

饲料添加剂 分析

美国全国饲料协会(NFIA)
分析方法概要

【美国】
NATIONAL
FEED INGREDIENTS
ASSOCIATION 主编
李伟格 李美同 苏晓鸥 等译审



中国农业科技出版社



饲 料 添 加 药 分 析

美国全国饲料协会（NFIA）分析方法概要

[美] National Feed Ingredients Association 主编
李伟格 李美同 苏晓鸥 等译审

中国农业科技出版社

(京) 新登字 061 号

图书在版编目 (CIP) 数据

饲料添加剂分析：美国全国饲料协会 (NFIA) 分析方法概要 / [美] National Feed
Ingredients Association 主编；李伟格等译审。—北京：中国农业科技出版社，1998.5
ISBN 7-80119-479-9

I. 饲… II. 李… III. 饲料添加剂-分析-方法 IV. S816.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (97) 第 22878 号

责任编辑	沈银书
出版发行	中国农业科技出版社 (北京海淀区白石桥路 30 号 邮编：100081)
经 销	新华书店北京发行所
印 刷	固安县印刷厂
开 本	787 × 1 092 1/16 印张：25.25
印 数	1 ~ 4 000 册 字数：600 千字
版 次	1998 年 5 月第 1 版 1998 年 5 月第 1 次印刷
定 价	45.00 元

《饲料添加剂分析：美国全国饲料协会（NFIA） 分析方法概要》译审委员会

主译审 李伟格

副主译审 李美同 苏晓鸥

译审委员 (按姓氏笔画为序)

冯忠武 冯静兰 白韵如 李伟格 李美同
苏晓鸥 张瑜 季之华 杨庭楷 杨振海
郭庭双

参译人员 (按姓氏笔画为序)

于文军 仲峰 朱力军 李金祥 李美同
苏长胜 苏晓鸥 陈光华 张瑜 杨振海
高光 徐士新 郭文林 郭庭双 梁冬生
韩华琼

审 校 李伟格 李美同

编译说明

《饲料添加剂分析：美国全国饲料协会（NFIA）分析方法概要》一书原文是美国全国饲料协会主编的《NFIA Laboratory Methods Compendium》，并经美国饲料工业协会（AFIA）书面授权翻译。

本书收录了美国知名生产厂家对饲料和饲料添加剂进行检测的176项方法，其中包括氨基酸、维生素、矿物质、酶、有益活菌、抑菌促生长剂和饲料中允许使用的抗球虫药等约70种有效成分，在配合饲料、浓缩料、预混料或制剂中分离提取和含量分析测定的方法，以及饲料产品中霉菌毒素的监测方法。所用方法涉及微生物学、光度学、化学滴定、气相色谱和高效液相色谱等，内容丰富，在美国饲料界具有一定的权威性，对我国饲料界也具有普遍的实用和参考价值。

本书原文分三册出版，第一册为矿物质与维生素的测定，第二册为药物性饲料添加剂与发酵产品的测定，第三册为氨基酸及其它产品的测定。译文保留了原书章节编排顺序，合并为一册出版。

为避免出现差错，译文在多数情况下保留了原文的计量单位。译文删除了个别不影响技术完整性的内容。翻译过程中发现原文确有错误处，译文做了改正。

本书可供饲料、饲料添加剂和兽药的质量监测人员、产品生产和开发的技术人员，在动物营养、畜牧、兽医领域从事科研、教学和管理的人员，以及大、中专院校相关专业的师生参考。

仅向协助联系授权的均荣国际顾问供销（香港）有限公司戴锦华、授权翻译本书的美国饲料工业协会以及支持本书出版的农业部畜牧兽医司和全国饲料工业办公室表示感谢。

《饲料添加剂分析：美国全国饲料协会（NFIA）分析方法概要》译审委员会

前　　言

首版美国全国饲料协会（NFIA）实验方法概要给饲料产品供应者和使用者提供了通用的分析方法。饲料产品供应者可用这些方法准确地测定饲料的成分。本书中的一些方法是官方认可的方法，而另一些方法则被应用过的公司内部研究证实是有效的。本书收载的方法都是由那些日常使用它们的公司提供的。

