



中华人民共和国国家标准

GB 23200.109—2018

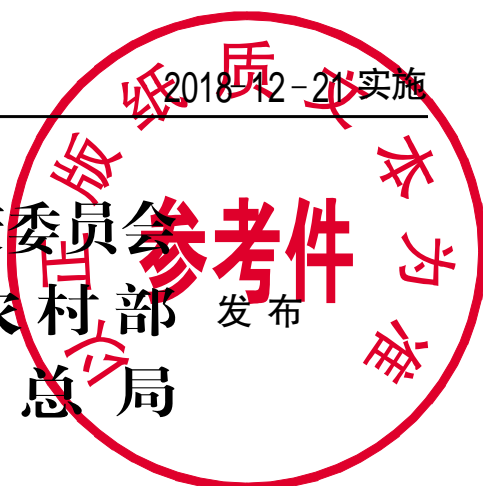
食品安全国家标准 植物源性食品中二氯吡啶酸残留量的测定 液相色谱-质谱联用法

National food safety standard—
Determination of clopyralid in foods of plant origin—
Liquid chromatography-mass spectrometry

2018-06-21 发布

2018-12-21 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
中华人民共和国农业农村部 发布
国家市场监督管理总局



食品安全国家标准

植物源性食品中草铵膦残留量的测定

液相色谱-质谱联用法

1 范围

本标准规定了植物源性食品中草铵膦残留量的液相色谱-质谱联用方法。
本标准适用于植物源性食品中草铵膦残留量的测定。

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

试样中的草铵膦用水和甲醇提取,再经固相材料分散净化处理,净化液与氯甲酸-9-芴基甲酯(9-fluorenylmethyl chloroformate)反应后生成的衍生物草铵膦-FMOC(glufosinate-FMOC)经液相色谱-质谱联用法检测,外标法定量。

4 试剂和材料

除另有说明外,在分析中仅使用分析纯试剂和 GB/T 6682 中规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1 乙腈(CH_3CN ,CAS 号:75-05-8):色谱纯。

4.1.2 甲醇(CH_3OH ,CAS 号:67-56-1):色谱纯。

4.1.3 乙酸铵($\text{CH}_3\text{COONH}_4$,CAS 号:631-61-8)。

4.1.4 硼酸钠($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$,CAS 号:1303-96-4)。

4.1.5 氯甲酸-9-芴基甲酯($\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClO}_2$,CAS 号:28920-43-6):纯度 99.0%, $0^\circ\text{C} \sim 4^\circ\text{C}$ 保存。

4.2 溶液配制

4.2.1 硼酸盐缓冲溶液(50.0 g/L,pH=9):称取 5 g 硼酸钠($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$),用水溶解并定容至 100 mL。

4.2.2 氯甲酸-9-芴基甲酯乙腈溶液(10.0 g/L):称取 1 g 氯甲酸-9-芴基甲酯,用乙腈溶解并定容至 100 mL。

4.2.3 乙酸铵水溶液(5 mmol/L):称取 0.385 g 乙酸铵溶解于适量水中,用水定容至 1 000 mL。

4.3 标准品

草铵膦($\text{C}_5\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_4\text{P}$,CAS 号:77182-82-2)标准品:纯度 $\geq 99.0\%$ 。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 草铵膦标准储备溶液(100 mg/L):准确称取草铵膦标准品 10.0 mg 于 50 mL 烧杯中,用水溶解后转移到 100 mL 容量瓶中,并用水定容。放置于 $0^\circ\text{C} \sim 4^\circ\text{C}$ 冰箱,有效期 6 个月。

4.4.2 草铵膦标准中间溶液(10 mg/L):吸取 5.0 mL 草铵膦标准储备溶液于 50 mL 容量瓶中,用水定容。放置于 0℃~4℃ 冰箱,有效期 1 个月。

4.5 材料

4.5.1 中性氧化铝(Al_2O_3 , CAS 号:1344-28-1):0.075 mm~0.15 mm。

4.5.2 多壁碳纳米管(MWCNTs):粒径范围 10 nm~20 nm;颗粒物长度 5 μm ~15 μm ;比表面积 $(225\pm 25)\text{m}^2/\text{g}$ 。

4.5.3 滤膜:0.22 μm ,有机系。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-质谱联用仪:配有电喷雾离子源(ESI)。

