

中华人民共和国国家标准

GB 23200.38—2016

代替SN/T 3035—2011

食品安全国家标准 植物源性食品中环己烯酮类除草剂残留量 的测定 液相色谱—质谱/质谱法

National food safety standards—

Determination of cyclohexanedione herbicides residue in plant-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 3035-2011 《出口植物源食品中环己烯酮类除草剂残留量的测定 液相色谱—质谱/串联质谱法》。

本标准与SN/T 3035-2011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；
- 标准名称中“出口植物源性食品”改为“植物源性食品”。
- 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 3035-2011。

食品安全国家标准

植物源性食品中环己烯酮类除草剂残留量的测定

液相色谱—质谱/质谱法

1 范围

本标准规定了大米、大豆、玉米、小白菜、马铃薯、大蒜、葡萄和橙子中吡喃草酮(teproloxydim)、禾草灭(alloxydim)、噻草酮(cycloxydim)、苯草酮(methoxyphenone)、烯禾啶(sethoxydim)和烯草酮(clethodim)等6种环己烯酮类除草剂的液相色谱-串联质谱法检测方法。

本标准适用于适用于大米、大豆、玉米、小白菜、马铃薯、大蒜、葡萄和橙子中吡喃草酮、禾草灭、噻草酮、苯草酮、烯禾啶和烯草酮6种环己烯酮类除草剂残留量的检测与确证,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

采用乙腈提取试样中残留的环己烯酮类除草剂,提取液经C₁₈和Envi-Carb固相萃取柱净化,液相色谱-质谱/质谱检测和确证,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): 色谱纯。

4.1.2 正己烷(C₆H₁₄): 色谱纯。

4.1.3 乙酸(CH₃COOH): 色谱纯。

4.1.4 丙酮(C₃H₆O): 优级纯。

4.1.5 氯化钠(NaCl)。

4.2 溶液配制

4.2.1 正己烷-丙酮(6+4): 量取60 mL正己烷,加入40 mL丙酮,混匀。

4.2.2 乙腈-水溶液(1+1): 量取500 mL乙腈,用水定容至1 L,混匀。

4.2.3 0.1%乙酸水溶液: 取1.0 mL乙酸,用水稀释并定容至1000 mL。

4.3 标准品

4.3.1 标准物质: 吡喃草酮(CAS No. 79-41-9)、禾草灭(CAS No. 55635-13-7)、噻草酮(CAS No. 101205-02-1)、苯草酮(CAS No. 87820-88-0)、烯禾啶(CAS No. 74051-80-2)和烯草酮(CAS No. 99129-21-2),纯度≥99%(相关化学信息见附录A中表A.1)。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 环己烯酮类农药标准储备溶液: 分别准确称取适量的环己烯酮类农药标准物质,用乙腈配制成浓度为1000 mg/L的标准储备溶液,标准溶液避光于-18℃保存,保存期为12个月。

4.4.2 环己烯酮类农药混合中间标准溶液: 吸取适量的各标准储备溶液,用乙腈稀释成浓度为1.0 mg/L的混合中间标准溶液,0℃~4℃避光保存,保存期为3个月。

4.4.3 基质混合标准工作溶液: 吸取适量的混合中间标准溶液,用空白样品提取液配成浓度为0 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L、50.0 μg/L、100 μg/L和200 μg/L的基质混合标准工作溶液。当天配制。

4.5 材料

4.5.1 石墨化碳黑固相萃取柱：3 mL 250 mg，或相当者。使用前用 3 mL 正己烷-丙酮溶液活化，保持柱体湿润。

4.5.2 C₁₈固相萃取柱。使用前用5 mL乙腈活化，保持柱体湿润。

4.5.3 微孔滤膜：0.22 μm，有机相型。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-质谱/质谱仪：配有电喷雾离子源（ESI）。

