

农药标准物质的 提纯与定值

国家进出口商品检验局 科研组 编著

中国对外经济贸易出版社

111703\17

1

111703\17

农药标准物质的提纯与定值

富恩承 葛志荣 孙兆芬 编著
王 华 宋金凤 齐立珠

中国对外经济贸易出版社

(京)新登字 062 号

农药标准物质的提纯与定值

国家进出口商品检验局科研组 编著

*

中国对外经济贸易出版社出版
(北京安定门外大街东后巷 28 号)

邮政编码 100710

新华书店北京发行所发行

一二〇一工厂印刷

*

850×1168 毫米 大 32 开本 10 印张 260 千字

1994 年 6 月第 1 版 1994 年 6 月第 1 次印刷

印数 1—2100 册

ISBN 7-80004-392-4

R·2

定价:8.50 元

序

为了与危害农作物的灾害进行斗争,人类不断的研制、生产和使用大量的各种类型的化学农药,保证了农作物的高产丰收,但同时也出现某些残留在农作物及食品中的农药给人们的健康带来了危害,引起国际社会对食品安全的普遍关注。各进口国对食品中农药残留规定了严格的限量标准,尤其是近几年来各进口食品的国家均提出了很多的农残项目,而且逐年增加,如日本在 1987 年只有 58 种商品规定 23 种农残限量,1991 年则增加到对 130 种商品规定 53 种农残限量。美国对肉类就规定了 126 种残留限量。在 1993 年又有新的要求,如日本对 40 多种商品规定了 20 多种残留限量,俄罗斯与韩国对进口农产品分别规定 30 种和 20 种残留项目,从发展趋势看,国外对农残的项目要求愈来愈多和严格,为了适应我国外贸的需要,为进出口商品检验,除了做好日常进出口检验工作外。国家进出口商检局组织力量每年要研制一批农药残留检验方法标准。对此不论是日常检验、制订标准或科研,首要的问题是要具备所需的农药标准物质,由于农药品种过多,寻求标准物质非常困难,为了适应实际的需要,在研究的基础上编写出《农药标准物质的提纯与定值》一书,以利工作。

在我国《进出口商品检验法》颁布实施后,于 1992 年 10 月又发布实施《进出口商品检验法实施条例》,它即是国家规范进出口商品检验工作的法律和行政法规,又是做好进出口商品检验的法律依据,为了依法施检加强把关,国家要求商检部门“要加快农残检验方法标准的制定”,本书的出版将会有助于加强出口食品中农药残留的检验把关,对进出口商品检验和管理有所裨益,也会对外贸、生产、科研工作有一定参考价值。

国家进出口商品检验局局长

王久安

1993 年 5 月 1 日

编 者 的 话

随着农药生产与使用不断的扩大,为了保证人身安全,世界各国政府均制定食品中农药残留量的限量规定,因此对农药残留的检验工作也逐渐增大,从而农药标准的物质短缺问题也愈来愈大,遗憾的是至今尚未见到有简易快速的农药提纯的书籍,供农残分析工作者使用。为了适应当前迫切需要,本书由山东进出口商品检验局葛志荣,天津进出口商品检验局富恩承、孙兆芬、宋金凤、齐立珠,天津市农资公司王华等同志参加编写。

本书系供测定食品、农副土畜产品等中农药残留量用的农药标准物质,主要介绍快速简便易行的薄层提纯法,此外,对纯度的测定 1993 年国际农残法典委员会公布推荐的 183 种农药残留量检验方法目录索引,以及 1992 年美国和日本政府公布的残留限量标准等也汇集入册。

本书作为制订《农残、兽残、生物毒素》检验方法的工具书。

在国家商检局副局长兼总工程师吕保英同志的关怀和指导下,我们不揣浅拙编写此书,以供各有关方面参考。

由于编者的水平有限,难免会出现不当之处,望请指正。

编 者

1993 年 5 月 1 日

引 言

与其他化工产品一样,农药标准物质一般分三级:一级标准物质是国内定值精度最高的化工标准物质,由国家计量部门颁发证书,统一管理;二级标准物质,定值精度比一级要低,由化工主管部门管理;三级属于日常检测工作的工作标准物质,根据实际工作需要,由生产或科研单位自己研制并定值。作为日常检测工作的工作标准物质,其定值精度较二级标准物质低。由于工作需要不同,农药工作标准物质还分为生产控制用工作标准物质;残留分析用工作标准物质;生物测试用工作标准物质等等。

工作标准物质纯度的测定一般可用一级或二级标准物质比对。而一级标准物质的测定则是非常繁重的工作。首先要定性,一般采用熔点、沸点、折光、红外、紫外、核磁等方法,还要采用薄层、毛细管色谱、液相色谱等方法筛分杂质,最后进行定量测定。

