

1 主题内容与适用范围

本标准规定了出口蜂蜜中双甲胍残留量检验的抽样、制样和气相色谱测定方法。

本标准适用于出口蜂蜜中双甲胍及其代谢物残留量检验。

2抽样和制样

2.1 检验批

以不超过1 000件为一检验批。

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

批量，件	最低抽样数，件
1～50	5
51～100	10
101～500	每增100件，增取5件
501～1000	每增100件，增取2件

2.3 抽样工具

2.3.1 取样管：不锈钢管，长约115cm，直径约2.5cm。

2.3.2 混样器：搪瓷桶(或杯)。

2.3.3 单套杆：不锈钢制。

2.3.4 样品瓶：500mL磨砂盖广口玻璃瓶。

2.4 抽样方法

按2.2规定的抽样件数随机抽取，逐件开启。将取样管缓缓放入，吸取样品。如遇蜂蜜结晶时，则用单套杆或取样管插到底，抽取样品。每件抽取样品不少于100g。将所取样品倾入混样器，混合均匀，取出1kg作为实验室样品，装入干燥的样品瓶内。加封后，标明标记，及时送实验室。

2.5 试样制备

对无结晶的实验室样品，将其搅拌均匀。对有结晶的样品，在密闭情况下，置于不超过60℃的水浴中温热，振荡，待样品全部融化后搅匀，迅速冷却至室温。分出0.5kg作为试样。制备好的试样置于样品瓶中，密封，并标明标记。

2.6 试样保存

将试样于－18℃以下保存。

注：在抽样及制样的操作过程中，必须防止样品受到污染或发生残留物含量的变化。

3 测定方法

3.1 方法提要

试样中双甲胍及其代谢物在酸性条件下水解转化成2，4—二甲基苯胺。用异辛烷通过液—液蒸馏提取器提取2，4—二甲基苯胺，经液液分配进一步净化后，与七氟丁酸酐进行衍生化反应。2，4—二甲基苯胺的七氟丁酸酐衍生物用配有电子俘获检测器的气相色谱仪测定，外标法定量。

3.2 试剂和材料

所用水为蒸馏水或相当纯度的去离子水。所用试剂除特殊规定外均为分析纯。

3.2.1 乙酸溶液：2mol/L。

3.2.2 氢氧化钠溶液：1.0mol/L。

3.2.3 氢氧化钠溶液：25mol/L。

3.2.4 异辛烷：重蒸馏。

3.2.5 正己烷：重蒸馏。

3.2.6 盐酸溶液：0.1mol/L。

3.2.7七氟丁酸酐。

3.2.8 饱和碳酸氢钠溶液。

3.2.9 无水硫酸钠：经650℃灼烧4h，冷却后贮于密封瓶中备用。

3.2.10 沸石：酸洗后，蒸馏水洗净。

3.2.11 双甲胍标准品：纯度≥99%。

3.2.12 2，4—二甲基苯胺标准品：纯度≥99%。

3.2.13 双甲胍标准溶液：准确称取适量的双甲胍标准品，用异辛烷配成浓度为1.00mg/mL的标准储备溶液。根据需要再配成适当浓度的标准工作溶液。

3.2.14 2，4—二甲基苯胺标准溶液：准确称取适量的2，4—二甲基苯胺标准品，用异辛烷配成浓度为1.00mg/mL的标准储备溶液。根据需要再配成适当浓度的标准工作溶液。

