

GB

中 华 人 民 共 和 国 国 家 标 准

GB 23200.57—2016

代替 SN/T 2322—2009

**食品安全国家标准
食品中乙草胺残留量的检测方法**

National food safety standards—

Determination of acetochlor 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 2322-2009 《进出口食品中乙草胺残留量检测方法》。

本标准与SN/T 2322-2009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“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 2322-2009。

食品安全国家标准

食品中乙草胺残留量的检测方法

1 范围

本标准规定了食品中乙草胺残留量的气相色谱测定、气相色谱-质谱确证和制样方法。

本标准适用于花生、大豆、玉米、小麦、洋葱、海菜、鸡肉、猪肉、腰果和松茸中乙草胺残留量的测定，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

试样中的乙草胺残留物用乙腈或乙酸乙酯提取，经凝胶渗透色谱仪（GPC）和/或硅胶固相萃取柱（SPE）净化，用气相色谱法（GC）测定和气相色谱-质谱法（GC-MS）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} ）。

4.1.2 乙酸乙酯（ $C_4H_8O_2$ ）。

4.1.3 环己烷（ C_6H_{12} ）。

4.1.4 乙腈（ C_2H_3N ）。

4.1.5 丙酮（ C_3H_6O ）。

4.1.6 无水硫酸钠（ Na_2SO_4 ）：分析纯；650℃灼烧4h，贮于密封容器中备用。

4.2 溶液配制

4.2.1 乙酸乙酯-正己烷（3+97，V/V）：取30mL乙酸乙酯，加入970mL正己烷，摇匀备用。

4.2.2 乙酸乙酯-正己烷（5+95，V/V）：取50mL乙酸乙酯，加入950mL正己烷，摇匀备用。

4.2.3 乙酸乙酯-环己烷（50+50，V/V）：取500mL乙酸乙酯，加入500mL正己烷，摇匀备用。

4.3 标准品

4.3.1 乙草胺标准品（acetochlor, $C_{14}H_{20}ClNO_2$, CAS No.: 34256-82-1）：纯度 $\geq 98\%$ 。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 乙草胺标准溶液：准确称取适量的乙草胺标准品，用丙酮配成浓度为100 $\mu g/mL$ 的标准储备液。根据需要将标准储备液用正己烷稀释成适当浓度的标准工作液。标准储备液和标准工作液避光在0℃~4℃条件下贮存。有效期6个月。

5 仪器与设备

5.1 气相色谱仪：配微池电子捕获检测器（ μ -ECD）。

5.2 气相色谱-质谱仪：配电子轰击源（EI）。

5.3 凝胶渗透色谱仪。

5.4 旋转蒸发器。

5.5 离心机：5000 r/min。

5.6 高速均质器

5.7 硅胶固相萃取柱：6 mL/1000 mg，或相当者；使用前用10 mL正己烷淋洗。

5.8 离心管：100 mL，塑料和玻璃。

5.9 滤膜：0.45 μm ，有机相。

5.10 分析天平：感量0.01 g和0.0001 g。

6 试样制备与保存

6.1 蔬菜类、食用菌类

6.1.1 取洋葱等有代表性辛辣蔬菜样品约 500 g，将其切成约 4 cm² 的小块。装入洁净的容器内，密闭并标明标记。-18 ℃ 以下保存。

6.1.2 取有代表性蔬菜样品（洋葱等辛辣蔬菜除外）和松茸等有代表性食用菌样品约 500 g，将其用捣碎机将样品加工成浆状。混匀，装入洁净的容器内，密闭并标明标记。-18 ℃ 以下保存。

6.2 海菜

取海菜有代表性样品约 500 g，切碎后，用捣碎机将样品加工成浆状。混匀，装入洁净的容器内，密闭并标明标记。-18 ℃ 以下保存。

6.3 粮谷和坚果类

取花生、玉米、小麦、大豆、腰果等有代表性样品约 500 g，用粉碎机粉碎，混匀，装入洁净的容器内，密闭并标明标记。4 ℃ 以下保存

6.4 动物源类

取鸡肉、猪肉等有代表性样品约 500 g，用绞肉机绞碎，混匀，装入洁净的容器内，密闭并标明标记。-18 ℃ 以下保存。

注：以上样品取样部位按 GB 2763 附录 A 执行。

7 测定步骤

7.1 提取

粮谷、坚果：称取试样 10 g（精确至 0.1 g）于 100 mL 塑料离心管中，加入 50 mL 乙腈，在匀浆器上匀浆 2 min。以 4 000 r/min 离心 10 min，将上清液倒入浓缩瓶中，浓缩至干，用 10 mL 乙酸乙酯-环己烷溶液溶解残渣，过膜，供凝胶渗透色谱（GPC）净化。