5.2 分析天平：感量 0.01 g 和 0.0001 g。

5.3 组织捣碎机。

5.4 粉碎机。

5.5 涡旋混匀器。

5.6 固相萃取装置，带真空泵。

5.7 氮吹浓缩仪。

5.8 离心机：转速不低于 5 000 r/min。

5.9 离心管：50 mL。

5.10 刻度试管：15 mL。

6 试样制备与保存

6.1 试样制备

6.1.1 玉米、大豆和大米

取样品约500 g，用粉碎机充分粉碎，混匀。试样均分为二份，装入洁净容器，密封，并标明标记。

6.1.2 小白菜、马铃薯、大蒜、葡萄和橙子

取样品约500 g，将其（不可用水洗）切碎后，用捣碎机将样品加工成浆状，混匀。试样均分为二份，装入洁净容器，密封，并标明标记。于-18℃以下冷冻存放。

注：以上样品取样部位按GB 2763附录A执行。

6.2 试样保存

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。玉米、大豆和大米试样于常温下保存。小白菜、马铃薯、大蒜、葡萄和橙子试样于-18℃以下冷冻存放。

7 分析步骤

7.1 提取

7.1.1 玉米、大豆和大米

称取5 g（精确至0.01 g）试样于50 mL具塞离心管中，加入10 mL水，漩涡混匀后放置1 h。然后加入4.0 g氯化钠，再加入15 mL乙腈高速均质提取3 min，振荡提取15 min，于5 000 r/min离心5 min，将乙腈层转移至25 mL容量瓶中。残渣再用10 mL乙腈重复提取一次，合并提取液，并用乙腈定容至25 mL。

7.1.2 小白菜、马铃薯、大蒜、葡萄和橙子

称取5 g（精确至0.01 g）试样于50 mL具塞离心管中，然后加入2.0 g氯化钠，再加入15 mL乙腈高速均质提取3 min，振荡提取15 min，于5 000 r/min离心5 min，将乙腈层转移至25 mL容量瓶中。残渣再用10 mL乙腈重复提取一次，合并提取液，并用乙腈定容至25 mL。

7.2 净化

7.2.1 大豆和玉米

吸取 5.0 mL 提取液于 C₁₈ 固相萃取柱中，以约 1.5 mL/min 的流速使样液全部通过固相萃取柱，再用 3 mL 乙腈淋洗并抽干固相萃取柱，收集全部流出液于 15 mL 离心管中，40℃下用氮气吹至近干。残渣用 3.0 mL 正己烷-丙酮溶解，将溶解液加入处理过的 Envi-Carb 固相萃取柱中，以约 1.5 mL/min 的流速使样液全部通过固相萃取柱，再用 5 mL 正己烷-丙酮润洗样品管，并将润洗液一并加入 Envi-Carb 固相萃取柱，收集全部流出液于 15 mL 离心管中，于 40℃水浴中氮吹至近干，残余物用 1.0 mL 乙腈-水溶解，漩涡混匀后，过微孔滤膜，供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

7.2.2 大米、小白菜、马铃薯、大蒜、葡萄和橙子

取 5.0 mL 提取液于 15 mL 离心管中，40℃ 下用 N₂ 吹至近干。残渣用 2.0 mL 正己烷-丙酮溶解，将溶解液加入处理过的 Envi-Carb 固相萃取柱中，以约 1.5 mL/min 的流速使样液全部通过固相萃取柱，再用 5 mL 正己烷-丙酮润洗样品管，并将润洗液一并加入 Envi-Carb 固相萃取柱，收集全部流出液于 15 mL 离心管中，于 40℃ 水浴中氮吹至近干，残余物用 1.0 mL 乙腈-水溶解，旋涡混匀后，过微孔滤膜，供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱：Waters Acquity BEH C₁₈ 色谱柱，50 mm×2.1 mm (i.d.)，1.7 μm，或相当者；
- 柱温：40℃；
- 进样量：10 μL；
- 流动相、流速及梯度洗脱条件见表 1。

表 1 流动相、流速及梯度洗脱条件

时间 min	流速 mL/min	0.1% 乙酸水溶液 %	乙腈 %
0	0.30	50	50
5.0	0.30	10	90
6.0	0.30	10	90
7.5	0.30	50	50

7.3.2 质谱参考条件

- 离子化模式：电喷雾离子源；
 - 扫描方式：正离子扫描；
 - 检测方式：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 B。

7.3.3 色谱测定与确证

7.3.3.1 定性测定

每种被测组分选择 1 个母离子，2 个以上子离子，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 使用液相色谱-串联质谱法定性时相对离子丰度最大容许误差

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 %

7.3.3.2 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，用标准工作曲线计算进样溶液中被测组分溶液浓度 (C)，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，如果超出线性响应范围，应用空白基质溶液进行适当稀释。6 种环己烯酮标准物质的多反应监测 (MRM) 色谱图参见附录 C 中的图 C.1。

