

中华人民共和国国家标准

GB 23200.63—2016

代替SN/T 2514—2010

食品安全国家标准 食品中噻酰菌胺残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

National food safety standards—

Determination of tiadinil residue in foods

Liquid 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 2514—2010 《进出口食品中噻酰菌胺农药残留量的测定液相色谱-质谱质谱法》。

本标准与 SN/T 2514—2010 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”；

—标准范围内增加“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 2514—2010。

食品安全国家标准

食品中噻酰菌胺农药残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本标准规定了食品中噻酰菌胺农药残留量的液相色谱-质谱/质谱检测方法。

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、蜂蜜中噻酰菌胺农药残留的定性鉴定/定量测定，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

试样用乙酸乙酯提取，凝胶色谱（GPC）和固相萃取小柱净化，液相色谱-质谱/质谱测定和确证，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 环己烷（C₆H₁₂, 110-82-7）：色谱纯。

4.1.2 乙酸乙酯（C₄H₈O₂, 141-78-6）：色谱纯。

4.1.3 乙腈（C₂H₃N, 75-05-8）：色谱纯。

4.1.4 甲醇（CH₄O, 67-56-1）：色谱纯。

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

4.1.6 氯化钠（NaCl, 7647-14-5）。

4.2 标准品

4.2.1 噻酰菌胺（tiadinil）标准品（C₁₁H₁₀ClN₃OS, CAS号：223580-51-6）：纯度≥97.0%。

4.3 标准溶液配制

4.3.1 噻酰菌胺农药标准储备液：准确称取适量噻酰菌胺农药标准物质，用乙腈配制成浓度为1.0 mg/mL的标准储备液。

4.3.2 噻酰菌胺标准中间溶液：准确吸取适量标准储备液，用乙腈稀释至浓度为10.0 μg/mL的标准中间溶液。

4.3.3 噻酰菌胺标准工作液：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。

4.4 材料

4.4.1 氨基固相萃取柱：200 mg, 3 mL 和 500 mg, 3 mL, 或相当者。临用前用乙腈将氨基柱（200 mg）活化2次，每次2 mL。在氨基柱（500 mg）上填装0.5 g无水硫酸钠，临用前用乙酸乙酯活化2次，每次2 mL。

4.4.2 CHROMABOND XTR 固相萃取柱（大孔径硅藻土壤料）：3000 mg, 15 mL, 或相当者。

4.4.3 微孔滤膜：0.2 μm 和 0.45 μm, 有机相。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-质谱/质谱仪：配有电喷雾离子源。

5.2 凝胶渗透色谱仪。

- 5.3 分析天平：感量0.01 g和0.0001 g。
- 5.4 高速均质机。
- 5.5 高速低温冷冻离心机：10000 r/min。
- 5.6 旋转蒸发仪。
- 5.7 氮气吹干仪。
- 5.8 旋涡震荡器。
- 5.9 聚四氟乙烯塑料离心管：50 mL，具塞。
- 5.10 玻璃刻度试管，5 mL 和 10 mL，具塞。
- 5.11 鸡心瓶：50 mL。

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

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

6.1.2 大米、板栗、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，密闭，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，密闭，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，密闭，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 °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，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 °C保存；水果蔬菜类和动物源性食品等试样于-18 °C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 10.0 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，振荡 10 min。提取液 10000 r/min 离心 5 min，吸取 10.0 mL 上清液，冰箱 0 °C 以下放置 10 h，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 10.0 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，振荡 10 min。将样本提取液 10000 r/min 离心 5 min，吸取 10.0 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，加入 10.0 mL 水，浸泡 20 min，再加入 1 g 无水硫酸钠，涡旋振荡 1 min。加入 10.0 mL 乙酸乙酯，涡旋振荡 2 min，将样本提取液 4000 r/min 离心 5 min，吸取上清液。再加入 10.0 mL 乙酸乙酯，涡旋振荡 2 min，4000 r/min 离心 5 min，重复提取一次，合并二次的上清液，45 °C吹氮浓缩至 2 mL 左右，定容至 10 mL，过 0.45 μm 有机滤膜，待凝胶渗透色谱净化。

