

1 主题内容与适用范围

本标准规定了出口水果中多果定残留量检验的抽样和制样及分光光度测定方法。

本标准适用于出口苹果中多果定残留量的检验。

2 抽样和制样

2.1 检验批

以不超过1 500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规定的抽样件数抽取，逐件开启，每件至少取500g作为原始样品，原始样品总量不得少于2kg。加封后，标明标记，及时送实验室。

2.4 试样制备

将所取的原始样品用缩分法分出约500g，去核切成块状后分成两份，装入洁净的容器内，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和发生残留物含量的变化。

3 测定方法

3.1 方法提要

试样中多果定经用甲醇—三氯甲烷(2+1)提取、四氯化碳净化。加溴甲酚紫使与多果定络合，用三氯甲烷提取络合物，用缓冲液洗涤。用氢氧化钠溶液水解络合物，并抽提出指示剂。最后用分光光度计于590nm处测定水溶液中指示剂的吸光度，并用标准曲线法定量。

3.2 试剂和材料

3.2.1 溴甲酚紫溶液：取0.4g重结晶指示剂级的溴甲酚紫溶于75mL0.01 mol/L氢氧化钠溶液中，500mL，存于棕色瓶中，必要时滴加0.01mol/L氢氧化钠溶液，使其PH达6.0～6.1。过滤，用不含二氧化碳的水稀释至500mL，存于棕色瓶中。

3.2.2 缓冲溶液：pH5.5。将83.65g二水合磷酸二氢钠和8.05g磷酸氢二钠溶解于不含二氧化碳的水中，并稀释至1 L。

3.2.3 多果定标准溶液

3.2.3.1 标准储备溶液：130μg/mL(甲醇溶液)。

3.2.3.2 标准工作溶液：13μg/mL，吸取25mL储备液，用甲醇稀释至250mL。

3.2.4 甲醇：分析纯。

3.2.5 三氯甲烷：分析纯。

3.2.6 四氯化碳：分析纯。

3.2.7 氢氧化钠：分析纯。

3.2.8 氯化钠：分析纯。

3.2.9 二次重蒸水。

3.3仪器和设备

3.3.1 分光光度计。

3.3.2 高速掺和器。

3.3.3 分液漏斗：250mL，500mL。

3.3.4 烧杯：400mL。

3.4 测定步骤

3.4.1 提取

按每100g试样中加入400mL甲醇—三氯甲烷(2+1)溶剂的比例，置于高速掺和器中研磨。于平底漏斗中经双层滤纸进行抽滤，用甲醇—三氯甲烷(2+1)按100mL/100g试样用量洗涤滤纸上的残渣。测量提取液的体积，转移相当于50g试样的提取液至400mL烧杯中。

3.4.2 净化

向盛有提取液的烧杯中加入数颗玻璃珠和1mL浓盐酸。在蒸汽浴上蒸发至50mL，加30mL 30%氯化钠溶液和100mL甲醇，冷却后，移入500mL分液漏斗中，用50mL四氯化碳缓缓倒转分液漏斗6～8次进行提取。分层后弃去四氯化碳层。另用50mL四氯化碳重复提取，加倍翻转分液漏斗的次数，弃去四氯化碳层。再用50mL四氯化碳，缓缓摇动30s进行提取，最后再用50mL四氯化碳剧烈振摇1 min进行提取，并弃去四氯化碳层。

用4mol/L氢氧化钠溶液调节试液的pH至约5.5(使用pH计)，然后加入20mL pH5.5的缓冲溶液和20mL溴甲酚紫溶液，把pH重新调节至5.5，用三氯甲烷提取络合物两次，每次用50mL，振摇2min。将合并的提取液用25mL pH5.5的缓冲溶液，振摇30s，然后将三氯甲烷层转移至另一分液漏斗中。再加25mL pH5.5的缓冲液，振摇1 min，静置10min，将三氯甲烷溶液转移至另一个分液漏斗中，加20mL0.05mol/L氢氧化钠溶液，振摇，以除去所有络合的指示剂和任何可能存在的有机酸。于三氯甲烷层中再加入5mL溴甲酚紫溶液和20mL pH5.5的缓冲溶液，振摇3min，使多果定再络合。弃去水层，三氯甲烷层用pH5.5缓冲溶液洗涤三次，每次15 mL，振摇1 min。转移三氯甲烷层于干燥的250mL分液漏斗中，用移液管加入20mL0.05mol/L氢氧化钠溶液，振摇2min。氢氧化钠水溶液供分光光度法测定。

3.4.3 测定

3.4.3.1 分光光度计条件

测定波长：590nm。

3.4.3.2 标准曲线的绘制

分别吸取0.5、1.0、2.0、3.0、4.0和5.0mL标准工作溶液至盛有100mL甲醇、50mL水、30mL 30%氯化钠溶液、20mL溴甲酚紫溶液和20mL pH5.5缓冲溶液的一组分液漏斗中，调节每一溶液的pH至5.5，然后按3.4.2中，从“用三氯甲烷提取络合物两次，每次用50mL，振摇2min。……”开始继续进行，于590nm，测定每个水溶液的吸光度，然后以吸光度对微克多果定绘制标准曲线，对标准不必作空白校正。

3.4.4 空白试验

除不加试样外，按上述测定步骤进行。

3.5 结果计算和表述

从标准曲线上求得整分试液中多果定的微克数，再按下式计算试样中多果定的含量。

$$X=m/M$$

式中：X—试样中多果定含量，mg/kg；

m—从标准曲线上求得的整分试液中多果定的量，μg；

M—整分试液所代表的试样量，g。

4 测定低限、回收率

4.1 测定低限

本方法的测定低限为0.2mg/kg。

4.2 回收率

回收率的实验数据：多果定添加浓度在0.20～5.2mg/kg范围内，回收率为90%～106.4%。

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。

本标准由中华人民共和国广东进出口商品检验局负责起草。

本标准主要起草人梁伟大、李辉、彭肖颖。