

附件3

中华人民共和国国家卫生健康委员会

中华人民共和国农业农村部

国家市场监督管理总局

**食品安全国家标准**

**植物源性食品中敌螨普异构体**

**和6种敌螨普酚残留量的测定**

**液相色谱-质谱联用法**

National food safety standard—

Determination of dinocap isomers and 6 dinocap phenols

residues in foods of plantorigin—

Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method

(征求意见稿)

**发布**

202X-XX-XX实施

202X-XX-XX-发布

中华人民共和国国家标准

 GB/T XXXXX—202X

前 言

本文件按照GB/T1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规则起草。

本文件系首次发布。

食品安全国家标准

植物源性食品中敌螨普和6种敌螨普酚留量的测定

液相色谱-质谱联用法

**1 范围**

本文件规定了植物源性食品中敌螨普和6种敌螨普酚残留量的液相色谱-质谱联用测定方法。

本文件适用于植物源性食品中敌螨普和6种敌螨普酚残留量的测定。

**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。凡是注日期的应用文件，仅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**

试样用乙腈提取，提取液经分散固相萃取净化，液相色谱-质谱联用仪检测，外标法定量。

**4试剂和材料**

除非另有说明，在方法中仅使用分析纯的试剂，水为GB/T 6682规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1乙腈（CH3CN，CAS号：75-05-8）。

4.1.2 乙腈（CH3CN，CAS号：75-05-8）：色谱纯。

4.1.3甲醇（CH3OH，CAS号：67-56-1）：色谱纯。

4.1.4氯化钠（NaCl，CAS号：7647-14-5）。

4.1.5乙酸钠三水合物（CH3COONa·3H2O，CAS号：6131-90-4）。

4.1.6乙酸（CH3COOH，CAS号：64-19-7）。

4.1.7无水硫酸镁（MgSO4，CAS号：7487-88-9）。

4.1.8柠檬酸钠二水合物（C6H5 Na3O7·2H2O，CAS号：6132-04-3）。

4.1.9柠檬酸二钠盐倍半水合物（C6H6Na2O7·1.5H2O，CAS号：6132-05-4）。

4.1.10甲酸（HCOOH，CAS号：64-18-6）：色谱纯。

4.1.11甲酸铵（HCOONH4，CAS号：540-69-2）。

4.2 溶液配制

4.2.1乙腈-乙酸溶液（99+1，体积比）：量取10 mL乙酸（4.1.6）加入990 mL乙腈（4.1.2）中，混匀。

4.2.2 0.01 %甲酸水溶液：吸取0.1 mL甲酸（4.1.10），用水溶解并稀释至1 000 mL，摇匀。

4.2.3 0.01 %甲酸甲醇溶液：吸取0.1 mL甲酸（4.1.10），用甲醇（4.1.3）溶解并稀释至1 000 mL，摇匀。

4.2.4甲酸铵-甲酸水溶液（2 mmol/L）：称取0.1261 g甲酸铵（4.1.11），用0.01 %甲酸水溶液（4.2.2）溶解并稀释至1 000 mL，摇匀。

4.2.5 甲酸铵-甲酸甲醇溶液（2 mmol/L）：称取0.1261 g甲酸铵（4.1.11），用0.01 %甲酸甲醇溶液（4.2.3）溶解并稀释至1 000 mL，摇匀。

4.3 标准品

4.3.1敌螨普（包含6种异构体）（C18H24N2O6，CAS号：39300-45-3）：纯度≥98%。

4.3.2 6种敌螨普酚（C14H20N2O5）：纯度≥98.5%，CAS号参见附录A。

4.4 标准溶液配制

4.4.1敌螨普标准储备溶液（1000 mg/L）：准确称取10 mg（精确至0.1 mg）敌螨普标准品（4.3.1），用甲醇（4.1.3）或乙腈（4.1.2）溶解并分别定容至10 mL，避光-18 ℃及以下条件保存，有效期1年。

