

中华人民共和国国家标准

GB/T 22979—2008

牛奶和奶粉中啮酰菌胺残留量的测定 气相色谱-质谱法

Determination of boscalid residues in milk and milk powder—
GC-MS method

2008-12-31 发布

2009-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准的附录 A、附录 B 均为资料性附录。

本标准由中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局、中华人民共和国内蒙古出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：潘国卿、张春艳、白国涛、郑书展、刘来俊、李红、张伟、庞国芳。

牛奶和奶粉中啶酰菌胺残留量的测定

气相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了牛奶和奶粉中啶酰菌胺残留量的气相色谱-质谱测定方法。

本标准适用于牛奶和奶粉中啶酰菌胺残留量的测定。

本标准方法检出限：牛奶为 0.010 mg/kg；奶粉为 0.080 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 6379.1 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第 1 部分：总则与定义（GB/T 6379.1—2004，ISO 5725-1:1994，IDT）

GB/T 6379.2 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第 2 部分：确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法（GB/T 6379.2—2004，ISO 5725-2:1994，IDT）

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法（GB/T 6682—2008，ISO 3696:1987，MOD）

3 原理

试样中的啶酰菌胺用乙腈提取，提取液经盐析、离心、浓缩和溶剂交换后，经凝胶渗透色谱净化，用气相色谱-质谱仪测定，外标法定量。

4 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 乙腈：色谱纯。

4.2 乙酸乙酯：色谱纯。

4.3 环己烷：色谱纯。

4.4 无水硫酸钠：650 °C 灼烧 4 h，在干燥器内冷却至室温，贮于密封瓶中备用。

4.5 氯化钠。

4.6 乙酸乙酯-环己烷溶液：将乙酸乙酯（4.2）与环己烷（4.3）按照 1:1 体积比进行混合。

4.7 啶酰菌胺标准品：纯度大于 98%。

4.8 啶酰菌胺标准储备溶液：准确称取一定量的啶酰菌胺标准品，用乙酸乙酯-环己烷溶液（4.6）配成 0.10 mg/mL 的标准储备溶液，于 4 °C 避光保存。

4.9 啶酰菌胺标准工作溶液：根据需要吸取适量的啶酰菌胺标准储备溶液，用乙酸乙酯-环己烷溶液（4.6）逐级稀释成适当浓度的标准工作溶液，于 4 °C 避光保存。

4.10 啶酰菌胺基质标准工作溶液：根据需要吸取适量的啶酰菌胺标准工作溶液，用阴性样品提取液配制成浓度范围在 0.010 μg/mL~0.50 μg/mL 的系列基质标准工作溶液，该溶液应现用现配。

4.11 滤膜：0.2 μm。

5 仪器和设备

- 5.1 气相色谱-质谱仪:配有电子轰击源(EI)。
- 5.2 凝胶渗透色谱仪:配有凝胶渗透色谱柱。
- 5.3 分析天平:感量 0.1 mg 和 0.01 g。
- 5.4 均质器。
- 5.5 旋转蒸发器。
- 5.6 超声波清洗器。
- 5.7 离心机:转速不小于 10 000 r/min。
- 5.8 鸡心瓶:200 mL。
- 5.9 分液漏斗:250 mL。

6 试样制备与保存

6.1 试样的制备

6.1.1 牛奶:取有代表性试样约 500 g,搅拌均匀后装入洁净容器内密封并做好标识。

6.1.2 奶粉:取有代表性试样约 500 g,搅拌均匀后装入洁净容器内密封并做好标识。准确称取 12 g 乳粉试样(精确到 0.01 g)于 250 mL 烧杯中,少量多次加入 50 mL 煮沸并冷却到 60 °C 左右的水溶解,冷却至室温后,移入 100 mL 容量瓶中,用少量水分次淋洗烧杯,淋洗液一并移入容量瓶,再用水定容到刻度,混匀,制备成奶粉复原乳试样。