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) 计算试样中各环己烯酮类农药的含量：

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

式中:

X_i ——试样中各环己烯酮类农药的残留含量, 单位为毫克每千克, mg/kg;

A_i ——样液中各环己烯酮类农药的峰面积;

V ——样液最终定容体积, 单位为毫升, mL;

A_{si} ——标准工作液中各环己烯酮类农药的峰面积;

C_{si} ——标准工作液中各环己烯酮类农药的浓度, 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

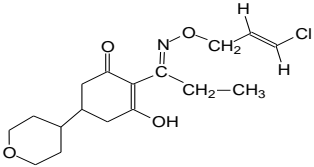
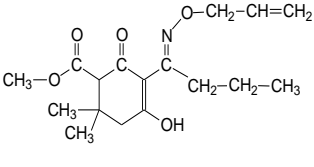
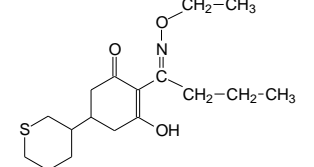
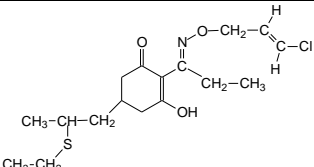
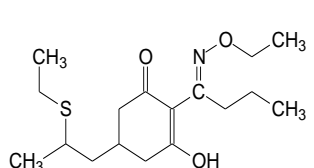
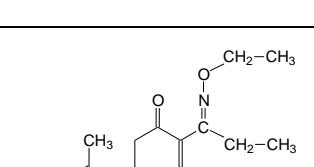
本方法环己烯酮类农药定量限均为 0.005 mg/kg。

10.2 回收率

样品的添加浓度及回收率的数据见附录D。

附录 A
(资料性附录)
环己烯酮类农药的相关信息

表 A.1 环己烯酮类农药的相关信息

化合物名称	英文名	Cas No.	分子式	分子量	分子结构
吡喃草酮	Teproloxydim	149979-41-9	$C_{17}H_{24}ClNO_4$	341.83.	
禾草灭	Alloxydim	55635-13-7	$C_{17}H_{25}NO_5$	323.37	
噻草酮	Cycloxydim	101205-02-1	$C_{17}H_{27}NO_3S$	325.47	
烯草酮	Clethodim	99129-21-2	$C_{17}H_{26}ClNO_3S$	359.91	
烯禾啶	Sethoxydim	74051-80-2	$C_{17}H_{29}NO_3S$	327.48	
苯草酮	Methoxyphenone	87820-88-0	$C_{20}H_{27}NO_3$	329.43	

附 录 B
(资料性附录)
质谱条件

- a) 电喷雾电压：3000 V；
b) 辅助气流速：750 L/h；
c) 碰撞气：氙气；
d) 幕帘气流速：50 L/h；
e) 离子源温度：105℃；
f) 辅助气温度：350℃；
g) 定性离子对、定量离子对，采集时间、锥孔电压及碰撞能量见表B.1。

表 B.1 环己烯酮类农药标准物质的质谱参数

化合物名称	参考保留时间 Min	定性离子对 (m/z)	定量离子对 (m/z)	采集时间 /s	碰撞气能量/eV	锥孔电压/V
吡喃草酮	1.85	342/166	342/250	0.05	30	32
		342/250		0.05	19	32
禾草灭	2.58	324/178	324/178	0.05	30	30
		324/234		0.05	21	30
噻草酮	3.18	326/180	326/280	0.05	29	30
		326/280		0.05	18	30
烯草酮	3.38	360/164	360/164	0.05	29	32
		360/268		0.05	18	32
烯禾啶	3.59	328/178	328/178	0.05	29	30
		328/220		0.05	22	30
苯草酮	3.78	330/138	330/138	0.05	28	30
		330/284		0.05	18	30

注：*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： 标 B.1 中所列参考质谱条件是在 Waters Quattro Premier 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 C
(资料性附录)
环己烯酮类农药标准品质谱图

