

附件：5



中华人民共和国国家标准

GB ×××××—××××

食品安全国家标准

植物源性食品中氯吡脞残留量的测定

液相色谱-串联质谱法

National food safety standard—

Determination of forchlorfenuron in foods of plant origin—

Liquid chromatography tandem mass spectrometry

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 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

本标准系国内首次发布。

征求意见稿

食品安全国家标准

植物源性食品中氯吡脞残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了植物源性食品中氯吡脞残留量液相色谱-质谱/质谱（HPLC-MS/MS）的测定方法。

本标准适用于植物源性食品中氯吡脞残留量的测定。

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

试样中的氯吡脞用乙腈提取，分散固相萃取净化，液相色谱-串联质谱测定，外标法定量。

4 试剂与材料

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯试剂和符合GB/T 6682规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1 甲酸（HCOOH，CAS号64-18-6）：色谱纯。

4.1.2 乙腈（CH₃CN，CAS号75-05-8）：色谱纯。

4.1.3 无水硫酸镁（MgSO₄，CAS号7487-88-9）。

4.1.4 氯化钠（NaCl，CAS号12125-02-9）。

4.2 溶液配制

甲酸溶液(0.2+99.8)：准确吸取1 mL甲酸用水稀释至500 mL，然后将其置于超声波中超声15 min，备用。

4.3 标准品

氯吡脞标准品 ($C_{12}H_{10}ClN_3O$, CAS NO. 68157-60-8), 纯度 $\geq 99.0\%$ 。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 氯吡脞标准储备溶液 (100 mg/L): 准确称取 10 mg (精确到 0.1 mg) 氯吡脞标准品于 50 mL 烧杯中, 用乙腈溶解并转移至 100 mL 容量瓶中, 用乙腈定容至刻度, 混匀, $-18^{\circ}C$ 冷冻避光保存, 有效期 6 个月。

4.4.2 氯吡脞标准工作溶液 (10 mg/L): 准确吸取 1 mL 标准储备溶液, 加到 10 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 混匀。 $4^{\circ}C$ 下保存, 有效期 1 个月。

4.5 材料

4.5.1 N-丙基乙二胺 (PSA), $40\mu m \sim 60\mu m$ 。

4.5.2 石墨化炭黑 (GCB), $38\mu m \sim 120\mu m$ 。

4.5.3 十八烷基键合硅胶 (C_{18}), $50\mu m$ 。

4.5.4 滤膜: $0.22\mu m$, 有机系。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-串联质谱: 配备电喷雾离子源 (ESI)。

5.2 分析天平, 感量 0.01 g 和 0.000 1 g。

5.3 离心机, 转速不低于 8000 r/min。

5.4 涡旋振荡器。

6 试样的制备

蔬菜、水果和食用菌样品按相关标准取一定量, 取样部位按 GB 2763 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或处理; 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 $425\mu m$ 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 500g, 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 $-18^{\circ}C$ 及以下温度条件下保存。

7 分析步骤

7.1 提取

7.1.1 蔬菜、水果、食用菌、植物油

称取10 g（精确到0.01 g）试样于50 mL的离心管中，加入10 mL乙腈、涡旋振荡提取3 min；蔬菜、水果、食用菌向离心管中加入4 g无水硫酸镁和1g氯化钠，植物油向离心管中加入5 g氯化钠，涡旋1 min；然后4000 r/min离心5 min，取1.5 mL上清液待净化。

7.1.2 谷物、油料、坚果

称取5 g（精确到0.01 g）试样于50 mL的离心管中，加入10 mL水、涡旋30s使试样完全润湿；然后加入10 mL乙腈、涡旋振荡提取3 min；向离心管中加入5g氯化钠，涡旋1 min；4 000 r/min离心5 min，取1.5 mL上清液待净化。

7.1.3 茶叶、香辛料

称取2 g（精确到0.01 g）试样于50 mL的离心管中，加入10 mL水、涡旋30s使试样完全润湿；然后加入10 mL乙腈、涡旋振荡提取3 min；向离心管中加入5 g氯化钠，涡旋1 min；4 000 r/min离心5 min，取1.5 mL上清液待净化。

7.2 净化

7.2.1 蔬菜、水果、食用菌、植物油

将1.5 mL蔬菜（色素含量高的蔬菜如韭菜除外）或水果样品上清液放入装有50 mg PSA和150mg无水硫酸镁的2 mL离心管中；将1.5 mL色素含量高的蔬菜样品上清液放入装有40 mg PSA、15 mg GCB和150mg无水硫酸镁的2 mL离心管中；将1.5 mL食用菌或植物油样品上清液放入装有50 mg C₁₈和150mg无水硫酸镁的2 mL离心管中；涡旋30 s，5000 r/min离心5 min，取上清液过有机系滤膜，供HPLC-MS/MS检测。

