

中华人民共和国国家标准

GB 23200.99—2016

代替 SN/T 2572—2010

食品安全国家标准
蜂王浆中多种氨基甲酸酯类农药残留量的
测定
液相色谱-质谱/质谱法

National food safety standards

Determination of multiple carbamate pesticides residues in royal-jelly

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 2572-2010 《进出口蜂王浆中多种氨基甲酸酯类农药残留量检测方法 液相色谱-质谱法/质谱法》。

本标准与SN/T 2572-2010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“进出口蜂王浆”改为“蜂王浆”；

—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 2572-2010。

食品安全国家标准

蜂王浆中多种氨基甲酸酯类农药残留量的测定

液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本标准规定了蜂王浆中甲硫威、噁虫威、异丙威、甲萘威、灭多威、克百威、抗蚜威、仲丁威残留量的液相色谱-质谱/质谱测定方法。

本标准适用于蜂王浆中甲硫威、噁虫威、异丙威、甲萘威、灭多威、克百威、抗蚜威、仲丁威残留量的测定和确证，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

试样用乙腈提取，经中性氧化铝柱层析净化，液相色谱-质谱/质谱测定，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 甲醇（ CH_3OH ）：色谱纯。
- 4.1.2 乙腈（ $\text{C}_2\text{H}_5\text{N}$ ）：色谱纯。
- 4.1.3 丙酮（ $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ ）：色谱纯。
- 4.1.4 乙醚（ $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$ ）：色谱纯。
- 4.1.5 乙酸铵（ $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ）：色谱纯。
- 4.1.6 氯化钠（ NaCl ）。

4.2 溶液配制

- 4.2.1 0.005 mol/L 乙酸铵溶液：称取 0.19 g 乙酸铵溶于适量水中，再定容到 500 mL。
- 4.2.2 甲醇—0.005 mol/L 乙酸铵溶液（6+4，V/V）：取 600 mL 甲醇，加入 400 mL 0.005 mol/L 乙酸铵溶液，摇匀备用。
- 4.2.3 丙酮—乙醚溶液（2+8，V/V）：取 200 mL 丙酮，加入 800 mL 乙醚，摇匀备用。

4.3 标准品

- 4.3.1 氨基甲酸酯类标准品：甲硫威、噁虫威、异丙威、甲萘威、克百威、抗蚜威、仲丁威纯度 $\geq 99.0\%$ 。灭多威为 98.8%，见附录 A。

4.4 标准溶液配制

- 4.4.1 氨基甲酸酯标准储备液：精确称取适量氨基甲酸酯标准品，用甲醇溶解，分别配制成浓度为 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备液，4℃冰箱储存。
- 4.4.2 氨基甲酸酯混合工作溶液：根据需要，分别取适量储备液于同一容量瓶中，用甲醇—0.005 mol/L 乙酸铵溶液稀释至适当浓度的工作溶液。保存于 4℃冰箱内。
- 4.4.3 氨基甲酸酯校正溶液配制：将标准混合溶液用按 7.1 和 7.2 处理的空白样品溶液稀释成浓度为 5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。保存于 4℃冰箱内。

4.5 材料

- 4.5.1 中性氧化铝固相萃取小柱（500 mg，3 mL）：使用前用 5 mL 乙醚淋洗。

5 仪器和设备

- 5.1 液相色谱-串联质谱联用仪：配有电喷雾离子源和四极杆质量分析器。
- 5.2 分析天平：感量 0.01 g 和 0.0001 g。
- 5.3 漩涡混匀器。
- 5.4 旋转蒸发器。
- 5.5 离心机：转速大于 5 000 r/min。
- 5.6 固相萃取装置，带真空泵。
- 5.7 具盖塑料离心管：50 mL。

6 试样制备与保存

取代表性样品约 500g，取样部位按 GB 2763 附录 A 执行，将其用力搅拌均匀，装入洁净容器内密封，并标明标记。于-18℃以下保存。在制样的操作过程中，应防止样品污染或发生残留物含量的变化。

7 分析步骤

7.1 提取

称取 2 g 试样(精确到 0.01 g)置于 50 mL 离心管中，加 10 mL 水涡旋混匀 1 min，静置 5 min。加入 15 mL 乙腈涡旋混匀 1 min，以 4000 r/min 离心 2 min，转移上层溶液到 50 mL 离心管中。残渣中再加入 2 mL 水和 15 mL 乙腈，重复提取一次，合并 2 次提取液，加过量的氯化钠涡旋混匀 1 min，以 4000 r/min 离心 2 min，转移上层乙腈相到浓缩瓶中，40℃以下水浴减压浓缩至近干，残渣用 3 mL 丙酮-乙醚混合溶剂溶解，待净化。

