

中华人民共和国国家标准

GB 23200.6—2016

代替SN 1737.6—2010

食品安全国家标准 除草剂残留量检测方法 第 6 部分：液相色谱-质谱/质谱法测定 食品中杀草强残留量

National food safety standards—

Determination of amitrole 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 1737.6—2010 《进出口食品中杀草强残留量的检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》。

本标准与SN 1737.6—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 1737.6—2010。

食品安全国家标准

除草剂残留量检测方法

第6部分：液相色谱-质谱/质谱法测定 食品中杀草强残留量

1 范围

本标准规定了食品中杀草强残留量的液相色谱-串联质谱（LC-MS-MS）测定方法。

本标准适用于苹果、菠萝、菠菜、胡萝卜、紫苏叶、金银花、姜粉、花椒粉、茶叶、小麦、玉米、花生、肉、鱼及动物肝脏中杀草强残留量的检测和确证；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

样品经提取后，用PCX固相萃取柱或ENVI-Carb固相萃取柱净化，液相色谱-质谱/质谱法测定，外标法定量。

4 试剂和材料

除另有规定外，所有试剂均为色谱纯，水为符合GB/T 6682中规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1 冰乙酸（ $C_2H_4O_2$ ）。

4.1.2 氨水（ NH_4OH ）。

4.1.3 二氯甲烷（ CH_2Cl_2 ）。

4.1.4 丙酮（ C_3H_6O ）。

4.2 溶液配制

4.2.1 1%乙酸溶液：吸取10 mL冰乙酸，用超纯水定容至1 L。

4.2.2 25%丙酮-水溶液：量取250 mL丙酮，用超纯水定容至1 L。

4.2.3 1%乙酸-丙酮-水溶液：吸取10 mL冰乙酸，用丙酮水溶液定容至1 L。

4.2.4 5%氨化甲醇溶液：吸取5 mL氨水，用甲醇定容至100 mL。

4.3 标准品

4.3.1 杀草强标准物质：Amitrole, $C_2H_4N_4$ ，分子量：84.08，CAS：61-82-5，纯度 $\geq 99.9\%$ 。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 杀草强标准储备液：称取适量杀草强标准品（精确至0.1mg）于50mL容量瓶中，用乙腈配制成1.0 mg/mL的标准储备液；0~4 °C保存。

4.4.2 杀草强标准工作液：根据需要用流动相将储备液稀释配制成适用浓度的标准工作液。0-4 °C保存。

4.5 材料

4.5.1 PCX 固相萃取柱：60 mg/3 mL或者相当者。（混合型阳离子交换小柱）。

4.5.2 ENVI-Carb 固相萃取柱：500 mg/6 mL或者相当者，（石墨化非多孔碳）。

4.5.3 滤膜：0.2 μm 。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-质谱/质谱联用仪：配备电喷雾离子源（ESI）。

5.2 分析天平：感量0.01 g和0.0001 g。

5.3 漩涡混合器。

- 5.4 旋转蒸发器。
- 5.5 高速均质器。
- 5.6 离心机。
- 5.7 振荡器。
- 5.8 粮谷粉碎机。
- 5.9 食品捣碎机。
- 5.10 花生粉碎机。
- 5.11 离心管：100 mL、50 mL。
- 5.12 容量瓶：100 mL。

6 试样制备与保存

6.1 试样制备

6.1.1 小麦、玉米、金银花、茶叶

取有代表性样品约 500 g，用粉碎机全部粉碎并通过 2.0 mm 圆孔筛。混匀，装入洁净的容器内，密闭，标明标记。

6.1.2 水果、蔬菜、鱼、肉、肝脏

取有代表性样品约 500 g，切碎后，用食品捣碎机将样品加工成浆状。混匀，装入洁净的容器内，密闭，标明标记。

6.1.3 姜粉、花椒粉

取有代表性样品约 100 g，充分混合均匀，过 2.0 mm 圆孔筛，装入洁净容器内，密闭，标明标记。

6.1.4 花生

取有代表性样品 500 g，用磨碎机全部磨碎。混匀，装入洁净的容器内，密闭，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

小麦、玉米、花生、茶叶、姜粉、花椒粉试样于 0-4 °C 保存；鱼、肉、肝脏及水果和蔬菜类试样于 -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 苹果、菠萝、菠菜、胡萝卜、紫苏叶

称取 10 g 试样（精确至 0.1 g）于 100 mL 离心管中，加入 20 mL 1% 乙酸溶液和 20 mL 二氯甲烷，20000 r/min 均质 1 min，于 5000 r/min 离心 5 min，上清液转入 100 mL 容量瓶中，弃去下层二氯甲烷层，残渣用 1% 的乙酸溶液 20 mL 和二氯甲烷 20 mL 重复提取一次；合并上清液，用 1% 的乙酸溶液定至刻度，移取 10 mL 提取液待净化。

