总表。

3.5 标准预审

2025 年 8 月，将修改后标准文本和编制说明提交全国实验动物标委会，经审评反馈意见为：文本引用国标/行标过多，适当增加新的检测技术指标。

2025 年 9-11 月，工作组根据评委会意见再次组织标准方法进行验证，完成相关实验技术的确立和方法验证，以及文本（征求意见稿）及编制说明的完善。

4. 标准主要起草人及其所做的工作

标准编制小组成员及分工如下：1) 王竹、张雪松主要负责梳理 2001 年原标准发布以来应用情况的调研，实验动物配合饲料中与维生素、矿物质相关的检测技术的发展；2) 樊霞、田静，主要负责饲料相关方法的新技术研究；3) 赵榕、孙开齐、崔亚娟、单美娜主要负责方法技术指标的确认、比较与检验；4) 李红良、张鑫、胡曼丽、赵翠莉主要负责实验动物饲料的采样、收集，基础信息和数据核查以及方法实用性确认。

(三) 试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益；

标准征求意见稿的技术内容经过 3 家检测机构（包括饲料行业）的试验验证，确立了本标准引用标准恰当，所建立的关于烟酸、烟酰胺、泛酸、维生素 B₆、生物素的测定原理合理，检测方法的过程具有有效性，可操作性，能够快速、准确检测出实验动物配合饲料中相应维生素的含量。在 GB 5009.285-2022 的基础上修订建立的维生素 B₁₂（氰钴胺）适用性匹配，检测技术能够满足实验动物配合饲料的检验要求。

所建方法的标准曲线相关系数均可达 0.99 以上，方法检出限、定量限可达规定的水平，回收率、精密度符合 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范食品理化检测》和 GB/T 27417-2017《合格评定化学分析方法确认和验证指南》的要求。

该标准的修订符合当前实验动物配合饲料维生素和矿物质检测的发展前景，解决了多种水溶性 B 族维生素检测时效长、重现性差的短板问题，具有重要社会效益和经济效益。

(四) 与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况；

本标在制定过程中检索了国际标准，这些方法在我国饲料相关国标、行标制修定中

已经有所引用或参考，本标准直接引用国标 12 项，农业行业标准 4 项。所建立方法在技术内容方面参考了国内外相关研究的前沿进展，优化了技术条件并评估了适用性。到目前为止，国外尚未建立液相色谱-串联质谱法测量多种水溶性维生素的标准。

（五）以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并说明未采用国际标准的原因；

无。

（六）与有关法律、行政法规及相关标准的关系；

本标准的制定，综合考虑了与《饲料和饲料添加剂管理条例》、《饲料标签》（GB 10648-2013）、《饲料添加剂品种目录》和《饲料添加剂安全使用规范》（农业部公告第 2625 号）一致性，满足《实验动物配合饲料 营养成分》（GB/T 14924.3-2010）技术要求的充分性，确保了本标准内容与线性法规、标准和规范的协调性和相互可衔接性。

（七）重大分歧意见的处理经过和依据；

本次标准修订过程中通过会审及函审的方式向 20 多位专家征求了意见，涉及科研院所、检验机构、（实验动物配合）饲料生产和适用机构等，共收到 20 条意见，主要问题与文本格式、内容和编制说明文字规范性有关，并无重大分歧意见。目前已对反馈意见做出修改（见表 12）。

