

ICS 点击此处添加 ICS 号
点击此处添加中国标准文献分类号

GB

中华人民共和国国家标准

GB 23200.56—2016

代替SN/T 2319—2009

食品安全国家标准
食品中喹氧灵残留量的检测方法

National food safety standards—

Determination of quinoxifen 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 2319-2009 《进出口食品中啶氧灵残留量的检测方法》。

本标准与SN/T 2319-2012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 2319-2009。

食品安全国家标准

食品中喹氧灵残留量的检测方法

1 范围

本标准规定了进出口食品中喹氧灵残留量的液相色谱与液相色谱-质谱/质谱的检测方法。

本标准适用于大豆、花椰菜、樱桃、木耳、葡萄酒、茶叶、蜂蜜、猪肝、鸡肉、鳗鱼中喹氧灵残留量的测定和确证，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

试样中残留的喹氧灵采用乙酸乙酯振荡或饱和碳酸氢钠溶液-乙酸乙酯提取，NH₂固相萃取小柱净化或凝胶渗透色谱结合NH₂固相萃取小柱净化，液相色谱仪或液相色谱-质谱/质谱仪检测及确证，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（C₆H₁₀）：色谱纯。

4.1.2 乙酸乙酯（C₄H₈O₂）：色谱纯。

4.1.3 乙腈（CH₃CN）：色谱纯。

4.1.4 甲醇（CH₃OH）：色谱纯。

4.1.5 环己烷（C₆H₁₂）：色谱纯。

4.1.6 丙酮（C₃H₆O）：色谱纯。

4.1.7 碳酸氢钠（NaHCO₃）。

4.1.8 无水硫酸钠（Na₂SO₄）：使用前于650℃干燥4 h，密封保存。

4.2 溶液配制

4.2.1 环己烷-乙酸乙酯溶液(1+1, V/V)：分别量取50 mL环己烷与乙酸乙酯，混匀。

4.2.2 5%丙酮-正己烷溶液：移取5 mL丙酮于95 mL正己烷中，混匀。

4.2.3 50%乙腈-水溶液：分别量取50 mL乙腈与50 mL水，混匀。

4.2.4 饱和碳酸氢钠溶液：称取一定量碳酸氢钠溶于水溶液中至饱和。

4.3 标准品

4.3.1 喹氧灵标准物质(英文名 Quinoxifen, 分子式 C₁₅H₈C₁₂FN₀, CAS No. 124495-18-7, 分子量 308.14)：纯度≥98%。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 喹氧灵标准储备液(100 mg/L)：准确称取0.0100 g喹氧灵标准物质，用甲醇溶解并定容至100 mL，该标准储备液于4℃可保存三个月。

4.4.2 喹氧灵标准工作液：根据需要取适量标准储备液，以50%乙腈水溶液稀释成适当浓度的标准工作液。标准储备液于4℃可保存一个月。

4.5 材料

4.5.1 氨基(NH₂)固相萃取柱：500 mg, 3 mL。

4.5.2 滤膜：0.45 μm, 0.22 μm, 有机系。

5 仪器和设备

- 5.1 液相色谱仪，配紫外或二极管阵列检测器。
- 5.2 液相色谱-质谱/质谱联用仪，配电喷雾（ESI）源。
- 5.3 分析天平：感量 0.01 g 和 0.0001 g。
- 5.4 凝胶渗透色谱。
- 5.5 离心机：4 500 r/min，配有 100 mL 的具塞塑料离心管。
- 5.6 粉碎机。
- 5.7 组织捣碎机。
- 5.8 涡旋混合器。
- 5.9 超声波清洗器。
- 5.10 固相萃取装置。
- 5.11 氮吹仪。

6 试样制备与保存

6.1 试样制备

6.1.1 水果蔬菜类

取有代表性样品 500 g，将其切碎后（不可水洗），用组织捣碎机将样品加工成浆状，混匀，分成 2 份，装入洁净容器内，密封并标识。

6.1.2 茶叶、粮谷与坚果类

取有代表性样品 500 g，用粉碎机粉碎并通过 2.0 mm 圆孔筛，混匀，分成 2 份，装入洁净容器内，密封并标识。

6.1.3 肉及肉制品

取有代表性样品 500 g，切碎后用组织捣碎机将样品加工成浆状，混匀，装入洁净容器内，分成 2 份，密封并标识。

6.1.4 蜂蜜

取有代表性样品 500 g，对于无结晶的蜂蜜样品，将其搅拌均匀。对有结晶的样品，在密闭情况下，置于不超过 60 °C 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，分成 2 份，装入洁净样品瓶中，密封并标识。