7.1.2 金银花、姜粉、花椒粉、茶叶

称取 1 g 试样（精确至 0.01 g）于 50 mL 离心管中，加 20 mL 1% 乙酸水溶液，20000 r/min 均质 1 min，5000 r/min 离心 5 min，上清液过滤至 125 mL 分液漏斗中，残渣再用 10 mL 1% 乙酸水溶液重复提取一次，合并上清液，加入 10 mL 二氯甲烷，震荡 1 min，静置分层，弃去下层二氯甲烷层。待净化。

7.1.3 玉米、花生

称取 2 g 试样（精确至 0.01 g）于 50 mL 离心管中，加 20 mL 1% 乙酸-丙酮水溶液，20000 r/min 均质 1 min，5000 r/min 离心 5 min，上清液过滤至 125 mL 分液漏斗中，残渣再用 10 mL 1% 乙酸-丙酮水溶液重复提取一次，合并上清液，加入 10 mL 二氯甲烷，震荡 1 min，静置分层，弃去下层二氯甲烷层。待净化。

7.1.4 小麦、鱼、肉、肝脏

小麦、鱼、肉、称取 2 g 试样，肝脏称取 1 g 试样（精确至 0.01 g）于 50 mL 离心管中，加 20 mL 丙酮水溶液，20000 r/min 均质 1 min，5000 r/min 离心 5 min，提取液过滤至 125 mL 分液漏斗中，残渣用 10 mL 丙酮水溶液重复提取一次，合并上清液，加入 10 mL 二氯甲烷，震荡 1 min，静置分层，弃去下层二氯甲烷层。提取液中加入 0.25 mL 冰乙酸酸化，待净化。

7.2 净化

7.2.1 苹果、菠萝、菠菜、胡萝卜、紫苏叶、玉米、花生、小麦、鱼、肉、猪肝

依次用3 mL甲醇和5 mL水预淋洗PCX小柱，弃去流出液。注入提取液，再分别用3 mL水、3 mL甲醇淋洗，弃去流出液。用2 mL 5%氯化甲醇溶液洗脱，收集洗脱液，40 °C旋转浓缩至近干，残留物用1.0 mL流动相溶解，过0.2 μm滤膜，供液相色谱-质谱/质谱测定。

7.2.2 金银花、姜粉、花椒粉、茶叶

依次用3 mL甲醇、3 mL水预淋洗Envi-Carb，弃去流出液，注入提取液，收集流出液。

依次用3 mL甲醇、5 mL水预淋洗PCX小柱，弃去流出液。将Envi-Carb净化后的样液转至PCX净化柱，再分别用3 mL水、3 mL甲醇淋洗，用2 mL 5%氯化甲醇溶液洗脱，收集洗脱液，于40 °C旋转浓缩至近干，残留物用1.0 mL流动相溶解，过0.2 μm滤膜，供液相色谱-质谱/质谱测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱-质谱/质谱参考条件

- 色谱柱：CAPCELL PAK (1:4) 2.00mm I.D.*100mm 5μm 或相当者
- 流动相：10mmol乙酸胺，0.1%甲酸水PH=3 (A) 乙腈 (B)

表1 流动相条件

条件	样品名称	流速/mL/min	%A	%B
条件1	鱼、肉、姜、花椒、肝脏、茶叶	0.20	20	80
条件2	苹果、菠萝、菠菜、胡萝卜、紫苏叶、金银花、小麦、玉米、花生	0.20	50	50

- 柱温：40 °C。
- 流速：0.2 mL/min。
- 进样量：10 μL。
- 质谱条件：参见附录A中的A.1

7.3.2 色谱测定与确证

根据样液中被测物含量，选定浓度相近的标准工作溶液，对标准工作溶液与样液等体积参插进样测定，标准工作溶液和待测样液中呋虫胺的响应值均应在仪器检测的线性范围内。

如果样液与标准工作溶液的质量色谱图中，在相同保留时间有色谱峰出现，允许偏差小于±2.5%，所选择离子的丰度比与标准品对应离子的丰度比，其值在允许范围内（允许范围见表2）。则可判断样品中存在相应的被测物。在6.3.1条件下，杀草强标准物的液相色谱-质谱谱图见附录B。

表2 使用定性液相色谱-质谱时相对离子丰度最大允许偏差

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式（1）计算样品中杀草强残留量。

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

式中：

- X* —— 试样中杀草强残留量，单位为毫克每千克（μg/kg）；
A —— 样品溶液中杀草强的峰面积；
c —— 杀草强标定工作液的浓度单位为微克每毫升（μg/L）；
V —— 样品溶液最终定容体积，单位为毫升（mL）；
A_s —— 杀草强标准工作溶液的峰面积；
m —— 最终样液代表的试样质量，单位为（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D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E的要求。