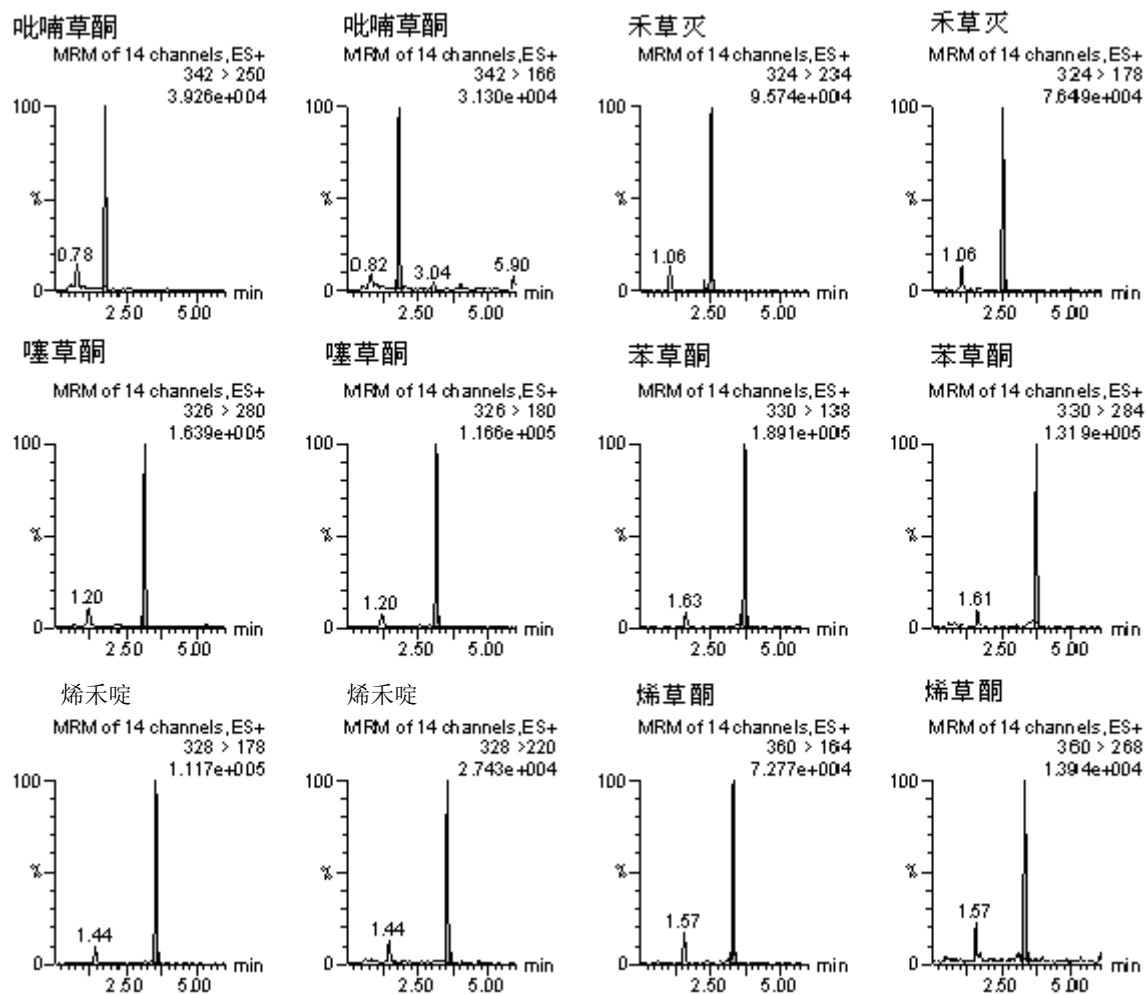


图 C.1 环己烯酮类农药标准品质谱图

附录 D
(资料性附录)

