

ICS 点击此处添加 ICS 号
点击此处添加中国标准文献分类号

GB

中华人民共和国国家标准

GB 23200.69—2016

代替SN/T 2795—2011

食品安全国家标准 食品中二硝基苯胺类农药残留量的测定 液相色谱—质谱/质谱法

National food safety standards—

Determination of dinitroaniline pesticides 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 2795-2011《进出口食品中二硝基苯胺类农药残留量的测定 液相色谱—质谱/串联质谱法》。

本标准与SN/T 2795-2011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；
- 标准名称和范围中“进出口食品”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/T 2795-2011。

食品安全国家标准

食品中二硝基苯胺类农药残留量的测定

液相色谱—质谱/质谱法

1 范围

本标准规定了食品中 8 种二硝基苯胺类农药残留量的液相色谱-质谱/质谱法检测方法。

本标准适用于黄豆、大米、菠菜、生姜、苹果、西瓜、甘蓝、节瓜、茶叶、鸡蛋、猪肉和鸡肝中氟乐灵、二甲戊灵、氨磺乐灵、仲丁灵、氨氟乐灵、氨氟灵、甲磺乐灵和异丙乐灵等二硝基苯胺类农药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

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

试样用乙腈振荡提取，石墨化碳黑固相萃取柱和HLB固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱法测定和确证，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 甲醇（CH₃OH）：色谱纯。

4.1.2 乙腈（CH₃CN）：色谱纯。

4.1.3 正己烷（C₆H₁₄）：色谱纯。

4.1.4 甲酸（CH₂O₂）：色谱纯。

4.1.5 丙酮（C₃H₆O）：优级纯。

4.1.6 氯化钠（NaCl）：分析纯。

4.1.7 无水硫酸钠（Na₂SO₄）：分析纯，用前经 650 °C 灼烧 4 h，置干燥器中备用。

4.2 溶液配制

4.2.1 乙腈-水溶液（1+1，含 0.05% 甲酸）：量取 500 mL 乙腈与 0.5 mL 甲酸于 1 L 容量瓶中，用水定容至 1 L，混匀。

4.2.2 正己烷-丙酮溶液（2+8）：取 20 mL 正己烷，加入 80 mL 丙酮，混匀。

4.3 标准品

4.3.1 二硝基苯胺类农药标准物质：参见附录 A 中表 A.1。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 二硝基苯胺类农药标准储备溶液：分别准确称取适量的二硝基苯胺类农药标准物质，用丙酮配制成浓度为 1000 mg/L 的标准储备溶液，标准溶液避光于 -18 °C 保存，保存期为 12 个月。

4.4.2 二硝基苯胺类农药混合中间标准溶液：吸取适量的各标准储备溶液，用甲醇稀释成氟乐灵浓度为 5.0 mg/L，其它 7 种药物浓度为 1.0 mg/L 的混合中间标准溶液，0 °C ~ 4 °C 避光保存，保存期为 3 个月。

4.4.3 基质混合标准工作溶液：吸取适量的混合中间标准溶液，用空白样品提取液配成氟乐灵浓度为 0 μg/L、50.0 μg/L、100 μg/L、250 μg/L、500 μg/L 和 1000 μg/L，其它 7 种农药浓度为 0 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L、50.0 μg/L、100 μg/L 和 200 μg/L 的基质混合标准工作溶液。当天配制。

4.5 材料

4.5.1 石墨化碳黑固相萃取柱：3 mL 250 mg，或相当者。用前 3 mL 正己烷-丙酮溶液活化，保持柱体湿润。

4.5.2 Oasis HLB¹，6mL，200mg，或相当者。使用前用 5 mL 乙腈活化，保持柱体湿润。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-质谱/质谱仪：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 粉碎机。

