

中华人民共和国国家标准

GB 23200.45—2016

代替SN 0528—2012

食品安全国家标准
食品中除虫脲残留量的测定
液相色谱-质谱法

National food safety standards—

Determination of diflubenzuron residue in 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 0528-2012《出口食品中除虫脲残留量检测方法 高效液相色谱—质谱/质谱法》。

本标准与SN/T 0528-2012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“出口食品”改为“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 0528-1996；

—SN/T 0528-2012。

食品安全国家标准

食品中除虫脲残留量的测定 液相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了食品中除虫脲残留的液相色谱-质谱检测方法。

本标准适用于大米、玉米、大豆、小麦、花生（仁）、橙子、苹果、西芹、洋葱、蘑菇（鲜）、蜂蜜、蘑菇（干）、茶、鸡肉、牛肉、猪肉、猪肝中除虫脲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

试样中的除虫脲用乙腈提取，分散固相萃取净化后，用液相色谱-串联质谱仪测定并确证，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 乙腈（ CH_3CN ）：色谱纯。

4.1.2 正己烷（ C_6H_{14} ）。

4.1.3 冰乙酸（ CH_3COOH ）。

4.1.4 无水乙酸钠（ CH_3COONa ）。

4.1.5 氯化钠（ NaCl ）：450 °C灼烧4 h，密封备用。

4.1.6 无水硫酸钠（ Na_2SO_4 ）：650 °C灼烧4 h，贮藏干燥器中备用。

4.1.7 无水硫酸镁（ MgSO_4 ）：650 °C灼烧4 h，贮藏干燥器中备用。

4.1.8 N-丙基乙二胺（Primary secondary amine, PSA）：PSA 填料或相当，粒度40 μm 。

4.1.9 十八烷基硅烷键合相（ C_{18} ）： C_{18} 填料或相当，粒度50 μm 。

4.2 溶液配制

4.2.1 冰乙酸-乙腈溶液（0.1+99.9, V/V）：取0.1 mL冰醋酸加入99.9 mL乙腈，混匀后备用。

4.3 标准品

4.3.1 除虫脲标准品：CAS号：35367-38-5，纯度大于等于96 %。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 除虫脲标准储备溶液：准确称取适量除虫脲标准品（精确至0.1 mg），用乙腈配制成浓度为1.0 mg/mL的标准储备液，置-18 °C冰箱中保存，保存期为6个月。

4.4.2 除虫脲标准工作溶液：根据需要用乙腈将标准储备溶液稀释成适当浓度的标准工作液，临用现配。

4.4.3 0.005 mol/L 乙酸铵水溶液：称取0.3850 g 乙酸铵，用水溶解定容到1 L，过0.45 μm 滤膜备用。

4.5 材料

4.5.1 微孔滤膜：0.22 μm ，有机系。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱-串联质谱仪：三重四极杆串联质谱，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 具塞离心管：50 mL，聚丙烯旋盖塑料离心管或相当者；10 mL，玻璃具塞离心管或相当者。
- 5.4 涡旋混合器。
- 5.5 超声波清洗器。
- 5.6 离心机。
- 5.7 样品粉碎机。
- 5.8 组织捣碎机。
- 5.9 样品筛：孔径为2 mm。
- 5.10 高速组织匀浆机。

6 试样制备与保存

6.1 试样制备

6.1.1 大米、玉米、大豆、小麦、蘑菇（干）、茶

取代表性样品 500 g，粉碎后使其全部通过样品筛，混匀后装入洁净容器内，密封并标识。

6.1.2 花生（仁）、橙子、苹果、西芹、洋葱、蘑菇（鲜）

取有代表性样品500 g，用粉碎机粉碎。混匀，装入洁净的盛样容器内，密封并标明标记。

6.1.3 鸡肉、牛肉、猪肉、猪肝

样品用组织捣碎机捣碎，充分混匀。取 250 g 捣碎样用高速组织匀浆机匀浆至糊状，若不立即测定则需冷冻保存。

6.1.4 牛肉、牛肝、鱼肉、鸡肉

取有代表性样品500 g，取可食部分经捣碎机充分捣碎均匀，装入洁净的盛样容器内，密封并标明标记。

6.1.5 蜂蜜

取代表性样品500 g，对于无结晶的蜂蜜样品，将其搅拌均匀。对于有结晶的样品，在密闭的情况下，低于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，于常温下保存。

