

# 2024 年国家食品污染物和有害因素 风险监测工作手册 (中卷)

国家食品安全风险评估中心

2023 年 12 月

# 适用范围

本工作手册适用于 2024 年国家食品安全风险监测计划中所有涉及卫生健康委开展的内容，为化学检测方法标准操作程序。

## 2024 年主要修改内容说明

- 1、在 2023 年手册方法《食品中多元素分析的标准操作程序》的基础上整合各类食品样品制备及前处理方法，并坚果与籽类的样品制备及前处理方法；新增 GB 5009.268-2016《食品安全国家标准 食品中多元素测定》第二法 电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES 法)。
- 2、在 2023 年手册方法基础上,新增食品中无机砷和甲基汞的 HPLC-ICP/MS 和 HPLC-AFS 法。
- 3、新增《牛奶中赭曲霉毒素 A、玉米赤霉烯酮及其代谢产物测定的标准操作程序》。
- 4、新增《边销茶中 T-2 毒素和 HT-2 毒素测定的标准操作程序》。
- 5、新增《食品中米酵菌酸测定标准操作程序》。
- 6、新增《蝉花子实体中白僵菌素测定的标准操作程序》。
- 7、对农药残留检测方法进行整合,形成《植物源性样品中 104 种农药残留量的测定标准操作程序 GC-MS 法》和《植物源性样品中 79 种农药残留量的测定标准操作程序 LC-MS 法》两个多组分检测方法,覆盖所有监测农药品种。
- 8、新增《物源性食品中阿奇霉素测定的标准操作程序》。
- 9、在以往手册方法基础上,整合肉类、水产品的检测方法,新增乳类和蛋类中 23 种全氟和多氟烷基化合物的检测方法。
- 10、新增《谷物和肉类中有机磷酸酯阻燃剂测定的标准操作程序》。
- 11、新增《婴幼儿配方食品和水产品中含氟液晶单体残留测定的标准操作程序》。
- 12、新增《食品包装用复合膜、袋有机磷酸酯阻燃剂迁移量测定的标准操作程序》。
- 13、在 2022 年手册基础上,修改《食品中氯丙醇酯和缩水甘油酯测定的标准操作程序》。
- 14、新增《饮料中苯甲酸、山梨酸、糖精钠和脱氢乙酸的液相色谱测定法标准操作程序》。
- 15、新增《食品中铝的电感耦合等离子体质谱测定法标准操作程序和食品中铝的分光光度测定法标准操作程序》。
- 16、新增 GB 5009.97.2023 食品中环己基氨基磺酸盐的测定 第一法和第二法。
- 17、新增 GB 5009.140-2023 食品中乙酰磺胺酸钾的测定。
- 18、新增 GB 5009.263-2016 食品中阿斯巴甜和阿力甜的测定。
- 19、新增 GB 5009.298-2023 食品中三氯蔗糖(蔗糖素)的测定。
- 20、新增《食品中碱性橙等 10 种工业染料测定的标准操作程序 液相色谱法》。

# 目 录

第九章 化学污染物及有害因素检测方法的标准操作程序.....	5
第一节 食品化学成分分析方法标准操作程序共性内容.....	5
第二节 元素类.....	12
一、食品中多元素分析的标准操作程序.....	13
二、食品中铅测定的标准操作程序.....	24
三、食品中镉测定的标准操作程序.....	31
四、食品中总汞测定的标准操作程序.....	37
五、食品中总汞直接测定的标准操作程序.....	43
六、食品中总砷测定的标准操作程序.....	49
七、食品中总铬测定的标准操作程序.....	54
八、食品中无机砷测定的标准操作程序(HPLC-ICP/MS).....	63
九、食品中无机砷测定的标准操作程序(HPLC-AFS).....	74
十、食品中甲基汞测定的标准操作程序(HPLC-ICP/MS).....	84
十一、食品中甲基汞测定的标准操作程序(HPLC-AFS).....	91
第三节 生物毒素.....	98
一、食品中真菌毒素多组分测定的标准操作程序（同位素稀释 HPLC-MS）.....	99
二、食品中交链孢霉毒素测定的标准操作程序（同位素稀释 HPLC-MS 法）.....	111
三、牛奶中赭曲霉毒素 A、玉米赤霉烯酮及其代谢产物测定的标准操作程序（HPLC-MS 法）.....	121
四、边销茶中 T-2 毒素和 HT-2 毒素测定的标准操作程序（HPLC-MS 法）.....	127
五、食品中米酵菌酸测定标准操作程序（HPLC-MS 法）.....	132
六、蝉花子实体中白僵菌素测定的标准操作程序(固相萃取 HPLC-MS).....	138
第四节 农药残留.....	144
一、植物源性样品中 104 种农药残留量的测定标准操作程序 GC-MS 法.....	145
二、植物源性样品中 79 种农药残留量的测定标准操作程序 LC-MS 法.....	165
第五节 兽药及违禁药物.....	177
一、动物源性食品中 $\beta$ -受体激动剂残留测定的标准操作程序 GC/MS 法.....	178
二、动物源性食品中 $\beta$ -受体激动剂残留测定的标准操作程序 LC/MS/MS 法.....	184

三、动物性食品中阿奇霉素测定的标准操作程序 .....	194
四、动物源性食品中氟苯尼考和氟苯尼考胺测定的标准操作程序 .....	200
五、动物源性食品中四环素类药物残留量测定的标准操作程序 .....	207
六、动物源性食品中喹诺酮类药物残留量测定的标准操作程序 .....	215
七、禽肉和禽蛋中硝基咪唑类药物残留的测定 LC-MS/MS 法 .....	225
九、淡水鱼中地西泮和奥沙西泮残留量测定的标准操作程序 LC-MS/MS 法 .....	240
十、禽肉和禽蛋中抗球虫药物残留测定的标准操作程序 .....	247
第六节 食品加工贮藏产生的污染物 .....	254
一、食品中氯丙醇酯和缩水甘油酯的同位素稀释-GC-MS/MS 法标准操作程序 .....	255
第七节 食品添加剂 .....	271
一、食品中铝的电感耦合等离子体质谱测定法标准操作程序 .....	272
二、食品中铝的分光光度测定法标准操作程序 .....	277
三、饮料中苯甲酸、山梨酸、糖精钠和脱氢乙酸的液相色谱测定法标准操作程序 .....	281
第八节 有机污染物 .....	286
一、食品中全氟和多氟烷基化合物测定的标准操作程序 .....	287
二、谷物和肉类中有机磷酸酯阻燃剂测定的标准操作程序 .....	295
三、婴幼儿配方食品和水产品中含氟液晶单体残留测定的标准操作程序 .....	306
第九节 食品接触材料污染物 .....	319
一、食品包装用复合膜、袋有机磷酸酯阻燃剂迁移量测定的标准操作程序 .....	320
二、食品接触材料及制品 47 种元素迁移量测定的标准操作程序 .....	331
第十节 非食用物质 .....	339
一、食品中碱性橙等 10 种工业染料测定的标准操作程序 .....	340

## 第九章 化学污染物及有害因素检测方法的标准操作程序

### 第一节 食品化学成分分析方法标准操作程序共性内容

#### 一、样品接收

- 1 检验人员应认真检查样品的包装和状态，若发现感官异常，不能接收。
- 2 检验人员应查看样品量，原则上不能少于规定数量（见工作手册上卷第五章），因某些原因造成送样量不足的情况应提供说明。
- 3 检验人员应查看样品标识，保证样品应有正确、清晰、牢固的唯一性标识，保证样品在检测过程中不被混淆。

#### 二、食品样品缩分与制备

样品的缩分和制备应保证样品的代表性，并避免交叉污染、目标分析物损失等。

##### 1 样品缩分

除全部样品用于制备试样的情况外，可按如下原则进行样品缩分：

- (1) 对于个体小的样品（如坚果、虾等），混合后用四分法缩分或多点随机抽取，去掉蒂、皮、核、头、尾、壳等，取出可食部分；
- (2) 对于个体大的基本均匀样品（如西瓜、干酪等）或形状近似对称的样品（如苹果等果实），可在对称轴或对称面上分割或切成小块进行缩分；
- (3) 对于个体不均匀的样品（如鱼、菜等）或细长、扁平或组分含量在各部位有差异的样品，可在不同部位切取小块或截取小段进行缩分。
- (4) 对于谷类和豆类等粒状、粉状或类似的样品，应使用圆锥四分法（堆成圆锥体一压成扁平圆形一划两条交叉直线分成四等份一取对角部分）进行缩分或者多点取样混合。
- (5) 液体、半固体样品：摇匀或搅匀后缩分。

##### 2 样品制备

缩分后的样品应全部制成试样，具体方法如下：

- (1) 干制固体样品：将样品粉碎至均匀。
- (2) 蔬菜水果样品：切碎后制成匀浆。
- (3) 畜禽肉及水产品：切碎后制成匀浆或均匀糜状。
- (4) 冷冻样品：解冻后（冷冻样品中的冰晶和水不得丢弃）立即制成匀浆或

均匀糜状。

- (5) 液体、半流体样品：称样前需再次混匀。
- (6) 如相关检验方法有具体规定的，从其规定。

各类样品的缩分与制备见下表 1。

### 三、食品接触材料样品制备

食品接触材料样品的制备应遵循以下原则：残留量测试，当不能将整个样品制备成试样混匀后取样时，应充分考虑取样位置的代表性；迁移量测试，迁移试验应尽可能在样品的原状态下进行，避免因样品发生破坏、变形、磨损等变化而偏离样品实际使用状态下的情况。当无法按样品实际使用下的状态进行迁移试验，需要通过裁减、切割、热封等方式制备试样时，也应将偏离降到最低。

常用制样方式及注意事项：

(1) 机械制样：当通过裁减、切割、粉碎等机械手段将样品制备成合适的试样时，应确保所得试样的品质能反映所测项目的实际情况。应考虑取样部位、切割面以及机械施工条件对测试结果的影响。

(2) 热封制袋制样：热封制袋采用袋装法进行迁移试验，是能牢固热封的塑料膜/袋，特别是多层复合膜/袋，常用的制样方式。热封制袋时，应尽可能按照样品实际热封的条件进行热封，在确保封口牢度能承载食品模拟物的同时，避免热封温度偏离实际情况。对于已有印刷图案表明包装单元的膜类制品，应按照实际使用情况进行制袋。

### 四、样品保存和处置

(1) 储存容器：食品样品应放入清洁、惰性材质的密封容器内，样品容器可根据样品和检测目标分析物性质采用广口玻璃瓶、聚乙烯瓶或袋等。

(2) 保存条件：食品样品应在适宜的环境中保存，应避免试样变质、污染、水分变化和目标物降解等，并在规定期限内进行检验。新鲜样品和冷冻样品一般在 -18℃ 条件下密封储存，干制固体样品和液体、半流体样品一般在通风干燥的条件下密封储存。

(3) 食品接触材料及制品的保存：储存容器和保存条件应尽可能与实际情况一致，并避免样品中目标分析物发生污染或非正常的损失。例如目标分析物为邻苯二甲酸酯类增塑剂时，为避免塑料包装可能导致的塑化剂污染，可采用不含该类

物质的材料（如铝箔）包裹样品。当目标分析物为易挥发组分，应采用与产品的实际包装方式相同的包装运输方式，防止非正常的挥发损失。避免人为卷积或叠放样品，尤其是将食品接触面与非食品接触面叠加。

（4）留样与时限：预包装样品要求留相同批次的未开封样品，散装样品可以保存缩分后的样品或制备均匀的样品。当送样量不能满足留样要求时，在保证分析样用量后，全部用作留样。留样一般要求保存到下一年的 2 月底。

（5）样品处置应做好记录。

各类样品保存见表 1。

表 1 样品的制备和保存

样品类别	制样	盛装容器	保存条件 <sup>[1]</sup>
粮谷、豆、脱水蔬菜、茶、藻类等干制样品	用四分法缩分至约 300 g，再用四分法分成二份，一份复查或确证（>100 g），另一份用捣碎机捣碎混匀供分析用（>50 g）。	食品塑料袋、玻璃广口瓶	常温、通风良好
水果、蔬菜、蘑菇类、藻类	如有泥沙，先用水洗去，然后甩去表面附着水，去皮（对于果皮可食的样品，取全果）、核、蒂、梗、籽、芯等，取可食部分，沿纵轴剖开成两半，截成四等份，每份取出部分样品，混匀，用四分法分成二份，一份复查或确证（>100 g），另一份用捣碎机捣碎混匀供分析用（>50 g）。	食品塑料袋、塑料瓶	-18℃ 以下的冰柜或冰箱冷冻室
坚果类	去壳，取出果肉，混匀，用四分法分成二份，一份复查或确证（>100 g），另一份用捣碎机捣碎混匀供分析用（>50 g）。	食品塑料袋、玻璃广口瓶	常温、通风良好
饼干、糕点类	硬糕点用拈体粉碎，中等硬糕点用刀具、剪刀切细，软糕点按其形状进行分割，混匀，用四分法分成二份，一份复查或确证（>100 g），另一份用捣碎机捣碎混匀供分析用（>50 g）。	食品塑料袋、玻璃广口瓶	常温、通风良好

样品类别	制样	盛装容器	保存条件 <sup>[1]</sup>
块冻虾仁类	将块样划成四等份，在每一份的中央部位钻孔取样，取出的样品四分法分成二份，一份复查或确证(>100 g)，另一份室温解冻后弃去解冻水，用捣碎机捣碎混匀供分析用(>50 g)。	食品塑料袋、塑料瓶	-18℃以下的冰柜或冰箱冷冻室
单冻虾、小龙虾	室温解冻，弃去头尾和解冻水，用四分法缩分至约 300 g，再用四分法分成二份，一份复查或确证(>100 g)，另一份用捣碎机捣碎混匀供分析用(>50 g)。	食品塑料袋、塑料瓶	-18℃以下的冰柜或冰箱冷冻室
蛋类	选取至少 5 枚蛋。如以全蛋作为分析对象时，磕碎蛋，除去蛋壳，充分搅拌；蛋白蛋黄分别分析时，按烹调方法将其分开，分别搅匀。制备好的样品分成二份，一份供分析用(>50 g)，另一份用于复查或确证(>100 g)。	食品塑料袋、塑料瓶	-18℃以下的冰柜或冰箱冷冻室
甲壳类	室温解冻，去壳和解冻水，四分法分成二份，一份复查或确证(>100 g)，另一份用捣碎机捣碎混匀供分析用(>50 g)。 对于蟹各部位的制备方法：清洗蟹体后，分别取大小相近的 5 只蟹，取蟹黄、蟹膏、蟹胸肌、蟹腿肌部位，用食品加工机混合分别打成匀浆待用。样品制备注意以下两方面：一、剔除不可食部分（肝胰腺和鳃），剔除过程中尽量做到不要污染可食部分，以防其检测值偏高；二、取完可食部分后一定要放入搅碎机混合打成匀浆，避免因样品不均导致平行样品检测值不一致等问题。	食品塑料袋、塑料瓶	-18℃以下的冰柜或冰箱冷冻室
鱼类	室温解冻，去鳞和内脏后，取鱼样的可食部分用捣碎机捣碎混匀，一份复查或确证(>100 g)，另一份用供分析用(>50 g)。	食品塑料袋、塑料瓶	-18℃以下的冰柜或冰箱冷冻室

