

国家市场监督管理总局办公厅文件

市监稽发〔2022〕74号

市场监管总局办公厅关于打击 食品中非法添加那非拉非类物质及其 系列衍生物违法行为的意见

各省、自治区、直辖市和新疆生产建设兵团市场监管局(厅、委)：

近年来，食品中非法添加新型那非、拉非类物质衍生物案件时有发生，危害群众身体健康，上海市、福建省、陕西省等市场监管部门多次咨询相关的检验方法及涉案物质危害性认定意见。近期，总局办理了食品中非法添加新型那非类衍生物苯丙代卡巴地那非的系列案件，组织认定了检验方法，出具了专家认定意见。现将检验方法《食品中苯丙代卡巴地那非的检验方法》(附件1)、《苯丙代卡巴地那非，那非、拉非类物质及其系列衍生物有毒有害专家认定意见》(附件2)发给你们，并就市场监管部门办理此类案件提出如下意见：

一、依据《食品安全抽样检验管理办法》(国家市场监督管理总局令 第 15 号)第二十三条,《食品中苯丙代卡巴地那非的检验方法》可用于在市场监管案件稽查工作中查找食品安全问题的原因。在苯丙代卡巴地那非的标准检验方法、临时检验方法或补充检验方法出台后,该检验方法自行废止。

二、依据《食品药品行政执法与刑事司法衔接工作办法》(食药监稽〔2015〕271 号)、《最高人民法院 最高人民检察院关于办理危害食品安全刑事案件适用法律若干问题的解释》(法释〔2021〕24 号),《苯丙代卡巴地那非,那非、拉非类物质及其系列衍生物有毒有害专家认定意见》作为定罪量刑的参考。

三、市场监管部门应当依法从严从重从速查处此类案件,保障人民群众身体健康;涉嫌犯罪的,移送公安机关处理。

附件:1. 食品中苯丙代卡巴地那非的检验方法

2. 苯丙代卡巴地那非,那非、拉非类物质及其系列衍生物有毒有害专家认定意见



(此件依申请公开)

附件 1

食品中苯丙代卡巴地那非的测定

1 范围

本方法规定了食品(含保健食品)中苯丙代卡巴地那非的高效液相色谱-串联质谱测定方法。

方法一高效液相色谱-三重四极杆串联质谱法,适用于液体饮料、蛋白固体饮料、牡蛎固体饮料、糖果、果冻、咖啡、饼干及酒类等食品(含保健食品)及片剂、胶囊、软胶囊等剂型的食品(含保健食品)中苯丙代卡巴地那非的定性和定量测定。

方法二高效液相色谱-高分辨串联质谱法,适用于液体饮料、蛋白固体饮料、牡蛎固体饮料、糖果、果冻、咖啡、饼干及酒类等食品(含保健食品)及片剂、胶囊、软胶囊等剂型的食品(含保健食品)中苯丙代卡巴地那非的筛查和定性确证。

蜂蜜、蜜饯、丸剂、口服液、颗粒剂(冲剂)、粉剂、膏剂及其他类食品(含保健食品)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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

方法一 高效液相色谱-三重四极杆串联质谱法

3 原理

试样经甲醇超声提取、过滤后,滤液供高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪测定,标准曲线法或标准加入法定量。

4 试剂和材料

除另有规定外,本方法中所用试剂均为分析纯,水为符合GB/T 6682规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1 乙腈(C_2H_5N):色谱级。

4.1.2 甲酸($HCOOH$):色谱级。

4.1.3 乙酸乙酯($CH_3COOCH_2CH_3$)。

4.2 标准品

苯丙代卡巴地那非(又名:N-苯基丙氧苯基卡巴地那非, $C_{29}H_{34}N_6O_3$,CAS号2711006-61-8),纯度 $\geq 98\%$ 。或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

