**附 件2**

中华人民共和国国家卫生健康委员会

中华人民共和国农业农村部 发布

国家市场监督管理总局

××××-××实施

××××--××发布

**食品安全国家标准**

**植物源性食品中杀虫单等4种农药残留量的测定 气相色谱法**

**National food safety standards**

**Determination of four pesticides residues of nereistoxin such as thiosultap-monosodium in food of plant origin**

**- Gas chromatography method**

**（征求意见稿）**

GB ××××—××××

**中华人民共和国国家标准**

ICS 65.110

G 25

**食品安全国家标准**

**植物源性食品中杀虫单等4种农药残留量的测定 气相色谱法**

* 1. **范围**

本标准规定了植物源性食品中杀虫单、杀虫双、杀虫环和杀螟丹残留量的气相色谱测定方法。

本标准适用于植物源性食品中杀虫单、杀虫双、杀虫环和杀螟丹残留量的测定，不适用于韭菜和大蒜。

* 1. **规范性引用文件**

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的应用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 2763 食品中农药最大残留限量

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

* 1. **原理**

试样中残留的杀虫单、杀虫双、杀虫环和杀螟丹，用含有1% L-半胱氨酸盐酸盐的0.1 mol/L盐酸溶液震荡提取，在碱性条件下氯化镍催化衍生转化成沙蚕毒素，用带有电子捕获检测器的气相色谱仪测定，外标法定量。

* 1. **试剂与材料**

除非另有说明，在分析中仅使用确认为色谱纯的试剂和符合GB/T 6682规定的一级水。

* 1. 试剂

4.1.1盐酸（HCl，CAS 号：7647-01-0）：分析纯。

4.1.2 六水合氯化镍（NiCl2·6H2O，CAS 号：7791-20-0）：分析纯，绿色结晶，含量≥98.0%。

4.1.3 L-半胱氨酸盐酸盐无水物（C3H7NO2S·HCl，CAS 号：52-89-1）：99%生物技术级，白色粉末或晶体。

4.1.4 氢氧化钠（NaOH，CAS 号：1310-73-2）：分析纯，白色均匀粒状固体，含量≥96.0%。

4.1.5 氯化钠（NaCl，CAS 号：7647-14-5）：分析纯，含量≥98.0%。

4.1.6 正己烷（C6H14，CAS 号：110-54-3）。

4.1.7 甲醇（CH3OH，CAS 号：67-56-1）。

4.1.8 丙酮（CH3COCH3，CAS 号：67-64-1）。

* 1. 溶液配制

4.2.1 盐酸溶液（0.1 mol/L）：量取4.15 mL盐酸（4.1.1）用水定容至500 mL。

4.2.2 含有1% L-半胱氨酸盐酸盐的0.1 mol/L盐酸溶液:称取2.525 g L-半胱氨酸盐酸盐（4.1.3），用0.1mol/L盐酸溶液（4.2.1）溶解，并定容至250 mL

4.2.3 氢氧化钠溶液（5 mol/L）：称取50.0 g氢氧化钠（4.1.4），用水溶解并定容至250 mL。

4.2.4 氯化镍溶液（2%）：称取9.357 g NiCl2·6H20（4.1.2） 用水溶解并定容至250 mL。

4.3 标准品

杀虫单（C5H12NNaO6S4，CAS号29547-00-0），纯度≥98.3%。

杀虫双（C5H11NO6S4Na2，CAS号52207-48-4），纯度≥94.3%

草酸氢杀虫环（C5H11NS3·C2H2O4，CAS号31895-22-4），纯度≥95.0%

杀螟丹（C7H15N3O2S2，CAS号22042-59-7），纯度≥98.1%

沙蚕毒素草酸盐 （C5H11NS2·C2H2O4，CAS号1631-52-3），纯度≥99.0%

4.4 标准溶液配制

4.4.1 沙蚕毒素标准储备溶液（6175.55 mg/L）：称取0.1 g（精确至0.1 mg）沙蚕毒素草酸盐标准品于10 mL烧杯中，用甲醇—水（50+50）溶解后转移到10 mL容量瓶中定容，作为标准储备溶液，低于-18℃保存，有效期6个月。

4.4.2 沙蚕毒素标准工作溶液 （100.04 mg/L）：移取1.62 mL沙蚕毒素标准储备溶液于10 mL容量瓶中，用甲醇（4.1.7）定容，配置成1000.4 mg/L的沙蚕毒素低浓度储备溶液。再移取此低浓度储备溶液1 mL于10 mL容量瓶中，用丙酮（4.1.8）定容，配制成标准工作溶液，低于-18℃保存，有效期1个月。

