

中华人民共和国国家标准

GB 23200.94—2016

代替SN/T 1920—2007

食品安全国家标准 动物源性食品中敌百虫、敌敌畏、 蝇毒磷残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

National food safety standards—

Determination of trichlorfon, dichlorvos and coumaphos residues in animal-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 1920-2007《进出口动物源性食品中敌百虫、敌敌畏、蝇毒磷残留量的检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》。

本标准与SN/T 1920-2007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“进出口动物源性食品”改为“动物源性食品”；
- 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 1920-2007。

食品安全国家标准

动物源性食品中敌百虫、敌敌畏、蝇毒磷残留量的测定

液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本标准规定了畜、禽分割肉、盐渍肠衣和蜂蜜中敌百虫、敌敌畏、蝇毒磷残留量的制样和液相色谱-质谱/质谱检验方法。

本标准适用于分割肉、盐渍肠衣和蜂蜜中敌百虫、敌敌畏、蝇毒磷残留量的测定，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

试样中的敌百虫、敌敌畏、蝇毒磷用二氯甲烷或乙酸乙酯提取，提取液经浓缩、脱脂后，用液相色谱-质谱/质谱仪测定，外标峰面积法定量，子离子丰度比定性。

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

4.1.2 乙腈（CH₃CN）：高效液相色谱级。

4.1.3 甲醇（CH₃OH）：高效液相色谱级。

4.1.4 乙酸乙酯（C₄H₈O₂）。

4.1.5 二氯甲烷（CH₂Cl₂）。

4.1.6 环己烷（C₆H₁₂）。

4.1.7 硫酸钠（Na₂SO₄）：650℃灼烧4 h，在干燥器内冷却至室温，贮于密封瓶中备用。

4.1.8 乙酸铵（CH₃COONH₄）：优级纯或相当者。

4.2 溶液配制

4.2.1 50 mmol/L 乙酸铵溶液：称取0.385 g 乙酸铵溶于1 000 mL 水中

4.3 标准品

4.3.1 敌百虫（Trichlorfon, CAS号：52-68-6，分子式：C₄H₈Cl₃O₄P）标准品：纯度≥98.0%。

4.3.2 敌敌畏（Dichlorvos, CAS号：62-73-7，分子式：C₄H₇Cl₂O₄P）标准品：纯度≥97.6%。

4.3.3 蝇毒磷（Coumaphos, CAS号：56-72-4，分子式：C₁₄H₁₆Cl₂O₅PS）标准品：纯度≥99.9%。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 标准储备液：分别准确称取适量敌百虫、敌敌畏、蝇毒磷标准品，用甲醇配制成浓度为100 μg/mL 浓度的混合标准储备液。此溶液在0℃~4℃冰箱中避光保存，可使用3个月。

4.4.2 空白样品提取液：用不含敌百虫、敌敌畏、蝇毒磷残留的样品，按照7.1制备空白样品提取液。

4.4.3 标准工作溶液：根据需要用空白样品提取液将标准储备液稀释成50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、500 ng/mL 的混合标准工作溶液。置于0℃~4℃冰箱中避光保存，可使用3天。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱-质谱/质谱仪：三重四极杆质谱检测器，带电喷雾离子源（ESI）或相当者。

5.2 分析天平：感量0.01 g 和0.0001 g。

5.3 超声波清洗器。

- 5.4 旋涡混匀器。
- 5.5 旋转蒸发仪。
- 5.6 离心机：5000 r/min。
- 5.7 均质器。
- 5.8 0.45 μm 微孔滤膜。

6 试样制备与保存

6.1 试样制备

6.1.1 分割肉

取样品中有代表性的约 500 g，用组织捣碎机捣碎，装入洁净容器作为试样，密封并做好标识。

6.1.2 肠衣

取有代表性样品约 100 g，用剪刀剪碎至 2 毫米以下，装入洁净容器作为试样，密封并做好标识。

6.1.3 蜂蜜

取有代表性样品约 500 g，搅拌均匀后装入洁净容器内密封并做好标识。

注：以上样品取样部位按GB 2763附录A执行。

6.2 试样保存

分割肉、肠衣、蜂蜜等试样于-18℃以下冷冻保存。

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 提取与净化

7.1.1 分割肉

a) 准确称取5 g均匀试样（精确到0.01 g）于50 mL具塞试管中，加入5 g无水硫酸钠混匀，再加入15 mL二氯甲烷，用均质器（10000 r/min）均质2 min，4 000 r/min离心3 min，将有机相转移至100 mL梨形蒸馏瓶中，残渣再用2×10 mL二氯甲烷均质提取二次。