样品类别	制样	盛装容器	保存条件 <sup>[1]</sup>
蜂皇浆	室温解冻至融化，用玻棒充分搅匀。	食品塑料袋、塑料瓶	-18℃以下的冰柜或冰箱冷冻室
畜禽肉类	室温解冻，根据检测需要取相应的部位，如脂肪或肌肉或内脏组织，在每一块样上取出可食部分，四分法分成二份，一份复查或确证(>100 g)，另一份切细后用捣碎机捣碎混匀供分析用(>50 g)。	食品塑料袋、塑料瓶	-18℃以下的冰柜或冰箱冷冻室
蜂蜜、油脂、乳类	未结晶、结块样品直接在容器内搅拌均匀，称取分析试样后；对有结晶析出或已结块的样品，盖紧瓶盖后，置于不超过 60℃的水浴中温热，样品全部融化后搅匀，迅速盖紧瓶盖冷却至室温。	玻璃广口瓶、原盛装瓶	蜂蜜常温 油脂、乳类 4℃以下的冰箱冷藏室
酱油、醋、酒、饮料类	充分摇匀，称取分析试样。	玻璃瓶、原盛装瓶 酱油、醋不宜用塑料或金属容器	常温
罐头食品类	取固形物或可食部分，酱类取全部，用捣碎机捣碎混匀供分析用。	玻璃广口瓶、原盛装罐头	4℃以下的冰箱冷藏室
保健食品	用四分法缩分至约 300 g，再用四分法分成二份，一份复查或确证(>100 g)，另一份用捣碎机捣碎混匀供分析用(>50 g)。	食品塑料袋、玻璃广口瓶	常温、通风良好

注：

1.对于需要检测生物毒素等化学指标且其含量易受样品保存条件影响的谷物、坚果等食品，需要在-18℃以下的冰柜或冰箱冷冻室保存缩分样品或制备好的样品。

## 五、样品检验

### 1 检验方法的选择与确认

1.1 检验方法的选择：检验人员需要按照国家食品安全风险监测工作手册规定的检验方法开展检测工作。

1.2 检验方法的确认：实验室应在使用检验方法前对其正确使用检验方法的能力进行确认，经过方法验证、确认、转化成本单位实验室的标准操作程序或作业指导书。

## 2 仪器设备要求

2.1 仪器设备在使用前需确认其性能指标满足手册方法的技术要求。

2.2 影响结果准确性的量器、控温仪器设备、检测仪器设备等均应满足量值溯源要求。

2.3 玻璃量器和玻璃器皿应彻底清洗干净后才能使用。

## 3 检验过程要求：

### 3.1 基本要求

应按照手册方法中规定的分析步骤进行检验，对实验中不安全因素（中毒、爆炸、腐蚀、烧伤等）应有防护措施。

### 3.2 仪器测定条件

手册方法中的仪器测定条件属于参考条件，使用者可根据所在实验室的具体仪器型号进行优化和调整，但不能改变方法的检验原理。

### 3.3 试样溶液的测定

3.3.1 试样溶液浓度过高或过低（超出线性范围）时，经实验室验证后，方可通过稀释或浓缩重新定量。

3.3.2 对于内标法的标准曲线、基质匹配标准曲线、基质加标标准曲线，在样品测试浓度超出标准曲线范围后，不可直接稀释进样测定，需根据样品中的目标分析物浓度重新制作标准曲线，或重新检测。

### 3.4 质量控制要求

3.4.1 质量控制方法包括但不限于：

- a) 空白试验；
- b) 平行试验；
- c) 加标回收试验；
- d) 保留样品再测试；
- e) 有证标准物质或赋值质控样品测试；
- f) 盲样测试；
- g) 比对试验，包括人员比对、方法比对、仪器比对等；

h) 质控图。

3.4.2 在检验样品时，每一检验批至少选择一种质量控制方法对其检测结果的可靠性进行监控。当质控结果不符合预期要求时，该检验批检验结果无效。

### 3.5 结果计算与审核要求：

检测人员应仔细计算检测结果，检验结果应按程序进行审核。

### 3.6 检验原始记录要求

实验室应记录检验过程中的关键数据以及检验方法、设备、环境等信息，具体要求包括但不限于：

- a) 应记录所采用的检验方法，当存在多个可选方法或可选步骤时，应明确记录所选择的方法和步骤。
- b) 应记录实验过程产生（参与检验结果计算）的所有数据。
- c) 应记录与检验结果量值溯源密切相关的仪器设备信息。
- d) 应记录检验方法中有明确要求或特殊要求的环境条件。
- e) 应记录质控结果和其符合性判定结论。

## 第二节 元素类

序号	方法名称	起草人
1	食品中多元素分析的标准操作程序（ICP-MS 法）	刘丽萍、陈绍占、刘洋
2	GB 5009.268-2016《食品安全国家标准 食品中多元素测定》 第二法 电感耦合等离子体发射光谱法（ICP-OES法）	
3	食品中铅测定的标准操作程序	胡曙光、苏祖俭、邢海涛
4	食品中镉测定的标准操作程序	赵馨、尚晓虹、马兰
5	食品中总汞测定的标准操作程序	尚晓虹、赵馨、马兰
6	食品中总汞直接测定的标准操作程序	胡曙光、范建彬
7	食品中总砷测定的标准操作程序	马兰、赵馨、尚晓虹
8	食品中总铬测定的标准操作程序	胡曙光、蔡文华、陈明
9	食品中无机砷测定的标准操作程序(HPLC-ICP/MS)	刘丽萍、陈绍占、刘洋
10	食品中无机砷测定的标准操作程序(HPLC-AFS)	刘丽萍、陈绍占、刘洋
11	食品中甲基汞测定的标准操作程序(HPLC-ICP/MS)	胡曙光、范建彬、赵馨、符梓琪
12	食品中甲基汞测定的标准操作程序(HPLC-AFS)	胡曙光、范建彬、尚晓虹、符梓琪

## 一、食品中多元素分析的标准操作程序

### 1 适用范围

本规程规定了电感耦合等离子体质谱法测定蔬菜及其制品（百合、马铃薯等）、水果及其制品（枣）、食用菌（竹荪、姬松茸等）、谷物及其制品、水产动物及其制品（虾姑、虾姑肌肉组织、贝类等）、苦丁茶、畜禽肉类（含内脏）、黄豆、食糖、坚果与籽类（含花生）中 26 种元素的方法。

本规程适用于蔬菜及其制品（百合、马铃薯）、水果及其制品（枣）、食用菌（竹荪、姬松茸等）、谷物及其制品、水产动物及其制品（虾姑、虾姑肌肉组织、贝类）、苦丁茶、畜禽肉类（含内脏）、黄豆、食糖、坚果与籽类（含花生）中铅、镉、汞、砷、铬、铝、锰、铜、钡、钒、硒、锑、镍、锡、锂、硼、锌、钾、钠、钙、镁、铁、锶、钼、钴、铷的测定。

蔬菜及其制品（百合、马铃薯）、水果及其制品（枣）、食用菌（竹荪、姬松茸等）、谷物及其制品、水产动物及其制品（虾姑、虾姑肌肉组织、贝类）、畜禽肉类（含内脏）等的检出限：当称样量 0.5 g，定容体积 25 mL 时，各元素的检出限分别为：

钾：0.5、钠：0.5、钙：0.5、镁：0.5、铁：0.4、铝：0.2、锌：0.1、锂：0.02、钡：0.02、锶：0.01、锰：0.03、铜：0.01、铬：0.01、钼：0.005、钴：0.002、钒：0.004、硼：0.05、镉：0.003、铅：0.004、硒：0.005、锑：0.005、镍：0.01、锡：0.005、砷：0.004、汞：0.003、铷：0.01（单位为 mg/kg）

苦丁茶的检出限：当称样量 0.25 g，定容体积 25 mL 时，各元素的检出限分别为：

钾：1.0、钠：1.0、钙：1.0、镁：1.0、铁：0.8、铝：0.4、锌：0.2、锂：0.04、钡：0.04、锶：0.02、锰：0.06、铜：0.02、铬：0.02、钼：0.01、钴：0.004、钒：0.008、硼：0.1、镉：0.006、铅：0.008、硒：0.01、锑：0.01、镍：0.02、锡：0.01、砷：0.008、汞：0.006、铷：0.02（单位为 mg/kg）。

黄豆、食糖、坚果与籽类等的检出限：当称样量 0.4 g，定容体积 25 mL 时，各元素的检出限分别为：

钾：0.6、钠：0.6、钙：0.6、镁：0.6、铁：0.5、铝：0.3、锌：0.1、锂：0.01、钡：0.01、锶：0.01、锰：0.04、铜：0.01、铬：0.01、钼：0.006、钴：0.003、钒：

0.003、硼：0.03、镉：0.003、铅：0.005、硒：0.006、铈：0.006、镍：0.01、锡：0.006、砷：0.005、汞：0.004、铷：0.01（单位为 mg/kg）

## 2 原理

样品经消解处理后，经雾化由载气送入等离子体炬管中，经蒸发、解离、原子化和离子化等过程，转化为带正电荷的离子，经离子采集系统进入质谱仪，质谱仪根据质荷比进行分离，采用外标法、以待测元素质谱信号与内标元素质谱信号的强度比与待测元素的浓度成正比进行定量分析。

## 3 试剂

除非另有说明，本方法所用试剂均为优级纯，水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 硝酸：MOS 级或电子纯级。

3.2 过氧化氢。

3.3 氢氟酸。

3.4 氩气：高纯氩气 (>99.99%) 或液氩。

3.5 硝酸溶液 (2+98)：取 20 mL 硝酸，缓慢加入 980 mL 水中，混匀。

3.6 标准溶液

3.6.1 元素储备液：铅、镉、砷、铬、铝、锰、铜、钡、钒、硒、铈、镍、锡、锂、硼、锌、钾、钠、钙、镁、铁、锶、钼、钴、铷 (1000 或 100  $\mu\text{g/mL}$ )，汞 (0.10  $\mu\text{g/mL}$ )，均采用含单元素或多元素的有证标准物质。

3.6.2 内标元素储备液：推荐选用钪、铈、铟、铋单元素标准溶液配制成混合内标储备液，浓度为 (Sc、Rh、In、Bi: 10  $\mu\text{g/mL}$ )。

3.7 仪器调谐液 (Li、Y、Ce、Tl、Co) 浓度为 10 ng/mL。

3.8 标准溶液配制

3.8.1 混合标准使用溶液：吸取适量的单标或混合标准储备液，用硝酸溶液(2+98)逐级稀释成以下三套标准溶液浓度，A：铝、锰、铜、锌、砷、镉、铬、铅、硒、铈、钡、钼、镍、钴、钒、锡、硼、锂、锶、铷为 $[\rho=1.0 \mu\text{g/mL}]$ ，钾、钠、钙、镁、铁为 $[\rho=100.0 \mu\text{g/mL}]$ 的

标准使用溶液；B：汞为 $[\rho=0.10 \mu\text{g/mL}]$ 。

3.8.2 标准曲线工作溶液：吸取适量单元素标准使用溶液或多元素混合标准使用

溶液，用硝酸溶液（2+98）逐级稀释配成混合标准工作溶液系列，各元素的质量浓度见表 1。其中汞标准溶液系列需现用现配。根据实际样品中浓度适当调整标准系列溶液质量浓度。

表 1 多元素标准溶液系列质量浓度

序号	元素	单位	标准系列质量浓度						
			S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
1	K、Na、Mg、Ca、Fe	μg/mL	0	0.50	1.00	5.00	10.0	30.0	50.0
2	Li、B、Al、Mn、Cu、Zn、Sr、Ba、Sn、Rb	ng/mL	0	5.00	10.0	50.0	100.0	300.0	500.0
3	V、Cr、Co、Ni、As、Se、Mo、Cd、Sb、Pb	ng/mL	0	0.50	1.00	5.00	10.0	50.0	100.0
4	Hg	ng/mL	0	0.10	0.50	1.00	1.50	3.00	

3.8.3 内标使用液：吸取适量混合内标溶液，用硝酸溶液（2+98）稀释 10 倍，浓度为 Sc、Rh、In、Bi：1 μg/mL（根据各实验室仪器要求适当调整内标浓度）。

3.8.4 仪器调谐使用液（1 ng/mL）：吸取适量仪器调谐液，用硝酸溶液（2+98）稀释 10 倍，浓度为 1 ng/mL（根据各实验室仪器要求适当调整调谐液浓度）。

#### 4 仪器和设备

4.1 电感耦合等离子体质谱仪（ICP-MS）。

4.2 天平：感量为 0.1 mg 和 1 mg。

4.3 高压密闭微波消解系统，配有聚四氟乙烯高压消解罐。

4.4 恒温干燥箱（烘箱）。

4.5 高速粉碎机、均浆机。

4.6 超低温冰箱（-80 ℃）

4.7 筛网：12 目和 20 目。

#### 5 分析步骤

##### 5.1 试样制备

5.1.1 干试样：谷类粮食（大米、糙米、小麦粉、玉米粉、玉米糝等）、婴幼儿谷类辅助食品、干食用菌（含竹荪和姬松茸等）、苦丁茶、脆枣、干百合等，去除杂质粉碎成均匀的样品，储于洁净的聚丙烯塑料瓶中，并作好标记，于室温或按样品保存条件下保存备用。

干枣去核后，切成小块，放入自封袋中，置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷冻 24 h，为避免融化，取出后短时间内放入粉碎机中进行研磨，样品储存于洁净的聚丙烯塑料瓶中，并作好标记，于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

黄豆去除杂质后进行粉碎，过筛使其粒径达到 0.85 mm 以下（相当于 20 目以上），储于洁净的聚乙烯塑料瓶中，于室温下干燥处保存备用。

5.1.2 鲜（湿）试样：蔬菜（鲜枣、鲜百合、马铃薯等）、水果、鲜食用菌，去除杂质，取可食部分，洗净晾干，用匀浆机制成匀浆，储于洁净的聚丙烯塑料瓶中，并作好标记，于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

虾姑：虾姑去头，剥去外壳，取可食部分，用匀浆机制成匀浆，储于洁净的塑料瓶中，并作好标记，于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

虾姑肌肉组织：虾姑去头，剥去外壳，去掉性腺，取可食部分，用匀浆机制成均浆，储于洁净的塑料瓶中，并作好标记，于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

贝类用清水洗净，并于清水中浸养 2 h 左右，用纯水清洗，沥干后去壳，取可食部分（其中扇贝、鸟贝去除内脏），用匀浆机制成均浆，储存于洁净的聚丙烯塑料瓶中，并作好标记，于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

畜禽肉类：牛肉、羊肉、猪肉、鸡肉、鸭肉等，取可食部分，用匀浆机制成匀浆，储于洁净的塑料瓶中，并作好标记，于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

畜禽内脏类：取牛、羊、猪、鸡、鸭的内脏；心和肝脏去掉筋膜；肾脏去掉筋膜、肾盂及肾大盏；肺去掉支气管；胃取可食部分，清洗干净，去掉内膜。用匀浆机制成均浆，储存于洁净的聚丙烯塑料瓶中，并作好标记，于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

5.1.3 糖类试样：绵白糖、白砂糖、红糖粉等搅拌均匀或均质后，储于洁净的聚乙烯塑料瓶中，于室温下阴凉干燥处保存备用。冰糖、红糖块、黑糖块等切成小块后进行粉碎，充分均质后，储于洁净的聚乙烯塑料瓶中，于室温下阴凉干燥处保存备用。

5.1.4 坚果与籽类去除杂质后进行粉碎，过筛使其粒径达到 1.7 mm 以下（相当于 12 目以上）或采用特制研磨仪粉碎、均浆至均质后，密封储于洁净的聚乙烯塑料瓶中，于室温下阴凉干燥处或按样品保存条件保存备用。

## 5.2 试样消解

5.2.1 微波消解法：称取一定量试样于聚四氟乙烯消解罐中，参考称样量如表 2 所示，加入 6 mL 硝酸，冷处理 1 h~2 h，加入 1 mL 过氧化氢（谷类粮食及婴幼儿谷类辅助食品可不加过氧化氢），微波消解程序见表 3，畜禽肉类（含内脏）及花生、坚果与籽类试样的微波消解程序见表 4，消解完全后，用水将消解液转移定容至 25 mL，混匀备用，同时做 2 个试剂空白。

