

ICS

GB

中华人民共和国国家标准

GB 23200.75—2016

代替SN/T 2796—2011

食品安全国家标准
食品中氟啶虫酰胺残留量的检测方法

National food safety standards—

Determination of flonicamid residue in foods

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 2796-2011 《进出口食品中氟啶虫酰胺残留量的检测方法》。

本标准与SN/T 2796-2011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 2796-2011。

食品安全国家标准

食品中氟啶虫酰胺残留量的检测方法

1 范围

本标准规定了食品中氟啶虫酰胺残留量的气相色谱法检测和液相色谱-质谱/质谱确证方法。

本标准适用于生菜、胡萝卜、菜心、大米、柑橘、葡萄、板栗、牛肉、羊肝、鸡肉、罗非鱼、番茄酱、茶叶、蜂蜜中氟啶虫酰胺残留量的定量测定和定性确证，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

试样经乙酸乙酯提取后，通过凝胶渗透色谱（GPC）和固相萃取柱（SPE）净化，气相色谱外标法定量测定，液相色谱-质谱/质谱法确证。

4 试剂和材料

除另有规定外，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 环己烷(C₆H₁₂，CAS 号 110-82-7)。

4.1.2 乙酸乙酯(C₄H₈O₂，CAS 号 141-78-6)：色谱纯。

4.1.3 甲醇(CH₃OH，CAS 号 67-56-1)：色谱纯。

4.1.4 氯化钠(NaCl，CAS 号 7647-14-5)。

4.1.5 无水硫酸钠(Na₂SO₄，CAS 号 15124-09-1)：650 °C灼烧 4 h，在干燥器内冷却至室温，储于密封瓶中备用。

4.2 溶液配制

4.2.1 乙酸乙酯-环己烷溶液（1+1）：取 200 mL 乙酸乙酯，加入 200 mL 环己烷，摇匀备用。

4.2.2 甲醇-水溶液(9+1)：取 900 mL 甲醇，加入 100 mL 水，摇匀备用。

4.3 标准品

4.3.1 氟啶虫酰胺（flonicamid）标准物质（C₉H₆F₃N₃O，CAS 号：158062-67-0）：纯度≥98.8%。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 氟啶虫酰胺标准储备液（1.0 mg/mL）：准确称取适量氟啶虫酰胺，用乙酸乙酯配制成浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备液。该溶液于-18 °C冰箱中保存。

4.4.2 氟啶虫酰胺标准中间溶液（100 μg/mL）：准确吸取适量标准储备液，用乙酸乙酯稀释至浓度为 100 μg/mL 的标准中间溶液。该溶液在-18 °C冰箱中保存。

4.4.3 氟啶虫酰胺标准工作液：使用前根据需要将标准中间溶液用各种样本的空白基质稀释成适当浓度的标准工作液。

4.5 材料

4.5.1 氨基固相萃取柱：200 mg，3 mL 和 500 mg，3 mL，或相当者。临用前用 2 mL 乙酸乙酯活

化2次。

4.5.2 XTR 硅藻土固相萃取柱：3000 mg，15 mL，或相当者。

4.5.3 微孔滤膜：0.45 μm，有机相。

5 仪器和设备

- 5.1 气相色谱仪：配ECD检测器。
- 5.2 液相色谱-质谱/质谱仪：配有电喷雾离子源。
- 5.3 凝胶渗透色谱仪：配有自动浓缩设备。
- 5.4 分析天平：感量0.01 g和0.0001 g。
- 5.5 高速均质机。
- 5.6 高速低温冷冻离心机：10000 r/min。
- 5.7 聚四氟乙烯塑料离心管：50 mL，带盖。
- 5.8 心形瓶：50 mL。
- 5.9 试管：15 mL。
- 5.10 旋转蒸发仪。
- 5.11 氮气吹干浓缩仪。
- 5.12 玻璃刻度试管：5 mL、10 mL，具塞。

6 试样制备与保存

6.1 试样制备

6.1.1 生菜、胡萝卜、菜心、柑橘、葡萄、板栗

取有代表性样品约500 g，切碎后，用捣碎机加工成浆状或细颗粒状。混匀，装入洁净容器，密封，标明标记。

6.1.2 大米、茶叶

取有代表性样品约500 g，用粉碎机粉碎并通过孔径2.0 mm圆孔筛。混匀，装入洁净容器，密封，标明标记。

6.1.3 牛肉、鸡肉、羊肝、罗非鱼

取有代表性样品约500 g，用绞肉机绞碎，混匀，装入洁净容器，密封，标明标记。

6.1.4 番茄酱

取有代表性样品约500 g，混匀，装入洁净容器，密封，标明标记。

6.1.5 蜂蜜

取代表性样品约500 g，对无结晶的蜂蜜样品将其搅拌均匀；对有结晶析出的蜂蜜样品，在密闭情况下，将样品瓶置于不超过60℃的水浴中温热，振荡，待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，密封，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、蜂蜜、粮谷及坚果类等试样于0~4℃保存；水果蔬菜类和动物源性食品等试样于-18℃以下冷冻保存。在抽样及制样的操作过程中，应防止样品受到污染或发生残留物含量的变化。

