



中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.21—2003
代替 GB/T 5009.21—1996

粮、油、菜中甲萘威残留量的测定

Determination of carbaryl residues in cereals, oils and vegetables

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准代替 GB/T 5009.21—1996《粮、油、菜中西维因残留量的测定方法》。

本标准与 GB/T 5009.21—1996 相比主要修改如下：

- 修改了标准的中文名称,标准中文名称改为《粮、油、菜中甲萘威残留量的测定》;
- 按照 GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第4部分:化学分析方法》对原标准的结构进行了修改。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准第一法由浙江省粮食科学研究所负责起草。

本标准第二法由卫生部食品卫生监督检验所、中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所负责起草。

本标准于 1985 年首次发布,1996 年第一次修订,本次为第二次修订。

粮、油、菜中甲萘威残留量的测定

1 范围

本标准规定了粮食、油、油料及蔬菜中甲萘威残留量的测定方法。

本标准适用于粮食、油、油料及蔬菜中甲萘威残留量的测定。

本方法检出限：高效液相色谱法为 0.5 mg/kg；比色法为 10 μ g；当取样量为 2 g 时，检出浓度为 5 mg/kg。

第一法 高效液相色谱法

2 原理

含有甲萘威的粮食经提取、弗罗里硅土净化后，浓缩，定容作为测定溶液，取一定量注入高效液相色谱仪，经分离用紫外 280 nm 检测器检测，与标准系列比较定量。

3 试剂

3.1 苯。

3.2 乙腈。

3.3 甲醇。

3.4 二氯甲烷。

3.5 无水硫酸钠：120℃干燥 4 h。

3.6 弗罗里硅土：120℃干燥 4 h，加入质量分数为 6% 的蒸馏水，摇匀，放置过夜后使用。

3.7 甲萘威标准溶液的配制：准确称取甲萘威标准品 (carbaryl, 99.3%)，用甲醇溶解并配制成 10.0 mg/mL 的标准储备液，储于冰箱中，使用时用甲醇稀释成 10 μ g/mL 的标准使用液。

4 仪器

4.1 高效液相色谱仪：带紫外检测器。

4.2 溶剂过滤器。

4.3 超声波仪。

4.4 KD 浓缩器或旋转式蒸发器。

5 分析步骤

5.1 提取

称取 20.00 g 经粉碎过 20 目筛的粮食试样于 250 mL 具塞锥形瓶中，准确加入 50 mL 苯，浸泡过夜，次日振荡提取 1 h，提取液过滤。

5.2 净化

取直径 1.5 cm 层析柱，先装脱脂棉少许。柱两头装 2 cm 高无水硫酸钠，中间装 6 g 弗罗里硅土。装好的柱先用 20 mL 二氯甲烷预淋，弃去预淋液，然后将 5 mL~10 mL 试样提取液倒入层析柱，用 70 mL 二氯甲烷少量多次淋洗，收集全部淋洗液，用 KD 浓缩器进行浓缩至近干（水浴温度 30℃），然后用甲醇溶解残余物，并定容至 5 mL。定容后经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤后，取 10 μ L 滤液注入高效色谱进行分离、检测。

5.3 液相色谱测定参考条件

5.3.1 色谱柱:不锈钢柱 μ -Bondpak C₁₈ 3.9 mm×30 cm。

5.3.2 检测器:紫外检测器波长280 nm,灵敏度 0.01~0.02。

5.3.3 流动相:乙腈+水(55+45)混合溶剂,流速 1 mL/min。

5.3.4 温度:室温。

5.4 测定

吸取 10 μ L 标准使用液及试样液注入色谱仪,以保留时间定性,用标准曲线法定量。

6 结果计算

粮食中甲萘威的含量按式(1)进行计算。

$$X = \frac{A \times 1\,000}{m \times V_2 / V_1 \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X ——粮食中甲萘威的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

A ——从标准曲线求出样液中质量,单位为微克(μ g);

V₁ ——样液定容的体积,单位为毫升(mL);