禽肉组织：称取试样 10 g（精确到 0.1 g）于 100 mL 塑料离心管中，加入 5 g 无水硫酸钠，搅拌均匀，加入 50 mL 乙腈，在匀浆器上匀浆 2 min。以 4 000 r/min 离心 10 min，将上清液用无水硫酸钠脱水后倒入浓缩瓶中，浓缩至干，用 10 mL 乙酸乙酯-环己烷溶液溶解残渣，过膜，供凝胶渗透色谱（GPC）净化。

洋葱：称取试样 5 g（精确至 0.1 g）于 100 mL 玻璃离心管中，在 700 w 消解功率下微波消解 40 s。恢复至室温，加入 50 mL 乙酸乙酯，在匀浆器上匀浆 2 min。以 4 000 r/min 离心 10 min，将上清液倒入浓缩瓶中，浓缩至干，用 1 mL 正己烷溶解残渣，供固相萃取柱净化。

海菜、松茸：称取试样 5 g（精确至 0.1 g）于 100 mL 玻璃离心管中，加入 50 mL 乙酸乙酯，在匀浆器上匀浆 2 min。以 4 000 r/min 离心 10 min，将上清液倒入浓缩瓶中，浓缩至干，用 1 mL 正己烷溶解残渣，供固相萃取柱净化。

7.2 净化

7.2.1 凝胶渗透色谱净化条件

- a) 色谱柱：S-X₃ 20×2 cm（内径），或相当者；
- b) 流动相：环己烷-乙酸乙酯（1 + 1，V/V）；
- c) 流速：5.0 mL/min；
- d) 进样量：5.0 mL；
- e) 淋洗体积：40 mL；
- f) 收集体积：30 mL；
- g) 清洗体积：10 mL。

7.2.2 凝胶渗透色谱净化

将 7.1 节中粮谷、坚果和禽肉组织的提取液过滤膜注入凝胶渗透色谱仪中，收集 40~70 mL 流出液，在 40 ℃ 水浴上减压浓缩至干，用 1 mL 正己烷溶解残渣，供固相萃取柱净化。

7.2.3 硅胶固相萃取柱净化

将 7.1 节中洋葱、海菜、松茸提取液和 7.2.2 节净化液注入硅胶固相萃取柱中，再用 2×1 mL 正己烷润洗盛样液容器，注入硅胶柱中，依次用 10 mL 正己烷、5 mL 乙酸乙酯-正己烷溶液和 5 mL 乙酸乙酯-正己烷溶液淋洗，再用 15 mL 乙酸乙酯-正己烷溶液洗脱，收集洗脱液于 40℃ 水浴减压浓缩至干，用正己烷定容至 5 mL，供气相色谱测定和气相色谱-质谱确证。

7.3 测定

7.3.1 气相色谱参考条件

- a) 色谱柱：DB-5 石英毛细管柱，30 m×0.32 mm（内径），膜厚 0.25 μm，或相当者；
- 15℃/min

- b) 色谱柱温度: 60℃ (1min) \longrightarrow 260℃ (5min), 300℃ (后运行 15min);
 c) 进样口温度: 250 ℃;
 d) 检测器温度: 325 ℃;
 e) 载气: 氦气, 纯度 \geq 99.995%, 1.8 mL/min;
 f) 进样量: 1 μ L;
 g) 进样方式: 无分流进样, 0.75 min 后开阀;

7.3.2 气相色谱-质谱参考条件

- a) 色谱柱: DB-5MS 石英毛细管柱, 30 m \times 0.25 mm (内径), 膜厚 0.25 μ m, 或相当者;
 b) 色谱柱温度: 60℃ (1min) $\xrightarrow{15^\circ\text{C}/\text{min}}$ 260℃ (5min), 300℃ (后运行 15min);
 c) 进样口温度: 250 ℃;
 d) 色谱-质谱接口温度: 280 ℃;
 e) 载气: 氦气, 纯度 \geq 99.995%, 1.0 mL/min;
 f) 进样量: 1 μ L;
 g) 进样方式: 无分流进样, 0.75 min 后开阀;
 h) 电离方式: EI;
 i) 电离能量: 70 eV;
 j) 测定方式: 选择离子监测方式 (SIM);
 k) 监测离子 (m/z): 定量 162, 定性 174、234、269;
 l) 溶剂延迟: 3 min。

