

饲料中苯甲酸和山梨酸的测定

1、适用范围

适用于饲料中苯甲酸、山梨酸的测定（本实验采用配合饲料为样品）

参考标准：《NY/T 2297-2012 饲料中苯甲酸和山梨酸的测定 高效液相色谱法》

2、溶液的配制

- 1) 标准贮备液：准确称取苯甲酸、山梨酸标准品各 50mg，置于 50mL 容量瓶中，加入 2.5mL 乙醇溶剂，用水定容至刻度，该浓度为 1mg/mL；
- 2) 混合标准工作液：分别准确移取 1mL 标准贮备液，置于同一个容量瓶中，并用水稀释并定容至 10mL，该浓度为 100 μ g/mL；
- 3) 2%氨水溶液：量取 2mL 氨水，加水至 100mL，混匀。
- 4) 亚铁氰化钾溶液（0.25mol/L）：称取亚铁氰化钾 10.6g，用水溶解并稀释至 100mL。
- 5) 乙酸锌溶液（1.0mol/L）：称取乙酸锌 22g，加入冰乙酸 3mL，加水稀释至 100mL。
- 6) 磷酸盐缓冲液：分别称取磷酸二氢钾（ KH_2PO_4 ）2.5g 和磷酸氢二钾 2.5g（ $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ），用水溶解并定容至 1L。

3、提取步骤

称取 2g 样品置于 50mL 离心管中，准确加入 21mL 2%氨水溶液，振荡，超声提取 10min，准确

声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编：321000

E-mail:Lingyuyu@weLchmat.com

加入 2mL 亚铁氰化钾溶液，2mL 乙酸锌溶液，涡旋混匀，离心 5min（5000r/min）。准确移取上清液 5mL，用 2%氨水溶液定容至 25mL，待净化。

4、SPE 净化步骤

SPE 柱：月旭 Welchrom® P-SAX 规格：60mg/3mL

活化：3 mL 甲醇、3mL 水，弃去；

上样：待净化液 5mL 上样，控制流速，不宜过快，弃去；

淋洗：分别用 3mL 2%氨水溶液，3mL 甲醇淋洗，弃去并抽干小柱。

洗脱：用 2mL 5%甲酸甲醇洗脱，收集于 15mL 离心管中，抽干。并过 0.22 μ m 有机滤头，待检测。

5、注意事项

加标水平：2g 样中加入 0.4mL 100 μ g/mL，最后定容至 2mL，该加标水平为 20mg/kg，机读数为 0.8 μ g/mL。

6、色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate® XB-C18, 4.6*250mm, 5 μ m

流动相：磷酸盐缓冲液：甲醇=9：1（在线混）

流速：1.0mL/min

柱温：30 $^{\circ}$ C

进样量：20 μ L

检测波长：227nm

声明：除非另有说明，此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可，不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编：321000