4.4.3 杀虫单、杀虫双、杀虫环和杀螟丹标准储备溶液：分别称取杀虫单、杀虫双、草酸氢杀虫环、杀螟丹0.0203 g （精确至0.1 mg）、0.0272 g（精确至0.1 mg）、0.0228 g（精确至0.1 mg）、0.0272 g（精确至0.1 mg）标准品，用甲醇（4.1.7）定容至10 mL, 即得标准贮备溶液847.74 mg/L、1077.37 mg/L、1191.47 mg/L、1678.3 mg/L，低于-18℃保存，有效期6个月，此四种标准溶液用于回收率试验及质控。注：杀虫单（MW:351.39 g/mol）、杀虫双（MW:355.4 g/mol）、草酸氢杀虫环（MW:271.38 g/mol）、杀螟丹（MW:237.34 g/mol）分别通过与沙蚕毒素（MW:149.28 g/mol）摩尔质量之间的折算，来确定其称样量。

4.4.4 杀虫单、杀虫双、杀虫环和杀螟丹标准工作溶液（84.8 mg/L、107.7 mg/L、119.1 mg/L、167.8 mg/L）：分别移取杀虫单、杀虫双、杀虫环和杀螟丹标准储备溶液1 mL于10 mL容量瓶，用甲醇（4.1.7）定容，配制成标准工作溶液，低于-18℃保存，有效期1个月，此四种标准溶液用于回收率试验及质控。

* 1. **仪器和设备**

5.1 气相色谱仪：配有电子捕获检测器。

5.2 分析天平：感量0.1 mg，感量0.001 g和感量0.01 g。

5.3 容量瓶：10 mL、250 mL、500 mL。

5.4 聚丙烯离心管：50 mL。

5.5 振荡仪。

5.6 离心机：≥3800 r/min。

5.7 搅拌机。

5.8 粉碎机。

5.9 各种玻璃仪器。

* 1. **试样制备和贮存**
1. 蔬菜、水果和食用菌样品按相关标准取一定量，取样部位按GB 2763规定执行。对于个体较小的样品，取样后全部处理；对于个体较大的基本均匀样品，可在对称轴或对称面上分割或切成小块后处理；对于细长、扁平或组分含量在各部分有差异的样品，可在不同部位切取小片或截成小段后处理；取后的样品将其切碎，充分混匀，用四分法取样或直接放入组织捣碎机中捣碎成匀浆。匀浆试样放入聚乙烯容器中。
2. 取谷类样品500 g，粉碎后使其全部可通过425 μm的标准网筛，放入聚乙烯瓶或袋中。取油料作物、茶叶、坚果和香辛料样品各500 g，粉碎后充分混匀，放入聚乙烯瓶或袋中。
3. 植物油类样品搅拌均匀。
4. 试样于-18℃及以下温度条件下保存。

**7分析步骤**

* 1. **提取**

**7.1.1 蔬菜和水果**

称取10 g（精确至0.01 g）试样于50 mL聚丙烯离心管（5.4）中，加入10 mL含有1% L-半胱氨酸盐酸盐的0.1 mol/L的盐酸溶液（4.2.2），其中马铃薯试样中再加入2 g 氯化钠（4.1.5）和 5 mL水，所有试样振荡30 min，所有试样（除马铃薯外）待衍生。马铃薯试样振荡30 min后3800 r/min离心5 min，用一次性吸管取全部水相至50 mL聚丙烯离心管（5.4），待衍生。

**7.1.2 谷物、油料、坚果、植物油和食用菌**

称取5 g试样（精确至0.01 g）于50 mL聚丙烯离心管（5.4）中，加入10 mL含有1% L-半胱氨酸盐酸盐的0.1 mol/L的盐酸溶液（4.2.2），其中谷物、油料、坚果试样中再加入2 g 氯化钠（4.1.5）和 5 mL水，所有试样振荡30 min，所有试样（除玉米、大豆、核桃、玉米油外）待衍生。玉米、大豆、核桃和玉米油试样振荡30 min后3800 r/min离心5 min，用一次性吸管取全部水相至50 mL聚丙烯离心管（5.4），待衍生。

**7.1.3 茶叶和香辛料**

称取2 g试样（精确至0.01 g）于50 mL聚丙烯离心管（5.4）中，加入10 mL含有1% L-半胱氨酸盐酸盐的0.1 mol/L的盐酸溶液（4.2.2），其中花椒试样中再加入2 g 氯化钠（4.1.5）和 5 mL水，所有试样振荡30 min，所有试样（除香辛料外）待衍生。香辛料试样振荡30 min后3800 r/min离心5 min，用一次性吸管取全部水相至50 mL聚丙烯离心管（5.5），待衍生。

