

前言

本标准是根据GB/T 1.1—1993《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、改进和验证后而制定的。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水果中对酞酸铜残留量的最高限量和本测定方法的灵敏度而规定的。

本标准附录A为提示的附录。

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。

本标准由中华人民共和国天津进出口商品检验局负责起草。

本标准主要起草人：唐翊、佟晖、高晓敏。

本标准系首次发布的行业标准。

- 1 范围**
- 本标准规定了出口水果中对酞酸铜残留量检验的抽样、制样和液相色谱测定方法。
- 本标准适用于出口柑桔和苹果中对酞酸铜残留量的检验。

2 抽样和制样

- 2.1 检验批
- 以不超过1500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
1～25	1
26～100	5
101～250	10
251～500	15

- 2.3 抽样方法
- 按2.2规定的抽样件数，随机抽取，逐件开启。每件至少取500 g作为原始样品，原始样品总量不得少于2kg，放入清洁容器内，加封后，标明标记，及时送实验室。
- 2.4 试样制备
- 将所取原始样品缩分出1kg，取可食部分，用组织捣碎机捣碎，均分成两份，装入洁净容器内作为试样，密封，并标明标记。
- 2.5 试样保存
- 将试样于-18℃以下冷冻保存。
- 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残留物含量的变化。

3 测定方法

- 3.1 方法提要
- 试样于氢氧化钠溶液中加热回流，溶液经酸化后，用乙酸乙酯提取被分解出的对酞酸，提取物经甲酯化后，再经C₁₈柱净化，乙腈—水混合液洗脱，洗脱液用配有紫外检测器的液相色谱仪检测，外标法定量。
- 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 乙酸乙酯。
- 3.2.2 无水乙醇。
- 3.2.3 甲醇：液相色谱用。
- 3.2.4 乙腈：液相色谱用。
- 3.2.5 硫酸溶液：3mol/L
- 3.2.6 盐酸溶液：12mol/L
- 3.2.7 硫酸钠溶液：2%。
- 3.2.8 磷酸氢二钠溶液：2%。
- 3.2.9 氢氧化钠溶液：0.03mol/L
- 3.2.10 无水硫酸钠：650℃灼烧4h，贮于密闭容器中备用。
- 3.2.11 氯化钠。
- 3.2.12 洗脱液：
- a)乙腈—水(2+8)；
- b)乙腈—水(2+1)。
- 3.2.13 甲酯化剂：三氯化硼乙醚—甲醇溶液(1+4)，0～4℃储存，每月新配。
- 3.2.14 对苯二甲酸(即对酞酸)标准品：纯度≥99%。
- 3.2.15 对苯二甲酸标准溶液：准确称取适量的对苯二甲酸标准品，用热乙醇(约40℃)溶解，冷却后用乙醇定容，配成浓度为1.00 mg/L的标准贮备液。根据需要再用乙醇稀释成适当浓度的标准工作溶液。
- 3.3 仪器和设备
- 3.3.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器。
- 3.3.2 捣碎机。
- 3.3.3 高速离心机。
- 3.3.4 玻璃抽滤瓶。
- 3.3.5 微孔滤膜抽滤器：0.45 μm。
- 3.3.6 离心管：玻璃，具塞，50mL。
- 3.3.7 净化柱：Sep-Pak C₁₈，No.51910，Waters，或相当者。使用前顺次用5mL乙腈、30 mL水洗液。
- 3.3.8 恒温水浴。
- 3.3.9 微量注射器：10 μL。
- 3.3.10 回流设备。
- 3.4 测定步骤
- 3.4.1 提取
- 称取40g试样(精确到0.1g)于500 mL蒸馏瓶中，加入150 mL氢氧化钠溶液(0.03mol/L)，于100℃水浴中加热回流1h。用少量水洗液洗涤冷凝器，洗液合并于蒸馏瓶中，冷却后抽滤。用氢氧化钠溶液(0.03mol/L)洗涤蒸馏瓶及滤纸上的残渣。合并滤液和洗液，并用氢氧化钠溶液(0.03mol/L)定容至200 mL。
- 吸取10 mL上述样液(相当于2g样品)于100 mL离心管中，加入1mL硫酸溶液(3mol/L)，轻微旋摇后加入10 mL水。然后加入25mL乙酸乙酯，盖塞，剧烈振荡约2min，于2500 r/min离心约3min。将上层溶液转移至另一个100 mL离心管中。向第一个管中再加入15mL乙酸乙酯，重复上述操作。合并乙酸乙酯提取液，再分别用20 mL、10 mL磷酸氢二钠溶液(2%)进行两次液—液提取。弃去乙酸乙酯层，合并水层于100 mL的离心管中。于水层中加入2mL盐酸溶液(12mol/L)，5g氯化钠，30 mL乙酸乙酯。激烈振荡约2min，离心，分取有机层。在水层中再加15mL乙酸乙酯，同上述操作，分取有机层，合并于同一容器。适量无水硫酸钠脱水后，将该有机层转移至250 mL心形瓶中，于40℃水浴旋转浓缩至近干。
- 3.4.2 甲酯化
- 向上述心形瓶中加入2mL甲酯化剂(3.2.13)，充分溶解残留物，将溶液转移至25mL密封试管中，旋紧盖，于70℃水浴酯化1.5h。冷却后，加入10 mL硫酸钠溶液(2%)，分别用5mL乙酸乙酯提取两次。合并乙酸乙酯层，经适量无水硫酸钠脱水后，于40℃水浴旋转浓缩至近干。
- 3.4.3 净化
- 加入1mL乙腈于上述残渣中，溶解。再加4mL水，混匀。将该溶液注入净化柱(3.3.7)。依次用5mL水，5mL洗脱液[3.2.12a)]洗涤，弃去流出液。最后用2.0 mL洗脱液[3.2.12b)]进行洗脱，收集洗脱液供液相色谱测定。
- 3.4.4 对苯二甲酸标准工作溶液的处理
- 准确吸取适当浓度的对苯二甲酸标准工作溶液于一个25mL密封试管中，用氮气流将溶剂吹除，按3.4.2甲酯化后，用2.0mL洗脱液[3.2.12b)]溶解后供液相色谱测定。
- 3.4.5 测定
- 3.4.5.1 色谱条件
- a)色谱柱：Adsorbosphere xL C₁₈，250 mm×4.6mm(内径)，5 μm，或相当者。
- b)流动相：乙腈—水(5+5)。配制后，经0.45 μm滤膜抽滤，脱气。
- c)流速：0.7mL/min。
- d)柱温：25℃。
- e)检测波长：242nm。
- f)进样量：20 μL。
- 3.4.5.2 色谱测定
- 根据样液中对苯二甲酸二甲酯含量情况，选定峰高相近的对苯二甲酸二甲酯标准工作溶液。标准工作溶液和样液中对苯二甲酸二甲酯响应值均应在仪器检测线性范围内。对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，对苯二甲酸二甲酯的保留时间约为11min。标准品的液相色谱图，见附录A中图A1。
- 3.4.6 空白试验
- 除不加试样外，均按上述步骤进行。
- 3.5 结果计算和表述
- 用色谱数据处理机或按式(1)计算试样中对酞酸铜残留含量：

