

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 23200.74—2016

代替SN/T 2387—2009

**食品安全国家标准
食品中井冈霉素残留量的测定
液相色谱-质谱/质谱法**

National food safety standards—

Determination of validamycin 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 2387-2009《进出口食品中井冈霉素残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》。

本标准与SN/T 2387-2009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“进出口食品”改为“食品”；
- 标准名称中“液相色谱-质谱/质谱法”改为“液相色谱-串联质谱法”；
- 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 2387-2009。

食品安全国家标准

食品中井冈霉素残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本标准规定了食品中井冈霉素残留量的液相色谱-质谱/质谱检测方法。

本标准适用于大米、卷心菜、葱、胡萝卜、番茄、黄瓜、菠菜、木耳、梨、柠檬、杏仁、茶叶、猪肉、猪肝、罗非鱼、虾中井冈霉素残留的检测和确证，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

试样中的井冈霉素残留用甲醇水溶液提取，经HLB固相萃取柱或乙酸乙酯液液萃取净化，用液相色谱-质谱/质谱仪检测和确证，外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为液相色谱纯，水为符合GB/T 6682中规定的一级水。

4.1 试剂

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

4.1.2 甲醇（ CH_3OH ，CAS号：67-56-1）。

4.1.3 乙腈（ CH_3CN ，CAS号：75-05-8）。

4.1.4 乙酸乙酯（ $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ，CAS号：141-78-6）。

4.1.5 冰乙酸（ CH_3COOH ，CAS号：64-19-7）。

4.2 溶液配制

4.2.1 甲醇溶液（9+1）：量取90 mL甲醇加入10 mL水中，混匀。

4.2.2 5 mmol/L 乙酸铵缓冲溶液：称取0.385 g乙酸铵，用水溶解并定容至1 000 mL，以冰乙酸调节pH到4.5±0.1。

4.3 标准品

4.3.1 井冈霉素标准品（Validamycin A，分子式： $\text{C}_{20}\text{H}_{35}\text{NO}_{13}$ ，CAS：37248-47-8）：纯度≥91.0%。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 井冈霉素标准储备溶液：称取2 mg（精确到0.1 mg）井冈霉素的标准品，用水溶解并定容至25 mL棕色容量瓶中，配制成浓度为80 mg/L的标准储备溶液。

4.4.2 井冈霉素基质标准工作溶液：根据需要，用空白样品按照样品处理步骤得到的提取液，配制不同浓度的基质标准溶液，现用现配。

4.5 材料

4.5.1 HLB柱：6 mL/200 mg或相当者；使用前依次用6 mL甲醇和6 mL水活化。

4.5.2 滤膜：0.22 μm，双相。

5 仪器和设备

- 5.1 液相色谱-质谱/质谱仪：配大气压化学电离源（APCI）。
- 5.2 分析天平：感量 0.01 g 和 0.0001 g。
- 5.3 旋涡混合器。
- 5.4 均质器。
- 5.5 离心机：转速大于 3 000 r/min。
- 5.6 氮吹浓缩仪。
- 5.7 离心管：50 mL 聚四氟乙烯离心管和 50 mL 具塞玻璃离心管。
- 5.8 刻度试管：30 mL，最小刻度为 0.1 mL。
- 5.9 pH 计：感量 0.1。

