

前言

本标准是根据GB/T 1.1—1993《标准化工作导则 第1单元：标准的起草与表述规则 第1部分：标准编写的基本规定》及SN/T 0001—1995《出口商品中农药、兽药残留量及生物毒素检验方法标准编写的基本规定》的要求而进行编写的。其中测定方法等同采用了日本《食品卫生检验指针》中杨菌胺残留分析法，技术内容与原方法相同，经验证后，按规定格式要求作了编辑性修改。在标准中同时制定了抽样和制样方法。

测定低限是根据国际上对蔬菜中杨菌胺残留量的最高限量及本方法的灵敏度而制定的。

本标准附录A为提示的附录。

本标准由中华人民共和国国家进出口商品检验局提出并归口。

本标准由中华人民共和国天津进出口商品检验局负责起草。

本标准主要起草人：何伯灯、顾晓薇、常春艳、白云学。

本标准系首次发布的行业标准。

1 范围

本标准规定了出口蔬菜中杨菌胺残留量检验的抽样、制样和气相色谱测定方法。

本标准适用于出口蕃茄中杨菌胺残留量的检验。

2 抽样和制样

2.1 检验批

以不超过1500件为一检验批。

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。

2.2 抽样数量

批量，件	最低抽样数，件
1～25	1
26～100	5
101～250	10
251～1500	15

2.3 抽样方法

按2.2规定的抽样件数随机抽取，逐件开启。每件至少取500 g作为原始样品；原始样品总量不得少于2kg。放入洁净容器中，加封后，标明标记，及时送实验室。

2.4 试样制备

将所取原始样品缩分为1kg，取可食部分，经高速均质器捣碎，均分成两份。装入洁净容器内作为试样，密封并标明标记。

2.5 试样保存

将试样于-18℃以下冷冻保存。

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的变化。

3 测定方法

3.1 方法提要

用乙腈和甲醇混合液提取试样中残留的杨菌胺，提取液用二氯甲烷进行液-液分配。二氯甲烷层经蒸发后，残渣用丙酮溶解。丙酮溶液中加入硅藻土和凝聚剂，过滤，以去除某些杂质。丙酮溶液再与二氯甲烷进行液-液分配，使被测物进入二氯甲烷层。蒸去二氯甲烷，残渣用苯溶解。然后用乙酸酐进行乙酐化，并经弗罗里硅土柱净化，用乙酸乙酯—正己烷进行洗脱，洗脱液蒸干后，用正己烷溶解。最后用配有电子俘获检测器的气相色谱仪测定，外标法定量。