7.1.4 蜂蜜

称取 2.0 g (精确至 0.01 g) 试样于 50 mL 离心管中, 加 3 mL 水, 0.5 g 氯化钠, 震荡混匀, 过 XTR 固相萃取柱。上样后, 将样本液保持 5 min, 用 35 mL 乙酸乙酯分多次淋洗, 流速控制为 1.0 mL/min, 收集滤液于 50 mL 鸡心瓶中, 在 45 ℃下减压浓缩至约 0.5 mL, 待净化。

7.2 净化

7.2.1 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、大米、茶叶

将 7.1.1、7.1.2、7.1.3 的所得溶液 10 mL, 过凝胶渗透色谱仪, 收集 7~14 min 的流出液, 操作浓缩装置, 在 45℃下浓缩至近干, 2 mL 乙腈定容, 作为初净化液。

将初净化液过氨基柱 (200 mg) 后, 用乙腈洗涤收集瓶 3 次, 每次 1 mL, 洗液同样过柱, 流速控制为 1 mL/min, 收集全部过柱溶液于吹氮管中, 在 45 ℃下吹氮浓缩至近干, 用甲醇定容至 1.0 mL, 再加入 1.0 mL 去离子水, 涡旋振荡均匀, 过 0.2 μm 有机滤膜, 待测。

7.2.2 蜂蜜

将浓缩液过氨基柱 (500 mg), 4 mL 乙酸乙酯分三次洗脱, 流速控制为 1 mL/min, 收集洗脱液于吹氮管中, 在 45 ℃下吹氮浓缩干, 用甲醇定容至 1.0 mL, 再加入 1.0 mL 去离子水, 涡旋振荡均匀, 过 0.2 μm 有机滤膜, 待测。

7.3 测定

7.3.1 凝胶色谱净化条件

7.3.1.1 凝胶净化柱: Bio-Beads, S-X3, 300 mm×25 (内径) mm; 38 μm~75 μm。

7.3.1.2 浓缩时温度: 45℃。

7.3.1.3 流动相: 环己烷—乙酸乙酯 (50+50, 体积比)。

7.3.1.4 定容试剂: 乙腈。

7.3.1.5 流速: 4.7 mL/min。

7.3.1.6 进样量: 5 mL。

7.3.2 LC—MS/MS质谱参考条件

7.3.2.1 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, 或相当者。

b) 柱温: 40℃。

c) 流动相: 甲醇—水 (90+10, 体积比)。

d) 流速: 0.30 mL/min。

e) 进样量: 10 μL。

7.3.2.2 质谱测定参考条件

参见附录 A。

7.3.3 色谱测定与确证

根据样液中噻酰菌胺含量情况, 选定峰面积相近的标准工作溶液。标准工作溶液和样液中噻酰菌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, 噻酰菌胺的保留时间约为 1.01 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, 偏差不超过表 1 规定的范围, 被确证的样品可判定为噻酰菌胺阳性检出。标准品的质谱图见附录 B 中图 B.1、B.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 空白实验

除不加试样外, 均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下式 (1) 计算试样中噻酰菌胺农药的含量, 计算结果需扣除空白值。

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

式中：

X —— 样液中噻酰菌胺残留含量, 单位为纳克每克 (ng/g);

A — 样液中噻酰菌胺的色谱峰面积；

c — 标准工作溶液中噻酰菌胺浓度，单位为纳克每毫升 (ng/mL);

V — 最终样液的定容体积, 单位为毫升 (mL);

A_S — 标准工作溶液中噻酰菌胺的色谱峰面积;

m——最终样液所代表试样质量，单位为克(g)。

注：计算结果应扣除空白值，测定结果用平行测定的算术

糖密度

前言

3.3 在重测性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值与算术平均值的比值(百分率)应符合附录D的要求。

