

ICS 67.120.30

CCS X 20



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXX—XXXX

食品安全国家标准

水产品中苯甲酰脲类药物残留量的测定

液相色谱-串联质谱法

National food safety standard-

Determination of benzoylureas residues in aquatic products by liquid

chromatography-tandem mass spectrometry

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

中华人民共和国农业农村部
中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会 发布
国家市场监督管理总局



前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

征求意见稿

食品安全国家标准

水产品中苯甲酰胺类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了水产品中氯吡苯脲、灭幼脲、除虫脲、氟幼脲、杀铃脲、氟苯脲、氟铃脲、氟虫脲、氟酰胺、氟啶蜚脲、虱螨脲、氟啶脲残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于鱼、虾、蟹、鳖等水产品中氯吡苯脲、灭幼脲、除虫脲、氟幼脲、杀铃脲、氟苯脲、氟铃脲、氟虫脲、氟酰胺、氟啶蜚脲、虱螨脲、氟啶脲残留量的测定，其他水产品可参照执行。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 30891-2014 水产品抽样规范

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试料中残留的苯甲酰胺类药物，用乙腈提取，N-丙基乙二胺（PSA）分散固相萃取，液相色谱-串联质谱仪检测，基质匹配曲线外标法定量。

5 试剂和材料

除另有规定外，所有试剂均为分析纯试剂。水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 乙腈（CH₃CN）：色谱纯。

5.1.2 甲醇（CH₃OH）：色谱纯。

5.1.3 甲酸 (HCOOH)：色谱纯。

5.1.4 无水硫酸镁 (MgSO₄)：650 °C灼烧4 h，冷却后贮于密闭容器中备用。

5.1.5 氯化钠 (NaCl)。

5.2 溶液配制

5.2.1 0.1%甲酸溶液：取甲酸1 mL，用水稀释至1000 mL。

5.2.2 70%乙腈溶液：取乙腈70 mL，用水稀释至100 mL。

5.3 标准品

氯吡苯脲、灭幼脲、除虫脲、氟幼脲、杀铃脲、氟苯脲、氟铃脲、氟虫脲、氟酰胺、氟啶蜚脲、虱螨脲、氟啶脲，含量均≥98.0%，具体见附录A。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 标准储备液 (1 mg/mL)：分别精密称定氯吡苯脲、灭幼脲、除虫脲、氟幼脲、杀铃脲、氟苯脲、氟铃脲、氟虫脲、氟酰胺、氟啶蜚脲、虱螨脲、氟啶脲标准品各 10 mg，分别置 10 mL 容量瓶中，用乙腈溶解，并稀释定容至刻度，分别配制成 1 mg/mL 标准储备液，-18 °C以下保存，有效期 6 个月。

5.4.2 混合标准中间液 (10 μg/mL)：准确量取标准储备液各 0.1 mL，置 10 mL 容量瓶中，用乙腈稀释定容至刻度，配制成浓度为 10 μg/mL 的混合标准中间液。4 °C以下保存，有效期 2 周。

5.4.3 混合标准工作液 (1 μg/mL)：准确量取 10 μg/mL 的混合标准中间液 1 mL，置 10 mL 容量瓶中，用乙腈稀释定容至刻度，配制成浓度为 1 μg/mL 的混合标准工作液。4 °C以下保存，有效期 2 周。

5.5 材料

5.5.1 N-丙基乙二胺 (PSA)：40~60 μm 或相当者。

5.5.2 具塞刻度离心管：10 mL、15 mL。

5.5.3 容量瓶：10 mL、15 mL。

5.5.4 尼龙微孔滤膜：0.22 μm。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源。

6.2 分析天平：感量 0.000 01 g 和 0.01 g。

6.3 高速离心机：8 000 r/min或以上。

6.4 超声波清洗器。

6.5 氮吹仪。

6.6 涡旋混合器。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

按GB/T 30891-2014附录B的要求制样。

- a) 取均质的供试样品，作为供试试样；
- b) 取均质的空白样品，作为空白试样；
- c) 取均质的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试样。

7.2 试样的保存

-18 °C以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

称取水产品试料(2±0.05) g，置于15 mL具塞刻度离心管中，加入乙腈6 mL，涡旋混合30 s，超声提取2 min，再加入无水硫酸镁1.5 g和氯化钠0.2 g，涡旋混合30 s，8 000 r/min离心5 min，上清液移至15 mL容量瓶中，残渣加乙腈6 mL重复提取一次，合并上清液于15 mL容量瓶中，用乙腈稀释至刻度，混匀，备用。

8.2 净化

准确量取上述备用液7.5 mL于10 mL离心管中，加入无水硫酸镁0.5 g和N-丙基乙二胺（PSA）吸附剂100 mg，涡旋振荡1 min，8 000 r/min离心5 min，上清液移至另一10 mL离心管中，于50 °C氮气吹至干，准确加入70%乙腈溶液1 mL溶解残留物，涡旋振荡30 s，8 000 r/min，离心5 min，取上清液，过0.22 μm微孔滤膜，供液相色谱-串联质谱测定。