4.4.2 6种敌螨普酚标准储备溶液（6000 mg/L）：分别准确称取6种敌螨普代谢物标准品（4.3.2）各10 mg（精确至0.1 mg），分别用甲醇（4.1.3）或乙腈（4.1.2）溶解并分别定容至10 mL，分别得到 6种敌螨普酚标准储备溶液，避光-18 ℃及以下条件保存，有效期1年。

4.4.3 6种敌螨普酚混合标准溶液（10 mg/L）：吸取一定量的6种敌螨普酚混合标准储备溶液（4.4.2）于容量瓶中，用乙腈（4.1.2）定容至刻度，避光-18 ℃及以下条件保存，有效期6个月。

4.4.4 敌螨普标准溶液（10 mg/L）：准确吸取一定量的混合标准储备溶液（4.4.1）于容量瓶中，用乙腈（4.1.2）定容至刻度，避光-18 ℃及以下条件保存，有效期6个月。

4.5 材料

4.5.1乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶（PSA）：粒径40 μm～60 μm。

4.5.2十八烷基硅烷键合硅胶（C18）：粒径40 μm～60 μm。

4.5.3石墨化炭黑（GCB）：粒径40 μm～120 μm。

4.5.4微孔滤膜（有机相）：13 mm×0.22 μm，或相当者。

**5 仪器**

5.1液相色谱-三重四极杆质谱联用仪：配有电喷雾离子源（ESI）。

5.2分析天平：感量0.01 mg和0.01 g。

5.3离心机：转速不低于5 000r/min。

5.4组织捣碎机。

5.5涡旋混合器。

**6 试样制备**

6.1 试样制备

样品测定部位按照GB 2763-2021附录A的规定执行。

食用菌、热带和亚热带水果（皮可食）随机取样1 kg，水生蔬菜、茎菜类蔬菜、豆类蔬菜、核果类水果、热带和亚热带水果（皮不可食）随机取样2 kg，瓜类蔬菜和水果取4~6个个体（取样量不少于1 kg），其他蔬菜和水果随机取样3 kg。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后处理；取后的样品将其切碎，充分混匀，用四分法取一部分或全部用组织捣碎机匀浆后，放入聚乙烯瓶中。

干制蔬菜、水果和食用菌随机取样500 g，粉碎后充分混匀，放入聚乙烯瓶或袋中。

谷类随机取样500 g，粉碎后使其全部可通过425 μm的标准网筛，放入聚乙烯瓶或袋中。

油料、茶叶、坚果和香辛料随机取样500 g，粉碎后充分混匀，放入聚乙烯瓶或袋中。

植物油类搅拌均匀，随机取样500 mL放入聚乙烯瓶中。

6.2 试样贮存

将试样按照测试和备用分别存放。于-18 ℃及以下条件保存。

**7 分析步骤**

7.1 蔬菜、水果、食用菌和糖料

称取10 g试样（精确至0.01 g）于50 mL塑料离心管中，加入10 mL乙腈（4.1.1），剧烈震荡1 min，加入4 g无水硫酸镁、1 g氯化钠、1 g柠檬酸钠二水合物、0.5 g柠檬酸二钠盐倍半水合物，剧烈震荡1 min后4 200 r/min离心5 min。定量吸取上清液至内含除水剂和净化材料的塑料离心管中（每毫升提取液使用150 mg无水硫酸镁、25 mg PSA）；对于颜色较深的试样，离心管中另加入GCB（每毫升提取液使用2.5 mg），涡旋混匀1 min。4 200 r/min离心3 min，吸取上清液过微孔滤膜（4.5.4），待测定。

注：对于干制蔬菜、水果和食用菌，称取1 g试样（精确至0.01 g）于50 mL塑料离心管中，加9 mL水涡旋混匀，静置30 min后按上述方式处理。

7.2谷物、油料和坚果

称取5 g试样（精确至0.01 g）于50 mL塑料离心管中，加10 mL水涡旋混匀，静置30 min。加入15 mL 乙腈-乙酸溶液（4.2.1），剧烈震荡1 min，加入6 g无水硫酸镁、1.5 g乙酸钠三水合物，剧烈震荡1 min后4 200 r/min离心5 min。定量吸取上清液至内含除水剂和净化材料的塑料离心管中（每毫升提取液使用150 mg无水硫酸镁、50 mg C18和50 mg PSA），涡旋混匀1 min。4 200 r/min离心3 min，吸取上清液过微孔滤膜（4.5.4），待测定。

