

人参中异菌脲残留量的测定-高效液相色谱法

Determination of iprodione residues in ginseng - method of high performance liquid chromatography

2011 - 12 - 01 发布

2011 - 12 - 15 实施

吉林省质量技术监督局

发 布

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由吉林省农业委员会提出并归口。

本标准起草单位：吉林农业大学（农业部参茸产品质量监督检验测试中心）。

本标准主要起草人：李月茹、陈颖、陈丹、许焯炜、张敏、孟欣欣、陈晓林。

人参中异菌脲残留量的测定-高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了用高效液相色谱法测定人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.) 异菌脲残留量的方法。

本标准适用于鲜人参、生晒参和红参中异菌脲残留量的测定。

本标准方法的定量限为 0.18 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件, 仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件, 其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法。

《中华人民共和国药典》2010年版

3 原理

试样中异菌脲经有机溶剂提取、氨基固相萃取小柱净化、浓缩、定容, 微孔滤膜过滤后进样, 用反相高效液相色谱分离, 紫外检测器检测, 根据色谱峰的保留时间定性, 外标法定量。

4 试剂与材料

除非另有说明, 所用试剂均为分析纯试剂, 实验用水为GB/T 6682-2008 中规定的一级水。

4.1 二氯甲烷(CH_2Cl_2): 优级纯。取二氯甲烷 300 mL 置旋转蒸发仪中, 浓缩至 5 mL, 在本实验色谱条件下进样 5 μL 测定, 至高效液相色谱检测无干扰物。

4.2 甲醇(CH_3OH)。

4.3 甲醇-二氯甲烷溶液 [$(\text{CH}_3\text{OH}+\text{CH}_2\text{Cl}_2)=5+95$]。

4.4 石油醚(60-90 $^{\circ}\text{C}$)。

4.5 丙酮($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$)。

4.6 石油醚-丙酮溶液 (4+1)。

4.7 乙腈(CH_3CN): 色谱纯(HPLC)。

4.8 无水硫酸钠(Na_2SO_4): 350 $^{\circ}\text{C}$ 灼烧 2 h, 冷却后置干燥器备用(0 $^{\circ}\text{C}$ -4 $^{\circ}\text{C}$ 密封保存三个月)。

4.9 2% 硫酸钠溶液: 称取 20 g 无水硫酸钠(见 4.8), 加水溶解定容至 1000 mL。

4.10 异菌脲标准品: $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3$, CES 号: 36734-19-7, 含量为 99.5%。

4.11 异菌脲标准贮备液: 准确称取 0.0500 g 异菌脲标准品(见 4.10), 用乙腈(见 4.7)溶解并转入 50 mL 容量瓶, 用乙腈(见 4.7)定容, 得到 1000 mg/L 的标准贮备液, 贮存在 -4 $^{\circ}\text{C}$ 以下冰箱中, 保质期 6 个月。

4.12 异菌脲标准工作液：使用时根据异菌脲在紫外检测器上的响应值，准确吸取适量的异菌脲标准贮备液（见 4.11），逐级稀释，用乙腈（见 4.7）稀释配制成所需的标准工作液。并分别配制成质量浓度为 0.1、0.5、0.1、0.2、0.5 mg/L 的标准系列溶液，作标准工作液的标准曲线。

4.13 固相萃取小柱：氨基固相萃取（SPE）小柱。容积 6 mL，填充物 1000 mg，市售。

4.14 微孔滤膜：针孔式滤膜，滤膜孔径为 0.22 μm ，尼龙膜。

5 仪器设备

5.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器。

5.2 旋转蒸发仪。

5.3 超声波发生器。

5.4 分析天平：感量 0.1 mg 和 0.0001 g。

6 试样的制备

取不少于 100 g 人参干样（鲜样用组织捣碎机捣碎后 60℃ 烘干），用粉碎机粉碎，过 60 目筛，充分混匀后装瓶密封，置于冷冻室内 -18℃ 保存，待测。

7 分析步骤

7.1 提取

称取人参试样 1 g（精确至 0.0001 g），置于 50 mL 具塞锥形瓶中，用石油醚-丙酮溶液（见 4.6）作为提取液，先用 10 mL 提取液浸泡 2 h，然后在超声波发生器中提取三次，其中加提取液均为 10 mL，每次 30 min，滤纸过滤。用 15 mL 丙酮（见 4.5）分三次洗涤锥形瓶与残渣过滤。合并滤液置分液漏斗中，加入 2% 硫酸钠溶液（见 4.9）20 mL，振摇，静置分层后，弃去水层，有机层过无水硫酸钠（见 4.8）层析柱转至平底烧瓶中，并用 15 mL 石油醚（见 4.4）分三次洗涤硫酸钠层析柱合并洗液至 100 mL 平底烧瓶中。