5.4 组织捣碎机。

5.5 涡旋混匀器。

5.6 固相萃取装置，带真空泵。

5.7 氮吹浓缩仪。

5.8 离心机：转速不低于 5 000 r/min。

6 试样制备与保存

6.1 试样制备

6.1.1 黄豆、茶叶和大米

取代表性样品约 500 g，（不可用水洗）切碎后，用捣碎机将样品加工成浆状，混匀。试样均分为二份，装入洁净容器，密封，并标明标记。

6.1.2 蔬菜、水果、鸡蛋、猪肉及鸡肝

取代表性样品约 500 g，（不可用水洗）切碎后，用捣碎机将样品加工成浆状，混匀。试样均分为二份，装入洁净容器，密封，并标明标记。

注：以上样品取样部位按 GB 2763 附录 A 执行。

6.2 试样保存

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。黄豆、茶叶和大米试样于常温下保存。蔬菜、水果、鸡蛋、猪肉及鸡肝试样于 -18 °C 以下冷冻存放。

7 分析步骤

7.1 提取

7.1.1 黄豆、大米、茶叶、鸡蛋、猪肉及鸡肝

对于茶叶、大豆、板栗、玉米样品，称取 2.5 g 试样（精确至 0.01 g）。对于菠菜、蘑菇、苹果、牛肉、牛肝、鸡肉、鱼肉、牛奶样品，称取 5 g 试样（精确至 0.01 g）。将称取的试样置于 50 mL 离心管中，加入 6 mL 饱和氯化钠水溶液，于涡旋混匀器上混匀 30 s，放置 15 min。加入 6 mL 丙酮-正己烷溶液，在混匀器上混匀 2 min。5 000 r/min 离心 1 min，吸取上层提取液于另一试管中。再分别加入 4 mL 丙酮-正己烷溶液重复提取两次，合并提取液，在 45 °C 下氮气流吹至约 1 mL 待净化。

7.1.2 蔬菜、水果

称取约 5g（精确至 0.01 g）样品于 50 mL 具塞离心管中，然后加入 2 g 氯化钠，再加入 15 mL 乙腈高速均质提取 3 min，于 5 000 r/min 离心 5 min，将乙腈层转移至 25 mL 容量瓶中。残渣再用 10 mL 乙腈重复提取一次，合并提取液，并用乙腈定容至 25 mL。

7.2 净化

7.2.1 黄豆、大米、猪肉

吸取全部浓缩提取液于 Supelclean C₁₈ 固相萃取柱中，以约 1.5 mL/min 的流速使样液全部通过固相萃取柱，再用 5 mL 乙腈淋洗并抽干固相萃取柱，收集全部流出液于 1.5 mL 离心管中，40 °C 以下用氮气吹至近干，残渣用乙腈+水溶液定容至 1.0 mL。旋涡混匀后，过微孔滤膜，供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

7.2.2 蔬菜、水果

精确吸取 5 mL 提取液 5.0 mL 于 15 mL 离心管中，40 °C 以下用氮气吹至近干，用 2.0 mL 正己烷-丙酮溶液溶解，转入 Envi-carb 固相萃取柱中，以约 1.5 mL/min 的流速使样液全部通过固相萃取柱，再

非商业性声明：此处列出色谱柱型号仅是为了提供参考，不涉及商业目的，鼓励标准使用者尝试采用不同厂家或规格的色谱柱。

用 3 mL 正己烷-丙酮溶液淋洗并抽干固相萃取柱，收集全部流出液于 15 mL 离心管中，40 °C 以下用氮气吹至近干，残渣用乙腈+水溶液定容至 1.0 mL。旋涡混匀后，过微孔滤膜供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

7.2.3 茶叶、鸡蛋及鸡肝

吸取茶叶、鸡蛋及鸡肝浓缩提取液于 Oasis HLB 固相萃取柱中，以约 1.5 mL/min 的流速使样液全部通过固相萃取柱，再用 5 mL 乙腈淋洗并抽干固相萃取柱，收集全部流出液于 15 mL 离心管中，40 °C 以下用氮气吹至近干，用 2.0 mL 正己烷-丙酮溶液溶解，转入 Envi-carb 固相萃取柱中，以约 1.5 mL/min 的流速使样液全部通过固相萃取柱，再用 3 mL 正己烷-丙酮溶液淋洗并抽干固相萃取柱，收集全部流出液于 15 mL 离心管中，40 °C 以下用氮气吹至近干，残渣用乙腈+水溶液定容至 1.0 mL。旋涡混匀后，过微孔滤膜，供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱：C₁₈ 色谱柱，50 mm×2.1 mm (i. d.)，1.7 μm，或相当者；
- 柱温：40 °C；
- 进样量：10 μL；
- 流动相、流速及梯度洗脱条件见表1。