本书供有经验的实验室技术人员使用。对实验室测试技术和化学试剂不熟悉者请勿单独使用。

每介绍一种方法时，我们都尽可能列出一位能够解答有关该方法的专门联系人，并且还列出了提供分析方法的公司名称。NFIA 感谢所有为该书做出贡献的个人和公司。

保证和注意事项

NFIA 不担保或试图担保书中所列的方法，也不对这些方法承担任何形式的义务。它们只是作为常规饲料或原料的可行的或可使用的方法进行介绍。

NFIA 既不明确也不含蓄地保证这本概要中所介绍的信息或方法的应用的准确和完整。对于使用书中所介绍的任一方法可能造成的任何伤害和损失，无论是直接的还是间接的，本协会不承担责任。然而，NFIA 致力于收集和传递每个提供者所介绍的有关每种饲料组分的资料。NFIA 不以任何方法或任何形式广泛地或通过特定或分管的机构制订产品标准，也不会正式或非正式地、直接或间接地推荐任何公司的任何产品。

NFIA 不制订产品标准或产品指南，也不允许未经许可而盗用 NFIA 的名义扶持任何产品。

警告：如果分析人员不熟悉方法中所用的化学药品和试剂，则在操作之前必须首先学习试剂安全手册（MSDS）或其他有关每种试剂安全使用的介绍。

目 录

第一部分 矿物质与维生素的测定

饲料用磷酸盐中总钙的分析——EGTA 反滴定法	(3)
钙的分析	(5)
铜的分析	(7)
碘化物法测铜	(8)
碘的测定——硫代硫酸钠法	(10)
总铁的测定——重铬酸钾法	(13)
还原矿中铁的分析	(14)
石灰石溶解度测定 (pH 值变化法)	(15)
镁的测定	(17)
氧化镁中镁的分析——发射光谱法	(19)
镁的测定——EDTA 滴定法	(20)
钙、镁测定——EDTA 滴定法	(22)
氧化锰和二氧化锰中锰的测定	(24)
锰的测定——Lingane 电位滴定法	(26)
氧化锰中有效氧的测定——用 MnO_2 的百分数表示	(27)
磷的分析——Quimociac 方法	(28)
饲料和饲料添加剂中总磷的测定	(30)
无机物和饲用磷酸盐中总磷的分析	(32)
高效液相色谱法 (HPLC) 测定饲料中 α -生育酚醋酸酯的含量	(34)
全价饲料、预混料和维生素浓缩料中抗坏血酸的测定	(36)
HPLC 法测定液体和固体多种维生素添加剂中抗坏血酸、烟酸、烟酰胺、泛酸钙和泛醇的含量	(37)
微生物法测定全价饲料和预混料中生物素的含量	(40)
微生物法测定全价饲料和预混料中 D-泛酸钙的含量	(45)
酶法测定胆碱含量	(47)
微生物法测定全价饲料和预混料中叶酸的含量	(51)
用改进的2,4-二硝基苯肼法测定结合态甲萘醌的含量	(53)
氯基乙酸乙酯法测定水溶性甲萘醌衍生物的含量	(55)
氧化-还原法测定甲萘醌的含量	(57)

