

# 中华人民共和国国家标准

农业部 1163 号公告—3—2009

---

## 动物性食品中双甲脒残留标示物检测 气相色谱法

Gas chromatographic method for the determination of marker  
residues of Amitraz in edible tissues

2009-02-06 发布

2009-03-01 实施

---



中华人民共和国农业部 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农业部提出并归口。

本标准起草单位：华中农业大学。

本标准主要起草人：袁宗辉、余欢、陶燕飞、王玉莲、陈冬梅、黄玲利、彭大鹏、戴梦红、刘振利。

## 动物性食品中双甲脒残留标示物检测 气相色谱法

### 1 范围

本标准规定了动物可食性组织中双甲脒残留标示物检测的气相色谱测定方法。

本标准适用于猪、牛、羊的脂肪、肝脏、肾脏中双甲脒及其代谢物 2,4-二甲基苯胺残留量的检测。

### 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 制样

#### 3.1 样品的制备

猪、牛、羊的脂肪、肝脏、肾脏组织,去除筋膜,绞碎,混匀。

#### 3.2 样品的保存

-18℃以下贮存。

### 4 测定方法

#### 4.1 方法提要

试样中双甲脒(及代谢物)水解成 2,4-二甲基苯胺,正己烷萃取,七氟丁酸酐衍生。气相色谱仪电子捕获检测器检测,外标法定量。

#### 4.2 试剂和材料

以下所用试剂,除特别注明者外均为分析纯;水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

4.2.1 双甲脒对照品:含量 $\geq 99.5\%$ 。

4.2.2 2,4-二甲基苯胺对照品:含量 $\geq 99.3\%$ 。

4.2.3 氢氧化钠:优级纯。

4.2.4 碳酸氢钠:优级纯。

4.2.5 无水硫酸钠:优级纯。

4.2.6 七氟丁酸酐:色谱纯。

4.2.7 正己烷:色谱纯。

#### 4.2.8 1 mol/L 的氢氧化钠溶液

称取氢氧化钠 40 g,用水溶解并稀释到 1 000 mL,配成 1 mol/L 的氢氧化钠溶液。

#### 4.2.9 碱性水溶液

取蒸馏水 1 000 mL,用 1 mol/L 的氢氧化钠溶液调 pH 至 9.0。

#### 4.2.10 饱和碳酸氢钠溶液的配制

称取碳酸氢钠 10.35 g,用水溶解并稀释到 1 000 mL,配成饱和碳酸氢钠溶液。

#### 4.2.11 双甲脒和 2,4-二甲基苯胺标准储备液

精确称取双甲脒和 2,4-二甲基苯胺对照品各 10.0 mg,用正己烷分别溶解,并定容至 10 mL,2℃~8℃保存。

#### 4.2.12 混合标准工作液

取双甲脒和 2,4-二甲基苯胺标准储备液适量,用正己烷稀释,配制成浓度分别为 10 μg/L、20 μg/L、50 μg/L、100 μg/L、200 μg/L、400 μg/L、800 μg/L 的混合标准工作液,2℃~8℃避光保存,有效期 1 周。

### 4.3 仪器和设备

- 4.3.1 气相色谱仪:配有电子捕获检测器。
- 4.3.2 分析天平:感量 0.000 01 g,感量 0.01 g。
- 4.3.3 离心机。
- 4.3.4 旋涡混合器。
- 4.3.5 组织匀浆机。
- 4.3.6 恒温干燥箱。

### 4.4 测定步骤

#### 4.4.1 试料的制备

试料的制备包括:

- 取均质后的供试样品,作为供试试料;
- 取均质后的空白样品,作为空白试料。

#### 4.4.2 提取和水解

称取试料(5±0.05)g 置于聚丙烯离心管中,加入碱性水溶液 10 mL,漩涡混匀,于 4 200 r/min 离心 10 min,转移上清液至聚丙烯离心管中,重复提取一次,合并 2 次提取液。70℃恒温干燥箱中静置水解 50 min。冷却后向提取液中加入正己烷 5.0 mL,漩涡混匀,静置 5 min,4 200 r/min 离心 10 min,将上层正己烷转移至另一聚丙烯离心管中,再加正己烷 5.0 mL 重复萃取一次,合并 2 次正己烷提取液。