4.3 溶液配制

4.3.1 0.1%甲酸溶液:取甲酸1 mL,用水稀释至1000 mL,混匀,用滤膜(4.5.1)过滤后备用。

4.3.2 甲醇水溶液(1+1):分别取甲醇和水各500 mL,混匀。

4.4 标准溶液制备

4.4.1 标准储备液(200 $\mu\text{g/mL}$):取苯丙代卡巴地那非(4.2)10 mg,精密称定,加甲醇适量使溶解并稀释定容至50 mL容量瓶,摇匀,配制成浓度为200 $\mu\text{g/mL}$ 标准储备液。 -18°C 避光贮存,有效期3个月。

4.4.2 标准中间工作溶液(1 $\mu\text{g/mL}$):准确量取标准储备液(200 $\mu\text{g/mL}$)(4.4.1)0.1 mL,于20 mL容量瓶,用甲醇稀释至刻度,摇匀,配制成浓度为1 $\mu\text{g/mL}$ 的标准中间工作溶液。或依仪器响应情况配制至适当浓度。临用新制。

4.4.3 系列标准工作溶液:分别准确量取标准中间工作液(1 $\mu\text{g/mL}$)(4.4.2)适量,用甲醇水溶液(1+1)(4.3.2)稀释,摇匀,配制成浓度分别为2 $\mu\text{g/L}$ 、5 $\mu\text{g/L}$ 、10 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准工作溶液,或依仪器响应情况配制适当浓度的系列标准工作溶液。或根据需要采用空白基质提取液(6.1.4),配制适当浓度的基质匹配标准工作溶液。临用新制。

4.5 材料

4.5.1 微孔滤膜:0.22 μm,水相型。

4.5.2 微孔滤膜:0.22 μm,有机相型。

4.5.3 离心管:50 mL。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪,配有电喷雾离子源(ESI)。

5.2 分析天平:感量分别为0.000 1 g和0.000 01 g。

5.3 离心机:转速 \geq 4 000 r/min。

5.4 超声波发生器:功率 \geq 500 W,频率 \geq 37 kHz。

6 分析步骤

6.1 试样制备

6.1.1 固态或半固态试样

取固态试样适量混匀,研细,或取半固态试样适量混匀,称取1 g(精确至0.001 g)置于50 mL容量瓶中,加甲醇适量,超声提取15 min,放冷至室温,用甲醇定容至刻度,转移至50 mL离心管中,4 000 r/min离心5 min,取上清液经微孔滤膜(4.5.2)过滤,取续滤液,根据实际浓度用甲醇水溶液(1+1)(4.3.2)适当稀释,备用。

6.1.2 液态试样

取试样适量,摇匀,准确量取1 mL置于50 mL容量瓶中,加甲醇适量,超声提取15 min,放冷至室温,用甲醇定容至刻度,经微孔滤膜(4.5.2)过滤,取续滤液,根据实际浓度用甲醇水溶液(1+1)(4.3.2)适当稀释,备用。

6.1.3 油脂基质试样

取试样适量混匀,称取1 g(精确至0.001 g)置于50 mL容量瓶中,加乙酸乙酯5 mL,振摇,使其分散,加甲醇适量,超声提取15 min,放冷至室温,用甲醇定容至刻度,转移至50 mL离心管中,4 000 r/min离心5 min,上清液经微孔滤膜过滤(4.5.2),取续滤液,根据实际浓度用甲醇水溶液(1+1)(4.3.2)适当

稀释,备用。

6.1.4 空白基质提取液

如可获得基质匹配的空白试样,必要时可称取空白试样适量,与试样同法处理,制得空白基质提取液,供制备基质匹配标准曲线用。

6.2 仪器参考条件

6.2.1 色谱条件

- a) 色谱柱: C₁₈ 色谱柱,柱长 150 mm,内径 3.0mm,粒径 1.8 μm,或性能相当者;
- b) 流动相: A 为 0.1% 甲酸溶液(4.3.1),B 为乙腈(4.1.1),梯度洗脱程序见表 1;
- c) 流速:0.3 mL/min。
- d) 柱温:30 °C;
- e) 进样量:1 μL。

表 1 梯度洗脱程序表

梯度时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	90	10
5.0	10	90
9.0	10	90
9.1	90	10
12.0	90	10