6.1.5 果汁、果酒等

将取得的全部原始样品倒入洁净的混样桶中，充分搅拌混匀，再将混匀样品分装两份，每份约 500 mL，密封并标识。

在制样过程中，应防止样品受到污染或发生残留物含量的变化。

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、果酒、蜂蜜、牛奶、粮谷于 0 ~ 4 °C 保存，蔬菜、水果、肉及肉制品于 -18 °C 保存。

7 分析步骤

7.1 提取

7.1.1 茶叶、谷物及坚果等样品

称取 5 g（精确至 0.01 g）试样，置于 100 mL 具塞塑料离心管中，加入 15 mL 饱和碳酸氢钠溶液振摇浸泡 10 min，加入 20 mL 乙酸乙酯，涡动 30 s 后超声提取 20 min，4 500 r/min 离心 3 min，移出有机相，残渣再加入 20 mL 乙酸乙酯重复提取 1 次，合并提取液，经无水硫酸钠干燥后于 50 °C 旋转蒸发至近干，加入 5 mL 正己烷，涡动 30 s 溶解残渣，按 7.2.2 步骤净化。

7.1.2 蔬菜与水果样品

称取 10 g（精确至 0.01 g）试样，置于 100 mL 具塞塑料离心管中，加入 30 mL 乙酸乙酯，振摇均匀后超声提取 20 min，4 500 r/min 离心 3 min，移出有机相，残渣再加入 20 mL 乙酸乙酯重复提取 1 次，合并提取液，经无水硫酸钠干燥后于 50 °C 旋转蒸发至近干，加入 5 mL 正己烷，涡动 30 s 溶解残渣，按 7.2.2 步骤净化。

7.1.3 果汁、蜂蜜、葡萄酒等

称取 10 g（精确至 0.01 g）试样置于 250 mL 具塞三角瓶中，加入 10 mL 饱和碳酸氢钠溶液、30 mL 乙酸乙酯，振摇均匀后超声提取 20 min，4 500 r/min 离心 5 min，移出有机相，残渣再加入 20 mL 乙

酸乙酯重复提取 1 次，合并提取液，经无水硫酸钠干燥后于 50 °C 旋转蒸发至近干，加入 5 mL 正己烷，涡动 30 s 溶解残渣，按 7.2.2 步骤净化。

7.1.4 肉及肉制品

称取 10 g（精确至 0.01 g）试样置于 100 mL 具塞塑料离心管中，加入 10 mL 饱和碳酸氢钠溶液、30 mL 乙酸乙酯，以均质器于 10 000 r/min 均质提取 30 s，4 500 r/min 离心 5 min，移出有机相，残渣再加入 20 mL 乙酸乙酯重复提取 1 次，合并提取液，经无水硫酸钠干燥后于 50 °C 旋转蒸发至近干，加入 10 mL 环己烷-乙酸乙酯，涡动 30 s 溶解残渣，于 4 500 r/min 离心 5 min，按 7.2.1 与 7.2.2 步骤顺序净化。

7.2 净化

7.2.1 凝胶渗透色谱

对于 7.1.4 所得的提取液，取 5 mL 通过样品环注入凝胶色谱柱，按以下条件操作：

- 净化柱：Bio-Beads S-X3 填料，25 (i.d.) × 200 mm (i.d.)；
- 流动相：环己烷-乙酸乙酯 (1+1, V/V)；
- 流速：4.2 mL/min；

收集 9.5 ~ 21.5 min 的流出液，50 °C 旋转蒸发至近干，加入 5 mL 正己烷，待固相萃取小柱净化。

注：若 5.00 g 样品中所含的脂肪量大于 0.5 g，则应调整样品提取液体积，使得注入凝胶色谱的 5 mL 样液中所含的脂肪量不大于 0.5 g。

7.2.2 固相萃取小柱净化

使用前以 3 mL 甲醇、3 mL 正己烷预淋洗小柱，将样品提取液上柱，用 5 mL 正己烷淋洗，弃去全部淋洗液，以 5 mL 5% 丙酮-正己烷洗脱，保持流速约为 1 mL/min，收集洗脱液，于 50 °C 氮吹至近干，以 50% 乙腈-水溶液定容 1 mL，过 0.45 μm 滤膜，供高效液相色谱测定；或以 50% 乙腈水溶液定容 5 mL，过 0.22 μm 滤膜，供液相色谱-质谱/质谱测定。

7.3 液相色谱测定

7.3.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱：Waters Symmetry C18 柱，4.6 × 250 mm (i.d.)，5 μm，或相当者；
- 流动相：乙腈-水 (75+25, V/V)；
- 流速：1.0 mL/min；
- 检测波长：235 nm；
- 进样量：40 μL；

