

中华人民共和国国家标准

GB 23200.104—2016

代替SN/T 1392—2004

食品安全国家标准
肉及肉制品中 2 甲 4 氯及 2 甲 4 氯丁酸残
留量的测定
液相色谱-质谱法

National food safety standards—

Determination of MCPA and MCPB residues in meat and meat products

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 1392-2015 《出口肉及肉制品中2甲4氯和2甲4氯丁酸残留量检测方法液相色谱/串联质谱法》。

本标准与SN/T 1392-2015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“出口肉及肉制品”改为“肉及肉制品”；
- 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 1392-2004；
- SN/T 1392-2015。

食品安全国家标准

肉及肉制品中 2 甲 4 氯及 2 甲 4 氯丁酸残留量的测定

液相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了出口肉及肉制品中 2 甲 4 氯和 2 甲 4 氯丁酸残留量检测的液相色谱-质谱测定方法。

本标准适用于出口冻分割牛肉、鱼肉、猪肉、鸡肉、牛肉罐头中 2 甲 4 氯和 2 甲 4 氯丁酸残留量的检测，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

在酸性条件下，用二氯甲烷提取试样中残留的 2 甲 4 氯、2 甲 4 氯丁酸，提取液经溶剂置换后采用液相色谱-质谱-质谱检测，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 二氯甲烷 (CH_2Cl_2)：色谱纯。

4.1.2 甲醇 (CH_3OH)：色谱纯。

4.1.3 甲酸 (HCOOH)：色谱纯。

4.1.4 浓硫酸 (H_2SO_4)：优级纯。

4.1.5 氯化钠：优级纯。

4.2 溶液配制

4.2.1 硫酸-水 (1+9, V/V)：取 100 mL 浓硫酸，加入 900 mL 水，摇匀备用。

4.2.2 0.1% 甲酸水溶液：取 1 mL 甲酸，以水定容至 1000 mL。

4.3 标准品

2 甲 4 氯丁酸标准品：纯度 $\geq 99\%$ ，CAS：94-82-6。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 0.1 mg/mL 标准品储备液：准确称取适量的 2 甲 4 氯、2 甲 4 氯丁酸标准品，用甲醇配制成浓度为 0.1 mg/mL 标准品储备溶液。保存于 4℃ 冰箱内。

4.4.2 混合标准工作液：使用相应基质溶液配制成适用浓度的标准工作溶液，保存于 4℃ 冰箱内。

5 仪器和设备

5.1 超高压液相色谱-串联质谱仪，配有电喷雾离子源 (ESI)。

5.2 高速均质器：不低于 12000 r/min。

5.3 离心机：不低于 4000 r/min。

5.4 分析天平：感量 0.01 g 和 0.0001 g。

5.5 氮吹仪。

5.6 涡旋混合器。

6 试样制备与保存

6.1 试样制备

取有代表性样品500g, 样品取样部位按GB 2763附录A执行, 采用粉碎机粉碎后, 再将其研磨成细粉状, 装入洁净的玻璃盛样容器内, 密封并标明标记。

6.2 试样保存

将试样于-18℃冷冻保存。

7 分析步骤

7.1 提取与净化

称取试样4g (精确到0.01g) 于50mL离心管中, 加3mL甲醇、1mL硫酸-水、2g氯化钠和20mL二氯甲烷。在高速均质器上均质提取2min, 离心, 取上清液于另一离心管中, 静置, 取下层二氯甲烷层10mL。重复提取一次, 合并两次提取液, 于40℃下氮吹近干, 用甲醇定容至2mL, 涡旋, 过膜, 供超高压液相色谱串联质谱测定。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱:C18, 1.8 μ m, 2.1 \times 50mm 或相当者;
- 0.1%甲酸水溶液+甲醇, 梯度洗脱见表1;
- 流速: 0.5 mL/min;
- 进样量: 5 μ L;
- 柱温: 室温;

表1 液相色谱梯度洗脱程序

时间 (min)	0.1%甲酸水溶液 (%)	甲醇 (%)
0.0	80	20
0.5	80	20
1.0	40	60
1.5	20	80
3.0	20	80
5.0	80	20

7.2.2 质谱参考条件

- 离子源: 电喷雾离子源
- 扫描方式: 负离子模式
- 检测方式: 多反应监测 MRM
- 分辨率: 单位质量分辨率
- 其他参考质谱条件参见 A.1

7.2.3 色谱测定与确证

按照确定的液相色谱-串联质谱条件测定样品和空白基质加标准工作溶液, 响应值均应在仪器检测的线性范围内, 以色谱峰面积外标法定量, 负离子模式扫描。在上述色谱条件下, 2甲4氯和2甲4氯丁酸的保留时间约为1.90 min和2.10 min。2甲4氯和2甲4氯丁酸标准溶液的选择离子流图参见附录B.1和附录B.2。