表1 流动相、流速及梯度洗脱条件

时间 min	流速 mL/min	0.05% 甲酸-5mM 乙酸胺-水溶液 %	甲醇 %
0	0.30	50	50
5.0	0.30	20	80
8.0	0.30	0	100
9.5	0.30	50	50

7.3.2 质谱参考条件

- 离子化模式：电喷雾离子源；
 - 扫描方式：正离子扫描；
 - 检测方式：多反应监测 (MRM)；
 - 分辨率：单位分辨率；
- 其它参考质谱条件见附录B。

7.3.3 定性测定

每种被测组分选择1个母离子，2个以上子离子，在相同实验条件下，样品中待测物质的保留时间，与基质标准溶液的保留时间偏差在±2.5%之内；且样品中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的基质混合标准工作溶液中对应的定性离子的相对丰度进行比较，偏差不得超过表2规定的范围，则可判定为样品中存在对应的待测物。

表2 使用液相色谱-串联质谱法定性时相对离子丰度最大容许误差

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 %

7.3.4 定量测定

仪器最佳工作条件下，对基质混合标准工作溶液进样，以峰面积为纵坐标，基质混合标准工作溶液浓度为横坐标绘制标准工作曲线，用标准工作曲线对样品进行定量。样品溶液中待测物的响应值均应在测定方法的线性范围内，如果超出线性响应范围，应用空白基质溶液进行适当稀释。在上述液相色谱-质谱条件下，二硝基苯胺类农药的保留时间分别为：氯磺乐灵 (3.21 min)、甲磺乐灵 (3.41 min)、

氨氟灵（4.06 min）、氨氟乐灵（5.20 min）、二甲戊灵（5.36 min）、仲丁灵（5.70 min）、氟乐灵（5.70 min）和异丙乐灵（6.06 min）。标准品的液相色谱—质谱/质谱多反应监测色谱图见附录C中的图C.1。

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

用色谱数据处理机或按下式（1）计算试样中各二硝基苯胺类农药的含量：

$$X = \frac{A_i \times C_{si} \times V}{A_{si} \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——试样中各二硝基苯胺类农药的残留含量，单位为毫克每千克，mg/kg；

A_i ——样液中各二硝基苯胺类农药的峰面积；

V ——样液最终定容体积，单位为毫升，mL；

A_{si} ——标准工作液中各二硝基苯胺类农药的峰面积；

C_{si} ——标准工作液中各二硝基苯胺类农药的浓度，单位为微克每毫升， $\mu\text{g/mL}$ ；

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E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F的要求。

10 定量限和回收率

10.1 定量限

本方法二硝基苯胺类农药定量限均为 0.01 mg/kg。

10.2 回收率

当添加水平为0.05 mg/kg、0.1 mg/kg、0.2 mg/kg时，二硝基苯胺类农药的添加回收率参见附录D。

附录 A
(资料性附录)
二硝基苯胺类农药的相关信息

表 A.1 二硝基苯胺类农药的相关信息

化合物名称	英文名	Cas No.	分子式	分子量	分子结构
氟乐灵	Trifluralin	1582-09-8	$C_{13}H_{16}F_3N_3O_4$	335.28	
二甲戊灵	Pendimethalin	40487-42-1	$C_{13}H_{19}N_3O_4$	281.31	
仲丁灵	Butralin	33629-47-9	$C_{14}H_{21}N_3O_4$	295.33	
异丙乐灵	Isopropalin	33820-53-0	$C_{15}H_{23}N_3O_4$	309.36	
氨氟灵	Dinitramine	29091-05-2	$C_{11}H_{13}F_3N_4O_4$	322.24	
甲磺乐灵	Nitralin	4726-14-1	$C_{13}H_{19}N_3O_6S$	345.37	
氨磺乐灵	Oryzalin	19044-88-3	$C_{12}H_{18}N_4O_6S$	346.36	
氨氟乐灵	Prodiamine	29091-21-2	$C_{13}H_{17}F_3N_4O_4$	350.29	

