出口油籽中丁酰肼残留量检验方法
分 光 光 度 法

Method for the determination of daminozide residues
in oil seeds for export—Spectrophotometric method

SN 0521—1996

前言

本标准是根据GB/T1.1—1 993《标准化工作导则 第1单元：标准的起草与表述规则 第1部分：标准编写的基本规定》及SN/T 0001—1995《出口商品中农药、兽药残留量及生物毒素检验方法标准编写的基本规定》的要求而进行编写的。其中测定方法是参考国内外有关文献，经研究、改进补验证后而制定的。本标准同时制定了抽样和制样方法。

测定低限是根据国际上对油籽中丁酰肼残留量的最高限量和测定方法的灵敏度而制定的。

本标准由中华人民共和国国家进出口商品检验局提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国天津进出口商品检验局。

本标准主要起草人：宋金凤。

1 范围

本标准规定了出口油籽中丁酰肼残留量检验的抽样、制样和分光光度测定方法。

本标准适用于出口花生仁中丁酰肼残留量检验。

2 抽样和制样

2.1 检验批

以不超过200t为一检验批。

同一检验批的商品应具有相同的特征，如包装、标记、产地、规格和等级等。

2.2 抽样数量

按式(1)计算抽样袋数：

$$a=\sqrt{N} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots(1)$$

式中：a—抽样袋数；

N—全批袋数。

注：a值取整数，小数部分向前进位为整数。

2.3 抽样工具

2.3.1 单管取样器：不锈钢管。全长55cm(包括手柄)，直径：2.5cm，沟槽长度应超过袋对角线长度的一半。

2.3.2 取样铲。

2.3.3 分样板。

2.3.4 样品筒(袋)：可密封。

2.3.5 分样布或适用桶装物。

2.4 抽样方法

2.4.1 侧包抽样

从堆垛的各部位随机抽取2.2规定的应抽样件数的10%(每批一般不少于3袋)，将袋口缝线全部拆开，平置于分样布或其他洁净的桶装物上。双手紧握袋底两角，提起约成45°倾角，侧拓(倒)m，使袋内货物全部倒出。检查货物的外观、气味，有无发霉、变质等，并查看袋内和响应品质是否均匀。确认情况正常后，用取样铲随机在各部位抽取样品，立即将样品倒入盛样器内。每袋抽取的样品量应与2.4.1基本一致。每批样品总量应不少于4kg。

2.4.2 袋内抽样

按2.2规定的应抽样件数的90%，在垛堆四周上、中、下各层以曲线形走向，随机抽取。将取样器(2.3.1)管臂朝下，从每袋一角作斜对角方向插入袋内，然后将管臂旋转朝上，抽出取样器，立即将样品倒入盛样容器内。每袋抽取的样品量应与2.4.1基本一致。每批样品总量应不少于4kg。

2.4.3 大样缩分

集中袋内和侧包抽样所取全部样品，倒入分样布上，用分样板按四分法缩分出样品不少于2kg，置于盛样器内，加封后标明标记并及时送交实验室。

2.5 试样制备

将样品按四分法缩分至1 kg，全部磨碎，混匀，均分成2份试样，装入洁净的容器内，密封，标明标记。

2.6 试样保存

将试样于－5℃以下避光保存。

注：在抽样和制样的操作过程中，必须防止样品受到污染或发生丁酰肼含量的变化。

3 测定方法

3.1 方法提要

在碱性条件下，试样中丁酰肼经用水蒸气蒸馏，水解成1，1—二甲肼阱而被蒸馏出，以酸性溶液接收。调整pH至5，用氯合五氯基亚铁酸三钠显色，于波长490 nm处，测定吸光度，从而计算丁酰肼含量。

3.2 试剂和材料

除另有规定外，试剂均为分析纯，水为蒸馏水。

3.2.1 氢氧化钠溶液：10%(m/V)、50%(m/V)。分别称取10 g、50g氢氧化钠，用少量的水溶解，稀释至100 mL。

3.2.2 草酸溶液：10%。称取10 g草酸，加水溶解至100 mL。

3.2.3 氯合五氯基亚铁酸三钠[Fe(CN)$_5$NO$_2$·xH$_2$O]溶液：0.1%(m/V)。称取0.1g氯合五氯基亚铁酸三钠，加水溶解并稀至100 mL。转移至棕色瓶中，贮于冰箱中。

