

附件 4

ICS 67.050
X 04



中华人民共和国国家标准

GB 23200.XXX—XXXX

食品安全国家标准 植物源性食品中噻菌铜、噻唑锌、噻森铜 等 3 种农药及其代谢物残留量的测定 液相色谱法

National food safety standard—

Determination of thiediazole copper, thiazole zinc, thiosen copper and their
metabolites residues in foods of plant origin

Liquid chromatography method

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX-发布

XXXX-XX-XX 实施

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
国家市场监督管理总局

发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020 《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件系国内首次发布。

本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

征求意见稿

食品安全国家标准

植物源性食品中噻菌铜、噻唑锌、噻森铜等3种农药及代谢物 残留量的测定 液相色谱法

1 范围

本文件规定了植物源性食品中噻菌铜、噻唑锌、噻森铜3种农药及代谢物2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑（AMT）残留量的液相色谱测定方法。

本文件适用于植物源性食品中噻菌铜、噻唑锌、噻森铜等3种农药及代谢物残留量的测定。

本标准方法定量限为0.05 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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—2021 食品安全国家标准 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

3 原理

试样在 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液中恒温振荡，噻菌铜、噻唑锌、噻森铜等衍生化成AMT，酸性条件下用乙腈液液分配提取，高效液相色谱-紫外检测器测定，外标法定量。

4 试剂与材料

除非另有说明，在分析中仅使用分析纯的试剂和符合 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1 甲酸（ HCOOH ，CAS 号：64-18-6，纯度 88%）。

4.1.2 盐酸（ HCl ，CAS 号：7647-01-0，纯度 38%）。

4.1.3 硫代硫酸钠（ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ，CAS 号：7772-98-7）。

4.1.4 *N,N*-二甲基甲酰胺（ $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$ ，简称 DMF，CAS 号：68-12-2）。

4.1.5 乙腈（ CH_3CN ，CAS 号：75-05-8）色谱纯。

4.1.6 氨水（ $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ ，CAS 号：1336-21-6，纯度 25%，）。

4.1.7 氯化钠 (NaCl, CAS 号: 7647-14-5)。

4.2 溶液配制

4.2.1 盐酸溶液 (1 mol/L): 量取 82 mL 38%的盐酸 (4.1.2), 加水混匀, 定容至 1 L。

4.2.2 硫代硫酸钠溶液 (0.5 mol/L): 称取 39.52 g 硫代硫酸钠 (4.1.3), 加水混匀, 定容至 1 L。

4.2.3 氨水溶液 (0.1%): 精确量取 74.97 mL 的 25%氨水 (4.1.6), 加水混匀定容至 1 L。

4.2.4 0.01 mol/L 盐酸: 取 1 mol/L 稀盐酸溶液 (4.2.1) 10 mL, 加水混匀定容至 1 L。

4.2.5 甲酸溶液 (0.1%): 量取 1 mL 甲酸 (4.1.1), 加水混匀定容至 1 L。

4.3 标准品

4.3.1 噻菌铜 ($C_3H_2CuN_2S$, CAS 号: 3234-61-5), 标准品纯度建议 $\geq 95\%$;

4.3.2 噻唑锌 ($C_2H_3N_3S_2Zn$, CAS 号: 155-04-4), 标准品纯度建议 $\geq 95\%$;

4.3.3 噻森铜 ($C_5H_4CuN_6S_4$, CAS 号: 暂无), 标准品纯度建议 $\geq 95\%$;

4.3.4 2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑 (AMT, $C_2H_3N_3S_2$, CAS 号: 2349-67-9), 标准品纯度建议 $\geq 95\%$ 。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 噻菌铜标准储备溶液 (100 mg/L):

准确称取约 10 mg (精确至 0.1 mg) 噻菌铜标准品于 100 mL 烧杯中, 并加入 30 mL 左右 *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF, 4.1.4) 后, 40 °C 加热, 水浴超声助溶, 恢复至室温后转移至 100 mL 棕色容量瓶中, 用 DMF 定容至 100 mL。储存于 -18 °C 冰箱中, 有效期 6 个月。

4.4.2 噻唑锌标准储备溶液 (100 mg/L):

准确称取约 10 mg (精确至 0.1 mg) 噻唑锌标准品于 100 mL 烧杯中, 并加入 30 mL 左右 *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF, 4.1.4) 后, 40 °C 加热, 水浴超声助溶, 恢复至室温后转移至 100 mL 棕色容量瓶中, 用 DMF 定容至 100 mL。储存于 -18 °C 冰箱中, 有效期 6 个月。

