

中华人民共和国国家标准

GB 23200.52—2016

代替SN/T 2235—2008

食品安全国家标准 食品中啞菌环胺残留量的测定 气相色谱-质谱法

National food safety standards—

Determination of cyprodinil residue in foods

Gas chromatography-mass spectrometry

2016-12-18 发布

2017-06-18 实施

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会
中华人民共和国农业部
国家食品药品监督管理总局

发布

前 言

本标准代替SN/T 2235-2008 《进出口食品中噻菌环胺残留量检测方法 气相色谱-质谱法》。

本标准与SN/T 2235-2008相比，主要变化如下：

- 标准文本格式修改为食品安全国家标准文本格式；
- 标准名称和范围中“进出口食品”改为“食品”；
- 标准范围中增加“其它食品可参照执行”。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- SN/T 2235-2008。

食品安全国家标准

食品中啞菌环胺残留量的测定 气相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了食品中啞菌环胺残留量的气相色谱-质谱检测及确证方法。

本标准适用于大米、大豆、小菘菜、甜豌豆、梨、柑桔、花生、茶叶、牛肉、鸡肉、虾肉、蜂蜜中啞菌环胺残留量的检测和确证，其它食品可参照执行。

2 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。凡是注日期的引用文件，仅所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

试样中残留的啞菌环胺经正己烷-丙酮（1+1，体积比）提取，用凝胶渗透色谱柱和丙磺酰基甲基硅烷基硅胶阳离子交换柱净化，气相色谱-质谱检测和确证，外标法定量。

4 试剂和材料

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为符合GB/T 6682中规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1 正己烷（ C_6H_{14} ）：色谱纯。

4.1.2 丙酮（ C_3H_6O ）：色谱纯。

4.1.3 环己烷（ C_6H_{12} ）：色谱纯。

4.1.4 乙酸乙酯（ $C_4H_8O_2$ ）：色谱纯。

4.1.5 甲醇（ CH_3OH ）：色谱纯。

4.1.5 氨水（ $NH_3 \cdot H_2O$ ）：分析纯。

4.1.7 盐酸（ HCl ）：分析纯。

4.1.8 氯化钠（ $NaCl$ ）：分析纯。

4.1.9 无水硫酸钠（ Na_2SO_4 ）：分析纯，650℃灼烧4h，在干燥器内冷却至室温，贮于密封瓶中备用。

4.2 溶液配制

4.2.1 0.1 mol/L 盐酸溶液：量取9 mL 盐酸，加适量水稀释至1000 mL。

4.3 标准品

4.3.1 啞菌环胺（Cyprodinil）标准物质：纯度>99%，分子式： $C_{14}H_{15}N_3$ ，分子量：225.3

CAS 登记号：121552-61-2。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 啞菌环胺标准溶液：准确称取适量的啞菌环胺标准物质，用丙酮配成浓度为100 $\mu g/mL$ 的标准储备液。根据需要用丙酮稀释至适当浓度的标准工作液。标准储备液在0℃~4℃冰箱中保存，有效期为12个月，标准工作液在0℃~4℃冰箱中保存，有效期为6个月。

4.5 材料

4.5.1 丙磺酰基甲基硅烷基硅胶阳离子交换柱：3 mL, 500 mg 或相当者。

5 仪器和设备

5.1 气相色谱-质谱仪：配有电子轰击源（EI）。

5.2 分析天平：感量0.01 g 和0.0001 g。

5.3 离心机：转速大于5 000 r/min。

5.4 氮吹仪。

5.5 旋转蒸发器。

- 5.6 均质器。
- 5.7 固相萃取装置。
- 5.8 多功能食品搅拌机。
- 5.9 粉碎机。
- 5.10 凝胶渗透色谱仪。
- 5.11 旋涡混合器。

6 试样制备与保存

6.1 试样制备

6.1.1 茶叶、粮谷类

取代表性样品约 500 g，经粉碎机粉碎并通过 2.0 mm 圆孔筛，混匀，装入洁净容器内密封，标明标记。

6.1.2 蔬菜、水果及坚果类

取代表性样品约 500 g，切碎，经多功能食品搅拌机充分捣碎均匀，装入洁净容器内密封，标明标记。

6.1.3 畜、禽、水产品类

取代表性样品约 500 g，切碎后，用多功能食品搅拌机充分捣碎均匀，装入洁净容器内密封，标明标记。

6.1.4 蜂产品类

取代表性样品约 500 g，未结晶的样品将其用力搅拌均匀，有结晶析出的样品可将样品瓶盖塞紧后，置于不超过 60℃ 的水浴中温热，等样品全部融化后搅匀，迅速冷却至室温。在融化时必须注意防止水分挥发。装入洁净容器内密封，并标明标记。