5.2 在进行注录时，两次独立测定结果的绝对差值与只算术平均值的比值（百分率）应符合附录 E 的要求。

10 定量限和回收率

10.1 足量限 木方法嘗

本方法噻酰菌胺农药定量限为 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 回收率

当添加水杨酸为10 μg/kg、20 μg/kg、50 μg/kg时，噬菌菌胶在不同基质中的添加回收率参见附录。

附录 A
(资料性附录)
参考质谱条件

参考质谱条件

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI）。
- 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）：4500V。
- 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°C。
- g) 离子源温度：500°C。
- h) 定性离子对、定量离子对、采集时间、去簇电压及碰撞能量见表 A.1。

表 A.1 嘧酰菌胺监测离子对、定量离子对、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)
噻酰菌胺	265.9/70.9	265.9/70.9	100	-61	-35
	265.9/237.9				-15

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A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 B
(资料性附录)
噻酰菌胺标准品 LC/MS-MS 质谱图

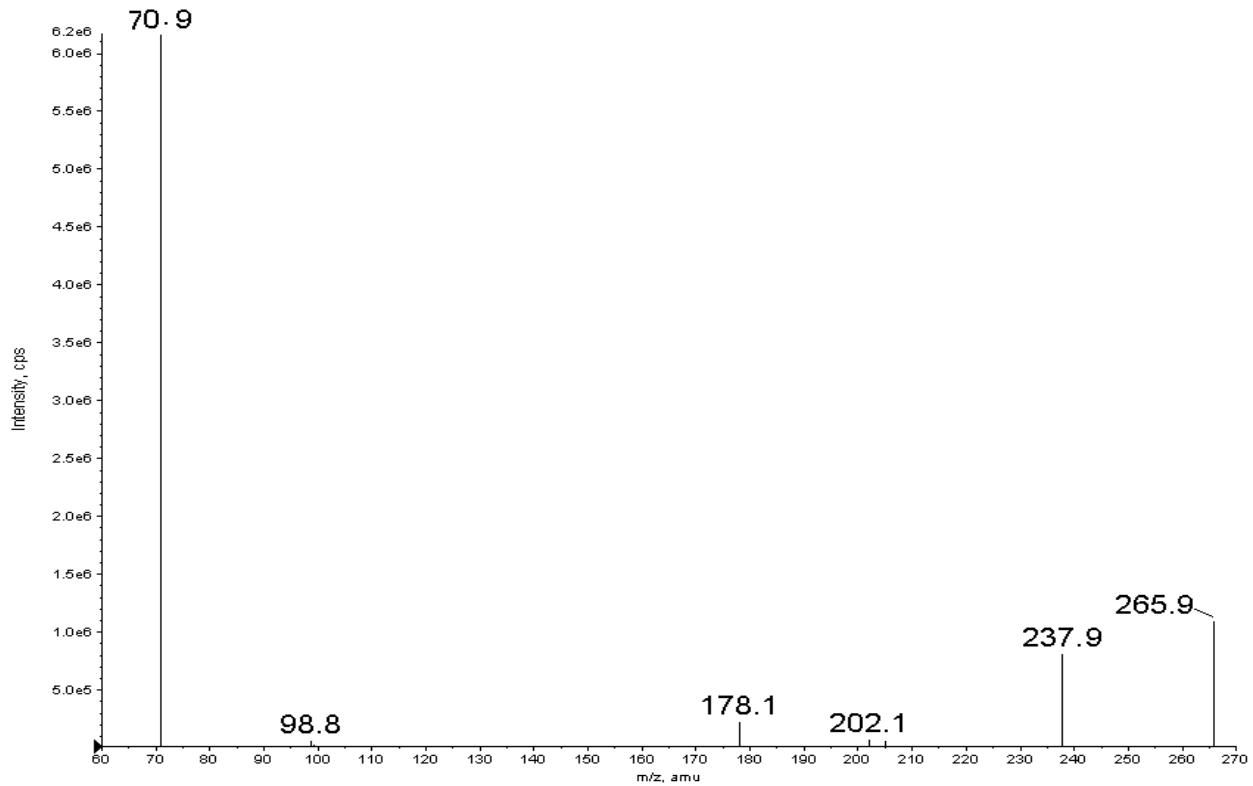


图 B.1 噻酰菌胺标准品子离子全扫描质谱图

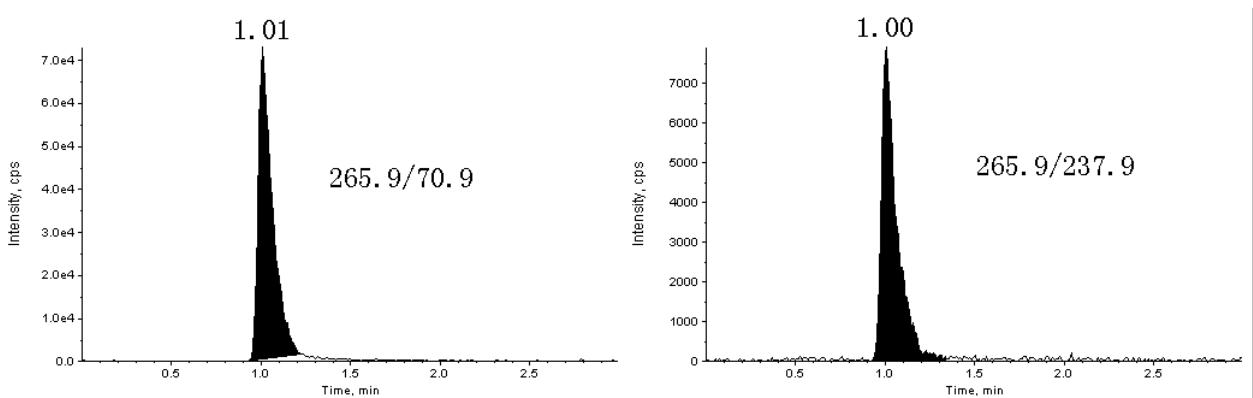


图 B.2 噻酰菌胺标准品多反应监测 (MRM) 色谱图 (10 μ g/L)

附录 C
(资料性附录)