4.4.3 噻森铜标准储备溶液 (100 mg/L):

准确称取约 10 mg (精确至 0.1 mg) 噻森铜标准品于 100 mL 烧杯中, 并加入 30 mL 左右 *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF, 4.1.4) 后, 40 °C 加热, 水浴超声助溶, 恢复至室温后转移至 100 mL 棕色容量瓶中, 用 DMF 定容至 100 mL。储存于 -18 °C 冰箱中, 有效期 6 个月。

4.4.4 2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑 (AMT) 标准储备溶液 (100 mg/L):

准确称取约10 mg（精确至0.1 mg）噻二唑标准品于100 mL棕色容量瓶中，用乙腈溶解并定容至100 mL。储存于-18℃冰箱中，有效期6个月。

4.5 材料

4.5.1 滤膜：0.22 μm，有机系。

4.5.2 固相萃取柱（CNW Poly-Sery MAX 混合型阴离子交换 SPE 小柱或相当者）：30 mg，3 mL。

5. 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器或者二极管阵列检测器。

5.2 分析天平：感量 0.1 mg 和感量 0.01 g。

5.3 组织捣碎仪。

5.4 涡旋振荡仪。

5.5 离心机：转速不低于 6500 r/min。

5.6 旋转蒸发器。

5.7 固相萃取装置。

5.8 pH计。

5.9 超声清洗仪。

5.10 恒温振荡仪。

6. 试样制备

6.1 制备

样品测定部位按照GB2763中附录A的规定执行。食用菌、热带和亚热带水果（皮可食）随机取样1 kg；水生蔬菜、茎菜类蔬菜、豆类蔬菜、核果类水果、热带和亚热带水果（皮不可食）随机取样2 kg，果类蔬菜和水果取4个~6个个体（取样量不少于1 kg），其他蔬菜和水果随机取样3 kg。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或处理；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，匀浆放入聚乙烯容器中。

干制蔬菜、水果和食用菌随机取样500 g，粉碎后充分混匀，放入聚乙烯瓶或袋中。

谷类随机取样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。

油料、茶叶、坚果和香辛料（调味料）随机取样500 g，粉碎后充分混匀，放入聚乙烯瓶或袋中。

植物油类样品搅拌均匀，放入聚乙烯瓶中。

6.2 储存

试样应于-18℃及以下条件下保存。

7 分析步骤

7.1 噻菌铜、噻唑锌、噻森铜的提取

7.1.1 蔬菜、水果和食用菌

准确称取10 g（精确至0.01 g）试样于50 mL具塞聚丙烯离心管中，加入3 mL 0.5 mol/L的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液（4.2.2），在40℃恒温下以80 rpm的速率振荡30 min，用1 mol/L盐酸（4.2.1）调节pH至3左右，准确加入乙腈25 mL，超声提取30 min，涡旋提取10 min，加入4 g 氯化钠（4.1.7）后涡旋2 min，在6500 r/min下离心5 min，取出20 mL上清液置于鸡心瓶中35℃下旋蒸浓缩至近干，用0.8 mL乙腈（4.1.5）溶解，用注射器吸出，过0.22 μm 有机系滤膜（4.5.1）后，待HPLC检测。若待测样品中浓度较高，可不经浓缩，直接取上清液过滤膜待HPLC检测。

7.1.2 谷物、油料、坚果、植物油和香辛料（调味料）

准确称取10 g（精确至0.01 g）试样于50 mL具塞聚丙烯离心管中（其中谷物、坚果、油料、香辛料加入10 mL去离子水静置20 min），加入3 mL 0.5 mol/L的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液（4.2.2），在40℃恒温下以80 rpm的速率振荡30 min，用1 mol/L盐酸（4.2.1）调节pH至3左右，加入乙腈25 mL（4.1.5），超声提取30 min，涡旋提取10 min，加入2 g 氯化钠（4.1.7）后涡旋2 min，在6500 r/min下离心5 min，取出20 mL上清液置于鸡心瓶中35℃下旋蒸浓缩至近干，用0.8 mL乙腈（4.1.5）溶解，用注射器吸出，过0.22 μm 有机系滤膜（4.5.1）后，待HPLC检测。若待测样品中浓度较高，可不经浓缩，直接取上清液过滤膜待HPLC检测。