饲料级烟酸的分析	(58)
纯烟酰胺的测定	(59)
配合饲料中添加的烟酰胺含量的分析	(60)
HPLC 法定量测定烟酰胺和烟酸	(61)
全价配合饲料和预混料中烟酸的测定	(63)
HPLC 法测定液体和固体复合维生素中烟酸、烟酰胺、吡哆醇、叶酸、核黄素(核黄素磷酸盐)与硫胺素的含量	(66)
核黄素的测定	(69)
HPLC 法测定全价饲料、预混料及维生素浓缩料中维生素 A 的含量	(70)
固体饲料中维生素 A 的测定	(73)
饲料中维生素 A 的测定	(76)
HPLC 法测定饲料中维生素 A 的含量	(78)
饲料、预混料和浓缩料中维生素 A 的测定	(80)
HPLC 法测定预混料中维生素 A 的含量	(83)
预混料和维生素矿物质复合剂中维生素 A 的定量测定	(85)
微囊维生素 A 和 A + D ₃ 中维生素 A 的测定	(87)
全价饲料中维生素 B ₁ 的测定	(88)
全价饲料、预混料、浓缩料、液态补充料和液态浓缩料中添加维生素 A 的测定	(91)
HPLC 测定全价饲料和预混料中的维生素 B ₂	(95)
HPLC 法测定浓缩料和预混料中的盐酸吡哆醇	(97)
微生物法测定全价饲料和预混料中的维生素 B ₆	(99)
维生素 B ₁₂ 的测定	(101)
微生物法测定全价饲料和预混料中的维生素 B ₁₂	(103)
维生素 D ₃ 的测定	(106)
HPLC 法测定全价饲料和预混料中的维生素 D ₃	(108)
HPLC 法测定固体制剂和液体分散剂中的维生素 D	(110)
HPLC 法测定浓缩料中的维生素 D ₃	(112)
HPLC 法测定饲料中的微量维生素 D ₃	(113)
饲料和预混料中维生素 D ₃ 的测定	(116)
HPLC 法测定树脂中的维生素 D ₃	(119)
维生素 D ₃ 和维生素 E 的测定	(123)
维生素 E(包膜)的测定	(126)
HPLC 法测定饲料中的维生素 E	(127)
HPLC 法测定饲料和动物组织中的维生素 E	(130)
HPLC 法测定预混料中的维生素 E	(132)
HPLC 法测定全价饲料、预混料和维生素浓缩制剂中的维生素 K ₃	(134)
HPLC 法测定饲料和维生素预混料中的维生素 K ₃	(136)
亚硫酸氢钠甲萘醌(维生素 K)的测定	(137)
附录：用六点(三剂量)和四点(二剂量)法的有效性计算	(139)

第二部分 药物性饲料添加剂与发酵产品的测定

琼脂扩散微生物学法测定饲料中的阿布拉霉素	(145)
改良的 Grynnes 微生物学法测定成品饲料中的杆菌肽	(149)
正相高效液相色谱法测定饲料中的拉沙洛西钠	(157)
正相高效液相色谱法测定全价饲料中的拉沙洛西钠	(159)
正相高效液相色谱法测定全价饲料和预混剂中的拉沙洛西钠	(160)
反相高效液相色谱法测定全价饲料和预混剂中的拉沙洛西钠	(162)
莫能菌素微生物学测定法（禽用）	(164)
莫能菌素微生物学测定法（牛用）	(167)
HPLC 法测定磺胺二甲噁啶	(170)
微生物法测定猪和鸡饲料中的泰乐菌素（金黄色葡萄球菌浊度法）	(171)
自动比浊仪Ⅰ系统操作方法	(175)
自动比浊仪Ⅱ系统操作方法	(177)
微生物法测定牛饲料（含有尿素）中的泰乐菌素（金黄色葡萄球菌浊度法）	(180)
细菌发酵最终产品中酸与醇的测定	(185)
焦糖比色测定氨态氮	(186)
酸活化淀粉酶活性的测定	(187)
α -淀粉酶活性的测定	(189)
α -淀粉酶活性的测定	(192)
细菌性 α -淀粉酶活性的测定	(193)
脱羧用细菌性 α -淀粉酶	(194)
细菌性 α -淀粉酶的测定	(197)
谷类 α -淀粉酶的 Ceralpha 分析方法	(200)
淀粉分解活性的定性分析：淀粉水解步骤	(203)
芽孢杆菌的计数	(204)
芽孢杆菌营养细胞菌落形成单位（CFU）及孢子计数测定的分析方法	(205)
过氧化氢酶	(207)
纤维素酶活性测定	(209)
纤维素酶的分析	(212)
滤纸纤维素酶活性的分析	(213)
酶制剂的淀粉糖化力	(215)
酶活性的光度学分析法	(220)
测定预混料和饲料中酶活性的预处理方法	(221)
大肠杆菌分析	(222)
β -半乳糖苷酶（乳糖酶）活性测定	(226)