表 2 不同基质样品的称样量

样品类型	称样量
萝卜、茄子、南瓜、辣椒、西葫芦、菜花、马铃薯、山药、桃、梨、苹果等蔬菜水果	1~2 g
小白菜、韭菜、苦瓜等富含纤维的蔬菜	1~1.5 g
西瓜、火龙果、西红柿等富含水分的水果蔬菜	3~4 g
谷物及其制品	0.4~0.6 g
鲜食用菌	1.5 g
干食用菌（含竹荪和姬松茸等）	0.3~0.5 g
虾姑（或虾姑肌肉组织）	0.3~0.5 g
干枣或脆枣	0.5 g
鲜枣	1~1.5 g
贝类	0.3~0.5 g
鲜百合	0.8~1 g
干百合	0.4~0.6 g
畜禽肉类（含内脏）	0.3~0.5 g
坚果与籽类	0.3~0.4 g
黄豆	0.4~0.5 g
食糖	0.4~0.6 g

5.2.2 超高压微波消解：畜禽肉类（含内脏）及坚果与籽类试样也可采用超高压微波消解，称取一定量试样于超高压消解罐中，参考称样量如表 2 所示，加入 6 mL 硝酸，冷处理 1 h~2 h，加入 1 mL 过氧化氢，超高压微波消解程序见表 5，消解完全后，用水将消解液转移定容至 25 mL，混匀备用，同时做 2 个试剂空白。

5.2.3 苦丁茶样品消解：称取 0.25 g（精确到 0.001 g）试样于聚四氟乙烯消解罐

中，加入 6 mL 硝酸，放置 2 h，再加入 1 mL 过氧化氢和 0.5 mL 氢氟酸，旋紧罐盖，微波消解参考条件见表 3，消解完全后，90 °C 赶酸 1 h，用水将消解液转移定容至 25 mL，混匀备用，同时做 2 个试剂空白。

### 5.3 测定

#### 5.3.1 仪器参考条件

仪器参考条件见表 6。

采用碰撞反应池技术和干扰校正方程消除可能存在的质谱干扰，铅、镉、砷、钼、硒、钒等元素干扰方程见表 7。

#### 5.3.2 测定参考条件

当仪器真空度达到要求后，用调谐液调整仪器各项指标，使仪器灵敏度、氧化物、双电荷、分辨率等各项指标达到测定要求，编辑测定方法，选择各测定元素的质量数、内标元素，待测元素和内标元素的  $m/z$  见表 8。

#### 5.3.3 标准曲线绘制及样品测定

将待测元素标准系列溶液注入电感耦合等离子体质谱仪中，测定待测元素和内标元素的信号响应值，以待测元素的浓度为横坐标，待测元素与所选内标元素响应信号值的比值为纵坐标，绘制标准曲线。将空白溶液和试样溶液分别注入电感耦合等离子体质谱仪中，测定待测元素和内标元素的信号响应值，根据标准曲线得到消解液中待测元素的浓度。

## 6 计算

试样中待测元素的含量按照式（1）计算：

$$X = \frac{(c - c_0) \times V \times f}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$X$  一试样中待测元素的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

$c$  一试样溶液中待测元素测定值，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

$c_0$  一试样空白液中待测元素测定值，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

$V$  一试样消化液定容体积，单位为毫升（mL）；

$f$  一试样稀释倍数；

$m$  一试样称取质量，单位为克（g）；

1000 一单位转换系数。

计算结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

本操作规程的精密度是指在重复条件下获得的两次独立测定结果的相对相差，样品中待测元素的含量大于 1.0 mg/kg 时，相对相差不超过 10%；小于或等于 1.0 mg/kg 且大于 0.1 mg/kg 时，相对相差不超过 15%；小于或等于 0.1 mg/kg 时，相对相差不超过 20%。

## 8 附表

### 8.1 微波消解参考条件

表 3 微波消解参考程序（一）

步骤	控制温度/°C	升温时间/min	恒温时间/min
1	120	5	5
2	160	5	10
3	190	5	25

表 4 微波消解参考程序（二）

步骤	控制温度/°C	升温时间/min	恒温时间/min
1	120	5	5
2	160	5	10
3	200	5	25

表 5 超高压微波消解参考程序

步骤	控制温度/°C	升温时间/min	压力/psi	恒温时间/min
1	120	8	800	5
2	160	5	800	10
3	200	5	800	20

### 8.2 仪器参考条件

表 6 电感耦合等离子体质谱仪参考条件

参数名称	参考值	参数名称	参考值
射频功率	1550 W	雾化器	高盐/同心雾化器
等离子体气流量	15 L/min	采样锥/截取锥	镍/铂锥

载气流量	0.80 L/min	采样深度	8 mm~10 mm
辅助气流量	0.3 L/min	采集模式	跳峰
氦气流量	4 mL/min ~ 5 mL/min	检测方式	自动
雾化室温度	2 °C	每峰测定点数	3
样品提升速率	0.3 r/s	重复次数	3

对于多原子离子和同量异位素干扰,需采用干扰校正方程对测定结果进行校正,钒、砷、硒、钼、镉、铟、铅等元素干扰校正方程可参见表 7。

表 7 元素干扰校正方程

同位素	推荐的校正方程
<sup>51</sup> V	$[^{51}\text{V}] = [51] + 0.353 \times [52] - 3.127 \times [53]$
<sup>75</sup> As	$[^{75}\text{As}] = [75] - 3.127 \times [77] + 2.549 \times [82]$
<sup>78</sup> Se	$[^{78}\text{Se}] = [78] - 0.1869 \times [76]$
<sup>82</sup> Se	$[^{82}\text{Se}] = [82] - 1.0078 \times [83]$
<sup>98m</sup> O	$[^{98\text{m}}\text{O}] = [98] - 0.146 \times [99]$
<sup>111</sup> Cd	$[^{111}\text{Cd}] = [111] - 1.073 \times [108] + 0.764 \times [106]$
<sup>115</sup> In	$[^{115}\text{In}] = [115] - 0.016 \times [118]$
<sup>208</sup> Pb	$[^{208}\text{Pb}] = [206] + [207] + [208]$

注 1: [X]为质量数 X 处的质谱信号强度-离子每秒计数值 (CPS)。

注 2: 标准模式下,以上干扰方程都可采用;

氦气模式下,可采用 <sup>82</sup>Se、<sup>115</sup>In 及 <sup>208</sup>Pb 的干扰方程。

表 8 推荐的分析元素质量及内标

元素	Mass	内标	元素	Mass	内标
Li	7	<sup>45</sup> Sc	B	11	<sup>45</sup> Sc
Na	23	<sup>45</sup> Sc	Mg	24	<sup>45</sup> Sc
Al	27	<sup>45</sup> Sc	K	39	<sup>45</sup> Sc
Ca	43、44	<sup>45</sup> Sc	V	51	<sup>45</sup> Sc
Cr	53	<sup>45</sup> Sc	Mn	55	<sup>45</sup> Sc
Fe	56、57	<sup>45</sup> Sc	Co	59	<sup>45</sup> Sc

元素	Mass	内标	元素	Mass	内标
Ni	60	$^{45}\text{Sc}$	Cu	63	$^{103}\text{Rh}/^{115}\text{In}$
Zn	66	$^{103}\text{Rh}/^{115}\text{In}$	As	75	$^{103}\text{Rh}/^{115}\text{In}$
Se	78、82	$^{103}\text{Rh}/^{115}\text{In}$	Rb	85	$^{103}\text{Rh}/^{115}\text{In}$
Sr	88	$^{103}\text{Rh}/^{115}\text{In}$	Mo	95	$^{103}\text{Rh}/^{115}\text{In}$
Cd	111	$^{103}\text{Rh}/^{115}\text{In}$	Sn	118、120	$^{103}\text{Rh}/^{115}\text{In}$
Sb	121、123	$^{103}\text{Rh}/^{115}\text{In}$	Ba	137	$^{103}\text{Rh}/^{115}\text{In}$
Hg	202	$^{209}\text{Bi}$	Pb	208	$^{209}\text{Bi}$

注 1：碰撞/反应模式下，Ca 选择 43、44 均可，Cr 选择 52、53 均可，Fe 选择 56、57 均可，Se 选择 78、82 均可，Sn 选择 118、120 均可；

注 2：标准模式下，Ca 选择 43，Cr 选择 53，Fe 选择 57，Se 选择 82，Sn 选择 120。

## 9 说明

### 9.1 不同仪器的适用性说明

电感耦合等离子体质谱仪具有灵敏度高、检出限低、线性范围宽、选择性好等优点，是目前元素分析主流方法之一。不同品牌的电感耦合等离子体质谱仪，使用前需进行仪器调谐，保证各项调谐指标符合要求后，方可进行实验，调谐指标参见表 9。

表 9 仪器调谐控制指标

项目	范围	RSD
灵	$^7\text{Li} > 30$	5%
敏	$^{89}\text{Y} > 100$	5%
度	$^{205}\text{Tl} > 60$	5%
(kCPS)		
氧化物	<2%	
双电荷	<3%	
质	Li (7): $7 \pm 0.1 \text{ amu}$	

---

量	Y (89): $89 \pm 0.1$ amu
轴	Tl (205): $205 \pm 0.1$ amu

---

注：调谐液浓度：1 ng/mL

## 9.2 关键试剂、标准品及耗材的原则性要求

本方法对所用试剂的纯度有着严格的要求，实验所用的水、硝酸、过氧化氢、氢氟酸必须保证纯度，建议使用优级纯及以上纯度的试剂。实验用水建议使用  $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$  的超纯水，硝酸可购买默克硝酸 (extra pure)，过氧化氢可购买国药集团化学试剂的优级纯，氢氟酸可购买默克氢氟酸 (Suprapur)。实验中所需试剂均需验收合格后使用。标准品建议购买经国家认证并授予证书的标准物质，保证溯源性。

## 9.3 实验准备过程中的关注点

食品中的多元素测定多为痕量分析，要防止样品在分析检测各环节被污染。玻璃器皿及聚四氟乙烯消解罐以硝酸溶液 (1+4) 浸泡 24 h 以上，用水及超纯水冲洗干净。浸泡器皿的硝酸溶液不能长期反复使用，要定期更换。其他设备也要保证洁净度，避免背景偏高影响灵敏度。

## 9.4 样品制备和前处理过程中的关注点

样品制备和前处理需确保所用试剂、容器、通风橱以及整个实验室环境的洁净。制备的样品要求均匀，制备过程不得被污染。

## 9.5 分析测定过程中的关注点

汞元素分析时，需单独配制标准溶液系列，不能与其他元素混合配制，且标准曲线最高浓度控制在  $3.0 \text{ ng/mL}$  以下，以减少汞在管壁上的吸附现象，标准系列现用现配。当测定汞含量较高的样品溶液后，建议采用 0.2% 半胱氨酸硝酸溶液、5% 硝酸溶液或含金的溶液依次清洗管路，以去除汞的记忆效应。

定量分析所使用的标准曲线的相关系数应  $\geq 0.999$ 。测定时样品溶液浓度须在标准曲线的浓度范围内，当样品溶液中元素含量过高时，需要适当稀释后再进行分析测定，确保测定的准确性。

建议在样品测定前、测定中、测定后采用水基体的有证标准物质考察仪器状

态,如采用水质铜、铅、锌、镉、镍与铬混合标准(GBZ-5009-88)考察轻、中、重质量数元素的准确性,保证样品测定时仪器状态正常。建议采用相同基体或相似基体有证标准物质作为多元素测定的质量控制样品,如米粉(NIST1568b)、菠菜粉(NIST1570)、茶叶(GBW10016)、大米粉成分分析标准物质(GBW(E)080684)、大虾生物成分分析标准物质(GBW10050)、牡蛎(NIST1566b)、牡蛎(GBW10068)、贻贝(GBW08571)、扇贝(GBW10024)、猪肉成分分析标准物质(GBW08552)、牛肉粉成分分析标准物质(GBW(E)100197)、鸡肉生物成分分析标准物质(GBW10018)、马铃薯粉中镉、铬、铅成分分析标准物质(GBW10182、GBW10183、GBW10184)、花生粉成分分析标准物质(GBW(E)100718)、花生粕中 49 种元素成分分析标准物质(GBW10239)、黄豆粉成分分析标准物质(GBW10190)等有证标准物质,标准物质的测定值应符合要求。在没有适宜的基体有证标准物质时可采用加标回收试验进行质量控制,建议加标回收率在 80%~120%范围内。

## 二、食品中铅测定的标准操作程序

### 1 适用范围

本规程适用于食品中铅含量的石墨炉原子吸收光度法测定。

当取样量为 0.5 g (或 2 mL), 定容体积为 10 mL 时, 本方法的检出限为 0.02 mg/kg (或 0.005 mg/L), 定量限为 0.04 mg/kg (或 0.01 mg/L)。

### 2 原理

试样消解处理后, 经石墨炉原子化, 在 283.3nm 处测定吸光度。在一定浓度范围内铅的吸光度值与铅含量成正比, 与标准系列比较定量。

### 3 试剂和材料

除非另有说明, 本方法所用试剂均为优级纯, 水为 GB/T 6682 规定的二级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 硝酸 (HNO<sub>3</sub>)。

3.1.2 高氯酸 (HClO<sub>4</sub>)。

3.1.3 磷酸二氢铵 (NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)。

3.1.4 硝酸钯[Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]。

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 硝酸溶液 (5+95): 量取 50 mL 硝酸, 缓慢加入到 950 mL 水中, 混匀。

3.2.2 硝酸溶液 (1+9): 量取 50 mL 硝酸, 缓慢加入到 450 mL 水中, 混匀。

3.2.3 磷酸二氢铵-硝酸钯溶液: 称取 0.02 g 硝酸钯, 加硝酸溶液 (1+9) 溶解后, 再加入 2 g 磷酸二氢铵, 溶解后用硝酸溶液 (5+95) 定容至 100 mL, 混匀。

#### 3.3 标准品

硝酸铅[Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, CAS 号: 10099-74-8]: 纯度>99.99%。或经国家认证并授予标准物质证书的一定浓度的铅标准溶液。

#### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 铅标准储备液 (1000 mg/L): 准确称取 1.5985 g (精确至 0.0001 g) 硝酸铅, 用少量硝酸溶液 (1+9) 溶解, 移入 1000 mL 容量瓶, 加水至刻度, 混匀。此溶液铅的质量浓度为 1 000 mg/L。

3.4.2 铅标准中间液（1 000  $\mu\text{g/L}$ ）：准确吸取铅标准储备液（1 000  $\text{mg/L}$ ）1.00 mL 于 10 mL 容量瓶中，加硝酸溶液（5+95）至刻度，混匀。再准确吸取上述溶液 1.00 mL 于 100 mL 容量瓶中，加硝酸溶液（5+95）至刻度，混匀。此溶液铅的质量浓度为 1 000  $\mu\text{g/L}$ 。

3.4.3 铅标准系列溶液：分别准确吸取铅标准中间液 0 mL、0.500 mL、1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL

和 4.00 mL 于 100 mL 容量瓶中，加硝酸溶液（5+95）至刻度，混匀。此系列溶液铬的质量浓度分别为 0  $\mu\text{g/L}$ 、5.00  $\mu\text{g/L}$ 、10.0  $\mu\text{g/L}$ 、20.0  $\mu\text{g/L}$ 、30.0  $\mu\text{g/L}$  和 40.0  $\mu\text{g/L}$ 。临用现配。

