

DB22

吉 林 省 地 方 标 准

DB 22/T 2426—2016

人参中多菌灵残留量的测定 高效液相色谱 法

Determination of carbendazim residue in ginseng - high performance liquid
chromatography method

2016 - 03 - 21 发布

2016 - 05 - 01 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、GB/T 20001.4-2001 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：许焯炜、李月茹、赵丹、朱艳萍、张敏、孟欣欣、陈丹、陈颖、薛艳杰、李敏。

人参中多菌灵残留量的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了人参中多菌灵残留量液相色谱测定方法。

本标准适用于鲜人参、保鲜参、生晒参、红参中多菌灵残留量的测定。

本标准方法线性范围为：0.04 mg/kg~2.00 mg/kg（鲜人参和保鲜参）；0.08 mg/kg~4.00 mg/kg（生晒参、红参）。

本标准方法定量限为：鲜人参和保鲜参 0.04 mg/kg；生晒参、红参 0.08 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，仅所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 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

鲜人参 fresh ginseng

尚未经过干燥和加工的人参(*Panax ginseng* C.A.Mey.)。

3.2

保鲜参 fresh-keeping ginseng

以鲜人参为原料，洗刷后经过保鲜处理，能够较长时间贮藏的人参制品。

4 原理

试料采用乙腈振荡提取，经阳离子反相柱净化，去除脂溶性杂质，用高效液相色谱仪测定，标准曲线—外标法定量。

5 试剂与材料

除非另有说明，仅使用分析纯试剂，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 甲醇(CH₄O)：色谱纯。

5.2 乙腈(C₂H₃N)：色谱纯。

- 5.3 冰乙酸($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$): 色谱纯。
- 5.4 氨水($\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$): $\geq 28\%$ 。
- 5.5 盐酸(HCl): $\geq 37\%$ 。
- 5.6 氯化钠(NaCl)。
- 5.7 多菌灵标准品($\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$, CAS 10605-21-7): 纯度 $\geq 99\%$ 。
- 5.8 盐酸 $\{c[\text{HCl}] = 0.01\text{mol/L}\}$: 移取 0.9 mL 盐酸, 用水稀释并定容至 1000 mL。
- 5.9 氨水甲醇溶液 $\{w[\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}] = 5\%\}$: 量取 5 mL 氨水, 用甲醇稀释至 100 mL。
- 5.10 乙酸溶液 $\{w[\text{CH}_3\text{COOH}] = 0.5\%\}$: 准确吸取 5 mL 冰乙酸(5.3)于 1000 mL 容量瓶, 用水稀释至刻度, 经 0.45 μm 水相滤膜(5.14)过滤。
- 5.11 多菌灵标准储备溶液: 准确称取一定量(精确至 0.1 mg)多菌灵标准品, 用甲醇做溶剂, 加 1 mL 冰乙酸配成 100 mg/L 多菌灵标准储备液, 密封贮存在 -18°C 冰箱中, 使用期为 1 年。
- 5.12 多菌灵标准工作液: 准确称取适量的多菌灵标准储备溶液(5.11), 用甲醇逐级稀释至 10、5、1、0.5、0.2 mg/L, 标准工作液于 4°C 条件下密封保存, 使用期为 1 个月。
- 5.13 MCX 固相萃取小柱: 150 mg/6 mL(或性能相当的其它强阳离子交换固相萃取柱)。
- 5.14 滤膜: 0.22 μm 有机相滤膜; 0.45 μm 水相滤膜。

6 仪器设备

- 6.1 液相色谱仪: 配有紫外检测器;
- 6.2 分析天平: 感量 $\pm 0.1\text{ mg}$ 和 $\pm 0.01\text{ g}$;
- 6.3 离心机: 不低于 4000 r/min;
- 6.4 高速粉碎机: 100 μm ;
- 6.5 破壁食物料理机: 不低于 20000 r/min;
- 6.6 氮吹仪;
- 6.7 恒温水浴锅;
- 6.8 振荡器。

7 试样的制备

7.1 鲜人参和保鲜参

准确称取干净、切段的鲜人参或保鲜参样品 100 g 于破壁食物料理机中, 加入 80 mL 水, 以不低于 20000 r/min 的转速将样品制成糊浆状, 充分混匀后装入样品密封盒中 -18°C 保存, 备用。

7.2 生晒参、红参

取不少于 100 g 生晒参、红参或人参茶样品用高速粉碎机制成粉末(100 μm), 充分混匀后装入样品密封盒中 -18°C 保存, 备用。

8 分析步骤

8.1 提取

8.1.1 鲜人参和保鲜参

称取 18 g (精确至 0.01 g, 相当于 10 g 试料) 试料 (7.1) 于 100 mL 具塞离心管中, 加入 40 mL 乙腈, 封口后置于振荡器室温振摇提取 30 min, 取下盖子, 向离心管中加入 7 g 氯化钠, 拧紧盖子后剧烈振摇 1 min, 4000 r/min 离心 10 min, 吸取 20 mL 上层有机相于 100 mL 浓缩管中, 60 °C 水浴中氮气吹至近干, 用 5 mL 0.01 mol/L 盐酸 (5.8) 溶解残渣, 待净化。