β-葡聚糖酶活性	(228)
β-葡聚糖酶活性的测定	(230)
DNS 法测定 β-葡聚糖酶活性	(232)
偶氮-大麦葡聚糖法测定麦芽 β-D-葡聚糖酶	(235)
葡萄糖淀粉酶（黑曲霉）活性	(236)
葡萄糖淀粉酶活性的测定	(239)
葡萄糖氧化酶	(241)
半纤维素酶活性	(242)
乳酸菌的计数	(244)
质量保证：乳酸杆菌平皿培养方法	(245)
乳酸杆菌属细菌粪链球菌的计数	(246)
Medipharm 公司的胚芽乳杆菌、酸乳足球菌和粪链球菌计数	(249)
Medipharm 公司的胚芽乳杆菌、酸乳足球菌和粪链球菌计数	(250)
脂酶活性的测定	(252)
·脂解酶活性的定量方法	(254)
李斯特杆菌检定	(255)
胃蛋白酶活性	(261)
质量保证全平皿计数法：微生物糊剂	(262)
质量保证全平皿计数法：干燥益生菌制品	(264)
标准平皿培养法	(265)
倾注平皿稀释法	(267)
胃前酯酶的分析和特性鉴定	(270)
蛋白酶活性分析	(271)
真菌（米曲霉菌）产生的碱性蛋白酶的 EEC ₂₄ 测定法	(272)
细菌蛋白酶活性测定	(273)
中性蛋白酶分析：改进福林氏法	(275)
蛋白水解活性的分析	(277)
木瓜蛋白酶的蛋白水解活性	(279)
蛋白水解活性的定性检验	(281)
蛋白酶活性 (pH 7.5) 的检验方法	(281)
胰蛋白酶制剂的蛋白水解活性	(283)
还原糖测定 (Schoorl 法)	(286)
凝乳酶活性	(288)
用 DNA 杂交试验检测沙门氏菌	(290)
青贮接种产品的计数方法	(294)
青贮饲料细菌接种物中微生物的计数方法	(296)
青贮饲料和其它非液体材料的 pH 测定	(299)
金黄色葡萄球菌 9144 的冷冻培养物	(299)
粪链球菌 8043 的冷冻培养物	(301)

Medipharm 公司粪链球菌 M-74 的计数	(303)
Medipharm 公司粪链球菌 M-74 的计数	(305)
木聚糖酶活性的测定	(306)
DNS 法测定木聚糖酶活性	(307)
活酵母平皿计数法	(310)
内部实验室活酵母菌平皿计数法	(312)
酵母计数法	(314)
饲料中的酵母菌计数法	(315)
YEA-SACC 中的酵母菌计数法	(317)

第三部分 氨基酸及其它产品的测定

家禽饲料中 Alimet 和 MHA 的测定	(321)
Alimet、MHA 和 DL-蛋氨酸的测定	(323)
氨基酸分析简介	(324)
维生素 C 的测定	(327)
HPLC 法测定在鱼饲料和预混料中添加的稳化虾青素的含量	(329)
硅胶开口柱色谱测定鱼饲料中的稳化虾青素的含量	(332)
HPLC 法测定全价饲料和预混料中添加的稳化角黄素的含量	(334)
手工法测定全价饲料和预混料中添加的角黄素含量	(336)
氧化铝开口柱色谱测定全价饲料和各种类胡萝卜素混合物中添加的 apo-类胡萝卜素 酯及 β-胡萝卜素	(339)
分光光度法测定预混料中添加的稳化 β-胡萝卜素的含量	(342)
过氯酸滴定法测定胆碱	(344)
HPLC 法测定全价饲料和预混产中添加的稳化 apo-类胡萝卜素酯的含量	(345)
氧化铝开口柱色谱测定全价饲料和原料中天然胡萝卜素	(347)
用 Reineckate 方法分析胆碱	(349)
抗氧化剂乙氧喹的测定	(350)
总脂肪的测定	(353)
添加氨基酸（蛋氨酸和赖氨酸）的测定	(355)
添加的蛋氨酸羟基类似物的测定	(356)
水分测定	(358)
防腐剂的腐蚀率	(358)
饲料中霉菌计数	(359)
二氧化碳顶空分析法测定微生物稳定性	(362)
防腐剂功效	(367)
谷物和全价饲料的霉菌繁殖计数法	(369)

霉菌和霉菌毒素的样品采集	(371)
全价饲料和各种叶黄素混合物中的辣椒色素的测定	(373)
饲料中丙酸	(376)
防霉剂中游离和总的丙酸	(377)
蛋白质溶解度的测定	(379)
碱水解及 HPLC 法测定色氨酸	(380)
用氢氧化钠烘箱水解和荧光检测法（反相高效液相色谱，RP-HPLC）测定 色氨酸的标准方案	(382)
手动法测定全价饲料和各种叶黄素混合物中总的黄色素、叶黄素和玉米黄质含量	(384)
HPLC 法测定全价饲料和黄色素混合物中总的黄色素、叶黄素和玉米 黄质含量	(387)

