

中华人民共和国国家标准

GB 23200.96—2016

代替SN/T 0213.1—2011

食品安全国家标准 蜂蜜中杀虫脒及其代谢产物残留量的测定 液相色谱—质谱/质谱法

National food safety standards—

Determination of chlordimeform and its metabolite residues in honey

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 0213.1-2011《出口蜂蜜中杀虫脒及其代谢产物残留量的测定 液相色谱—质谱/质谱法》。

本标准与SN/T 0213.1-2011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“出口蜂蜜”改为“蜂蜜”；

—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 0213.3-1993

—SN/T 0213.1-2011。

食品安全国家标准

蜂蜜中杀虫脒及其代谢产物残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本标准规定了蜂蜜中杀虫脒及其代谢物（4-氯邻甲苯胺）的液相色谱-质谱/质谱检测方法。

本标准适用于蜂蜜（洋槐蜜、荆条蜜、蜂巢蜜、杂花蜜、野蜂蜜等）中杀虫脒及其代谢物（4-氯邻甲苯胺）残留量的液相色谱-质谱/质谱测定和确证，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

试样用氢氧化钠水溶液稀释溶解，经HLB固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱仪测定，外标法定量。

4 试剂和材料

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

4.1 试剂

4.1.1 乙腈（CH₃CN），高效液相色谱纯。

4.1.2 甲醇（CH₃OH），高效液相色谱纯。

4.1.3 氢氧化钠（NaOH）。

4.1.4 硫酸（H₂SO₄）。

4.1.5 甲酸（HCOOH），纯度≥99%。

4.2 溶液配制

4.2.1 0.02 mol/L 氢氧化钠溶液：溶解 800 mg 氢氧化钠于 1 L 水中，使用期为 1 个月。

4.2.2 1 mol/L 硫酸溶液：于适量水中缓慢移入 54.3 mL 浓硫酸，边溶解边搅拌，用水稀释至 1 L，使用期为 3 个月。

4.2.3 10 mmol/L 硫酸溶液：于适量水中缓慢移入 10 mL 1 mol/L 硫酸，边溶解边搅拌，用水稀释至 1 L，使用期为 1 个月。

4.2.4 乙腈水溶液：乙腈：水（3+7，V/V）。

4.2.5 0.1%甲酸溶液：1 mL 甲酸溶解于水中，并定容至 1 L。

4.3 标准品

4.3.1 杀虫脒标准品（chloridimeform, C₁₀H₁₃ClN₂, CAS: 6164-98-3；纯度≥99%）和 4-氯邻甲苯胺标准品（4-chloro-*o*-toluidine, C₇H₈ClN, CAS: 95-69-2；纯度≥99%）。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 标准储备液的配制：准确称取适量的杀虫脒和 4-氯邻甲苯胺标准品，用乙腈配制成浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备溶液。该溶液在 -18℃ 冰箱中保存。有效期为 12 个月。

4.4.2 标准中间溶液的配制：用乙腈分别稀释标准储备液至终浓度约为 1.0 μg/mL，低于 4℃ 避光冷藏保存，有效期为 6 个月。

4.4.3 基质标准工作溶液的配制：根据需要，临用时吸取一定量的标准中间溶液，用基质空白溶液配制成适当浓度的混合标准工作溶液。低于 4℃ 避光冷藏保存，现用现配。

4.5 材料

4.5.1 HLB 固相萃取小柱（亲水亲脂平衡柱）：60 mg（填料：聚苯乙烯-二乙烯基苯-吡咯烷酮），3 mL 或相当者。使用前依次用 3 mL 甲醇、3 mL 水活化。

4.5.2 微孔滤膜：0.22 μm，有机系。

5 仪器和设备

- 5.1 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源（ESI）。
- 5.2 电子天平：感量分别为0.01g和0.0001 g。
- 5.3 涡漩混匀器。
- 5.4 固相萃取装置。
- 5.5 氮吹仪。
- 5.6 离心管：15 mL。
- 5.7 玻璃试管：10 mL，具刻度。
- 5.8 恒温水浴锅。