如果样液与标准工作溶液的选择性离子流色谱图中在相同保留时间有色谱峰出现, 可根据产生的两组离子对之间的丰度比, 对其进行确证。

在相同实验条件下, 试样中待测物质的保留时间与标准工作溶液中对应的保留时间偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内; 且试样谱图中各组分定性离子的相对丰度与标准工作溶液中定性离子的相对丰度其允许偏差不超过表2规定的范围时, 则可确定为样品中存在这种待测物。

使用气相色谱-质谱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 %	$\leq 10 %$
允许的相对偏差	\pm 许的相对	\pm 许的相对	\pm 许的相对	\pm 许的相对

7.3 空白试验

除不加试样外，均按上述测定条件和步骤进行。

8 结果计算和表述

用色谱数据处理系统或按式(1)计算试样中2甲4氯和2甲4氯丁酸残留含量，计算结果需扣除空白值。

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

式中：

X —— 试样中2甲4氯和2甲4氯丁酸残留量，单位为毫克每千克，mg/kg

A —— 样液中2甲4氯和2甲4氯丁酸的峰面积；

V —— 样品最终定容体积，单位为毫升，mL；

A_s —— 2甲4氯和2甲4氯丁酸标准工作液的峰面积；

C —— 2甲4氯和2甲4氯丁酸标准工作液的浓度，单位为微克每毫升， $\mu\text{g/mL}$ ；

m —— 最终样液代表的试样质量，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

本方法定量线为：0.01 mg/kg。

10.2 回收率

分别在牛肉、猪肉香肠、鱼肉、鸡肉和牛肉罐头样品中添加2甲4氯、2甲4氯丁酸，添加浓度及其回收率参见附录E。

附录A
(资料性附录)
质谱参数

- A. 液相色谱-质谱/质谱参数
- a) 气帘气压力 (CUR): 15 Psi (氮气);
 - b) 离子源喷雾电压 (IS): -4500V ;
 - c) 雾化温度 (TEM): 550 °C;
 - d) 雾化气压力 (GAS1): 55 Psi (氮气);
 - e) 加热辅助气 (GAS2): 80 Psi (氮气);
 - f) 碰撞气流速比 (CAD): 7;
 - g) 其他参数见表 A。

表 A MCPA 和 MCPB 选择离子和质谱参数

序号	化合物	参考保留时间	定性离子对	去簇电压(DP)/V	碰撞气能量(CE)/V
1	MCPA	1.90	198.7/140.8*	-42	-14
			200.9/142.9	-40	-19
2	MCPB	2.10	226.9/140.9*	-40	-11
			228.9/142.9	-35	-12
*为定量离子对					

1) 非商业性声明: A 中所列参数是在 API 4000 Plus 质谱/质谱仪上完成的, 此处列出的实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不同型号的仪器。

附录 B
(资料性附录)