7.3.2 液相色谱测定

以啶氧灵标准工作液进样，以峰面积为纵坐标，工作溶液浓度为横坐标绘制标准工作曲线，用标准工作曲线对样品进行定量。标准工作液和待测样液中啶氧灵的响应值均应在仪器线性响应范围内。按 8 项下规定进行结果计算。在本方法条件下，啶氧灵的保留时间约为 8.0 min。标准品色谱图参见附录 A 中图 A.1。

7.4 液相色谱-质谱/质谱法测定

7.4.1 液相色谱-质谱/质谱参考条件

- 色谱柱：Acquity UPLC BEH C₁₈ 柱，2.1 × 55 mm (i.d.)，1.7 μm，或相当者；
- 柱温：30 °C；
- 流动相：乙腈-水 (70+30, V/V)；
- 流速：300 μL/min；
- 进样量：10 μL。

7.4.2 质谱参考条件

- 离子源：电喷雾源 (ESI)，正离子模式；
 - 扫描方式：多反应监测 (MRM)；
- 其它参考质谱条件见附录 B 中表 B.1。

7.4.3 液相色谱-质谱/质谱测定

根据试样中被测物的含量情况，选取响应值适宜的标准工作液进行色谱分析。标准工作液和待测样液中啶氧灵的响应值均应在仪器线性响应范围内。按 8 项下规定进行结果计算。在本方法条件下，啶氧灵的保留时间约为 1.5 min，在锥孔电压为 30 V 时，标准品的二级质谱图与多反应监测 (MRM) 色谱图分别见附录 C 中图 C.1 与图 C.2。

7.4 定性测定

进行样品测定时,如果检出的色谱峰保留时间与标准样品一致,并且在扣除背景后的样品谱图中,各定性离子的相对丰度与浓度接近的同样条件下得到的标准溶液谱图相比,最大允许相对偏差不超过表1中规定的范围,则可判断样品中存在对应的被测物。

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 %

7.5 空白实验

除不加试样外,均按上述步骤进行。

8 结果计算和表述

用数据处理软件或按式(1)计算试样中啶氧灵药物的残留量,计算结果需扣除空白值:

$$X = C \times \frac{V}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X —— 试样中啶氧灵残留量,单位为毫克每千克,mg/kg;

C —— 从标准工作曲线得到的啶氧灵溶液浓度,单位为毫克每升,mg/L;

V —— 样品溶液最终定容体积,单位为毫升,mL;