注：以上样品取样部位按GB 2763附录A执行。

6.2 试样保存

粮谷类、坚果类、茶叶等脱水类试样可在常温下密封保存；水果、蔬菜试样应密封冷藏保存，如果不进行立即检测，则需冷冻保存；畜禽肉及其制品需冷冻保存。

制样和样品保存过程中，应防止样品污染或待测物的含量变化。所有制备样品应置于洁净、密封容器内并做好标识。含水样品解冻后应充分混匀。

7 测定步骤

7.1 提取

7.1.1 大米、玉米、大豆、小麦、花生（仁）

称取 5 g 试样（精确至 0.01 g）于 50 mL 具塞离心管中，加 5 mL 水混匀，放置 30 min。加入 10 mL 冰乙酸—乙腈溶液，加入 1 g 无水乙酸钠和 2 g 氯化钠，涡旋振荡 2 min，30 ℃恒温水浴超声提取 30 min 后 5000 r/min 离心 10 min，上层清液过装填适量无水硫酸钠漏斗收集于 50 mL 具塞离心管中，加入 10 mL 用乙腈饱和的正己烷，振荡 5 min，静置分层，弃去正己烷层，待净化。

7.1.2 橙子、苹果、西芹、洋葱、蘑菇（鲜）、蜂蜜

称取 5 g 试样（精确至 0.01 g）于 50 mL 具塞离心管中。加 5 mL 水混匀，放置 30 min。加入 10 mL 冰乙酸—乙腈溶液，加入 1 g 无水乙酸钠和 2 g 氯化钠，涡旋振荡 2 min，30 ℃恒温水浴超声提取 30 min 后 5000 r/min 离心 10 min，上层清液过装填适量无水硫酸钠漏斗收集于 50 mL 具塞离心管中，待净化。

7.1.3 蘑菇（干）、茶

称取 2.5 g 试样（精确至 0.01 g）于 50 mL 具塞离心管中，加 10 mL 水混匀，放置 60 min。加入 10 mL 冰乙酸—乙腈溶液，加入 1 g 无水乙酸钠和 2 g 氯化钠，涡旋振荡 2 min，30 ℃恒温水浴超声提取 30

min 后 5000 r/min 离心 10 min，上层清液过装填适量无水硫酸钠漏斗收集于 50 mL 具塞离心管中，待净化。

7.1.4 鸡肉、牛肉、猪肉、猪肝

称取 2.5 g 试样（精确至 0.01 g）于 50 mL 具塞离心管中。加入 10 mL 冰乙酸—乙腈溶液，加入 1 g 无水乙酸钠和 2 g 氯化钠，均质 2 min，30 °C 恒温水浴超声提取 30 min 后 5000 r/min 离心 10 min，上层清液过装填适量无水硫酸钠漏斗收集于 50 mL 具塞离心管中，加入 10 mL 用乙腈饱和的正己烷，振荡 5 min，静置分层，弃去正己烷层，待净化。

7.2 净化

称取 0.05 g PSA，0.1 g C18，0.15 g 无水硫酸镁置于 10 mL 玻璃具塞离心管中，准确吸取 7.1 所得提取液 2.0 mL 至此离心管中，准确涡旋振荡 1 min，以 5000 r/min 的转速离心 2 min。取上清液 1 mL 过 0.22 μm 有机微孔滤膜后，供液相色谱—串联质谱测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱：C₁₈ 柱，150 mm×2.1 mm（内径），粒径 5 μm，或相当者；
- 流动相：A（乙腈），B（0.005 mol/L 乙酸铵水溶液）。梯度洗脱条件参见附录 A 中表 A.1；
- 进样量：10 μL；
- 柱温：30 °C；
- 流速：0.2 mL/min。

7.3.2 质谱参考条件

- 离子源：电喷雾离子源（ESI）；
- 扫描方式：负离子扫描；
- 检测方式：多反应监测（MRM）；
- 监测离子对：母离子 308.9 (*m/z*)，定量离子对 308.9/288.9 (*m/z*)；定性离子对分别为 308.9/288.9 (*m/z*)、308.9/92.9 (*m/z*)；
- 其它质谱参考条件见附录 A 中表 A.2 和 A.3。