5.2 分析天平:感量 0.000 1 g、感量 0.01 g。

5.3 组织捣碎仪。

5.4 离心机:转速不低于 10 000 r/min。

5.5 涡旋振荡器。

5.6 恒温水浴锅。

6 试样制备

蔬菜、水果和食用菌样品按相关标准取一定量,样品取样部位按照 GB 2763 的规定执行。对于个体较小的样品,取样后全部处理;对于个体较大的基本均匀样品,可在对称轴或对称面上分割或切成小块后处理;对于细长、扁平或组分含量在各部分有差异的样品,可在不同部位切取小片或截成小段后处理;取后的样品将其切碎,充分混匀,用四分法取样或直接放入组织捣碎机中捣碎成匀浆。匀浆放入聚乙烯容器中。

取谷类样品 500 g,粉碎后使其全部可通过 425 μm 的标准网筛,放入聚乙烯瓶或袋中。取油料作物、茶叶、坚果和香辛料样品各 500 g,粉碎后充分混匀,放入聚乙烯瓶或袋中。

植物油类搅拌均匀。

试样于-18℃以下温度保存。

7 分析步骤

7.1 提取

7.1.1 蔬菜、水果、食用菌类

称取 10 g(精确至 0.01 g)试样于 50 mL 离心管中,参见附录 A 补水,然后加入 10 mL 甲醇(4.1.2),涡旋振荡 2 min 后,以 3 800 r/min 离心 5 min,待净化。

7.1.2 香辛料、茶叶类

称取 2 g(精确至 0.01 g)试样于 50 mL 离心管中,参见附录 A 补水,然后加入 10 mL 甲醇(4.1.2),涡旋振荡 2 min 后,以 3 800 r/min 离心 5 min,待净化。

7.1.3 谷物、坚果、油料作物、植物油类

称取 5 g(精确至 0.01 g)试样于 50 mL 离心管中,参见附录 A 补水,然后加入 10 mL 甲醇(4.1.2),涡旋振荡 2 min 后,以 3 800 r/min 离心 5 min,待净化。

7.2 净化

7.2.1 蔬菜、水果、坚果、食用菌类、香辛料、茶叶类、谷物类

准确吸取 1 mL 提取液于称有 5 mg 多壁碳纳米管(4.5.2)的 2 mL 离心管中,涡旋 1 min 后,以 10 000 r/min 离心 3 min,取上清液过 0.22 μm 有机系滤膜(4.5.3)于另一个 2 mL 离心管中,待衍生化。

7.2.2 油料作物类

用吸量管准确吸取 4 mL 提取液于 5 mL 离心管中,置于 -20°C 的冰箱中冷冻过夜,然后取 1 mL 上清液于称有 5 mg 多壁碳纳米管(4.5.2)和 50 mg 中性氧化铝(4.5.1)的 2 mL 离心管中,涡旋 1 min 后,以 10 000 r/min 离心 3 min,取上清液过 0.22 μm 有机系滤膜(4.5.3)于另一个 2 mL 离心管中,待衍生化。

7.2.3 植物油类

准确吸取 1 mL 提取液直接过 0.22 μm 有机系滤膜(4.5.3)于另一个 2 mL 离心管中,待衍生化。

7.3 衍生化

准确吸取 0.5 mL 净化后的提取液于 2 mL 离心管中,加入 0.5 mL 硼酸盐缓冲溶液(4.2.1),混匀后再加入 0.5 mL 氯甲酸-9-芴基甲酯乙腈溶液(4.2.2),涡旋 1 min,于 40°C 水浴中衍生 1 h,衍生后以 10 000 r/min 离心 1 min,取上清液过 0.22 μm 有机系滤膜(4.5.3),供检测。准确吸取草铵膦标准溶液(7.5)0.5 mL 按此方法同时进行衍生化。

7.4 仪器参考条件

7.4.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱: C_{18} , 50 mm \times 2.1 mm, 粒径 1.7 μm , 或相当者;
- 流动相:A 为 5 mmol/L 乙酸铵水溶液,B 为乙腈,梯度洗脱程序见表 1;
- 流速:0.2 mL/min;
- 柱温:室温;
- 进样体积:5 μL 。

表 1 流动相及梯度洗脱程序($V_A + V_B$)

时间 min	流动相 V_A	流动相 V_B
0	95	5
4	70	30
6	70	30
6.1	5	95
8.0	5	95
8.1	95	5
10	95	5

7.4.2 质谱参考条件

- 离子源:电喷雾离子源;
- 扫描方式:正离子扫描;
- 喷雾电压:3 500 V;
- 毛细管温度: 320°C ;
- 气化温度: 300°C ;
- 鞘气(N_2):45 psi;
- 辅助气(N_2):10 psi;
- 碰撞气氩气:1.5 mTorr;
- 检测方式:多反应监测(MRM),多反应监测条件见表 2。