注：可根据仪器的灵敏度及样品中铬的实际含量确定标准系列溶液中铬的质量浓度。

## 4 仪器和设备

注：所有玻璃器皿及聚四氟乙烯消解内罐均需硝酸溶液（1+5）浸泡过夜，用自来水反复冲洗，最后用水冲洗干净。

4.1 原子吸收光谱仪：配石墨炉原子化器,附铅空心阴极灯。

4.2 分析天平：感量 0.1 mg 和 1 mg。

4.3 可调式电热炉。

4.4 可调式电热板。

4.5 微波消解系统：配聚四氟乙烯消解内罐。

4.6 恒温干燥箱。

4.7 压力消解罐：配聚四氟乙烯消解内罐。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样制备

#### 5.1.1 固态样品

##### 5.1.1.1 干样

豆类、谷物、菌类、茶叶、干制水果、焙烤食品等低含水量样品，取可食部分，必要时经高速粉碎机粉碎均匀；对于固体乳制品、蛋白粉、面粉等呈均匀状的粉状样品，摇匀。

### 5.1.1.2 鲜样

蔬菜、水果、水产品等高含水量样品必要时洗净，晾干，取可食部分匀浆均匀；对于肉类、蛋类等样品取可食部分匀浆均匀。

### 5.1.1.3 速冻及罐头食品

经解冻的速冻食品及罐头样品，取可食部分匀浆均匀。

### 5.1.2 液态样品

软饮料、调味品等样品摇匀。

### 5.1.3 半固态样品

搅拌均匀。

## 5.2 方法的试验条件

### 5.2.1 试样前处理

#### 5.2.1.1 湿式消解法

固体试样称取 0.2 g~3 g（精确至 0.001 g），液体试样准确移取或称取 0.500 mL（g）~5.00 mL（g）于带刻度消化管中，含乙醇或二氧化碳的样品先低温加热除去乙醇或二氧化碳，加入 10 mL 硝酸和 0.5 mL 高氯酸，在可调式电炉上消解（参考条件：120 °C/0.5 h~1 h、升至 180 °C/2 h~4 h、升至 200 °C~220 °C）。若消化液呈棕褐色，冷却后，再加少量硝酸，消解至冒白烟，消化液呈无色透明或略带黄色，赶酸至 0.5 mL 左右后取出消化管，冷却后用水定容至 10 mL 或 25 mL，混匀备用。同时做空白试验。亦可采用锥形瓶，于可调式电热板上，按上述操作方法进行湿法消解。

#### 5.2.1.2 微波消解法

固体试样称取 0.2 g~0.5 g（精确至 0.001 g，含水分较多的样品可适当增加取样量至 1 g），液体试样准确移取或称取 0.500 mL（g）~3.00 mL（g）于微波消解罐中，含乙醇或二氧化碳的样品先低温加热除去乙醇或二氧化碳，加入 5 mL~10 mL 硝酸，按照微波消解的操作步骤消解试样，消解条件参考表 1。必要时，在加酸后加盖放置 1 h 或过夜后再按照微波消解的操作步骤消解试样。冷却后取出消解罐，于 140 °C~160 °C 赶酸至 1 mL 左右。消解罐放冷后，将消化液转移至 10 mL 或 25 mL 容量瓶中，用少量水洗涤消解罐 2 次~3 次，合并洗涤液于容量瓶中并用水定容至刻度，混匀备用。同时做空白试验。

### 5.2.1.3 压力罐消解法

固体试样称取 0.2 g~1 g (精确至 0.001 g, 含水分较多的样品可适当增加取样量至 2 g), 液体试样准确移取或称取 0.500 mL (g) ~5.00 mL (g) 于消解内罐中, 含乙醇或二氧化碳的样品先低温加热除去乙醇或二氧化碳, 加入 5 mL~10 mL 硝酸。盖好内盖, 旋紧不锈钢外套, 放入恒温干燥箱, 于 140 °C~160 °C 下保持 4 h~5 h。必要时, 在加酸后加盖放置 1 h 或过夜后再旋紧不锈钢外套, 放入恒温干燥箱消解试样。冷却后缓慢旋松不锈钢外套, 取出消解内罐, 于 140 °C~160 °C 赶酸至 1 mL 左右。冷却后将消化液转移至 10 mL 或 25 mL 容量瓶中, 用少量水洗涤内罐和内盖 2~3 次, 合并洗涤液于容量瓶中并用水定容至刻度, 混匀备用。同时做空白试验。

### 5.3 仪器参考条件

仪器操作条件参见表 1、表 2。微波消解升温程序见表 1, 石墨炉原子吸收光谱法仪器参考条件见表 2。

表 1 微波消解升温程序

步骤	设定温度 °C	升温时间 min	恒温时间 min
1	120	5	5
2	160	5	10
3	180	5	10

表 2 石墨炉原子吸收光谱法仪器参考条件

元素	波长 nm	狭缝 nm	灯电流 mA	干燥 °C/s	灰化 °C/s	原子化 °C/s
铅	283.3	0.5	8~12	85~120/40~50	750/20~30	2300/4~5

### 5.4 标准曲线的制作

按质量浓度由低到高的顺序分别取 10 μL 标准系列溶液、5 μL 磷酸二氢铵-硝酸钡溶液 (可根据使用仪器选择最佳进样量), 同时注入石墨管, 原子化后测其吸光度值, 以质量浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制标准曲线。

### 5.5 试样溶液的测定

在测定标准曲线的相同实验条件下，吸取10 μL空白溶液或试样消化液、5 μL磷酸二氢铵-硝酸钼溶液（可根据使用仪器选择最佳进样量），同时注入石墨管，原子化后测其吸光度值。根据标准曲线得到待测液中铅的质量浓度。若测定结果超出标准曲线范围，用硝酸溶液（5+95）稀释后测定。

## 6 分析结果的表述

试样中铅的含量按公式（1）计算：

$$X = \frac{(\rho - \rho_0) \times f \times V}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——试样中铅的含量，单位为毫克每千克或毫克每升（mg/kg 或 mg/L）；

ρ ——试样消化液中铅的质量浓度，单位为微克每升（μg/L）；

ρ<sub>0</sub> ——空白溶液中铅的质量浓度，单位为微克每升（μg/L）；

V ——试样消化液定容体积，单位为毫升（mL）；

f ——稀释倍数；

m ——试样质量或体积，单位为克或毫升（g 或 mL）；

1 000 ——换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

试样中铅含量>1 mg/kg 或 mg/L 时，在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%；0.1 mg/kg 或 mg/L<试样中铅含量≤1 mg/kg 或 mg/L 时，在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15%。试样中铅含量≤0.1 mg/kg 或 mg/L 时，在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

## 8 说明

### 8.1 污染的控制

对于微量和痕量元素分析，试样制备和前处理过程中外来污染是分析测试中的突出问题，无论尘埃、气流和其他污染源都会对试样造成污染并产生测量误差，因此要始终保持实验室中试剂、容器、通风橱以及环境的洁净。实验前应先做空

白实验以此了解各种试剂的重金属含量。分析器皿储存溶液的材料对金属痕量分析重要性按以下次序递减：聚四氟乙烯>聚乙烯>石英>铂>硬质玻璃，最好使用（如聚四氟乙烯或聚乙烯）储存待测溶液和试剂。由于玻璃器皿中重金属的溶出量较高，因此要少用玻璃器皿。本实验室在食品安全风险监测中，以聚四氟乙烯罐消解、聚四氟乙烯瓶储存酸以及一次性的聚乙烯塑料管定容来进行铅痕量分析，标准溶液和其它试剂的配置和储存也是采用塑料材料的容器和移液器。例如，使用玻璃器皿作为消解容器时，铅的空白值一般在  $2\ \mu\text{g/L}$ - $5\ \mu\text{g/L}$ ，使用聚四氟乙烯材料的作为消解容器时，铅的空白值一般在  $0.1\ \mu\text{g/L}$ - $1\ \mu\text{g/L}$ 。

## 8.2 试样前处理条件的选择和优化

### 8.2.1 湿法消解

硬质玻璃消解管湿法消解的优点：①圆底的玻璃试管使得消化液受热均匀，不容易暴沸；②较长的试管具有空气冷凝作用，耗酸量少；③有刻度，消化完全后可直接定容，减少损失和污染；④具有标准口径，可加冷凝管，用于沸点较低的金属及其有机物样品消解；⑤对于大批量样品的监测，该方法的实用性、稳定性和安全性都比较好。缺点是：敞开消化，应注意保持实验室和通风橱的整洁，防止可能引起的污染和损失。

采用 20+1 或 40+1 的硝酸和高氯酸比例的混合酸有较为安全、实用和有效的消解效果。而含高氯酸高比例的体系（如 4+1），不易赶酸对上机测试可能带来较多的干扰和影响，高沸点的高氯酸残留不利于仪器的使用和维护。而恰当比例混合酸既能保持消解体系的强氧化能力，也可通过高氯酸分解冒白烟指示样品消解完全，反应到达终点。

湿式消解要注意：①既使样品消解完全和充分，又要避免损失和特殊情况发生；②消解开始和结束前应经常注意观察；③某些样品刚加热就会激烈反应，起泡上冲，应及时取出自动电热消化器避免消解液溢出消解管；④低级醇类的食品样品，如香精、酒类和汽水等液体样品，需加热样品挥发醇类，再加入酸消解，否则容易发生剧烈反应；⑤若样品中有机强还原性物质未完全反应时，应注意保持消解液 1~2 mL，不要消化至干，以防爆炸。

经过实验研究和应用后发现湿法消解中 10 mL 硝酸+0.5 mL 高氯酸作为混合消解酸体系是合适的。通过对各种酸及浓度系列溶液进行加标回收实验（铅浓度

为 20  $\mu\text{g/L}$ ), 研究各种酸对测定结果的影响, 发现在硝酸酸度在 5% 以下, 高氯酸酸度在 0.5% 以下, 测定结果没有影响; 而随着盐酸和硫酸酸度的增加, 铅含量的测定结果逐渐变小, 回收率下降。因此硝酸、高氯酸可作为食品中铅测定的消解用酸, 盐酸和硫酸不适合用作消化试剂。

### 8.2.2 微波消解

微波消解的优点是: ①样品消解快速均匀, 密闭反应提高了压力, 消解温度较高, 消解进程加快; ②耗酸量少, 避免了待测元素挥发损失和污染, 提高了分析的准确度和精密密度; ③降低了劳动强度, 改善了工作环境。微波消解要注意: ①不用高氯酸做消解酸; ②样品定容时, 要用水清洗 1~2 次与消解液接触的内盖, 并与消解罐中消解液合并转移至聚乙烯塑料管; ③要尽可能的赶酸, 保持较低的酸度降低测定干扰。

### 8.2.3 压力罐消解法

高压消解罐消解是在常压湿消化法的基础上密封加压, 利用外部加热, 在密闭的消解罐内产生高温高压来达到快速消解难溶物质的目的, 它能防止消解溶剂和挥发性元素的损失, 同时也降低了环境污染。该方法的优点为: 样品分解能力强; 避免易挥发元素气化损失, 容易控制污染; 酸用量减少。

## 8.3 高盐食品中铅的测定

对高盐食品中的铅的测定, 实验结果阐明了氯化钠对石墨炉法测定铅的两种共同作用的基体干扰模式: 氯化铅汽化损失(负干扰)和氯化钠分子吸收(正干扰), 实验同时优选了铅测定的波长、基体改进剂、升温程序和校正方式, 结果表明样品经消解或液体样品经直接稀释后, 经石墨炉原子化, 采用硝酸钡-磷酸二氢铵混合溶液作为基体改进剂, 利用标准加入法在 283.3 nm 处测定, 结果满足 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范食品理化检测》的技术要求, 该方法能满足大部分高盐食品中铅的检测要求。

### 三、 食品中镉测定的标准操作程序

#### 1 适用范围

本规程适用于食品中镉的石墨炉原子吸收光度法测定。

本规程的方法检出限 (LOD): 当称样量 1 g, 定容体积 25 mL 时, 检出限为 0.001 mg/kg。

#### 2 原理

试样经酸消解或灰化后, 注入原子吸收分光光度计石墨炉中, 电热原子化后吸收 228.8nm 共振线, 在一定浓度范围, 其吸收值与镉含量成正比, 与标准系列比较定量。

#### 3 试剂和材料

实验用水为 GB/T 6682 的一级水, 所用试剂均为优级纯或优级纯以上, 且镉本底值低的试剂。

3.1 硝酸 (HNO<sub>3</sub>)。

3.2 高氯酸 (HClO<sub>4</sub>)。

3.3 磷酸二氢铵 (NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)。

3.4 硝酸-高氯酸混合溶液 (9+1): 量取 9 份硝酸与 1 份高氯酸混合。

3.5 硝酸溶液 (0.5 mol/L): 量取 31.5 mL 硝酸加入 500 mL 水中, 稀释到 1000 mL, 混匀。

3.6 磷酸二氢铵溶液 (20 g/L): 称取磷酸二氢铵 2.0 g, 用硝酸溶液 (0.5 mol/L) 溶解并定容到 100 mL, 混匀。

##### 3.7 镉标准储备液

经国家认证并授予标准物质证书的一定浓度的镉标准溶液, 于冰箱中 4℃ 保存, 使用时应严格按证书要求使用。

##### 3.8 镉标准使用液 (100 ng/mL)

准确吸取镉标准储备液, 用硝酸溶液 (0.5 mol/L) 逐级稀释成浓度为 100 ng/mL 的镉标准使用液。于 4℃ 冰箱中保存, 可稳定 1 个月。

##### 3.9 标准系列溶液的配制

分别吸取镉标准使用液 0 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL 于 100 mL 容量瓶中，用硝酸溶液（0.5 mol/L）稀释至刻度，摇匀，配制成镉浓度为 0 ng/mL、0.50 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、3.0 ng/mL、4.0 ng/mL 的标准系列溶液，可根据样品含量调整标准系列浓度。标准系列临用前现配。

#### 4 仪器和设备

所用玻璃器皿、消解内罐均需以硝酸溶液（1+4）浸泡过夜，用自来水反复冲洗，最后用去离子水冲洗干净。

4.1 原子吸收分光光度计：配石墨炉原子化器，镉空心阴极灯。

4.2 电子天平：感量为 1 mg。

4.3 可调式电热消解装置及配套消解瓶。

4.4 微波消解系统及其配套的聚四氟乙烯消解罐。

4.5 恒温干燥箱。

4.6 压力消解罐：配聚四氟乙烯消解内罐。

#### 5 分析步骤

##### 5.1 试样预处理

###### 5.1.1 干样

豆类、谷物、坚果、茶叶、干制蔬菜、干制水果、焙烤食品等低含水量样品，取可食部分，经高速粉碎机粉碎均匀，过 40 目筛，对于固体乳制品、蛋白粉、面粉等呈均匀状的粉状样品，摇匀。

###### 5.1.2 湿样

蔬菜、水果、水产品等高含水量样品必要时洗净，晾干，取可食部分匀浆均匀；肉类、蛋类、罐头、及经解冻的速冻食品等样品取可食部分匀浆均匀。

###### 5.1.3 液体样品和半固体样品

摇匀或搅拌均匀。

##### 5.2 试样消解（可根据实验室条件选用以下任何一种方法消解）

###### 5.2.1 湿式消解法

称取 0.3 g~5 g 均匀试样（精确至 0.001 g）（根据样品种类、食品限量标准而定。建议干样称取 0.3 g~1 g、湿样 1 g~2 g、液体样品 2 g~5 g、油脂等难消

解试样 0.3 g~0.5 g) 于消解瓶中, 放数粒玻璃珠。含酒精的试样和碳酸饮料取样后先低温加热去除乙醇或二氧化碳。加硝酸-高氯酸混合溶液 10 mL, 加盖浸泡过夜。置于可调式电热消解装置上消解, 先低温消解 1 h~2 h, 再升温消解。若出现炭化(变棕黑色)趋势, 应立即取下, 再补加适量硝酸, 继续消解, 直至冒白烟, 消化液呈无色透明或略带黄色。待自然冷却至室温, 加少量水继续加热, 直至冒白烟, 赶除剩余酸和氮氧化物。冷却后将试样消化液全部转入 10 mL 或 25 mL 容量瓶中, 用水少量多次清洗消解瓶, 洗涤液合并至容量瓶中并定容至刻度, 混匀备用。同时做试剂空白试验。