标准物质的定量测定首先考虑绝对法(或称权威法、定义法),包括经典的重量分析法;容量分析法;电量分析法(库仑分析法)等。

其次,在没有绝对法可用时,可考虑其他两种以上不同原理的独立可靠的方法。

只有一种非绝对方法时,应增加实验室进行协同定值,以弥补方法上的不足。

总之,一级标准物质纯度的测定是相当费工、费钱的工作。目前在我国能提供的农药一级和二级标准物质尚且不多。在没有一级或二级标准物质的比对情况下,很多试验室都采用绝对法来定值工作标样。

农药残留分析用工作标准物质需要的品种较多,因此迫切需

要一系列的定值方法来对工作标准物质进行监测或在试验室内对自己制做的工作标准物质进行定值。

这里介绍的是我们近年来对农药残留分析用工作标准物质定值的一套比较可靠、准确的方法。其中一部分也可用于产品控制用工作标准物质及生物测试用的工作标准物质上。

目 录

引言

第一章 工作标准物质的提纯及定性测定..... (1)

第一节 原料及其提纯..... (1)

第二节 工作标准物质的定性测定 (19)

第二章 残留分析用农药工作标准物质的定值方法 ... (21)

第一节 定值前的薄层分离 (21)

第二节 有效成分的定值方法 (26)

第三章 数据处理及仪器校正 (43)

第一节 测定结果数据的处理 (43)

第二节 容量仪器的校准 (49)

第四章 部分农药工作标准物质定值的具体操作 (53)

第一节 杀虫、杀螨剂..... (53)

一、有机磷类..... (53)

二、拟除虫菊酯类..... (82)

三、氨基甲酸酯类..... (88)

四、沙蚕毒素类..... (94)

五、有机氯杀虫剂..... (96)

六、杀螨剂类 (100)

第二节 杀菌剂..... (104)

第三节 除草剂..... (123)

第四节 其他..... (144)

附录一 FAO/WHO 国际农残法典委员会(CCPR)

1993 年公布推荐的 183 种农药残留量检验方法 (146)

附录二 美国农业部食品安全检验署(FSIS)1992 年 公布对家畜和家禽中 250 种农药、兽药等的残留限量	(190)
附录三 美国 FDA 规定人类食品和动物饲料中有毒 有害物质限量(Action Level)	(215)
附录四 日本 1987 年、1991 年农药残留限量	(230)
附录五 农药红外谱图	(276)

第一章 工作标准物质的提纯及定性测定

第一节 原料及其提纯

一、一般的农药工业品(原药)

即可做为制备工作标准物质的原料,也称候选物。

1. 含量较高的精细工业品可以直接用来作为工作标准物。在定值前应使物料均匀。固体物料应加以粉碎并混匀。粘稠状液体在定值前应先加温使其成流动性液体并使其均匀。

2. 非精细工业品一般不做候选物用,但在必要时应该在此类工业品做有效的提纯。

二、工作标准物质的提纯

必要时对一些候选物进行提纯,一般的提纯方法有重结晶法、柱层析法、薄层层析法、减压蒸馏法、区域熔溶法等。

(一)重结晶法

重结晶是精制固体化学成分最常用的一种方法,用溶剂将样品加热溶解,形成饱和溶液,乘热滤去不溶的杂质,滤液低温放置或蒸馏出部分溶剂,使主要成分在低温析出结晶,使可溶的杂质留在母液中,结晶纯度相对提高。纯度很差的样品,如中草药的粗提取物或提取部分,往往需要经过其他方法使纯度提高后再进行重结晶,否则很难得到结晶体。如欲得到高纯度的结晶,常常需要多

附录二	美国农业部食品安全检验署(FSIS)1992 年 公布对家畜和家禽中 250 种农药、兽药等的残留限量	(190)
附录三	美国 FDA 规定人类食品和动物饲料中有毒 有害物质限量(Action Level).....	(215)
附录四	日本 1987 年、1991 年农药残留限量	(230)
附录五	农药红外谱图.....	(276)

不相混合的溶剂不能作混合溶剂。

3. 操作

用水重结晶可在三角瓶或烧杯中进行。若为挥发性有机溶剂或低沸点溶剂,则在装有回流冷凝器的圆底烧瓶或三角瓶中进行,应用水浴加热,并注意安全。

将样品置于瓶内,加入部分溶剂与小块沸石,加热回流,分次加入溶剂使样品溶解,如有不溶解的杂质,乘热过滤除去。需脱色时,加入活性炭回流 5~10 分钟,过滤,用少量溶剂洗活性炭。将滤液放冷处,待结晶全部析出后,过滤,用少量冷溶剂洗结晶,取出结晶干燥。