7.3.3 气相色谱测定

根据样液中乙草胺含量情况, 选定浓度相近的标准工作溶液。标准工作溶液和样液中乙草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, 乙草胺的保留时间约为 12.3 min。标准品的色谱图见附录 A 图 A.1。

7.3.4 气相色谱-质谱确证

乙草胺标准溶液及样液均按 7.3.2 节规定的条件进行测定, 如果样液与标准溶液相同的保留时间有峰出现, 则对其进行质谱确证。经确证分析被测物 SIM 色谱峰保留时间与标准样品相一致, 并且在扣除背景后的样品谱图中, 所选择的离子均出现; 选择离子 m/z162、174、234、269 (其丰度比 100:54:24:8) 与标准样品相关离子的相对丰度一致, 相似度在允许偏差之内 (见表 1), 则可判定样品中存在乙草胺。乙草胺标准品总离子流色谱图、选择离子质谱图和全扫描质谱图见附录 A 图 A.2、A.3 和 A.4。

表1 GC-MS确证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 %	\leq 10 %
允许的相对偏差	\pm 20 %	\pm 25 %	\pm 30 %	\pm 50 %

7.4 空白试验

除不加试样外, 均按上述步骤进行。

8 结果计算和表述

用色谱数据处理机或按式 (1) 计算试样中乙草胺的含量, 计算结果需将空白值扣除。

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

式中:

- X —— 试样中乙草胺的含量, 毫克/千克, mg/kg;
 c —— 标准工作液中乙草胺的浓度, 单位为微克/毫升, μ g/mL;
 A —— 样品溶液中乙草胺的峰面积;
 A_s —— 标准工作溶液中乙草胺的峰面积;
 V —— 样液最终定容体积, 单位为毫升, mL;
 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