6.2 试样的保存

将试样于 4 °C 保存。

7 测定步骤

7.1 提取

准确称取 10 g 牛奶试样(精确到 0.01 g)或量取 10.00 mL 奶粉复原乳试样(6.1.2)于 100 mL 离心管中,加入 50 mL 乙腈(4.1),用均质器以 15 000 r/min 提取 2 min,用离心机以 3 000 r/min 离心 5 min,上清液转入 250 mL 分液漏斗中,残渣中再加入 30 mL 乙腈(4.1),以 15 000 r/min 提取 2 min,以 3 000 r/min 离心 5 min,合并上清液于上述分液漏斗中,加入 3 g 氯化钠(4.5),剧烈振荡 3 min,静置分层后,除去分离的水层,乙腈层溶液通过装有 10 g 无水硫酸钠(4.4)的漏斗过滤到 200 mL 鸡心瓶中,用适量乙腈(4.1)淋洗无水硫酸钠及漏斗,收集全部滤液,在低于 40 °C 条件下旋转蒸发除去溶剂至干,残留物中加入约 3 mL 乙酸乙酯-环己烷溶液(4.6)溶解后,超声波提取 1 min,提取液转入 10 mL 容量瓶中,重复操作三次,合并提取液,用乙酸乙酯-环己烷溶液(4.6)定容至刻度,摇匀。

7.2 凝胶渗透色谱净化

7.2.1 条件

凝胶渗透色谱条件如下:

- a) 凝胶渗透色谱柱:300 mm×10 mm,内装 Bio Beads S-X3 填料或者相当者;
- b) 检测波长:254 nm;
- c) 流动相:乙酸乙酯-环己烷溶液(4.6);
- d) 流速:5 mL/min;
- e) 进样量:5 mL;
- f) 开始收集时间:8.5 min;
- g) 结束收集时间:20 min。

7.2.2 净化

将上述提取液以 3 000 r/min 离心 5 min, 上清液过 0.45 μm 有机相滤膜(4.11), 取 5.00 mL 提取液注入凝胶渗透色谱仪的色谱柱中, 以乙酸乙酯-环己烷溶液(4.6)洗脱, 收集 8.5 min~20 min 的流出液, 在低于 40 $^{\circ}\text{C}$ 条件下浓缩至近干, 用乙酸乙酯-环己烷溶液(4.6)定容到 1.00 mL, 供气相色谱-质谱测定。

7.3 阴性样品提取液的制备

取不含脎酰菌胺的阴性牛奶或者奶粉样品, 按 7.1 和 7.2 步骤制备阴性样品提取液, 用于配制脎酰菌胺基质标准工作溶液。

7.4 气相色谱-质谱测定

7.4.1 仪器条件

气相色谱-质谱条件如下:

- a) 色谱柱: HP-5MS 石英毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm)或相当者;
- b) 色谱柱温度程序: 100 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1 min, 然后以 30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 280 $^{\circ}\text{C}$, 保持 8 min;
- c) 载气: 氦气, 纯度 \geq 99.999%;
- d) 载气流速: 1.0 mL/min;
- e) 进样口温度: 290 $^{\circ}\text{C}$;
- f) 进样量: 1 μL ;
- g) 进样方式: 不分流进样, 1.5 min 后打开分流阀和隔垫吹扫阀;
- h) 电子轰击源: 70 eV;
- i) 离子源温度: 230 $^{\circ}\text{C}$;
- j) GC-MS 接口温度: 280 $^{\circ}\text{C}$;
- k) 驻留时间: 100 ms;
- l) 选择离子监测: 定量离子为 140, 定性离子为 142、342。定量离子与定性离子的相对丰度比值, 见表 1。

表 1 定量离子与定性离子的相对丰度比值

| 项目 | 定量离子 | 定性离子 | 定性离子 |
|-----------------|------|------|------|
| 特征碎片离子(m/z) | 140 | 342 | 142 |
| 相对丰度 | 100 | 35 | 32 |