V₂ ——注入色谱的体积,单位为毫升(mL);

m ——试样的质量,单位为克(g)。

7 其他

甲萘威的液相色谱图,见图 1。

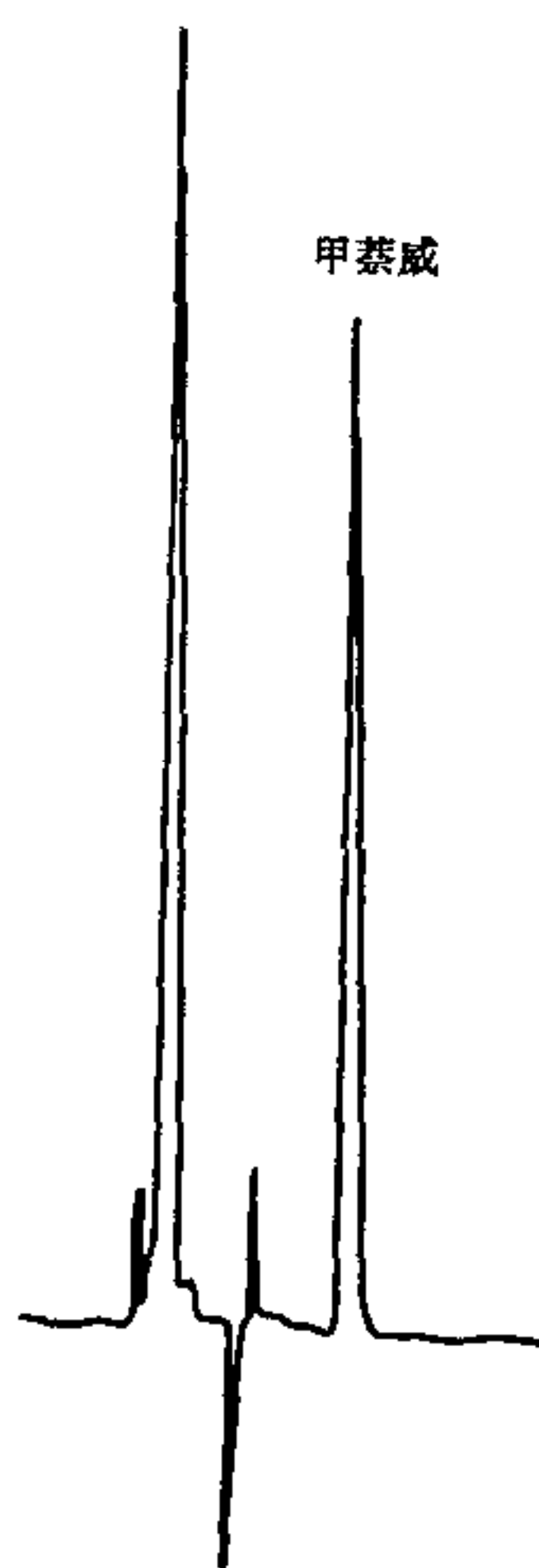


图 1 甲萘威标准色谱图

第二法 比色法

8 原理

在碱性条件下,甲萘威水解成 1-萘酚、二氧化碳和甲胺。在酸性条件下,1-萘酚和对硝基苯偶氮氟硼酸盐呈橙黄色,与标准系列比较定量。

9 试剂

- 9.1 二氯甲烷。
- 9.2 丙酮。
- 9.3 乙醇(95%)。
- 9.4 冰乙酸。
- 9.5 无水硫酸钠。
- 9.6 石油醚:沸程 30℃~60℃。
- 9.7 二甲基亚砜。
- 9.8 氯化钠。
- 9.9 硅藻土。
- 9.10 一缩二乙二醇溶液:一缩二乙二醇和二氯甲烷等体积混合。
- 9.11 丙酮(10%)。
- 9.12 凝固液:称取 0.5 g 氯化铵,溶于 400 mL 水中,加 1 mL 磷酸(85%)。
- 9.13 氢氧化钾-乙醇溶液(56 g/L):称取 5.6 g 氢氧化钾,溶于 10 mL 水中,加 95%乙醇稀释至 100 mL,临用时配制。
- 9.14 氯化钠溶液(100 g/L)。
- 9.15 氢氧化钠溶液(20 g/L):称取 2 g 氢氧化钠,加水溶解并稀释至 100 mL。
- 9.16 显色剂:称取 50 mg 对硝基苯偶氮氟硼酸盐,溶于 50 mL 冰乙酸-乙醇溶液(20%)中,临用时配制,过滤后使用。
- 9.17 甲萘威标准溶液:甲萘威结晶经无水乙醇两次重结晶纯化。熔点 142℃~145℃。准确称取 50.00 mg 甲萘威精制品,加二氯甲烷溶解,移入 100 mL 容量瓶中,加二氯甲烷至刻度,混匀。此溶液每毫升相当甲萘威 0.50 mg。
- 9.18 甲萘威标准使用液:吸取甲萘威标准溶液 1.0 mL 或 2.0 mL,置于 100 mL 容量瓶中,用二氯甲烷稀释至刻度,此溶液每毫升相当于 5.0 μg 或 10.0 μg 甲萘威。