7.2 净化

将上述提取液转移到中性氧化铝小柱上，用 10 mL 丙酮-乙醚混合溶剂分三次洗涤残渣，上柱，调整流速在 1 mL/min 左右。收集全部洗脱液。40℃以下水浴减压浓缩至近干，用甲醇-0.005 mol/L 乙酸铵溶液溶解并定容至 4.0 mL，待测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱-质谱参考条件

- a) 色谱柱：C₈，粒径 5 μm，150 mm×4.6 mm(内径.)，或相当的色谱柱。
- b) 流动相：A：甲醇，B：0.005 mol/L 的乙酸铵溶液，流动相梯度洗脱程序如表 1。
- c) 流速：0.3 mL/min。
- d) 进样量：20 μL。
- e) 柱温：20℃。
- f) 扫描方式：正离子模式。
- g) 检测方式：多反应监测。
- h) 雾化气、气帘气、辅助气、碰撞气均为高纯氮气；监测离子对 (m/z) 和其他参考条件见附录 B。

表 1 梯度洗脱程序

| 时间 (min) | A (%) | B (%) |
|----------|-------|-------|
| 0.00 | 70 | 30 |
| 8.00 | 90 | 10 |
| 8.10 | 100 | 0 |
| 15.00 | 100 | 0 |
| 15.10 | 70 | 30 |
| 20.00 | 70 | 30 |

7.3.2 LC/MS-MS 测定

根据样液中待测物的含量，选定浓度相近的标准校正溶液，试液中待测物的响应值应在仪器检测的线性范围内。校正溶液及样液等体积进样测定，在上述色谱条件下，氨基甲酸酯的色谱图见附录 C 图 C.1。

7.3.3 液相色谱-质谱确证

在上述液相色谱-串联质谱条件下进行测定，试液中待测物的保留时间应在校正溶液保留时间的时间窗内，各离子对的相对丰度应与校正溶液的相对丰度一致，误差不超过表 2 中规定的范围。

表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许误差

| | | | | |
|---------|------|-----------|-----------|------|
| 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 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）计算试样中氨基甲酸酯类农药的含量：

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

式中：

X_i ——试样中各氨基甲酸酯类农药的残留含量，单位为毫克每千克，mg/kg；

A_i ——样液中各氨基甲酸酯类农药的峰面积；

V ——样液最终定容体积，单位为毫升，mL；

A_{si} ——标准工作液中各氨基甲酸酯类农药的峰面积；

C_{si} ——标准工作液中各氨基甲酸酯类农药的浓度，单位为微克每毫升， $\mu\text{g/mL}$ ；

m ——最终样液所代表的试样量，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E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F的要求。

10 定量限和回收率

10.1 定量限

本方法氨基甲酸酯类农药定量限均为 0.01 mg/kg。

10.2 回收率

蜂王浆中添加 0.01mg/kg~0.05 mg/kg 浓度水平时，回收率范围见附录 D。

附录 A
(资料性附录)

8种氨基甲酸酯类农药中英文通用名称、CAS号、化学分子式、分子量信息

表A.1 8种氨基甲酸酯类农药中英文通用名称、CAS号、化学分子式、分子量信息

| 农药通用名 | 英文通用名 | CAS号 | 化学分子式 | 分子量 |
|-------|------------|------------|----------------------|-----|
| 灭多威 | Methomyl | 16752-77-5 | $C_5H_{10}N_2O_2S$ | 162 |
| 噁虫威 | Bendiocarb | 22781-23-3 | $C_{11}H_{13}NO_4$ | 223 |
| 克百威 | Carbofuran | 1563-66-2 | $C_{12}H_{15}NO_3$ | 221 |
| 甲萘威 | Carbaryl | 63-25-2 | $C_{12}H_{11}NO_2$ | 201 |
| 抗蚜威 | Pirimicarb | 23103-98-2 | $C_{11}H_{18}N_4O_2$ | 238 |
| 异丙威 | Isoprocarb | 2631-40-5 | $C_{11}H_{15}NO_2$ | 193 |
| 仲丁威 | Fenobucarb | 3766-81-2 | $C_{12}H_{17}NO_2$ | 207 |
| 甲硫威 | Methiocarb | 2032-65-7 | $C_{11}H_{15}NO_2S$ | 225 |