本方法的定量限均为 0.01 mg/kg。

10.2 回收率

气相色谱法检测样品的添加浓度及回收率数据见附录 B（表 B.1），气相色谱-质谱法检测样品的添加浓度及回收率数据见附录 B（表 B.2）。

附录 A
(资料性附录)
标准品色谱和质谱图

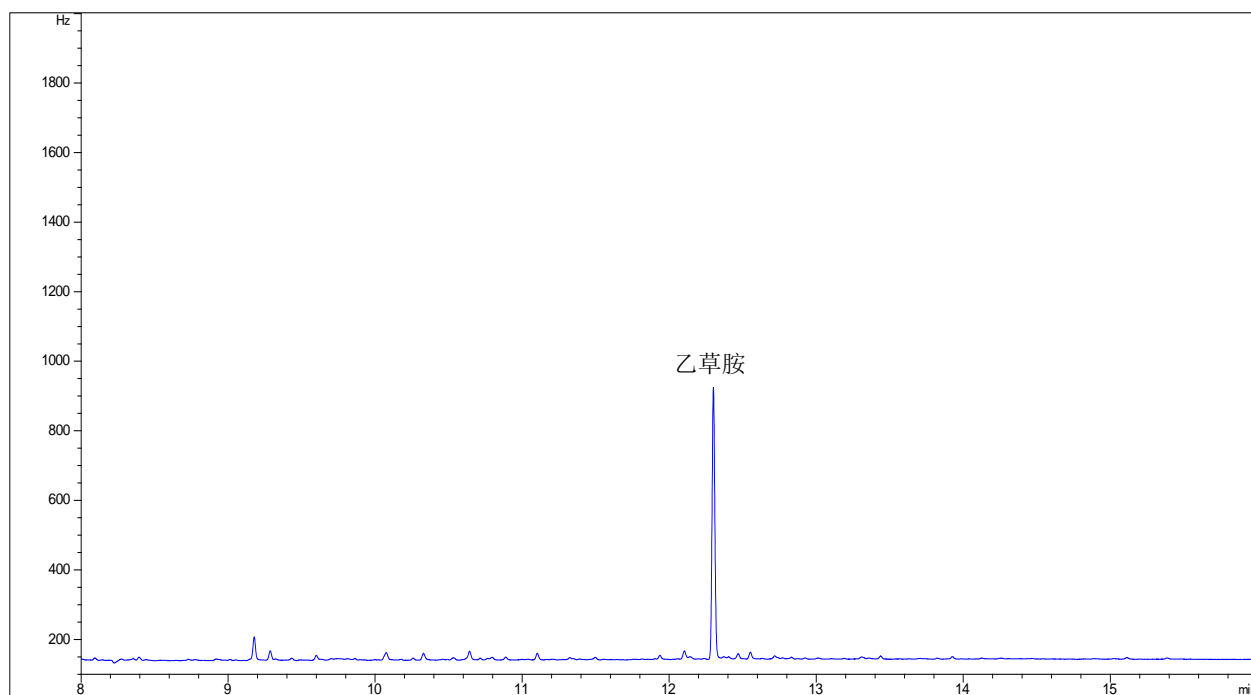


图 A.1 乙草胺标准品气相色谱图

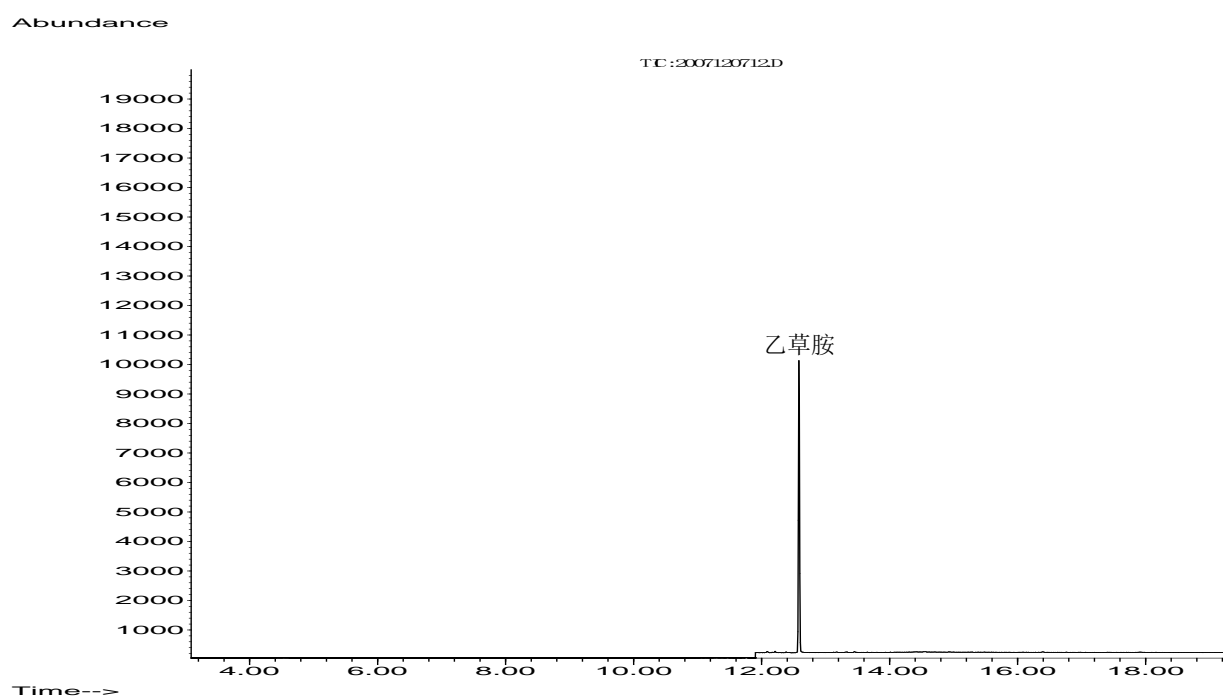


图 A.2 乙草胺标准品总离子流色谱图(TIC)