6 试样制备与保存

6.1 试样制备

取代表性蜂蜜样品约500 g，取样部位按GB 2763附录A执行，对无结晶的蜂蜜样品将其搅拌均匀。对有结晶析出的蜂蜜样品，在密闭情况下，将样品瓶置于不超过60℃的水浴中温热，振荡，待样品全部融化后搅匀，迅速冷却至室温，在融化时必须注意防止水分挥发。装入洁净容器，密封，标明标记。

6.2 试样保存

试样于常温状态下保存。

在制样的操作过程中，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

称取试样1 g（精确到0.01 g）于15 mL离心管中，加入10 mL 0.02 mol/L 氢氧化钠溶液，在2000 r/min 下涡旋震荡，混匀。

7.2 净化

将上述提取液转移至 HLB 固相萃取柱中，再加入 3 mL 水洗涤液离心管，过柱。用 3 mL 水和 1 mL 10 mmol/L 硫酸溶液淋洗小柱，弃去淋出液，抽干。用 2 mL 乙腈洗脱，收集于 10 mL 试管中，洗脱液在室温下氮吹近干，准确加入 1.0 mL 乙腈：水（3+7, V/V），振荡溶解，过 0.22 μm 滤膜，供测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱-质谱参考条件：

- a) 色谱柱：C₁₈ 色谱柱，长 50 mm，内径 4.6 mm，粒径 1.8 μm，或相当者；
- b) 流动相：乙腈-0.1%甲酸溶液，梯度洗脱程序见表 1；

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间 (min)	0.1%甲酸溶液 (%)	乙腈 (%)
0.0	70	30
2.0	70	30
4.0	5	95
7.0	5	95
7.1	70	30
13.0	70	30

- c) 流速：0.50 mL/min；
- d) 柱温：30 ℃；
- e) 进样量：10 μL；
- f) 离子源：电喷雾离子源（ESI）；
- g) 扫描方式：正离子；
- h) 监测方式：多反应监测（MRM）；
- i) 质谱条件见附录 A。

7.3.2 色谱测定与确证

根据样液中被测化合物的含量，选定峰面积相近的标准工作溶液，对标准工作液和样液等体积参插进样，测定标准工作溶液和样液中被测化合物的响应值均应在仪器检测的线性范围内，用标准工作曲线按外标法定量。在上述色谱条件下杀虫脒和4-氯邻甲苯胺的参考保留时间分别为1.3和4.4 min，杀虫脒和4-氯邻甲苯胺标准品多反应检测（MRM）色谱图参见附录B中图B.1。

按照液相色谱-质谱条件测定样品和标准工作溶液，样品的质量色谱峰保留时间与标准品中对应的保留时间偏差在±2.5%之内；且样品中各组分定性离子的相对丰度与接近浓度的标准工作溶液中相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，则可判定样品中存在对应的被测物。

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%~50%	>10%~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下式（1）计算试样中杀虫脒或4-氯邻甲苯胺残留量：

$$X = \frac{A_i \times C_{si} \times V}{A_{si} \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X_i ——试样中杀虫脒或4-氯邻甲苯胺残留含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

A_i ——样液中杀虫脒或4-氯邻甲苯胺的峰面积；

V ——样液最终定容体积，单位为毫升（mL）；

A_{si} ——标准工作溶液中杀虫脒或4-氯邻甲苯胺的峰面积；

C_{si} ——标准工作溶液中杀虫脒或4-氯邻甲苯胺的浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

m ——最终样液代表的试样量，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

本方法的定量限为5 $\mu\text{g/kg}$ 。

10.2 回收率

当添加水平为5、10、20 $\mu\text{g/kg}$ 时，杀虫脒和4-氯邻甲苯胺在不同基质中的添加回收率见附录C。

附录 A (资料性附录)

电喷雾离子源参考条件:

- a) 电离源模式: 电喷雾离子化;
- b) 电离源极性: 正模式;
- c) 检测方式: 多反应监测;
- d) 雾化气: 氮气;
- e) 雾化气压力: 0.207 MPa (30 psi);
- f) 毛细管电压: 4000 V;
- g) 干燥气温度: 350 °C;
- h) 干燥气流速: 9 L/min;
- i) 分辨率: 单位分辨率;
- j) 母离子, 碎裂电压 (V), 碰撞能量 (eV), 定性离子对 (m/z)、定量离子对 (m/z) 见表 A.1;