b) 离心合并有机相，于40℃旋转蒸发至2 mL，将样液转移至5 mL刻度试管中，并用少量二氯甲烷洗涤梨形蒸馏瓶，合并洗涤液到刻度试管中，室温通氮浓缩至干。定量加入1.0 mL乙腈溶解残渣，加入2 mL环己烷旋涡混匀2 min后，2 500 r/min离心3 min，将下层乙腈相过0.45 μm微孔滤膜后，供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

7.1.2 肠衣

准确称取5 g试样（精确到0.01 g）于50 mL具塞离心瓶中，加入2 g无水硫酸钠混匀，再加入15 mL二氯甲烷，盖上盖混匀，置于超声波清洗器中超声30 min，冷却后将有机相过滤转移至100 mL梨形蒸馏瓶中，残渣再用2×10 mL用二氯甲烷混匀超声提取二次，离心合并有机相。接下来按照7.1.1中“离心合并有机相”后的步骤进行。

7.1.3 蜂蜜

称取5 g试样（精确到0.01 g）置于50 mL具塞离心管中，加10 mL水，加25 mL乙酸乙酯，于旋涡混合器上混匀1 min，以3 000 r/min离心5 min，将上层乙酸乙酯提取液收集于浓缩瓶中，残渣再加入20 mL乙酸乙酯，重复上述操作，合并乙酸乙酯提取溶液。在50℃以下减压浓缩至约3 mL后转移至10 mL离心管中，用5 mL乙酸乙酯分两次洗涤浓缩瓶，合并洗涤液于离心管中，用氮气吹干。加1.0 mL乙腈溶解残渣，并过0.45 μm微孔滤膜后，供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱-质谱/质谱参考条件

- a) 色谱柱：柱填料为十八烷基硅烷键合相的色谱柱，4.6×150 mm，5μm 或相当者；
- b) 流动相：甲醇：50 mmol/L 乙酸铵，梯度洗脱程序参见附录 A；
- c) 流速：0.50 mL/min 或根据仪器条件优化；
- d) 柱温：40℃；
- e) 进样量：10 μL；
- f) 离子源：电喷雾离子源；
- g) 扫描方式：正离子；
- h) 检测方式：多反应监测（MRM）；
- i) 质谱/质谱参考条件参见附录 B

7.2.2 色谱测定与确证

按照7.2.1液相色谱-质谱/质谱条件测定样液和标准工作溶液，外标标准曲线法测定样液中的敌百虫、敌敌畏、蝇毒磷残留量。样品中待测物残留量应在标准曲线范围之内，如果残留量超出标准曲线范围，应用空白样品提取液进行适当稀释。在上述色谱条件下，敌百虫、敌敌畏、蝇毒磷的质量色谱峰保留时间约为13.2 min, 14.1 min, 15.9 min。标准品的多反应监测色谱图见附录C中的图C.1。

在相同的实验条件下，样品与标准工作液中待测物质的质量色谱峰相对保留时间在2.5%以内，并且在扣除背景后的样品质量色谱图中，所选择的离子对均出现，同时与标准品的相对丰度允许偏差不超过表1规定的范围，则可判断样品中存在对应的被测物。

表 1 使用定性液相色谱-质谱/质谱时相对离子丰度最大容许误差

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%

7.3 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

用数据处理软件中的外标法，或绘制标准曲线，按照式（1）计算样品中敌百虫、敌敌畏、蝇毒磷残留量。

$$x = \frac{C \times V}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

- 式中： x —— 试样中敌百虫、敌敌畏、蝇毒磷的残留量，单位为毫克每千克（mg/kg）；
 C —— 由标准曲线而得的样液中敌百虫、敌敌畏、蝇毒磷的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；
 V —— 样液最终定容体积，单位为毫升（mL）；
 m —— 最终样液所代表的试样质量，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