7.2 净化

7.2.1 浓缩

将盛有淋洗液的 100 mL 平底烧瓶用旋转蒸发仪在 40℃ 水浴、40 rpm 和低于 0.06 Mpa 条件下，浓缩至试样少于 1 mL，取下用氮气吹至近干，立即加入 2.0 mL 甲醇-二氯甲烷（见 4.3）洗脱液，摇匀后待净化。

7.2.2 净化

先用 5 mL 甲醇-二氯甲烷溶液（见 4.3）洗脱液活化 SPE 柱（见 4.12）。然后将提取溶液上样，开始收集，再用 5 mL 甲醇-二氯甲烷溶液（见 4.3）洗脱液进行洗脱，并重复 1 次。收集洗脱液于 100 mL 平底烧瓶中，40℃ 下减压旋转浓缩近干后用 2 mL 乙腈定容，过 0.2 μm 滤膜（见 4.13），然后转移至 2 mL 螺口玻璃样品瓶中，密封，待测。以试剂作空白，按照样品溶液的测定条件进行测定。

7.3 测定

7.3.1 色谱参考条件

- 7.3.1.1 色谱柱: Eclipse XDB-C18, 250 mm×4.6 mm×5 μm, 或相当者。
- 7.3.1.2 流动相: 乙腈+水 (46+54); 流速 1.0 mL/min。
- 7.3.1.3 柱温: 30℃。
- 7.3.1.4 紫外检测波长: 225 nm。

7.3.2 测定

将仪器调至最佳状态后, 分别吸取10 μL标准工作液 (见4.12)、试样净化液 (见7.2.2) 和空白溶液 (见7.2.2), 注入液相色谱仪, 以保留时间定性, 用外标法定量, 异菌脲标准溶液谱图参见附录A。

8 分析结果计算

8.1 定性分析

测得的试样净化液 (见7.2.2) 中保留时间分别与异菌脲标准工作液 (见4.12) 的保留时间相比较, 如果试样净化液中保留时间与异菌脲标准工作液的保留时间相差在 ±5% 内, 均可认定为异菌脲。对于有检出的样品建议用 LC-MS 定性, 避免产生假阳性。

8.2 定量结果计算

样品以原样计, 异菌脲的残留量按式(1)计算:

$$X = \frac{c \times A_1 \times V}{m \times A_2} \dots\dots\dots (1)$$

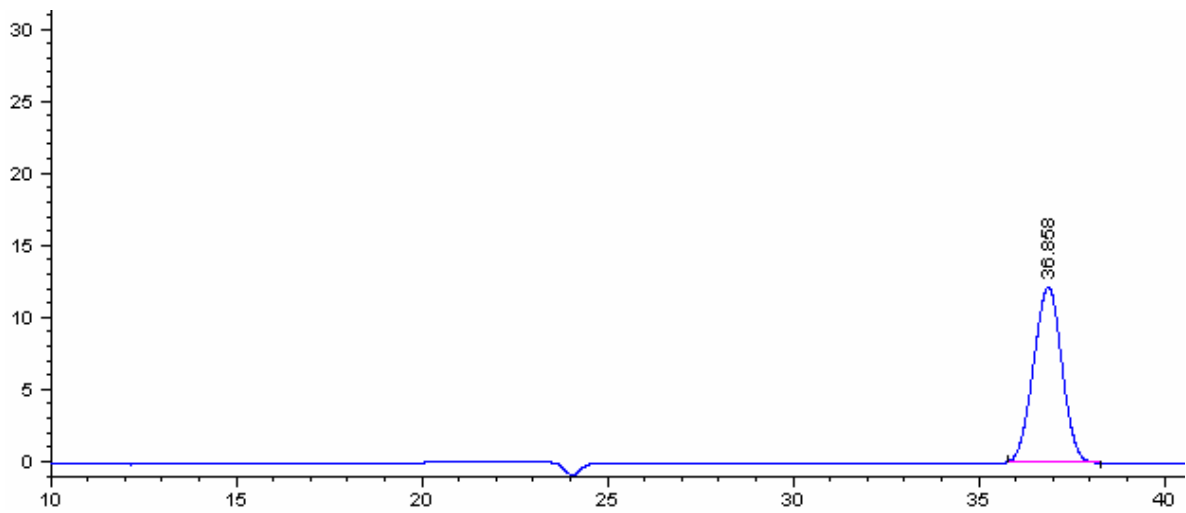
- 式中:
- X——样品中异菌脲的残留量 (mg/kg);
 - c——标准溶液中异菌脲的浓度, 单位为毫克每升 (mg/L);
 - A₁——样品测定液中异菌脲的峰面积;
 - A₂——标准溶液中异菌脲的峰面积;
 - V——样品上机前定容体积, 单位为毫升 (mL);
 - m——试料的质量, 单位为克 (g)。

9 精密度

在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算数平均值的 15%。

附 录 A
(资料性附录)
异菌脲农药标准溶液色谱图

A. 1 异菌脲农药标准溶液色谱图



图A. 1 异菌脲农药标准溶液色谱图