注:在有共流出成分影响目标化合物检测时,可参照食品补充检验方法 BJS201805“超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱法”条件设置流动相,使色谱峰保留时间更晚,尽可能与干扰成分分离。

6.2.2 质谱条件

- a) 离子源:电喷雾离子源(ESI);
- b) 检测方式:多反应监测(MRM);
- c) 扫描方式:正离子模式;
- d) 毛细管电压:3.5 kV;
- e) 干燥气温度:325 °C;
- f) 干燥气流量:7 L/min;
- g) 雾化气压力:275 kPa;

h) 鞘气温度:350 °C ;鞘气流量:11 L/min;

i) 喷嘴电压:正离子:0 V;负离子:1000 V;

其他质谱参数见表 2,色谱图见附录 A。

表 2 化合物定性、定量离子和质谱分析参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (eV)	离子化模式
苯丙代卡巴地那非	515.2	311.1 [*]	140	42	+
	515.2	353.0	140	37	+

^{*} 定量离子。

注:本方法提供质谱条件为推荐条件。可根据实际情况,选择其他响应信号强且无干扰的离子对(如 515.2→166.2)进行检测,质谱参数亦可根据达到最优灵敏度的条件进行设定。

6.3 定性测定

按照仪器参考条件(6.2)测定试样(6.1)和标准工作溶液(4.4.3),记录试样和标准溶液中目标化合物的色谱保留时间,当试样中检出与标准品色谱峰保留时间一致的色谱峰(偏差在±2.5%之内),并且试样溶液中离子相对丰度比,与相当浓度的标准溶液的离子相对丰度比(k)的偏差符合表3规定,可以判定试样中检出相应化合物。

表 3 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度(%)	k>50%	50%≥k>20%	20%≥k>10%	k≤10%
允许的最大偏差(%)	± 20	± 25	± 30	± 50

6.4 定量测定

6.4.1 标准曲线法

将系列标准工作溶液(4.4.3)分别按仪器参考条件(6.2)进行测定,得到相应标准溶液的色谱峰面积。以标准工作溶液的浓度为横坐标,以定量离子色谱峰的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。

将试样溶液(6.1)按仪器参考条件(6.2)进行测定,得到样品溶液中对应组分的色谱峰面积。根据标准曲线得到待测液中组分的浓度(ρ),平行测定次数不少于两次。

注:(1)在可以获得基质匹配的空白试样情况下,应优先采用基质匹配标准曲线法,如无法获得空白试样,可采用溶剂标准曲线法。

(2)对于咖啡、糖果基质及剂型,如采用标准曲线法的准确度不能满足检测要求(8.2),可进一步采用标准加入法(6.4.2)测定含量。

(3)除咖啡、糖果之外的其他基质及剂型,如采用标准曲线法的准确度不能满足检测要求(8.2),则含量测定结果仅作为定量参考值。

6.4.2 标准加入法

按标准曲线法(6.4.1)定量结果将试样溶液用甲醇水溶液(1+1)(4.3.2)稀释至约 20 $\mu\text{g/L}$,作为试样稀释溶液(稀释倍数为 f)。精密量取试样稀释溶液 5 mL (V_1),一式三份,分别置 3 个 10 mL 容量瓶中,分别精密加入标准中间工作液(1 $\mu\text{g/mL}$)(4.4.2)0.0mL、0.1 mL、0.2 mL,用甲醇水溶液(1+1)(4.3.2)稀释并定容至刻度,摇匀,制成系列待测溶液。按仪器参考条件(6.2)分别测定,以定量离子色谱峰的峰面积为纵坐标,待测组分加入质量为横坐标,绘制标准曲线进行定量分析,其线性回归方程为: $S = k \times a + b$ (其中 S 为峰面积, k 为斜率, a 为待测组分加入质量, b 为截距),相关系数应不低于 0.99。求出当 $S = 0$ 时 a 的绝对值,即为试样测定液中待测物的质量(ω)。

