



中华人民共和国国家标准

GB/T 19611—2004

烟草及烟草制品 抑芽丹残留量的测定 紫外分光光度法

Tobacco and tobacco products—Determination of maleic hydrazide residues—
UV spectrophotometer method

(ISO 4876:1980, MOD)

2004-12-14 发布

2005-03-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准修改采用国际标准 ISO 4876:1980《烟草及烟草制品——马来酰肼残留量的测定》。

为便于使用,与 ISO 4876:1980 相比,本标准做了下列编辑性修改:

——标准名称:“马来酰肼(maleic hydrazide)”的通用名称应为“抑芽丹”;

——删除 ISO 4876:1980 的前言;

——删除 ISO 4876:1980 的参考资料;

——增加规范性引用文件,引用标准采用已经转化为国家标准或行业标准的国际标准。

本标准的附录 A 是规范性附录,附录 B 是资料性附录。

本标准由国家烟草专卖局提出。

本标准由全国烟草标准化技术委员会(TC144)归口。

本标准起草单位:国家烟草质量监督检验中心。

本标准主要起草人:张威、唐纲岭、朱水平、徐亮、宗维勇、刘惠民。

烟草及烟草制品 抑芽丹残留量的测定

紫外分光光度法

1 范围

本标准规定了烟草及烟草制品中抑芽丹残留量的测定方法。

本标准适用于烟草及烟草制品中抑芽丹残留量的测定。

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 19616 烟草成批原料取样的一般原则(GB/T 19616—2004,ISO 4874:2000,MOD)

YC/T 31 烟草及烟草制品 试样的制备和水分测定 烘箱法(YC/T 31—1996,ISO 2881:1992,eqv)

ISO 1042 实验室用玻璃器皿——单标线容量瓶

ISO 4793 实验室烧结(多孔)过滤器孔隙度、分级和命名

3 原理

将样品在氢氧化钠溶液中煮沸除去挥发性碱性化合物。加入锌粒,由新生态氢将抑芽丹还原成丁二酰肼,并随后水解。蒸馏释放出的联氨,分光光度法测定它与4-二甲氨基苯甲醛形成的黄色化合物。如有必要,可将试样先用酸消化,并用活性炭净化馏出液。

4 试剂与材料

使用分析纯试剂,水应为蒸馏水或同等纯度的水。

4.1 4-二甲氨基苯甲醛溶液,每升0.5 mol/L硫酸溶液中含20 g。

4.1.1 试剂的提纯:称取20.00 g 4-二甲氨基苯甲醛溶解于150 mL无水乙醇中,加入5 g活性炭,搅拌5 min。用布氏漏斗过滤。边搅拌边缓慢地将200 mL 0℃的水加入滤液中。用布氏漏斗过滤析出的白色或淡黄色结晶,并用50 mL冷水冲洗结晶。将结晶放入五氧化二磷真空干燥器中干燥,并储藏在深色瓶中备用。

4.1.2 溶液的配制:称取2.00 g提纯过的结晶溶于100 mL 0.5 mol/L硫酸溶液(4.6)中;如有必要,用烧结玻璃坩埚过滤。溶液于冰箱中避光保存可稳定一个月。否则应当日配制。

4.2 抑芽丹标准溶液,10 μg/mL。称取10 mg抑芽丹精确至0.1 mg,溶于100 mL 0.1 mol/L氢氧化钠溶液(4.5)中,用水稀释至1 000 mL。

4.3 锌粒,粒度500 μm,堆积密度不大于1.70 g/cm³。锌的纯度非常重要,建议进行检查。可以通过比较由硫酸联氨和4-二甲氨基苯甲醛的标准溶液产生的颜色和抑芽丹经还原及蒸馏之后产生的颜色来检查。

4.4 氢氧化钠溶液,12.5 mol/L。

4.5 氢氧化钠溶液,0.1 mol/L。

4.6 硫酸溶液,0.5 mol/L。

- 4.7 四水合氯化亚铁($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$):应检查其不与 4-二甲基氨基苯甲醛溶液产生颜色。
- 4.8 防泡沫剂(液体石蜡或精制植物油)。
- 4.9 防爆沸颗粒(如瓷环、沸石等)。
- 4.10 温度计插孔用高沸点油(如蓖麻油)。
- 4.11 烟叶,无抑芽丹,且具有与测试样品(见 7.4 注)相似的特性。

5 仪器

常用实验仪器及下述各项:

- 5.1 容量瓶,25 mL,100 mL,1 000 mL,按照 ISO 1042A 级的要求。
- 5.2 量筒,100 mL。
- 5.3 烧杯,250 mL。
- 5.4 布氏烧结玻璃漏斗,孔径级别 P100,按照 ISO 4793 的要求。
- 5.5 水蒸气蒸馏装置见图 1。