E-mail:Lingyuyu@weLchmat.com

7、色谱图或者加标回收率结果

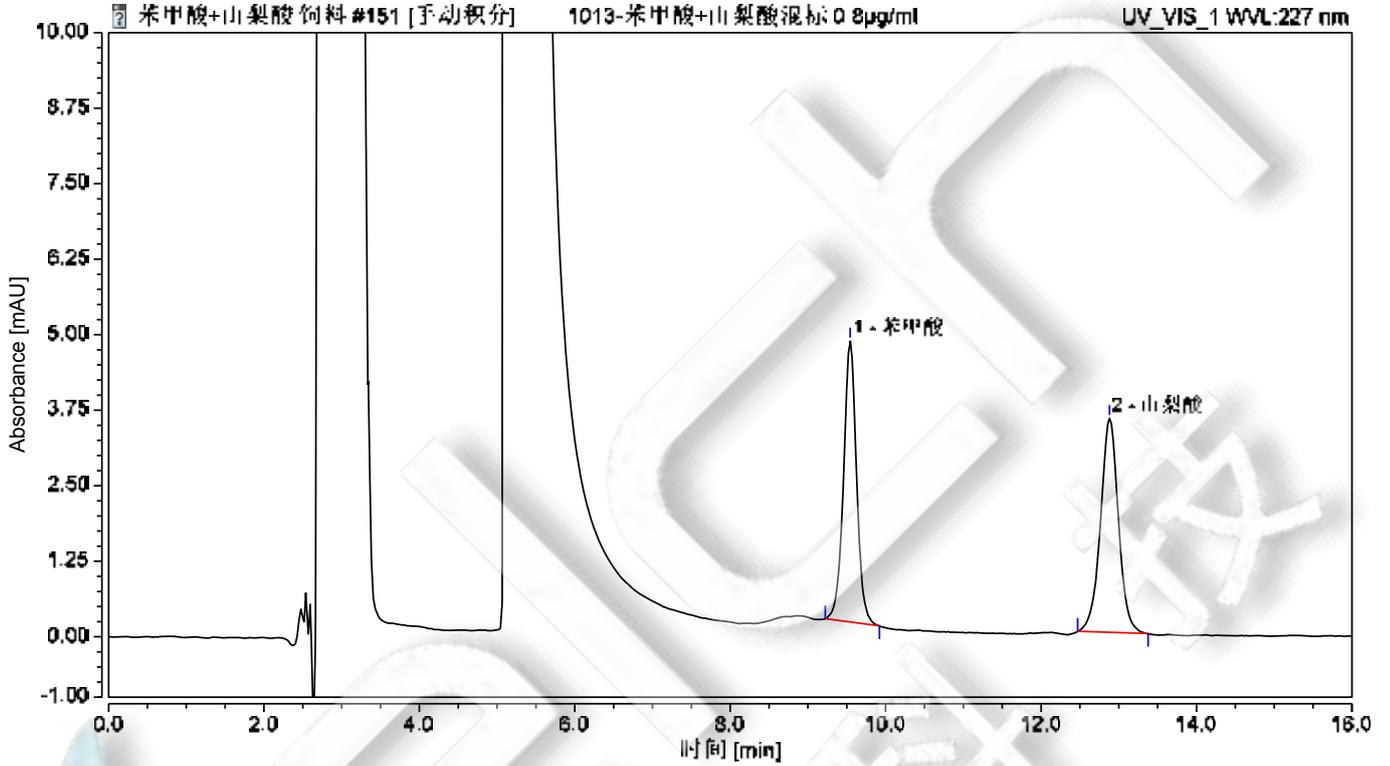


图 1. 苯甲酸、山梨酸混标 0.8 μ g/mL 图谱

| 峰名称 | 保留时间 | 峰面积 | 峰高 | 相对峰面积 | 拖尾因子 | 不对称度 | 分离度 | 塔板数 |
|-----|--------|---------|-------|-------|------|------|------|-------|
| | min | mAU*min | mAU | % | | (EP) | (EP) | (EP) |
| 苯甲酸 | 9.543 | 0.904 | 4.653 | 48.93 | 0.99 | 1.00 | 9.56 | 16785 |
| 山梨酸 | 12.882 | 0.944 | 3.542 | 51.07 | 0.99 | 1.00 | n.a. | 16144 |