#### 4.4.3 衍生和净化

取上述正己烷提取液 2.0 mL,加入七氟丁酸酐 10 μL,混匀后于 60℃恒温干燥箱中衍生 90 min,每隔 30 min 取出超声 5 min。衍生后静置 10 min,待冷却至室温后加入饱和碳酸氢钠溶液 2.0 mL,混合 1 min,中和多余的七氟丁酸酐,取有机相层并用无水硫酸钠 2.0 g 除水,将干燥后的有机相转移至进样瓶,供气相色谱检测。

#### 4.4.4 标准曲线的绘制

准确量取混合标准储备液适量,用在正己烷稀释成浓度为 10 μg/L、20 μg/L、50 μg/L、100 μg/L、200 μg/L、400 μg/L、800 μg/L 的混合标准工作液,经水解、衍生后供气相色谱分析,每个浓度进样 3 针,用平均峰面积与相应的标准溶液浓度作标准曲线,并计算回归方程及相关系数。

#### 4.4.5 测定

##### 4.4.5.1 参考色谱条件

- 色谱柱:Rtx-1 毛细管柱,柱长 30.0 m,内径 0.25 mm;
- 柱温:程序升温见表 1;

表 1 程序升温表

升温速率,℃/min	初始温度,℃	停留时间,min
	50	0
7	220	5

柱流速:1 mL/min,分析时间:27 min;  
 进样口温度:250℃;  
 进样量:1 μL;  
 载气:氮气(纯度≥99.999%),30 mL/min;  
 分流模式:分流,分流比 50:1;  
 检测器温度:300℃。

#### 4.4.5.2 色谱测定

取适量试样溶液和相应的 2,4-二甲基苯胺标准工作液,经过水解、衍生后进气相色谱测定,作单点校准,以色谱峰的面积定量。标准工作液水解的衍生产物及试料中药物水解的衍生产物响应值均应在仪器检测的线性范围内。

#### 4.4.6 空白试验

除不加试样外,采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

#### 4.5 结果计算与表述

试料中双甲脒的残留量按式(1)计算:

$$X = \frac{A \times C_s \times V \times 1.21}{A_s \times M} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$X$ ——试料中双甲脒残留量,单位为微克每千克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ );

$A$ ——试样溶液中 2,4-二甲基苯七氟丁酰胺的峰面积;

$A_s$ ——标准工作液中 2,4-二甲基苯七氟丁酰胺的峰面积;

$C_s$ ——标准工作液中 2,4-二甲基苯胺的浓度,单位为微克每升( $\mu\text{g}/\text{L}$ );

$V$ ——萃取用正己烷的体积,单位为毫升( $\text{mL}$ );

$M$ ——样品质量,单位为克( $\text{g}$ );

1.21——2,4-二甲基苯胺计算成双甲脒的校正系数。

### 5 检验方法灵敏度、准确度、精密度

#### 5.1 灵敏度

本方法在猪、牛、羊的脂肪、肝脏和肾脏组织中的检测限均为  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限均为  $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

#### 5.2 准确度

本方法在组织中添加浓度为  $20 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 100 \mu\text{g}/\text{kg}$  时的回收率为  $70\% \sim 110\%$ ,添加浓度为  $100 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 800 \mu\text{g}/\text{kg}$  时的回收率为  $80\% \sim 110\%$ 。

#### 5.3 精密度

本方法在组织中添加浓度为  $20 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 100 \mu\text{g}/\text{kg}$  的批内、批间变异系数  $CV \leq 17\%$ ;添加浓度为  $100 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 800 \mu\text{g}/\text{kg}$  的批内、批间变异系数  $CV \leq 11\%$ 。