8.1.2 生晒参、红参

称取 5 g (精确至 0.01 g) 试料 (7.2) 于 100 mL 具塞离心管中, 加入 15 mL 水摇匀后浸泡 0.5 h, 再加入 40 mL 乙腈, 拧紧盖子后置于振荡器室温振摇提取 30 min, 以下按 8.1.1 “取下盖子……待净化。” 过程处理。

8.2 净化

MCX 小柱 (5.13) 依次用 5 mL 甲醇、5 mL 水进行预处理, 当溶剂液面达上层筛板表面时, 再倒入上述浓缩管中待净化溶液 (8.1.1 或 8.1.2), 待液面下降至小柱填料表层, 依次用 5 mL 水和 5 mL 甲醇冲洗浓缩管并淋洗小柱, 弃去淋洗液, 最后用 5 mL 5% 氨水甲醇溶液 (5.9) 洗脱, 收集洗脱液于刻度试管中。在 50 °C 水浴中氮吹至近干, 用甲醇 + 5% 乙酸溶液 = 40 + 60 (v/v) 的混合溶液定容至 1 mL, 过 0.22 μm 滤膜, 待测。

8.3 空白实验

除不加试样外, 均按上述步骤进行测定。

8.4 平行实验

按以上步骤对同一试样进行平行测定。

8.5 参考色谱条件

8.5.1 检测器: 紫外检测器。

8.5.2 检测波长: 286 nm。

8.5.3 色谱柱: XDB-C₁₈ 250 mm × 4.6 mm × 5 μm 或相当者。

8.5.4 流动相: 甲醇 (5.1) 和乙酸溶液 (5.10), 梯度洗脱程序见表 1。

8.5.5 流速: 1.0 mL/min。

8.5.6 柱温箱: 35 °C。

8.5.7 进样体积: 10 μL。

8.6 测定

分别吸取 10 μL 0.2、0.5、1.0、5.0、10.0 mg/L 标准工作液 (5.12) 和净化后样品溶液注入液相色谱仪中, 按上述色谱条件进行分析, 根据多菌灵标准溶液的保留时间定性, 标准曲线—外标法定量, 多菌灵标准溶液谱图参见附录 A。

表1 梯度洗脱程序

时间/min	乙酸溶液/%	甲醇/%
0	85	15
5	85	15
10	60	40
20	60	40
25	5	95
35	5	95
40	85	15
45	85	15

9 结果计算

9.1 定性分析

测得的样品溶液（8.6）中保留时间（RT）与多菌灵标准溶液的保留时间（RT）相比较，如果样品溶液的保留时间与多菌灵标准溶液的保留时间相差在±5%内均可认定为多菌灵。

9.2 定量结果计算

试料中多菌灵的残留量以质量分数 ω 计，数值以毫克每千克（mg/kg）表示，按公式（1）计算：

$$\omega = \frac{V_1 \times V_3}{V_2 \times m} \times \rho \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- ρ ——标准曲线校正后从仪器读出的多菌灵的质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；
- V_1 ——提取液中有有机溶剂总体积，单位为毫升（mL）；
- V_2 ——吸取出用于检测的提取溶液的体积，单位为毫升（mL）；
- V_3 ——样品溶液定容体积，单位为毫升（mL）；
- m ——称取试样的质量，单位为克（g）。

注：鲜人参和保鲜参18 g称样质量按10 g计；计算结果保留两位有效数字，计算结果应扣除空白值。

10 精密度

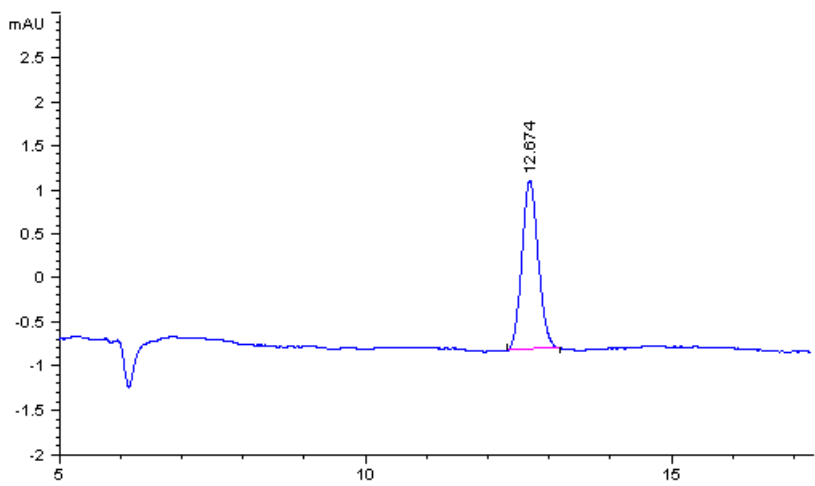
10.1 重复性

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于这两个测定值算术平均值的10%。

10.2 再现性

在再现性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于这两个测定值算术平均值的15%。

附 录 A
(资料性附录)
多菌灵标准溶液色谱图



图A.1 0.5mg/L 多菌灵标准溶液色谱图