第一部分

矿物质与维生素的测定

饲料用磷酸盐中总钙的分析

——EGTA 反滴定法

测定参数 总钙

原 理 EGTA 反滴定法

适用产品 饲料用无机磷酸盐和矿物质混合物

注 意 该方法使用氯化物，测定前请阅读后面的注意事项（1）。需要准确估计氯化物用量。

检测限量 20 mg/kg

测定范围 5% ~ 40%

变异系数 2%

方法来源 Pitman-Moore/RAM-0179.

实验室联系人

姓名：Dr. Dave Whittington

公司：Pitman-Moore, Inc.

试剂（及适用来源）

(1) 0.025 mol/L EGTA：9.55 g EGTA [亚乙基双(氧亚乙基次氨基)四乙酸] 溶于约 500 ml 去离子水中，用 NaOH 调 pH 至 7.0，再稀释至 1 000 ml。

(2) 钙标准液：商品号为 NIST-SRM3109，钙浓度为 10.0 mg/ml。

工作标准：钙浓度为 1.0 mg/ml，可从商品号 MBS-SRM 3109 制得此贮备液。

(3) 钙试剂（茜素蓝黑）指示剂溶液：0.5% 乙醇溶液。

(4) 20% NaOH 溶液：200 g NaOH 配成 1 000 ml。

(5) 1:4 三乙醇胺 (TEA)：100 ml TEA + 400 ml 去离子水。

(6) 10% 酒石酸钾钠溶液：50 g KOOC(CHOH)₂COONa·4H₂O 配成 500 ml 水溶液。

(7) 抗坏血酸：L-抗坏血酸 (ACS 级)。

(8) 镁溶液：42 g MgCl₂·6H₂O 配成 500 ml 水溶液，镁浓度为 100 mg/ml。

(9) 5% 氯化钾 (KCN) 溶液（见注意事项（1））：50 g KCN + 5 ml 20% NaOH 加水稀释至 1 000 ml。

仪器设备（及适用来源）

(1) 自动滴定仪。

(2) 分光光度计。

(3) 记录纸。

(4) 连续流动泵。

(5) 磁力搅拌器。

操作步骤

由于颜色由蓝色变为紫色再变为红色是逐渐变化的，所以通过目测，难以确定终点。因此，用分光光度计测定终点更为准确。

(1) 钙校正标准

建议用商品 NIST-SKM 120C (Phosphate Rock 公司) 作为对照校正标准。

(2) EGTA 的标定

按下面钙的滴定法进行。其中第①步加 25 ml 浓度为 1.000 mg/ml 的钙标准工作液，第⑥步加入 30 ml EGTA 液。

滴定度：

$$T(\text{mg/ml}) = \frac{25 + V_{\text{Ca}}}{30}$$

式中，25 为钙标准液的添加量 (ml)；

V_{Ca} 为钙标准液的滴定量 (ml)；

30 为 EDTA 液的添加量 (ml)。

(3) 样品的制备

从制备好的待测磷酸盐试样溶液中移取 25 ml 置于 400 ml 烧杯中 (见注意事项 (3))。

(4) 钙的滴定

① 在待测等分样液中加入约 0.5 g 抗坏血酸。

② 加镁溶液 (100 mg/ml)，使镁的毫克数不小于待测等分样液中所预估的钙的毫克数。

③ 加 5 ml 酒石酸溶液 (见注意事项 (2))，混匀后再加 5 ml 1:4 TEA 溶液。

④ 用 20% NaOH 调 pH 至 12.9 ~ 13.1 (用 pH 计测定)。

⑤ 加 5 ml 5% KCN 溶液并混匀 (见注意事项 (1))。

⑥ 加入与待测等分样液中 Ca 的毫克数相等量的 EGTA 溶液，然后再额外加入 5 ml EGTA (见注意事项 (3))。

⑦ 加入钙试剂指示剂 0.5 ml 或至所要求颜色。用浓度为 1.000 mg/ml 钙的标准液回滴过量的 EGTA：颜色变化为蓝 → 紫 → 红 (见注意事项 (4))。