附录 A  
(资料性附录)  
色谱图

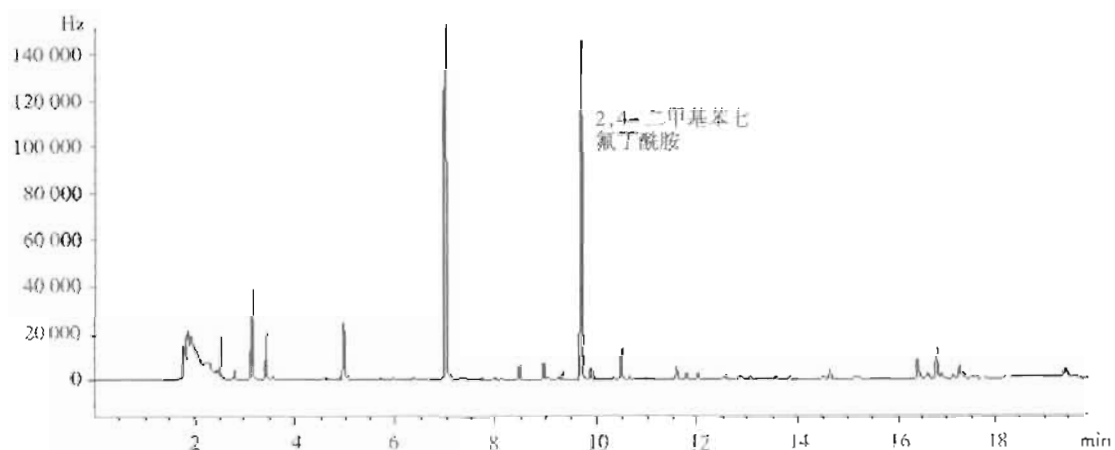


图 A.1 双甲脞和 2,4 二甲苯基脞总浓度为 100  $\mu\text{g/L}$  的标准溶液衍生物的色谱图

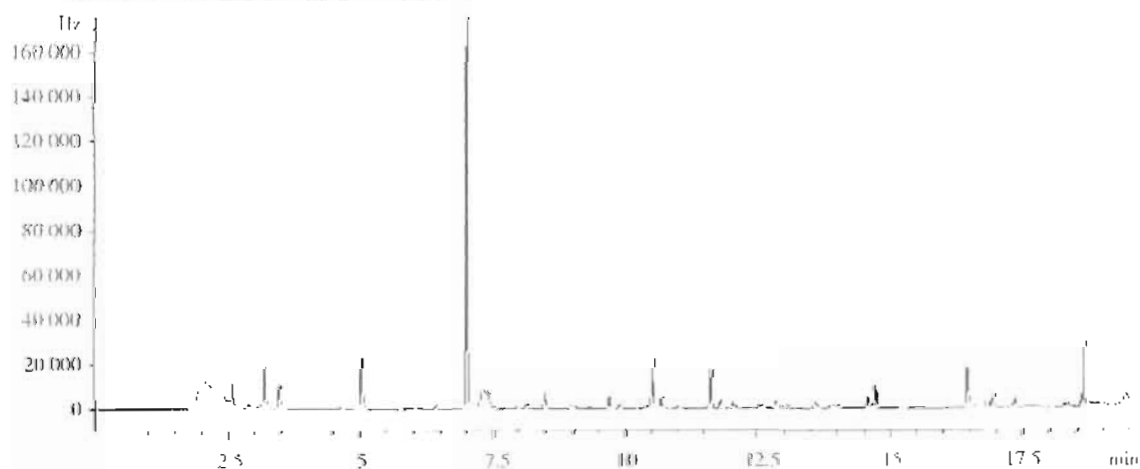