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编:321000

E-mail:Lingyuyu@weLchmat.com

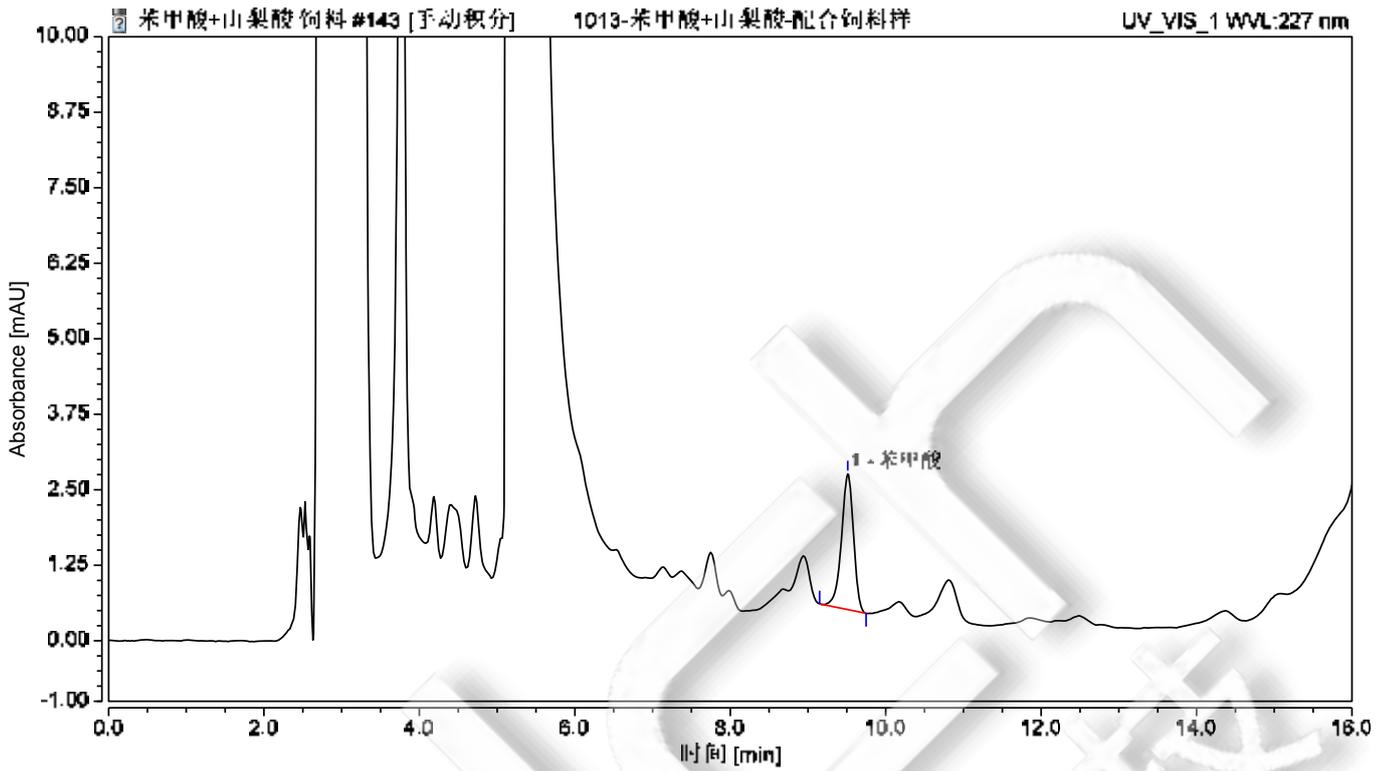


图 2 配合饲料样过柱图谱

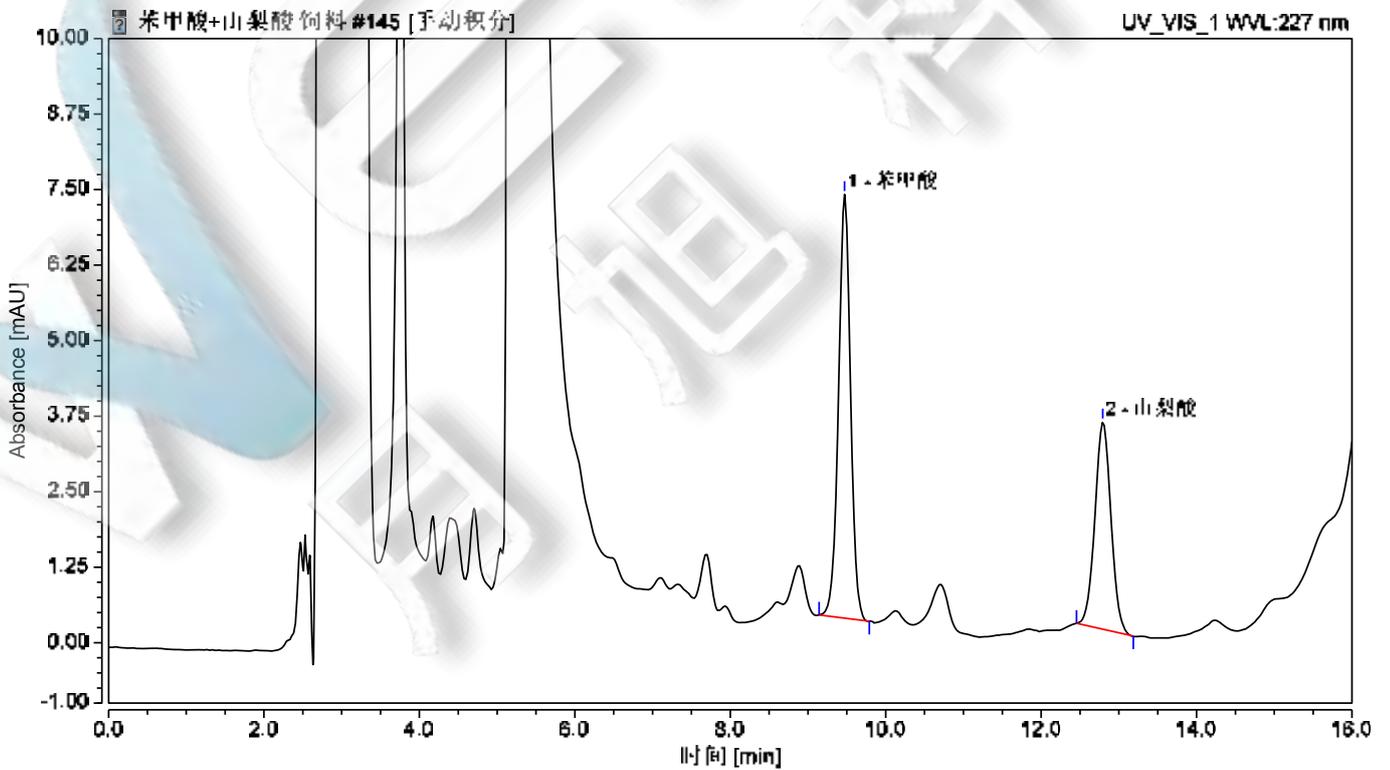


图 3 配合饲料样加标 20mg/kg 过柱图谱

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编: 321000

E-mail:Lingyuyu@weLchmat.com

表 2. 回收表

| 物质 | 加标水平 | 平均回收率 | RSD (%) (n=2) |
|-----|---------|-------|------------------|
| 苯甲酸 | 20mg/kg | 106% | 3.94% |
| 山梨酸 | | 102% | 2.94% |

8、相关产品信息

| 货号 | 名称 | 规格 |
|-------------|--------------|---|
| 00524-20016 | SPE 小柱 | Welchrom® P-SAX,60mg/3ml,50pk |
| 00000-30016 | 50mL 螺口尖底离心管 | 50 支/包 |
| 00824-31001 | WeLch 固相萃取装置 | 12 位方缸 |
| 00821-32291 | 盖子+垫片 | 预切口红色特氟龙/白色硅胶隔垫, 9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm 100pk |
| 00821-40927 | 样品瓶 | 2mL 透明短螺纹广口样品瓶 带书写处 11.6*32mm 一级水解玻璃 100pk |
| 00201-31043 | 液相色谱柱 | Ultimate® XB-C18, 4.6×250mm, 5μm |
| 00802-02201 | 针头式过滤器 | 进口 NY,13mm*0.22μm,100pk |
| | 苯甲酸标准品 | CAS:65-85-0 |
| | 山梨酸标准品 | CAS:110-44-1 |

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 TeL:400-810-6969

邮编:321000

E-maiL:Lingyuyu@weLchmat.com