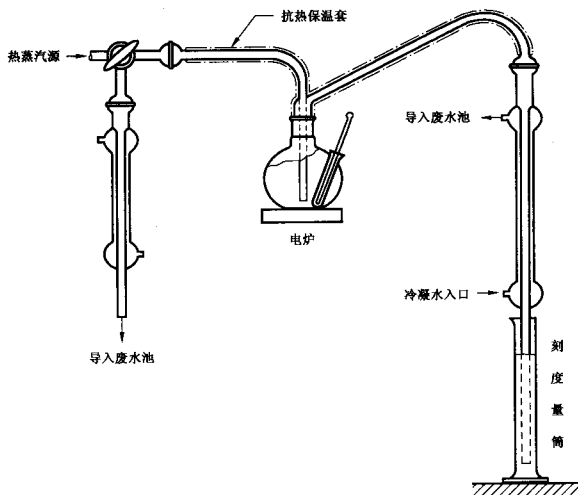


图 1 抑芽丹测定装置图

水蒸气蒸馏装置,包括:

- 蒸汽发生器;
- 反应/蒸馏瓶;
- 冷凝管;
- 调温电炉。

反应/蒸馏瓶为 500 mL 的平底厚壁烧瓶,带一个温度计插孔,内插一支 $0^{\circ}\text{C}\sim 360^{\circ}\text{C}$ 的温度计。

蒸汽发生器和反应/蒸馏瓶通过三通阀连接,第三个出口用做不需要蒸汽时导入废水池,这样当更换反应/蒸馏瓶时能使蒸汽发生器保持稳定的沸腾速度。

警告:整个装置要用安全隔板围起来。

- 5.6 分光光度计,可测定 425 nm、455 nm 和 485 nm 处的吸光度,配有 10 mm 比色皿。

6 采样

按 GB/T 19616 抽取样品。

7 操作步骤

7.1 样品的制备

按 YC /T 31 制备样品,测定样品水分含量。

7.2 试剂

称取 1 g 制备好的样品,精确至 0.01 g。

7.3 测定

如果需要,碱消化前可先用酸预消化(见附录 A)。

7.3.1 碱消化

把样品放入反应/蒸馏瓶中,加入 50 mL 氢氧化钠溶液(4.4),少许防泡沫剂(4.8)和几粒防爆沸颗粒(4.9)。将温度计插入含有高沸点油(4.10)的温度计插孔内。小心加热,不时旋动样品。持续加热使瓶中的内容物减少,直至温度达到 165℃,约需 10 min~15 min。然后冷却 5 min。

7.3.2 蒸馏(参见附录 B)

开启蒸汽发生器,以盛有 10 mL 硫酸溶液(4.6)的 100 mL 量筒(5.2)作为接收器,冷凝管末端应浸入硫酸中。加 0.5 g 氯化亚铁(4.7)和 15 g 锌粒(4.3)于反应/蒸馏瓶中。立即将反应/蒸馏瓶与整个装置连接起来,使蒸汽导入瓶中开始蒸馏,加热试样到 200℃±10℃。蒸馏过程中冷凝管冷凝应充分。使蒸馏瓶始终维持 200℃,保证 20 min 左右收集到 100 mL 馏出液。用水冲洗冷凝管末端,合并到馏出液中。冷却馏出液,用布氏烧结玻璃漏斗(5.4)将馏出液过滤到 250 mL 的烧杯中,用 5 mL 水冲洗量筒和漏斗。在烧杯中加少量防爆沸颗粒,在电炉上浓缩样品至约 6 mL(不得少于 6 mL)。馏出液也可用旋转蒸发仪浓缩。

如有必要,在进行下一操作前,馏出液可进行净化(参见附录 A)。

7.3.3 与 4-二甲氨基苯甲醛反应

冷却 7.3.2 所得浓缩馏出液,定量转入 25 mL(5.1)容量瓶中。加入 2 mL 4-二甲氨基苯甲醛溶液(4.1),用水定容至刻度。将容量瓶塞紧,摇动混和均匀,置于暗处 30 min。