7.2.2 谷物、油料、坚果

将1.5 mL上清液放入装有50 mg C₁₈和150mg无水硫酸镁的2 mL离心管中；涡旋30 s，5000 r/min离心5 min，取上清液过有机系滤膜，供HPLC-MS/MS检测。

7.2.3 茶叶、香辛料

将1.5 mL上清液放入装有50 mg PSA、20 mg GCB和150mg无水硫酸镁的2 mL离心管中；涡旋30 s，5000 r/min离心5 min，取上清液过有机系滤膜，供HPLC-MS/MS检测。

7.3 仪器参考条件

7.3.1 液相色谱参考条件

a) 色谱柱: C₁₈ 柱, 100 mm×2.1mm (i.d), 1.7 μm 或相应类型色谱柱;

b) 柱温: 45℃;

c) 流动相: A 为乙腈; B 为 0.2% 甲酸溶液;

d) 进样量: 5 μL;

e) 流速: 0.3 mL/min;

f) 流动相梯度洗脱条件:

表 1 流动相及梯度洗脱条件 (V_A+V_B)

时间 min	流动相 A	流动相 B
0	10	90
1.5	90	10
2.5	90	10
2.6	10	90
5	10	90

7.3.2 质谱参考条件

a) 离子源类型: ESI;

b) 毛细管电压: 3 kV;

c) 锥孔气: 氮气, 50 L/h;

d) 离子源温度: 120℃;

e) 干燥气: 氮气, 流速 600 L/h, 温度 350 °C;

f) 碰撞气: 氩气, 0.16 mL/min;

g) 扫描方式: 正离子扫描;

h) 检测方式: 多反应监测 (MRM), 监测条件见表 2。

表 2 多反应监测 (MRM) 的条件

化合物名称	定性离子对	定量离子对	锥孔电压	碰撞能量
-------	-------	-------	------	------

			(volts)	(volts)
氯吡脞	248.0/129.0	248.0/129.0	20	16
	248.0/93.0			34

7.4 标准工作曲线

准确吸取适量氯吡脞标准工作溶液(4.4.2),用空白基质提取液稀释,配制成质量浓度为0.002 mg/L、0.01 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、1 mg/L系列基质标准溶液,供液相色谱-质谱联用仪测定。以测得峰面积为纵坐标,对应的标准溶液质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,求出回归方程和相关系数。

7.5 定性及定量

7.5.1 保留时间

被测试样中目标化合物色谱峰的保留时间与相应标准溶液该组分色谱峰的保留时间相比较,相对误差应在±2.5%之内。

7.5.2 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量和定性离子应出现,而且同一检测批次,对同一化合物,样品中目标化合物的定性离子和定量离子的相对丰度比与质量浓度相当的标准溶液相比,其允许偏差不超过表3规定的范围,则可判断样品中存在氯吡脞。

表3定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

7.6 测定

将基质标准溶液和待测溶液分别注入液相色谱-质谱联用仪中,以保留时间和定性离子定性,样品中氯吡脞质量浓度应在标准工作曲线质量浓度范围内,超过标准工作曲线最高点的则应稀释后再进行分析。采用外标法定量。

7.7 空白试验

除不加试样外,采用完全相同的测定步骤等进行平行操作。

8 结果计算

试样中氯吡脞残留量用质量分数 ω 计,单位以毫克每千克(mg/kg)表示,按以下公式(1)计算:

$$\omega = \frac{A \times \rho \times V}{A_s \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

ω —试样中氯吡脞残留量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

ρ —标准溶液中氯吡脞质量浓度，单位为毫克每升(mg/L)；

A —样品溶液中氯吡脞峰面积；

A_s —农药标准溶液中氯吡脞峰面积；

V —样品溶液定容体积，单位为毫升(mL)；

m —试样的质量，单位为克(g)；

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，保留两位有效数字。当结果大于 1mg/kg 时保留三位有效数字。