注:可根据试样实际含量,相应调整试样稀释浓度、取用体积及待测组分加入质量,一般应加入使目标化合物峰面积至少增加一倍的标准品量。

7 结果计算

7.1 标准曲线法

将按标准曲线测得的试样溶液浓度代入下式计算含量:

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

式中:

X — 试样中待测物的含量,单位为毫克每千克或毫克每升(mg/kg 或 mg/L);

ρ — 从标准曲线中读出的试样溶液中待测物的浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

V — 试样溶液最终定容体积,单位为毫升(mL);

m — 试样的质量,单位为克或升(g 或 L);

f — 稀释倍数。

7.2 标准加入法

将标准加入法测得的试样浓度代入下式计算含量:

$$X = \frac{\omega \times V}{m \times V_1 \times 1000} \times f \dots\dots\dots(2)$$

式中:

X — 试样中待测物的含量,单位为毫克每千克或毫克每升(mg/kg 或 mg/L);

ω — 从标准曲线中读出的试样测定液中待测物的质量,单位为纳克(ng);

V_1 — 试样稀释溶液取用体积,单位为毫升(mL);

V — 试样溶液最终定容体积,单位为毫升(mL);

m — 试样的质量,单位为克或升(g 或 L);

f — 稀释倍数。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留三位有效数字。

8 方法灵敏度、准确度、精密度、特异性

8.1 灵敏度

当取样量为 1 g 或 1 mL,定容体积为 50 mL 时,苯丙代卡巴地那非检出限为 0.05 mg/kg,定量限为 0.1 mg/kg。

8.2 准确度

本方法在 0.1 mg/kg ~ 1.0 mg/kg 添加浓度范围内,回收率为 80% ~ 110%。

8.3 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20%。

8.4 特异性

除不加试样外,采用完全相同的测定步骤进行平行操作,应无干扰。

方法二 高效液相色谱-高分辨串联质谱法

9 原理

试样经甲醇超声提取、过滤后,滤液供高效液相色谱-高分辨串联质谱测定,比较供试品与标准品的保留时间、一级质谱图和二级质谱图,进行筛查和定性确证。

10 试剂和材料

除另有规定外,本方法中所用试剂均为分析纯,水为符合GB/T 6682规定的一级水。

10.1 试剂

10.1.1 乙腈(C_2H_5N):色谱级。

10.1.2 甲酸($HCOOH$):色谱级。

10.1.3 乙酸乙酯($CH_3COOCH_2CH_3$)。

10.2 标准品

同方法一 4.2 标准品项下。

10.3 溶液配制

10.3.1 0.1%甲酸溶液:取甲酸1 mL,用水稀释至1000 mL,混匀,用滤膜(10.5.1)过滤后备用。

10.3.2 甲醇水溶液(1+1):分别取甲醇和水各500 mL,混匀。

10.4 标准溶液制备

10.4.1 标准储备液(200 µg/mL):同方法一4.4.1标准储备液项下。

10.4.2 标准工作溶液(1 µg/mL):同方法一4.4.2标准中间工作溶液项下。

10.5 材料

10.5.1 微孔滤膜:0.22 µm,水相型。

10.5.2 微孔滤膜:0.22 µm,有机相型。

10.5.3 离心管:50 mL。

11 仪器和设备

11.1 高效液相色谱-高分辨串联质谱仪,配有电喷雾离子源(ESI)。

11.2 分析天平:感量分别为0.000 1 g和0.000 01 g。

11.3 离心机:转速 \geq 4 000 r/min。

11.4 超声波发生器:功率 \geq 500 W,频率 \geq 37 kHz。

12 分析步骤

12.1 试样制备

同方法一试样制备6.1.1~6.1.3项下。

12.2 仪器参考条件

12.2.1 色谱条件

a)色谱柱:C₁₈色谱柱,柱长75 mm,内径3.0 mm,粒径2.7 µm,或性能相当者。

b)流动相:A为0.1%甲酸溶液(10.2.1),B为乙腈(10.1.1),梯度洗脱程序见表4。

c)流速:0.4 mL/min。

d)柱温:30 °C。

e)进样量:1 µL。

表 4 梯度洗脱程序表

梯度时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	95	5
15.0	2	98
17.0	2	98
17.5	95	5
20.0	95	5