图 A.2 猪脂肪样品空白色谱图

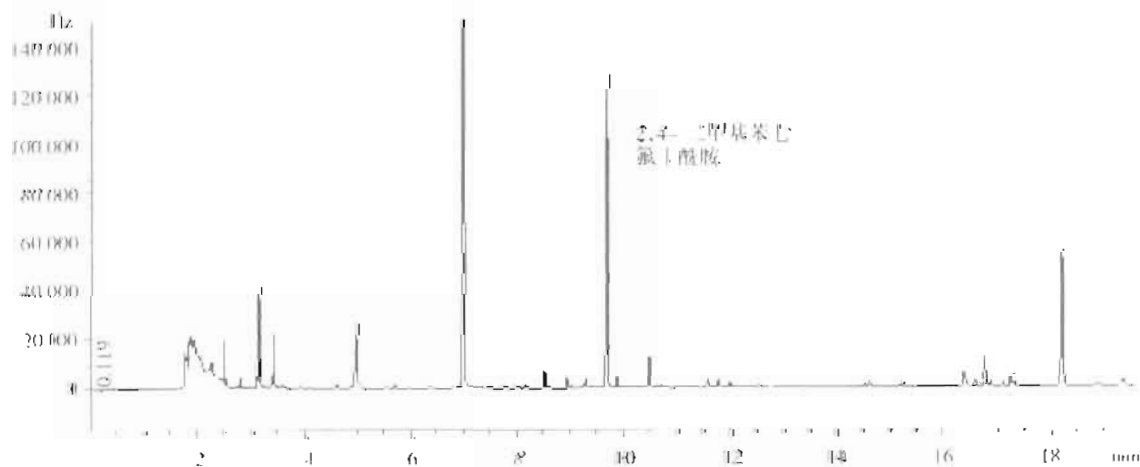


图 A.3 猪脂肪中添加药物总浓度为 200  $\mu\text{g/kg}$  的色谱图

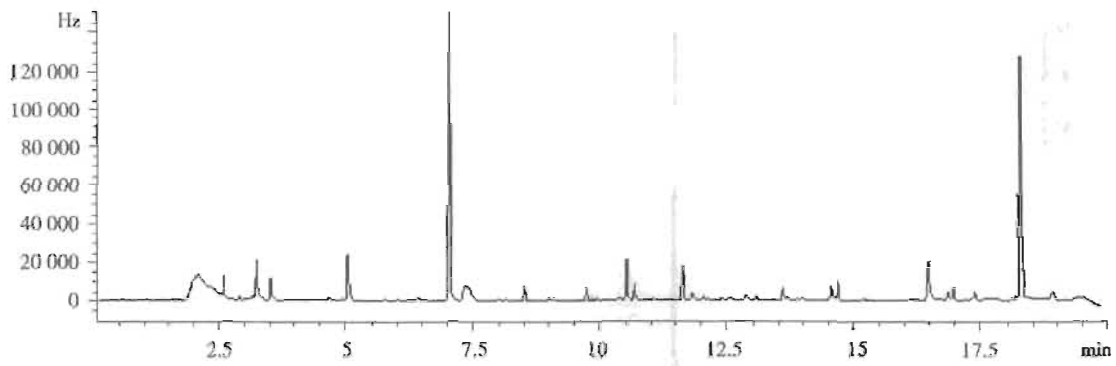


图 A. 4 羊脂肪样品空白色谱图