m —— 最终样液所代表的试样质量,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、回收率

10.1 定量限

液相色谱法的定量限为0.01 mg/kg。

液相色谱-质谱/质谱法的定量限为0.001 mg/kg。

10.2 回收率

当添加水平为0.01 mg/kg、0.02 mg/kg、0.04 mg/kg时,液相色谱法检测啶氧灵的添加回收率参见附录D(表D.1)。

当添加水平为0.001 mg/kg、0.005 mg/kg、0.01 mg/kg时,液相色谱-质谱/质谱法检测啶氧灵的添加回收率参见附录D(表D.2)。

附录 A
(资料性附录)
喹氧灵的液相色谱图

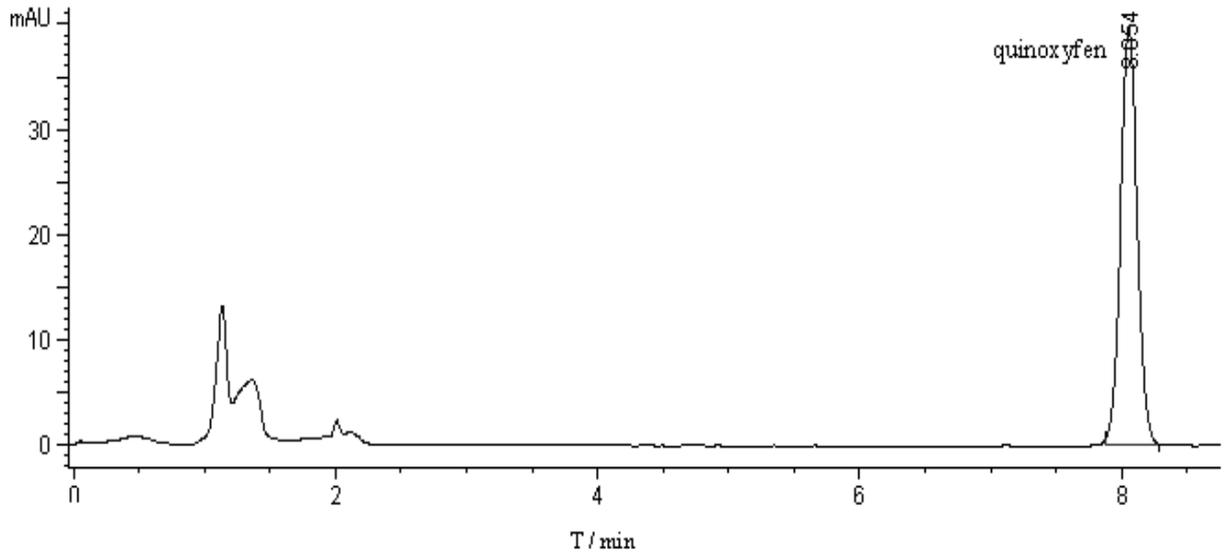


图 A.1 喹氧灵的液相色谱图

附录 B⁽¹⁾
(资料性附录)

参考质谱条件

参考质谱条件:

毛细管电压: 0.5 kV;
 源温度: 120 °C;
 去溶剂温度: 450 °C;
 锥孔气流 (氮气): 45 L/Hr;
 去溶剂气流 (氮气): 900 L/Hr;
 碰撞气压 (氩气): 2.20×10^{-6} Pa;
 驻留时间: 0.20 s
 其它质谱参数见表 C.1

表 B.1 喹氧灵的主要参考质谱参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	驻留时间 (s)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)
喹氧灵	308.2	272.1	0.2	30	13
		197.1*	0.2	30	16

注: 表中带*的离子为定量离子; 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。

(1) 非商业性声明: 附录 C 所列参考质谱条件是在 Waters UPLC/Priemer 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)

