

# 中华人民共和国国家标准

GB XXXX—XXXX

## 食品安全国家标准 食品中乙氧基喹的测定 (征求意见稿)

食品安全国家标准  
征求意见稿

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会  
国家市场监督管理总局 发布

## 前 言

本标准代替GB/T 5009.129-2003《水果中乙氧基喹残留量的测定》。

本标准与GB/T 5009.129-2003相比，主要变化如下：

- 标准名称修改为“食品安全国家标准 食品中乙氧基喹的测定”
- 增加了高效液相色谱法作为第一法，增加了液相色谱-串联质谱/质谱的确证方法；将气相色谱法作为第二法。
- 删除了气相色谱法中填充柱色谱柱分离的内容；
- 增加了气相色谱法中毛细管色谱柱分离的内容。

食品安全国家标准公开征求意见

# 食品安全国家标准

## 食品中乙氧基喹的测定

### 1 范围

本标准规定了水果中乙氧基喹残留量的液相色谱测定方法与液相色谱-串联质谱/质谱确证方法。

本标准第一法适用于苹果、梨、柑橘、葡萄中乙氧基喹残留量的测定；第二法适用于苹果等水果中乙氧基喹残留量的测定。

### 第一法 高效液相色谱法

### 2 原理

试样中含有的乙氧基喹在碱性条件下经正己烷提取，浓缩后乙腈复溶，采用高效液相色谱荧光法测定，液相色谱-串联质谱/质谱法确证，外标法定量。

### 3 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 氢氧化钠 (NaOH)。

3.1.2 抗坏血酸 (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>)。

3.1.3 乙腈 (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N)。

3.1.4 乙腈 (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N)：色谱纯。

3.1.5 正己烷 (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>)。

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 氢氧化钠溶液 (0.1mol/L)：称取 4 g 氢氧化钠，溶于水并稀释至1000 mL。

3.2.2 含抗坏血酸的乙腈溶液：称取抗坏血酸 0.1 g，溶于100 mL乙腈中，充分振摇，过滤，取滤液。

#### 3.3 标准品

乙氧基喹 (C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>NO, CAS号：91-53-2)：纯度≥98%，或其他具有标准物质认证的标准物质。

#### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 乙氧基喹标准储备液(1.00 mg/mL)：准确称取乙氧基喹标准品 10 mg (精确至 0.01 mg)，用乙腈溶解并定容100 mL，混匀。将溶液转移至玻璃容器中，于-18℃以下保存，有效期3个月。

3.4.2 乙氧基喹标准中间液(10.0 μg/mL)：吸取标准储备液(3.4.1) 1 mL 于 100 mL容量瓶中，加乙腈定容至刻度，混匀。将溶液转移至玻璃容器中，于-18℃以下保存，有效期1个月。

3.4.3 乙氧基喹标准使用液(1.00 μg/mL)：吸取标准中间液(3.4.2) 1 mL 于 10 mL容量瓶中，加乙腈定容至刻度，混匀。将溶液转移至玻璃容器中。临用前配制。

3.4.4 乙氧基喹标准系列工作液：分别吸取标准使用液(3.4.3) 0.04 mL、0.05 mL、0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1 mL于10 mL容量瓶中，用含抗坏血酸的乙腈溶液定容至刻度，混匀。乙氧基喹标准系列工

作液的浓度分别为 4.00 ng/mL、5.00 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL、50.0 ng/mL、100 ng/mL。临用前配制。

#### 4 仪器和设备

- 4.1 高效液相色谱仪：配有荧光检测器。
- 4.2 液相色谱串联四级杆质谱仪：带电喷雾离子源（ESI）。
- 4.2 组织捣碎机。
- 4.3 分析天平：感量为 0.01 g 和 0.1 mg。
- 4.4 涡旋混合器。
- 4.5 震荡器：30~300 r/min。
- 4.6 氮吹仪。
- 4.7 离心机：转速可达 8000 r/min。
- 4.8 有机微孔滤膜：0.45 μm。

#### 5 分析步骤

##### 5.1 试样制备与保存

取代表性试样500 g，按2 g抗坏血酸/100 g试样比例，加入一定量抗坏血酸，用组织捣碎机粉碎混匀加工成浆状。混匀，装入洁净的容器中，密封并标明标记。试样于-18℃以下冷冻避光保存。在制样的操作过程中，应防止试样受到污染或发生残留物含量的变化。试样处理前应复融及再次匀化处理。