7.1.3 茶叶

准确称取5 g（精确至0.01 g）茶叶试样于50 mL具塞聚丙烯离心管中，加入10 mL去离子水静置30 min，加入3 mL 0.5 mol/L的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液（4.2.2），在40℃恒温下以80 rpm的速率振荡30 min，用1 mol/L盐酸（4.2.1）调节pH至3左右，加入25 mL乙腈（4.1.5），超声提取30 min，涡旋提取10 min，加入2 g 氯化钠（4.1.7）后涡旋2 min，在6500 r/min下离心5 min，取出20 mL上清液置于鸡心瓶中35℃下旋蒸浓缩至近干，用0.8 mL乙腈（4.1.5）溶解，待进行混合型阴离子交换柱SPE净化（4.5.2）。若待测样品中浓度较高，可不经浓缩，直接取上清液进行SPE净化。

在MAX混合型阴离子交换柱（4.5.2）中加入6 mL 0.1%氨水（4.2.3）对其进行预先淋洗，随后用6 mL乙腈（4.1.5）进行平衡，再取上述试样上样。然后用6 mL乙腈（4.1.5）淋洗杂质，弃去淋出液。最后，

用0.5 mL 0.01 mol/L盐酸（4.2.4）缓慢洗脱保留在柱上的AMT，流速控制在1 mL/min左右，最后抽干固相萃取柱并收集洗脱液，过0.22 μm 有机系滤膜（4.5.1）后，待HPLC检测。

7.2 2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑（AMT）的提取

7.2.1 蔬菜、水果和食用菌

准确称取10 g（精确至0.01 g）试样于50 mL具塞聚丙烯离心管中，用1 mol/L盐酸（4.2.1）调节pH至3左右，加入乙腈25 mL（4.1.5），超声提取30 min，涡旋提取10 min，加入4 g 氯化钠（4.1.7）后涡旋2 min，在6500 r/min下离心5 min，取出全部上清液置于鸡心瓶中旋蒸浓缩至近干，用1 mL乙腈（4.1.5）复溶，充分涡旋溶解后用注射器吸出，过0.22 μm 有机系滤膜（4.5.1）后，待HPLC检测。若待测样品中浓度较高，可不经浓缩，直接取上清液过滤膜待HPLC检测。

7.2.2 谷物、油料、坚果、植物油和香辛料（调味料）

准确称取10 g（精确至0.01 g）试样于50 mL具塞聚丙烯离心管中（其中谷物、坚果、油料、香辛料加入10 mL去离子水静置30 min），用1 mol/L盐酸（4.2.1）调节pH至3左右，加入乙腈25 mL（4.1.5），超声提取30 min，涡旋提取10 min，加入4 g 氯化钠（4.1.7）后涡旋2 min，在6500 r/min下离心5 min，取出全部上清液置于鸡心瓶中旋蒸浓缩至近干，用1 mL乙腈（4.1.5）复溶，充分涡旋溶解后用注射器吸出，过0.22 μm 有机系滤膜（4.5.1）后，待HPLC检测。若待测样品中浓度较高，可不经浓缩，直接取上清液过滤膜待HPLC检测。

7.2.3 茶叶

准确称取5 g（精确至0.01 g）茶叶试样于50 mL具塞聚丙烯离心管中，加入10 mL去离子水静置30 min后，用1 mol/L盐酸调节pH至3左右，加入25 mL乙腈，超声提取30 min，涡旋提取10 min，加入2 g 氯化钠后涡旋2 min，在6500 r/min下离心5 min，取全部上清液置于鸡心瓶中旋蒸近干，用1 mL乙腈复溶，待进行混合型阴离子交换柱SPE净化。若待测样品中浓度较高，可不经浓缩，直接取上清液进行SPE净化。

7.3 测定

7.3.1 仪器参考条件

色谱柱：C₈柱（Symmetry Shield RP8，250 mm×4.6 mm，i.d.5 μm），或相当性能者；

柱温：40℃；

检测波长：313 nm；

进样体积：10 μL；

流动相：乙腈和甲酸溶液（4.2.5），梯度洗脱条件见表1；

流速：1.0 mL/min。

表1 流动相梯度洗脱条件（体积比）

时间 min	乙腈 V_1	甲酸水 V_2
0	15	85
5.00	15	85
5.01	90	10
11.50	90	10
11.51	15	85
16.00	15	85

7.3.2 基质匹配标准工作曲线

选择于被测样品性质相同或相似的空白样品按照7.1~7.3部分进行前处理，得到空白基质溶液。取1mL空白基质溶液氮吹至干，加入1mL质量浓度分别为10 mg/L、5.0 mg/L、1.0 mg/L、0.5 mg/L和0.1 mg/L的标准溶液复溶，过膜后按照质量浓度由低至高依次进样测定，以峰面积为纵坐标，质量浓度为横坐标，绘制基质匹配标准工作曲线，计算得到标准工作曲线回归方程。标准溶液色谱图参见附录A中的图A1。