7 分析步骤

7.1 提取

7.1.1 生菜、胡萝卜、菜心、柑橘、葡萄、板栗、牛肉、羊肝、鸡肉、罗非鱼、番茄酱

称取 10 g (精确至 0.01 g) 试样于 50 mL 离心管中, 加 15.0 mL 乙酸乙酯, 匀质提取 1 min; 另取一个 50 mL 离心管, 加入 10 mL 乙酸乙酯洗匀质器刀头, 合并均质液。加入 10 g 无水硫酸钠, 盖好, 振荡 10 min。将提取液 10000 r/min 离心 5 min, 吸取 10 mL 上清液, 冰箱 0 °C 以下放置 10 h, 再过 0.45 μm 有机滤膜, 待凝胶渗透色谱净化。

7.1.2 大米

称取 10 g (精确至 0.01 g) 试样于 50 mL 离心管中, 加入 10.0 mL 水, 浸泡 20 min, 加 15.0 mL 乙酸乙酯, 匀质提取 1 min, 另取一个 50 mL 离心管, 加入 10 mL 乙酸乙酯洗匀质器刀头, 合并均质液。加入 10 g 无水硫酸钠, 盖好, 振荡 10 min。将样本 10000 r/min 离心 5 min, 吸取 10 mL 上清液, 冰箱 0 °C 以下放置 10 h, 再过 0.45 μm 有机滤膜, 待凝胶渗透色谱净化。

7.1.3 茶叶

称取 2 g (精确至 0.01 g) 试样于 50 mL 离心管中, 加 10 mL 水浸泡 20 min; 加 1 g 无水硫酸钠。加 10.0 mL 乙酸乙酯, 振荡提取 10 min, 提取 2 次。将样本 4000 r/min 离心 5 min, 吸取上清液, 定容至 20 mL; 取 10 mL 过 0.45 μm 有机相滤膜, 待凝胶渗透色谱净化。

7.1.4 蜂蜜

称取 2 g 试样 (精确至 0.01 g) 于 50 mL 离心管中, 加 3 mL 水, 0.5 g 氯化钠, 振荡混匀, 过固相萃取柱, 静置 5 min 后, 用 35 mL 乙酸乙酯淋洗, 流速控制为 1 mL/min, 收集滤液于 50 mL 浓缩瓶中, 在 45 °C 以下旋转浓缩至约 1 mL, 待净化。

注: 以上样品取样部位按 GB 2763 附录 A 执行。

7.2 净化

7.2.1 生菜、胡萝卜、菜心、柑橘、葡萄、板栗、大米、牛肉、羊肝、鸡肉、罗非鱼、番茄酱、茶叶

将 7.1.1、7.1.2 和 7.1.3 所得溶液取 10 mL 过凝胶渗透色谱仪, 收集 7~14 min 的流出液, 2 mL 乙酸乙酯定容, 作为初净化液。

将初净化液过氨基柱后, 用乙酸乙酯 1 mL 洗涤 3 次收集瓶, 洗液同样过柱, 流速控制为 1 mL/min, 收集全部洗脱液于试管中, 在 45 °C 下吹氮浓缩至近干, 用乙酸乙酯涡旋振荡溶解残渣, 定容 1.0 mL, 待测。

7.2.2 蜂蜜

活化前在氨基柱上填装 0.5 g 无水硫酸钠。将待净化浓缩液过柱后, 用 2 mL 乙酸乙酯洗脱 2 次, 流速控制为 1 mL/min, 收集全部洗脱液于试管中, 在 45 °C 下吹氮浓缩至约 0.5 mL, 用乙酸乙酯定容至 1.0 mL, 待测。

7.3 测定

7.3.1 凝胶色谱净化参考条件

- 凝胶净化柱: 300 mm×25 (i.d) mm; 填料: Bio-Beads, S-X3, 38 μm~75 μm。
- 浓缩温度: 45 °C。
- 流动相: 环己烷-乙酸乙酯 (1+1, 体积比)。
- 定容试剂: 乙酸乙酯。
- 流速: 5 mL/min。
- 进样量: 5 mL。

