

ICS 67.180.10
B 47



中华人民共和国国家标准

GB/T 21169—2007

The logo is a large oval containing a stylized graphic of a book or a pair of wings. The text 'STANDARDS OF CHINA' is written along the top and left inner edges of the oval.

蜂蜜中双甲脒及其代谢物残留量测定 液相色谱法

Determination of amitraz and metabolite residues in honey—
Liquid chromatography

2007-10-31 发布

2008-04-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国江苏出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：赵增运、陈惠兰、林宏、吴斌、丁涛、徐锦忠、沈崇钰、朱成晶、蒋原、陶宏锦。

蜂蜜中双甲脒及其代谢物残留量测定 液相色谱法

1 范围

本标准规定了蜂蜜中双甲脒及其代谢物残留量液相色谱测定方法提要、测定步骤、结果计算。
本标准适用于蜂蜜中双甲脒及其代谢物残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注明日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注明日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法（GB/T 6682—1992，neq ISO 3696:1987）

3 方法提要

蜂蜜样品中双甲脒及其代谢物用正己烷、异丙醇混合提取液提取，提取液浓缩后，依次用乙腈、水定容，用配有紫外检测器的高效液相色谱仪测定，外标法定量。

4 试剂和材料

- 4.1 水：应符合 GB/T 6682 规定的一级水。
- 4.2 乙腈：HPLC 级。
- 4.3 正己烷：优级纯。
- 4.4 异丙醇：分析纯。
- 4.5 混合提取液：将 60 mL 的正己烷与 30 mL 的异丙醇混合。
- 4.6 氢氧化钠：分析纯。
- 4.7 氢氧化钠溶液：0.1 mol/L。称取 4.0 g 氢氧化钠，溶于 1 000 mL 水中。
- 4.8 乙酸铵溶液：0.02 mol/L。称取 1.54 g 乙酸铵，溶于 1 000 mL 水中。
- 4.9 双甲脒标准品（纯度 >99%）。
- 4.10 2,4-二甲基苯胺标准品（纯度 >99%）。
- 4.11 双甲脒标准储备溶液：0.1 mg/mL。准确称取适量的双甲脒标准物质（4.9），用乙腈配成 0.1 mg/mL 的标准储备液。储备液保存于 4℃ 冰箱中，根据需要再用乙腈稀释成适当浓度的标准工作液。保存 3 个月。
- 4.12 2,4-二甲基苯胺标准储备溶液：0.1 mg/mL。准确称取适量的 2,4-二甲基苯胺标准物质（4.10），用乙腈配成 0.1 mg/mL 的标准储备液。储备液保存于 4℃ 冰箱中，根据需要再用乙腈稀释成适当浓度的标准工作液。保存 3 个月。

5 仪器

- 5.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器。
- 5.2 分析天平：感量 0.1 mg。
- 5.3 天平：感量 0.01 g。

- 5.4 旋转蒸发器或相当者。
- 5.5 旋涡混匀器。
- 5.6 移液管:10 mL,5 mL,1 mL。
- 5.7 有机滤膜:0.45 μm 。
- 5.8 离心机:3 000 r/min,10 000 r/min。
- 5.9 具塞离心管:50 mL,1.5 mL。

6 试样的制备与保存

6.1 试样制备

对无结晶的实验室样品,将其搅拌均匀。对有结晶的样品,在密闭情况下,置于不超过 60℃ 的水浴中温热,振荡,待样品全部融化后搅匀,冷却至室温。均分成两份,分别装入样品瓶内作为原始样品。密封并标明标记。

6.2 试样保存

将试样于常温状态下保存。

注:在取样和制样的操作过程中,应防止样品受到污染或发生残留物含量的变化。

7 测定步骤

7.1 提取

称取 5 g 试样(精确至 0.01 g)。置于 50 mL 具塞离心管中,加入 5.0 mL 氢氧化钠溶液,旋涡混匀 1 min,再加入 15.0 mL 混合提取液,旋涡混匀 1 min,混匀后于 3 000 r/min 下离心 5 min,吸取上层液转移至 50 mL 离心管中;再加入 10.0 mL 正己烷,旋涡混匀 1 min,混匀后于 3 000 r/min 下离心 5 min,吸取上清液转移至 50 mL 离心管中,于 35℃~40℃ 的水浴中旋转蒸发浓缩至干,用 0.50 mL 乙腈溶解残渣,转移至 1.5 mL 离心管;再加入 0.50 mL 水溶解残渣,合并转移至 1.5 mL 离心管,在 10 000 r/min 离心 5 min,溶液过 0.45 μm 的滤膜到进样瓶中,供液相色谱仪测定。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱: C_{18} , 5 μm , 150 mm \times 4.6 mm (内径),或相当者;
- b) 流动相:乙腈(A)+0.02 mol/L 乙酸铵水溶液(B);
- c) 梯度洗脱程序:0 min~6.0 min 35% A,6 min~8.5 min 35%~90% A,8.5 min~16 min 90% A,16.0 min~16.1 min 90%~35% A,16.1 min~20.0 min 35% A;
- d) 流速:1.0 mL/min;
- e) 柱温:30℃;
- f) 进样量:20 μL ;
- g) 检测波长:235 nm(0 min~10.0 min);289 nm(10.0 min~20.0 min);
- h) 检测器:紫外检测器。