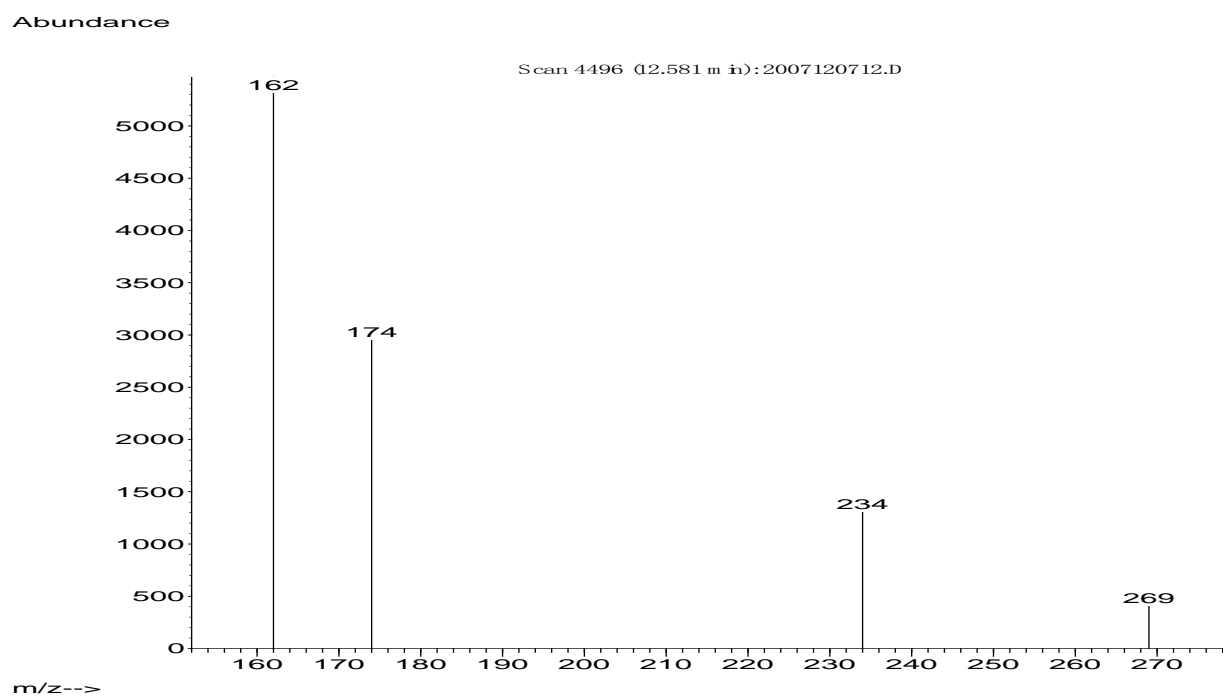


图 A.3 乙草胺标准品选择离子(SIM)质谱图

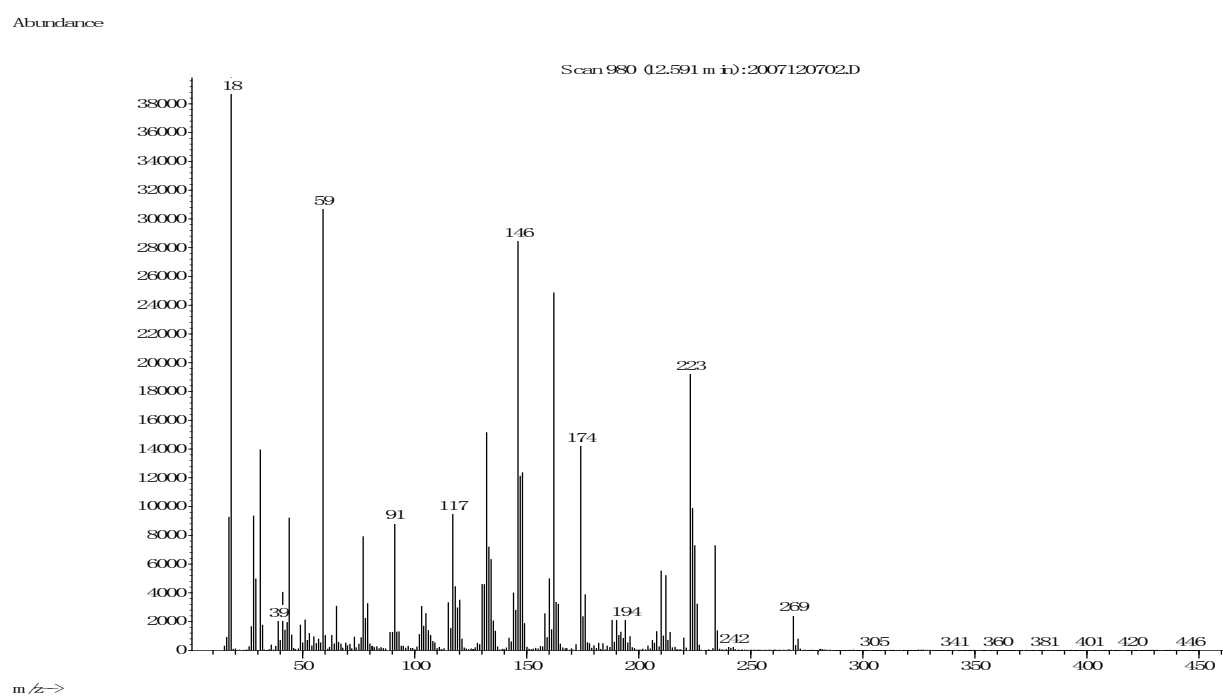


图 A.4 乙草胺标准品全扫描(SCAN)质谱图

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 气相色谱法检测样品的添加浓度及回收率数据

样品名称	添加浓度 (mg/kg)	回收率范围 (%)	精密度 RSD (%)	样品名称	添加浓度 (mg/kg)	回收率范围 (%)	精密度 RSD (%)
花生	0.01	71.3~91.2	9.8	海菜	0.01	86.7~95.9	8.3
	0.02	77.2~91.5	6.0		0.02	81.8~96.7	4.4
	0.05	78.1~96.4	9.1		0.05	79.1~93.2	6.9
大豆	0.01	76.2~88.7	5.1	鸡肉	0.01	82.0~94.6	7.4
	0.02	74.5~86.9	3.1		0.02	80.3~88.8	4.1
	0.05	76.0~94.2	8.6		0.05	80.1~97.2	6.3
玉米	0.01	75.7~86.0	6.9	猪肉	0.01	76.0~86.7	5.3
	0.02	73.9~86.8	4.9		0.02	77.1~85.5	3.5
	0.05	76.8~92.3	6.9		0.05	78.9~98.8	6.5
小麦	0.01	75.9~88.2	6.7	腰果	0.01	74.3~87.7	5.5
	0.02	78.3~91.6	3.4		0.02	75.4~89.2	4.9
	0.05	76.7~89.1	7.4		0.05	75.4~92.7	7.8
洋葱	0.01	76.6~93.1	9.4	松茸	0.01	81.5~97.6	8.3
	0.02	82.6~93.7	4.3		0.02	83.1~96.5	4.4
	0.05	80.0~93.2	6.9		0.05	79.3~95.3	6.9

表 B.2 气相色谱-质谱法检测样品的添加浓度及回收率数据