12.2.2 质谱条件

a) 离子源:电喷雾离子源(ESI);

b) 扫描方式:正离子 MS/MS 模式;

c) 毛细管电压:正离子模式:5000 V;

d) 离子源温度:325 °C;

e) 干燥气流量:12 L/min;

f) 雾化气压力:345 kPa;

g) 鞘气温度:375 °C;鞘气(N₂)流量:12 L/min;

其他质谱参考条件见表 5,色谱图见附录 B。

表5 化合物准分子离子、碰撞能量及主要碎片离子

化合物	准分子离子 (<i>m/z</i>)	碰撞电压(eV)	主要碎片离子(<i>m/z</i>)
苯丙代卡巴地 那非	515.2765	10	353.1608, 311.1139, 166.0975, 147.0077

注:不同仪器在不同碰撞电压条件下,主要碎片离子可能有所不同,上述碎片离子仅供参考,可根据实际情况,选择响应信号强、碎片离子稳定且丰富的准分子离子进行检测和匹配。

13 定性测定

按照仪器参考条件(12.2)测定试样(12.1)和标准工作溶液(10.4.2),记录试样和标准工作溶液中

目标化合物的色谱峰保留时间及二级色谱图,当试样中检出与标准品色谱峰保留时间一致的色谱峰(偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内),并且准分子离子及至少两个主要碎片离子的精确质量数误差不超过百万分之五,且平行试验结果一致的情况下,可判定试样中检出相应化合物。