不同产品的特殊情况

(1) 为精确起见，样品量或待测等分样液应当调节到使 EGTA 剩余量和钙标准液的滴定量超过 5 ml。

(2) 对于全价饲料 (Ca < 5%)，使用 AOAC 方法 (见该书 1990 年 15 版 968.08 节)。

注意事项

如果分析人员不熟悉本方法中所用的试剂，则在测定前应仔细阅读有关试剂的试剂安全手册 (MSDS)，并注意以下事项。

(1) 使用氰化物 (剧毒品) 应特别谨慎！

氰化物应密封并避光保存——氰化物在空气中逐渐分解生成 HCN 气，空气中 HCN 气浓度达 150×10^{-6} 时，接触 0.5 ~ 1 小时将危及生命； 300×10^{-6} 时，接触几分钟将导致死亡。绝不允许让氰化物溶液与酸接触！如果感到头痛、眩晕或作呕，应立即离开现场和寻求解救办法。长期接触会导致疲劳和衰弱。平均致命剂量是 50 ~ 60 mg。溶液里的氰化物可以通过皮肤进入人体。

勿将未经处理过的氰化物废液倒入下水道。

溶液应倒入洗酸瓶里，如不是碱性，用 NaOH 液碱化。加入过量的硫酸亚铁并混合，反应 1 小时后才可以用水冲入下水道。

此处理的目的是将 CN^- (有害) 转化成 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ 。

(2) 加入酒石酸是使 Mg 络合，防止生成 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ 沉淀。对于含 Mg 高的样品，在本法特定条件下仍会生成沉淀，遇此情况，可减少等分样液的量，也可加大酒石酸溶液的量。

(3) 等分样液中 Ca 含量 (mg):

$$\text{等分样液中 Ca 含量(mg)} = \frac{\text{样品中 Ca 百分含量估计值} \times \text{样品量(g)} \times 1000(\text{mg/g}) \times \text{等分样液量(ml)}}{\text{样液总体积(ml)} \times 100\%}$$

(4) 用自动滴定仪以恒定速度加入钙标准液来进行滴定。样液和指示剂是用泵导入分光光度计，波长设在 685 nm，并与记录仪相连。记录结果是吸光度 (y-轴) 对应时间 (x-轴) 的图形。因两者均为恒定速度，故时间与导入的毫升数成正比。此曲线应是 S 形的。

吸光度值有下列三种情况：①当过量 EGTA 存在时，吸光度值最高，且指示剂呈蓝色——未络合形；②吸光度下降接近等当点；③当指示剂变成红色——络合形，过量钙加入时吸光度仍很低；④ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 沉淀开始生成，混浊使吸光度增加。此 S 形滴定曲线的拐点可按如下方法确定：①线性范围的中点；②循环法；③一阶或二阶导数。

计算

由记录图形的拐点确定返滴定所用的钙标准液的毫升数 (注意事项 (4))

$$\text{样品中 Ca 含量(%)} = \frac{[\text{EGTA 液添加量(ml)} \times T(\text{mg/ml}) - 1.000(\text{mg/ml}) \times \text{钙标准液回滴量(ml)}] \times \text{样液总体积(ml)}}{\text{样品重(g)} \times 1000(\text{mg/g}) \times \text{等分样液量(ml)}} \times 100$$

钙 的 分 析

测定参数 钙

原 理 滴定法

适用产品 石灰石

检测限量 $\geq 2.0\%$

测定范围 2.0% 以上

变异系数 0.63%

方法来源 AOAC, 2.101, 1984, 14th ed.

实验室联系人

姓名：Dirk Axe

公司：Iowa Limestone

试剂 (及适用来源)

- (1) 盐酸 (HCl)。
- (2) 硝酸 (HNO₃)。
- (3) 盐酸溶液 [HCl:H₂O = 1:1 (V/V)]。
- (4) 0.1% 甲基红指示剂 (pH 范围 4.2 ~ 6.2)。
- (5) 氨溶液 [NH₄OH:H₂O = 1:1 (V/V)]。
- (6) 饱和草酸铵溶液：10% [(NH₄)₂C₂O₄]。
- (7) 硫酸溶液 [H₂SO₄:H₂O = 1:8 (V/V)]。