7.3 茶叶和香辛料

称取2 g试样（精确至0.01 g）于50 mL塑料离心管中，加10 mL水涡旋混匀，静置30 min。加入15 mL 乙腈-乙酸溶液（4.2.1），剧烈震荡1 min，加入6 g无水硫酸镁、1.5 g乙酸钠三水合物，剧烈震荡1 min后4 200 r/min离心5 min。定量吸取上清液至内含除水剂和净化材料的塑料离心管中（每毫升提取液使用150 mg无水硫酸镁、50 mg C18、50 mg PSA和25 mg GCB），涡旋混匀1 min。4 200 r/min离心3 min，吸取上清液过微孔滤膜（4.5.4），待测定。

7.4 植物油

称取2 g试样（精确至0.01 g）于50 mL塑料离心管中，加入5 mL水。加入10 mL 乙腈（4.1.1），剧烈震荡1 min，加入4 g无水硫酸镁、1 g氯化钠、1 g柠檬酸钠二水合物、0.5 g柠檬酸二钠盐倍半水合物，剧烈震荡1 min后4 200 r/min离心5 min。定量吸取上清液至内含除水剂和净化材料的塑料离心管中（每毫升提取液使用150 mg无水硫酸镁、50 mg C18和50 mg PSA），涡旋混匀1 min。4 200 r/min离心3 min，吸取上清液过微孔滤膜（4.5.4），待测定。

7.5测定

* + 1. 液相色谱参考条件

a）色谱柱：C18，2.1mm（内径） × 100 mm，1.8 µm，或相当者；

b）流动相：A相为甲酸铵-甲酸甲醇溶液（4.2.5），B相为甲酸铵-甲酸水溶液（4.2.4）。流动相梯度条件见表1；

c）流速：0.2 mL/min;

d）柱温：40 ℃;

e）进样量：2 µL。

表1 流动相及其梯度条件（*V*A+*V*B）

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 时间min | A（*V*A） | B（*V*B） |
| 0 | 3 | 97 |
| 1 | 3 | 97 |
| 1.5 | 15 | 85 |
| 7.5 | 70 | 30 |
| 15 | 98 | 2 |
| 18 | 98 | 2 |
| 18.1 | 3 | 97 |
| 23 | 3 | 97 |

* + 1. 质谱参考条件

a）离子源类型：电喷雾离子源；

b）扫描方式：负离子扫描；

c）离子喷雾电压：3 000 V；

d）离子源温度：300 ℃；

e）雾化气流速：3.0 L/min；

f）干燥气流速：10.0 L/min；

g）加热气流速：10.0 L/min；

h）加热模块温度：400 ℃；

i）检测方式：多反应监测（MRM），多反应监测条件见表2。

表2 多反应监测条件表

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 农药中文名 | 保留时间min | 离子对 | 碰撞电压V |
| 敌螨普 | 13.991/13.991/14.255/14.997/14.997/15.133 | 295.1>209.1295.1>193.1 | 30.031.0 |
| 2,6-二硝基-4-(1-丙基戊基) 苯酚 | 13.991 | 295.1/209.1295.1/179.15 | 3037 |
| 2,6-二硝基-4-(1-乙基己基) 苯酚 | 13.991 | 295.1/209.1295.1/179.15 | 3037 |
| 2,6-二硝基-4-(1-甲基庚基) 苯酚 | 14.255 | 295.1/209.1295.1/179.15 | 3026 |
| 2,4-二硝基-6-(1-丙基戊基) 苯酚 | 14.997 | 295.1/209.1295.1/134.15295.1/235.2 | 305426 |
| 2,4-二硝基-6-(1-乙基己基) 苯酚 | 14.997 | 295.1/209.1295.1/207.25295.1/134.15 | 302954 |
| 2,4-二硝基-6-(1-甲基庚基) 苯酚 | 15.133 | 295.1/193.1295.1/134.15 | 1328 |

