出口粮谷、蔬菜中百草枯残留检验方法紫外分光光度法

Method for the determination of paraquat in cereals, vegetables for export—UV-spectrophotometric method

SN 0340—95

1 主题内容与适用范围

本标准规定了出口粮谷、蔬菜中百草枯残留检验的抽样、制样和紫外分光光度测定方法。

本标准适用于出口大米、白菜中百草枯残留量的检验。

2抽样和制样

2.1 大米抽样

2.1.1 检验批

以不超过4 000袋为一检验批。

同一检验批的商品应具有相同的特征，如包装、标记、产地、规格和等级等。

2.1.2 抽样数量

按一批总袋数的平方根抽取：

$$n=\sqrt{N} \qquad (1)$$

式中：n—抽样袋数；

N—全批袋数。

注：n取整数，小数部分向前进位为整数。

2.1.3 抽样工具

2.1.3.1 单管采样器：不锈钢管，全长55cm(包括手柄)，直径：5cm，内管长度应超过袋对角线长度的一半。

2.1.3.2 取样护。

2.1.3.3 分样板。

2.1.3.4 样品罐(袋)：可密封。

2.1.3.5分样用木板(分样)。

2.1.4 抽样方法

2.1.4.1 锥内抽样：按2.1.2规定计算抽样袋数n(按每包抽样袋数)，在堆垛四周上、中、下各部位以曲线形走向，用长抽取，将开槽管下，从每第一角度斜对角方向插入袋内，将开槽管上缘转180°，抽出开槽立即加入盛样容器内，每袋样取样品数量应基本一致。

2.1.4.2 侧包抽样：从堆垛的各侧包随机抽取2×2规定的应抽样袋数的10%(每批不少于5袋)，将袋口缝纫全部拆开，平置于分样布或其他洁净的铺垫物上，双手紧握袋底再角提起约成45°倾斜角，侧指1/4上，使袋内货物全部倒出后，用取样管在各部位开取样品的100g，立即加入盛样容器内。

2.1.4.3 大件堆分：集中袋内和侧包所取样品，倒于清洁分样布上，使用分样板，按四分法缩分样品不少于4kg，加封后，标明标记并及时送实验室。

2.1.5 试样制备

将样品缩分至1kg，全部磨碎，通过20目筛，混匀，均分成两份，装入洁净容器内，标明标记。

2.1.6 试样保存

将试样于-5℃以下避光保存。

2.2 蔬菜抽样

2.2.1 检验批

以不超过1 000件为一个检验批。

同一检验批内商品应具有同一特征，如包装、标记、产地、规格、等级等。

2.2.2 抽样数量

批量，件	最低抽样数，件
1~25	1
26~100	5
101~250	10
251~1000	15

2.2.3 抽样工具

2.2.3.1 取样刀：不锈钢菜刀。

2.2.3.2 样品袋：聚乙烯塑料食品袋。

2.2.4 抽样方法

按2.2.2规定的抽样件数，在不同部位随机抽取，逐件开启，每件抽取样品不少于500g为原始样品，原始样品总量不得少于2kg，将所取样品装入样品袋内，加封后，标明标记，及时送实验室。

2.2.5 试样制备

将所取原始样品混匀，取可食部分，切碎，按四分法缩分出500g，经组织均质机均匀或成均浆的样品，均分成两份，装入洁净的广口瓶中，密封，标明标记，作为实验室样品。

对于不易均匀的高淀粉类，先将缩分过的样品经研磨碾粉末，然后经切碎的样品加入组织均质机内，按样品重量的20%(w/v)加入蒸馏水，另法，注意：应加入的分立取样时要扣除。上述操作的每一步都应详细记录。

2.2.6 试样保存

将试样于-18℃冷冻保存，备用。

注：在抽样和制样的操作过程中，必须防止样品受到污染或发生残留物含量变化。

3 测定方法

3.1 方法提要

试样中百草枯用硫酸溶液煮沸回流加以提取，提取液经阳离子交换树脂柱净化，百草枯被吸附在树脂上，然后，以饱和氯化钾溶液洗脱，于流出液中加入三氯乙烯萃取溶液，百草枯被还原为蓝色络合物，用紫外分光光度计进行定量。

