

中华人民共和国国家标准

GB 23200.92—2016

代替 SN/T 2445—2010

食品安全国家标准
动物源性食品中五氯酚残留量的测定
液相色谱-质谱法

National food safety standards—

Determination of pentachlorophenol residue in animal-derived 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 2445-2010《进出口动物源食品中五氯酚残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》。

本标准与SN/T 2445-2010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“进出口动物源食品”改为“动物源食品”；
- 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 2445-2010。

食品安全国家标准

动物源食品中五氯酚残留量的测定 液相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了动物源食品中五氯酚残留量的制样、液相色谱-质谱测定方法。

本标准适用于猪肝、猪肾、猪肉、牛奶、鱼肉、虾、蟹等动物源食品中五氯酚残留的测定。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

试样中的五氯酚残留用碱性乙腈水溶液提取，经MAX固相萃取柱净化，浓缩、定容后，用液相色谱-质谱仪检测和确证，外标法定量。

4 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1 甲醇（CH₃OH）：色谱纯。

4.1.2 乙腈（CH₃CN）：色谱纯。

4.1.3 三乙胺（C₆H₁₅N）。

4.1.4 甲酸（HCOOH）：色谱纯。

4.1.5 乙酸铵（CH₃COONH₄）。

4.1.6 氨水（NH₃·H₂O）。

4.2 溶液配制

4.2.1 乙腈-水溶液（7+3）：准确量取 70mL 乙腈和 30mL 水，混合摇匀。

4.2.2 5%三乙胺乙腈-水溶液：准确量取 50 mL 三乙胺，转移入 1000 mL 容量瓶，用乙腈-水溶液（7+3）定容至刻度，混合均匀。

4.2.3 5%氨水溶液：量取 200mL 浓氨水（25%），转移入 1000 mL 容量瓶，用水定容至刻度，混合均匀。

4.2.4 4%甲酸甲醇溶液：量取 10 mL 甲酸，转移入 250 mL 容量瓶，用甲醇定容至刻度，混合均匀。

4.2.5 2%甲酸甲醇水溶液：取一定量 4%甲酸甲醇溶液与水等体积混合均匀。

4.2.6 5 mmol/L 乙酸铵水溶液：准确称取 0.3854 g 乙酸铵，溶于水中，转移到 1000 mL 容量瓶中，定容至刻度，混和均匀。

4.3 标准品

4.3.1 五氯酚钠标准品（Pentachlorophenol sodium salt，CAS 号：131-52-2）：纯度≥94.5%，或相当。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 标准储备溶液（200mg/L）：称量经折算相当于 10 mg（精确到 0.1 mg）五氯酚的标准品，用甲醇溶解并定容至 50 mL 棕色容量瓶中。此储备液可在-18℃以下避光存放 12 个月。

4.4.2 标准工作溶液：标准工作溶液根据需要使用前用空白样品基质溶液配制。保存于 4℃冰箱内。

4.5 材料

4.5.1 固相萃取（SPE）柱：Oasis MAX，60 mg，3 mL，或相当。使用前依次用 5 mL 甲醇和 5 mL 水活化。

4.5.2 氮气：纯度≥99.99%。

5 仪器和设备

- 5.1 液相色谱串联四极杆质谱仪：带电喷雾离子源。
- 5.2 分析天平：感量 0.01 g 和 0.0001 g。
- 5.3 旋涡混合器。
- 5.4 离心机，5 000 r/min。
- 5.5 固相萃取真空装置。
- 5.6 机械真空泵。
- 5.7 组织捣碎机。
- 5.8 均质器。
- 5.9 超声波仪。
- 5.10 吹氮浓缩仪。

6 试样制备与保存

6.1 试样制备

制样操作过程中必须防止样品受到污染或发生残留物含量的变化。

6.1.1 动物肌肉、肝脏、肾脏、鱼肉、虾和蟹

从所取全部样品中取出有代表性样品约 500 g，用组织捣碎机充分捣碎均匀，均分成两份，分别装入洁净容器中，密封，并标明标记。

6.1.2 牛奶样品

从所取全部样品中取出有代表性样品约 500 g，充分混匀，均分成两份，分别装入洁净容器中，密封，并标明标记。

注：以上样品取样部位按 GB 2763 附录 A 执行。

6.2 试样保存

样品于 -18℃ 以下冷冻保存。

7 分析步骤

7.1 提取

7.1.1 肌肉、鱼肉、肝脏、肾脏、虾和蟹

称取均质试样 2 g（精确到 0.01 g），置于 10 mL 具螺旋盖聚丙烯离心管中，加入 6 mL 5% 三乙胺的乙腈-水溶液。肌肉和鱼肉样品均质提取 2 min；肝脏、肾脏、虾和蟹样品旋涡混合 1 min，超声提取 5 min。3 000 r/min 离心 5 min，收集上清液于一具刻度离心管中。离心后的残渣用约 6 mL 5% 三乙胺的乙腈-水溶液重复上述提取步骤 1 次，合并上清液，混匀。