本方法敌百虫、敌敌畏、蝇毒磷的测定定量限均为0.010 mg/kg。

10.2 回收率

10.2.1 肠衣中敌百虫添加浓度及其回收率数据：

- 添加浓度在0.010 mg/kg时，回收率在73.0%~94.0%之间；
- 添加浓度在0.020 mg/kg时，回收率在78.0%~95.0%之间；
- 添加浓度在0.040 mg/kg时，回收率在78.0%~95.0%之间。

10.2.2 肠衣中敌敌畏添加浓度及其回收率数据：

- 添加浓度在0.010 mg/kg时，回收率在76.0%~98.0%之间；
- 添加浓度在0.020 mg/kg时，回收率在78.0%~98.0%之间；
- 添加浓度在0.040 mg/kg时，回收率在86.0%~95.0%之间。

10.2.3 肠衣中蝇毒磷添加浓度及其回收率数据：

- 添加浓度在0.010 mg/kg时，回收率在75.0%~95.0%之间；
- 添加浓度在0.020 mg/kg时，回收率在80.0%~96.0%之间；
- 添加浓度在0.040 mg/kg时，回收率在77.0%~92.0%之间。

10.2.4 分割肉中敌百虫添加浓度及其回收率数据：

添加浓度在0.010 mg/kg时,回收率在92.0%~115%之间;
添加浓度在0.020 mg/kg时,回收率在86.5%~113%之间;
添加浓度在0.040 mg/kg时,回收率在80.8%~101%之间。

10.2.5 分割肉中敌敌畏添加浓度及其回收率数据:

添加浓度在0.010 mg/kg时,回收率在93.0%~110%之间;
添加浓度在0.020 mg/kg时,回收率在88.5%~108%之间;
添加浓度在0.040 mg/kg时,回收率在84.3%~110%之间。

10.2.6 分割肉中蝇毒磷添加浓度及其回收率数据:

添加浓度在0.010 mg/kg时,回收率在91.0%~112%之间;
添加浓度在0.020 mg/kg时,回收率在79.0%~102%之间;
添加浓度在0.040 mg/kg时,回收率在73.9%~95.3%之间。

10.2.7 蜂蜜中敌百虫添加浓度及其回收率数据:

添加浓度在0.010 mg/kg时,回收率在70.0%~110%之间;
添加浓度在0.020 mg/kg时,回收率在79.0%~104%之间;
添加浓度在0.040 mg/kg时,回收率在80.0%~107%之间。

10.2.8 蜂蜜敌敌畏添加浓度及其回收率数据:

添加浓度在0.010 mg/kg时,回收率在70.0%~92.0%之间;
添加浓度在0.020 mg/kg时,回收率在71.0%~91.0%之间;
添加浓度在0.040 mg/kg时,回收率在70.0%~96.0%之间。

10.2.9 蜂蜜中蝇毒磷添加浓度及其回收率数据:

添加浓度在0.010 mg/kg时,回收率在79.0%~110%之间;
添加浓度在0.020 mg/kg时,回收率在74.0%~105%之间;
添加浓度在0.040 mg/kg时,回收率在71.0%~104%之间。

附录 A
(资料性附录)
梯度洗脱参考条件

表 A.1 流动相梯度洗脱程序

时间/min	甲醇/ (%)	50 mmol/L 乙酸铵/ (%)
0	10.0	90.0
5.00	10.0	90.0
10.00	95.0	5.0
18.00	95.0	5.0
18.01	10.0	90.0
25.00	10.0	90.0

附录 A

(资料性附录)

API 4000 LC-MS/MS系统检测敌百虫、敌敌畏、蝇毒磷参考条件

A.1 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) 窗帘气 (CUR): 15.00 Pa;
- b) 雾化气 (GS1): 40.00 Pa;
- c) 辅助加热气 (GS2): 45.00 L/min;
- d) 碰撞气 (CAD): 7.00 Pa;
- e) 离子源喷雾器电压 (IS): 5000.00 V;
- f) 喷雾针温度: (TEM): 550.00℃;
- g) 定性离子对、定量离子对、去簇电压、碰撞能量、碰撞室出口电压见表B.1。