注：以上样品取样部位按 GB 2763 附录 A 执行。

6.2 试样保存

茶叶、粮谷、蜂产品、坚果类等试样于 4℃ 以下保存；蔬菜、水果、畜、禽、水产品类等试样于 -18℃ 以下保存。在制样过程中，应防止样品受到污染或发生啞菌环胺残留量的变化。

7 分析步骤

7.1 提取

7.1.1 虾肉

称取 20 g（精确至 0.01 g）试样，加入 10 mL 水混匀，加入 30 mL 正己烷-丙酮（1+1，体积比）混合溶液，以 10 000 r/min 均质 0.5 min，加入 5 g 氯化钠，摇匀，并于 4 000 r/min 离心 3 min。吸取上层有机相于浓缩瓶中，残渣中加入 30 mL 正己烷-丙酮（1+1，体积比）混合溶液，重复提取一次，合并上层有机相，在 45℃ 水浴中减压浓缩至近干。准确加入 10.0 mL 环己烷-乙酸乙酯（1+1，体积比）溶解残渣，供凝胶色谱净化。

7.1.2 蜂蜜

称取 20 g（精确至 0.01 g）试样，加入 20 mL 水混匀，加入 30 mL 正己烷-丙酮（1+1，体积比）涡旋混匀 1 min，加入 5 g 氯化钠，摇匀，并于 4 000 r/min 离心 3 min。吸取上层有机相于浓缩瓶中，残渣中加入 30 mL 正己烷-丙酮（1+1，体积比）混合溶液，重复提取一次，合并上层有机相，在 45℃ 水浴中减压浓缩至近干。准确加入 10.0 mL 环己烷-乙酸乙酯（1+1，体积比）溶解残渣，供凝胶色谱净化。

7.1.3 大米、大豆、花生、茶叶、小菘菜、甜豌豆、梨、柑桔、牛肉、鸡肉

称取 5 g（茶叶称取 2 g）（精确至 0.01 g）试样，加入 5 mL 水混匀（茶叶、大米和花生需放置 0.5 h），加入 15 mL 正己烷-丙酮（1+1，体积比）混合溶液，以 10 000 r/min 均质 0.5 min，加入 5 g 氯化钠，摇匀，并于 4 000 r/min 离心 3 min。吸取上层有机相于浓缩瓶中，残渣中加入 15 mL 正己烷-丙酮（1+1，体积比）混合溶液，重复提取一次，合并上层有机相，在 45℃ 水浴中减压浓缩至近干。准确加入 10.0 mL 环己烷-乙酸乙酯（1+1，体积比）溶解残渣，供凝胶色谱净化。

7.2 净化

7.2.1 凝胶色谱净化

7.2.1.1 凝胶色谱净化条件

a) 凝胶净化柱：400 mm x 25 mm (id)；填料：Bio-Beads, S-X3, 38 μm~75 μm，或相当者（在使用前需先做淋洗曲线）。

- b) 流动相：环己烷-乙酸乙酯（1+1，体积比）；
 c) 流速：5.0 mL/min；
 d) 样品定量环：5 mL；
 e) 收集时间：20 min~25 min。

7.2.1.2 凝胶色谱净化步骤

将提取液转移到离心管中，4 000 r/min 离心 3 min，将上清液转移到凝胶渗透色谱仪的样品瓶中，按 7.2.1.1 条件净化，将收集液在 45 °C 以下水浴减压浓缩至近干，加入 5 mL 甲醇溶解后，加入 5 mL 水混匀。

7.2.2 丙磺酰基甲硅烷基硅胶阳离子交换柱净化

将丙磺酰基甲硅烷基硅胶阳离子交换柱安装在固相萃取装置上，加入 5 mL 甲醇，弃去流出液，再加入 5 mL 0.1 mol/L 盐酸溶液，弃去流出液。加入 7.2.1 所得溶液，加入 10 mL 甲醇-水（1+1，体积比），弃去流出液，抽真空至尽干，再加入 10 mL 氨水-甲醇（5+95，体积比），收集 10 mL 流出液。在 45 °C 水浴中减压浓缩至近干。准确加入 0.5 mL 丙酮溶解残渣并定容，供 GC-MS 检测。