7.3.3 定量测定

根据样液中待测物的含量，选定浓度相近的标准工作溶液一起进行色谱分析。待测样液中除虫脒的响应值均应在仪器检测的线性范围内。对标准工作溶液及样液等体积参插进样测定。在上述仪器条件下，除虫脒保留时间约为 7.51 min。液相色谱—串联质谱总离子流和质量色谱图参见附录 B 图 B.1。

7.3.4 定性测定

按照上述条件测定样品和标准品，样品中待测物色谱峰保留时间与标准品对应的保留时间偏差应一致，允许偏差小于 ±2.5%；并且在扣除背景后的样品谱图中，各定性离子的相对丰度与浓度接近的同样条件下得到的标准溶液谱图相比，最大允许相对偏差不超过表 1 中规定的范围，则可判断样品中存在对应的被测物。

表1 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

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 %

7.4 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 LC-MS/MS 的数据处理软件或按下式 (1) 计算试样中除虫脲的含量, 计算结果应扣除空白值。

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

式中:

X ——试样中除虫脲含量, 单位为微克每千克 ($\mu\text{g}/\text{kg}$);

A ——样液中除虫脲的峰面积;

c ——标准工作溶液中除虫脲的浓度, 单位为纳克每毫升 (ng/mL);

V ——样品溶液最终定容体积, 单位为毫升 (mL);

A_s ——标准工作溶液中除虫脲的峰面积;

m ——样品溶液所代表最终试样的质量, 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

本方法中除虫脲在大米、玉米、大豆、小麦、花生(仁)、橙子、苹果、西芹、洋葱、蘑菇(鲜)、蜂蜜的定量限为 $10.0 \mu\text{g}/\text{kg}$, 鸡肉、牛肉、猪肉、猪肝、蘑菇(干)、茶的定量限为 $20.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 回收率

本方法在不同基质中 $10 \sim 500 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 $65\% \sim 115\%$, 数据参见附录C。

附录 A
(资料性附录)
参考液相色谱—串联质谱条件

表 A.1 液相色谱洗脱条件

时间/min	A/%	B/%
0~1.0	40	60
3.0~8.0	70	30
8.1~10.0	95	5
10.1~15.0	40	60

表 A.2 质谱条件

仪器参数	参数值
电喷雾电压 (IS)	- 4500 V
雾化气压力 (GS1)	45 psi (氮气)
气帘气压力 (CUR)	10 psi (氮气)
辅助气压力 (GS2)	50 psi (氮气)
离子源温度 (TEM)	500 °C