3.3仪器和设备

3.3.1 气相色谱仪，配备电子俘获检测器。

3.3.2 微量注射器：5μL，10 μL。

3.3.3 液—液蒸馏提取器：141型，见图1。

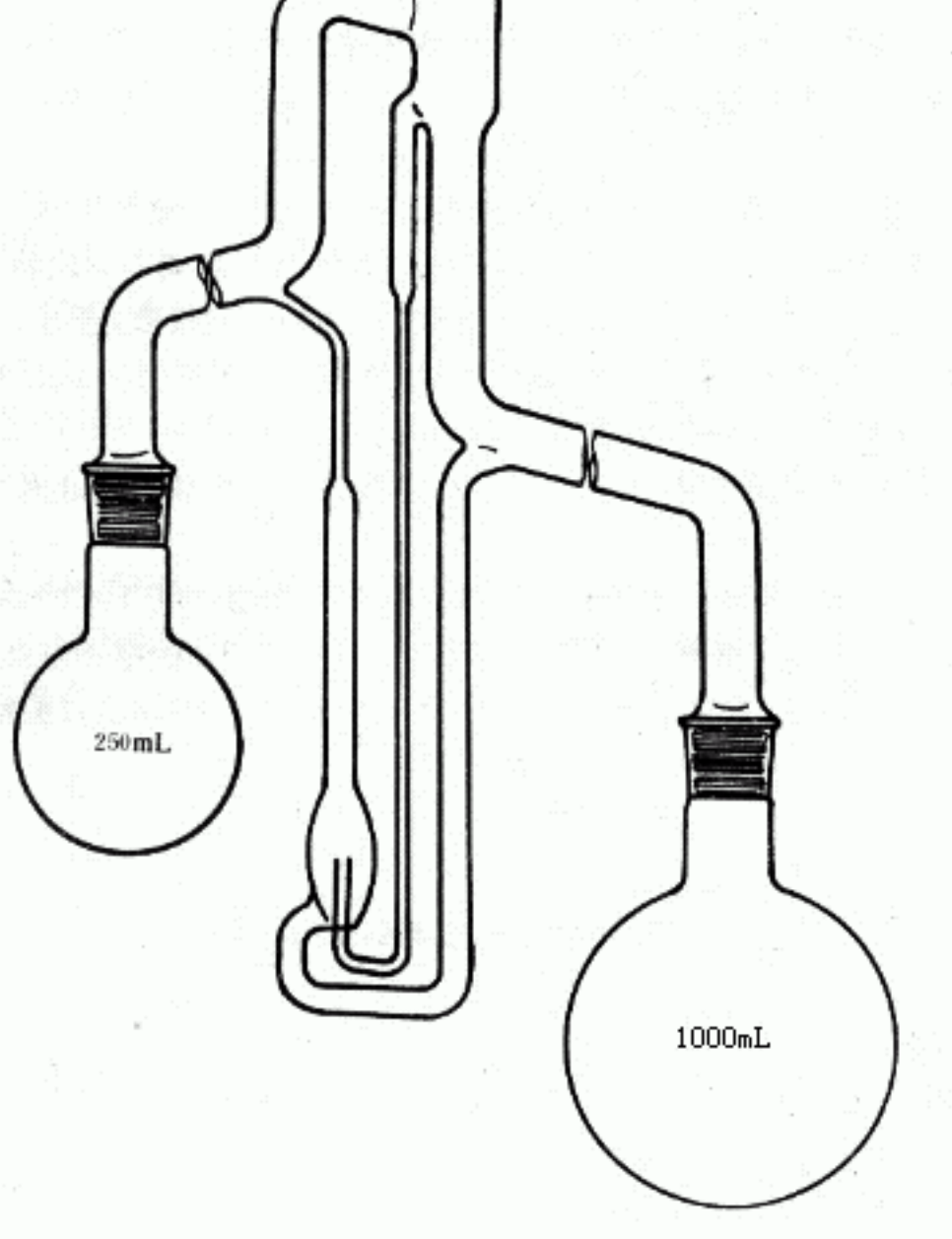


图1 液—液蒸馏提取器装配图

3.3.4 恒温水浴

3.3.5 旋转蒸发器。

3.3.6 振荡器

3.3.7 刻度试管：具磨口塞，10mL。

3.3.8容量瓶：50mL。

3.3.9 分液漏斗：50mL。

3.4 测定步骤

3.4.1 水解

称取蜂蜜样品50.0g(精确到0.1g)放入1L圆底烧瓶中，加入350mL去离子水和50mL乙酸溶液(2mol/L)，再加入几粒沸石。装上回流冷凝管，加热回2h。停止加热，仍不取下回流冷凝管，在室外温下继续通冷却水15min，移至冰浴中冷却15min。加入40mL氢氧化钠溶液(25mol/L)，继续在冰浴中冷却5min。