附 录 B
(资料性附录)
质谱条件

- a) 电喷雾电压: 3000 V;
 b) 辅助气流速: 750 L/h;
 c) 碰撞气: 氩气;
 d) 幕帘气流速: 50 L/h;
 e) 离子源温度: 105子;
 f) 辅助气温度: 350辅;
 g) 定性离子对、定量离子对, 采集时间、锥孔电压及碰撞能量见表B. 1。

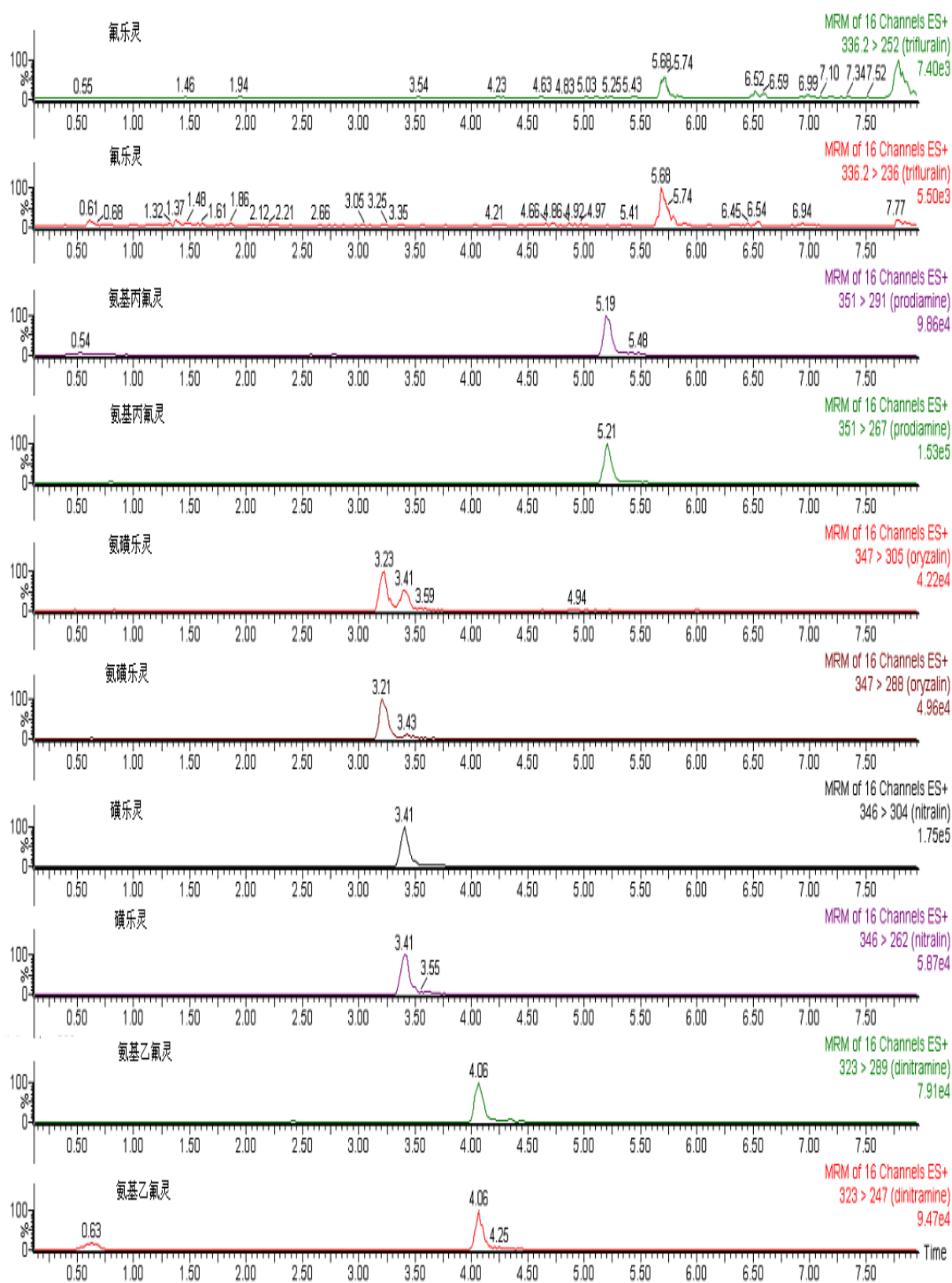
表 B.1 二硝基苯胺类农药标准物质的质谱参数

分析物	参考保留时间 min	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	采集时间 S	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
氟乐灵	5.70	336.2	236*	0.1	34	24
			252	0.1		23
二甲戊灵	5.36	282	212*	0.05	32	10
			194	0.05		17
仲丁灵	5.70	296	240*	0.05	20	13
			222	0.05		20
异丙乐灵	6.06	310	226*	0.05	32	19
			268	0.05		14
氨氟灵	4.06	323	289*	0.05	32	20
			247	0.05		16
甲磺乐灵	3.41	346	304*	0.05	32	16
			262	0.05		22
氨磺乐灵	3.21	347	288*	0.05	34	17
			305	0.05		14
氨氟乐灵	5.20	351	267*	0.05	30	20
			291	0.05		18

注: *为定量离子, 对于不同质谱仪器, 仪器参数可能存在差异, 测定前应将质谱参数优化到最佳。

非商业性声明: 标B.1中所列参考质谱条件是在Waters Quattro Premier型液质联用仪上完成的, 此处列出试验用仪器型号仅为提供参考, 并不涉及商业目的, 鼓励标准使用者尝试不同厂家或型号的仪器。