表 2 草铵膦衍生物 glufosinate-FMOC 的保留时间和多反应监测(MRM)条件

中文名称	保留时间 min	定量离子对 m/z	定性离子对 m/z	碰撞能量 V
草铵膦衍生物	5.5	404.0/182.0	404.0/182.0	15
			404.0/208.0	10

7.5 标准工作曲线

将草铵膦标准中间溶液用空白提取液稀释成质量浓度为 0.01 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.5 mg/L 和 1 mg/L 的系列基质匹配标准溶液,经衍生化(7.3)后按参考色谱和质谱条件测定。以草铵膦质量浓度为横坐标、其衍生物的峰面积积分为纵坐标,绘制标准曲线,求回归方程和相关系数。基质匹配标准溶液应现配现用。

7.6 定性及定量

7.6.1 保留时间

被测试样中草铵膦衍生物 glufosinate-FMOC 色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较,相对误差应在±2.5%之内。

7.6.2 定量离子、定性离子及子离子丰度比

在相同实验条件下进行样品测定时,如果检出的色谱峰的保留时间与标准样品相一致,并且在扣除背景后的样品质谱图中,目标化合物的质谱定性离子必须出现,至少应包括 1 个母离子和 2 个子离子,而且同一检测批次,对同一化合物,样品中目标化合物的 2 个子离子的相对丰度比与浓度相当的标准溶液相比,其相对偏差不超过表 3 规定的范围,则可判断样品中存在草铵膦。

表 3 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

单位为百分率

相对离子丰度	>50	20~50(含)	10~20(含)	≤10
允许相对偏差	±20	±25	±30	±50

7.7 测定

将基质匹配标准溶液和待测溶液经衍生化后分别注入液相色谱-质谱联用仪中,以保留时间和定性离子定性,样品中草铵膦质量浓度应在标准工作曲线质量浓度范围内,超过标准工作曲线质量浓度上限的样品应稀释后进样,采用外标法定量。同时做空白试验。

7.8 空白试验

除不加试样外,按照 7.1~7.7 的规定进行平行操作。

8 结果计算

试样中草铵膦的残留量以质量分数 w 计,单位以毫克每千克(mg/kg)表示,按式(1)计算。

$$w = \frac{A \times \rho_s \times v}{A_s \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- w —— 试样中草铵膦残留量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- A —— 试样溶液中草铵膦衍生物的峰面积;
- A_s —— 标准溶液中草铵膦衍生物的峰面积;
- ρ_s —— 基质匹配标准工作溶液中草铵膦的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);
- m —— 试样的质量,单位为克(g);
- v —— 提取溶液总体积,单位为毫升(mL), $v=20$ 。

计算结果以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值表示,保留 2 位有效数字。当结果大于 1 mg/kg 时,保留 3 位有效数字。

9 精密度

9.1 在重复性条件下,2 次独立测定结果的绝对差不大于重复性限(r),重复性限(r)的数据为:

- a) 含量为 0.05 mg/kg 时,重复性限(r)为 0.01;
- b) 含量为 0.1 mg/kg 时,重复性限(r)为 0.02;
- c) 含量为 0.5 mg/kg 时,重复性限(r)为 0.09;
- d) 含量为 1 mg/kg 时,重复性限(r)为 0.19。

9.2 在再现性条件下,2次独立测定结果的绝对差不大于再现性限(R),再现性限(R)的数据为:

- a) 含量为 0.05 mg/kg 时,再现性限(R)为 0.02;
- b) 含量为 0.1 mg/kg 时,再现性限(R)为 0.04;
- c) 含量为 0.5 mg/kg 时,再现性限(R)为 0.16;
- d) 含量为 1 mg/kg 时,再现性限(R)为 0.24。

