

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》和SN/T 0001—95《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。

测定下限是根据国际上对蔬菜中利佛米残留量的最高限量和测定方法的灵敏度而制定的

本标准的附录A和附录B均为提示的附录。

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广东进出口商品检验局负责起草。

本标准主要起草人：蔡东生、高丽芳。

本标准系首次发布的行业标准。

1 范围

本标准规定了出口蔬菜中利佛米(包括其代谢产物)残留量检验的抽样、制样和高效液相色谱测定方法。

本标准适用于出口鲜番茄中利佛米(包括其代谢产物)残留量的检验。

2 抽样和制样

- 2.1 检验批
- 以不超过1000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、规格相等等。
- 2.2 抽样数量

批量，件	最低抽样数，件
1～25	1
26～100	5
101～250	10
251～1000	15

- 2.3 抽样方法
- 按2.2规定的抽样件数在不同部位随机抽取，逐件开启。每件至少取500 g作为原始样品，原始样品的总量不得少于2kg。将所取原始样品装入清洁容器内，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，经组织捣碎机捣碎，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
- 用甲醇提取试样中的利佛米及其代谢产物[4-氯-α，α，α-三氟(代)-N-(1-氮-2-丙氧基亚乙基)-o-甲苯胺]残留。于提取液中加入氯化钠溶液及饱和乙酸铅溶液，放置后过滤，溶液与二氯甲烷进行液-液分配使被测物进入二氯甲烷层。蒸干二氯甲烷层，残渣用流动相溶解，溶液供配有紫外检测器的高效液相色谱仪测定，外标法定量。分别测定利佛米及其代谢物后，再计算为以利佛米计的总残留量。
- 3.2 试剂和材料
- 除另有规定外，所用试剂均为分析纯，水为蒸馏水。
- 3.2.1 乙腈：色谱试剂。
- 3.2.2 甲醇：色谱试剂。
- 3.2.3 二氯甲烷：重蒸馏。
- 3.2.4 乙酸铅溶液：饱和水溶液。
- 3.2.5 碳酸钠：0.2mol/L水溶液。
- 3.2.6 碳酸氢钠：0.2mol/L水溶液。
- 3.2.7 碳酸盐缓冲溶液：PH 9.23。取4mL碳酸钠溶液(0.2mol/L)及46mL碳酸氢钠溶液(0.2mol/L)，加水定容至1L。
- 3.2.8 无水硫酸钠：于640℃灼烧4h，贮于干燥器内备用。
- 3.2.9 利佛米标准品：纯度≥99%。
- 3.2.10 利佛米代谢物[4-氯-α，α，α-三氟(代)-N-(1-氮-2-丙氧基亚乙基)-o-甲苯胺]标准品：纯度≥98%。
- 3.2.11 标准溶液：分别准确称取适量的利佛米及其代谢物标准品用乙腈配制成浓度为0.100mg/mL的标准储备液。根据需要用乙腈-碳酸盐缓冲溶液-水(7+1+2)分别稀释储备液配制成适当浓度的标准工作液。
- 3.2.12 氯化钠溶液：5%水溶液。
- 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 振荡器。
- 3.3.3 旋转蒸发器。
- 3.3.4 微量注射器：25μL。
- 3.4 测定步骤
- 3.4.1 提取
- 称取1g(准确到0.01 g)试样于250 mL具塞锥形瓶中，加入20 mL甲醇，振荡提取30 min，抽滤提取液。重复操作二次，合并滤液置于100 mL锥形瓶中。
- 3.4.2 净化
- 加入40mL氯化钠溶液(5%)和0.5mL乙酸铅溶液，放置使沉淀，过滤溶液于250 mL分液漏斗中。加入30mL二氯甲烷，振荡抽提10 min，静置分层，取下层二氯甲烷。上层再用30mL二氯甲烷抽提一次。合并二氯甲烷层并使过无水硫酸钠柱脱水，收集流出液于蒸馏瓶中。用少量二氯甲烷淋洗一次，洗液收集于同一蒸馏瓶中。用旋转蒸发器于40℃以下将二氯甲烷层浓缩至干。准确加入1.0 mL乙腈-碳酸盐缓冲溶液-水(7+1+2)以溶解残留物，溶液供液相色谱测定。
- 3.4.3 测定
- 3.4.3.1 色谱条件
- a)色谱柱：ODS C18，250 mm×4mm(内径)；
- b)流动相：乙腈-碳酸盐缓冲溶液-水(7+1+2)；
- c)流速：1.0mL/min；
- d)检测波长：238nm；
- e)柱温：40℃；
- f)进样量：20μL。
- 3.4.3.2 色谱测定
- 根据样液中利佛米及其代谢物含量情况，分别选定峰面积相近的标准工作液。利佛米标准工作液和样液中利佛米及其代谢物的响应值均应在仪器测定的线性范围内。对标准工作溶液和样液等体积穿插进样测定。在上述色谱条件下，利佛米代谢物的保留时间约为3.7min，利佛米的保留时间约为5.8min。标准品色谱图和紫外光谱图见附录A和附录B中图A1及图B1。
- 3.4.4 空白试验
- 除不称取试样外，均按上述测定步骤进行。
- 3.5 结果计算与表述
- 用色谱数据处理机或按式(1)分别计算试样中利佛米及其代谢物的残留含量：