7.5.3 基质匹配标准工作曲线

7.5.3.1敌螨普基质匹配标准工作曲线

选择与被测样品性质相同或相似的空白样品按照7.1～7.4部分进行前处理，得到空白基质溶液。精确吸取一定量的混合标准溶液，逐级用空白基质溶液稀释成质量浓度为0.002 mg/L、0.005 mg/L、0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L和0.5 mg/L的基质匹配标准工作溶液，根据仪器性能和检测需要选择不少于5个浓度点，供液相色谱-质谱联用仪测定。以农药定量用子离子的质量色谱图峰面积为纵坐标，相对应的基质匹配标准工作溶液质量浓度为横坐标，绘制敌螨普基质匹配标准工作曲线。

7.5.3.2敌螨普酚基质匹配标准工作曲线

选择与被测样品性质相同或相似的空白样品按照7.1～7.4部分进行前处理，得到空白基质溶液。精确吸取一定量的混合标准溶液，逐级用空白基质溶液稀释成质量浓度为0.0 012 mg/L、0.0 018 mg/L、0.003 mg/L、0.006 mg/L、0.012 mg/L、0.018 mg/L、0.03 mg/L、0.06 mg/L、0.12 mg/L、0.18 mg/L和0.3 mg/L的基质匹配标准工作溶液，根据仪器性能和检测需要选择不少于5个浓度点，供液相色谱-质谱联用仪测定。以农药定量用子离子的质量色谱图峰面积为纵坐标，相对应的基质匹配标准工作溶液质量浓度为横坐标，绘制敌螨普酚基质匹配标准工作曲线。

7.5.4 定性及定量

7.5.4.1保留时间

被测试样中目标农药色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，相对误差应在±2.5%之内。

7.5.4.2 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，目标化合物选择的子离子均出现，而且同一检测批次，对同一化合物，样品中目标化合物的离子丰度比与质量浓度相当的基质标准溶液相比，其允许偏差不超过表3规定的范围，则可判断样品中存在目标农药。

表3定性时离子丰度比的最大允许偏差

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 离子丰度比 | ＞50% | ＞20%至50% | ＞10%至20% | ≤10% |
| 允许相对偏差 | ±20% | ±25% | ±30% | ±50% |

7.5.4.3 定量

外标法定量。

7.6试样溶液的测定

将基质匹配标准工作溶液和试样溶液依次注入液相色谱-质谱联用仪中，保留时间和离子丰度比定性，测得定量用子离子的质量色谱图峰面积，外标法定量，待测样液中农药的响应值应在仪器检测的定量测定线性范围之内，超过线性范围时应根据测定浓度进行适当倍数稀释后再进行分析。

7.7平行试验

按以上步骤对同一试样进行平行试验测定。

7.8空白试验

除不加试样外，采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

**8 结果计算**

试样中各农药残留量以质量分数*ω*计，数值以毫克每千克（mg/kg）表示，按公式（1）或公式（2）计算。

|  |  |
| --- | --- |
| $$ω=\frac{ρ\_{1}×A×V}{A\_{S}×m}×\frac{1000}{1000}$$ | ……………………（1） |
| $$ω=\frac{ρ\_{2}×V}{m}×\frac{1000}{1000}$$ | ……………………（2） |

式中：

*ω*———试样中被测物残留量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

*ρ1*———基质匹配标准工作溶液中被测物的质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

*ρ2*———从基质匹配标准工作曲线中得到的试样溶液中被测物的质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

*A*——试样溶液中被测物的质量色谱图峰面积；

*A*s——基质匹配标准工作溶液中被测物的质量色谱图峰面积；

*V*——提取液体积，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，计算结果保留两位有效数字，含量超1 mg/kg时保留三位有效数字。