7.3.2 气相色谱参考条件

- 色谱柱: DB-1701 毛细管柱, 30 m×0.32 mm (i.d.), 0.25 μm, 或性能相当者。
- 升温程序: 初始温度 80 °C, 保持 1 min, 以每分钟 15 °C 升到 240 °C, 保持 1 min, 以每分

钟 10 °C 升到 260 °C，保持 10 min。

- c) 进样口温度：260 °C。
- d) 检测器温度：320 °C。
- e) 载气：氮气（纯度 99.999%），流量 2.5 mL/min。
- f) 进样模式：不分流进样。
- g) 进样量：1.0 μL。

7.3.3 气相色谱测定

根据样液中氟啶虫酰胺含量情况，选定峰面积相近的标准工作溶液。标准工作溶液和样液中氟啶虫酰胺响应值均应在仪器检测线性范围内。标准工作溶液和样液等体积参插进样测定。在上述色谱条件下，氟啶虫酰胺的保留时间约为 13.1 min。标准品的色谱图参见附录 A 中图 A.1。

7.3.4 LC-MS/MS 质谱参考条件

7.3.4.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：Waters Atlantis HILIC Silica 柱，3 μm, 3.0 mm (i.d.) × 50 mm，或性能相当者；
- b) 柱温：40 °C；
- c) 流动相：甲醇-水(9+1，体积比)；
- d) 流速：0.30 mL/min；
- e) 进样量：10 μL。

7.3.4.2 质谱参考条件参见附录 B。

7.3.5 液相色谱质谱法测定

乙酸乙酯定容的样液进行溶剂转换为甲醇-水(9+1，体积比)后再进行上机测定。根据样液中氟啶虫酰胺含量情况，选定峰面积相近的标准工作溶液。标准工作溶液和样液中氟啶虫酰胺响应值均应在仪器检测线性范围内。标准工作溶液和样液等体积参插进样测定。在上述色谱条件下，氟啶虫酰胺的保留时间约为 1.03 min。

被测组分选择 1 个母离子，2 个以上子离子，在相同实验条件下，如果样品中待检测物质与标准溶液中对应的保留时间偏差在 ±2.5 % 之内；且样品谱图中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液谱图中对应的定性离子的相对丰度进行比较，偏差不得超过表 1 规定的范围，被确证的样品可判定为氟啶虫酰胺阳性检出。标准品的质谱图参见附录 C 中图 C.1、C.2。

表 1 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

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 %

7.4 空白试验

除不加试样外，按上述测定步骤进行。

8 结果计算和表述

用色谱数据处理机或按（1）式计算试样中氟啶虫酰胺的残留含量，计算结果需扣除空白值。

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

式中：

X —— 试样中氟啶虫酰胺含量，单位为纳克每克，ng/g；

- A —— 样液中氟啶虫酰胺的色谱峰面积；
 c —— 标准工作溶液中氟啶虫酰胺浓度，单位为纳克每毫升，ng/mL；
 V —— 最终样液的定容体积，单位毫升，mL；
 A_s —— 标准工作溶液中氟啶虫酰胺的色谱峰面积；
 m —— 最终样液所代表试样量，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E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F的要求。

10 定量限和回收率

10.1 定量限

本方法中氟啶虫酰胺在生菜、胡萝卜、菜心、柑橘、葡萄、茶叶、牛肉、鸡肉、羊肝、番茄酱中的定量限为20.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、在大米、板栗、罗非鱼、蜂蜜中的定量限为10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 回收率