7.3.4 分光光度计测定

将 7.3.3 所得溶液倒入 10 mm 比色皿中。

加 10 mL 硫酸溶液(4.6)和 2 mL 4-二甲氨基苯甲醛溶液(4.1)于 25 mL 容量瓶中,用水定容至刻度。以此溶液为参比溶液。

用分光光度计测定溶液在 425 nm、455 nm 和 485 nm 波长处的吸光度。

按式(1)计算溶液的校正吸光度 A_{corr} :

$$A_{\text{corr}} = A_{455} - \frac{A_{425} + A_{485}}{2} \dots\dots\dots (1)$$

式中 A_{425} 、 A_{455} 、 A_{485} 分别是溶液在 425 nm、455 nm 和 485 nm 处的吸光度。

如果 455 nm 处的吸光度超过 0.8,则应使用参比溶液稀释。

同一样品要进行两次平行测定。

7.4 标准曲线

在各为 1 g 的烟草试样(4.11)中分别加入 0 mL、1 mL、2 mL、5 mL 和 8 mL 的抑芽丹标准溶液,相当于 0~80 μg 抑芽丹。然后按 7.3.1、7.3.2 和 7.3.3 进行处理。

按 7.3.4 测定溶液的吸光度,绘制标准曲线。

注:如果没有合适的烟草样品用于制作标准曲线,也可以不使用烟草样品而直接用抑芽丹标准溶液制作。

8 结果的计算与表述

8.1 计算方法和公式

由标准曲线读取样品溶液中抑芽丹的含量。

抑芽丹的含量 R_p ，以微克每克表示，由式(2)得出：

$$R_p = \frac{m}{m_0} \times \frac{1}{1-w} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

m ——由标准曲线读取的样品溶液中抑芽丹的质量，单位为微克(μg)；

m_0 ——样品质量，单位为克(g)；

w ——样品水分含量，%(质量分数)。

稀释时进行校正(见 7.3.4)。

以两个平行测定结果的平均值作为结果。重复性应满足 8.2 的要求。

8.2 重复性

由同一操作者在同一时间或顺序进行的两个测定结果之间的差异，当平均值大于 $10 \mu\text{g/g}$ 时不应超过平均值的 5%；当平均值少于 $10 \mu\text{g/g}$ 时则不能超过 $1 \mu\text{g/g}$ 。

9 测试报告

测试报告应包含所用的方法和得到的结果。报告还应包含本方法未规定的、或是选择性的操作条件(如附录 A 所述的特殊程序)，以及可能对结果产生影响的其他情况。

报告应包含样品的唯一性资料。

附 录 A
(规范性附录)
选择性附加操作

A.1 概述

A.1.1 碱消化和蒸馏时烟叶中的蛋白质有时会引起大量的泡沫。A.2所述的酸预消化可以将蛋白质分解,减少泡沫产生。

A.1.2 有些烟叶,特别是碱性物质含量高的烟叶,含有干扰显色反应的天然物质,与4-二甲氨基苯甲醛反应产生红色。按A.3用活性炭处理馏出液可去除这种干扰。

A.1.3 除非分析人员认为所测试的样品需要,这些操作一般不需采用。

A.2 酸预消化

A.2.1 试剂

A.2.1.1 盐酸溶液,3 mol/L。将270 mL密度为1.18 g/mL的盐酸用水稀释至1 000 mL。

A.2.1.2 氢氧化钠溶液,700 g/L。

A.2.2 操作步骤

将试样移入反应/蒸馏瓶中。加入50 mL盐酸(A.2.1.1)和少量石蜡。加热反应/蒸馏瓶使溶液缓慢煮沸,直至液体体积减少为20 mL~25 mL。用25 mL水冲洗瓶壁,再次煮沸至瓶内液体体积减少至20 mL~25 mL。停止加热,静置冷却。

注:此部分消化的样品可以放置过夜。一但加入氢氧化钠,则应尽快完成整个操作过程。缓缓加入50 mL氢氧化钠溶液(A.2.1.2),边加边摇动。然后按7.3.1进行碱消化。

A.3 活性炭净化

A.3.1 试剂

A.3.1.1 活性炭

A.3.2 操作步骤

将7.3.2所得馏出液与2 g活性炭混合,摇动1 min,过滤后按7.3.2将溶液浓缩至6 mL。

附 录 B
(资料性附录)
蒸馏操作注意事项

B.1 蒸馏时安全隔板要放在合适的位置。

B.2 蒸馏结束后,取下热的反应/蒸馏瓶时应佩戴隔热手套和防护镜。取出温度计,用小木塞塞紧温度计插孔。将蒸汽导入管上的氢氧化钠冲洗干净。把反应/蒸馏瓶内的剩余物倒入水槽中的铁丝网上收集剩余锌粒。用水冲洗烧瓶三次,然后用10%(体积分数)盐酸溶液冲洗两次以除去固结的苛性碱和锌粒。烧瓶中装满盐酸溶液直至下次使用。

再次使用前,用水冲洗烧瓶三次。这样做是为了除去瓶内可能残留的锌粒,因为下次测定时锌的存在会造成抑芽丹在预消化阶段过早分解。