7.1.2 牛奶

称取均质试样 2 g（精确到 0.01 g），置于 10 mL 具刻度螺旋盖聚丙烯离心管中，加入 10 mL 5% 三乙胺的乙腈-水溶液，旋涡混合 1 min，超声提取 5 min，5 000 r/min 离心 5 min，收集上清液于一具刻度离心管中。

7.2 固相萃取净化

将 7.1 中所得提取溶液转入经过预处理的 MAX 固相萃取柱中，以约 1 滴/秒流速使样品溶液全部通过固相萃取柱，弃去流出液。依次用 5 mL 5% 氨水溶液、5 mL 甲醇、5 mL 2% 甲酸的甲醇-水溶液淋洗，淋洗液完全通过小柱后，弃去流出液，用真空泵抽干固相萃取柱 5 min 以上。以 4 mL 4% 甲酸甲醇溶液洗脱，洗脱液用干净的 15 mL 具刻度试管收集，40℃ 水浴下吹氮浓缩至 1 mL，用水定容至 2 mL，混匀。溶液以 0.22 μm 有机滤膜过滤，供测定。

7.3 仪器参考条件

7.3.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：ZORBAX Eclipse XDB-C18，1.8 μm，50 x 2.1 mm (i.d.)，或相当者；
- b) 流动相：甲醇+5 mmol/L 乙酸铵溶液，梯度洗脱（梯度时间表见表 1）；
- c) 流速：250 μL/min；
- d) 柱温：30℃；
- e) 进样量：30 μL。

表 1 液相色谱的梯度洗脱条件

时间 (min)	流速(μL/min)	5mmol/L 乙酸铵溶液 (%)	甲醇 (%)
0.00	250	60	40
1.00	250	0	100
7.00	250	0	100
7.50	250	60	40
12.00	250	60	40

7.3.2 质谱参考条件

- 离子化模式：电喷雾电离负离子模式 (ESI⁻)；
- 质谱扫描方式：多反应监测 (MRM)；
- 分辨率：单位分辨率；
- 其它参考质谱条件见附录A。
- 定量离子对：262.7>262.7，定性离子对：264.7>264.7、266.7>266.7、268.7>268.7。

7.4 测定

7.4.1 定性测定

选择4对母离子进行MRM监控，在相同实验条件下，样品中待测物质的保留时间，与基质标准溶液的保留时间偏差在±2.5%之内；且样品中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的基质混合标准工作溶液中对应的定性离子的相对丰度进行比较，偏差不超过表2规定的范围，则可判定为样品中存在对应的待测物。

表 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	>50%	>20%至 50%	>10%至 20%	≤10%
允许的最大偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

7.4.2 定量测定

在仪器最佳工作条件下，对基质混合标准工作溶液进样，以峰面积为纵坐标，基质混合标准工作溶液浓度为横坐标绘制标准工作曲线，用标准工作曲线对样品进行定量，样品溶液中待测物的响应值均应在仪器测定的线性范围内。五氯酚标准物质的多反应监测(MRM)色谱图参见附录B中的图B.1。

7.5 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

采用外标法定量，按式 (1) 计算五氯酚残留量。

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

式中：

X —试样中被测组分残留量，单位为微克每千克，μg/kg；

c —从标准工作曲线得到的被测组分溶液浓度，单位为微克每升，μg/L；

V —样品溶液最终定容体积，单位为毫升，mL；

m —最终样品溶液所代表的试样质量，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

本方法对五氯酚的定量限为 1.0 μg/kg。

10.2 回收率

当添加水平为1.00、2.00、4.00μg/kg时，猪肉、猪肝、猪肾、牛奶、鱼肉、虾、蟹中五氯酚的回收率数据参见附录C。

附录 A
(资料性附录)
参考质谱条件

- a) 气帘气压力 (CUR): 20.00 psi (氮气);
- b) 电喷雾电压 (IS): -4 500 V;
- c) 离子源温度 (TEM): 550 °C;
- d) 雾化气压力 35 psi (氮气);
- e) 辅助气压力 60 psi (氮气);
- f) 其它质谱参数见表 A1。

附表 A1 主要参考质谱参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	驻留时间 (msec)	DP	EP	CE (eV)	CXP
五氯酚	262.7*	262.7*	100	-75	-10	-23	-5
	264.7	264.7	100				
	266.7	266.7	100				
	268.7	268.7	100				