10 其他

香辛料和茶叶的定量限为 0.1 mg/kg,其他样品的定量限为 0.05 mg/kg。

11 图谱

11.1 5 mg/L 草铵磷生物标准溶液的全扫描质谱图见图 1。

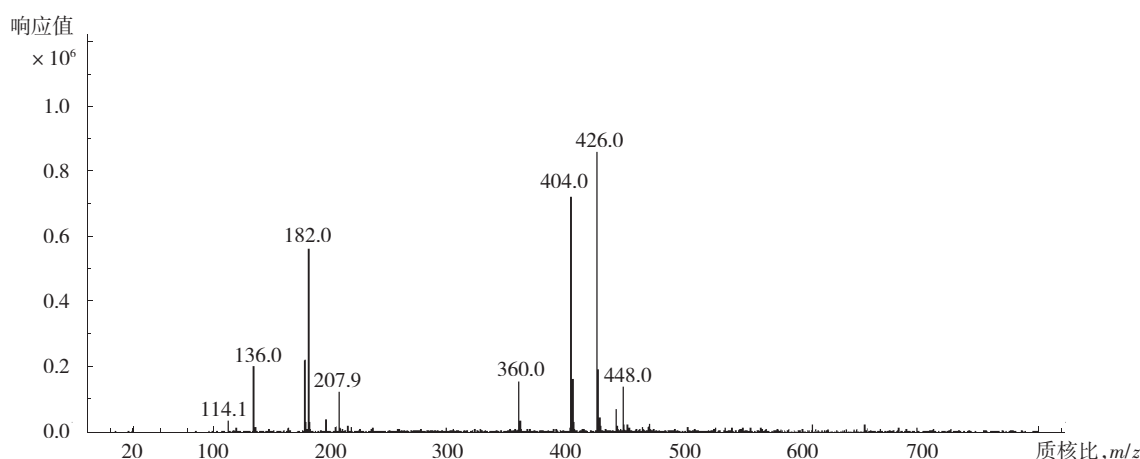


图 1 5 mg/L 草铵磷生物标准溶液的全扫描质谱图

11.2 0.01 mg/L 草铵磷生物标准溶液色谱图见图 2。

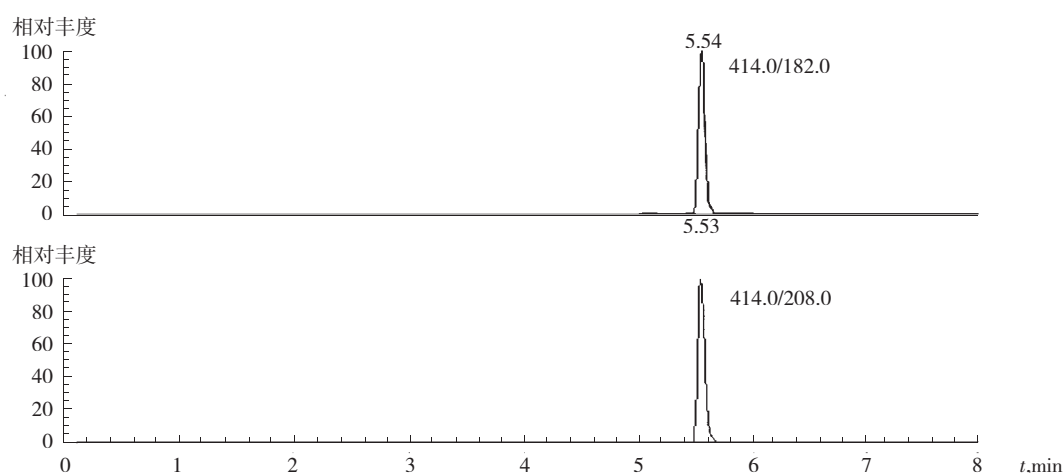


图 2 0.01 mg/L 草铵磷生物标准溶液色谱图

附 录 A
(资料性附录)

所选基质含水量、称样量及提取前补水量信息表

所选基质含水量、称样量及提取前补水量信息表见表 A.1。

表 A.1 所选基质含水量、称样量及提取前补水量信息表

基质名称	含水量 %	称样量 g	提取前补水量 g
结球甘蓝	85	10	1.5
芹菜	95	10	0.5
番茄	95	10	0.5
茄子	90	10	1.0
马铃薯	80	10	2.0
萝卜	95	10	0.5
菜豆	75	10	2.5
韭菜	85	10	1.5
苹果	85	10	1.5
桃	90	10	1.0
葡萄	80	10	1.5
柑橘	85	10	1.5
香蕉	75	10	2.5
木瓜	90	10	1.0
香菇	90	10	1.0
杏仁	<10	5	10
大豆油	<10	5	10
糙米	<10	5	10
小麦	<10	5	10
玉米	<10	5	10
花生	<10	5	10
绿茶	<10	2	10
花椒	<10	2	10
注 1:不包含在本表中的基质可根据其含水量测试结果进行补水。			
注 2:按照基质含水量补水至 10 g。			