6 样品制备与保存

6.1 制样要求

制样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。

6.2 茶叶及粮谷类

取代表性样品约 500 g，经磨碎机全部磨碎并通过 2.0 mm 圆孔筛，混匀，装入洁净容器内密封，标明标记，于 0 ℃~4 ℃ 冷藏存放。

6.3 蔬菜及水果类

取代表性样品约 500 g，切碎，经多功能食品搅拌机充分捣碎均匀，装入洁净容器内密封，标明标记，于 -18 ℃ 以下冷冻存放。

6.4 坚果

取代表性样品约 500 g，用磨碎机全部磨碎并通过 20 mm 圆孔筛，混匀，装入洁净容器内密封，标明标记，于 0 ℃~4 ℃ 冷藏存放。

6.5 动物肌肉、肝脏、鱼肉、虾

取代表性样品部分约 500 g，切碎，经多功能食品搅拌机充分捣碎均匀，装入洁净容器内密封，标明标记，于 -18 ℃ 以下冷冻存放。

注：以上样品取样部位按 GB 2763 附录 A 执行。

7 分析步骤

7.1 提取

7.1.1 大米、木耳、杏仁

称取 2.5 g 试样（精确至 0.01 g），置于 50 mL 聚四氟乙烯离心管中，加入 20 mL 甲醇溶液，用均质器高速匀浆提取 2 min，3 000 r/min 离心 5 min，收集上清液于一刻度试管中。离心后的残渣用 5 mL 甲醇溶液重复上述提取步骤 1 次，合并上清液，在 45 ℃ 水浴下吹氮浓缩至 2.5 mL 以下，待净化。

7.1.2 卷心菜、葱、胡萝卜、番茄、黄瓜、菠菜、梨、柠檬、猪肉、猪肝、鱼肉、虾

称取 2.5 g 试样（精确至 0.01 g），置于 50 mL 聚四氟乙烯离心管中，加入 20 mL 甲醇，用均质器高速匀浆提取 2 min，3 000 r/min 离心 5 min，收集上清液于一刻度试管中。离心后的残渣用 5 mL 甲醇溶液重复上述提取步骤 1 次，合并上清液，在 45 ℃ 水浴下吹氮浓缩至 2.5 mL 以下，待净化。

7.1.3 茶叶

称取 1 g 试样（精确到 0.01 g），加 1.5 mL 水，混匀，其余按 7.1.1 操作。

7.2 净化

7.2.1 固相萃取（SPE）净化

将7.1中所得提取溶液转入经过预处理的HLB固相萃取柱中，以约1滴/s流速使样品溶液通过固相萃取柱，用2 mL水淋洗柱子，收集全部流出液和淋洗液到一刻度试管，加水定容至5.00 mL，混匀，过0.22 μm滤膜，供测定。

7.2.2 液-液分配净化

将7.1中所得提取溶液用水定容至5.00 mL，混匀，转入50 mL具塞玻璃离心管中，加入5 mL乙酸乙酯，旋涡振荡3 min，3 000 r/min离心5 min，弃去上层乙酸乙酯相，再用5 mL乙酸乙酯重复操作一次。过0.22 μm滤膜，供液相色谱-串联质谱仪测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件

色谱柱：HILIC（250 mm×4.6 mm，粒径5 μm），或相当者。

流动相：乙腈+5 mmol/L乙酸铵缓冲溶液，梯度洗脱（见表1）。

流速：1 000 μL/min。

- a) 柱温：35 ℃。
- b) 进样量：10 μL。

表1 液相色谱的梯度洗脱条件

时间/min	5 mmol/L 乙酸铵缓冲溶液/%	乙腈/%
0.0	20	80
4.0	45	55
10.0	45	55
10.1	20	80
16.0	20	80

7.3.2 质谱参考条件

质谱条件参见附录A。

7.3.3 色谱测定与确证

在仪器最佳工作条件下，根据样液中被测化合物的含量情况，选定峰高相近的基质标准工作溶液，对基质标准工作溶液和样液等体积参差进样测定。以峰面积为纵坐标，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，基质标准工作溶液和样液中待测化合物的响应值均应在仪器测定的线性范围内。在上述仪器条件下，井冈霉素的参考保留时间约为8.10 min；井冈霉素标准品色谱图参见附录B中图B.1。

表2 在相同实验条件下，样液中待测物质的保留时间，与基质标准工作溶液的保留时间偏差在±2.5%之内；且样液中定性离子对的相对丰度与浓度接近的基质标准工作溶液进行比较，偏差不超过表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-质谱/质谱定性时相对离子丰度的最大允许偏差