附 录 B
(资料性附录)

API 4000 LC-MS/MS系统电喷雾离子源参考条件

监测离子对及电压参数：

- a) 离子源温度：400 ℃；
- b) 电喷雾电压：5250 V；
- c) 碰撞气流速：5 L/min；
- d) 气帘气流速：25 L/min；
- e) 雾化气流速：55 L/min；
- f) 辅助气流速：30 L/min。

表 B.1 待测物定性/定量离子对、去簇电压 (DP)、碰撞气能量 (CE) 及保留时间

| 序号. | 农药 | 定性离子对 m/z | 定量离子对 m/z | 去 簇 电 压 DP/V | 碰撞气能量 CE/V | 驻留时间/ms |
|-----|-----|--------------|--------------|-----------------|---------------|---------|
| 1 | 灭多威 | 163.0/88.1 | 163.0/88.1 | 43 | 13 | 500 |
| | | 163.0/106.2 | | 43 | 15 | |
| 2 | 噁虫威 | 224.1/167.4 | 224.1/167.4 | 60 | 13 | 500 |
| | | 224.1/109.2 | | 65 | 25 | |
| 3 | 克百威 | 222.1/165.5 | 222.1/165.5 | 75 | 18 | 500 |
| | | 222.1/123.1 | | 75 | 31 | |
| 4 | 甲萘威 | 202.0/145.2 | 202.1/145.2 | 60 | 13 | 500 |
| | | 202.0/127.2 | | 55 | 39 | |
| 5 | 抗蚜威 | 239.1/71.9 | 239.1/71.9 | 75 | 30 | 500 |
| | | 239.1/182.4 | | 75 | 23 | |
| 6 | 异丙威 | 194.1/95.0 | 194.1/95.0 | 60 | 25 | 500 |
| | | 194.1/137.4 | | 60 | 13 | |
| 7 | 仲丁威 | 208.1/94.9 | 208.1/94.9 | 60 | 24 | 500 |
| | | 208.1/152.3 | | 60 | 14 | |
| 8 | 甲硫威 | 226.1/169.4 | 226.1/169.4 | 50 | 14 | 500 |
| | | 226.1/121.1 | | 50 | 27 | |

非商业性声明：附录表A所列参数是在API 4 000质谱仪完成的，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不同厂家和型号的仪器。

附录 C
(资料性附录)

