

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1725—2009

**蔬菜中灭蝇胺残留量的测定
高效液相色谱法**

Determination of cyromazine residue in vegetables by HPLC

2009-04-23 发布

2009-05-20 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准由中华人民共和国农业部种植业管理司提出。

本标准由全国蔬菜标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：农业部蔬菜品质监督检验测试中心(北京)。

本标准主要起草人：刘新艳、刘肃、林桓、靳松。

蔬菜中灭蝇胺残留量的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了新鲜蔬菜中灭蝇胺残留量的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于黄瓜、番茄、菜豆、甘蓝、大白菜、芹菜、萝卜等蔬菜中灭蝇胺残留量的测定。

本标准方法的检出限为 0.02 mg/kg。

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

3 原理

试样中的灭蝇胺经乙酸铵—乙腈混合溶液提取、强阳离子交换萃取柱净化后，用高效液相色谱仪进行分离，在 215 nm 处六元环上的 π 电子被激发，用紫外检测器检测。根据标准物质色谱峰的保留时间定性，外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有说明，在分析中仅使用分析纯试剂和 GB/T 6682 中规定的至少二级的水。

- 4.1 乙腈(CH_3CN): 色谱纯。
- 4.2 甲醇(CH_3OH): 色谱纯。
- 4.3 乙酸铵溶液 [$c(\text{CH}_3\text{COONH}_4) = 0.05 \text{ mol/L}$]: 称取 7.70 g 乙酸铵($\text{CH}_3\text{COONH}_4$)，用水溶解后转移至 2 L 容量瓶中，用水定容至刻度。
- 4.4 乙酸铵—乙腈溶液(1+4): 量取 200 mL 乙酸铵溶液(4.3)至 1 L 容量瓶中，用乙腈(4.1)定容至刻度。
- 4.5 盐酸溶液 [$c(\text{HCl}) = 0.1 \text{ mol/L}$]: 吸取 8.5 mL 盐酸(HCl)至 1 L 容量瓶中，用水定容至刻度。
- 4.6 氨水—甲醇溶液(5+95): 吸取 5 mL 氨水($\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)至 100 mL 容量瓶中，用甲醇(4.2)定容至刻度。
- 4.7 乙腈—水溶液(97+3): 吸取 3 mL 水至 100 mL 容量瓶中，用乙腈(4.1)定容至刻度。
- 4.8 灭蝇胺标准品: 纯度 $\geq 95\%$ 。
- 4.9 灭蝇胺标准贮备液: 称取 0.01 g(精确至 0.000 1 g)灭蝇胺标准品，用乙腈(4.1)溶解并转移至 10 mL 容量瓶中，再用乙腈(4.1)定容至刻度，得到质量浓度约为 1 000 mg/L 的灭蝇胺标准贮备液。贮于 $-20^\circ\text{C} \sim -16^\circ\text{C}$ 冰柜中备用。
- 4.10 灭蝇胺标准工作溶液: 用乙腈(4.1)稀释灭蝇胺标准贮备液(4.9)，得到质量浓度为 1.0 mg/L 和 0.2 mg/L 的灭蝇胺标准工作溶液。
- 4.11 强阳离子交换萃取柱(SCX): 以硅胶为基质，键合有苯磺酸官能团，规格为 500 mg/6 mL。

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 和 0.01 g。
- 5.3 食品加工器。
- 5.4 均质器,6 000 r/min~36 000 r/min。
- 5.5 具塞比色管,100 mL。
- 5.6 旋转蒸发器。
- 5.7 氮吹装置。

6 试样制备

取蔬菜样品可食部分,用干净纱布轻轻擦去样本表面的附着物,采用对角线分割法,取对角部分,将其切碎,充分混匀,用四分法取样或直接放入食品加工器中加工成匀浆。匀浆试样放入聚乙烯瓶中,于 $-20^{\circ}\text{C}\sim-16^{\circ}\text{C}$ 条件下保存。称取试样时,常温试样应搅拌均匀;冷冻试样应先解冻再混匀。