**9精密度**

在重复性条件下，获得的两次独立测试结果的绝对差值不得超过重复性限（*r*），参见附录B。

在再现性条件下，获得的两次独立测试结果的绝对差值不得超过再现性限（*R*），参见附录B。

**10其他**

本标准方法对敌螨普总量（以敌螨普计）的定量限为0.009 mg/kg～0.043 mg/kg（参见附录C）。

**11色谱图**

敌螨普和6种敌螨普酚的标准溶液多反应监测色谱图参见附录D。

**附　录　A**

**(资料性)**

**敌螨普酚6种异构体**

 6种敌螨普酚见表A.1。

**表A.1** 6种敌螨普酚

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 序号 | 中文名称 | 英文名称 | CAS号 |
| 1 | 2,4-二硝基-6-(1-甲基庚基) 苯酚 | Meptyldinocap-phenol ，2,4-dinitro-6-(1-methylheptyl)phenol | 3687-22-7 |
| 2 | 2,4-二硝基-6-(1-乙基己基) 苯酚 | 2,4-Dinitro-6-(1-ethylhexyl)pheno | 4275-64-3 |
| 3 | 2,4-二硝基-6-(1-丙基戊基) 苯酚 | 2,4-Dinitro-6-(1-propylpentyl)phenol | 10470-54-9 |
| 4 | 2,6-二硝基-4-(1-甲基庚基) 苯酚 | 2,6-Dinitro-4-octan-2-ylphenol ，2,6-dinitro-4-(1-methylheptyl)phenol | 4095-54-9 |
| 5 | 2,6-二硝基-4-(1-乙基己基) 苯酚 | 2,6-Dinitro-4-(1-ethylhexyl)phenol | 4137-13-7 |
| 6 | 2,6-二硝基-4-(1-丙基戊基) 苯酚 | 2,6-Dinitro-4-(1-propylpentyl)phenol | 6465-63-0 |

**附　录　B**

**(资料性)**

**精密度的表示和计算**

重复性限（r）、再现性限（R）要求见表B.1和B.2。

**表B.1** 敌螨普的重复性限（*r*）和再现性限（*R*） mg/kg

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 质量浓度 | 蔬菜、水果、食用菌和糖料0.005 | 谷物、油料、坚果和植物油0.01 | 药用植物、茶叶和香辛料（调味料）0.025 | 0.1 | 0.5 |
| 重复性限（*r*） | 0.0011  | 0.0025  | 0.0049  | 0.0235  | 0.1092 |
| 再现性限（*R*） | 0.0026  | 0.0040  | 0.0067  | 0.0417  | 0.6141 |

**表B.2** 敌螨普酚的重复性限（*r*）和再现性限（*R*） mg/kg

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 质量浓度 | 蔬菜、水果、食用菌和糖料0.003 | 谷物、油料、坚果和植物油0.006 | 药用植物、茶叶和香辛料（调味料）0.015 | 0.03 | 0.3 |
| 重复性限（*r*） | 0.0007  | 0.0016  | 0.0022  | 0.0045  | 0.0525 |
| 再现性限（*R*） | 0.0016  | 0.0033  | 0.0056  | 0.0090  | 0.0849 |

**附　录　C**

**(资料性)**

**敌螨普和敌螨普酚方法定量限**

敌螨普和敌螨普酚的方法定量限见表C.1。

C.1敌螨普和敌螨普酚方法定量限

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 农药中文名 | 农药英文名 | 方法定量限，mg/kg |
| 蔬菜、水果、食用菌和糖料 | 谷物、油料、坚果和植物油 | 药用植物、茶叶和香辛料（调味料） |
| 敌螨普 | dinocap | 0.005 | 0.01 | 0.025 |
| 敌螨普酚 | dinocap phenols | 0.003 | 0.006 | 0.015 |
| 敌螨普总量（以敌螨普计） | / | 0.009 | 0.017 | 0.043 |

**附　录　D**

**(资料性)**

**敌螨普和敌螨普酚的标准溶液多反应监测色谱图**

敌螨普和敌螨普酚的标准溶液多反应监测色谱图见图D.1和D.2。



图D.1 0.005 mg/L敌螨普标准溶液多反应监测色谱图

图D.2 0.003 mg/L敌螨普酚标准溶液多反应监测色谱（化合物名称与附录A表A.1序号对应）