##### 5.2 试样处理

称取5 g（精确到 0.01 g）试样于 50 mL 离心管中，加入氢氧化钠溶液 5 mL，涡旋混匀 30 s后，加入10 mL正己烷，涡旋混匀，振荡提取15 min后，以 8000 r/min离心 3 min，将上层正己烷相全部转移至 25 mL容量瓶中，残渣再次加入 10 mL正己烷，重复提取1次，以 8000 r/min离心 3 min后，将上层正己烷相与第一次获得的正己烷相合并于同一容量瓶中，加正己烷定容至刻度，摇匀，吸取5 mL，于 30 ℃氮吹浓缩至干，用乙腈定容至5 mL，经0.45 μm有机微孔滤膜过滤，滤液供液相色谱仪测定。

注：氮吹浓缩至干后应迅速加入乙腈复溶，久置可导致乙氧基喹损失。

##### 5.3 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：C<sub>18</sub>色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）或性能相当者；
- b) 流动相：乙腈+水（V/V）= 65+35；
- c) 流速：1 mL/min；
- d) 柱温：30 ℃；
- e) 激发波长：365 nm，发射波长：435nm；
- f) 进样量：10 μL。

##### 5.4 标准曲线的制作

将标准系列工作液分别注入高效液相色谱仪中，测定相应的峰面积，以标准系列工作液中乙氧基喹的浓度为横坐标，以乙氧基喹的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。乙氧基喹标准溶液的色谱图参见附录A。

##### 5.5 试样溶液的测定

将试样溶液注入高效液相色谱仪中，试样溶液中乙氧基喹色谱峰保留时间与标准溶液应在 $\pm 2.5\%$ 范围内，得到待测物峰面积，根据标准曲线得到待测液中乙氧基喹的浓度。

## 5.6 液相色谱-串联质谱/质谱确证

试样在高效液相色谱仪测定时，当存在干扰峰及需要辅助定性时，可进行质谱确证。确证方法见附录B。

## 6 分析结果的表述

试样中乙氧基喹的含量按公式（1）计算：

$$X = \frac{c \times V \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X—— 试样中乙氧基喹的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；
  - c—— 由标准曲线得到的试样溶液中乙氧基喹的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；
  - V—— 测试试样的定容体积，单位为毫升（mL）；
  - m—— 试样的取样量，单位为克（g）；
  - 1000—— 换算系数。
- 计算结果保留3位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

## 8 其他

当取样量为5 g，定容体积为25 mL时，本方法的检出限为0.01 mg/kg，定量限为0.02 mg/kg。

## 第二法 气相色谱法

## 9 原理

水果中残留的乙氧基喹采用正己烷提取。经蒸馏水清洗后，直接用配有氮磷检测器的气相色谱仪测定，以禾草敌做内标进行定量。

## 10 试剂和材料

除非另有说明，本方法使用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

### 10.1 试剂

- 10.1.1 无水硫酸钠（ $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ）。
- 10.1.2 正己烷（ $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ）。

### 10.2 标准品

- 10.2.1 乙氧基喹（ $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}$ ，CAS号：91-53-2）：纯度 $\geq 98\%$ ，或其他具有标准物质认证的标准物质。

10.2.1 *N,N*-六亚甲基硫羟氨基甲酸酯（又名禾草敌， $C_9H_{17}NOS$ ，CAS号：2212-67-1）：纯度 $\geq 95\%$ ，或其他具有标准物质认证的标准物质。

### 10.3 标准溶液配制

准确称取适量的乙氧基喹和禾草敌标准品，分别用正己烷溶解，并配制成浓度为1.000 mg/mL的储备液。根据需要将储备液稀释成适宜浓度的标准工作液，其中乙氧基喹浓度为10  $\mu\text{g/mL}$ 或与样液中乙氧基喹浓度相近，禾草敌浓度为20  $\mu\text{g/mL}$ 。临用时新配。

## 11 仪器和设备

- 11.1 气相色谱仪：配有氮磷检测器。
- 11.2 组织捣碎机
- 11.3 分析天平：感量为0.01 g和0.1 mg。
- 11.4 涡旋混合器。
- 11.5 震荡器：30~300 r/min。