8.3 基质匹配标准曲线的制备

精密量取混合标准工作液，用70%乙腈溶液配制成浓度为2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL和200 ng/mL的系列混合标准溶液，分别取1 mL加入6份经“8.1”提取和“8.2”净化的空白试料残渣中，涡旋溶解残余物，8 000 r/min，离心5 min，取上清液，过微孔滤膜，供液相色谱-串联质谱仪测定。以测试药物特征离子质量色谱峰面积为纵坐标，对应的基质匹配标准溶液浓度为横坐标，绘制基质匹配标准曲线，求回归方程和相关系数。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：色谱柱：C₁₈（100 mm × 2.1 mm，3.0 μm），或相当者；
- b) 柱温：40 °C；

- c) 流速: 0.4 mL/min;
- d) 进样量: 20 μ L;
- e) 流动相: A. 甲醇; B. 0.1%甲酸溶液。梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱条件

时间 min	A %	B %
0.0	60	40
2.0	95	5
8.5	95	5
8.6	60	40
10.0	60	40

8.4.2 质谱参考条件

- a) 离子源: 电喷雾离子源;
- b) 扫描方式: 负离子扫描;
- c) 检测方式: 多反应监测 (MRM) ;
- d) 喷雾电压: -3000 V;
- e) 蒸发气温度: 300 $^{\circ}$ C;
- f) 鞘气压力: 3 L/min;
- g) 辅助气压力: 1.5 L/min;
- h) 离子传输管温度: 350 $^{\circ}$ C;
- i) 碰撞气压力: 氩气, 1.5 mTorr;
- j) 待测物母离子、子离子和碰撞能量参考值见表2。

表 2 待测物母离子、子离子和碰撞能量参考值

药物	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 eV
氯吡苯脲	246.0	127.1*	14
		91.2	29
灭幼脲	307.0	154.1*	14
		126.1	27
除虫脲	309.0	289.0*	12
		156.0	13
氟幼脲	343.0	323.0*	13
		160.0	27
杀铃脲	357.0	154.0*	15
		176.0	24

氟苯脲	379.0	339.0*	13
		196.0	25
氟铃脲	459.0	439.0*	14
		275.9	21
氟虫脲	487.0	467.1*	12
		411.1	15
氟酰脲	491.0	471.0*	14
		305.0	19
氟啶蜚脲	504.0	304.9*	15
		484.1	15
虱螨脲	509.0	326.0*	20
		339.0	14
氟啶脲	537.9	518.0*	14
		355.0	23

注：*表示为定量离子

8.4.3 测定法

8.4.3.1 定性测定

在相同测试条件下，试样溶液中苯甲酰脲类药物与基质匹配标准溶液中苯甲酰脲类药物的保留时间偏差在±0.1 min以内；且检测到的相对离子丰度，应与浓度相当的基质匹配标准溶液相对离子丰度一致，其允许偏差为±40%。

8.4.3.2 定量测定

取试样溶液和基质匹配标准溶液，作单点或多点校准，按外标法定量。基质匹配标准溶液及试样溶液中目标物的响应值均应在仪器检测的线性范围内。在上述液相色谱-串联质谱条件下，标准溶液中各特征离子质量色谱图见附录B。

8.5 空白试验

取空白试样，除不加药物外，采用完全相同的测定步骤进行平行测定。

9 结果计算和表述

试样中苯甲酰脲类药物的残留量按基质匹配标准曲线或公式（1）计算：

$$X = \frac{C_s \times A \times V_1 \times V_3}{A_s \times V_2 \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X——试样中苯甲酰脲类药物的残留量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

C_s ——基质匹配标准溶液中苯甲酰脲类药物的浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；

A ——试样溶液中苯甲酰脲类药物的色谱峰面积；

A_s ——基质匹配标准溶液中苯甲酰脲类药物的色谱峰面积；

V_1 ——提取液总体积，单位为毫升（mL）；

V_2 ——准确移取用于净化、氮吹的提取液体积，单位为毫升（mL）；

V_3 ——试样最终定容体积，单位为毫升（mL）；

m ——供试试料质量，单位为克（g）。

注：计算结果以平行测定结果的算术平均值表示，保留3位有效数字。

10 方法灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法氯吡苯脲、灭幼脲、除虫脲、氟幼脲、杀铃脲、氟苯脲、氟铃脲、氟虫脲、氟酰胺、氟啶啉脲、虱螨脲、氟啶脲的检测限均为 $2\ \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限均为 $5\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 准确度

本方法氯吡苯脲、灭幼脲、除虫脲、氟幼脲、杀铃脲、氟苯脲、氟铃脲、氟虫脲、氟酰胺、氟啶啉脲、虱螨脲、氟啶脲在 $5\ \mu\text{g}/\text{kg}\sim 50\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度水平上的回收率为70%~120%。

10.3 精密度

本方法的批内相对标准偏差 $\leq 15\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

附录 A

(资料性)