7.2.2 液相色谱测定

根据样液中双甲脒残留量情况,选定峰面积相近的标准工作溶液。标准工作溶液和样液中双甲脒及其代谢物响应值均应在仪器检测线性范围内。对标准工作溶液和样液等体积参插进样进行测定。在上述色谱条件下,双甲脒的保留时间约为 13.44 min,其代谢物的保留时间约为 7.24 min。标准品色谱图参见图 A.1。

7.3 空白试验

除不称取试样外,均按上述步骤进行。

8 结果计算

8.1 结果用色谱数据处理机或按式(1)计算试样中双甲脒残留量,计算结果需扣除空白值。

$$X_1 = \frac{A_1 \cdot c_1 \cdot V_1}{A_{S1} \cdot m_1} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X_1 ——试样中双甲脒残留含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
 A_1 ——样液中双甲脒的峰面积;
 c_1 ——标准工作溶液中双甲脒的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);
 V_1 ——样液最终定容体积,单位为毫升(mL);
 A_{S1} ——标准工作溶液中双甲脒的峰面积;
 m_1 ——最终样液代表的试样量,单位为克(g)。

8.2 结果用色谱数据处理机或按式(2)计算试样中代谢物换算成双甲脒残留量,计算结果需扣除空白值。

$$X_2 = \frac{A_2 \cdot c_2 \cdot V_2}{A_{S2} \cdot m_2} \times 1.21 \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- X_2 ——试样中代谢物换算成双甲脒残留含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
 A_2 ——样液中双甲脒代谢物(2,4-二甲基苯胺)的峰面积;
 c_2 ——标准工作溶液中双甲脒代谢物(2,4-二甲基苯胺)的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);
 V_2 ——样液最终定容体积,单位为毫升(mL);
 A_{S2} ——标准工作溶液中双甲脒代谢物(2,4-二甲基苯胺)的峰面积;
 m_2 ——最终样液代表的试样量,单位为克(g);
 1.21——由2,4-二甲基苯胺分子质量换算为双甲脒分子质量的转换系数。

8.3 双甲脒残留量按式(3)计算。

$$X_3 = X_1 + X_2 \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

- X_3 ——试样中双甲脒残留总含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
 X_1 ——试样中双甲脒残留含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
 X_2 ——试样中代谢物换算成双甲脒残留含量,单位为毫克每千克(mg/kg)。

9 检测低限、回收率

9.1 检测低限

本方法的检测低限双甲脒为 0.01 mg/kg,双甲脒代谢物(2,4-二甲基苯胺)为 0.02 mg/kg。

9.2 回收率

蜂蜜中双甲脒在添加水平 0.010 mg/kg~0.100 mg/kg 范围内,其回收率为 99.8%~100.0%;双甲脒代谢物(2,4-二甲基苯胺)在添加水平 0.020 mg/kg~0.100 mg/kg 范围内,其回收率为 71.7%~73.6%。

附录 A
(资料性附录)
标准品色谱图

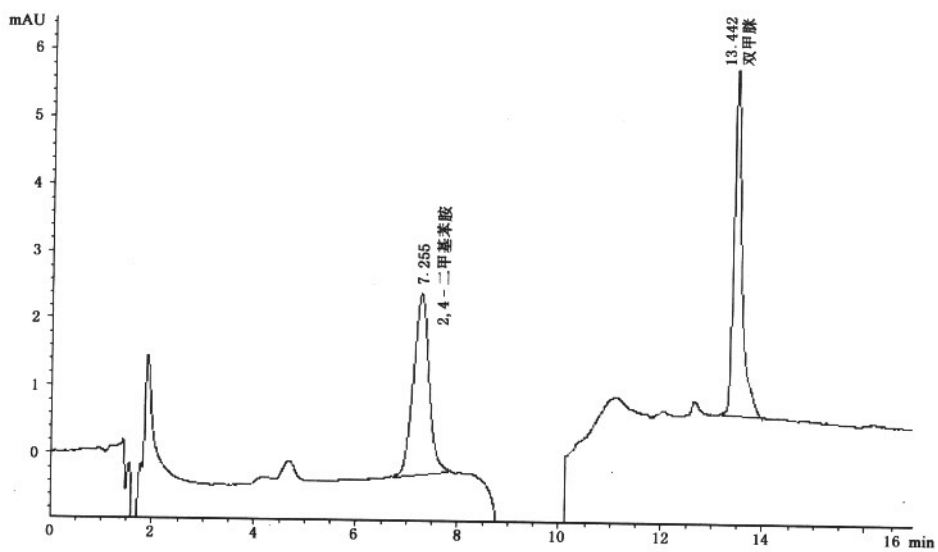


图 A.1 双甲脒及双甲脒代谢物(2,4-二甲基苯酚)标准品的液相色谱图