附 录 C
(资料性附录)
8种二硝基苯胺类农药标准品质谱图



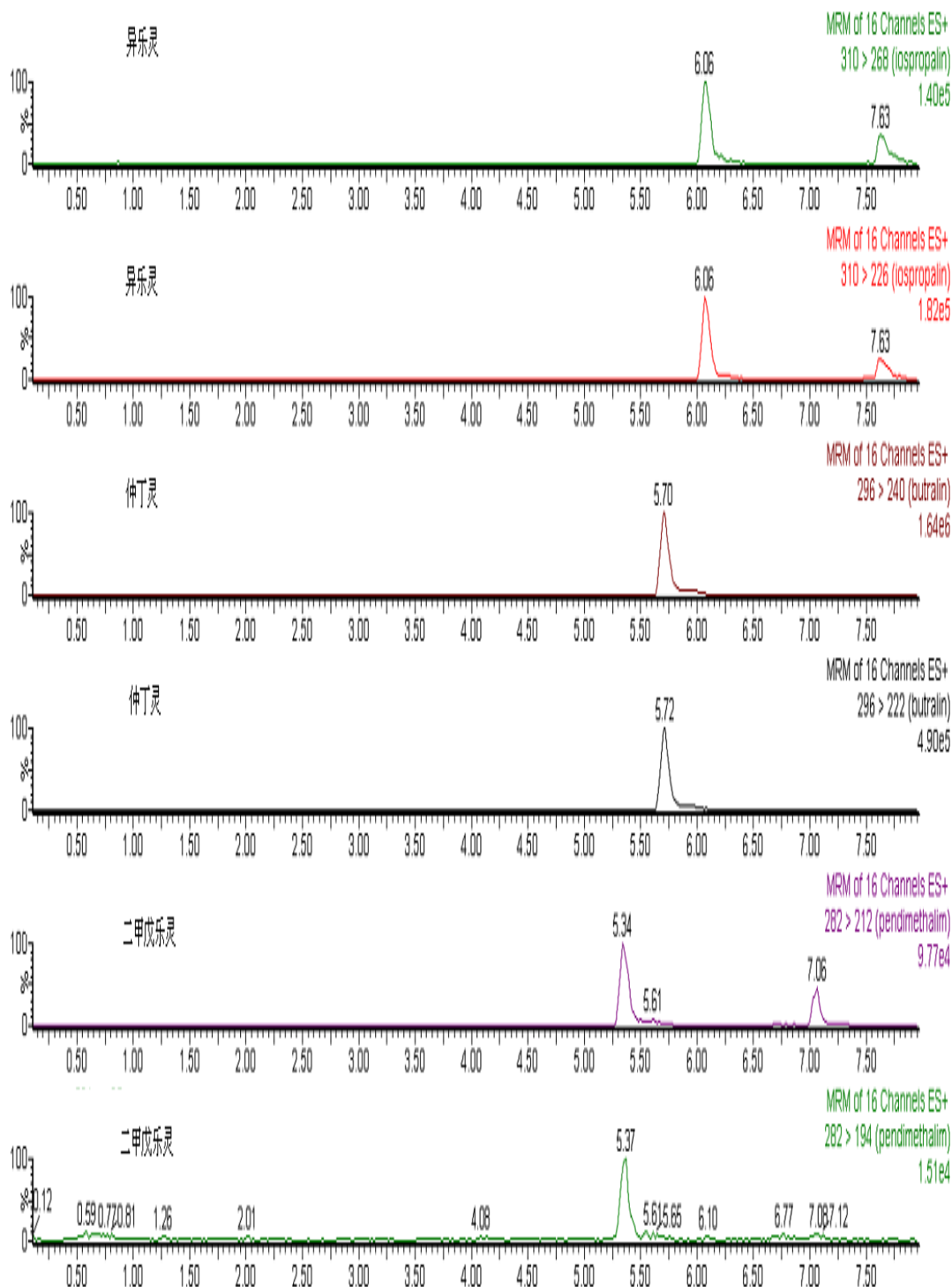


图 C.1 8种二硝基苯胺类农药标准品质谱图

附录 D
(资料性附录)
不同基质中二硝基苯胺类药物加标回收率情况

表 D.1 不同基质中二硝基苯胺类药物加标回收率情况

化合物名称	添加水平 μg/kg	大米回收率 范围 %	黄豆回收率 范围 %	苹果回收率 范围 %	西瓜回收 率 范围 %	节瓜回收 率 范围 %	生姜回收 率 范围 %	菠菜回收 率 范围 %	甘蓝回收 率 范围 %	茶叶回收 率 范围 %	鸡蛋回收 率 范围 %	猪肉回收 率 范围 %	鸡肝回收 率 范围 %
氟乐灵	50.0	74.7~98.8	103~116	74.9~115	93.3~120	79.8~98.6	87.3~111	72.6~82.4	72.5~78.4	75.8~99.6	100~112	71.2~75.5	73.1~79.1
	100	77.1~114	89.2~119	71.8~88.6	79.7~102	85.0~112	76.3~109	71.5~92.6	70.5~81.5	77.3~96.5	99.9~111	70.2~73.0	70.6~77.8
	200	76.0~115	70.8~122	75.1~98.9	76.4~103	72.4~97.4	70.2~81.1	70.5~86.0	71.5~76.8	77.5~84.0	74.0~85.5	71.5~77.3	74.6~80.5
二甲戊灵	10.0	88.0~118	79.0~95.0	95.1~121	70.6~73.7	74.6~118	86.2~116	79.0~95.0	89.4~98.2	71.0~79.0	89.0~96.0	73.5~87.3	85.3~96.9
	50.0	77.7~105	84.6~99.6	82.4~110	70.5~103	83.0~114	86.3~97.8	84.6~95.0	85.9~96.8	71.2~77.8	81.8~91.8	80.2~95.9	80.7~91.0
	200	85.0~119	73.5~96.0	89.1~118	73.8~82.0	76.0~94.2	83.9~101	73.5~96.0	91.2~96.9	85.5~89.0	74.5~82.5	84.5~98.5	70.4~78.8
氨磺乐灵	10.0	91.0~115	80.4~96.8	99.1~121	72.5~115	97.9~119	84.7~107	83.0~101	92.6~94.1	80.0~99.0	87.6~94.2	75.3~96.7	83.6~98.7