样品名称	添加浓度 (mg/kg)	回收率范围 (%)	精密度 RSD (%)	样品名称	添加浓度 (mg/kg)	回收率范围 (%)	精密度 RSD (%)
花生	0.01	71.5~88.3	8.6	海菜	0.01	79.0~93.7	6.8
	0.02	77.5~94.0	5.9		0.02	76.1~93.5	5.8
	0.05	70.1~90.2	8.3		0.05	81.9~97.8	7.1
大豆	0.01	74.9~85.2	6.9	鸡肉	0.01	80.0~97.7	6.7
	0.02	82.5~90.3	4.7		0.02	84.1~95.5	5.2
	0.05	76.2~96.2	6.7		0.05	79.9~98.8	7.5
玉米	0.01	70.9~85.8	4.4	猪肉	0.01	77.4~89.2	4.6
	0.02	75.9~88.8	4.0		0.02	74.9~86.2	4.6
	0.05	78.1~96.4	6.0		0.05	80.4~94.2	7.5
小麦	0.01	71.3~86.2	4.4	腰果	0.01	76.4~90.2	7.3
	0.02	84.3~92.6	4.1		0.02	77.4~87.2	6.4
	0.05	74.7~90.2	6.8		0.05	77.4~97.9	6.7
洋葱	0.01	82.6~91.1	4.6	松茸	0.01	82.0~96.5	6.8
	0.02	78.6~89.7	5.5		0.02	83.9~100.3	5.8
	0.05	79.0~95.2	8.7		0.05	87.6~101.5	7.1

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
$> 0.001 \leq 0.01$	32
$> 0.01 \leq 0.1$	22
$> 0.1 \leq 1$	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
$> 0.001 \leq 0.01$	46
$> 0.01 \leq 0.1$	34
$> 0.1 \leq 1$	25
> 1	19