表 A.1 杀虫脒和 4-氯邻甲苯胺的定性离子对、定量离子对, 碎裂电压, 碰撞能量

名称	定性离子对 (m/z)	定量离子对 (m/z)	碎裂电压 (v)	碰撞能量 (eV)
杀虫脒	197.1/117.1	197.1/117.1	130	29
	197.1/125			33
4-氯邻甲苯胺	142/125	142/125	118	21
	142/106.7			21

非商业性声明: 附录 A 所列参考质谱条件是在 Agilent 6410B LC/MS/MS 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)
杀虫脒和 4-氯邻甲苯胺标准品多反应检测 (MRM) 色谱图

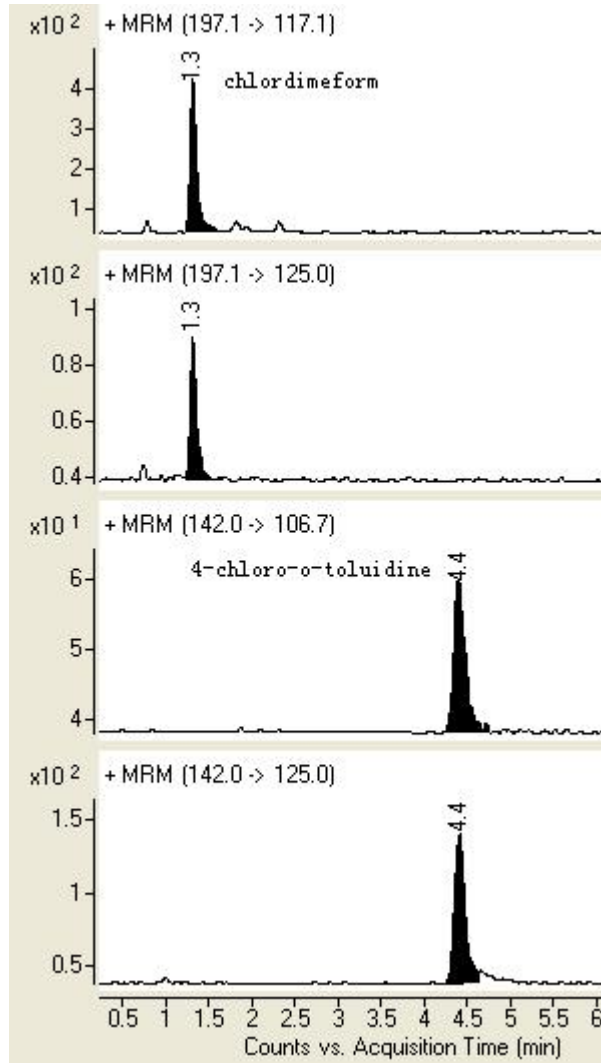


图 B.1 杀虫脒和 4-氯邻甲苯胺标准品多反应监测 (MRM) 质量色谱图 (5 ng/mL)

附录 C
(资料性附录)
不同基质中杀虫脒和4-氯邻甲苯胺的添加回收率

表 C.1 方法的回收率范围 (n=10)

样品名称	添加浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	杀虫脒		4-氯邻甲苯胺	
		回收率范围 (%)	变异系数%	回收率范围 (%)	变异系数%
洋槐蜜	5	86.4~102.0	7.5	86.2~105.3	8.6
	10	88.3~110.3	8.3	87.1~111.4	7.0
	20	86.9~111.2	7.6	88.8~111.4	8.3
荆条蜜	5	86.7~109.6	8.6	86.2~109.3	8.7
	10	76.2~100.5	7.5	92.3~108.8	9.8
	20	81.5~110.2	10.2	88.0~114.3	9.0
蜂巢蜜	5	86.3~109.8	9.0	85.6~112.2	9.9
	10	75.8~101.0	10.2	90.8~110.8	10.0
	20	82.6~109.8	9.7	90.7~105.0	6.7
杂花蜜	5	86.9~99.7	4.8	87.4~107.6	6.2
	10	82.6~101.5	7.9	87.9~112.5	9.7
	20	83.0~112.2	9.7	89.5~106.9	6.4
野蜂蜜	5	86.1~113.8	9.2	86.2~112.2	9.8
	10	81.4~101.2	8.1	93.4~110.5	8.6
	20	83.1~101.1	7.4	87.8~110.6	8.0

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