

饲料中六六六、滴滴涕的测定

1 范围

本标准规定了饲料中六六六和滴滴涕残留量的气相色谱测定方法。

本标准适用于配合饲料、植物性原料及鱼粉中六六六、滴滴涕异构体及衍生物的残留量的测定。

本标准不适用于检测含有机氯农药七氯的产品。

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

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 方法原理

样品中的六六六、滴滴涕采用含有少量丙酮的正己烷混合溶剂提取，过滤后定容，从中吸出一定量的提取液，净化后，正己烷洗脱液浓缩定容后直接注入气相色谱仪，电子捕获检测器检测，以外标法定性和定量。

本方法对各化合物的最小检出限见表1。

表1 化合物名称和方法最小检出限

通用名	ISO 1750 通用名	化学名称(IUPAC)	方法最小检出限 ($\mu\text{g/kg}$)
六六六	HCH	六氯环己烷(有下列四个异构体)	
甲体六六六	α -HCH	1, 3, 5 / 2, 4, 6-六氯环己烷	0.8
乙体六六六	β -HCH	1, 2, 4, 5 / 3, 6-六氯环己烷	2.4
丙体六六六(林丹)	γ -HCH	1, 2, 3, 4, 5, 6-六氯环己烷	1.6
丁体六六六	δ -HCH	1, 2, 3 / 4, 5, 6-六氯环己烷	1.6
滴滴涕(DDT)	DDT	二氯二苯基三氯乙烷(有下列四种衍生物)	
对,对'-滴滴涕	p, p' -DDE	1, 1-二氯-2,2-双(4-氯苯基)乙烯	2
邻,对'-滴滴涕	o, p' -DDT	1, 1, 1-三氯-2-(2-氯苯基)-2-(4-氯苯基)乙烷	2
对,对'-滴滴涕	p, p' -DDD(TDE)	1, 1-二氯-2,2-双(4-氯苯基)乙烷	5
对,对'-滴滴涕	p, p' -DDT(DDT)	1, 1, 1-三氯-2,2-双(4-氯苯基)乙烷	8

4 试剂

除特殊规定外，本标准所用试剂均为色谱纯，水应符合 GB/T 6682 一级水要求。

4.1 异辛烷。

4.2 正己烷：沸程 67.5℃～69.5℃。

4.3 丙酮。

4.4 提取液：正己烷-丙酮混合溶剂(22+3)。

4.5 发烟硫酸:含 SO_3 (20~25)%, 优级纯。

4.6 浓硫酸:优级纯。

4.7 磷酸:分析纯。

4.8 无水硫酸钠:500℃烘 4 h, 在高温烘箱中冷至 200℃左右, 放入干燥器中冷后密封备用。

4.9 吸附剂(柱层析用):

硅藻土 30 目~80 目

Celite 545 20 μm ~45 μm

500℃烘 4 h, 在高温烘箱中放冷至 200℃, 置于干燥器中冷后密封备用。

4.10 脱脂棉:用丙酮浸泡 30 min 后, 倾去丙酮再用正己烷浸泡 30 min, 弃去正己烷晾干备用。

4.11 六六六标准贮备液: ($c_{\text{HCH}} = 1.00 \text{ mg/mL}$);

滴滴涕标准贮备液: ($c_{\text{DDT}} = 0.100 \text{ mg/mL}$);

在国家标准物质管理部门认可的单位购买, 贮于安瓿中, 低温及避光下保存, 有效期 1 年。

4.12 六六六中等浓度贮备液 ($c_{\text{HCH}} = 1.00 \text{ } \mu\text{g/mL}$): 将 4 支六六六标准贮备液 (4.11), 分别用异辛烷 (4.1) 在棕色容量瓶中稀释 1 000 倍, 密封贮放于暗处, 4℃左右保存可稳定半年。