3.2 试剂和材料

除另有规定外，所用试剂均为分析纯，水为蒸馏水。

3.2.1 甲醇：重蒸馏。

3.2.2 乙腈：色谱纯。

3.2.3 甲醇—乙腈（1+1）。

3.2.4 二氯甲烷：重蒸馏。

3.2.5 丙酮：重蒸馏。

3.2.6 苯：重蒸馏。

3.2.7 吡啶：色谱纯。

3.2.8 乙酸乙酯：重蒸馏。

3.2.9 正己烷：重蒸馏。

3.2.10 二甘醇。

3.2.11 乙酸乙酯—正己烷（1+9）。

3.2.12 乙酸乙酯—正己烷（1+24）。

3.2.13 二甘醇—丙酮（2+98）。

3.2.14 乙酸酐。

3.2.15 盐酸溶液：1mol/L

3.2.16 磷酸：85%。

3.2.17 氯化铵。

3.2.18 氯化钠溶液：5% 水溶液。

3.2.19 凝聚剂：将2g氯化铵及4mL磷酸溶于400 mL水中，混匀。

3.2.20 硅藻土：Cellite 545。

3.2.21 丙酮—凝聚剂（2+5）。

3.2.22 无水硫酸钠：经650℃灼烧4h，置干燥器内备用。

3.2.23 弗罗里硅土：60～100目。在650℃灼烧4h，置于干燥器内。使用前于130℃烘约3h。

3.2.24 杨菌胺标准品：纯度≥99.8%。

3.2.25 杨菌胺标准溶液：准确称取适量的杨菌胺标准品，用苯配成浓度为100 μg/mL的标准贮备溶液，根据需要，用苯稀释成适当浓度的标准工作溶液。

3.3 仪器和设备

3.3.1 气相色谱仪并配有电子俘获检测器。

3.3.2 均质器：8000～24000r/min。

3.3.3 振荡器。

3.3.4 分液漏斗：250 mL，1 000 mL。

3.3.5 锥形瓶：具塞，250 mL。

3.3.6 旋转蒸发器：配250 mL梨形瓶。

3.3.7 微量注射器：5 μL。

3.4 测定步骤

3.4.1 提取

称取试样约20.0 g（精确至0.1g）于250 mL分液漏斗中，加入甲醇—乙腈100 mL，用振荡器激烈振荡30min。静置，提取液经上敷1cm厚的硅藻土的漏斗抽滤。将滤纸上的残渣移回分液漏斗。加入50mL甲醇—乙腈，与上述同样操作。将滤液合并于1000 mL分液漏斗中。加入氯化钠溶液300 mL二氯甲烷100 mL，激烈振荡5min，静置。分取二氯甲烷层于250 mL锥形瓶中。在水层中再加入氯甲烷100 mL，与上述同样操作，分取二氯甲烷层合并于上述锥形瓶中。于锥形瓶中加入适量无水硫酸钠，振荡，放置30min后，过滤于梨形瓶中。用二氯甲烷20 mL洗涤锥形瓶，再用此洗液洗涤滤纸上的残渣。将洗液合并于梨形瓶中，于40℃蒸去二氯甲烷。

用20 mL丙酮溶解残留物，加入凝聚剂50 mL及硅藻土2g，轻轻摇匀后，放置5min。此溶液抽滤到250 mL分液漏斗中（此漏斗的滤纸上敷1cm厚硅藻土）。然后用丙酮—凝聚剂50 mL洗涤上述梨形瓶。再用此溶液洗涤滤纸上的残渣，抽滤，滤液合并于上述分液漏斗中。加入二氯甲烷50 mL，激烈振荡5min，静置。分取二氯甲烷层于250 mL锥形瓶中。在水层中加入二氯甲烷50 mL，与上述同样操作，分取二氯甲烷层合并于上述锥形瓶中，在锥形瓶中加入适量无水硫酸钠，振荡后，放置30 min，过滤于梨形瓶中。然后用二氯甲烷20 mL洗涤锥形瓶，再用此洗液洗涤滤纸上的残渣，洗液合并于梨形瓶中，于40℃蒸去二氯甲烷。用5mL苯溶解残留物。

3.4.2 乙酐化

于上述溶液中加入吡啶1mL及乙酸酐1mL，加塞，于80℃加热30 min，并不断振荡。冷却后，加入氯化钠溶液50 mL及乙酸乙酯50 mL，移入250 mL分液漏斗中。加入盐酸溶液10mL，用振荡器激烈振荡混匀，静置，分取乙酸乙酯层于另一250 mL分液漏斗中。加水50 mL，激烈振荡5min，混匀，静置。分取乙酸乙酯层于250 mL锥形瓶中。在锥形瓶中加入适量无水硫酸钠，摇匀，放置30 min，过滤于梨形瓶中。然后用乙酸乙酯20 mL洗涤锥形瓶，再用此溶液洗涤滤纸上的残渣，将洗液合并于梨形瓶中。加入0.1mL二甘醇—丙酮。于40℃蒸去乙酸乙酯。残留物用10 mL乙酸乙酯—正己烷（1+24）溶解。

3.4.3 净化

在内径15mm、长300 mm的柱中装入弗罗里硅土10 g，上面覆盖5g无水硫酸钠，然后注入经脱水的乙酸乙酯—正己烷（1+24）使液面高于无水硫酸钠层表面。将乙酐化溶液注入柱中，再注入乙酸乙酯—正己烷（1+24）80 mL，弃去流出液。然后用乙酸乙酯—正己烷（1+9）80 mL进行洗脱，收集洗脱液于梨形瓶中。加入0.1mL二甘醇—丙酮溶液，于40℃蒸去乙酸乙酯及正己烷。用10 mL正己烷溶解残留物，溶液供气相色谱测定。