7.3 测定

7.3.1 气相色谱-质谱参考条件

- a) 色谱柱：DB-5ms 石英毛细管柱，30 m×0.25 mm (i.d)×0.25 μm (膜厚)，或相当者。
 b) 色谱柱温度：50 °C (1 min) $\xrightarrow{20\text{°C/min}}$ 300 (10 min)。
 c) 进样口温度：250 °C。
 d) 接口温度：280 °C。
 e) 载气：氦气，纯度大于等于 99.999%。流速：1.0 mL/min。
 f) 进样量：2 μL。
 g) 进样方式：脉冲不分流进样，脉冲压力 25 psi，延时 0.75 min，0.75 min 后开阀。
 h) 离子源：电子轰击源 (EI)。
 i) 电离能量：70 eV。
 j) 溶剂延迟时间：8 min。
 k) 检测方式：选择离子监测方式。
 l) 选择离子及相对丰度：见表 1

表 1 选择离子和相对丰度

选择离子 (m/z)	224 (定量)	225	226	210
相对丰度 (%)	100	61.7	9.0	11.3

7.3.2 定量测定

根据样液中啞菌环胺含量的情况，选定峰面积相近的标准工作溶液。标准工作溶液和样液中啞菌环胺响应值应在仪器检测的线性范围内。标准工作溶液和样液等体积穿插进样检测。在上述色谱条件下，啞菌环胺的保留时间约为 10.5 min，标准品的总离子流色谱图参见附录 A 中图 A.1。

7.3.3 定性测定

对标准溶液及样液均按 7.3.1 规定的条件进行检察，如果样液与标准溶液在相同的保留时间有峰出现，则对其进行质谱确证，在扣除背景后的样品谱图中，所选择离子全部出现，同时所选择的离子的离子丰度比与标准品相关离子的相对丰度一致，波动范围符合表 2 的最大容许偏差之内（见表 2），可判定样品中存在啞菌环胺。被确证的样品可判定为啞菌环胺阳性检出。啞菌环胺标准品的质谱图参见附录 A 中图 A.2。

表 2 质谱相对离子丰度最大容许偏差

相对丰度 (基峰)	>50 %	>20 %至 50 %	>10 %至 20 %	≤10 %
允许的相对偏差	±20 %	±25 %	±30 %	±50 %

7.3.4 空白试验

除不加试样外，均按上述检测步骤进行。

8 结果计算

用色谱数据处理软件或按式(1)计算试样中 啉菌环胺的残留含量:

$$X = \frac{A \times c \times V}{A_s \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X —— 试样中啉菌环胺残留量, 单位为毫克每千克 mg/kg;

A —— 样液中啉菌环胺的峰面积;

c —— 标准工作液中啉菌环胺的浓度, 单位为微克每毫升 $\mu\text{g}/\text{mL}$;

V —— 最终样液定容体积, 单位为毫升 mL;

A_s —— 标准工作液中啉菌环胺峰面积;

m —— 最终样液所代表的试样量, 单位为克 g。

注: 计算结果须扣除空白值, 测定结果用平行测定的算术平均值表示, 保留两位有效数字。

9 精密度

9.1 在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值与其算术平均值的比值(百分率), 应符合附录C的要求。

9.2 在再现性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值与其算术平均值的比值(百分率), 应符合附录D的要求。