4.13 滴滴涕中等浓度贮备液 ($c_{\text{DDT}} = 10.0 \text{ } \mu\text{g/mL}$): 将 4 支滴滴涕的标准贮备液 (4.11), 分别在棕色容量瓶中用异辛烷 (4.1) 稀释 10 倍, 密封贮放于暗处, 4℃左右保存可稳定半年。

4.14 系列混合标准工作液: 分别用移液管吸六六六中等浓度贮备液 (4.12) α -HCH 10.0 mL, β -HCH 30.0 mL, γ -HCH 8.00 mL, δ -HCH 20.0 mL, 滴滴涕中等浓度贮备液 (4.13) p , p' -DDE 2.00 mL, o , p' -DDT 4.00 mL, p , p' -DDD 2.00 mL 和 p , p' -DDT 4.00 mL 置于一只 100 mL 棕色容量瓶中加异辛烷 (4.1) 定容。此液则为 6 号混合标准工作液, 并由此液逐步稀释后制得至少五种不同浓度的系列混合标准工作液, 贮于暗处 4℃左右保存不超过 2 个月。

系列混合标准工作液的质量浓度见表 2。

表 2 六六六、滴滴涕系列混合标准工作液的质量浓度 单位为皮克每微升

标准工作液	α -HCH	β -HCH	γ -HCH	δ -HCH	p , p' -DDE	o , p' -DDT	p , p' -DDD	p , p' -DDT
1 号	1.00	3.00	0.80	2.00	2.00	4.00	2.00	4.00
2 号	5.00	15.0	4.00	10.0	10.0	20.0	10.0	20.0
3 号	10.0	30.0	8.00	20.0	20.0	40.0	20.0	40.0
4 号	25.0	75.0	20.0	50.0	50.0	100	50.0	100
5 号	50.0	150	40.0	100	100	200	100	200
6 号	100	300	80.0	200	200	400	200	400

注意: 六六六、滴滴涕标准溶液有毒性, 需经浓氢氧化钾或六价铬酸洗液浸泡后, 才能洗涤。

5 仪器设备

实验室常用仪器设备及以下仪器设备。

5.1 分析天平: 感量 0.000 1 g 和感量 0.000 01 g。

5.2 电动振荡器和超声波提取器。

5.3 筒形漏斗: 内径 2 cm, 高 5 cm。

5.4 层析柱: 内径 8 mm~10 mm, 长 15 cm~20 cm。上端带一筒形漏斗贮液槽, 容量为 30 mL 左右。

5.5 载气: 高纯氮 99.99%。

5.6 气相色谱仪: 配备有电子捕获检测器。

5.7 色谱柱:

玻璃填充柱: 2 m× ϕ 3 mm, 内装 1.5% OV-17+2.0% QF-1/GCQ 80 目~100 目或 1.6% OV-17+6.4% OV-210/Chromosorb W-HP 80 目~100 目。

毛细管色谱柱: DB-5 柱长: 25 m 或 50 m; 内径: 0.32 mm; 膜厚: 0.25 μ m。或中等极性固定相的毛细管柱(如: SE-30、SE-54、OV-17)。