3.2 试剂和材料

除特殊规定外，试剂均分析纯，水为蒸馏水或相应的去离子水。

3.2.1 硫酸(比重1.84)。

3.2.2 氯化钾。

3.2.3 氯化钠。

3.2.4 盐酸(比重1.18)。

3.2.5 氯化铵。

3.2.6 L-胱四乙酸二钠(EDTA)。

3.2.7 苯。

3.2.8 三氯乙烯萃取。

3.2.9 硫酸溶液：9mol/L。

3.2.10 盐酸溶液：2mol/L。

3.2.11 氢氧化钠溶液：12.5mol/L。

3.2.12 氢氧化钠溶液：10mol/L。

3.2.13 氢氧化钠溶液：0.3mol/L。

3.2.14 饱和氯化钠溶液：溶解360g氯化钠于1 L水中，搅拌溶解，澄清备用。

3.2.15 饱和氯化钾溶液：溶解370g氯化钾于1 L水中，搅拌溶解，过滤备用。

3.2.16 稀氯化钾溶液：1/10饱和溶液，量取1份饱和氯化钾溶液加入9份水，混匀。

3.2.17 三乙氨硫酸钠溶液：0.25千克 3mol/L氢氧化钠溶液中，溶解0.20g三乙氨硫酸钠于少量0.3mol/L的氢氧化钠溶液中，于棕色容量瓶内以该氢氧化钠溶液定容至100mL，摇匀，此溶液必须在该使用前新鲜配制，超过1.5L后不宜使用。

3.2.18 离子交换树脂：AG 50W-X-8，100~200目，在水中浸泡。

3.2.19 百草枯标准品：百草枯二氯化钠含量大于99%。

3.2.20 百草枯标准溶液：准确溶解0.025 0±0.0001g百草枯标准品于少量饱和氯化钾溶液中，转移至250mL棕色容量瓶中并以饱和氯化钾溶液准确定容，摇匀，作为标准贮备液，此溶液百草枯二氯化钠的浓度为100μg/mL。根据需要再配成适用浓度的标准工作液。

3.3 仪器和设备

3.3.1 紫外分光光度计：具有连续波长与吸收扫描功能，配备5cm.比色皿。

3.3.2 粉末研磨机：筛孔孔径1mm。

3.3.3组织匀浆机。

3.3.4 碱压抽滤装置：配备1 000mL抽滤瓶及φ10cm平瓶漏斗。

3.3.5 加热回流装置：1 000mL圆底烧瓶及配套的球形冷凝管。

3.3.6 净化柱：500mL酸式滴定管，在玻璃柱的下部塞入一个脱脂棉球，高度约0.5~1cm，垂直固定好柱子，加入10mL左水中浸泡并沉降的树脂，分别用50mL饱和氯化钾溶液和20mL水洗柱，注意保持滤液略高于树脂层，每个试样测定均须使用一根新制备的柱子。

3.4 测定步骤

3.4.1 提取

称取粮谷试样约50.0g或蔬菜试样200.0g(精确至0.1g)置于1 000mL圆底烧瓶中，根据试样的含水量加入适量的水和0mol/L的硫酸溶液，使糊状混匀的总体积约为500mL，使试样的含水量小，硫酸的浓度为2.5mol/L。加入数粒小玻璃球，连接回流冷凝管，加热至沸，沸腾后回流40分钟，取下烧瓶，冷却，加入500mL水，将提取溶液倒入烧杯中并用快速滤纸(含滤纸浆可多吸几层滤纸)的平瓶漏斗上，用抽滤装置过滤，用少量水分数次洗涤，对非抽滤试样，将滤液倒入1 000mL的烧杯中，对含抽滤试样可将滤液倒入1 000mL分液漏斗中，然后用100mL氯仿三次萃取，收集水相于1 000mL烧杯中，于烧杯中的溶液中加入12.5mol/L的氢氧化钠溶液，其体积相当于固定盐酸和50mol/L氢氧化钠溶液的量，加入5g EDTA，搅拌至完全溶解，加水至溶液总体积约500mL，然后再用10mol/L的氢氧化钠溶液调节pH至9，冲即至室温，将溶液全部倒入1 000mL的分液漏斗中备用。