7.3.3 衍生化定量

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在±2.5%之内。先将AMT标准溶液（4.4.4）用对应的基质空白提取液稀释成10 mg/L、5 mg/L、1.0 mg/L、0.5 mg/L和0.1 mg/L的基质匹配标准溶液。随后，分别将噻唑锌（4.4.1）、噻森铜（4.4.2）、噻菌铜（4.4.3）等标准溶液用对应的基质空白提取液稀释成10 mg/L，5.0 mg/L，1.0 mg/L，0.5 mg/L，0.05 mg/L，随后按照7.1中描述的衍生化方法进行反应，测定对应的AMT浓度，分别建立噻唑锌、噻森铜、噻菌铜等与衍生化后AMT的浓度对应曲线。

待测液液中AMT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。每批样品测定时，均要同时制备对应的不同浓度的基质标准溶液。

7.4 空白试验

不加试样或仅加空白试样的空白试验，除不加试料外，应采用与试样测定完全相同的试剂、设备和测定步骤等进行平行操作。

8 结果计算

试料中噻唑锌,或噻菌铜,或噻森铜的残留量含量以质量分数 ω 计,数值以毫克每千克(mg/kg)表示,按公式(1)计算:

$$C_3=(C_1-A)/B-C_2$$

$$\omega=C_3 \times V/W \quad (1)$$

式中:

- C_1 ——衍生化试样中噻二唑进样质量浓度(mg/L);
- C_2 ——未经衍生化试样中噻二唑的进样质量浓度(mg/L);
- C_3 ——金属噻二唑农药进样质量浓度(mg/L);
- A ——金属噻二唑农药-AMT 对应浓度曲线的截距;
- B ——金属噻二唑农药-AMT 对应浓度曲线的斜率;
- ω ——样品中噻唑锌或噻菌铜或噻森铜的残留量(mg/kg)。
- V ——样品溶液最终定容体积(mL)
- W ——试料的质量,单位为克(g)。

计算结果以重复性条件下获得的2次独立测定结果的算术平均值表示,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0.0063;

含量为1 mg/kg时,重复性限(r)为0.1370;

含量为5 mg/kg时,重复性限(r)为0.4960;

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0.0130;

含量为1 mg/kg时，再现性限（ R ）为0.2310；

含量为5 mg/kg时，再现性限（ R ）为0.6950；

10.其他

本标准方法定量限为0.05 mg/kg。

征求意见稿

附录 A
(资料性)
参考色谱图

1. 1 mg/L噻二唑标准溶液的色谱图见图A. 1

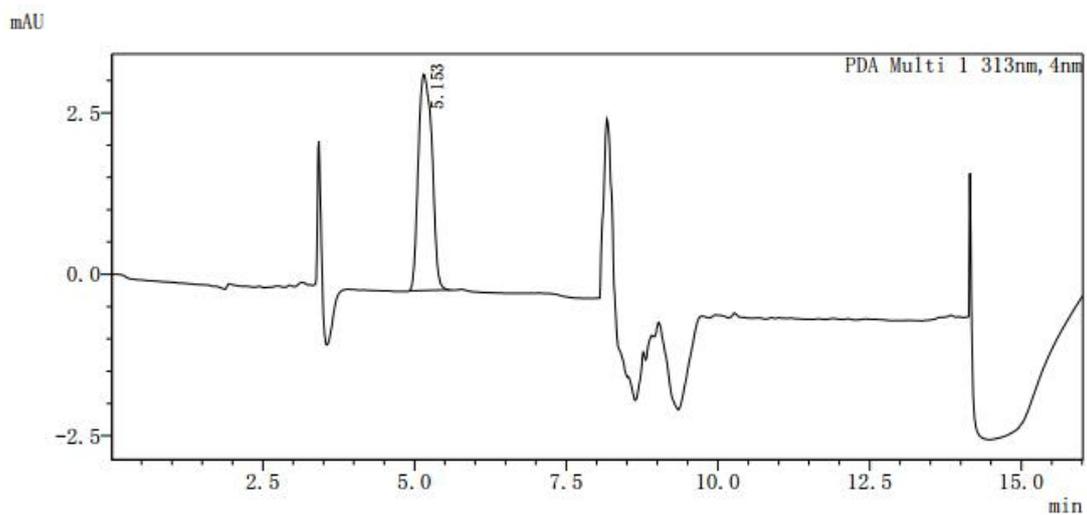


图 A1 1 mg/L AMT 标准品色谱图