10 定量限和回收率

10.1 定量限

本方法在苹果、菠萝、菠菜、胡萝卜、紫苏叶、玉米、花生、小麦、姜、鱼、肉、肝脏的定量限为0.01mg/kg，在茶叶、金银花、花椒的定量限为0.02 mg/kg。

10.2 回收率

样品的添加浓度及回收率的实验数据见附录C。

附录 A

表A.1 质谱条件

电离方式	ESI+
电喷雾电压	4000V
源温度	350℃
雾化器压力	氮气, 40psi
干燥气	氮气, 流速10L/min
去溶剂气流	氮气, 600L/h
碰撞气压	氮气, 3.10×10^{-6} Pa
监测模式	多反应监测

表A.2 多反应监测条件

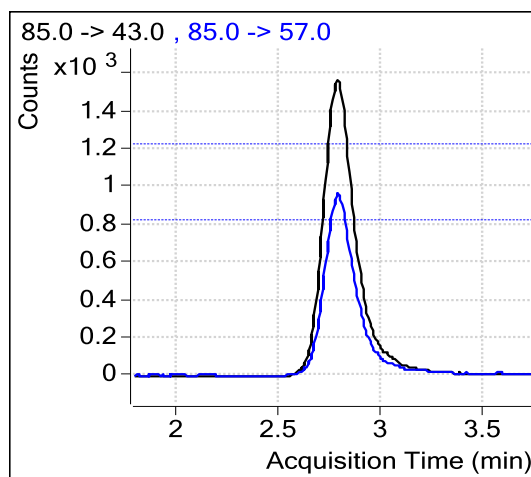
化合物	母离子	子离子	驻留时间	锥孔电压	碰撞能量
杀草强	85	43*	0.20 s	100 V	25 eV
		57	0.20 s	100 V	15eV

注：加“*”的离子用于定量。

非商业性声明：附录A所列参数是在Agilent 6410A质谱仪上完成的，此处列出试验用仪器型号仅是为了提供参考，并不涉及商业目的，鼓励标准使用者尝试采用不同厂家或型号的仪器。

附录 B

标准物质色谱图



图B.1 表1条件1下杀草强液相色谱-质谱/质谱多反应监测色谱图

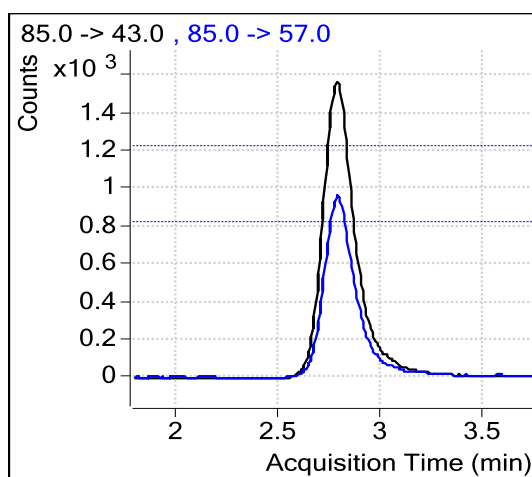


图 B.2 表 1 条件 2 下杀草强液相色谱-质谱/质谱多反应监测色谱图

附 录 C
(资料性附录)
样品的添加浓度及回收率的实验数据

表C.1 样品的添加浓度及回收率的实验数据

样品名称	添加浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 (%)
花生	10	62.50~72.00
	20	67.00~80.00
	40	75.75~85.00
玉米	10	61.00~78.00
	20	74.50~84.30
	40	79.20~88.00
小麦	10	69.50~85.70
	20	78.45~90.00
	40	76.00~93.50
紫苏	10	79.22~82.60
	20	71.50~91.00
	40	85.32~91.10
猪肉	10	66.70~73.20
	20	68.40~81.10
	40	78.50~85.40
菠菜	10	87.20~98.20
	20	90.04~103.23
	40	89.54~98.55
马哈鱼	10	69.00~78.00
	20	76.50~85.20
	40	75.00~87.50
苹果	10	78.40~83.30
	20	77.90~90.90
	40	82.05~92.41
花椒	20	75.00~94.65
	40	81.97~ 90.92
	80	83.82 ~88.99
姜	10	62.80~85.60
	20	80.30 ~82.80
	40	80.61 ~ 86.69
金银花	20	69.80 ~ 88.30
	40	81.90 ~ 89.00
	80	80.49 ~ 85.40
胡萝卜	10	68.40~78.50
	20	74.50~85.45

	40	79.20~94.20
菠 萝	10	63.80~77.10
	20	81.20~86.50
	40	85.21~98.52
茶 叶	20	63.25~79.36
	40	71.31~78.63
	80	80.65~88.63
肝 脏	10	71.31~78.63
	20	70.87~81.07
	40	81.31~88.63

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
$> 0.001 \leq 0.01$	32
$> 0.01 \leq 0.1$	22
$> 0.1 \leq 1$	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