3.4.2 水蒸气蒸馏提取

将盛有样品水解液的烧瓶与液—液蒸馏提取器(图1)的低臂端(水边)相接，加40±5mL异辛烷到250mL的圆底烧瓶中，然后接到蒸馏提取器的高臂端(异辛烷边)。再将回流冷凝管接到蒸馏提取器顶端。加热水边烧瓶至沸腾后再加热异辛烷边烧瓶。控制两边的加热速率，以使冷凝下来的水和异辛烷的量相等(这可从蒸馏提取器的毛细管中连续不断地形成异辛烷珠滴大小来判断)。如此蒸馏提取操作1h。然后停止加热，使之冷却到室温。

3.4.3 净化

用液—液分配法对样品提取液作进一步的净化处理。从250mL圆底烧瓶中将异辛烷提取液转移到50mL容量瓶中，用少量异辛烷洗涤烧瓶三次，洗涤液一并加入此容量瓶后定容。充分混合后，从中吸取5mL移至50mL分液漏斗中，用3×3mL盐酸溶液(0.1mol/L)提取，合并三次提取液。再用3×3mL异辛烷洗涤三次，弃去有机相。在水相中加入3mL氢氧化钠溶液(1.0mol/L)，充分混匀。用3×3mL异辛烷提取，合并三次异辛烷提取液，定容至10mL。

在进行上述每次提取和洗涤操作时，对分液漏斗均需振荡5min，使有机相和水相充分混合。

3.4.4 衍生化

分别吸取4mL 2，4—二甲基苯胺异辛烷提取液及其标准工作溶液置于不同的10mL离心试管中，在各试管中分别加入10μL七氟丁酸酐(3.2.7)。加塞，混匀并在50℃水浴中加热1h。取出，冷却至室温，加入4mL饱和碳酸氢钠溶液，振荡1min。分层后将有机层吸出，经无水硫酸钠脱水后，供气相色谱仪测定。

3.4.5 测定

3.4.5.1 色谱条件

- a. 色谱柱：玻璃柱2×3mm(内径)，填充物为3%(m/m)OV—17涂于ChromosorbWHP(80～100目)；
- b. 色谱柱温度：120℃；
- c. 进样口温度：205℃；
- d. 检测器温度：265℃；
- e. 氮气：纯度≥99.99%，60mL/min。

3.4.5.2 色谱测定

根据样液中双甲胍含量情况，选定峰高相近的2，4—二甲基苯胺标准工作溶液。标准工作溶液和样液中经衍生化后的2，4—二甲基苯胺的响应值均应在仪器的检测线性范围内。对此标准工作溶液和样液等体积参插进样测定。在上述色谱条件下，2，4—二甲基苯胺的七氟丁酸衍生物的保留时间约为4.3min。

3.4.6 空白试验

除不加试样外，按上述测定步骤进行。

3.4.7 结果计算和表述

3.4.7.1 结果计算

用色谱数据处理机或按下式计算试样中双甲胍的残留量：

$$X=\frac{h\cdot c\cdot v\cdot d}{h_s\cdot m}\times 1.21$$

式中：X—试样中双甲胍的残留量，mg/kg；

h—试液中2，4—二甲基苯胺衍生物的峰高，mm；

h_s—标准工作液中2，4—二甲基苯胺衍生物的峰高，mm；

c—标准工作液中2，4—二甲基苯胺的浓度，μg/mL；

V—试液最终定容体积，mL；

m—称取的试样量，g；

d—取整份部分的系数；

1.21—由2，4—二甲基苯胺分子量换算为双甲胍分子量的转换系数。

注：计算结果需扣除空白值。

3.4.7.2 测定结果的表述

本检验方法的残留量测定结果系指双甲胍及其代谢物残留量之和，以双甲胍表示。

4测定下限、回收率

4.1 测定下限

本方法的测定下限为0.1mg/kg。

4.2 回收率

回收率的实验数据：双甲胍添加浓度在0.1～1.00mg/kg范围内，回收率为80.2%～97.8%。

附加说明：

本标准由中华人民共和国国家进出口商品检验局提出。

本标准由中国进出口商品检验技术研究所负责起草。

本标准主要起草人李淑娟、庄无忌、罗荣杰。