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

7.4 空白试验

除不加试样外，均按上述测定步骤进行。

8 结果计算与表述

采用外标法定量，按式（1）计算试样中井冈霉素残留量，计算结果应扣除空白值。

$$X = \frac{c \times V}{m} \times \frac{1000}{1000} \quad \dots\dots (1)$$

式中：

X — 试样中井冈霉素残留量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

c — 从标准工作曲线得到的样液中被测组分浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g}/\text{L}$ ）；

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D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E的要求。

10 定量限和回收率

10.1 定量限

本方法井冈霉素的定量限为 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 回收率

当添加水平为 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $25 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时，不同基质中井冈霉素的添加回收率参见附录C。

附录 A
(资料性附录)
参考质谱条件

参考质谱条件:

- a) 离子化模式: 大气压化学电离正离子模式 (APCI+)。
- b) 质谱扫描方式: 多反应监测 (MRM)。
- c) 分辨率: 单位分辨率。
- d) 气帘气压力 (CUR): 207 kPa (氮气)。
- e) 电晕放电电流 (NC): 5.00 μ A。
- f) 雾化温度 (TEM): 600 $^{\circ}$ C。
- g) 雾化气压力: 138 kPa (氮气)。
- h) 碰撞气压力 (CAD): 34.5 kPa (氮气)。
- i) 其它质谱参数见表 A.1。

表A.1 主要参考质谱参数

化合物	离子对 (m/z)	驻留时间 ms	去簇电压 (DP) /V	入口电压 (EP) /V	碰撞能量 (CE) /eV	碰撞池出口电压 (CXP) /V
井冈霉素	498.3/336.3	100	75	3	31.74	12.08
	498.3/178.1 ^a	100	75	3	38.57	12.08
	498.3/142.2	100	75	3	48.77	12.08
注: 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。						
^a 离子对为定量离子对						