### 5.2.2 微波消解法

称取 0.2 g~3 g 均匀试样(精确至 0.001 g)(根据样品种类、食品限量标准而定。建议干样称取 0.2 g~0.5 g、湿样 0.3 g~1.0 g、液体试样 1.0 g~3.0 g、油脂等难消解试样 0.2 g~0.5 g), 置于消解内罐中, 含酒精的试样和碳酸饮料取样后必须先是在电热板上加热去除乙醇或二氧化碳, 加硝酸 5 mL~8 mL, 加盖放置 1 h 或过夜, 旋紧罐盖, 按照微波消解的操作步骤消解试样, 消解结束, 冷却至室温, 缓慢打开罐盖排气, 用少量水冲洗内盖, 将消解内罐放在控温电热板上 140℃~160℃加热赶酸至 1 mL 左右, 将消化液转移至 10 mL 容量瓶中, 用水少量多次冲洗消解内罐, 洗涤液合并于容量瓶中并定容至刻度, 混匀备用。同时做试剂空白试验。

### 5.2.3 压力消解罐消解法

称取 0.2 g~3 g 均匀试样(精确至 0.001 g)(根据样品种类、食品限量标准而定。建议干样称取 0.2 g~0.5 g、湿样 0.3 g~1 g、液体试样 1.0 g~3.0 g、油脂等难消解试样 0.2 g~0.5 g), 置于消解内罐中。含酒精的试样和碳酸饮料取样后必须先是在电热板上加热去除乙醇或二氧化碳, 加入 5 mL~8 mL 硝酸, 加盖放置 1 h 或过夜, 旋紧不锈钢外套, 放入恒温干燥箱, 140℃~160℃下保持 4 h~5 h。冷却至室温, 缓慢旋松不锈钢外套, 将消解内罐取出, 用少量水冲洗内盖, 将消解内罐放在控温电热板上 140℃~160℃加热赶酸至 1 mL 左右, 将消化液转移至 10 mL 容量瓶中, 用水少量多次冲洗消解内罐, 洗涤液合并于容量瓶中并定容至刻度, 混匀备用。同时做试剂空白试验。

## 5.3 测定

### 5.3.1 仪器参考条件

根据所用仪器型号，将仪器调试至最佳状态。参考条件如下：

- a) 波长：228.8 nm
- b) 狭缝：0.4 nm~1.3 nm
- c) 灯电流：5 mA~7 mA
- d) 干燥温度：120℃，20 s~30 s
- e) 灰化温度：300℃~500℃，15 s~20 s
- f) 原子化温度：1700℃~2000℃，4 s~5 s
- g) 背景校正：氘灯或塞曼效应

### 5.3.2 标准曲线绘制及样品测定

#### 5.3.2.1 标准曲线绘制

按浓度由低到高的顺序吸取镉标准系列溶液各 20 μL，依次注入石墨炉，分别测定吸光度值，绘制标准曲线。

#### 5.3.2.2 样品测定

分别吸取试剂空白液和试样溶液各 20 μL 注入石墨炉，测定吸光度值，得到测定液中镉的浓度，若测定结果超出标准曲线范围，用 0.5 mol/L 硝酸溶液稀释后再行测定。

在测定过程中，建议每测定 10~20 个样品用镉标准溶液或标准物质检查仪器的稳定性。

### 5.3.3 基体改进剂的使用

对有干扰的试样，测定中须注入适量的基体改进剂（20 g/L）磷酸二氢铵溶液（一般为 5 μL）消除干扰。制备镉标准曲线时也要加入与试样测定时等量的基体改进剂。

## 6 分析结果的表述

试样中镉含量按式（1）进行计算。

$$X = \frac{(c - c_0) \times V \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \times f \dots \dots \dots (1)$$

式中：

X——试样中镉的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

$c$ ——测定样液中镉的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

$c_0$ ——空白液中镉的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

$V$ ——样品消化液的定容体积，单位为毫升（mL）；

$m$ ——试样称样量，单位为克（g）；

$f$ ——稀释倍数；

1000——换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

## 8 说明

### 8.1 不同仪器的适用性说明

原子吸收法具有干扰少、准确、操作简便、灵敏度高（火焰法可测 mg/kg 级，石墨炉法可测  $\mu\text{g/kg}$  级）、测定含量范围广，适于微量分析等优点。但是原子吸收法不适合测定金属含量非常高的样品，因稀释倍数过大而增加误差，特别是石墨炉法，一旦炉体严重污染，记忆效应将影响以后样品的测定（必须空烧几次彻底清除）。原子吸收分光光度计型号不同，使用时必须按操作说明书进行，所用标准溶液也应按仪器灵敏度进行适当调整。石墨炉原子吸收仪在进样时，适当的深度和左右位置非常关键，进样一定要准确并稳定，进样口要干净。升温程序和基改剂要实用和科学。

### 8.2 关键试剂、标准品及耗材的原则性要求

食品中镉的测定属于痕量分析，空白值的大小与稳定性在很大程度上影响方法的检出限和准确度，所以要求整个实验空白要很低，消解溶剂及其它试剂和水要尽可能镉本底含量低，所用试剂应选用优级或以上纯度，如果没有符合纯度要求的试剂，可进行提纯，但在提纯过程中，要注意避免溶剂二次沾污的可能性。水应使用蒸馏水再经离子交换树脂处理的水，必要时用全玻蒸馏器重新蒸馏。玻璃器皿和消解内罐要泡酸，其他设备也要尽可能的洁净。标准品必须可溯源（有证标准物质）。

### 8.3 实验前需要注意的关键点

要确保实验室环境清洁，避免实验过程中环境因素带来的测量误差。浸泡玻璃器皿的硝酸溶液不能长期反复使用，要定期更换。玻璃器皿及消解内罐均需以硝酸溶液（1+4）浸泡 24h 以上，用自来水反复冲洗，最后用去离子水冲洗干净。容量瓶清洗时不能用毛刷摩擦内壁。容量瓶、移液管清洗后不要高温烘干。配制酸溶液时要注意安全，酸要缓慢加入水中并不断搅拌，切记不要水向酸中加。

### 8.4 样品制备和前处理过程需要注意的关键点

样品制备和取样时要有代表性、均匀和无污染，取样量要按照检测限和卫生指标综合考虑。含酒精的样品和碳酸饮料消解前要先去除乙醇和二氧化碳再加酸，样品消解前最好进行预处理（放置过夜或低温处理等）。湿法消解要及时补酸避免出现炭化造成镉的损失。微波消解时同一批次消解的试样要基质相近，避免因基质相差太大造成微波吸收不均匀，引起炸罐风险。消解液要尽可能的赶酸，保持较低的酸度降低测定干扰。

### 8.5 仪器检测过程中需要注意的关键点

所使用的标准曲线吸光度值与浓度的相关系数应 $\geq 0.995$ 。利用标准曲线测定样品浓度时，样品浓度必须在标准曲线的浓度范围内，否则要稀释，不得将标准曲线任意外延。测定时要选择适合的有证标准物质进行质量控制，选择质控样时要尽量选择基质相近的，每批样品至少分析 1 个质量控制样品，标准物质的测定值应在标准物质证书给定的范围内。如找不到适合的质控样要进行加标回收试验。加标回收试验：称取与样品量相同的样品，加入一定浓度的镉标准溶液，然后将其与样品同时消化进行测定，计算加标回收率。每 10 个样品测定 1 个加标回收率，若样品量少于 10 个，至少测定 1 个加标回收率，本法加标回收率参考值在 85%~115%之间。

### 8.6 其他需要注意的问题

镉是易挥发元素，通常食品样品中的镉在灰化温度超过 300℃时就会出现损失。在食品样品溶液中，加入基体改进剂可使镉元素形成热稳定化合物，更好的进行镉元素的测定，磷酸二氢铵、硝酸钡、磷酸铵均对提高镉的灰化温度有明显作用。加入 10 g/L 磷酸二氢胺基体改进剂使镉的灰化温度提高，NaCl 分子挥发温度降低，因此可消除 NaCl 分子的干扰降低背景吸收，保证测定结果的准确。

## 四、食品中总汞测定的标准操作程序

### 1 适用范围

本规程规定了食品中总汞的原子荧光光谱分析法。

本规程的方法检出限 (LOD): 当称样量 0.5 g, 定容体积 25 mL 时, 检出限为 0.001 mg/kg。

### 2 原理

试样经消解后, 在酸性介质中, 试样中的汞被硼氢化钾还原成原子态汞, 由氙气载入石英原子化器中, 在特制汞空心阴极灯照射下, 基态汞原子被激发至高能态, 在去活化回到基态时, 发射出特征波长的荧光, 其荧光强度与汞含量成正比, 与标准系列比较定量。

### 3 试剂

以下实验试剂除特别说明外均为优级纯, 实验用水为 GB/T 6682 的一级水。

3.1 硝酸 (HNO<sub>3</sub>)。

3.2 氢氧化钾 (KOH)。

3.3 硼氢化钾 (KBH<sub>4</sub>), 分析纯。

3.4 氢氧化钾溶液 (5 g/L): 称取氢氧化钾 5.0 g 溶于 1000 mL 水中, 混匀。

3.5 硼氢化钾溶液 (5 g/L): 称取硼氢化钾 5.0 g, 溶于 5 g/L 氢氧化钾溶液 1000 mL 中, 混匀。临用现配。

3.6 硝酸溶液 (1+9): 量取硝酸 100 mL, 缓慢倒入 900 mL 水中, 混匀。

3.7 硝酸溶液 (5+95): 量取 50 mL 硝酸, 缓慢加入 950 mL 水中, 混匀。

3.8 汞标准储备液

经国家认证并授予标准物质证书的一定浓度的汞标准溶液。于冰箱中 4℃ 保存, 使用时应严格按证书要求使用。

3.9 汞标准使用液 (50 ng/mL)

用硝酸溶液 (5+95) 将汞标准储备液进行适当稀释, 配制成 50 ng/mL 的汞标准使用液。临用现配。

3.10 汞标准系列溶液

分别吸取 50 ng/mL 汞标准使用液 0 mL、0.20 mL、0.50 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL 于 50 mL 容量瓶中，用硝酸溶液（1+9）稀释至刻度，混匀。各自相当于汞浓度为 0 ng/mL、0.20 ng/mL、0.50 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、3.0 ng/mL。标准系列浓度可根据实际样品的含量适当调整。标准系列临用前现配。

#### 4 仪器与耗材

- 4.1 原子荧光光谱仪及汞空心阴极灯。
- 4.2 微波消解仪，配有聚四氟乙烯消解内罐。
- 4.3 压力消解器，配有聚四氟乙烯消解内罐。
- 4.4 恒温干燥箱。
- 4.5 控温电热板。
- 4.6 超声水浴箱。
- 4.7 电子天平：感量为 1 mg。
- 4.8 匀浆机。
- 4.9 高速粉碎机。

注：玻璃器皿、消解内罐均需以硝酸溶液(1+4)浸泡 24h，用自来水反复冲洗，最后用去离子水冲洗干净。

#### 5 操作步骤

##### 5.1 试样预处理

###### 5.1.1 干样

豆类、谷物、坚果、茶叶、干制蔬菜、干制水果、焙烤食品等低含水量样品，取可食部分，经高速粉碎机粉碎均匀，过 40 目筛，对于固体乳制品、蛋白粉、面粉等呈均匀状的粉状样品，摇匀。

###### 5.1.2 湿样

蔬菜、水果、水产品等高含水量样品必要时洗净，晾干，取可食部分匀浆均匀；肉类、蛋类、罐头、及经解冻的速冻食品等样品取可食部分匀浆均匀。

###### 5.1.3 液体样品和半固体样品

摇匀或搅拌均匀。

##### 5.2 试样消解（可根据实验室条件选用以下任何一种方法消解）

###### 5.2.1 微波消解法

称取 0.2 g~3 g 均匀试样（精确至 0.001 g）（根据样品种类、食品限量标准而定。建议干样称取 0.2 g~0.5 g、湿样 0.3 g~1.0 g、液体试样 1.0 g~3.0 g、油脂等难消解的试样 0.2~0.5 g），置于消解内罐中。含酒精的试样和碳酸饮料取样后必须先在不超 70℃ 条件下（控温电热板或超声水浴）去除乙醇或二氧化碳。加入 5 mL 硝酸，加盖放置 1h 或过夜。旋紧罐盖，按微波消解仪的消解程序进行消解。消解结束，冷却至室温，将消解内罐取出，缓慢打开罐盖排气，用少量水冲洗内盖，将消解内罐放在控温电热板上 70℃ 加热，或超声水浴中脱气，赶走棕色氮氧化物。将消化液转入 25 mL 容量瓶中，用水少量多次洗涤内罐，洗涤液合并于容量瓶中并定容至刻度，混匀备用。同时做空白试验。

### 5.2.2 压力罐消解法

称取 0.2 g~3 g 均匀试样（精确至 0.001 g）（根据样品种类、食品限量标准而定。建议干样称取 0.2 g~0.5 g、湿样 0.3 g~1.0 g、液体试样 1.0 g~3.0 g、油脂等难消解的试样 0.2 g~0.5 g），置于消解内罐中。含酒精的试样和碳酸饮料取样后必须先在不超 70℃ 条件下（控温电热板或超声水浴）去除乙醇或二氧化碳。加入 5 mL 硝酸，加盖放置 1h 或过夜。旋紧不锈钢外套，放入恒温干燥箱，140℃~160℃ 下保持 4h~5h。消解结束，冷却至室温，缓慢旋松不锈钢外套，将消解内罐取出，用少量水冲洗内盖，将消解内罐放在控温电热板上 70℃ 加热，或超声水浴中脱气，赶走棕色氮氧化物。将消化液转入 25 mL 容量瓶中，用水少量多次洗涤内罐，洗涤液合并于容量瓶中并定容至刻度，混匀备用。同时做空白试验。

## 5.3 测定

### 5.3.1 仪器参考条件

根据所用仪器型号，将仪器调试至最佳状态。参考条件如下：

- a) 光电倍增管负高压：240 V
- b) 汞空心阴极灯电流：30 mA
- c) 原子化器温度：300℃
- d) 载气流量：400 mL/min
- e) 屏蔽气流量：900 mL/min

### 5.3.2 标准曲线绘制及样品测定

设定仪器最佳条件，连续用硝酸溶液（1+9）进样，待读数稳定之后，转入标准系列溶液测量，绘制标准曲线。然后转入试样测量，先用硝酸溶液（1+9）进样，使读数基本回零，再分别测定试样空白和试样溶液的原子荧光强度，得到测定液中汞的浓度。。

在测定过程中，建议每测定 10~20 个样品用汞标准溶液或标准物质检查仪器的稳定性。

## 6 计算

试样中总汞含量按式（1）进行计算。

$$X = \frac{(c - c_0) \times V \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \times f \dots \dots \dots (1)$$

式中：

$X$  ——试样中汞的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

$c$  ——试样测定液中汞的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

$c_0$  ——空白液中汞的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

$V$  ——试样消化液的定容体积，单位为毫升（mL）；

$m$  ——试样称样量，单位为克（g）；

$f$  ——稀释倍数；

1000 ——换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

## 8 说明

### 8.1 不同仪器的适用性说明

原子荧光光谱法是公认的总汞测定的经典方法，具有特异性强、背景干扰低、灵敏度高、检测限低、线性范围宽等优点。原子荧光光谱法测定汞，影响噪音的主要因素有灯电流、负高压、载流、以及硼氢化钾浓度。灯电流、负高压和载流在满足灵敏度的情况下一般不推荐使用较高的设置。不同品牌的原子荧光光谱仪