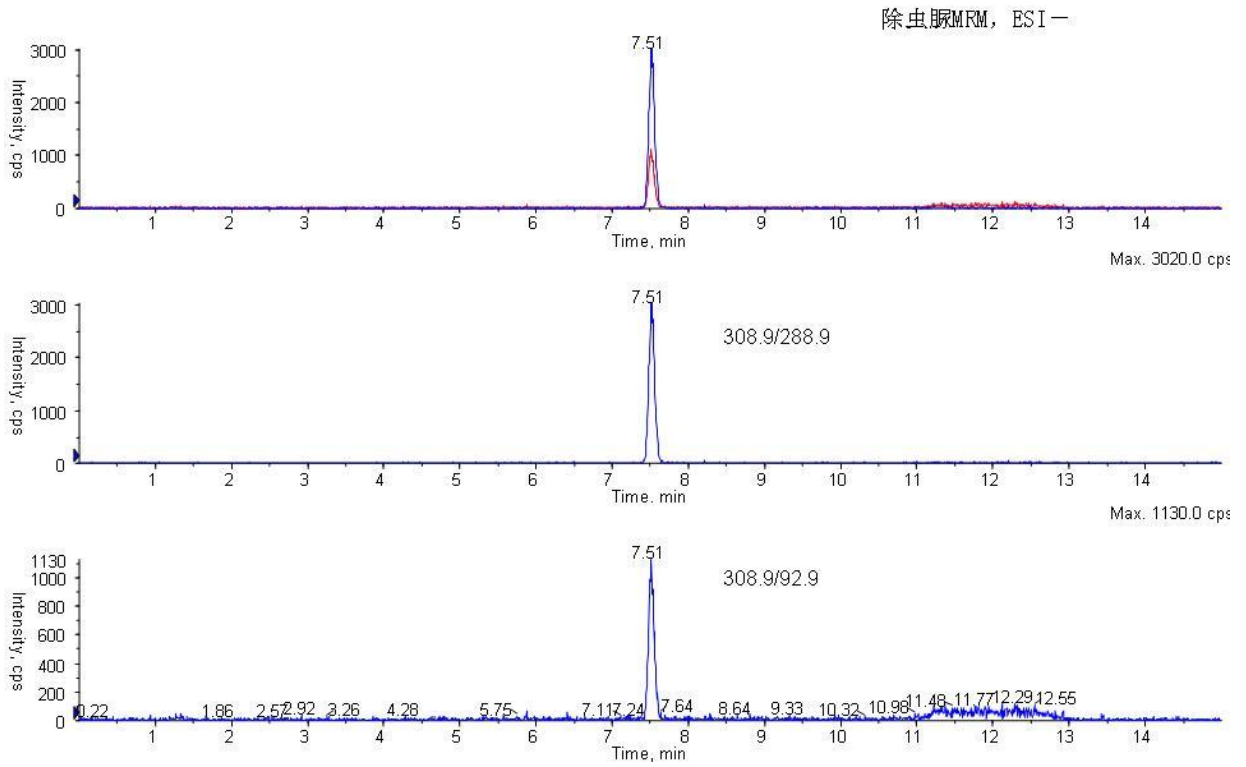
表 A.3 多反应监测条件

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压 (V)	碰撞电压 (V)	碰撞室入 口电压/ (V)	碰撞室出 口电压/ (V)	驻留时间/ (msec)
除虫脲	308.9	288.9*		- 15		- 6	200
			- 55		- 11		
		92.9		- 70		- 8	200

*离子用于定量。

1) 非商业性声明: 附录表 A 所列参数是在 API4000 质谱仪上完成的, 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采用不同厂家或型号的仪器。

附录 B
 (资料性附录)
 液相色谱-质谱/质谱法除虫脒标准品色谱图



图B.1 除虫脒标准物质 (0.01 ng/mL) 的多反应监测 (MRM) 色谱图

附录 C
(资料性附录)
不同基质中除虫脲的添加回收率

表 C.1 添加水平及回收率范围

样品名称	添加浓度/ (μg/kg)	回收率范围/%
大米	10	73.3~82.6
	20	70.5~101.5
	50	77.2~107.1
玉米	10	72.4~81.5
	20	75.5~106.4
	50	71.0~95.1
大豆	10	68.5~81.2
	20	67.2~90.5
	50	70.5~95.7
小麦	10	77.3~87.5
	20	71.5~90.6
	50	75.3~94.1
花生(仁)	10	70.1~85.5
	20	72.0~98.7
	50	73.5~86.2
橙子	50	85.6~107.6
	100	87.2~115.4
	500	79.5~109.5
苹果	50	86.3~115.5
	100	82.4~107.6
	500	85.0~109.2
西芹	10	75.3~89.6
	20	85.0~103.5
	50	82.6~105.5
洋葱	10	81.2~94.8
	20	75.0~112.8
	50	72.4~102.5
蘑菇(鲜)	10	72.1~101.5
	20	76.0~87.6
	50	71.2~94.6
蜂蜜	10	75.0~109.2
	20	81.0~106.8
	50	80.5~105.5
鸡肉	20	90.0~108.2
	40	85.2~96.0
	80	82.0~105.7
牛肉	20	87.5~102
	40	89.0~98.5
	80	80.0~103.7
猪肉	20	92.0~100.0
	40	93.8~107.5
	80	82.5~102.7

猪肝	20	85.0~114.2
	40	87.5~105.3
	80	78.6~108.5
蘑菇(干)	20	65.4~92.1
	50	77.2~87.6
	100	70.3~81.6
茶	20	70.0~85.2
	50	68.8~87.4
	100	72.3~85.0

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