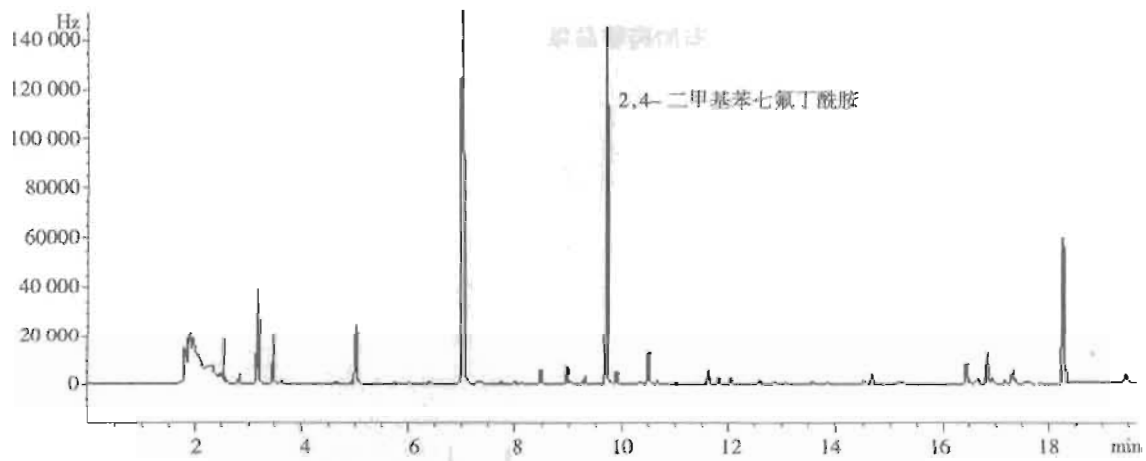


图 A. 5 羊脂肪中添加药物总浓度为 200 µg/kg 的色谱图

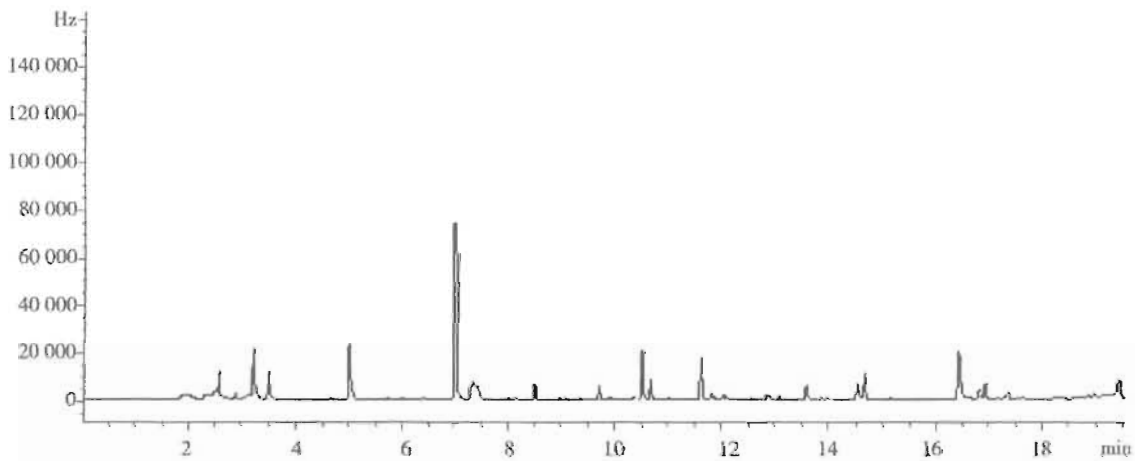


图 A. 6 猪肝脏样品空白色谱图

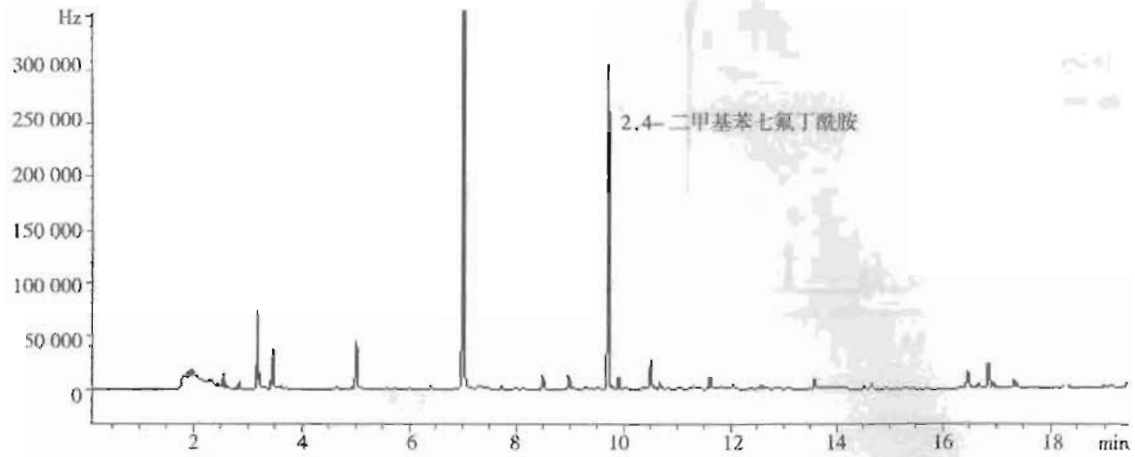