6 试样的制备

采样按 GB/T 14699.1, 样品制备按 GB/T 20195。

7 分析步骤

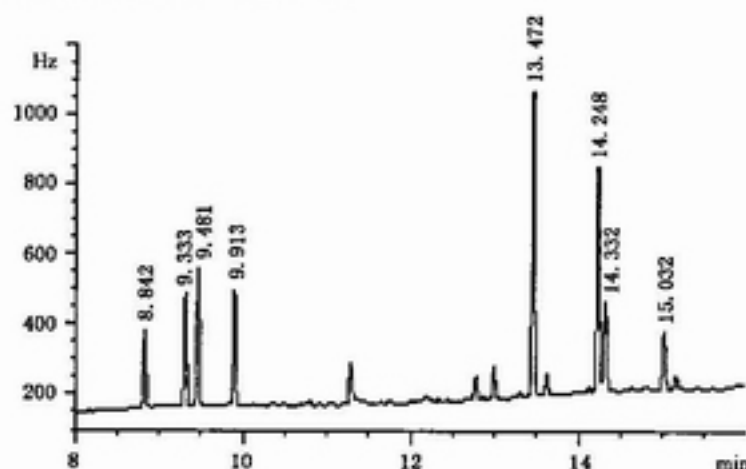
7.1 气相色谱仪调试

7.1.1 色谱条件

柱 型:	填充柱	毛细管色谱柱
检测器温度:	250℃	300℃
进样口温度:	230℃	270℃
柱箱温度:	210℃	80℃ 保持 1 min, 以 25℃/min 速度升至 180℃, 于 180℃ 保持 2 min, 再以 10℃/min 的速度升至 250℃ 并保持 6 min
载气流速(N ₂):	60 mL/min	1.0 mL/min
补充气(N ₂):		50 mL/min
进样方式:		不分流进样, 1 min 后打开分流阀

7.1.2 仪器灵敏度检查

进 1 号混合标准溶液(4.14) 1.0 μ L 或 5.0 μ L, 应能分别读出 8 个峰的峰面积或峰高, 并记下相应的保留时间(RT), 见图 1。



出峰顺序	化合物	保留时间/min
1	α -HCH	8.842
2	β -HCH	9.333
3	γ -HCH	9.481
4	δ -HCH	9.913
5	<i>p</i> , <i>p'</i> -DDE	13.472
6	<i>o</i> , <i>p'</i> -DDT	14.248
7	<i>p</i> , <i>p'</i> -DDD	14.332
8	<i>p</i> , <i>p'</i> -DDT	15.032

图 1 六六六、滴滴涕的色谱图

注意: 不同色谱柱的出峰顺序略有不同, 应以单个标样校对。

7.1.3 仪器性能考察

注入 *p*, *p'*-DDT 单个标准溶液(4.13) 约 0.20 μ L, 在 *p*, *p'*-DDE 的出峰位置上不应有分解峰。

7.1.4 仪器线性响应范围

进 6 种系列混合标准溶液各 1.00 μ L 以及 6 号 5.00 μ L, 确定其线性响应范围, 如采用镍源电子捕获检测器(ECD), 其线性响应范围应该为 $10^2 \sim 10^4$ 。

7.2 提取

在 100 mL 具塞三角烧瓶中, 称试样 5.000 g 左右, 加入提取液(4.4) 25 mL, 并滴加磷酸(4.7) 4 滴~

5 滴摇匀后加盖,在电动振荡器(5.2)振摇 30 min(60 次/min~80 次/min)或超声波提取器(5.2)提取 15 min,在筒形漏斗(5.3)里塞少许棉花(4.10)及 1 cm 厚无水硫酸钠(4.8),将提取液过滤入 25 mL 棕色容量瓶中,并洗涤残渣定容。此提取液摇匀备用。

7.3 净化

方法一:取 5 mL 提取液过层析柱(5.4),柱中塞入少许棉花(4.10),加约 0.5 cm 厚的无水硫酸钠(4.8),再加酸化硅藻土[1.5 g 硅藻土或 Celite545(4.9)置于玻璃研钵中,滴加 0.6 mL 硫酸(4.6)拌匀]立即装进柱里,敲实后在上面加约 1 cm 厚无水硫酸钠(4.8)。将 5.00 mL 提取液(7.2)放在装好的层析柱上,用正己烷(4.2)连续不断地以速度为 60 滴/min~90 滴/min 进行淋洗,并收集 10 mL 淋洗液,用氮气吹至近干,用正己烷定容 2 mL,即为待测样品净化液。

方法二:取 5 mL 提取液于离心试管中,加入 0.5 mL 浓硫酸,振摇 0.5 min,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液重复净化 1 次~2 次至无色,3 000 r/min 离心 10 min,上清液用 2%硫酸钠水溶液洗涤 2 次,弃去水层,用氮气吹至近干,用正己烷定容 2 mL,即为待测样品净化液。