* 1. **衍生化**

上述提取溶液中依次加入1 mL 5 mol/L 氢氧化钠溶液（4.2.3）和2 mL 2% 氯化镍溶液（4.2.4），震荡30 min。

* 1. **萃取**

蔬菜、水果、油料和坚果试样中加入10 mL正己烷（4.1.6），谷物和食用菌试样中加入5 mL正己烷（4.1.6），茶叶和香辛料试样中加入4 mL正己烷（4.1.6），所有试样振荡30 min，3800 r/min离心5 min，取1 mL上清（正己烷相）于进样小瓶中，待测定。

**7.4 测定**

**7.4.1 仪器参考条件**

色谱柱：HP-5 （5%-苯基-甲基聚硅氧烷） 毛细管柱 (0.25 μm，30 m ×0.25 mm)，或相当者；

20ºC/min

色谱柱温度：70ºC（1min） 220 ºC（1 min）；

载气：氮气（纯度＞99.999%），恒流模式；载气流速：50.0 mL/min；柱流速：1.0 mL/min；隔垫吹扫：3.0 mL/min；

进样口温度：250 ºC；

进样量：2 μL；

进样方式：不分流进样，开阀时间1 min。

检测器：电子捕获检测器（ECD），温度280 ºC

**7.4.2 标准曲线的绘制**

用正己烷溶液（4.1.6）将沙蚕毒素标准工作液逐级稀释得到质量浓度分别为0.01 mg/L、0.1 mg/L、0.5 mg/L、1 mg/L和5 mg/L的标准工作溶液，质量浓度由低至高依次进样测定，以峰面积为横坐标，质量浓度为纵坐标绘制标准曲线回归方程。标准溶液色谱图参见附录A。

**7.4.3 测定**

按照保留时间进行定性，样品与标准品保留时间的相对偏差不大于2%。待测样液中沙蚕毒素的响应值应在标准曲线范围内，超过线性范围则应稀释后再进样分析，外标法定量。

**7.5 空白试验**

不加试样或仅加空白试样的空白试验应采用与试样测定完全相同的试剂、设备和步骤等进行。

**8结果计算**

试料中的杀虫单/杀虫双/杀虫环/杀螟丹含量以质量分数ω计，数值以毫克每千克（mg/kg）表示，按公式（1）计算：

 ---------（1）

 式中：

*ρ*——沙蚕毒素标准溶液质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

*A*s——标准溶液的峰面积；

*Ax*——待测液的峰面积；

*m*——试料质量，单位为克（g）。

*V*——试料正己烷提取液体积，单位为毫升（mL）；

*k*——沙蚕毒素换算成杀虫单/杀虫双/杀虫环/杀螟丹的系数，其中杀虫单等于 2.35，杀虫双等于2.38，杀虫环等于1.21，杀螟丹等于1.59（摩尔质量：杀虫单-351.39 g/mol，杀虫双-355.4 g/mol，杀虫环-181.34 g/mol，杀螟丹-237.34 g/mol，沙蚕毒素-149.28 g/mol）；

计算结果保留两位有效数字，当结果大于1 mg/kg时保留三位有效数字。

**9精密度**

9.1 在重复性条件下，两次独立测定结果的绝对差不大于重复性限（*r*），重复性限（*r*）的数据为：

含量为0.05 mg/kg时，重复性限（*r*）为0.0119；

含量为0.2 mg/kg时，重复性限（*r*）为0.0539；

含量为0.5 mg/kg时，重复性限（*r*）为0.0912；

含量为1 mg/kg时，重复性限（*r*）为0.2214；

含量为3mg/kg时，重复性限（*r*）为0.1465；

含量为6 mg/kg时，重复性限（*r*）为0.3398；

含量为20 mg/kg时，重复性限（*r*）为1.1978；

含量为40 mg/kg时，重复性限（*r*）为3.0797；

9.2 在再现性条件下，两次独立测定结果的绝对差不大于再现性限（*R*），再现性限（*R*）的数据为：

含量为0.05 mg/kg时，再现性限（R）为0.0192；

含量为0.2 mg/kg时，再现性限（R）为0.0642；

含量为0.5 mg/kg时，再现性限（R）为0.1783；

含量为1 mg/kg时，再现性限（R）为0.3704；

含量为3mg/kg时，再现性限（R）为0.2220；

含量为6 mg/kg时，再现性限（R）为2.0613；

含量为20 mg/kg时，再现性限（R）为3.9024；

含量为40 mg/kg时，再现性限（R）为7.6988；

**10 定量限**

本标准方法杀虫单、杀虫双、杀虫环和杀螟丹的定量限为0.05 mg/kg。

**附录 A**

**（资料性附录）**

**参考色谱图**

图A.1 0.5 mg/L沙蚕毒素标准品色谱图