10 仪器

- 10.1 分光光度计。
- 10.2 抽气泵。
- 10.3 恒温水浴锅。
- 10.4 电动振荡器。
- 10.5 脂肪提取器。
- 10.6 离心机。

11 分析步骤

- 11.1 提取
 - 11.1.1 粮食

试样经脱壳、磨粉,过 20 目筛并混匀。称取粮食试样 10.00 g,置 150 mL 具塞锥形瓶中,加 10 g 无水硫酸钠,混匀,加 40 mL 二氯甲烷,在振荡器上振摇 0.5 h,浸泡过夜,用滤纸过滤,弃去 2 mL~3 mL 初滤液,量取 20.0 mL 滤液,置于 50 mL 烧杯中,加 3 滴一缩二乙二醇溶液,放热水浴上挥干,如不太干,用吸耳球吹干。

11.1.2 油及油料

11.1.2.1 比较纯净的油:称取 5.00 g 混匀的试样,用 50 mL 丙酮分次溶解并洗入 100 mL 分液漏斗中。

11.1.2.2 毛油:称取 2.00 g~5.00 g 混匀的试样,用 40 mL 石油醚分次溶解并洗入 100 mL 分液漏斗中。

11.1.2.3 棉籽:试样经脱壳、磨碎、混匀。称取 10.00 g 试样装入滤纸筒中,置于 60 mL 脂肪提取器中,用 40 mL 石油醚提取 8 h,将提取液移入 100 mL 分液漏斗中。

11.1.3 蔬菜、水果

取可食部分洗净、晾干、切碎、混匀。称取 25.00 g 试样加 20 g 无水硫酸钠后,在乳钵中用力研碎,至植物组织全部研成泥状,再加 10 g 无水硫酸钠继续研磨至干粉状,移至 250 mL 具塞锥形瓶中,再用约 5 g 无水硫酸钠将乳钵研洗干净,一并移入具塞锥形瓶中,用二氯甲烷将乳钵研洗二次,每次 50 mL,洗净粘在乳钵上的残物,洗液并入具塞锥形瓶中,在振荡器上振摇 0.5 h,浸泡过夜,用滤纸过滤,弃去 2 mL~3 mL 初滤液,吸取 50.00 mL 滤液,置脂肪提取器的接收瓶内,加 3 滴一缩二乙二醇溶液,在水浴上蒸干溶剂至虹吸管内,弃去蒸出的二氯甲烷,直至蒸干,取下接收瓶,用吸耳球吹干残留溶剂。

11.2 净化

11.2.1 粮食

沿上述含提取物的烧杯壁,加入 3 mL 丙酮,使残渣完全溶解后,加 15 mL 凝固液,放置 15 min,并时时摇动。将垂熔漏斗下接抽滤器(或抽滤瓶),先铺一张滤纸,再铺一薄层约 1 g 的硅藻土作为助滤剂,用丙酮(10%)洗涤多次后备用;弃去洗涤液。将试样凝固液倾入准备好的垂熔漏斗中,放置 10 min 以上,慢速抽滤于下面的抽滤管内,抽干后,用滴管滴加约 2 mL 丙酮(10%),洗净烧杯内壁,洗液倾入垂融漏斗中,浸泡 1 min~2 min 后,再行抽干,如此重复 2 次~3 次。将滤液移至 25 mL 容量瓶中,用少量丙酮(10%)洗涤抽滤管,洗液并入容量瓶中稀释至刻度,混匀。