3.4.2 净化和洗脱

将萃取液的分液漏斗固定在净化柱的上方(可用溶液的胶管将二者连接)，调节活塞，使溶液以10~12mL/min的速度过柱，过柱后移开分液漏斗，然后以5mL/min的速度依次用50mL水、50mL 2mol/L的盐酸溶液、50mL水和50mL稀氯化钾溶液洗柱子，弃去所有流出液。

3.4.2.1 洗脱

将上述处理后的柱子用饱和氯化钾溶液洗脱柱上百草枯，洗脱速度为0.5~1mL/min，收集50mL洗脱液于50mL容量瓶中。

注：洗脱时柱温(环境温度)不应低于0℃。

3.4.3 测定

3.4.3.1 测定波长的选择

吸取10mL含百草枯二氯化物为1.0μg/mL的百草枯标准工作液于50mL比色管中，加入2mL三乙氨硫酸钠溶液，摇匀后立即加入5mL比色皿中，置于紫外分光光度计比色皿中进行测定，调定波长从410至300nm进行吸光度扫描，选择最大吸收的最左方测定波长λ_m，然后分别选择λ_m±4nm左侧及右侧波长λ_1和λ_2。

3.4.3.2 工作曲线的绘制

分别吸取百草枯储贮备溶液0.00 mL、0.05 mL、0.10 mL、0.25 mL、0.50 mL、0.75 mL、1.00mL和1.50mL于6只100mL容量瓶中，各加入饱和氯化钾溶液至刻度，此工作溶百草枯的浓度分别为0.00 μg/mL、0.05μg/mL、0.10μg/mL、0.25μg/mL、0.50 μg/mL、0.75μg/mL、1.00μg/mL和1.50μg/mL。分别吸取上述工作溶10mL于6支50mL比色管中，各加入2mL三乙氨硫酸钠溶液，摇匀后立即用紫外分光光度计，在λ_m处以空白溶液对照测定各工作溶的吸光度，以吸光度为纵坐标，相应浓度为横坐标制标准曲线。

同时于λ_1和λ_2处(对空白溶对照)分别测定1.00 μg/mL百草枯工作溶的吸光度。

3.4.3.3 样品测定

吸取10mL洗脱液于50mL比色管中，加入2mL三乙氨硫酸钠溶液，摇匀后立即于λ_m、λ_1和λ_2处以空白溶对照分别测定吸光度。

3.4.4 空白试验

除不称取样品外，按上述测定步骤进行。

3.5 结果计算和表述

按下式计算试样中百草枯以百草枯二氯化物计的残留量：

$$X=\frac{c\cdot V}{m} \qquad (2)$$

式中：X—试样中百草枯二氯化物的残留量，mg/kg；

c—从标准曲线中以样品的校正吸光度值(A_R)查出对应的百草枯二氯化物的浓度，μg/mL；

V—洗脱液最终定容体积，mL；

m—称取的试样量，g。

试样的校正吸光度值按下式计算：

$$A_R=\frac{A_T}{2A_T'-(A_T'+A_T'')}[2A_m-(A_1+A_2)] \qquad (3)$$

式中：A_R—试样的校正吸光度；

A_T'—λ_m处百草枯二氯化物浓度为1μg/mL时测得的吸光度；

A_T''—λ_1处百草枯二氯化物浓度为1μg/mL时测得的吸光度；

A_T'''—λ_2处百草枯二氯化物浓度为1μg/mL时测得的吸光度；

A_m—λ_m处测得试样的吸光度；

A_1—λ_1处测得试样的吸光度；

A_2—λ_2处测得试样的吸光度。

4 方法的测定限用、回收率

4.1 测定范围

本方法测定限为0.02mg/kg。

4.2 回收率

回收率实验数据，百草枯添加浓度在0.02~10mg/kg范围内，回收率为70.2%~108.0%。

附加说明：

本标准由中华人民共和国国家进出口商品检验局提出。

本标准由中华人民共和国海关进出口商品检验局负责起草。

本标准主要起草人欧然、陈加超、卓海华、张惠。

主要参考文献：

FDA—Pesticide Analytical Manual，VOl. Ⅱ，Pesticide Reg，Sec.180.205，1985.