10 定量限和回收率

10.1 定量限

本方法的定量限: 蜂蜜和虾肉为 0.0004 mg/kg, 其他样品为 0.01 mg/kg。

10.2 回收率

样品的添加浓度及回收率和精密度的实验数据见附录B。

附录A
(资料性附录)
色谱图和质谱图

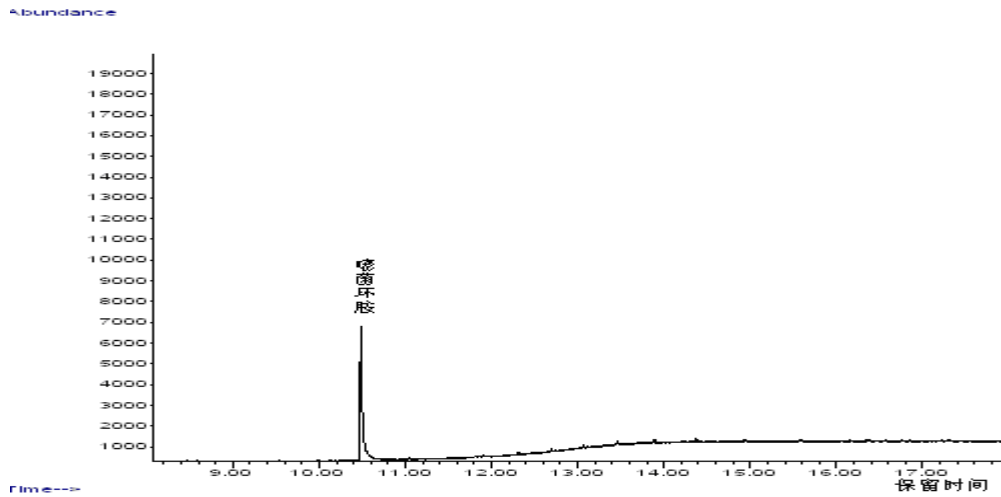


图 A.1 嘧菌环胺标物质的总离子流色谱图

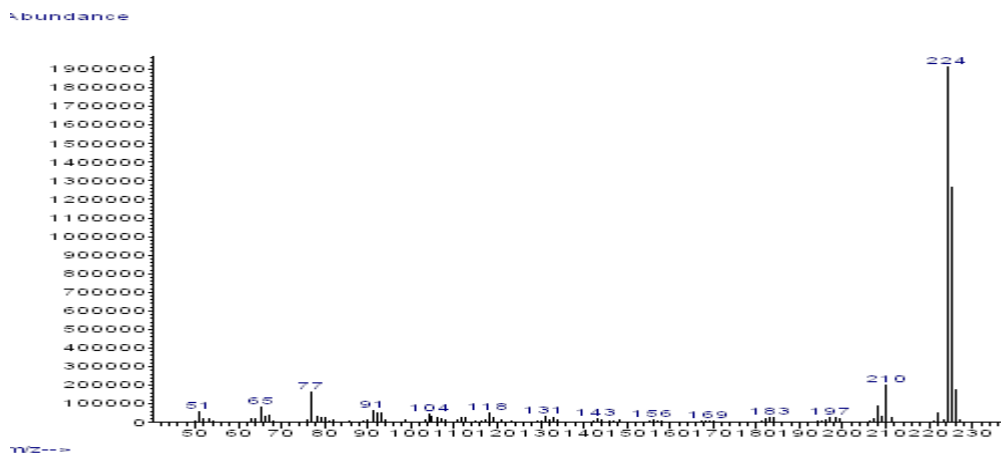


图 A.2 嘧菌环胺标准物质的质谱图

附 录 B
(资料性附录)
样品的添加浓度及回收率的实验数据

表B.1 样品的添加浓度及回收率的实验数据

样 品	添加浓度 (mg/kg)	回收率范围%	精密 度%	样 品	添加浓度 (mg/kg)	回收率范 围%	精密度%
大米	0.01	77.5~112	15.4	茶叶	0.01	69.8~114	21.0
	0.02	77.5~107	12.4		0.02	72.5~86.0	10.2
	0.05	77.8~102	10.4		0.05	77.0~106	12.4
甜豌豆	0.01	78.2~113	13.9	牛肉	0.01	78.9~113	14.7
	0.02	77.5~110	13.4		0.02	78.8~103	10.6
	0.05	79.6~104	10.0		0.05	83.0~ 102.2	10.6
小松菜	0.01	75.1~102	11.5	鸡肉	0.01	78.1~113	14.2
	0.02	79.5~110	11.3		0.02	79.5~107	12.6
	0.05	75.8~96.4	9.59		0.05	81.6~102	12.3
梨	0.01	76.7~112	14.8	虾肉	0.0004	56.5~85.5	15.9
	0.02	79.5~107	11.7		0.0008	58.4~87.9	18.0
	0.05	77.6~108	12.3		0.002	68.0~84.0	7.8
柑桔	0.01	69.1~112	18.0	蜂蜜	0.0004	54.5~81.0	14.4
	0.02	76.0~108	15.2		0.0008	56.8~82.9	14.4
	0.05	80.2~110	13.2		0.002	62.5~81.5	10.8
花生	0.01	78.5~114	13.5	大豆	0.01	73.8~107	16.4
	0.02	79.5~111	13.2		0.02	75.0~104	12.0
	0.05	79.4~108	14.0		0.05	79.6~110	13.5

附 录C
(规范性附录)
实验室内重复性要求

表 C.1 实验室内重复性要求

被测组分含量 mg/kg	精密度 %
≤0.001	36
>0.001≤0.01	32
>0.01≤0.1	22
>0.1≤1	18
>1	14

附 录 D
(规范性附录)
实验室间再现性要求

表 D.1 实验室间再现性要求

被测组分含量 mg/kg	精密度 %
≤0.001	54
>0.001≤0.01	46
>0.01≤0.1	34
>0.1≤1	25
>1	19