$$X = \frac{h \cdot c \cdot V}{h_s \cdot m} \times 1.371 \dots\dots\dots (1)$$

式中：X—试样中对酞酸铜残留含量，mg/kg；

h—样液中对苯二甲酸二甲酯的峰高，mm；

h_s—标准工作溶液中对苯二甲酸二甲酯的峰高，mm；

c—标准工作溶液中对苯二甲酸的浓度，μg/mL；

V—最终样液的体积，mL；

m—最终样液所相当的试样量，g；

1.371—对酞酸铜[C₆H₄(COO)₂Cu]与对苯二甲酸[C₆H₄(COOH)₂]分子量之比(即227.7/166.1= 1.371)。

注：计算结果需扣除空白值。

4 测定低限、回收率

- 4.1 测定低限
- 本方法的测定低限为0.5mg/kg。
- 4.2 回收率
- 对酞酸铜添加浓度及其回收率的实验数据：
- 在柑桔中，浓度在0.5mg/kg时，回收率为86.8%；
- 浓度在5.0mg/kg时，回收率为91.7%；
- 浓度在10.0mg/kg时，回收率为88.8%。
- 在苹果中，浓度在0.5mg/kg时，回收率为83.5%；
- 浓度在5.0mg/kg时，回收率为86.2%；
- 浓度在10.0mg/kg时，回收率为85.1%。

附 录 A
(提示的附录)
标准品色谱图

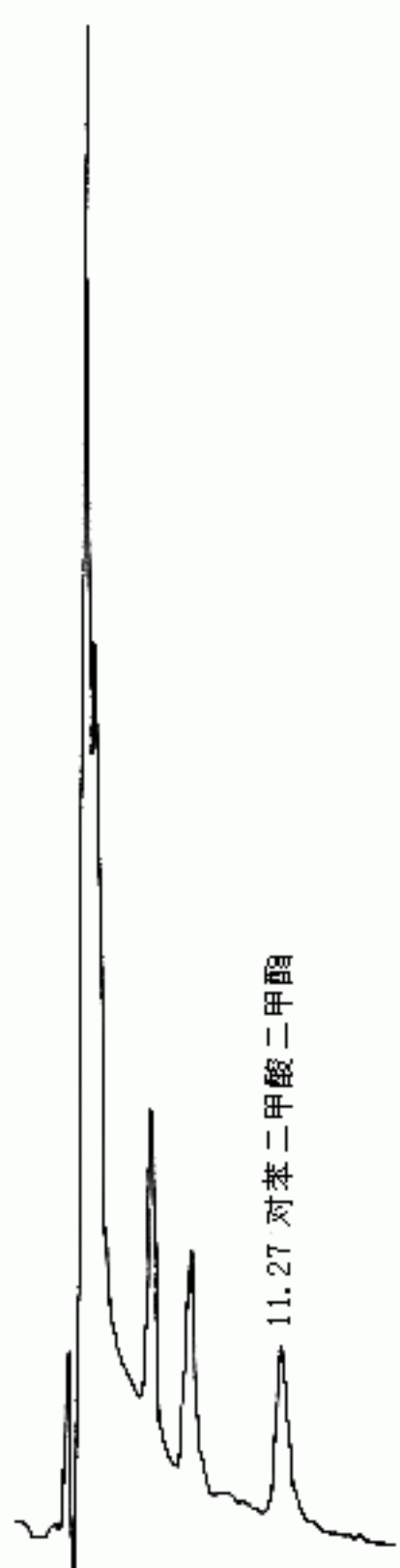


图 A1 对苯二甲酸二甲酯标准品液相色谱图