7.4.2 定性测定

在相同的实验条件下进行样品测定时, 如果样品中待测物质的色谱峰保留时间与标准品色谱峰保留时间相差在 $\pm 2.5\%$ 以内, 并且在扣除背景后的样品质谱图中, 所选择的离子均出现, 且样品谱图中定性离子的相对丰度与浓度接近的基质标准校准溶液谱图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该种待测物。

表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差 %

| 相对离子丰度 K | $K > 50$ | $20 < K < 50$ | $10 < K < 20$ | $K \leq 10$ |
|------------|----------|---------------|---------------|-------------|
| 允许最大偏差 | ± 20 | ± 25 | ± 30 | ± 50 |

7.4.3 定量测定

在仪器最佳工作条件下, 对脎酰菌胺基质标准工作溶液(4.11)进行色谱分析, 以峰面积为纵坐标, 基质标准工作溶液浓度为横坐标绘制, 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脎酰菌胺的响应值均应在仪器测定的线性范围内。在上述色谱和质谱条件下, 脎酰菌胺的参考保留时间为 11.2 min, 脎酰菌胺标准溶液的选择性离子色谱图和气相色谱-质谱图参见附录 A 中的图 A.1、图 A.2。

本方法的添加回收率数据参见附录 B 中的表 B.1。

7.5 平行试验

按上述步骤,对同一试样进行平行试验测定。

7.6 空白试验

除不称取试样外,均按上述分析步骤进行。

8 结果计算

样品中啶酰菌胺残留量的测定按式(1)计算:

$$X = c \times \frac{V}{m} \times \frac{1\ 000}{1\ 000} \times F \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X——试样中被测组分残留量,单位为毫克每千克(mg/ kg);
- c——从标准工作曲线上得到的被测组分溶液浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);
- V——样品溶液定容体积,单位为毫升(mL);
- m——样品溶液所代表试样的质量,单位为克(g);
- F——换算系数,牛奶 F=1,奶粉 F=10。

计算结果应扣除空白值。

9 精密度

9.1 一般规定

本标准的精密度数据是按照 GB/T 6379.1 和 GB/T 6379.2 的规定确定的,其重复性和再现性的值是以 95%的可信度来计算。

9.2 重复性

在重复性试验条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过重复性限(r),试样中啶酰菌胺含量范围在 0.010 mg/kg~0.050 mg/kg 之间时,重复性方程为:牛奶为 $\lg r=0.989\ 0\ \lg m-0.820\ 4$,奶粉为 $\lg r=1.020\ 0\ \lg m-0.845\ 4$ 。

如果两次测定值的差值超过重复性限(r),应舍弃试验结果并重新完成两次单个试验的测定。

9.3 再现性

在再现性试验条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过再现性限(R),试样中啶酰菌胺含量范围在 0.010 mg/kg~0.050 mg/kg 之间时,再现性方程为:牛奶为 $\lg R=0.976\ 0\ \lg m-0.796\ 1$,奶粉为 $\lg R=1.108\ 9\ \lg m-0.613\ 9$ 。

注:m 为两次测定结果的算术平均值。

附录 A
(资料性附录)