表 D.1 不同基质中环己烯酮类药物加标回收率情况

化合物名称	添加水平 μg/kg	大米 回收率范围 %	玉米 回收率范围 %	大豆 回收率范围 %	小白菜 回收率范围 %	大蒜 回收率范围 %	马铃薯 回收率范围 %	橙子 回收率范围 %	葡萄 回收率范围 %
吡喃草酮	5	83.8~104	84.8~94.8	82.6~96.4	84.1~103	72.9~82.7	77.3~93.8	88.3~103	81.7~98.7
	10	80.0~89.9	86.0~97.7	75.8~89.7	84.6~101	71.5~77.7	79.2~94.9	85.2~94.8	80.1~101
	50	78.5~87.0	77.5~89.0	82.0~91.0	95.3~113	70.0~77.4	79.5~86.2	80.9~87.4	84.4~99.9
	1000	92.6~106	81.1~90.2	80.4~84.4	89.3~92.2	92.9~97.4	83.2~89.4	80.5~86.2	80.4~84.4
	10000	99.3~112	80.6~90.7	85.8~86.2	90.0~96.1	86.3~88.4	98.1~112	80.4~88.1	85.8~87.3
禾草灭	5	86.6~107	87.8~97.6	87.8~99.8	70.0~84.0	75.5~82.9	92.4~110	84.0~90.1	80.9~92.3
	10	84.9~93.8	83.2~93.4	84.7~93.8	81.2~95.6	68.4~73.8	105~116	80.4~87.5	82.0~97.5
	50	79.5~89.0	75.0~84.0	83.0~94.2	89.0~95.0	70.3~78.6	87.2~97.2	74.3~80.6	88.3~106
	1000	101~120	90.7~97.4	81.7~86.0	89.8~90.0	87.1~91.5	87.0~109	80.4~88.0	81.7~86.0
	10000	87.8~114	88.6~90.2	78.5~86.2	80.2~82.3	83.1~96.5	99.6~106	86.6~88.8	81.5~86.2
噻草酮	5	70.0~81.2	70.0~77.8	70.0~74.8	70.0~82.9	70.2~82.6	70.3~82.7	88.1~92.6	85.0~100
	10	72.4~76.6	70.0~75.5	70.0~76.0	72.8~81.3	72.8~79.4	77.6~80.0	83.6~94.3	84.9~95.6
	50	70.0~75.5	70.0~78.0	70.0~76.5	70.0~78.7	86.1~92.9	70.4~74.7	78.8~89.0	86.8~101
	1000	80.7~88.8	82.4~89.9	80.0~82.3	80.3~86.6	82.2~87.4	84.7~89.3	87.1~87.4	80.0~82.3
	10000	80.1~82.1	84.3~87.9	80.0~82.8	84.8~89.2	80.0~86.0	80.8~90.2	86.4~95.8	83.4~87.8
烯草酮	5	70.4~79.0	71.0~79.0	70.0~87.0	75.0~91.3	79.1~84.9	71.7~84.7	75.0~91.3	70.6~83.2
	10	70.0~78.4	70.0~77.4	71.0~78.6	89.7~105	86.2~91.3	84.7~91.8	89.7~105	77.0~85.5
	50	70.0~78.0	70.0~74.0	70.3~78.5	88.9~104	92.5~101	71.8~78.7	88.9~104	83.9~94.1
	1000	80.5~88.1	81.8~85.9	80.9~84.3	88.0~91.1	86.5~99.4	88.6~90.3	92.2~108	78.5~82.8
	10000	80.1~89.7	84.8~88.4	85.4~89.6	83.3~95.5	96.7~102	81.1~88.1	97.4~107	85.4~89.6
苯草酮	5	85.4~110	85.2~94.6	91.8~107	75.9~90.8	83.8~96.4	79.0~83.3	89.2~92.3	68.3~84.8
	10	78.4~94.8	74.8~79.7	80.9~93.6	86.0~103	88.4~95.4	90.2~98.5	88.9~97.1	82.5~96.5
	50	87.0~104	84.5~87.5	83.0~94.0	92.0~106	88.7~93.5	81.5~87.9	87.6~91.7	83.7~101
	1000	81.8~120	83.9~90.0	85.8~90.9	80.5~87.9	86.6~90.0	84.3~88.3	86.9~88.3	85.8~90.9
	10000	99.3~112	80.9~82.0	81.0~89.0	80.8~81.0	80.1~83.0	81.8~90.4	87.1~89.4	83.1~89.0
烯禾啶	5	73.4~83.2	70.0~75.0	70.0~79.0	73.3~82.3	76.5~83.6	74.1~83.4	73.3~82.3	81.4~94.4
	10	70.3~77.0	71.1~76.8	70.0~80.4	86.5~103	83.2~91.3	78.4~90.1	86.5~103	80.5~97.8
	50	70.0~75.0	70.0~77.0	70.0~78.0	87.3~104	87.7~95.5	72.7~76.6	87.3~104	83.5~101
	1000	82.6~106	80.6~85.2	92.6~97.8	83.9~84.6	80.1~81.8	80.9~88.2	94.4~111	82.8~97.8
	10000	91.7~97.4	80.6~85.3	87.5~100	81.4~88.7	90.4~98.9	80.0~89.2	99.1~110	97.5~101

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