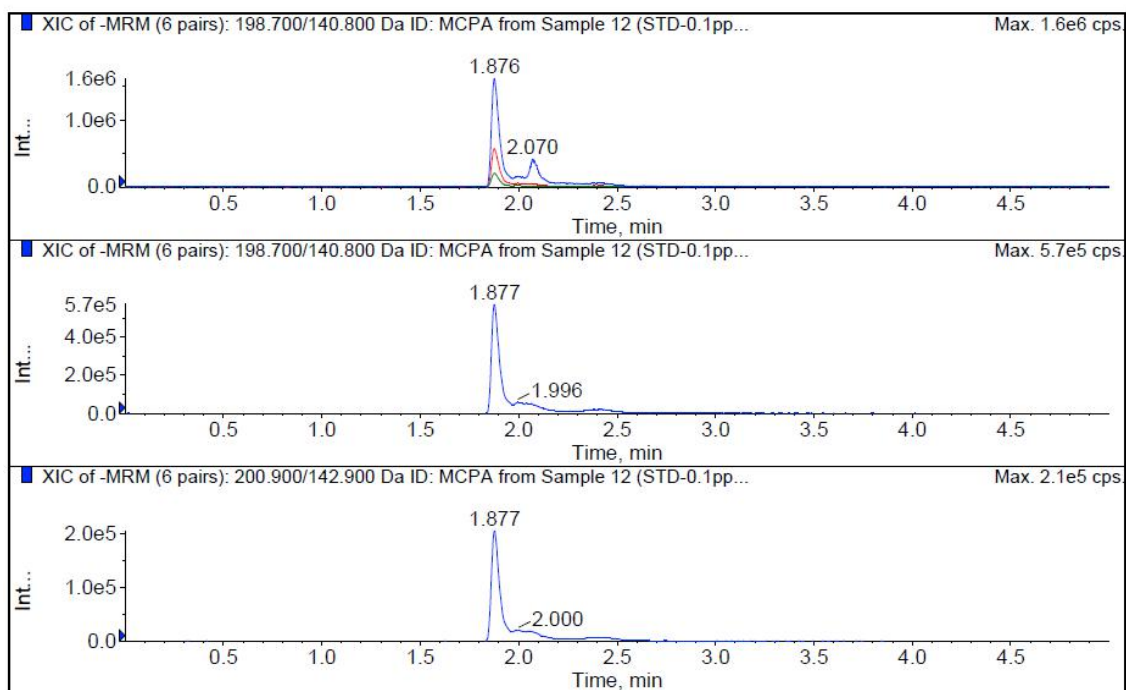


图 B.1 MCPA 标准品 LC-MS/MS MRM 图

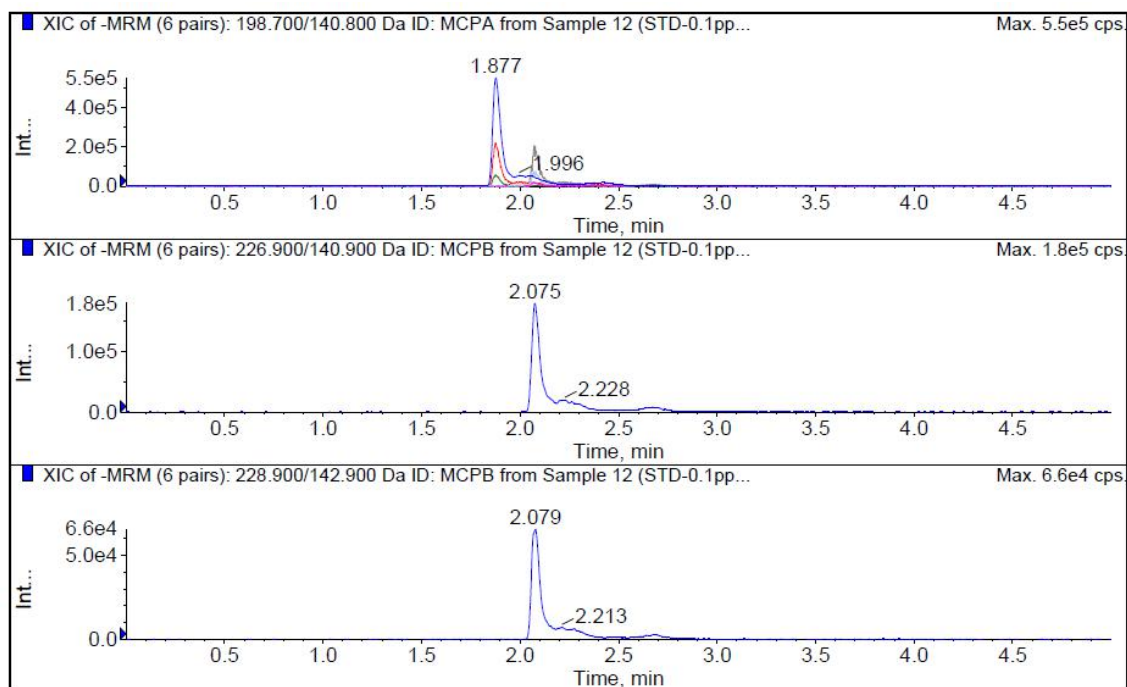


图 B.2 MCPB 标准品 LC-MS/MS MRM 图

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

附录E
(资料性附录)
不同基质中MCPA和MCPB添加浓度及回收率

表E.1不同基质中MCPA和MCPB添加浓度及回收率

平均回收率(%)	MCPA			MCPB		
	添加浓度 (mg/kg)			添加浓度 (mg/kg)		
	0.01	0.05	0.1	0.01	0.05	0.1
牛肉	91.5	101.7	93.8	87.5	100	105.2
猪肉香肠	107.6	98.2	102.4	77.1	78.9	95.6
鱼肉	94.8	84.3	82.4	93.3	82.7	82.3
鸡肉	94.8	97.0	99.5	90.7	95.5	95.9
牛肉罐头	91.0	89.6	93.9	95.5	99.9	98.0