7.4 气相色谱测定

将样品净化液(7.3)1 μ L~5 μ L,注进调试好的气相色谱仪(7.1)中,根据保留时间定性为何种化合物,最后记下其峰面积(A_s)。

7.5 空白试验

在不加饲料样品的情况下,按 7.2、7.3、7.4 各步骤进行,各种化合物的空白测定值应低于方法最小检测限(见表 1)。如高于方法最小检测限应扣除本底值。

8 结果的计算和表述

8.1 结果的计算

8.1.1 单点校正法

试样中农药残留量 ω ,以质量分数(μ g/kg)表示,按式(1)计算:

$$\omega = \frac{A_s \times m_s \times V}{A_n \times m \times V_i} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

A_s ——试样净化液中该组分的峰面积或峰高,单位为微伏秒或毫米(μ V·s 或 mm);

A_n ——与 A_s 峰面积相近的标准溶液中该组分的平均峰面积或峰高,单位为微伏秒或毫米(μ V·s 或 mm);

m_s ——与 A_n 相对应的标准溶液中该组分的质量,单位为皮克(μ g);

m ——试样质量,单位为克(g);

V ——试样净化液总体积,单位为毫升(mL);

V_i ——试样净化液进样体积,单位为微升(μ L)。

注:当空白试验该组分本底值高于方法最小检出限时, A_s 应扣除本底值。

8.1.2 多点校正法

进 1~6 号系列混合标准溶液后,求组分峰面积或峰高与组分质量回归方程式:

$$A_n = a \times m_n + b \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

A_n ——标准溶液中该组分峰面积或峰高,单位为微伏秒或毫米(μ V·s 或 mm);

m_n ——标准溶液中该组分的质量,单位为皮克(μ g);

a ——该组分校正曲线的斜率,单位为微伏秒每皮克或毫米每皮克(μ V·s/ μ g 或 mm/ μ g);

b ——该组分校正曲线的截距,单位为微伏秒或毫米(μ V·s 或 mm)。

故

$$m_s = \frac{A_s - b}{a} \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

m_s ——试样净化液中该组分的质量,单位为皮克(pg);

A_s ——试样净化液中该组分的峰面积或峰高,单位为微伏秒或毫米($\mu V \cdot s$ 或mm);

a, b ——见式(2)。

故

$$\omega = \frac{m_s \times V}{m \times V_i} = \frac{(A_s - b) \times V}{a \times m \times V_i} \quad \dots\dots\dots (4)$$

式中:

ω, A_s, V, V_i, m [见式(1)];

a, b [见式(2)]。

8.2 结果的表述

试样中六六六、滴滴涕各化合物的含量最后应以“ $\mu g/kg$ ”表述。组分含量低于 $10 \mu g/kg$,以1位有效数字表述;组分含量在 $10 \mu g/kg \sim 100 \mu g/kg$ 范围内,以2位有效数字表述;组分含量高于或等于 $100 \mu g/kg$,以3位有效数字表述。

组分含量低于方法最小检出限高于仪器检测限(二倍噪声)时,以“T”代表痕量;组分含量低于或等于仪器二倍噪声,以“ND”表示未检出。

六六六总量:

$$\omega_{HCH} = \omega_{\alpha-HCH} + \omega_{\beta-HCH} + \omega_{\gamma-HCH} + \omega_{\delta-HCH}$$

滴滴涕总量:

$$\omega_{DDT} = \omega_{p,p'-DDE} + \omega_{o,p'-DDT} + \omega_{p,p'-DDD} + \omega_{p,p'-DDT}$$

9 重复性

两次平行测定结果允许相对偏差值见表3:

表 3

含量/ $(\mu g/kg)$	允许相对偏差/(%)
<10	≤ 25
10~100	≤ 20
>100	≤ 10