附录 B
(资料性附录)
标准品的多反应监测 (MRM) 色谱图

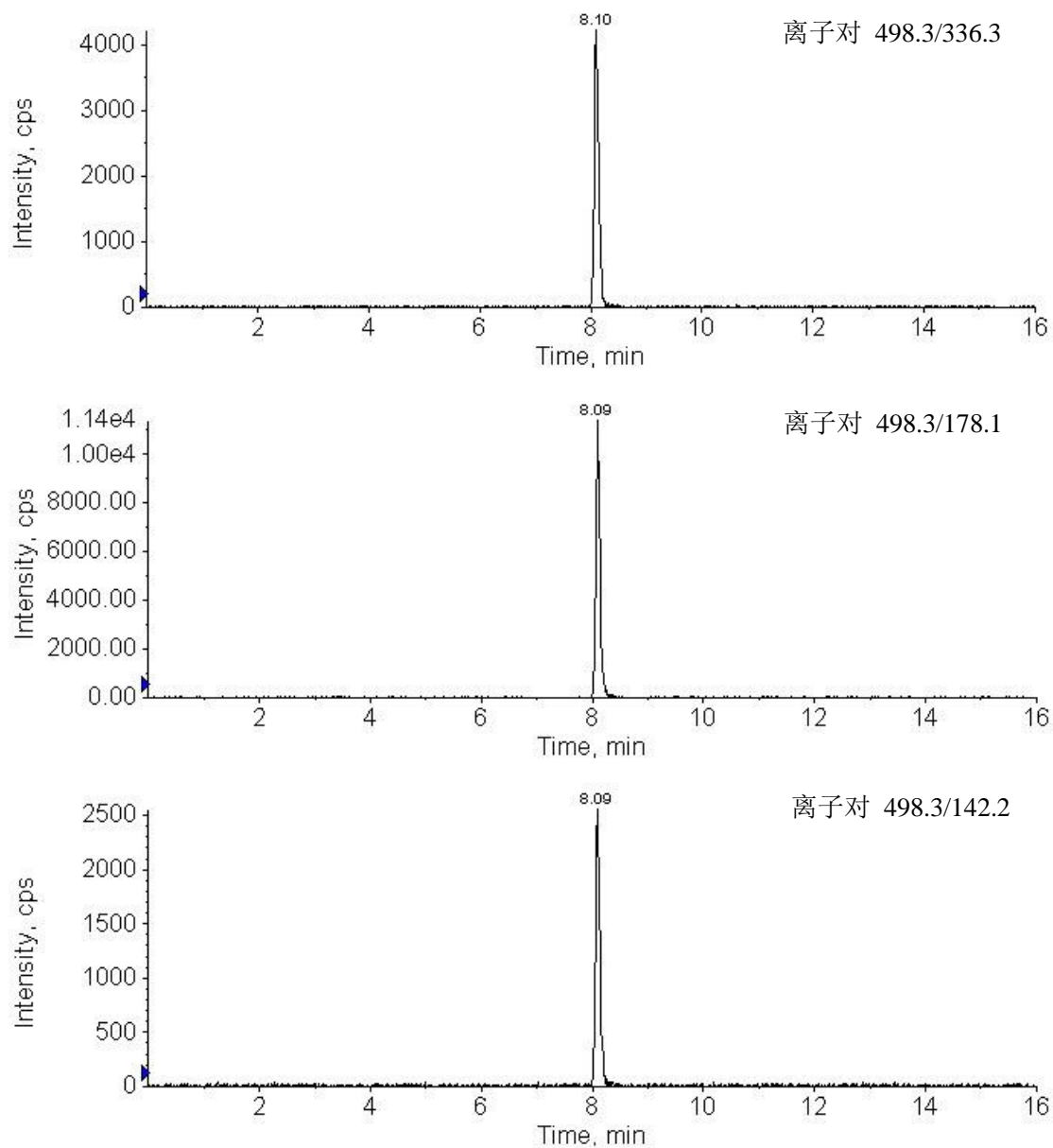


图 B.1 井冈霉素标准溶液的多反应监测 (MRM) 色谱图

附录 C
(资料性附录)
不同基质中井冈霉素的添加回收率

表 C.1 不同基质中井冈霉素的添加回收率

样品	添加浓度/ $\mu\text{g}/\text{kg}$	回收率范围/%	样品	添加浓度/ $\mu\text{g}/\text{kg}$	回收率范围/%
大米	10	87.2~101.8	梨	10	86.6~111.0
	25	92.8~101.6		25	87.2~108.8
	50	89.2~100.8		50	87.2~113.6
卷心菜	10	96.8~109.4	柠檬	10	86.2~111.6
	25	94.4~108.0		25	89.6~102.4
	50	96.0~108.0		50	87.6~106.8
葱	10	94.6~108.4	杏仁	10	90.6~105.4
	25	93.6~109.6		25	87.2~111.2
	50	93.6~108.0		50	99.6~113.2
胡萝卜	10	91.6~109.2	茶叶	10	86.0~107.8
	25	91.2~105.6		25	87.2~106.4
	50	91.2~108.4		50	86.8~104.0
番茄	10	91.6~107.2	猪肉	10	89.4~105.6
	25	91.2~111.2		25	87.2~108.0
	50	94.8~111.6		50	88.0~101.6
黄瓜	10	98.6~111.4	猪肝	10	90.0~106.4
	25	89.6~108.8		25	92.0~106.4
	50	95.2~111.6		50	87.2~106.4
菠菜	10	87.0~104.2	罗非鱼	10	88.8~107.2
	25	92.8~108.8		25	96.8~112.8
	50	89.6~108.0		50	88.4~113.2
木耳	10	92.8~107.2	虾	10	93.4~106.2
	25	92.8~109.6		25	93.6~113.6
	50	89.2~108.8		50	88.0~112.0

附 录 D
(规范性附录)
实验室内重复性要求

表 D.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 E
(规范性附录)
实验室间再现性要求

表 E.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
