

中华人民共和国国家标准

GB 23200.103—2016

代替SN/T 2574—2010

食品安全国家标准

蜂王浆中双甲脒及其代谢产物残留量的测定

气相色谱-质谱法

National food safety standards—

Determination of amitraz and its metabolites residues in royal jelly

Gas 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 2574-2010《进出口蜂王浆中双甲脒及其代谢产物残留量检测方法 气相色谱-质谱法》。

本标准与SN/T 2574-2010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 2574-2010。

食品安全国家标准

蜂王浆中双甲脒及其代谢产物残留量的测定 气相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了蜂王浆中双甲脒及其代谢产物残留量的气相色谱-质谱测定及确证方法。
本标准适用于蜂王浆中双甲脒及其代谢产物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

样品经酸水解，碱化后用正己烷-乙醚（2+1，体积比）混合溶剂提取，酸、碱液-液分配净化，气相色谱-质谱测定和确证，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 正己烷（C₆H₁₄）：色谱纯。

4.1.2 乙醚（C₄H₁₀O）：色谱纯。

4.1.3 丙酮（C₃H₆O）：色谱纯。

4.1.4 氯化钠（NaCl）：650℃灼烧4h，在干燥器内冷却至室温，贮于密封瓶中备用。

4.2 溶液配制

4.2.1 盐酸溶液（2.0 mol/L）：用移液管移取90 mL盐酸，加水稀释定容至500mL。

4.2.2 氢氧化钠溶液（10 mol/L）：称取40 g氢氧化钠，加水溶解定容至100mL。

4.3 标准品

4.3.1 双甲脒（amitraz, C₁₉H₂₃N₃，CAS No: 33089-61-1, 分子量为293）标准物质：纯度>99%。

4.3.2 2,4-二甲基苯胺（2,4-Dimethyl aniline, C₈H₁₁N，CAS No 95-68-1，分子量为121）标准物质：纯度>99%。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 双甲脒标准溶液：准确称取适量的双甲脒标准物质，用丙酮配成浓度为100 μg/mL的标准储备液。根据需要用丙酮稀释至适当浓度的标准工作液。保存于4℃冰箱内。

4.4.2 2,4-二甲基苯胺标准溶液：准确称取适量的2,4-二甲基苯胺标准物质，用丙酮配成浓度为100 μg/mL的标准储备液。根据需要用丙酮稀释至适当浓度的标准工作液。保存于4℃冰箱内。

5 仪器和设备

5.1 气相色谱-质谱仪：配有电子轰击源（EI）。

5.2 分析天平：感量0.01 g和0.0001 g。

5.3 漩涡混合器。

5.4 离心机：转速大于5 000 r/min。

5.5 套式恒温器：50℃~200℃。

5.6 全玻璃回流装置。

6 试样制备与保存

取代表性样品约500g，将其用力搅拌均匀，装入洁净容器内，密封，并标明标记，将试样于-18℃冷冻保存。

在抽样和制样的操作过程中，应防止样品污染或发生残留物含量的变化。

注：以上样品取样部位按GB 2763附录A执行。

7 分析步骤

7.1 水解

称取4 g 试样(精确到0.01 g)于100 mL 烧瓶中，加15 mL 盐酸溶液(4.5)，于旋涡混合器上混匀。装上回流冷凝装置，120℃加热回流2 h，停止加热，在室温下继续通冷却水15min，移至冰浴中冷却15min。

7.2 提取和净化

将水解液转移到50 mL 具塞离心管中，先加10 mL 正己烷-乙醚(2+1，体积比)混合溶剂，再加4 mL 氢氧化钠溶液，涡旋混匀，在冰浴中冷却5min，以4000 r/min 离心3 min。将上层有机相转移到另一50 mL 具塞离心管中。水相用2×10 mL 正己烷-乙醚(2+1，体积比)混合溶剂萃取2次。合并上层有机相。用2×5 mL 盐酸溶液萃取2次，合并盐酸提取液并定容至10mL，分取5mL 盐酸提取液于10 mL 具塞离心管中。加2 mL 正己烷-丙酮(2+1，体积比)混合溶剂，2 mL 氢氧化钠溶液萃取1次，离心分层，上层有机相供气相色谱-质谱测定，外标法定量。