	50.0	79.0~115	91.0~117	91.4~108	83.7~100	95.1~116	79.1~104	84.4~109	91.7~98.4	74.2~79.4	78.3~83.3	82.9~96.4	83.7~97.8
	100	79.5~120	71.0~115	90.9~121	85.8~94.0	88.3~108	70.6~92.0	84.4~109	91.7~98.8	72.8~88.8	93.0~99.0	85.3~99.0	91.6~95.9
仲丁灵	10.0	91.0~118	70.7~98.0	103~113	70.6~76.2	95.6~120	91.5~98.7	75.0~98.0	91.9~95.7	71.0~78.0	81.0~94.0	70.6~91.5	77.2~95.6
	20.0	72.5~104	74.5~94.0	87.5~101	70.6~87.8	91.7~106	86.5~96.8	74.5~94.0	91.8~95.5	92.0~105	75.5~83.6	83.9~98.5	79.9~97.9
	50.0	81.4~119	74.8~89.8	85.8~116	70.8~72.8	87.6~99.8	79.6~88.3	74.8~89.8	91.8~94.1	98.0~101	84.0~95.0	86.9~97.9	87.5~98.4
异丙乐灵	10.0	86.0~119	76.0~83.0	96.6~122	70.0~75.1	96.1~122	71.7~81.2	76.0~83.0	91.5~98.5	70.0~81.0	81.5~94.0	70.6~90.2	76.2~93.2
	20.0	78.5~107	77.5~89.5	85.6~97.7	72.2~89.8	85.3~106	75.7~83.0	79.0~94.0	90.9~98.8	87.5~100	74.2~78.0	81.4~89.3	78.1~91.4
	50.0	70.8~120	73.0~89.0	76.8~104	70.9~79.9	71.3~95.1	70.5~75.0	71.0~89.0	91.2~95.7	86.1~95.7	74.2~78.0	82.6~90.5	83.1~91.6
氨氟灵	10.0	88.0~120	71.0~89.0	102~116	72.1~82.0	96.4~115	78.4~95.6	79.0~91.5	89.1~97.4	70.0~81.0	94.0~102	72.1~98.9	71.8~92.3