4. 注意事项

(1) 脱色

如提取物含有色素,可加适量的活性炭脱色。活性炭也可吸附树脂等杂质,其用量视活性炭活性、所用溶剂极性、及所含杂质的量而定。常用量为固体的 1~2% 左右,加量过多,欲得成分可因被吸附而遭受损失。脱色时,应待样品全部加热溶解后,稍冷再加入活性炭,否则会发生暴沸,甚至有冲出的危险。水溶液脱色效率最高,低分子醇类次之,非极性溶剂效果不显著。

(2) 溶剂对样品的影响

有些溶剂能使某些成分发生变化,如常用的溶剂低分子醇对固体的酯类成分可发生酯交换反应,对有机酸及氨基酸盐酸盐结晶时也易生成酯,对这些应注意。

(3) 过滤

有常压和减压抽滤两种过滤法。重结晶溶液是一个热的饱和溶液,如遇到稍冷就易析出结晶的情况,则需要乘热过滤。为了避免过滤时析出结晶,可用热溶剂润湿和温热过滤漏斗和滤纸,有时则需要保温过滤。在制备标准样品时,应选用质量较好的滤纸,或在过滤前用溶剂反复洗至无纤维毛后再行过滤,以免在滤液中带入滤纸纤维,影响纯度。结晶溶液如含胶状物质,常常堵塞滤纸不

易过滤,可在滤纸上加一层硅藻土或石棉等助滤剂。

减压抽滤要用布氏漏斗等,应注意夹层内是否洗净。用无水的溶剂过滤时,滤纸与漏斗不易紧密,可先用少量水润湿滤纸,用纸或干净布压紧,同时先减压抽滤除去多余的水,使之贴紧漏斗,还需用无水溶剂洗去水分,然后再过滤溶液。

采用抽滤进行趁热过滤时,压力不宜抽得太低,否则滤液急剧蒸发,有沸腾溢出的危险,而且溶剂迅速挥发,残渣将滤孔堵塞因而影响过滤。

(4) 结晶的析出

结晶析出速度与样品纯度有关,样品越纯,结晶越容易析出。若温度降低慢则结晶慢慢形成,可以得到较大的结晶,在结晶形成的过程中有一个再溶解的过程,因此在纯度较差的情况下,慢慢降低温度,结晶包含下来的杂质较少,所以提纯效率较高。快速降温,析出结晶较快,较小。热的滤液滤入接受瓶,与冷瓶壁接触,容易析出固体,这样,析出固体不纯,应将滤液加热重新溶解,放置使之自行冷却,析出结晶。

有时滤液冷后析出油层,常常是因为样品溶解度太小、熔点低或质量太差,此时应增加溶剂用量或控制结晶温度,在较高温度下搅动结晶。

若冷后仍无结晶析出,可用玻璃棒磨擦瓶壁,或加入种晶(小颗粒结晶)加速结晶核的形成。

热的滤液待稍冷后,再塞紧瓶塞,否则冷后形成真空,有打不开或破裂的危险。

(5) 结晶的过滤与洗涤

结晶全部析出后,用抽滤法滤出结晶,当母液抽尽后,将结晶固体压紧,尽量抽除母液,然后停止抽气,加入少量冷溶剂浸泡片刻,再抽滤,反复数次。每次溶剂用量不宜过多,并用玻璃瓶塞等工具压平,使滤饼不产生裂缝,以免影响洗涤效果,最后一次洗涤后尽量抽干溶剂,取出结晶干燥。

若用高沸点的溶剂结晶,在洗涤结晶时,最后可以用对结晶不溶解并与此高沸点溶剂相混合的低沸点溶剂洗,可以加速干燥。

(6) 结晶的干燥

少量样品的快速干燥,可采用质量好的滤纸压吸溶剂进行干燥的方法。

易挥发的溶剂可于空气中晾干或用红外灯烘干。

熔点较高的样品,待有机溶剂挥发后,在烘箱中适当温度下烘烤。温度不可过高,否则产生熔融现象。含易燃溶剂的样品切勿在烘箱中烘烤,以免发生燃烧爆炸。

含水样品可在干燥器内用干燥剂常压或减压下干燥。

某些样品用水或醇结晶后,结晶中常常含有结晶水或结晶醇,可在适当温度下减压干燥 2~4 小时除去结晶溶剂,但有的成分结晶水或结晶醇结合比较牢,不易除去。

(7) 产品纯度的检查

结晶产品是否达到纯度要求,可以用薄层层析法将产品与标准品进行比较,如只得到一个单一成分,则纯度较高。也可用先后两次结晶样品的熔点进行对照,如熔点相同,熔距短,一般说来是比较纯的,但亦有例外。因此,检查产品纯度时应多采用几个指标,比较常用的为熔点、薄层层析法、纸层析法、比旋度等。