图 A.7 猪肝脏中添加药物总浓度为 200 µg/kg 的色谱图

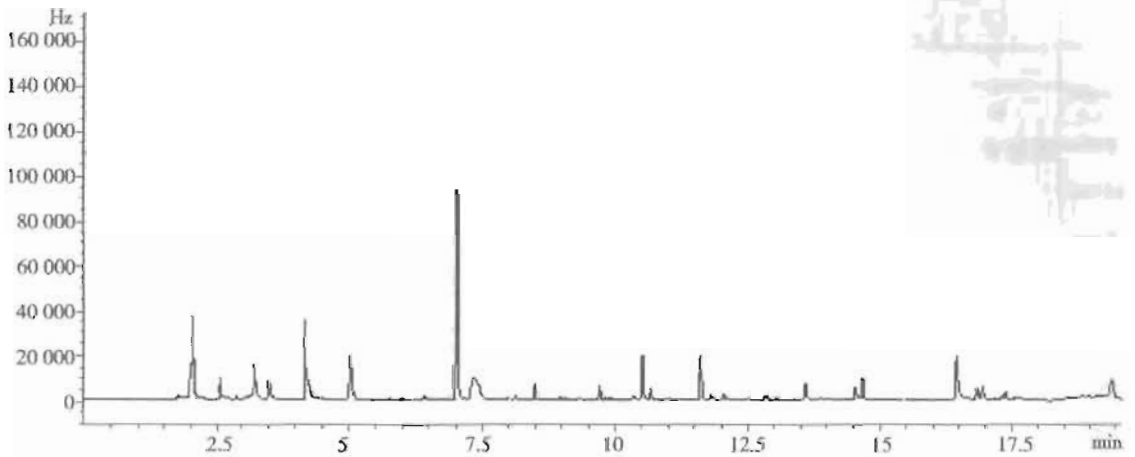


图 A.8 羊肝脏样品空白色谱图

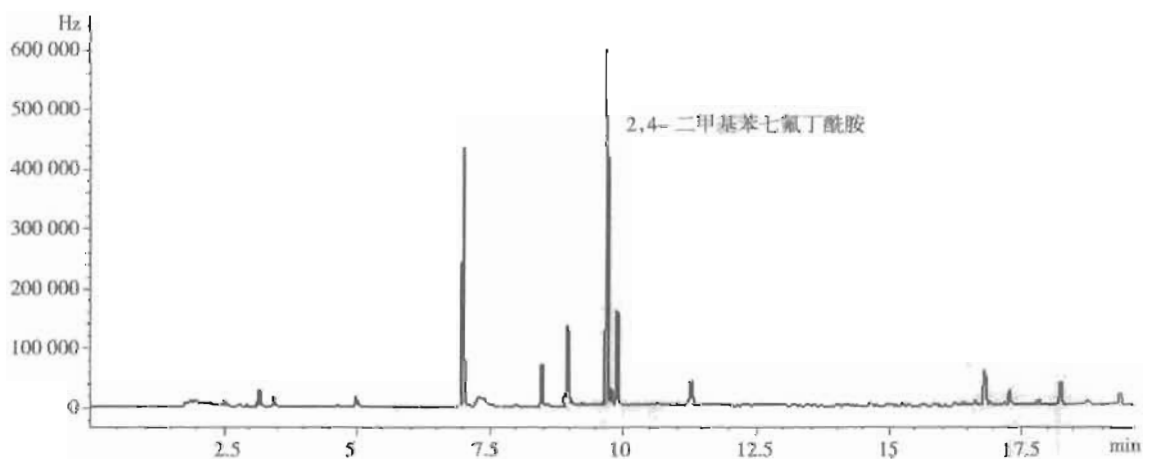


图 A.9 羊肝脏中添加药物总浓度为 200 µg/kg 的色谱图