啶氧灵的二级质谱图与多反应监测 (MRM) 离子色谱图

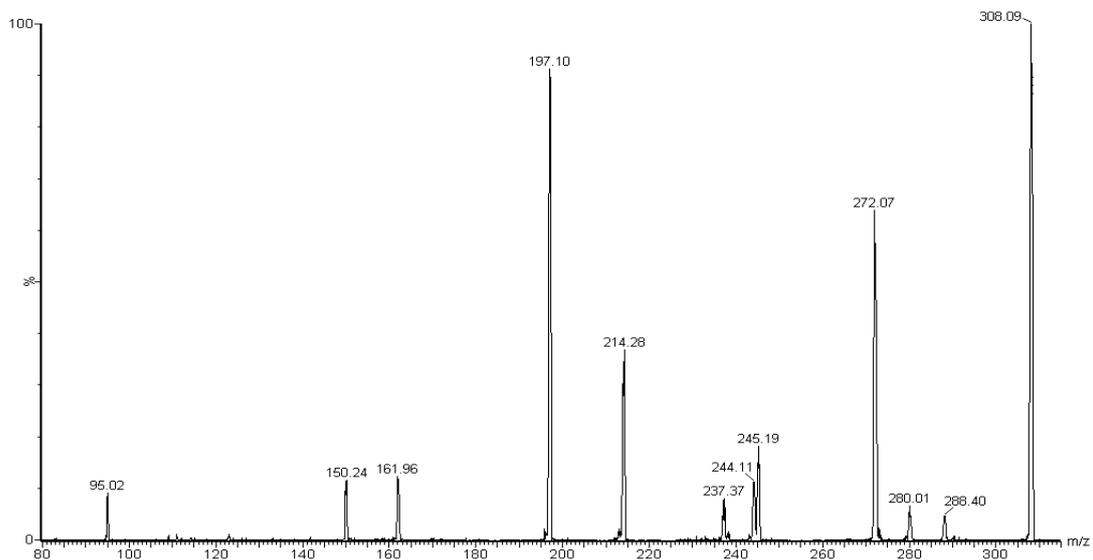


图 C.1 啶氧灵的二级质谱图

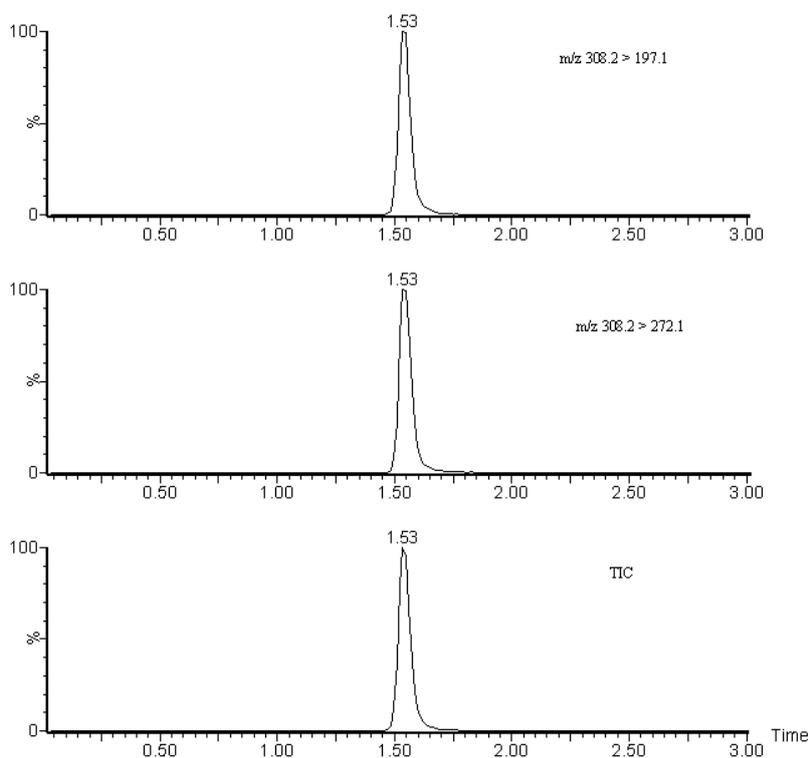


图 C.2 啶氧灵的多反应监测 (MRM) 离子色谱图

附 录 D
(资料性附录)
样品的添加浓度及回收率的实验数据

表D.1 液相色谱法检测啶氧灵药物残留的添加回收率数据

样品名称	添加浓度 (mg/kg)	回收率 (%)
大豆	0.010	75.2 ~ 104.5
	0.020	76.2 ~ 92.9
	0.040	81.8 ~ 93.0
花椰菜	0.010	76.6 ~ 106.5
	0.020	90.1 ~ 102.4
	0.040	94.9 ~ 100.3
樱桃	0.010	81.4 ~ 102.8
	0.020	83.2 ~ 98.0
	0.040	86.6 ~ 98.4
木耳	0.010	89.6 ~ 108.2
	0.020	84.2 ~ 104.4
	0.040	88.9 ~ 104.8
葡萄酒	0.010	77.2 ~ 102.8
	0.020	79.2 ~ 98.2
	0.040	82.8 ~ 97.2
茶叶	0.010	74.6 ~ 107.6
	0.020	76.2 ~ 100.3
	0.040	78.9 ~ 94.8
蜂蜜	0.010	79.4 ~ 102.8
	0.020	91.9 ~ 99.7
	0.040	84.8 ~ 95.6
猪肝	0.010	74.6 ~ 106.5
	0.020	76.3 ~ 101.5
	0.040	80.7 ~ 96.9
鳗鱼	0.010	74.6 ~ 100.3
	0.020	76.2 ~ 97.7
	0.040	80.9 ~ 98.3
鸡肉	0.010	74.6 ~ 104.5
	0.020	78.3 ~ 93.8
	0.040	81.6 ~ 94.1

表D.2 液相色谱唑氧灵药物残留的添加回收率数据

样品名称	添加浓度 (mg/kg)	回收率 (%)
大豆	0.001	83.5 ~ 102.0
	0.005	84.6 ~ 101.8
	0.010	79.3 ~ 97.8
花椰菜	0.001	81.0 ~ 103.0
	0.005	79.4 ~ 96.8
	0.010	78.7 ~ 97.7
樱桃	0.001	81.0 ~ 99.0
	0.005	79.6 ~ 98.4
	0.010	78.4 ~ 100.3
木耳	0.001	81.0 ~ 96.0
	0.005	79.0 ~ 99.8
	0.010	81.4 ~ 104.5
葡萄酒	0.001	81.0 ~ 97.0
	0.005	80.6 ~ 100.8
	0.010	81.3 ~ 96.3
茶叶	0.001	78.0 ~ 106.0
	0.005	78.8 ~ 103.8
	0.010	77.4 ~ 99.7
蜂蜜	0.001	84.0 ~ 101.0
	0.005	80.2 ~ 97.6
	0.010	77.1 ~ 99.7
猪肝	0.001	75.0 ~ 98.0
	0.005	78.4 ~ 103.2
	0.010	76.8 ~ 100.1
鳗鱼	0.001	79.0 ~ 96.0
	0.005	79.6 ~ 101.2
	0.010	76.2 ~ 103.0
鸡肉	0.001	84.0 ~ 97.0
	0.005	77.8 ~ 96.6
	0.010	81.2 ~ 96.9

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≤0.01	46
>0.01≤0.1	34
>0.1≤1	25
>1	19