	20.0	76.5~119	82.1~104	90.5~111	70.5~91.8	97.0~118	78.4~90.8	79.0~91.4	91.3~99.0	87.5~100	83.5~92.5	89.9~98.8	84.8~96.7
	50.0	83.8~119	79.0~91.5	93.4~110	71.3~86.8	86.7~107	78.3~92.5	70.0~95.4	90.8~96.1	78.8~88.6	80.2~109	92.0~98.8	90.8~98.7
甲磺乐灵	10.0	91.0~112	70.0~95.4	95.3~120	76.9~118	98.1~125	88.9~111	74.4~94.0	91.9~97.2	86.0~99.0	100~109	74.2~92.5	77.8~97.7
	20.0	70.7~105	74.0~94.0	92.7~104	91.1~98.2	96.5~118	84.9~103	84.0~96.8	90.7~97.4	91.0~110	83.0~103	91.3~98.6	91.7~95.1
	50.0	83.2~115	84.0~97.5	94.2~112	83.4~96.6	97.7~118	81.4~92.4	83.0~96.8	91.2~93.6	82.5~91.5	88.0~95.0	92.1~97.3	91.7~97.6
氨氟乐灵	10.0	77.5~101	79.5~112	93.5~123	71.1~91.5	77.9~119	88.2~107	72.0~89.0	91.9~92.9	70.0~80.0	81.5~97.0	91.9~96.2	85.1~99.4
	20.0	75.5~114	71.0~99.5	82.2~106	71.9~84.7	95.5~106	87.9~106	71.0~99.5	90.8~92.6	91.5~96.5	81.2~83.6	82.9~96.4	80.1~98.1
	50.0	74.8~113	80.4~100	83.1~108	71.9~81.4	85.3~105	80.0~87.2	80.4~100	88.3~96.3	94.5~105	80.2~101	87.3~96.6	76.1~87.1

附 录 E
(规范性附录)
实验室内重复性要求

表 E.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 F
(规范性附录)
实验室间再现性要求

表 F.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