吡啶菌胺标准溶液的选择离子色谱图及质谱图

吡啶菌胺标准溶液的选择离子色谱图及质谱图,见图 A.1、图 A.2。

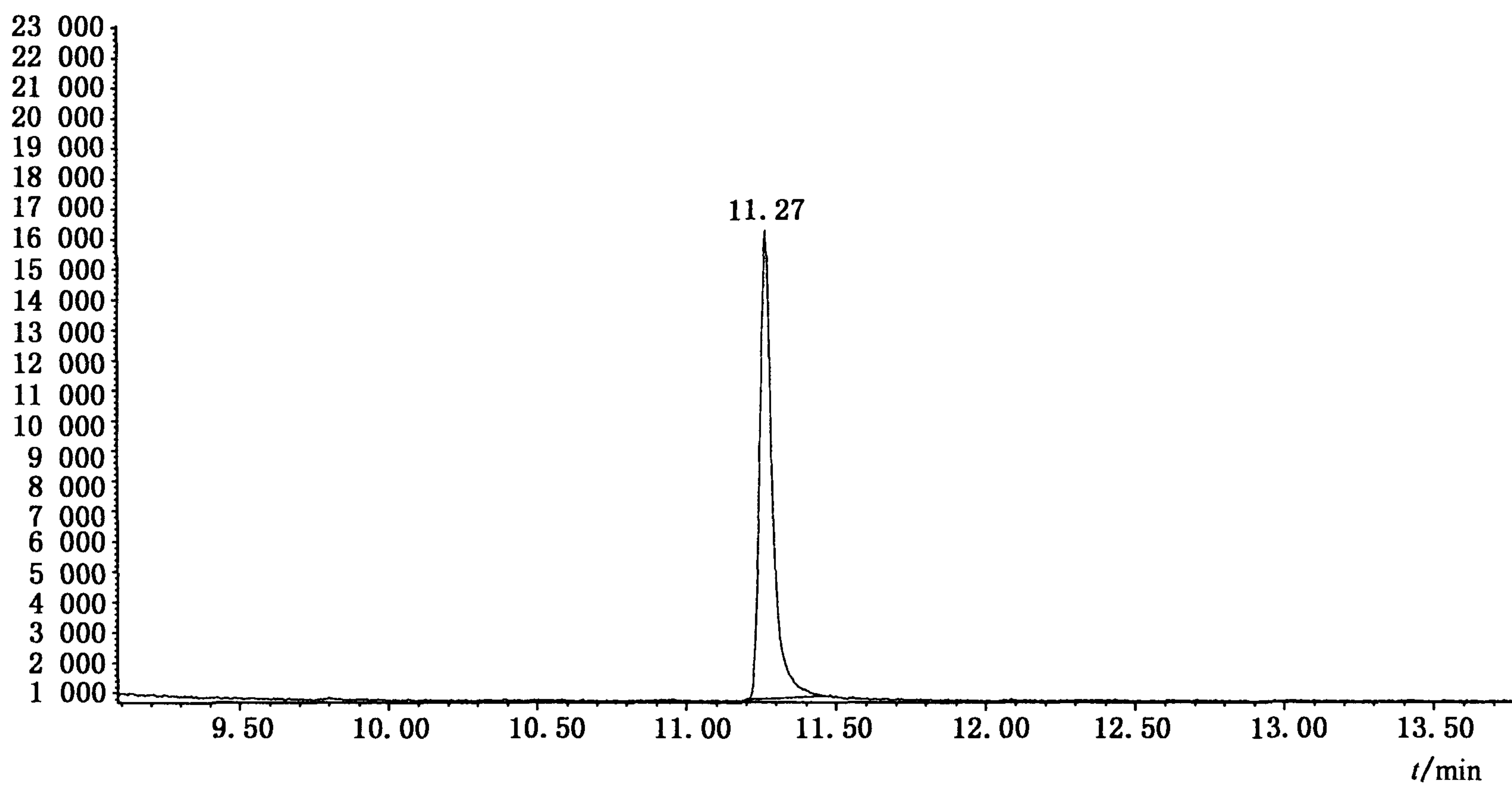


图 A.1 吡啶菌胺标准溶液的选择离子色谱图

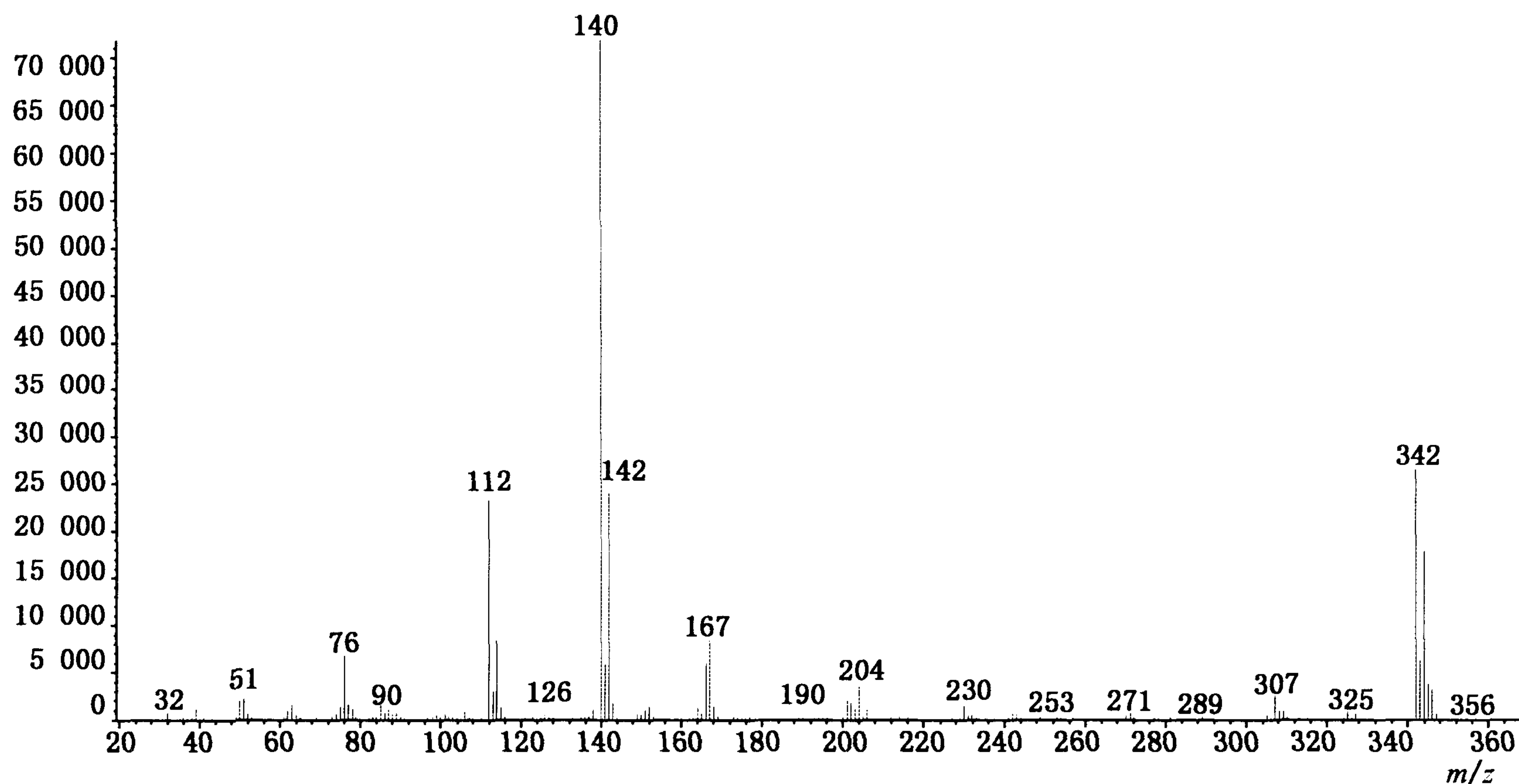


图 A.2 吡啶菌胺标准溶液的气相色谱-质谱图

附 录 B
(资料性附录)
回 收 率

脞酰菌胺添加浓度及其平均回收率的试验数据,见表 B.1。

表 B.1 脞酰菌胺添加浓度及其平均回收率的试验数据

| 样品基质 | 添加浓度/(mg/kg) | 平均回收率/% |
|-------|--------------|---------|
| 牛奶 | 0.010 | 89.0 |
| | 0.020 | 89.6 |
| | 0.050 | 90.7 |
| 奶粉复原乳 | 0.010 | 88.9 |
| | 0.020 | 88.6 |
| | 0.050 | 89.1 |