（八）涉及专利的有关说明；

无。

（九）实施国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议；

本标准涉及多种维生素和矿物质检测方法的更新，为了贯彻实施本标准，建议相关部门组织指导，并指定科研机构对相关的人员进行技术培训与标准宣贯。

（十）其他应当说明的事项。

无。

表 12 征求意见处理表

序号	标准章条编号	提出单位	姓名	职称	意见及建议	采纳与否及其理由
1.	1	中国疾病预防控制中心	卢选成	研究员	标准英文名称同实验动物术语一致	采纳，并修订。
2.	1	中国医学科学院医学实验动物研究所	孔琪	研究员	将“本文件描述……”改为“本文件规定……”	采纳，并修订。
3.	2	中国医学科学院医学实验动物研究所	孔琪	研究员	涉及具体内容引用标准条款时，增加标准年号	采纳，已补充。
4.	4	天津云力之星生物科技有限公司	雷晓青	高级畜牧师	涉及维生素的检测项目，样品制备后需避光保存，并尽快测定	采纳，并修订。
5.	4	上海质量监督检验技术研究院	郑国建	高级工程师	正文说明按照 GB/T 20195 相关样品制备的步骤	采纳，并修订。
6.	5	天津云力之星生物科技有限公司	雷晓青	高级畜牧师	删除标准后年号 2023	采纳，并修订。
7.	5	上海质量监督检验技术研究院	郑国建	高级工程师	修改 5.7.4.1 有关超声提取的表述；“加水定容至 50 mL”改为转移至容量瓶的描述，避免操作人员误读。	采纳，并修订。
8.	5	上海质量监督检验技术研究院	郑国建	高级工程师	5.7.4.2.2 确认雾化气、辅助气、气帘气、碰撞气是否都采用高纯氮气，因为雾化气、辅助气、气帘气可采用氮气发生器的气体，高纯氮气价格较高	采纳，并修订。
9.	5	上海质量监督检验技术研究院	郑国建	高级工程师	5.7.4.3.3 由于标准使用了内标法，所以超出线性范围不适合用水稀释	采纳，并修订。
10.	5	天津云力之星生物科技有限公司	雷晓青	高级畜牧师	下面两条内容编号错误，改为 5.10.1 和 5.10.2	采纳，并修订。
11.	5	上海质量监督检验技术研究院	郑国建	高级工程师	5.9.4.3.2 表 4 核实“去簇电压”的表述	采纳，并修订。
12.	附录 B	上海质量监督检验技术研究院	郑国建	高级工程师	补充色谱图	采纳，并修订。
13.	编制说明	中国医学科学院医学实验动物研究所	孔琪	研究员	在标准修订前，是否对标准应用情况进行调研，请补充说明。 和上一版本多引用食品标准不同，本次修订多引	采纳，并修订。

					用了饲料的标准, 请说明。	
14.	编制说明表 1	天津云力之星生物科技有限公司	雷晓青	高级畜牧师	编制说明文件中硒的测定缺少年号 2017	采纳, 并修订。
15.	编制说明表 1	天津云力之星生物科技有限公司	雷晓青	高级畜牧师	编制说明文件中 饲料中维生素 A 标准更新为 GB/T 17817-2024	采纳, 并修订。
16.	编制说明表 1	天津云力之星生物科技有限公司	雷晓青	高级畜牧师	编制说明文件中 饲料中维生素 D3 标准更新为 GB/T 17818-2025	采纳, 并修订。
17.	编制说明表 1	天津云力之星生物科技有限公司	雷晓青	高级畜牧师	编制说明文件中 饲料中维生素 E 标准更新为 GB/T 17812-2025	采纳, 并修订。
18.	编制说明(三)	中国医学科学院药物研究所动物实验中心	闫辰	副研究员	编制说明中更正验证样品的描述	采纳, 并修订。
19.	编制说明	中国疾病预防控制中心营养与健康所	孙丽翠	研究员	按照计量认证和实验室资质要求, 注意方法的可比性同时, 注意标准制定相关的资质要求。	采纳, 并补充说明。
20.	全文	中国疾病预防控制中心	李军延	研究员	注意排版格式	采纳, 并修订。

附表：

附表. 现行饲料和食品中维生素和矿物质测定标准一览表

名称	饲料测定标准	食品测定标准
维生素 A	GB/T 17817-2024	GB 5009.82-2016
维生素 D	GB/T 17818-2025 (维生素 D ₃)	GB 5009.296-2023
维生素 E	GB/T 17812-2025	GB 5009.82-2016
维生素 K	GB/T 18872-2017 (维生素 K ₃)	/
维生素 B ₁	GB/T 14700-2018	GB 5009.84-2016
维生素 B ₂	GB/T 14701-2019	GB 5009.85-2016
维生素 B ₆	GB/T 14702-2018 (预混合饲料)	GB 5009.154-2023
烟酸	NY/T 2130-2012 (烟酰胺)	GB 5009.89-2023 (烟酸和烟酰胺)
叶酸	NY/T 2895-2016	GB 5009.211-2022
泛酸	GB/T 18397-2014 (预混合饲料)	GB 5009.210-2023
生物素	GB/T 17778-2025 (预混合饲料)	GB 5009.259-2023
维生素 B ₁₂	GB/T 17819-2017 (预混合饲料)	GB 5009.285-2022
胆碱	NY/T 1819-2009	GB 5413.20-2022
维生素 C	GB/T 17816-2025	GB 5009.86-2016
镁	GB/T 13885-2017	GB 5009.241-2017
钾	GB/T 18633-2018 GB/T 13885-2017	GB 5009.91-2017
钠	GB/T 13885-2017	GB 5009.91-2017
铁	GB/T 13885-2017	GB 5009.90-2016

锰	GB/T 13885-2017	GB5009.242-2017
铜	GB/T 13885-2017	GB 5009.13-2017
锌	GB/T 13885-2017	GB 5009.14-2017
碘	GB/T 13882-2023	GB 5009.267-2020
硒	GB/T 13883-2023	GB 5009.93-2017