表C.1 不同基质中噻酰菌胺农药的添加回收率

样品基质	添加浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 (%)
葡萄	10	92.4~108.0
	20	78.5~95.0
	50	71.8~91.0
生菜	10	78.6~91.6
	20	88.5~105.0
	50	76.0~95.8
菜心	10	100.0~109.0
	20	89.5~108.0
	50	97.8~107.8
柑橘	10	99.4~109.0
	20	89.0~107.5
	50	98.6~110.2
板栗	10	87.7~110.0
	20	76.0~104.5
	50	90.6~105.8
胡萝卜	10	93.4~110.0
	20	91.0~117.0
	50	87.4~109.4
番茄酱	10	92.0~102.0
	20	88.0~104.5
	50	90.8~101.6
鸡肉	10	90.7~103.0
	20	87.5~104.5
	50	87.6~97.4
罗非鱼	10	88.4~104.0
	20	90.0~99.0
	50	86.6~94.4
	400	82.0~105.8
牛肉	10	67.7~87.4
	20	86.5~100.0
	50	96.8~105.6
羊肝	10	72.8~95.7
	20	78.5~109.5
	50	68.2~101.4
大米	10	90.7~109.0
	50	90.0~104.0
	100	93.2~104.4
	1000	103.8~111.0
茶叶	10	77.4~93.4
	20	83.0~116.0
	50	79.6~99.2
蜂蜜	10	85.0~105.0
	20	75.5~104.5
	50	79.8~87.2

附录 D
(规范性附录)
实验室内重复性要求

表 D.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 E
(规范性附录)
实验室间再现性要求

表 E.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