3.4.4 标准工作溶液的乙酐化

移取10 mL适当浓度的杨菌胺标准工作溶液，按3.4.2进行乙酐化，操作到蒸去乙酸乙酯。残留物用10 mL正己烷溶解。

3.4.5 测定

3.4.5.1 色谱条件

a) 色谱柱：玻璃填充柱，1m×3mm（内径），填充物为1.5%（m/m）OV—17涂于Chromosorb WAW—DMCS（80～100目）；

b) 载气：氮气，纯度≥99.99%，50 mL/min；

c) 色谱柱温度：195℃；

d) 进样口温度：260℃；

e) 检测器温度：280℃；

f) 进样量：2 μL。

3.4.5.2 色谱测定

根据样液中杨菌胺含量情况，选定峰高相近的乙酐化后标准工作溶液。乙酐化后标准工作溶液和样液中杨菌胺乙酐化物响应值均应在仪器检测线性范围内。对标准溶液和样液等体积参插进样测定。在上述色谱条件下，杨菌胺乙酐化物的保留时间约为5min。杨菌胺标准品乙酐化物气相色谱图，见附录A中图A1。

3.4.6 空白试验

除不称取试样外，均按上述测定步骤进行。

3.4.7 结果计算和表述

用色谱数据处理机或按式（1）计算试样中杨菌胺残留含量：

$$X = \frac{h \cdot c \cdot V}{h_s \cdot m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：X—试样中杨菌胺残留含量，mg/kg；

h—样液中杨菌胺乙酐化物的色谱峰高，mm；

h_s—标准工作液中杨菌胺乙酐化物的色谱峰高，mm；

c—标准工作液中杨菌胺浓度，μg/mL；

V—样液最终定容体积，mL；

m—最终样液所代表的试样量，g。

注：计算结果需扣除空白值。

4 测定低限、回收率

4.1 测定低限

本方法测定低限为0.04mg/kg。

4.2 回收率

杨菌胺添加浓度及其回收率的实验数据：

在0.04mg/kg时，回收率为83.8%；

在0.10 mg/kg时，回收率为89.0%；

在0.20 mg/kg时，回收率为95.8%。

附 录 A

（提示的附录）

标准品色谱图

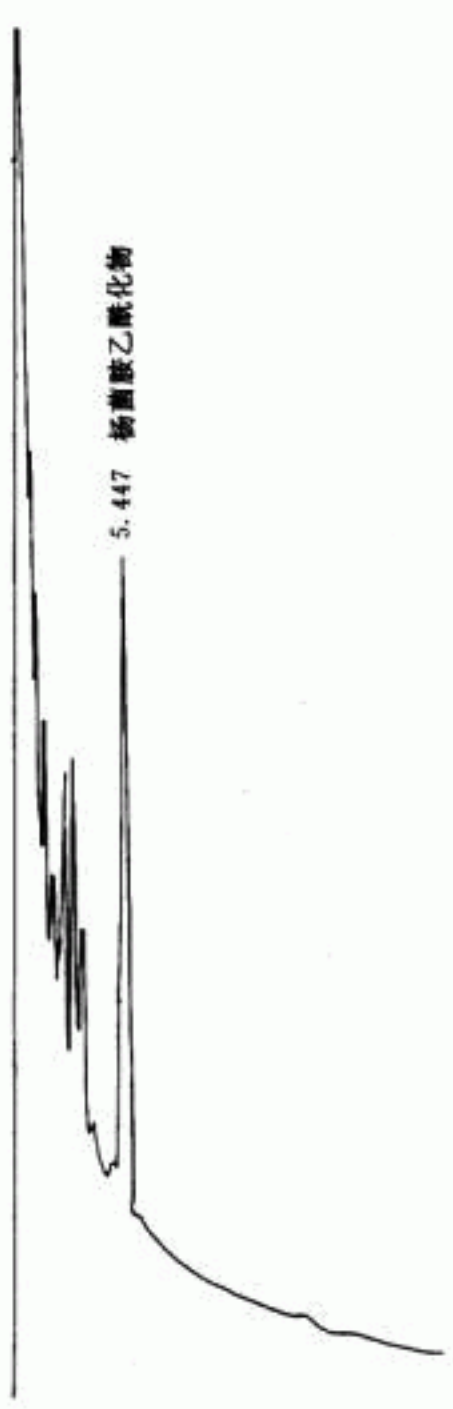


图 A1 杨菌胺标准品乙酐化物气相色谱图