注：附表 A1 中带*的离子为定量离子；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 API4000QTrap 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)
标准品的多反应监测 (MRM) 色谱图

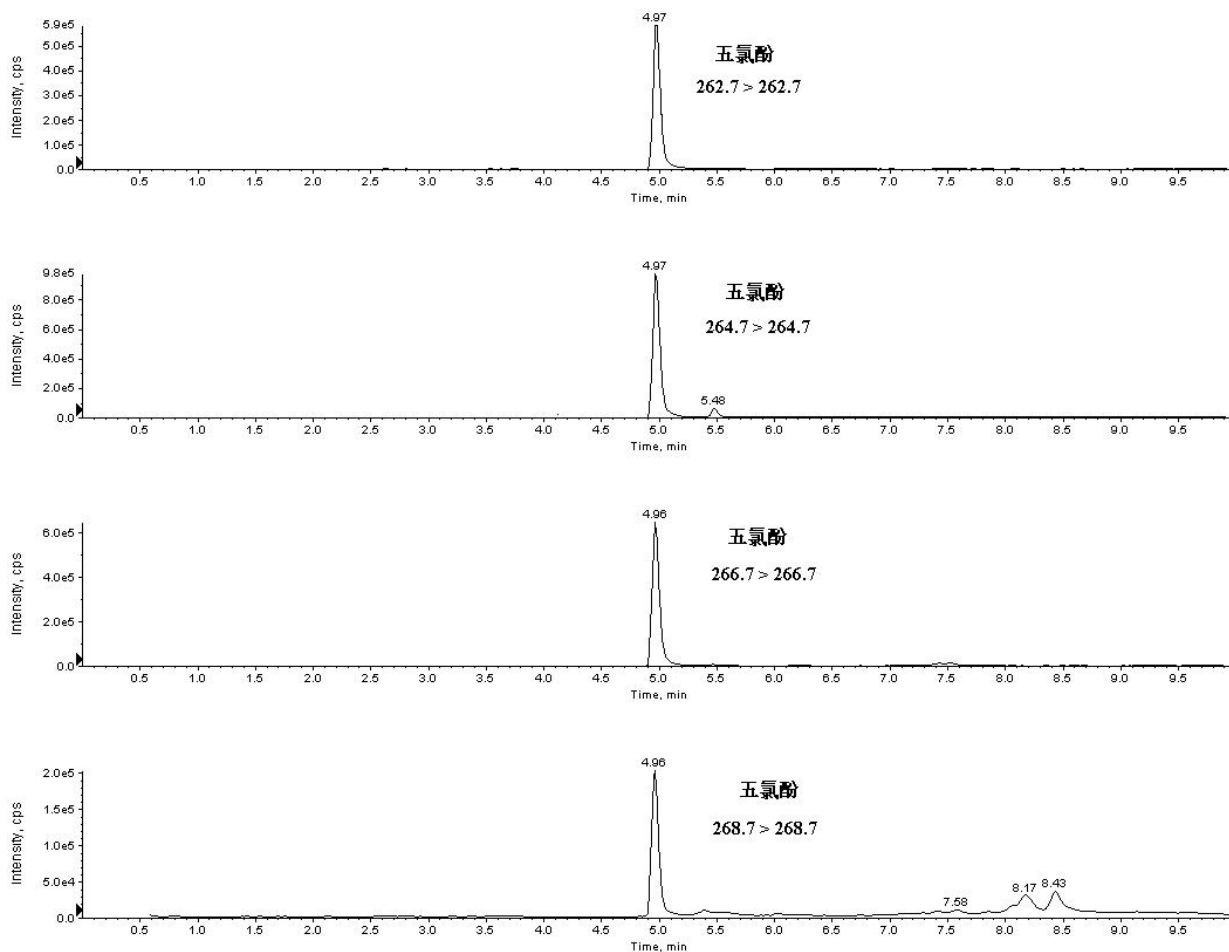


图 B1 5.0 µg/L 五氯酚的多反应监测 (MRM) 色谱图

附 录 C
(资料性附录)
不同基质中五氯酚药物的添加回收率

表 C.1 不同基质中五氯酚药物的添加回收率

物质种类	添加浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率范围 (%)						
		猪肉	猪肝	猪肾	牛奶	鱼肉	虾	蟹
五氯酚	1.0	94.9-109	75.8-104	88.0-108	79.0-98.7	80.0-94.1	79.2-104	66.7-94.1
	2.0	82.1-108	81.0-97.5	80.6-103	87.1-98.5	78.4-90.5	77.4-89.6	77.0-99.5
	4.0	91.6-96.7	83.4-90.2	74.7-89.3	92.8-99.0	79.8-92.6	76.8-87.9	83.0-97.2

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