表 B.1 待测物定性离子对、定量离子对、去簇电压、碰撞能量和碰撞室出口电压

待测物	Q1 <i>m/z</i>	Q3 <i>m/z</i>	去簇电压 V	碰撞能量 V	碰撞室出口电压 V
敌百虫	259.0 ^a	109.2	63.0	26.5	19.0
Trichlorfon	256.9	221.2	63.0	16.0	13.0
敌敌畏	221.3 ^a	109.2	63.0	25.5	19.0
Dichlorvos	223.3	109.2	63.0	25.0	18.0
蝇毒磷	363.3 ^a	307.0	96.0	25.0	20.0
Coumafos	363.3	227.0	96.0	36.0	13.0

a 为定量离子对。

附录 B

(资料性附录)

B.1 标准品多反应监测色谱图

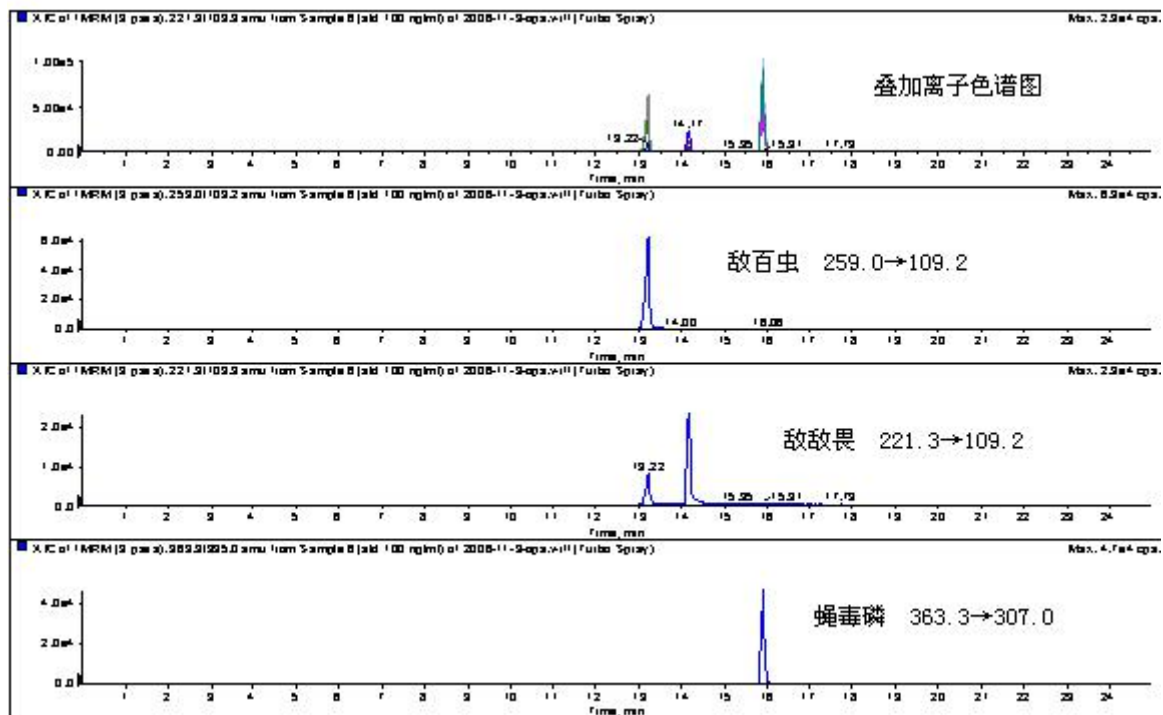


图 C.1 敌百虫、敌敌畏、蝇毒磷标准溶液多反应监测色谱图

* 非商业性声明：本标准所采用仪器设备及型号不涉及商业目的，鼓励标准使用者尝试不同厂家或型号的仪器。

附 录 C
(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