7 分析步骤

7.1 提取与浓缩

称取试样 20 g(精确至 0.01 g)于 150 mL 烧杯中,加入 50 mL 乙酸铵—乙腈溶液(4.4),高速均质 2 min。均质液经铺有滤纸的布氏漏斗抽滤至 100 mL 具塞比色管中,再用约 30 mL 乙酸铵—乙腈溶液(4.4)冲洗烧杯和均质器刀头,均质 30 s 左右,洗液一并滤入上述 100 mL 具塞比色管中,并用乙酸铵—乙腈溶液(4.4)定容。盖上塞子,将滤液混合均匀。

用移液管准确吸取 10 mL 提取液至 150 mL 圆底烧瓶中,在旋转蒸发器上(水浴温度 40°C)浓缩至只含水的溶液(冷凝装置无液滴滴下),加入盐酸溶液(4.5)约 2 mL,待净化。

7.2 净化

依次用甲醇(4.2)、水各 5 mL 预淋活化强阳离子交换萃取柱(4.11),当溶剂液面到达柱吸附层表面时,立即将 7.1 所得溶液转移至 SCX 柱中。用 3 mL 盐酸溶液(4.5)将圆底烧瓶中的残余物洗入 SCX 柱中,并重复一次。然后依次用水、甲醇(4.2)各 5 mL 淋洗 SCX 柱,弃去所有流出液并将小柱抽干。

用 15 mL 氨水—甲醇溶液(4.6)分 3 次洗脱 SCX 柱,收集洗脱液于 150 mL 圆底烧瓶中。在旋转蒸发器上(水浴温度 40°C)浓缩至近干,氮气吹干后用 2.00 mL 乙腈—水溶液(4.7)溶解蒸残物,过 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔有机滤膜,待测。

7.3 色谱参考条件

- 7.3.1 色谱柱: NH_2 不锈钢柱,250 mm \times 4.6 mm,5 μm ;或性能相当的色谱柱。
- 7.3.2 流动相:乙腈—水溶液(97+3)。
- 7.3.3 流速:1.0 mL/min。
- 7.3.4 进样体积:10 μL 。
- 7.3.5 检测波长:215 nm。
- 7.3.6 柱温: 35°C 。

7.4 测定

分别将标准溶液和待测液注入高效液相色谱仪中,以保留时间定性,以待测液峰面积与标准溶液峰面积比较定量。

7.5 空白试验

除不加试样外,均按上述分析步骤进行操作。

8 结果计算

试样中灭蝇胺含量用质量分数 ω 计,单位以毫克每千克(mg/kg)表示,按下列公式计算:

$$\omega = \frac{\rho_s \times V_s \times A_x \times V_0 \times F}{V_x \times A_s \times m}$$

式中：

ρ_s ——标准溶液质量浓度，单位为毫克每升(mg/L)；

V_s ——标准溶液进样体积，单位为微升(μL)；

V_0 ——试样溶液最终定容体积，单位为毫升(mL)；

V_x ——待测液进样体积，单位为微升(μL)；

A_s ——标准溶液的峰面积；

A_x ——待测液的峰面积；

m ——试料质量，单位为克(g)；

F ——提取液体积/分取体积；

计算结果保留两位有效数字。

9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于这两个测定值的算术平均值的 15%。

在再现性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于这两个测定值的算术平均值的 30%。

10 色谱图

灭蝇胺标准溶液色谱图见图 1。

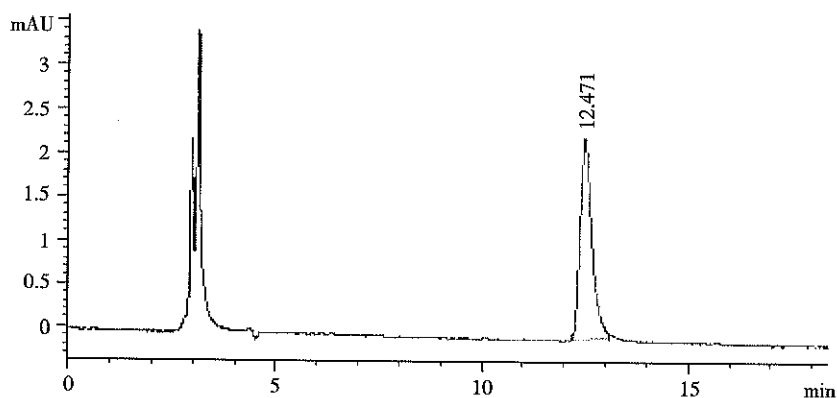


图 1 0.4 mg/L 灭蝇胺标准溶液色谱图