当添加水平为0.02 mg/kg、0.04 mg/kg、0.4 mg/kg、4 mg/kg时，氟啶虫酰胺的添加回收率参见附录D。

附录 A
(资料性附录)
氟啶虫酰胺标准品的气相色谱图

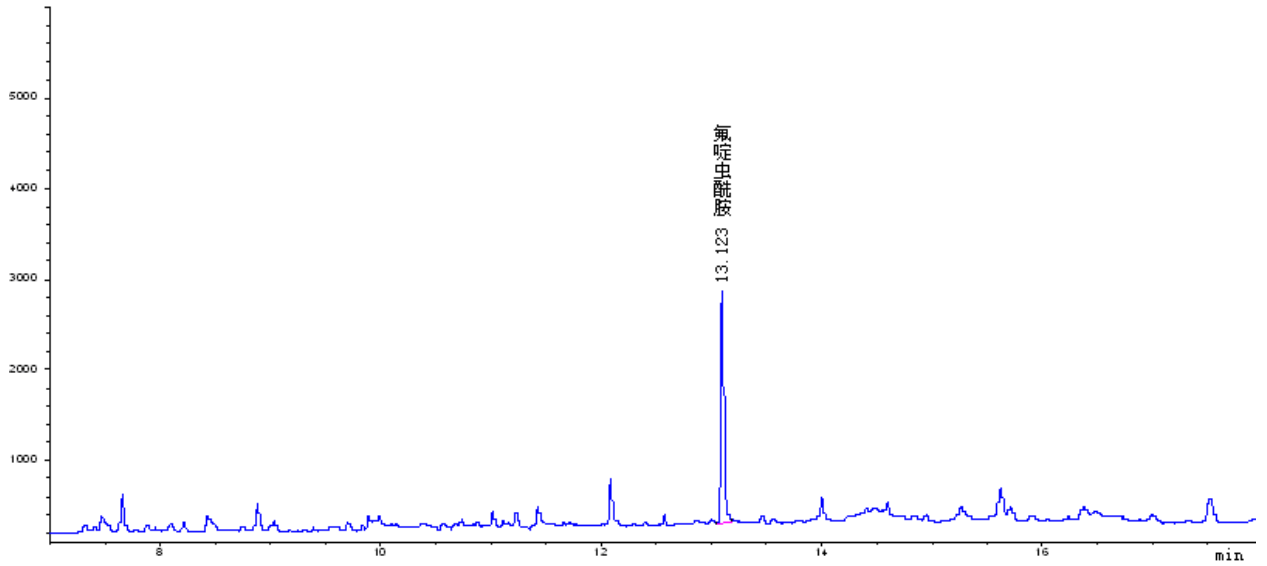


图 A.1 氟啶虫酰胺标准品 (10 µg/kg) 的气相色谱图 (GC-ECD)

附 录 B
(资料性附录)
氟啶虫酰胺质谱测定参考条件

质谱参考条件：

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI），温度500 ℃；
- b) 扫描方式：负离子扫描；
- c) 检测方式：多反应选择离子检测（MRM）；
- d) 电喷雾电压（IS）： 4500 V；
- e) 雾化气、气帘气、辅助加热气、碰撞气均为高纯氮气及其它合适气体；使用前应调节各气体流量以使质谱灵敏度达到检测要求；
- f) 辅助气温度（TEM）： 500 ℃；
- g) 监测离子对、定量离子对、驻留时间、去簇电压及碰撞能量见表 B.1。

表B.1 氟啶虫酰胺监测离子对、定量离子对、驻留时间、去簇电压及碰撞能

被测物名称	监测离子对 /(m/z)	定量离子对 /(m/z)	驻留时间 /(ms)	去簇电压 /(V)	碰撞能量 /(V)
氟啶虫酰胺	228.0/81.1	228.0/81.1	100	-64	-14
	228.0/146.0				-30

注：对于不同质谱仪器，仪器参数可能存在差异，测定前应将质谱参数优化到最佳。

非商业性声明：附录 B 所列参考质谱条件是在 API3000 型液质联用仪上完成的，此处列出试验用仪器型号仅为提供参考，并不涉及商业目的，鼓励标准使用者尝试不同厂家或型号的仪器。