14 方法灵敏度、特异性

14.1 灵敏度

当取样量为 1 g 或 1 mL,定容体积为 50 mL 时,苯丙代卡巴地那非检出限为 1.0 mg/kg。

14.2 特异性

除不加试样外,采用完全相同的测定步骤进行平行操作,应无干扰。

附录 A

高效液相色谱 – 三重四极杆串联质谱法标准品色谱图

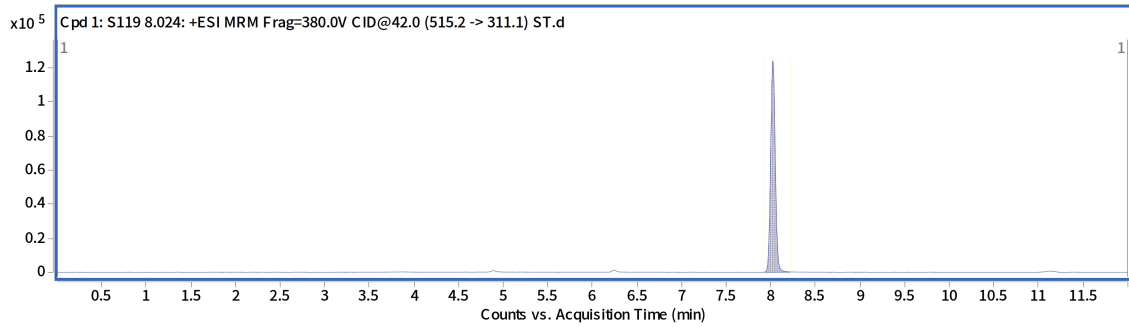


图 1. 苯丙代卡巴地那非($50\mu\text{g/L}$)的定量离子对色谱图

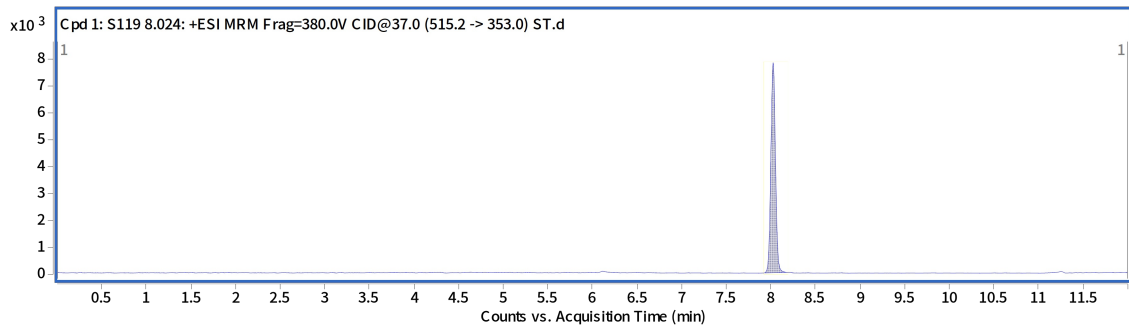


图 2. 苯丙代卡巴地那非($50\mu\text{g/L}$)的定性离子对色谱图

附录 B

高效液相色谱 – 高分辨串联质谱法标准品色谱图

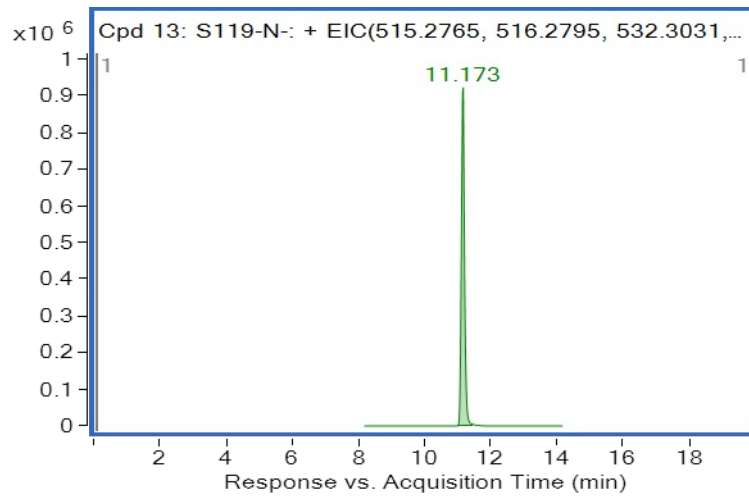


图 3. 苯丙代卡巴地那非(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的提取离子色谱图

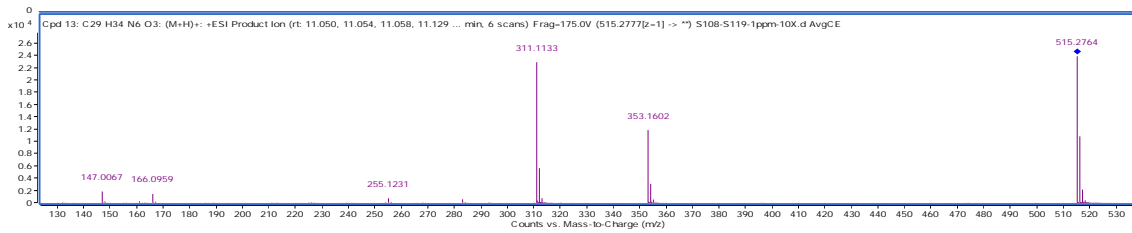


图 4. 苯丙代卡巴地那非二级质谱图

附件 2

苯丙代卡巴地那非, 那非、拉非类物质及其系列衍生物有毒有害专家认定意见

苯丙代卡巴地那非为人工合成的新型那非类药物衍生物, 国内外未批准作为药品或原料药生产上市; 未被批准为食品添加剂或新食品原料; 在食品中检出, 属于非法添加。

那非、拉非类物质及其系列衍生物, 与“有毒、有害的非食品原料”那红地那非、红地那非、伐地那非、羟基豪莫西地那非、西地那非、豪莫西地那非、氨基他达拉非、他达拉非、硫代艾地那非、伪伐地那非和那莫西地那非等核心药效团一致, 具有等同属性和等同危害, 食用添加有那非、拉非类物质及其衍生物的食品对人体有毒副作用的风险, 影响人体健康甚至危害生命。