苯甲酰胺类药物中英文名称、化学分子式和 CAS 号

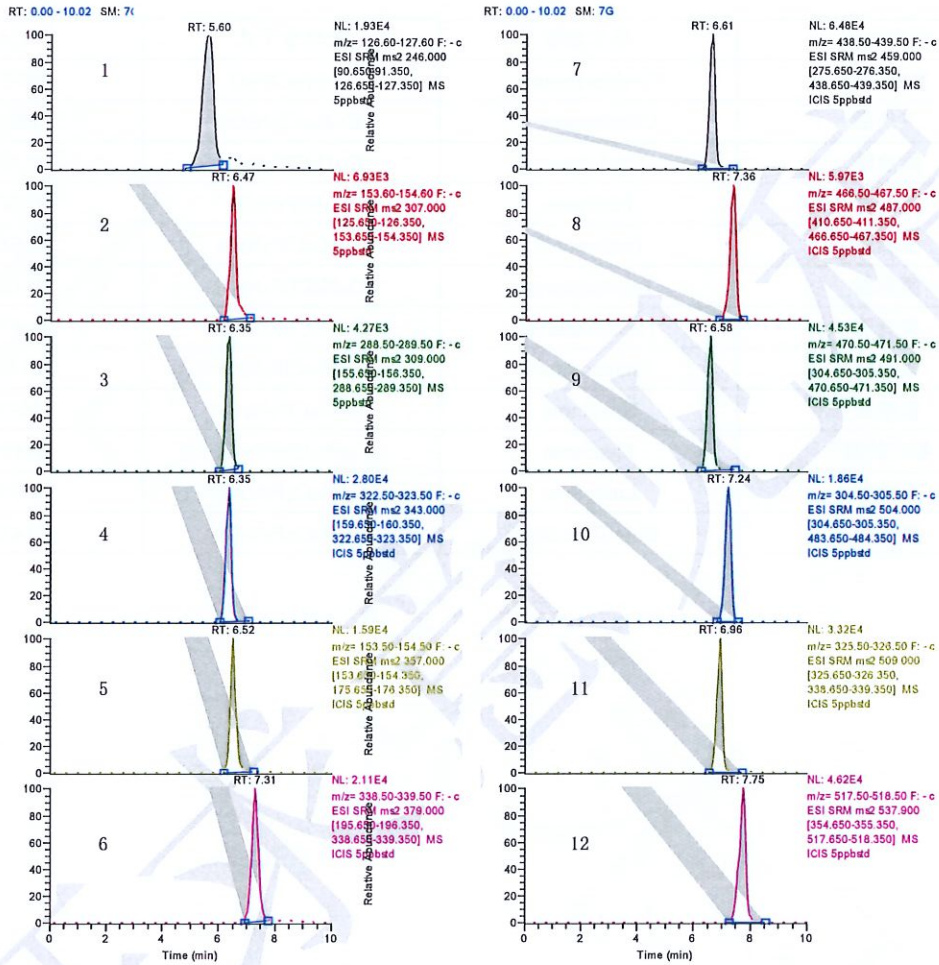
苯甲酰胺类药物中英文名称、化学分子式和CAS号见表A.1。

表A.1 苯甲酰胺类药物中英文名称、化学分子式和 CAS 号

中文名称	英文名称	化学分子式	CAS号
氯吡苯脲	Forchlorfenuron	C ₁₂ H ₁₀ ClN ₃ O	68157-60-8
灭幼脲	Chlorbenzuron	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	196791-54-5
除虫脲	Diflubenzuron	C ₁₄ H ₉ ClF ₂ N ₂ O ₂	35367-38-5
氟幼脲	Penfluron	C ₁₅ H ₉ F ₃ N ₂ O ₂	35367-31-8
杀铃脲	Triflumuron	C ₁₅ H ₁₀ ClF ₃ N ₂ O ₃	64628-44-0
氟苯脲	Teflubenzuron	C ₁₄ H ₆ Cl ₂ F ₄ N ₂ O ₂	83121-18-0
氟铃脲	Hexaflumuron	C ₁₆ H ₈ Cl ₂ F ₆ N ₂ O ₃	86479-06-3
氟虫脲	Flufenoxuron	C ₂₁ H ₁₁ ClF ₆ N ₂ O ₃	101463-69-8
氟酰胺	Novaluron	C ₁₇ H ₉ ClF ₈ N ₂ O ₄	116714-46-6
氟啶蜚脲	Fluazuron	C ₂₀ H ₁₀ Cl ₂ F ₅ N ₃ O ₃	86811-58-7
虱螨脲	Lufenuron	C ₁₇ H ₈ Cl ₂ F ₈ N ₂ O ₃	103055-07-8
氟啶脲	Chlorfluazuron	C ₂₀ H ₉ Cl ₃ F ₅ N ₃ O ₃	71422-67-8

附录 B
(资料性)
标准溶液特征离子质量色谱图

苯甲酰胺类药物标准溶液特征离子质量色谱图见图B.1。



标引序号说明:

- 1——氯吡苯脲; 2——灭幼脲; 3——除虫脲; 4——氟幼脲; 5——杀铃脲; 6——氟苯脲;
7——氟铃脲; 8——氟虫脲; 9——氟酰脲; 10——氟啶蜚脲; 11——虱螨脲; 12——氟啶脲。

图 B. 1 苯甲酰胺类药物标准溶液特征离子质量色谱图 (5 ng/mL)