附录 C
(资料性附录)
氟啶虫酰胺标准品 LC/MS-MS 质谱图

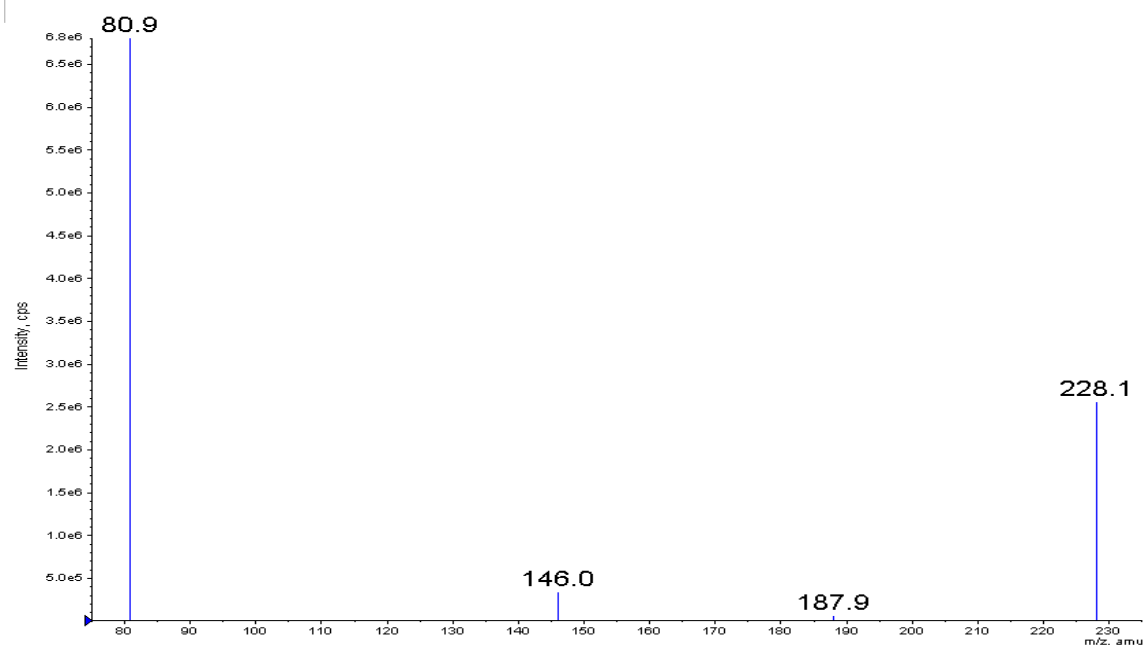


图 C.1 氟啶虫酰胺标准品离子全扫描质谱图

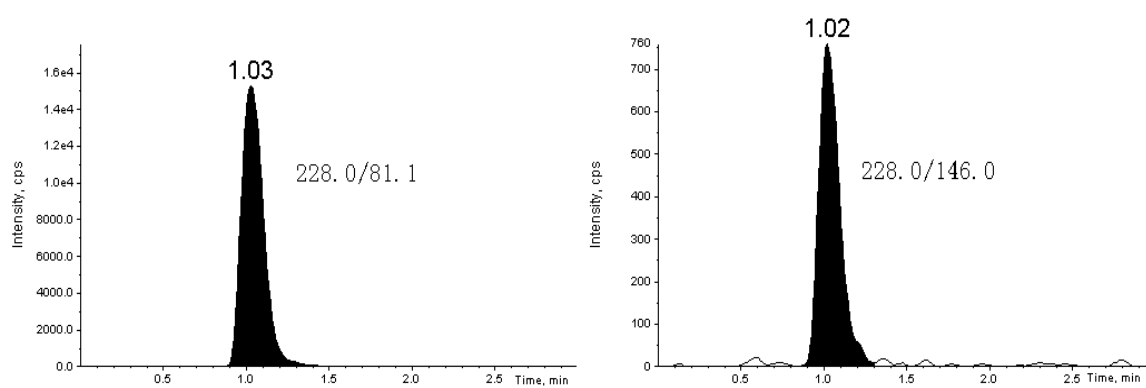


图 C.2 氟啶虫酰胺标准品多反应监测 (MRM) 色谱图 (20 µg/L)

附 录 D
(资料性附录)
氟啶虫酰胺添加水平及添加回收率

表D.1 氟啶虫酰胺添加水平及添加回收率

样品名称	添加水平 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 (%)
生菜	20	92.5~112.5
	40	87.3~95.3
	400	83.0~87.8
	4000	84.7~94.1
菜心	20	102.0~108.5
	40	94.0~114.5
	400	92.9~100.6
	4000	92.5~106.4
胡萝卜	20	83.0~91.5
	40	84.3~95.0
	400	90.4~95.5
	4000	86.7~100.6
大米	10	85.0~99.0
	20	82.0~90.5
	100	90.1~98.7
柑橘	20	101.0~116.0
	40	90.8~107.0
	400	101.7~105.6
葡萄	20	87.5~92.5
	40	88.8~94.3
	400	89.4~106.5
板栗	10	89.0~109.0
	20	83.5~97.0
	100	91.1~99.3
茶叶	20	83.0~99.5
	40	83.0~98.5
	500	96.8~98.7
	40000	95.0~109.9
牛肉	20	74.5~92.5
	50	80.2~95.4
	100	87.2~92.6
羊肝	20	78.5~86.5
	80	82.8~91.4
	200	83.7~98.2
鸡肉	20	80.5~91.0
	40	80.3~91.8
	100	87.5~89.6
罗非鱼	10	89.0~97.0
	20	80.0~85.0
	100	84.4~93.5
番茄酱	20	80.5~99.5
	40	84.8~98.3
	500	84.4~95.3
	2000	96.8~104.9
蜂蜜	10	87.0~91.0
	20	83.0~96.5
	100	85.0~91.4

附 录 E
(规范性附录)
实验室内重复性要求

表 E.1 实验室内重复性要求

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

附 录 F
(规范性附录)
实验室间再现性要求

表 F.1 实验室间再现性要求

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