(二) 柱层析法

层析法也叫层离法、色层分离法或色谱法,是一种物理的分离方法,广泛地应用在天然化合物的分离和提纯。层析法分离的原理是利用混合物中各个成分的物理化学性质的差别,使各个成分以不同程度分布在两个相中,其中一个相为固定的,另一个相则流过此固定相,在流动过程中使各个成分以不同速度移动,从而达到分离。

由于操作方式的不同,层析法可分为柱层析、薄层层析、纸层析、气相层析及离子交换层析等。每种层析法都有其特点,应用时要按照工作的实际需要及可能性进行选择。一般讲,大量分离时宜

用柱层析法,少量混合物的分离可选用薄层层析法,而液体化合物及有些遇热不分解的固体化合物的分离可用气相层析,但后者需要比较特殊的设备。

柱层析通常又分为两类,即吸附柱层析法和分配柱层析法。某些固体物质,如氧化铝、活性炭等,具有吸附性能,可将一些物质自溶液中吸附到它的表面上。吸附力的强弱(亦即吸附的牢固与否)除去吸附本身的性质之外,并与被吸附的物质有关。吸附柱层析法就是利用吸附剂对不同物质的吸附力,即各成分在吸附剂与洗脱剂之间的分布情况不同,而达到分离的,但这是液体与固体之间的分布。分配柱层析法是利用混合物质在两种不相混溶的液体之间的分布情况,即溶解度的不同而得到分离。

层析法对研究有效成分,具有重要的作用。用它进行化学成分纯度鉴定,比过去的一些物理方法为优。因为纯化学成分在一定,的吸附剂上,只能显出一个均匀的色圈或点,操作简便,方法灵敏。一些结构相似,用普通方法不易分离的物质,用柱层析法往往能得到满意的分离效果。

1. 原理

用一根一端缩口的玻璃柱管,下端填棉花或玻璃毛,管内加入一些吸附剂,用一种溶剂润湿后,即成为一个吸附柱。然后在柱顶部加入被分离物的溶液。假设样品内含有 A 与 B 两种成分,则两者却被吸附剂吸留在柱的上端,形成一个色圈。样品溶液全部流入吸附柱中之后,接着就加入溶剂冲洗,成分 A 与 B 也将随着溶剂的向下流动而移动,最后得到分离,加入的溶剂就叫“洗脱剂”、或“显层剂”。冲洗过程叫“洗脱”、“冲洗”、“展开”、“扩展”或“显层”。管下端流出的液体叫“洗脱液”或“流出液”。成分 A 与 B 显出的色圈叫作“色带”或“色区”。

在显层过程中,加入溶剂来冲洗,管内就连续不断地发生溶解、吸附、再溶解、再吸附的现象。例如被吸附的成分 A 被溶剂溶解出来(解吸作用),随溶剂向下移动,又遇到新的吸附剂颗粒,又

把成分 A 自溶液中吸附提出,继续流下的新溶剂又使成分 A 溶解而向下移动。这样经过一段时间以后,成分 A 就会向下移动一定距离。这个距离的长短与溶剂及吸附剂两者对成分 A 的溶解力与吸附力有关。同样道理,成分 B 也向下移动。由于溶剂与吸附剂两者对成分 A 与 B 的溶解力与吸附力不完全相同,A 与 B 移动的距离也就不会相同。被吸附较弱的(如成分 A)也就是比较容易溶出的,移动的距离也就大些。经过适当的时间移动后,成分 A 与 B 就可完全分开,形成两个环带。若成分 A 与 B 有颜色,就能清楚地看到色层。如果样品无色,可借助紫外光下看萤光位置或用其它方法观察。为了把它们分别提出,可将吸附剂柱从管中顶出来,按照色带位置,用刀切割开,然后分别洗脱得出成分。现在采用溶剂洗脱法较多,即继续加溶剂直至各成分顺序全部由柱中洗出为止。这就是“洗脱法”。

2. 吸附剂

吸附剂的性质与选择,是吸附柱层析法中的关键性问题。选择适当,分离便能顺利进行。吸附剂的选择虽已积累了大量资料,但在具体实验时,还需通过实践而定。

(1)对吸附剂的要求

- A. 有大的表面积与足够的吸附能力。
- B. 对不同的化学成分有不同的吸附量,因而用洗脱剂冲洗时能显出色层。能较好地把不同化学成分分离。
- C. 与洗脱剂、溶剂及样品中各化学成分不起化学反应。
- D. 在所用的溶剂及洗脱剂中不溶解。
- E. 颗粒均匀,在操作过程中不会破裂。

(2)吸附剂的类别

- A. 有机类:有活性炭、淀粉、菊糖、蔗糖、乳糖、聚酰胺、纤维素等。
- B. 无机类:常用的有氧化铝、硅胶、氧化镁、碳酸钙、氢氧化钙、酸性白土等。