9 精密度

9.1 在重复性条件下，两次独立测定结果的绝对差值不超过重复性限（ r ），重复性限（ r ）的数据为：

含量为 0.01 mg/kg 时，重复性限（ r ）为 0.0030；

含量为 0.05mg/kg 时，重复性限（ r ）为 0.012；

含量为 0.5mg/kg 时，重复性限（ r ）为 0.11。

9.2 在再现性条件下，两次独立测定结果的绝对差值不超过再现性限（ R ），再现性限（ R ）的数据为：

含量为 0.01 mg/kg 时，再现性限（ R ）为 0.0044；

含量为 0.05 mg/kg 时，再现性限（ R ）为 0.015；

含量为 0.5 mg/kg 时，再现性限（ R ）为 0.16。

10 其他

本方法定量限为 0.01 mg/kg。

11 图谱

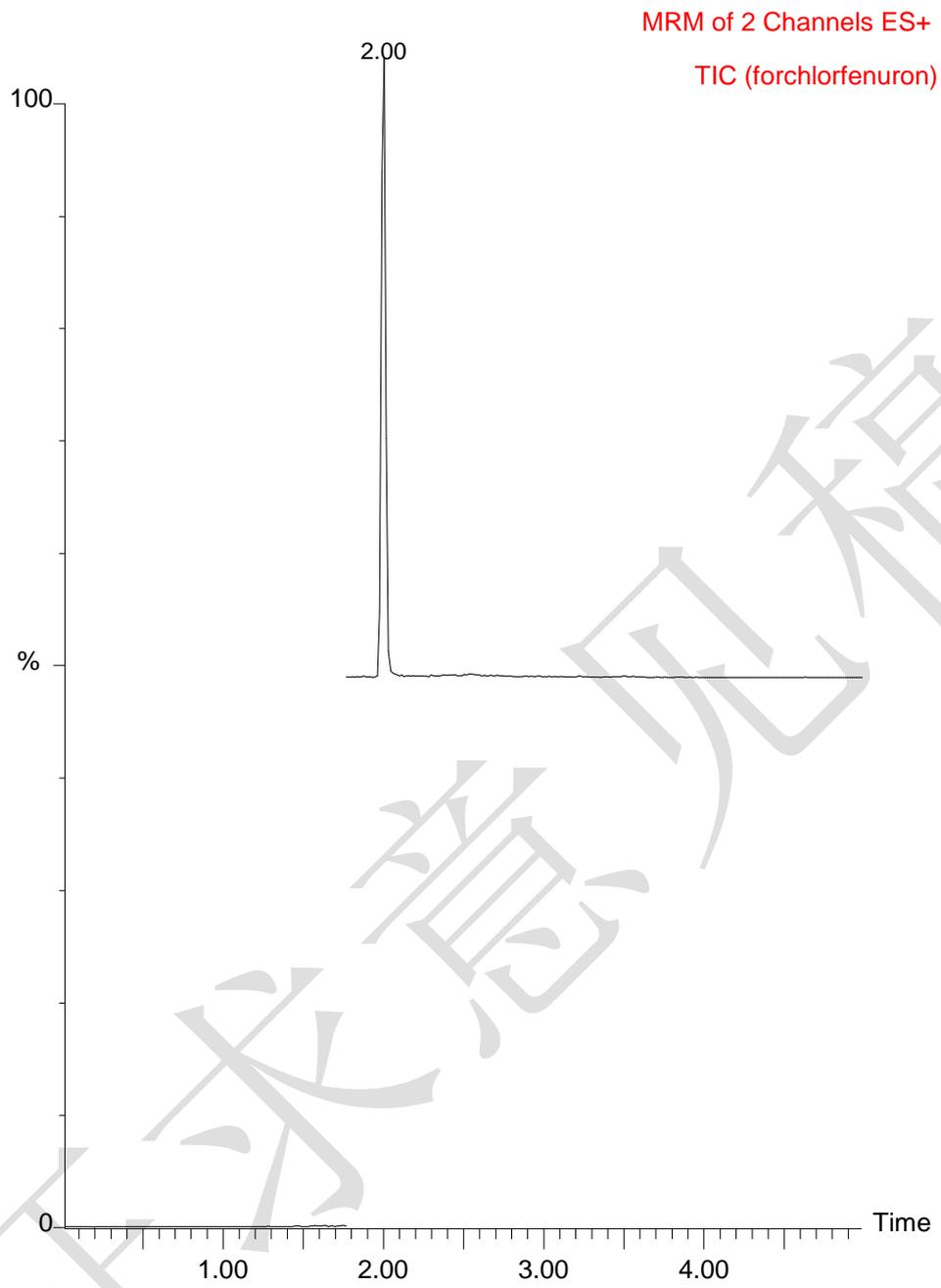


图 10.01 mg/L 氯吡脞标准溶液总离子流色谱图