7.3 测定

7.3.1 气相色谱-质谱参考条件

- 色谱柱：DB-5ms 石英毛细管柱，30 m×0.25 mm (i.d)×0.25 μm，或相当者；
- 色谱柱温度：50℃保持2 min，以10℃/min 的升温速率升至160℃，保持1 min，以30℃/min 的升温速率升至320℃，保持5min；
- 载气：氦气，纯度大于等于99.999%，流速：1.0 mL/min；
- 进样量：2 μL；
- 进样方式：脉冲不分流进样，脉冲压力25 psi，0.75 min 后开阀；
- 溶剂延迟时间：8 min；
- 进样口温度：250℃；
- 接口温度：280℃；
- 溶剂延迟时间：8 min；
- 离子源：电子轰击源(EI)；
- 电离能量：70 eV；
- 测定方式：选择离子监测方式；
- 选择离子及相对丰度：见表1。

表1 2, 4-二甲基苯胺的选择离子和相对丰度

选择离子(m/z)	121 (定量)	120	77
相对丰度(%)	100	85.2	21.3

7.3.2 定量测定

根据样液中2, 4-二甲基苯胺含量的情况，选定与样液中2, 4-二甲基苯胺浓度相近的标准工作溶液。标准工作溶液和样液中2, 4-二甲基苯胺响应值应在仪器测定的线性范围内。标准工作溶液和样液等体积穿插进样测定。在上述色谱条件下，2, 4-二甲基苯胺的保留时间约为10.0 min，标准品的总离子流图参见附录A 中图A.1。

7.3.3 定性测定

对标准溶液及样液均按7.3.1规定的条件进行测定，如果样液与标准溶液在相同的保留时间有峰出现，则对其进行质谱确证，在扣除背景后的样品谱图中，所选择离子全部出现，同时所选择的离子的离子丰度比与标准品相关离子的相对丰度一致，波动范围符合表2的最大容许偏差之内(见表2)，可判定样品中存在2, 4-二甲基苯胺。被确证的样品可判定为2, 4-二甲基苯胺阳性检出。2, 4-二甲基苯胺标准品的质谱图参见附录A 中图A.2。

表2 质谱相对离子丰度最大容许偏差

相对离子丰度(%基峰)	>50 %	>20 %至50 %	>10 %至20 %	≤10 %
容许的相对误差	±10 %	±15 %	±20 %	±50 %

7.4 空白试验

除不加试样外，均按上述测定步骤进行。

8 结果计算和表述

用色谱数据处理软件或按式（1）计算试样中双甲脒的残留含量：

$$X = \frac{1.21 \times A \times c \times V}{A_s \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- 1.21 ——由 2, 4-二甲基苯胺分子量换算为双甲脒分子量的转换系数；
- X —— 试样中双甲脒残留量，单位为毫克每千克（mg/kg）；
- A —— 样液中 2, 4-二甲基苯胺的峰面积；
- c —— 标准工作液中 2, 4-二甲基苯胺的浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；
- V —— 最终样液定容体积，单位为毫升（mL）；
- A_s —— 标准工作液中 2, 4-二甲基苯胺峰面积；
- 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C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D的要求。