8 种氨基甲酸酯标准品多反应检测 (MRM) 色谱图

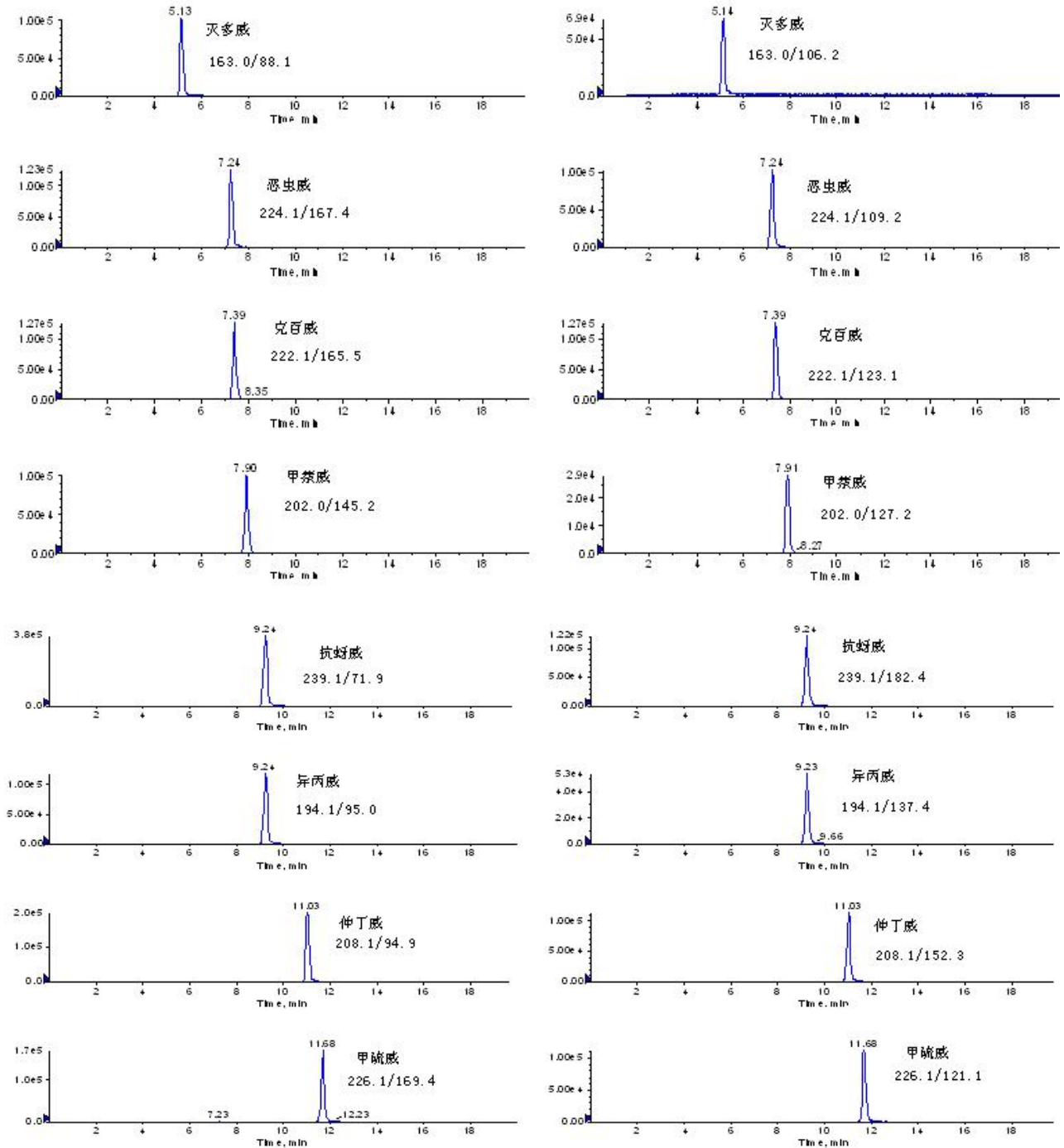


图 C.1 8 种氨基甲酸酯标准品多反应检测 (MRM) 色谱图

附 录 D
(资料性附录)
样品的添加浓度及回收率的实验数据

表D.1 样品的添加浓度及回收率的实验数据

| 农药名称 | 添加浓度 (mg/kg) | 回收率范围% | 精密度范围% |
|------|-----------------|-----------|--------|
| 灭多威 | 0.01 | 70.3~89.4 | 13.5 |
| | 0.02 | 84.2~96.4 | 10.8 |
| | 0.05 | 77.5~106 | 9.6 |
| 噁虫威 | 0.01 | 75.1~96.2 | 10.2 |
| | 0.02 | 85.3~98.0 | 4.9 |
| | 0.05 | 77.7~91.1 | 12.9 |
| 克百威 | 0.01 | 78.5~97.8 | 10.9 |
| | 0.02 | 85.4~93.7 | 8.7 |
| | 0.05 | 82.7~93.3 | 8.5 |
| 甲萘威 | 0.01 | 72.6~97.2 | 9.3 |
| | 0.02 | 93.3~98.3 | 5.4 |
| | 0.05 | 81.4~90.5 | 6.3 |
| 抗蚜威 | 0.01 | 73.8~98.0 | 8.4 |
| | 0.02 | 86.7~94.9 | 9.2 |
| | 0.05 | 84.5~100 | 5.1 |
| 异丙威 | 0.01 | 75.0~93.4 | 9.0 |
| | 0.02 | 89.6~102 | 7.9 |
| | 0.05 | 89.0~103 | 13.1 |
| 仲丁威 | 0.01 | 77.7~95.7 | 8.5 |
| | 0.02 | 97.1~114 | 12.0 |
| | 0.05 | 97.2~103 | 11.6 |
| 甲硫威 | 0.01 | 70.9~89.8 | 10.8 |
| | 0.02 | 85.0~101 | 9.1 |
| | 0.05 | 81.8~88.2 | 8.9 |

附 录 E
(规范性附录)
实验室内重复性要求

表E.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 F
(规范性附录)
实验室间再现性要求

表F.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 |