型号不同，使用时需要按操作说明书进行，所用标准系列溶液也应按仪器灵敏度进行适当调整。

## 8.2 关键试剂、标准品及耗材的原则性要求

食品中的汞测定属痕量分析，空白值的大小与稳定性在很大程度上影响方法的检出限和准确度，以测定的试剂空白越低越好为原则。要求实验所用的水、酸、还原剂等试剂必须保证不含或少含汞元素。最好使用优级纯及以上试剂。水应使用蒸馏水再经离子交换树脂处理的水，必要时用全玻蒸馏器重新蒸馏。

标准品应购买经国家认证并授予证书的标准物质，具有可溯源性。汞标准使用液应临用现配。

为避免玻璃器皿对汞的吸附，最好使用塑料材质的容器储存汞标准溶液、试样溶液。有条件的实验室可使用一次性的塑料容器。

## 8.3 实验前需要注意的关键点

要确保所用试剂、容器、通风橱以及整个实验室环境的洁净，防止样品在检测各环节的污染及损失。实验所用器皿及消解内罐均需以硝酸溶液（1+4）浸泡 24h 以上，用水反复冲洗，最后用去离子水冲洗干净。其他设备也要尽可能的洁净。硝酸溶液（1+4）不能长期反复使用，要定期更换。配制酸溶液时要注意安全。

## 8.4 样品制备和前处理过程需要注意的关键点

样品制备和取样要有代表性、均匀和无污染；取样量要根据检测限和卫生指标综合考虑。含酒精的试样、碳酸饮料样品取样后必须先去除乙醇、二氧化碳。样品加酸后最好放置过夜后再消解。微波消解时同一批次消解的试样要基质相近，避免因基质相差太大造成微波吸收不均匀，引起炸罐风险。样品消解后消解罐放在控温电热板上赶氢氧化物的温度不要高于 70℃，以防汞的挥发损失。

## 8.5 仪器检测过程中需要注意的关键点

本方法中硼氢化钾仅将汞离子还原成汞蒸汽，与生成氢化物的测定方法比较，本法使用的硼氢化钾浓度较低。当硼氢化钾浓度>1%时测定灵敏度不会明显提高，而噪音却显著增加，同时基线波动变大，检测限变差，对低浓度汞的测定影响较大。硼氢化钾溶液应现用现配。盛放硼氢化钾的容器应为聚乙烯塑料材质，避免使用玻璃器皿。

仪器管路和实验中使用的器皿等内表面都会吸附汞，耗材应定期更换，气体发生器和石英加热管有条件可定期拆洗。如管路被汞污染，可用 5 mg/L EDTA 溶液、5 mg/L 金溶液与 HNO<sub>3</sub>（5+95）溶液依次清洗。

仪器测定时载气带出的水蒸汽对汞特征谱线有强烈吸收，原子化器温度在 200 °C~400 °C 能有效消除这种干扰。

定量分析所使用的标准曲线的相关系数应 $\geq 0.999$ ，定量时样品浓度必须在标准曲线的浓度范围内，如样品含量超出标准曲线范围，需要稀释样品溶液后再测定，不得将标准曲线任意外延。测定时尽可能选择相近基质的有证标准物质作为质量控制样品，标准物质的测定值应在标准物质证书给定的范围内。每批样品至少分析 1 个质量控制样品。没有合适的标准物质时再采用加标回收试验进行质量控制。加标回收试验：称取与样品量相同的样品，加入一定浓度的汞标准溶液，然后将其与样品同时消解后进行测定，计算加标回收率。每 10 个样品测定 1 个加标回收率，若样品量少于 10 个，至少测定 1 个加标回收率，加标回收率可接受的范围为 85%~115%之间。

## 五、 食品中总汞直接测定的标准操作程序

### 1 适用范围

本程序规定了各类食品中总汞含量测定的直接测定法。

本程序适用于各类食品中总汞的含量测定，当取样量 0.1 g，检出限为：0.0001 mg/kg，定量限为 0.0003 mg/kg。

### 2 原理

食品置于镍或石英样品舟中，进行干燥、炭化及高温灰化，汞经金齐化管富集，样品分解完成后瞬间加热齐化管破坏汞齐，汞蒸气进入比色池，吸收汞灯发射的特征谱线，其含量与吸光度之间的关系符合朗伯比尔定律，以外标法定量。

### 3 试剂和材料

除非另有规定，本方法所用试剂均为优级纯，水为 GB/T 6682 规定的二级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 硝酸（HNO<sub>3</sub>）。

3.1.2 重铬酸钾（K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>）。

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 硝酸溶液（5+95）：取 50 mL 硝酸，溶于 950 mL 水中，混匀。

3.2.2 硝酸溶液（1+9）：取 10 mL 硝酸，溶于 90 mL 水中，混匀。

3.2.3 重铬酸钾溶液（0.5 g/L）：称取 0.5 g 重铬酸钾，用硝酸溶液（5+95）溶解后稀释至 1000 mL。

#### 3.3 标准品

硝酸汞（Hg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>，CAS 号：127026-24-8）：纯度>99.99%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

#### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 汞标准储备液（1000 μg/mL）：精密称取 0.1708 g 硝酸汞，用 10 mL 硝酸溶液（1+9）溶解，稀释定容至 100 mL。

3.4.2 汞标准中间液（100 μg/mL）：准确移取 10.0 mL 汞标准储备液（3.4.1），用重铬酸钾溶液（3.2.3）稀释定容至 100 mL。

3.4.3 汞标准使用液（10.0 μg/mL）：准确移取 10.0 mL 汞标准中间液（3.4.2），用重铬酸钾溶液（3.2.3）稀释定容至 100 mL。

### 3.4.5 汞标准系列溶液

3.4.5.1 低浓度标准系列溶液：准确吸取汞标准使用液（3.4.3），用重铬酸钾的硝酸溶液（3.2.3）逐级稀释成浓度为 0 ng/mL、25.0 ng/mL、50.0 ng/mL、100 ng/mL、150 ng/mL、200 ng/mL、300 ng/mL 得到低浓度标准系列溶液。

3.4.5.2 高浓度标准系列溶液：准确吸取汞标准使用液（3.4.3），用重铬酸钾的硝酸溶液（3.2.3）逐级稀释成浓度为 0.500 μg/mL、0.750 μg/mL、1.00 μg/mL、1.50 μg/mL、2.00 μg/mL 得到高浓度标准系列溶液。

注：可根据仪器、量程或样品中汞的实际含量确定标准系列溶液中汞的质量浓度范围。

## 4 仪器与设备

4.1 直接汞测定仪。

4.2 电子天平：感量为 0.1 mg。

4.3 镍样品舟及石英样品舟。

4.4 马弗炉。

4.5 样品粉碎设备：匀浆机、高速粉碎机。

## 5 操作步骤

### 5.1 试样的预制备

#### 5.1.1 固态样品

##### 5.1.1.1 干样

豆类、谷物、菌类、茶叶、干制水果、焙烤食品等低含水量样品，取可食部分，必要时经高速粉碎机粉碎均匀（粒径达 425 μm 以下，相当于 40 目以上）；对于固体乳制品、蛋白粉、面粉等呈均匀状的粉状样品，摇匀。

##### 5.1.1.2 鲜样

蔬菜、水果、水产品等高含水量样品必要时洗净，晾干，取可食部分匀浆均匀；对于肉类、蛋类等样品取可食部分匀浆均匀。

##### 5.1.1.3 速冻及罐头食品

经解冻的速冻食品及罐头样品，取可食部分匀浆均匀。

#### 5.1.2 液态样品

软饮料、调味品等样品摇匀。

#### 5.1.3 半固态样品

搅拌均匀。

## 5.2 测定

### 5.2.1 参考升温程序

干燥温度：120 °C，干燥时间：120 s；预分解温度：300 °C，预分解时间：120 s；分解温度：650 °C，分解时间：180 s；汞齐热解时间：12 s。本条件能适应大多数样品的分析工作，实际工作中可根据样品类型、取样量和使用仪器的建议参数调整干燥、分解、汞齐热解等步骤的温度和时间以便达到最佳的分析效果。不同类型样品具体参考升温程序设置见 8.1 表 1。

### 5.2.2 样品舟净化

将样品舟中残留的样品灰烬处理干净后，可使用仪器自带加热程序或马弗炉高温灼烧（600 °C~800 °C）20 min 以上，去除汞残留。

### 5.2.3 标准曲线的制作

分别吸取 0.1 mL 的低浓度标准系列溶液（3.4.5.1）和高浓度标准系列溶液（3.4.5.2）置于样品舟中，低浓度标准系列汞质量为 0 ng、2.5 ng、5.0 ng、10.0 ng、20.0 ng、30.0 ng，高浓度标准系列汞质量为 50.0 ng、75.0 ng、100 ng、150 ng、200 ng，按仪器参考条件调整仪器到最佳状态，按照汞质量由低到高的顺序，依次进行标准系列溶液的测定，记录信号响应值。以各系列标准溶液中汞的质量（ng）为横坐标，以其对应的信号响应值为纵坐标，分别绘制低浓度或高浓度汞标准曲线。

## 5.3 样品测定

取样量通常控制在固体 0.1 g（准确至 0.1 mg）以下，液体 0.15 mL（准确至 0.001 mL）以下，同时汞测定值在 10 ng 以下，样品置样品舟中，水分含量高的样品须使用石英样品舟。

## 6 分析结果的表述

试样测定结果按下式计算：

$$X = \frac{\rho}{m \times 1000}$$

式中：

$X$  ——试样中总汞含量，mg/kg 或 mg/L；

$m$  ——试样取样量，g 或 mL；

$\rho$  ——试样液中汞的质量，ng。

计算结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两个独立测定结果的绝对相差不得超过算术平均值的 10%。

## 8 说明

### 8.1 升温程序的设置

仪器条件的设置应该保证样品在分解前干燥完全，在测定前分解完全，以确保测定时汞的损失最小。具体升温程序的设置参见表 1。

#### 8.1.1 液体样品

干燥时间应能保证样品中的挥发性成分在加热下蒸发完全，否则急速升温至 850°C 以上会因水分沸腾和样品热分解同时发生，反应过于剧烈而可能损坏催化管，也可能损坏进样装置与催化管之间的气密性造成分析结果偏低，同时缩短镍样品舟的使用寿命。所以在分析液体样品推荐使用化学性质相对惰性的石英样品舟。

#### 8.1.2 膏状及粘稠样品

此类样品中的可溶性固形物较多而且在加热过程中不断变化，加热干燥过程中水及其它低分子物质可能被固形物包裹其中不易完全挥发。为防止样品在快速升温至 650°C 以上时产生溅射导致汞损失，通常需要设定较长的干燥时间。

#### 8.1.3 以糖类为主的固体样品

糖类食品含有大量碳水化合物，在热分解过程中会产生水蒸汽会大大增加催化管内压力并对汞的谱线有强烈吸收，所以在干燥过程中必须完全除去样品中的水分子，该类样品选择的干燥时间在所有样品中是最长的。

#### 8.1.4 以蛋白质为主的固体样品

蛋白质分子量一般较大，含氮、硫等较多，分解相对较困难，应该选用较高的分解温度和较长的分解时间；以油脂为主的固体样品碳和氢含量高，碳链长，较难灰化完全，设置分解步骤时应选择更高的反应温度和更长的时间。

表 1. 不同类型样品升温程序设置参考参数

样品性状	液体样品	膏状及粘稠样品	固体样品		
			糖类为主	蛋白质为主	油脂为主
干燥温度,℃	100-120 60-80*	100-120	100-120	100-120	100-120
干燥时间,s	120-180	240	120	60	60
预分解温度,℃	/	/	300	300	300
预分解时间,s	/	/	200	120	120
分解温度,℃	650	650-700	650	700	750
分解时间,s	60	120-180	120	180	240

注：\*含乙醇等低沸点溶剂时

### 8.1.5 危险性样品

强酸、强碱、氧化性等种类样品不宜采用本法测定总汞，否则可能给操作者和仪器带来危险。

## 8.2 取样量

### 8.2.1 取样量的影响因素

取样量大小主要由汞含量、样品性状和有机物成分决定。现在执行的 GB2762-2022 规定的食品中汞限量指标为饮用天然矿泉水 0.001 mg/L，蔬菜、水果、鲜乳、薯类 0.01 mg/kg，婴幼儿罐装辅助食品、粮食 0.02 mg/kg，肉、蛋类（去壳）0.05 mg/kg。由于各类主要食品中汞的允许限量值很低，直接汞测定仪若测定其它含汞量较高的样品将会造成严重且难以清除的汞污染，分析食品中汞时要做到专机专用，取样量以控制汞含量在 10 ng 以下为佳，以免空白值升高，造成分析误差。

### 8.2.2 取样量的选择

无机类固体食品样品取样量最大可达 0.3 g，无机类液体食品样品最大为 0.20 mL；食品样品多以有机物为主，有机物越多对催化管、齐化管等部件的损耗就

越大。小分子有机固体样品取样量应小于 0.1 g，小分子有机液体样品如乙酸、乙醇等取样量应小于 0.1 mL；以糖类为主的样品取样量可在 0.05-0.1 g 之间；以蛋白质为主的样品取样量在 0.05 g 左右；以油脂为主的样品取样量应在 0.03 g 以下；其他含有较多复杂有机物的样品取样量也不要超过 0.03 g。对于成分和汞含量不明的样品要先进行预实验，取样量应控制在 0.03 g 以下。由于食品样品基体复杂，进样量有限，测定时应多做平行样以确保分析结果的代表性和可靠性。

### 8.3 取样量与升温程序

由于样品均匀性不足或样品中汞含量过低等原因需要增大取样量时，催化管内容易因剧烈反应发生小型爆炸（食物干粉样品容易发生），瞬间产生的大量气体冲破进样器与催化管之间的气密机构造成分析结果偏低。因此需要适当降低升温速度、延长干燥时间和预分解时间，以保证催化管内不发生爆炸。

### 8.4 质量控制

建议采用相同基体或相似基体有证标准物质作为总汞测定的质量控制样品，在样品测定前、测定中、测定后及时监控仪器状态。

## 六、食品中总砷测定的标准操作程序

### 1 适用范围

本规程适用于食品中总砷的氢化物原子荧光光度法测定。

本规程的方法检出限 (LOD): 当称样量 1 g, 定容体积 25 mL 时, 检出限为 0.01 mg/kg。

### 2 原理

试样经消解后, 加入硫脲和抗坏血酸混合试剂使五价砷预还原为三价砷, 再加入硼氢化钾溶液使还原生成砷化氢, 由氩气载入石英原子化器中分解为原子态砷, 在特制砷空心阴极灯的发射光激发下产生原子荧光, 其荧光强度在固定条件下与被测液中的砷浓度成正比, 采用标准曲线外标法定量。

### 3 试剂

实验用水为 GB/T 6682 的一级水, 所用试剂均为优级纯或优级纯以上, 且砷本底值低的试剂。

3.1 硝酸 (HNO<sub>3</sub>)。

3.2 盐酸 (HCl)。

3.3 高氯酸 (HClO<sub>4</sub>)。

3.4 硫酸 (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

3.5 氢氧化钾 (KOH)。

3.6 硼氢化钾 (KBH<sub>4</sub>), 分析纯。

3.7 硫脲 (CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S), 分析纯。

3.8 抗坏血酸 (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>)。

3.9 氢氧化钾溶液 (5 g/L): 称取氢氧化钾 5.0 g 溶于 1000 mL 纯水中, 混匀。

3.10 硼氢化钾溶液 (20 g/L): 称取硼氢化钾 20.0 g, 溶于 5 g/L 氢氧化钾溶液 1000 mL 中, 混匀。临用时现配。

3.11 硫脲+抗坏血酸溶液: 称取硫脲 10.0 g 溶于 100 mL 水中, 为加快硫脲的溶解可适当加热, 硫脲完全溶解后, 将硫脲溶液放凉后再加入 10.0 g 的抗坏血酸, 溶解混匀。临用现配。

