

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2656—2014

饲料中罗丹明B和罗丹明6G的测定 高效液相色谱法

**Determination of rhodamine B and rhodamine 6G in feeds—
High performance liquid chromatography**

2014-10-17 发布

2015-01-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由农业部畜牧业司提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)归口。

本标准起草单位:中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所。

本标准主要起草人:张妍、杨曙明、邱静、于洪侠、赵小阳。

饲料中罗丹明 B 和罗丹明 6G 的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了饲料中罗丹明 B 和罗丹明 6G 的高效液相色谱测定法。

本标准适用于配合饲料、浓缩饲料、添加剂预混合饲料中罗丹明 B 和罗丹明 6G 的测定。

本标准的定量限为 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

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 603 化学试剂试验方法中所用制剂及制品的制备

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB/T 20195 动物饲料试样的制备

3 方法原理

饲料中的罗丹明 B 和罗丹明 6G 经过 2%三氯乙酸乙腈溶液提取,正己烷脱脂,离心后上清液用氮气吹干,甲醇定容,高效液相色谱测定,外标法定量。

4 试剂和材料

除特殊注明外,所用试剂均为分析纯;水应符合 GB/T 6682 中一级用水规定;溶液按照 GB/T 603 的规定配制。

4.1 甲醇:色谱纯。

4.2 正己烷:色谱纯。

4.3 2%三氯乙酸乙腈溶液:取 10 g 三氯乙酸溶于 500 mL 乙腈中。

4.4 1%磷酸:取 10 mL 磷酸,用水溶解并稀释至 1 000 mL。

4.5 罗丹明 B 和罗丹明 6G 标准品:纯度 $\geq 98\%$ 。

4.6 罗丹明 B 和罗丹明 6G 贮备液($1 \text{ mg}/\text{mL}$):分别准确称取罗丹明 B 和罗丹明 6G 标准品 10 mg,用甲醇溶解,定容至 10 mL。贮备液在 -20°C 保存,有效期一年。

4.7 罗丹明 B 和罗丹明 6G 标准中间液($1 \mu\text{g}/\text{mL}$):分别准确吸取 1 mL 的罗丹明 B 和罗丹明 6G 标准贮备液,用甲醇稀释定容至 100 mL, $2^\circ\text{C} \sim 8^\circ\text{C}$ 保存,有效期 10 d。

4.8 罗丹明 B 和罗丹明 6G 标准工作液:吸取适量的罗丹明 B 和罗丹明 6G 标准中间液,用甲醇分别配置成 $0.5 \text{ ng}/\text{mL}$ 、 $1 \text{ ng}/\text{mL}$ 、 $10 \text{ ng}/\text{mL}$ 、 $50 \text{ ng}/\text{mL}$ 和 $100 \text{ ng}/\text{mL}$ 的混合标准工作液, $2^\circ\text{C} \sim 8^\circ\text{C}$ 保存,有效期 10 d。

4.9 滤膜: $0.22 \mu\text{m}$ 。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪:配有荧光检测器。

5.2 离心机:转速大于 $10\,000 \text{ r}/\text{min}$ 。

5.3 漩涡振荡器。

5.4 振荡器。

5.5 分析天平:感量 0.000 01 g。

5.6 天平:感量 0.01 g。

6 试样制备

按 GB/T 14699.1 抽取有代表性的样品,四分法缩减取样。按 GB/T 20195 的规定制备试样,粉碎,全部通过孔径为 0.42 mm 的试验筛,混匀,装入密闭容器中,避光保存,备用。

7 分析步骤

7.1 试样提取

称取 1 g 试样(精确至 0.01 g),置于 25 mL 离心管中;加入 2%三氯乙酸乙腈溶液(4.3)5 mL,40℃ 超声提取 30 min;加入 5 mL 正己烷,漩涡振荡 1 min,在 10 000 r/min 下离心 5 min。将下层乙腈转移至 10 mL 离心管中,50℃下氮气吹干,用 1.0 mL 甲醇溶解,滤膜过滤后测定。

7.2 色谱条件

色谱柱:C₁₈,柱长 150 mm,内径 4.6 mm,粒度 5 μm,或性能相当者。

柱温:30℃。

进样量:10 μL。

流动相:1%磷酸+乙腈=50+50。

流速:0.5 mL/min。

荧光检测器条件:激发波长 540 nm;发射波长 570 nm。

7.3 定量测定

分别取适量的罗丹明 B 和罗丹明 6G 标准工作液(4.8)及试样溶液(7.1)测定,以色谱峰保留时间定性,以色谱峰面积响应值作单点或多点校准定量。罗丹明 B 和罗丹明 6G 标准色谱图参见附录 A。

8 结果计算

试样中罗丹明 B 或罗丹明 6G 的含量,以质量分数 X_i 计,数值以微克每千克(μg/kg)表示,按式(1)计算:

$$X_i = \frac{C_i \times A_1 \times V}{A_2 \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

m ——试样质量,单位为克(g);

V ——试样溶液的定容体积,单位为毫升(mL);

C_i ——标准工作液中相应罗丹明 B 或罗丹明 6G 的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

A_1 ——试样溶液中罗丹明 B 或罗丹明 6G 的峰面积;

A_2 ——标准工作液中相应罗丹明 B 或罗丹明 6G 的峰面积。

测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留 3 位有效数字。

9 重复性

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不大于其算术平均值的 15%。

附录 A
(资料性附录)
罗丹明 B 和罗丹明 6G 标准工作液色谱图

罗丹明 B 和罗丹明 6G 标准工作液色谱图见图 A.1。

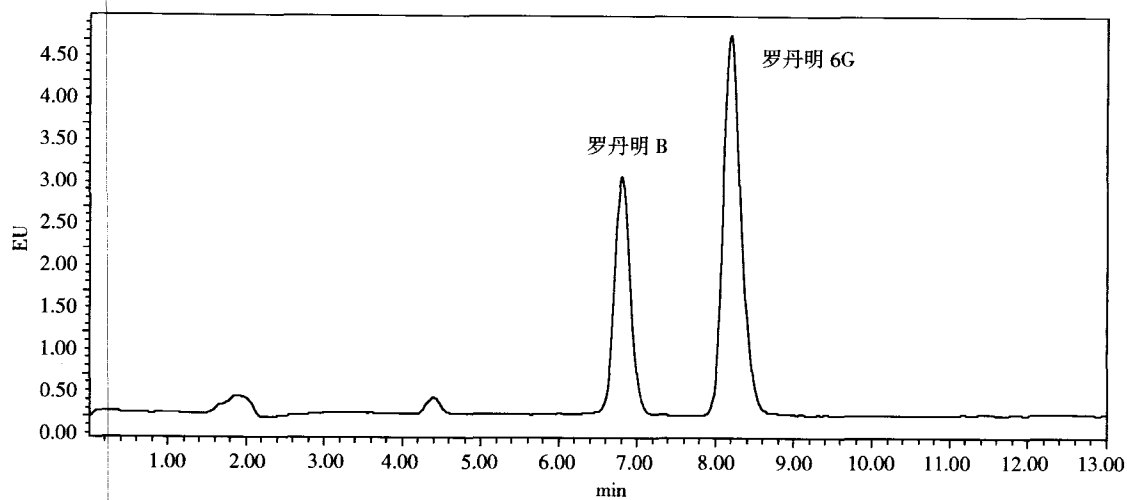


图 A.1 罗丹明 B 和罗丹明 6G 标准工作液色谱图(1 $\mu\text{g/L}$)