## 12 分析步骤

### 12.1 试样制备与保存

同5.1。

### 12.2 试样处理

准确称取约5 g（精确到0.001 g）试样于锥形瓶中。加入约20g无水硫酸钠脱水后，在加入45 mL正己烷和1 mL 20 $\mu\text{g/mL}$  禾草敌内标溶液。振荡20min，过滤，用正己烷洗涤残渣。合并提取液，定容于50 mL容量瓶中，混匀。吸取5 mL正己烷提取液于10 mL有刻度的离心管中，加入5 mL水，振摇。待溶液分层后，取上层正己烷提取液供气相色谱测定。

### 12.3 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：100%聚二甲基硅氧烷毛细管色谱柱，内径320  $\mu\text{m}$ ，长30 m，膜厚度1  $\mu\text{m}$ ，或等效色谱柱；
- b) 载气：氮气，流速1.5 mL/min。
- c) 空气：30 mL/min。
- d) 氢气：3 mL/min。
- e) 进样口温度：200  $^{\circ}\text{C}$ 。
- f) 检测器温度：300  $^{\circ}\text{C}$ 。
- g) 柱温程序：初试温度90  $^{\circ}\text{C}$ ，保持0分钟，以20  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至300  $^{\circ}\text{C}$ ，保持5min。
- h) 进样量：1  $\mu\text{L}$ 。

### 12.4 试样溶液的测定

分别将等体积的标准工作液、试样溶液注入气相色谱仪。禾草敌出峰保留时间约为7.25 min，乙氧基喹保留时间约为8.33 min。空白实验：除不称取试样外，其余均按上述步骤进行。

## 13 分析结果的表述

试样中乙氧基喹的含量按公式（2）计算：

$$X = \frac{c_s \times A \times A_{si} \times m_i}{c_{si} \times A_i \times A_s \times m} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

- X——试样中乙氧基喹的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；
  - $c_s$ ——标准工作液中乙氧基喹浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；
  - $c_{si}$ ——标准工作液中禾草敌浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；
  - A——试样溶液中乙氧基喹色谱峰面积；
  - $A_i$ ——试样溶液中禾草敌色谱峰面积；
  - $A_s$ ——标准工作液中乙氧基喹色谱峰面积；
  - $A_{si}$ ——标准工作液中禾草敌色谱峰面积；
  - $m_i$ ——试样溶液中禾草敌总添加量，单位为微克（ $\mu\text{g}$ ）；
  - $m$ ——试样质量，单位为克（g）；
- 计算结果保留3位有效数字。

#### 14 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

#### 15 其他

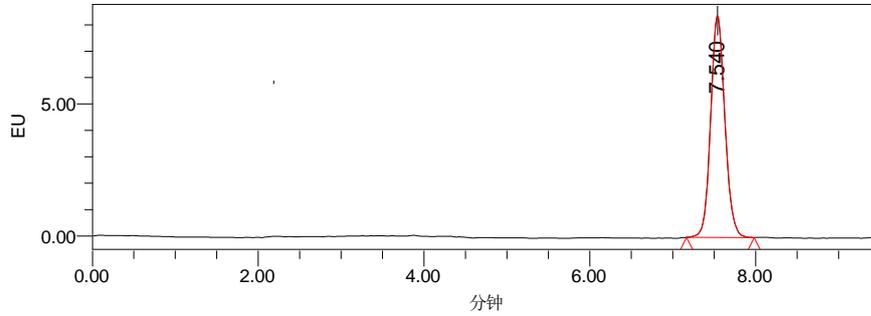
当取样量为10 g，定容体积为50 mL时，本方法的检出限为0.05 mg/kg。