3.2.4 酚酞指示剂溶液：1%(m/V)。称取1g酚酞，加95%乙醇溶解并稀至100 mL。

3.2.5 二甲替肼标准品：≥97%。

3.2.6 二甲替肼标准溶液：准确称取二甲替肼0.100 g于小烧杯中，用水溶解并转移至100mL棕色容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。此溶液浓度为1 000 μg/mL作为标准贮备液。

移取1 mL标准贮备液于另一个100mL容量瓶中，加水稀释至刻度。此溶液浓度为10μg/mL，作为标准工作液。

3.2.7 蜂蜡：化学纯。

3.3 仪器和设备

3.3.1 分光光度计：紫外/可见光。

3.3.2 粉碎机。

3.3.3 振荡器：往复式。

3.3.4 离心机：3000 r/min。

3.3.5 量筒：50、100 mL。

3.3.6 比色管：50 mL。

3.3.7 烧杯：50、100mL。

3.3.8 锥形瓶：具塞，50、250 mL。

3.3.9 移液管：1.0、5.0 mL。

3.3.10 玻璃棒。

3.3.11 通用试纸：pH 1～14。

3.3.12 水蒸气蒸馏装置：见图1。

A—两底烧瓶，1 000 mL；B—圆底烧瓶，1 000 mL；C—蒸馏凝气阀；
D—冷凝管；E—锥形瓶，50 mL

图 1 水蒸气蒸馏装置

3.4 测定步骤

3.4.1 蒸馏

称取粉碎混匀的试样约20 g(精确到0.1g)于250 mL具塞锥形瓶中，准确加水100 mL，振荡30min，静置后离心15min(3000 r/min)。移取60 mL～80 mL上清样液于蒸馏瓶(图中圆底烧瓶B)中，加入50%氢氧化钠50 mL、2g蜂蜡。用少量水冲洗瓶壁，将蒸馏瓶连接在水蒸气蒸馏装置上。蒸馏约30 min，蒸出液约35mL。蒸出液接受在先已加入5mL草酸溶液和2滴酚酞指示剂溶液的50 mL锥形瓶中。

3.4.2 测定

3.4.2.1 分光光度法条件

a)波长：490 nm；

b)扫描速度：480 nm/min；

c)仪器响应：2min；

d)狭缝：2nm；

e)光程：10 mm；

f)光源：钨灯。

3.4.2.2 标准曲线绘制

移取二甲替肼标准工作液(10μg/mL)0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、2.0、5.0mL，于一组50 mL比色管中，加入10%草酸溶液5mL、2滴酚酞指示剂溶液，再加入10%氢氧化钠约59.1mL，调至pH值为5。以下步骤按3.4.2.3进行，同时作试剂空白为参比液，以该度为吸光度绘制标准曲线。

3.4.2.3 样液测定

蒸出液(3.4.1)用1%氢氧化钠调整pH为5，加入0.1%氯合五氯基亚铁酸三钠溶液5mL，用水定容至50mL于比色管中，放置40 min～50min，在波长490 nm处测定吸光度。另一份不加试样，按上述测定步骤进行，所得溶液作为参比液。

3.5 结果计算和表述

按式(2)计算试样中丁酰肼残留的含量：

$$X=\frac{a}{m}\times 2.67 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots(2)$$

式中：X—丁酰肼残留的含量，mg/kg；

a—从标准曲线上查得二甲替肼的量，μg；

m—是终样液所代表的试样量，g；

2.67—丁酰肼与二甲替肼分子量之比(160.2/60.1)。

4 测定低限、回收率

4.1 测定低限

本方法的测定低限为0.02mg/kg。

4.2 回收率

回收率的实验数据：

丁酰肼添加浓度在0.02mg/kg时，回收率为81.3%；

丁酰肼添加浓度在0.5mg/kg时，回收率为89.0%；

丁酰肼添加浓度在1.0 mg/kg时，回收率为95.3%。