3.12 盐酸溶液（3+97）：量取盐酸 30 mL，小心倒入 970 mL 水中，混匀。

3.13 硝酸溶液（2+98）：量取硝酸 20 mL，小心倒入 980 mL 水中，混匀。

### 3.14 砷标准储备液

经国家认证并授予标准物质证书的一定浓度的砷标准溶液，于冰箱中 4℃ 保存，使用时应严格按证书要求使用。

### 3.15 砷标准使用液（0.10 μg/mL）

准确吸取砷标准储备液，用硝酸溶液（2+98）逐级稀释成浓度为 0.10 μg/mL 的砷标准使用液。于 4℃ 冰箱中保存，可稳定 1 个月。

### 3.16 标准系列溶液的配制

取 25 mL 容量瓶 6 支，分别吸取砷标准使用液 0 mL、0.25 mL、0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL、2.5 mL，加入（1+1）硫酸溶液 2.5 mL，再加硫脲+抗坏血酸溶液 2.0 mL，加水定容至刻度，各自相当于砷浓度为 0 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、4.0 ng/mL、6.0 ng/mL、8.0 ng/mL、10.0 ng/mL，混匀放置 30 min 后测定。可根据样品含量调整标准系列浓度。标准系列临用前现配。

## 4 仪器与耗材

所用玻璃器皿均需以硝酸溶液（1+4）浸泡过夜，用自来水反复冲洗，最后用去离子水冲洗干净。

4.1 原子荧光光度计及砷空心阴极灯。

4.2 电子天平：感量为 1 mg。

4.3 控温电热板。

## 5 操作步骤

### 5.1 试样预处理

#### 5.1.1 干样

豆类、谷物、坚果、茶叶、干制蔬菜、干制水果、焙烤食品等低含水量样品，取可食部分，经高速粉碎机粉碎均匀，过 40 目筛，对于固体乳制品、蛋白粉、面粉等呈均匀状的粉状样品，摇匀。

#### 5.1.2 湿样

蔬菜、水果、水产品等高含水量样品必要时洗净，晾干，取可食部分匀浆均匀；肉类、蛋类、罐头、及经解冻的速冻食品等样品取可食部分匀浆均匀。

### 5.1.3 液体样品和半固体样品

摇匀或搅拌均匀。

## 5.2 湿法消解

称取 1.0 g~10.0 g 均匀试样（精确至 0.001 g）（根据样品种类、食品限量标准而定。建议干样称取 1.0 g~2.5 g、湿样 2.5 g~5.0 g、液体试样 5.0 g~10.0 g、油脂等难消解试样 0.5 g~1.0 g），置于 150 mL 的锥形瓶中，放数粒玻璃珠。含酒精的试样和碳酸饮料取样后必须先电热板上加热去除乙醇或二氧化碳。加硝酸 20 mL，高氯酸 1~2 mL，硫酸 1.25 mL，摇匀后放置过夜。置于电热板上加热消解。消解过程中应注意避免炭化，如有炭化倾向应立即取下，轻轻晃动，避免炭化加深。放冷后补加适量硝酸，再继续加热至消解完全后，再持续蒸发至高氯酸的白烟散尽，硫酸的白烟开始冒出。冷却后加水 10 mL，再蒸发至冒硫酸白烟。冷却，用水将内容物全部转移至 25 mL 容量瓶中，加入硫脲+抗坏血酸溶液 2 mL，补加水至刻度。混匀备用。同时做试剂空白试验。

## 5.3 测定

### 5.3.1 仪器参考条件

- a) 根据所用仪器型号，将仪器调试至最佳状态。参考条件如下：光电倍增管电压：270 V；
- b) 砷空心阴极灯电流：80 mA；
- c) 原子化器高度：8~9 mm；
- d) 载气流量：300 mL/min；
- e) 屏蔽气流量：600 mL/min；
- f) 读数方式：峰面积。

### 5.3.2 标准曲线绘制及样品测定

#### 5.3.2.1 标准曲线绘制

仪器预热稳定后，将试剂空白、标准系列溶液依次引入仪器进行原子荧光强度的测定。以原子荧光法强度为纵坐标，砷浓度为横坐标绘制标准曲线。

#### 5.3.2.2 样品测定

相同条件下，将样品溶液分别引入仪器，测定原子荧光强度，得到测定液中砷的浓度。

在测定过程中，建议每测定 10~20 个样品用砷标准溶液或标准物质检查仪器的稳定性。

## 6 计算

试样中总砷含量按式 (1) 进行计算。

$$X = \frac{(c - c_0) \times V}{m \times 1000} \times f \dots\dots\dots (1)$$

式中：X —— 试样中总砷的含量，单位为毫克每千克 (mg/kg)；

c —— 测定样液中砷的浓度，单位为纳克每毫升 (ng/mL)；

c<sub>0</sub> —— 空白液中砷的浓度，单位为纳克每毫升 (ng/mL)；

V —— 样品消化液的定容体积，单位为毫升 (mL)；

m —— 试样质量，单位为克 (g)；

f —— 稀释倍数。

1000 —— 换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

## 8 说明

### 8.1 不同仪器的适用性及参数选择说明

氢化物发生-原子荧光光谱法(HG-AFS)测定砷时，仪器要调整到最佳状态，使用型号不同仪器时必须按操作说明书进行，所用标准系列溶液也应按仪器灵敏度进行适当调整。氢化物发生-原子荧光光谱仪适合测定痕量砷，因为砷含量非常高的样品，因稀释倍数过大而增加误差，砷的记忆效应将影响以后样品的测定。

### 8.2 关键试剂、标准品及耗材的原则性要求

原子荧光光谱法属于痕量分析方法，所使用的各种试剂（不同种类、不同厂家、不同批次）均不同程度地含有待测的元素。应尽可能地选用优级纯及以上纯

度的试剂。标准品应购买经国家认证并授予证书的标准物质，具有可溯源性。

### 8.3 实验前需要注意的关键点

所用玻璃器皿均需要用硝酸(1+4)浸泡过夜，用自来水反复冲洗后用去离子水清洗干净，以免污染，尽可能降低试剂空白值，以利提高测定的准确性。

硼氢化钾的浓度对砷的测定有较大影响，应保证其配制浓度。配制硼氢化钾溶液时要先把氢氧化钾溶于水中，然后再将硼氢化钾溶解于氢氧化钾溶液中，应临用现配。盛放硼氢化钾溶液的容器应为聚乙烯塑料材质的，避免使用玻璃器皿。应避免阳光照射，以免还原剂分解产生较多的气泡，影响测定精度。

### 8.4 样品制备和前处理过程需要注意的关键点

由于测定时硝酸的存在会妨碍  $\text{AsH}_3$  的产生，对测定有干扰，消解完全后应尽可能加热驱除硝酸。消解样品应避免发生炭化，发生炭化会使砷严重损失。注意在消解过程中若消化液色泽变深应适当补加硝酸。

### 8.5 仪器检测过程中需要注意的关键点

测定时应注意样品液与标准液酸度要一致。

标准样和待测样用硫脲+抗坏血酸混合液将  $\text{As(V)}$  预还原至  $\text{As(III)}$ ，还原时间以 15 分钟以上为宜。其还原速度受温度影响较大，如室温低于  $15^\circ\text{C}$  时，应延长放置时间。由于硫脲+抗坏血酸的存在，30 余种共存元素在通常的含量范围内均不会对  $\text{AsH}_3$  的生成产生干扰。

应尽量选择与被测样品基质相同或相似的标准物质进行测定，标准物质的测定值应在标准物质证书给定的范围内。每批样品至少分析 1 个质量控制样品。没有合适的标准物质时可采用加标试验进行质量控制。

加标回收：称取 2 份平行样品，其中一份加入一定浓度的砷标准溶液，另一份作为本底测定，计算加标回收率。每批样品测定 1 个加标回收率，加标回收率可接受的范围为 80%~120%之间。

## 七、食品中总铬测定的标准操作程序

### 1 适用范围

本规程适用于食品中铬含量的石墨炉原子吸收光度法测定。

当取样量为0.5 g（或2 mL），定容体积为10 mL时，本方法的检出限为0.01 mg/kg（或0.003 mg/L），定量限为0.03 mg/kg（或0.008 mg/L）。

### 2 原理

试样消解处理后，经石墨炉原子化，在 357.9 nm 处测定吸光度。在一定浓度范围内铬的吸光度值与铬含量成正比，与标准系列比较定量。

### 3 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为优级纯，水为GB/T 6682规定的二级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 硝酸（HNO<sub>3</sub>）。

3.1.2 高氯酸（HClO<sub>4</sub>）。

3.1.3 磷酸二氢铵（NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>）。

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 硝酸溶液（5+95）：量取 50 mL 硝酸，缓慢加入到 950 mL 水中，混匀。

3.2.2 硝酸溶液（1+1）：量取 50 mL 硝酸，缓慢加入到 50 mL 水中，混匀。

3.2.3 磷酸二氢铵溶液（20 g/L）：称取 2 g 磷酸二氢铵，加少量硝酸溶液（5+95）溶解，然后用硝酸溶液（5+95）定容至 100 mL，混匀。

#### 3.3 标准品

重铬酸钾（K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>，CAS 号：7778-50-9）：纯度>99.99%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

#### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 铬标准储备溶液（1 000 mg/L）：准确称取重铬酸钾（110 °C，烘 2 h）0.282 9 g，溶于水中，移入 100 mL 容量瓶中，用硝酸溶液（5+95）稀释至刻度，混匀。此溶液铬的质量浓度为 1 000 mg/L。

3.4.2 铬标准中间液（1 000  $\mu\text{g/L}$ ）：准确吸取铬标准储备液（1 000  $\text{mg/L}$ ）1.00 mL 于 10 mL 容量瓶中，加硝酸溶液（5+95）至刻度，混匀。再准确吸取上述溶液 1.00 mL 于 100 mL 容量瓶中，加硝酸溶液（5+95）至刻度，混匀。此溶液铬的质量浓度为 1 000  $\mu\text{g/L}$ 。

3.4.3 铬标准系列溶液：分别准确吸取铬标准中间液 0 mL、0.150 mL、0.400 mL、0.800 mL、1.20 mL 和 1.60 mL 于 100 mL 容量瓶中，加硝酸溶液（5+95）至刻度，混匀。此系列溶液铬的质量浓度分别为 0  $\mu\text{g/L}$ 、1.50  $\mu\text{g/L}$ 、4.00  $\mu\text{g/L}$ 、8.00  $\mu\text{g/L}$ 、12.0  $\mu\text{g/L}$  和 16.0  $\mu\text{g/L}$ 。临用现配。

注：可根据仪器的灵敏度及样品中铬的实际含量确定标准系列溶液中铬的质量浓度。

## 4 仪器和设备

注：所有玻璃器皿及聚四氟乙烯消解内罐均需硝酸溶液（1+5）浸泡过夜，用自来水反复冲洗，最后用水冲洗干净。

4.1 原子吸收光谱仪：配石墨炉原子化器，附铬空心阴极灯。

4.2 电子天平：感量为 0.1 mg 和 1 mg。

4.3 可调式电热板或可调式电炉。

4.4 微波消解系统：配聚四氟乙烯消解内罐。

4.5 压力消解罐：配聚四氟乙烯消解内罐。

4.6 恒温干燥箱。

4.7 马弗炉。

4.8 样品粉碎设备：匀浆机、高速粉碎机。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样制备

#### 5.1.1 固态样品

##### 5.1.1.1 干样

豆类、谷物、菌类、茶叶、干制水果、焙烤食品等低含水量样品，取可食部分，必要时经高速粉碎机粉碎均匀；对于固体乳制品、蛋白粉、面粉等呈均匀状的粉状样品，摇匀。

### 5.1.1.2 鲜样

蔬菜、水果、水产品等高含水量样品必要时洗净，晾干，取可食部分匀浆均匀；对于肉类、蛋类等样品取可食部分匀浆均匀。

### 5.1.1.3 速冻及罐头食品

经解冻的速冻食品及罐头样品，取可食部分匀浆均匀。

### 5.1.2 液态样品

软饮料、调味品等样品摇匀。

### 5.1.3 半固态样品

搅拌均匀。

## 5.2 方法的试验条件

### 5.2.1 试样前处理

#### 5.2.1.1 湿式消解法

固体试样称取 0.2 g~3 g（精确至 0.001 g），液体试样准确移取或称取 0.500 mL（g）~5.00 mL（g）于带刻度消化管中，含乙醇或二氧化碳的样品先低温加热除去乙醇或二氧化碳，加入 10 mL 硝酸和 0.5 mL 高氯酸，在可调式电炉上消解（参考条件：120 °C/0.5 h~1 h、升至 180 °C/2 h~4 h、升至 200 °C~220 °C）。若消化液呈棕褐色，冷却后，再加少量硝酸，消解至冒白烟，消化液呈无色透明或略带黄色，赶酸至 0.5 mL 左右后取出消化管，冷却后用水定容至 10 mL 或 25 mL，混匀备用。同时做空白试验。亦可采用锥形瓶，于可调式电热板上，按上述操作方法进行湿法消解。

#### 5.2.1.2 微波消解法

固体试样称取 0.2 g~0.5 g（精确至 0.001 g，含水分较多的样品可适当增加取样量至 1 g），液体试样准确移取或称取 0.500 mL（g）~3.00 mL（g）于微波消解罐中，含乙醇或二氧化碳的样品先低温加热除去乙醇或二氧化碳，加入 5 mL~10 mL 硝酸，按照微波消解的操作步骤消解试样，消解条件参考表 1。必要时，在加酸后加盖放置 1 h 或过夜后再按照微波消解的操作步骤消解试样。冷却后取出消解罐，于 140 °C~160 °C 赶酸至 1 mL 左右。消解罐放冷后，将消化液转移至 10 mL 或 25 mL 容量瓶中，用少量水洗涤消解罐 2 次~3 次，合并洗涤液于容量瓶中并用水定容至刻度，混匀备用。同时做空白试验。

### 5.2.1.3 压力罐消解法

固体试样称取 0.2 g~1 g (精确至 0.001 g, 含水分较多的样品可适当增加取样量至 2 g), 液体试样准确移取或称取 0.500 mL (g) ~5.00 mL (g) 于消解内罐中, 含乙醇或二氧化碳的样品先低温加热除去乙醇或二氧化碳, 加入 5 mL~10 mL 硝酸。盖好内盖, 旋紧不锈钢外套, 放入恒温干燥箱, 于 140 °C~160 °C 下保持 4 h~5 h。必要时, 在加酸后加盖放置 1 h 或过夜后再旋紧不锈钢外套, 放入恒温干燥箱消解试样。冷却后缓慢旋松不锈钢外套, 取出消解内罐, 于 140 °C~160 °C 赶酸至 1 mL 左右。冷却后将消化液转移至 10 mL 或 25 mL 容量瓶中, 用少量水洗涤内罐和内盖 2~3 次, 合并洗涤液于容量瓶中并用水定容至刻度, 混匀备用。同时做空白试验。

### 5.2.1.4 干式消解法

固体试样称取 0.5 g~5 g (精确至 0.001 g), 液体试样准确移取或称取 2.00 mL (g) ~10.0 mL (g) 于坩埚中, 小火加热, 炭化至无烟, 转移至马弗炉中, 于 550 °C 灰化 3 h~4 h。冷却, 取出, 对于灰化不彻底的试样, 加数滴硝酸, 小火加热, 小心蒸干, 再转入 550 °C 马弗炉中, 继续灰化 1 h~2 h, 至试样呈白灰状, 冷却, 取出, 用适量硝酸溶液 (1+1) 溶解后转移至 10 mL 或 25 mL 容量瓶中, 用少量水洗涤坩埚 2~3 次, 合并洗涤液于容量瓶中并用水定容至刻度, 混匀备用。同时做空白试验。