10 定量限和回收率

10.1 定量限

本方法的定量限为：0.01 mg/kg。

10.2 回收率

本方法的回收率见附录 B。

附录A
(资料性附录)
色谱图和质谱图

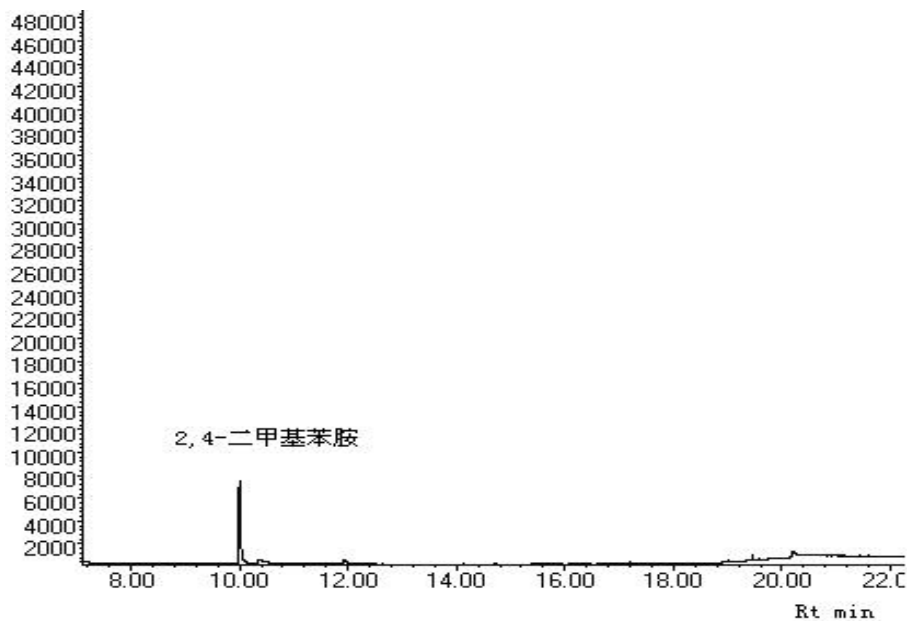


图 A.1 2,4-二甲基苯胺标物质的总离子流色谱图 (浓度为 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

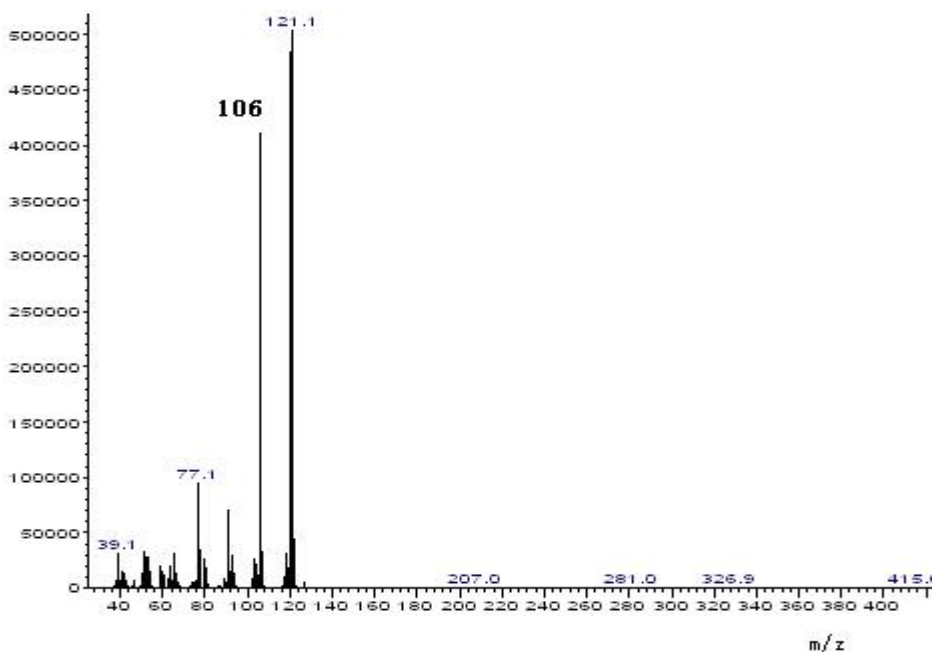


图 A.2 2,4-二甲基苯胺标准物质的质谱图

附 录 B
(资料性附录)
样品的添加浓度及回收率的实验数据

表B.1 样品的添加浓度及回收率的实验数据

化合物	添加浓度/(mg/kg)	回收率/%	精密度/%
双甲脒	0.01	76.7%~88.2	9.8
	0.02	76.9 ~88.0	10.2
	0.05	78.4~90.4	9.0

附 录 C
(规范性附录)
实验室内重复性要求

表C.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 D
(规范性附录)
实验室间再现性要求

表D.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