11.2.2 油及油料

11.2.2.1 比较纯净的油:在上述含有油样的丙酮溶液的分液漏斗中加 10 mL 水,轻轻摇匀,静置 1 h,弃去分出的油层,将丙酮提取液放入离心管中,以 2 500 r/min 离心 0.5 h,用滴管吸取上层澄清丙酮提取液,置于另一分液漏斗中,加 30 mL 二氯甲烷,振摇提取 1 min,放置 1 h,二氯甲烷层经盛有约 10 g 无水硫酸钠的漏斗滤入脂肪提取器的接收瓶中。在二氯甲烷液内加 3 滴一缩二乙二醇溶液,在水浴上将二氯甲烷蒸发至虹吸管内,弃去蒸出的二氯甲烷。分液漏斗内的水层用 10 mL 二氯甲烷振摇洗涤一次,经原无水硫酸钠漏斗滤入接收瓶中,继续蒸发至干,取下接收瓶,用吸耳球吹干残留溶剂。沿瓶壁加入 3 mL 丙酮溶解残渣,以下按 11.2.1 自“加 15 mL 凝固液……”起依法操作。

11.2.2.2 毛油:在上述含有油样的石油醚溶液的分液漏斗中,加 10 mL 二甲基亚砜,振摇 1 min,放置分层后,将二甲基亚砜分入另一分液漏斗中,石油醚层再用 10 mL 二甲基亚砜振摇一次,合并二次提取液,加 10 mL 石油醚振摇洗涤二甲基亚砜提取液一次。将二甲基亚砜层移入盛有 2 g 氯化钠和 150 mL 水的分液漏斗中,弃去石油醚层。二甲基亚砜水溶液用二氯甲烷提取四次,每次 25 mL,合并二氯甲烷提取液,用 7.5、5 mL 氢氧化钠溶液(20 g/L)振摇提取二次,以洗去植物中的天然酚类物质,弃去洗涤液。二氯甲烷层再用氯化钠溶液(100 g/L)洗涤二次,每次 15 mL,最后用 15 mL 水洗涤一次。二氯甲烷层经无水硫酸钠脱水滤入脂肪提取器的接收瓶中,以下按 11.2.2.1 自“在二氯甲烷溶液内加 3 滴一缩二乙二醇溶液……”起依法操作。

11.2.2.3 棉籽:按 11.2.2.2 毛油中的方法净化。

11.2.3 蔬菜、水果

沿上述含有提取物的接收瓶瓶壁加入 3 mL 丙酮,并转动以溶解瓶中提取物,加入 10 mL 凝固液,再转动接收瓶,使凝固液布满内壁,放置 10 min,并时时转动。以下按 11.2.1 自“将垂熔漏斗下接抽滤管(或抽滤瓶);先铺一张滤纸,再铺一薄层约 1 g 的硅藻土……”起依法操作。

12 测定

吸取 5.0 mL 甲萘威标准使用液(相当 50 μg 甲萘威),或 1.0 mL 甲萘威标准使用液(相当 1.0 μg 甲萘威,接近试样量),置于 50 mL 烧杯中,加 3 滴一缩二乙二醇溶液,在热水浴上挥干,加 3 mL 丙酮溶解,并加 15 mL 凝固液,混匀,移入 25 mL 容量瓶中,用丙酮(10%)洗涤烧杯,洗液并入容量瓶中并稀释至刻度,作为比色时的标准对照溶液。

吸取上述定容后的试样溶液和标准溶液各 5.0 mL,分别置于具塞刻度试管中,各加 2 mL 氢氧化钾-乙醇溶液(56 g/L),混匀,放置 2 min 后再各加 1 mL 显色剂,混匀。以水调整零点,用 1 cm 比色杯,于波长 475 nm 处测吸光度。

同时,另取两个试管,一管加入 5 mL 定容后的标准溶液,另一管加入 5 mL 定容后的试样溶液,用 2 mL 乙醇代替氢氧化钾-乙醇溶液,按上述方法同样操作,于波长 475 nm 处分别测吸光度,作为试剂空白和试样空白。

13 结果计算

试样中甲萘威的含量按式(2)进行计算。

$$X = \frac{A_1 - A_2}{A_3 - A_4} \times \frac{c}{m \times 5/25} \times \frac{1\ 000}{1\ 000} \dots\dots\dots(2)$$

式中:

X ——试样中甲萘威的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

A_1 ——试样管的吸光度的读数;

A_2 ——试样空白管的吸光度读数;

A_3 ——标准溶液管的吸光度读数;

A_4 ——试剂空白管的吸光度读数;

c ——标准溶液中甲萘威含量,单位为微克(μg);

m ——试样质量,单位为克(g)。

14 精密度

粮食取样 10 g 时,在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 5%。

油取样 2 g~5 g 时,在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15%。

棉籽取样 10 g 时,在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

水果、蔬菜取样 25 g 时,在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 5%。