食品安全国家标准公开征求意见稿

附录 A

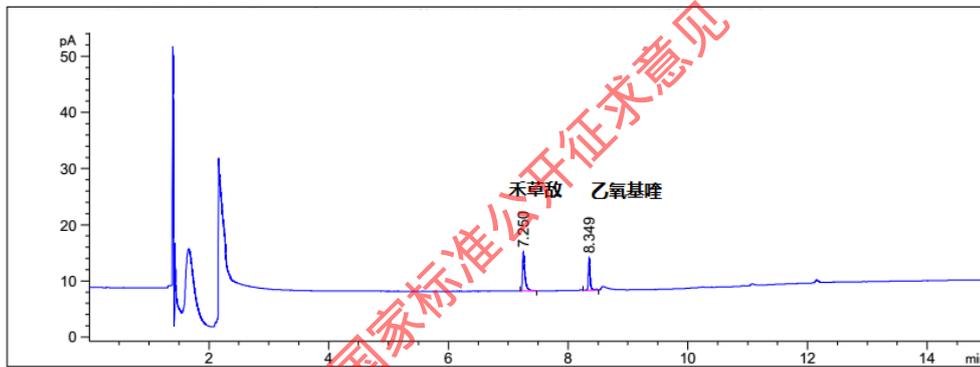
乙氧基喹色谱图

乙氧基喹的标准溶液液相色谱图见图A.1。



图A.1 乙氧基喹标准溶液（20 ng/mL）的高效液相色谱图

乙氧基喹和禾草敌的标准溶液气相色谱图见图A.2。



图A.2 乙氧基喹标准溶液（200 ng/mL）和禾草敌（400 ng/mL）的高效液相色谱图

## 附录 B

## 液相色谱-串联质谱/质谱确证方法

## B.1 液相条件

- a) 色谱柱: C<sub>18</sub> (4.6 mm×150 mm, 5 μm) 或性能相当者;
- b) 流动相: 乙腈+水 (V/V) = 65+35;
- c) 流速: 0.8 mL/min;
- d) 柱温: 35℃

## B.2 参考性质谱条件

- a) 离子源: 电喷雾离子源;
- b) 扫描方式: 正离子扫描;
- c) 检测方式: 多反应监测;
- d) 喷雾电压: 5.5 kV;
- e) 离子源温度: 500℃;
- d) 气帘气压力: 20 psi;
- e) 雾化气压力: 60 psi;
- f) 辅助气压力: 60 psi;
- i) 定性离子对、定量离子、碎裂电压和碰撞能量见表 B.1。

表B.1 乙氧基喹的定性离子对、定量离子、去簇电压和碰撞能量

| 化合物   | 母离子<br><i>m/z</i> | 子离子<br><i>m/z</i> | 去簇电压<br>V | 碰撞能量<br>eV |
|-------|-------------------|-------------------|-----------|------------|
| 乙氧基喹  | 218.2             | 190.2*; 202.1     | 74        | 30/35      |
| *定量离子 |                   |                   |           |            |

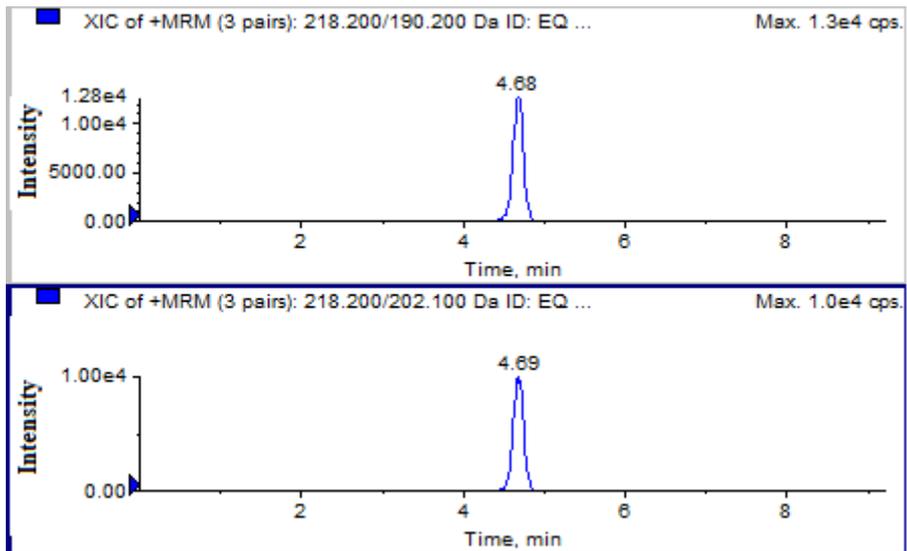
## B.3 定性判定

按照B.1和B.2的条件测定试样和标准工作溶液, 如果试样中的质量色谱峰保留时间与标准工作溶液一致(变化范围在±2.5%之内); 试样中目标化合物的两个子离子的相对丰度与相同浓度标准溶液的相对丰度一致, 相对丰度偏差不超过表B.2规定的范围, 则可判定试样中存在乙氧基喹。

表B.2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

| 相对离子丰度 (X) | X > 50 | 20 < X ≤ 50 | 10 < X ≤ 20 | X ≤ 10 |
|------------|--------|-------------|-------------|--------|
| 允许的相对偏差/%  | ±20    | ±25         | ±30         | ±50    |

乙氧基喹标准品的多反应监测质量色谱图见图B.1。



图B.1 乙氧基喹标准品（10 ng/mL）的多反应监测质量色谱图

食品安全国家标准公开征求意见