$$X_i = \frac{A_i \cdot C_s \cdot V}{A_s \cdot m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：X_i—试样中利佛米或利佛米代谢物[4-氯-α，α，α-三氟(代)-N-(1-氮-2-丙氧基亚乙基)-o-甲苯胺]残留含量，mg/kg；

A_i—样液中利佛米或利佛米代谢物[4-氯-α，α，α-三氟(代)-N-(1-氮-2-丙氧基亚乙基)-o-甲苯胺]色谱峰面积(或峰高)，mm²(或mm)；

A_s—标准工作溶液中利佛米或利佛米代谢物[4-氯-α，α，α-三氟(代)-N-(1-氮-2-丙氧基亚乙基)-o-甲苯胺]的色谱峰面积(或峰高)，mm²(或mm)；

C_s—标准工作溶液中利佛米或利佛米代谢物[4-氯-α，α，α-三氟(代)-N-(1-氮-2-丙氧基亚乙基)-o-甲苯胺]的浓度，μg/mL；

V—最终样液定容体积，mL；

m—最终样液所代表的试样量，g。

注：计算结果需将空白值扣除。

按式(2)计算试样中利佛米总残留量：

$$X = 1.17 X_A + X_B \dots\dots\dots (2)$$

式中：X—试样中利佛米总残留量(以利佛米计)，mg/kg；

X_A—试样中利佛米代谢物[4-氯-α，α，α-三氟(代)-N-(1-氮-2-丙氧基亚乙基)-o-甲苯胺]残留含量，mg/kg；

X_B—试样中利佛米残留含量，mg/kg；

1.17—将利佛米代谢物(分子量=294.8)换算成利佛米(分子量=345.8)的换算系数。

4 测定下限、回收率

- 4.1 测定下限
- 本方法对利佛米的测定下限为0.1mg/kg；本方法对利佛米代谢物[4-氯-α，α，α-三氟(代)-N-(1-氮-2-丙氧基亚乙基)-o-甲苯胺]的测定下限也是0.1mg/kg。
- 4.2 回收率
- 在鲜番茄中利佛米及利佛米代谢物的添加浓度及它们的回收率实验数据：
- 利佛米0.1mg/kg+利佛米代谢物0 mg/kg时，回收率为84.4%；
- 利佛米0 mg/kg+利佛米代谢物0.1mg/kg时，回收率为89.8%；
- 利佛米0.1mg/kg+利佛米代谢物0.1mg/kg时，回收率为90.1%；
- 利佛米0.5mg/kg+利佛米代谢物0.5mg/kg时，回收率为90.5%；
- 利佛米1.0mg/kg+利佛米代谢物1.0 mg/kg时，回收率为92.8%。