## 5.3 仪器参考条件

仪器操作条件参见表 1 表 2。微波消解升温程序见表 1, 石墨炉原子吸收光谱法仪器参考条件见表 2。

表 1 微波消解升温程序

步骤	设定温度 °C	升温时间 min	恒温时间 min
1	120	5	5
2	160	5	10
3	180	5	10

表 2 石墨炉原子吸收光谱法仪器参考条件

元素	波长 nm	狭缝 nm	灯电 流 mA	干燥 °C/s	灰化 °C/s	原子化 °C/s
铬	357.9	0.2	5~7	85~120/30~ 50	800~1200/15~ 30	2500~ 2750/4~5

#### 5.4 标准曲线的制作

按质量浓度由低到高的顺序分别取10 μL标准系列溶液、5 μL磷酸二氢铵溶液（可根据使用仪器选择最佳进样量），同时注入石墨管，原子化后测其吸光度值，以质量浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。

注：磷酸二氢铵溶液作为基体改进剂，可根据使用仪器及样品基质选择添加。

#### 5.5 试样溶液的测定

在测定标准曲线的相同实验条件下，吸取10 μL空白溶液或试样消化液、5 μL磷酸二氢铵溶液（可根据使用仪器选择最佳进样量），同时注入石墨管，原子化后测其吸光度值。根据标准曲线得到待测液中铬的质量浓度。若测定结果超出标准曲线范围，用硝酸溶液（5+95）稀释后测定。

## 6 分析结果的表述

试样中铬的含量按公式（2）计算：

$$X = \frac{(\rho - \rho_0) \times f \times V}{m \times 1000} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

X —— 试样中铬的含量，单位为毫克每千克或毫克每升（mg/kg 或 mg/L）；

ρ —— 试样消化液中铬的质量浓度，单位为微克每升（μg/L）；

ρ<sub>0</sub> —— 空白溶液中铬的质量浓度，单位为微克每升（μg/L）；

V —— 试样消化液定容体积，单位为毫升（mL）；

f —— 稀释倍数；

m —— 试样质量或体积，单位为克或毫升（g 或 mL）；

1 000 —— 换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

试样中铬含量 $>1\text{ mg/kg}$ 或 $\text{mg/L}$ 时，在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%； $0.1\text{ mg/kg}$ 或 $\text{mg/L}<$ 试样中铬含量 $\leq 1\text{ mg/kg}$ 或 $\text{mg/L}$ 时，在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%。试样中铅含量 $\leq 0.1\text{ mg/kg}$ 或 $\text{mg/L}$ 时，在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。

## 8 说明

### 8.1 质量控制

8.1.1 所有容器全部经20%的硝酸浸泡过夜。浸泡器皿的硝酸溶液不能长期反复使用，废弃的硝酸溶液先收集于陶瓷罐或塑料桶中，然后以过量的碳酸钠或氢氧化钙水溶液中和，或用废碱中和，中和后用大量水冲稀排放。不能用含重铬酸钾的洗液浸泡洗涤器皿。

8.1.2 元素分析在实验操作中容易受到环境、试剂及器皿的污染，因此在实验中尽量使用超纯试剂，避免使用玻璃器皿，实验前需要做消化空白，计算检出限是否符合方法的要求。

8.1.3 样品检测前应先做好待测元素的标准曲线，若曲线参数达不到要求，则不应开展样品检测。所使用的标准曲线吸光度值与待测元素浓度的相关系数应 $\geq 0.995$ 。采用标准曲线法测定时，样品浓度必须在标准曲线的浓度范围内，否则要稀释，不得将标准曲线任意外延。

8.1.4 尽可能使用有证标准参考物质作为质量控制样品，尽量选用与样品基质相同或相似的标准参考物质作为质控样，测定结果应在证书给定的参考值范围内，每批样品至少分析1个标准参考物质。当无有证标准参考物质作为质控样品时，也可以采用加标回收试验进行质量控制，每批样品至少测定1个加标回收率。

### 8.2 试样前处理条件的选择和优化

#### 8.2.1 湿法消解

采用硝酸和高氯酸（20+1，V/V）的混合酸有较为恰当、有效的消解效果，既能保持消解体系的氧化能力，并可应用高氯酸分解冒白烟指示样品消解完全，

反应到达终点。而含高氯酸高比例的体系（如 4+1），对上机测试可能带来较多的干扰和影响，高沸点的高氯酸残留不利于仪器的使用和维护。

湿式消解要注意：消解开始和结束前应经常注意观察，即使样品消解完全和充分，又要避免损失和特殊情况发生；某些样品刚加热就会激烈反应，起泡上冲，应及时取出自动电热消解器避免消解液溢出消解管；低级醇类的食品样品，如香精、酒类和汽水等液体样品，需加热样品挥发醇类，再加入酸消解，否则容易发生剧烈反应；若样品中有机强还原性物质未完全反应时，应注意保持消解液 1 mL~2 mL，不要消化至干，以防爆炸。

### 8.2.2 微波消解

高压密闭微波消解仪可应用在食品中铬含量的检测。它优点是不易受污染，空白低，耗酸量少，避免了待测元素损失和污染，提高了分析的准确度和精密密度。微波消解要注意：不用高氯酸做消解酸；样品定容时，要用水清洗 2~3 次与消解液接触的内盖，并与消解罐中消解液合并转移至聚乙烯塑料管；要尽可能的赶酸，保持较低的酸度降低测定干扰。

### 8.2.3 压力罐消解法

高压消解罐消解是在常压湿消化法的基础上密封加压，利用外部加热，在密闭的消解罐内产生高温高压来达到快速消解难溶物质的目的，它能防止消解溶剂和挥发性元素的损失，同时也降低了环境污染。该方法的优点为：样品分解能力强；避免易挥发元素气化损失，容易控制污染；酸用量减少。但高压消解采用的高压消解罐由不锈钢外罐及聚四氟乙烯内杯组成。不锈钢是通常含有 10%~30% 铬的一类合金钢的总称。目前，高压消解罐生产厂家处于考虑安全性的目的，将高压消解罐的设计有被动控温转为主动控压，当罐内过高时，会采取自动泄压的模式对罐体进行保护。但是自动泄压后，高温的酸蒸汽也会随着氮氧化合物泄出，这将对不锈钢外罐产生腐蚀，溶解出的金属如铬、镍、铁等会玷污聚四氟乙烯内杯及反应体系。因此，测定食品中的铬、镍、铁等元素时，不宜采用自动泄压式的高压消解罐对样品进行前处理。

### 8.2.4 干式消解法

干式消解法是利用高温对样品进行灰化分解，低温炭化至无烟后于马弗炉高温灼烧至完全，被测物以固态形式残存。方法优点有：步骤简单，易于操作并可

同时处理大量样品，能彻底破坏有机物，溶解残留物的酸用量少，样品溶液酸度低。缺点有：耗时长；挥发性元素易气化损失；某些元素易被坩埚滞留；易受环境污染。干式消解法适用于不会造成挥发损失的高沸点元素前处理，如铜、铬、镍、铝、砷等。铬的熔点为  $1857\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，沸点为  $2672\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，高温灰化并不会导致其损失，因此干法灰化适用于食品中铬测定的前处理。但应注意可能产生的铬污染问题：避免在前处理中使含铬量高的镍铬坩埚作为消解容器，以及某些助灰剂过硫酸铵。两者都可能使空白值偏高，增大测定的干扰。

### 8.3 仪器测定条件的选择和优化

#### 8.3.1 确定磷酸二氢铵溶液为基体改进剂

硝酸铵不宜作为本标准中的基体改进剂，这是由于硝酸铵属一类危险品，易爆炸，目前实验室管理较严格，而且基层检测机构可能比较难买到。另外，在硝酸消解体系下，也不宜再增加硝酸根离子浓度。

根据文献以及模拟基体和实际样品实验发现：检测中加入的  $20\text{ g/L}$  磷酸二氢铵为基体改进剂，方法的灵敏度和线性比不加基体改进剂要好，灰化温度也有所提高。但磷酸根离子有可能和别的金属形成沉淀，磷酸铵不宜作为基体改进剂。

而以磷酸二氢铵-硝酸钼混合溶液为基体改进剂，虽然方法的灵敏度更好，但是原子化时，石墨管的“记忆效应很高”——空白值比较高，精密度差。因此，磷酸二氢铵溶液作为基体改进剂，可根据使用仪器及样品基质选择添加

#### 8.3.2 升温程序的优化

采用纵向加热式石墨管，将仪器性能调至最佳状态，分别做吸光度与灰化温度和原子化温度曲线。在最大的吸光度处得到最佳的灰化温度为  $900\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，最佳的原子化温度为  $2700\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

#### 8.3.3 酸度对测定的影响

由于样品是用硝酸或硝酸-高氯酸混合酸进行消解，消解液中存留的酸浓度会有差异，因此需要考察不同酸度对铬测定结果的影响。分别用纯水、0.1%、0.2%、0.5%、1%、2%、5%、10%、15%、20%浓度的硝酸溶液配制  $10.0\text{ }\mu\text{g/L}$  铬标准溶液，以 5%硝酸配制的标准溶液为参照，不同浓度硝酸配制的标准溶液测定结果与参照液测定结果比较，以计算酸度影响。同时，分别用纯水、0.1%、0.2%、0.5%、1%、2%、5%浓度的高氯酸溶液配制  $1.00\text{ }\mu\text{g/L}$  铬标准溶液，以 1%高氯酸配制的

标准溶液为参照，不同浓度高氯酸配制的标准溶液测定结果与参照液测定结果比较，以计算酸度影响。结果显示硝酸酸度在 0.1%~15% 之间，高氯酸酸度在 0.1%~5% 之间时，对铬测定结果影响很小，偏差在 5% 以内。因此，为确保测定结果的准确可靠，消解酸度范围应控制在上述范围内。

## 八、食品中无机砷测定的标准操作程序(HPLC-ICP/MS)

### 1 适用范围

本程序规定了大米、糙米、婴幼儿或儿童食品（添加水产动物）、水产动物、食用菌中无机砷含量测定的液相色谱-电感耦合等离子体质谱法。

本程序适用于大米、糙米、婴幼儿或儿童食品（添加水产动物）、水产动物、食用菌中无机砷（包括砷酸根及其亚砷酸根）含量的测定。

本程序方法检出限（LOD）为：当称样量1.0 g，提取液为20 mL时，无机砷的检出限为0.003 mg/kg。

### 2 原理

试样中无机砷经提取液提取后以液相色谱进行分离，分离后的目标化合物经过雾化由载气送入等离子体炬焰中，经过蒸发、解离、原子化、电离等过程，转化为带正电荷的离子，经离子采集系统进入质谱仪，质谱仪根据质荷比进行分离测定。以保留时间和质荷比定性，外标法定量。

### 3 试剂和材料

除特别注明外，本实验所用试剂均为优级纯，水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 磷酸氢二铵  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ：分析纯。

3.1.2 磷酸二氢铵  $(\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4)$ ：分析纯。

3.1.3 甲酸  $(\text{HCOOH})$ 。

3.1.4 氨水  $(\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O})$ 。

3.1.5 甲醇  $(\text{CH}_3\text{OH})$ 。

3.1.6 硝酸：65%。

3.1.7 过氧化氢：30%。

3.1.8 碳酸铵  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ ：分析纯。

3.1.9 正己烷  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3]$ ：色谱纯。

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 流动相A (15 mmol/L磷酸二氢铵+2%甲醇, pH=6.0): 称取1.730 g磷酸二氢铵, 置于1 000 mL具塞量筒中, 用水溶解后, 加入20 mL甲醇, 再用水稀释至刻度, 甲酸调节pH至6.0, 混匀。于超声水浴中超声脱气30 min, 备用。

3.2.2 流动相B (10 mmol/L磷酸氢二铵+1%甲醇, pH=8.4): 准确称取1.320 g磷酸氢二铵, 置于1 000 mL具塞量筒中, 用水溶解后, 加入10 mL甲醇, 再用水稀释至刻度, 氨水调节pH至8.4, 混匀。于超声水浴中超声脱气30 min, 备用。

3.2.3 流动相C (20 mmol/L 磷酸氢二铵+1%甲醇, pH=8.4): 准确称取 2.640 g 磷酸氢二铵, 置于 1 000 mL 具塞量筒中, 用水溶解后, 加入 10 mL 甲醇, 再用水稀释至刻度, 混匀。于超声水浴中超声脱气 30 min, 备用。

3.2.4 流动相D (20 mmol/L 碳酸铵+1%甲醇, pH=9.7): 准确称取 1.92 g 碳酸铵, 置于 1 000 mL 具塞量筒中, 用水溶解后, 加入 10 mL 甲醇, 用水稀释定容至刻度, 氨水调节 pH 至 9.7, 混匀。于超声水浴中超声脱气 30 min, 备用。

3.2.5 提取液 1 (0.15 mol/L 硝酸溶液): 准确量取 10 mL 浓硝酸于 1 000 mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 混匀。

3.2.6 提取液 2 (0.15 mol/L 硝酸-0.45%过氧化氢混合溶液): 准确量取 10 mL 浓硝酸和 15 mL 过氧化氢 (30%) 于 1 000 mL 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 混匀。

### 3.3 标准溶液

3.3.1 亚砷酸根溶液 (GBW 08666): 以砷 (As) 计, 经国家认证并授予标准物质证书的溶液标准物质。

3.3.2 砷酸根溶液 (GBW 08667): 以砷 (As) 计, 经国家认证并授予标准物质证书的溶液标准物质。

3.3.3 一甲基砷溶液 (GBW 08668): 以砷 (As) 计, 经国家认证并授予标准物质证书的溶液标准物质。

3.3.4 二甲基砷溶液 (GBW 08669): 以砷 (As) 计, 经国家认证并授予标准物质证书的溶液标准物质。

3.3.5 砷甜菜碱溶液 (GBW 08670): 以砷 (As) 计, 经国家认证并授予标准物质证书的溶液标准物质。

### 3.4 标准溶液的配制

3.4.1 亚砷酸根离子 (As(III)) 标准储备液 (10.0 mg/L, 以 As 计): 准确称取一

定量的亚砷酸根溶液（3.3.1），用水稀释并定容至 10 mL，2 °C~8 °C 冰箱中可保存 6 个月。

3.4.2 砷酸根离子（As(V)）标准储备溶液（10.0 mg/L，以 As 计）：准确称取一定量的砷酸根溶液（3.3.2），用水稀释并定容至 10 mL，2 °C~8 °C 冰箱中可保存 6 个月。

3.4.3 一甲基砷（MMA）标准储备溶液（10.0 mg/L，以 As 计）：准确称取一定量的—甲基砷溶液（3.3.3），用水稀释并定容至 10 mL，2 °C~8 °C 冰箱中可保存 6 个月。

3.4.4 二甲基砷（DMA）标准储备溶液（10.0 mg/L，以 As 计）：准确称取一定量的二甲基砷溶液（3.3.4），用水稀释并定容至 10 mL，2 °C~8 °C 冰箱中可保存 6 个月。

3.4.5 砷甜菜碱（AsB）标准储备溶液（10.0 mg/L，以 As 计）：准确称取一定量的砷甜菜碱溶液（3.3.5），用水稀释并定容至 10 mL，2 °C~8 °C 冰箱中可保存 6 个月。

3.4.6 砷形态标准中间溶液（1.00 mg/L，以 As 计）：分别准确移取 1.00 mL 浓度为 10.0 mg/L 的 As(III)、As(V)、MMA、DMA 和 AsB 标准储备溶液于 5 个 10 mL 容量瓶中，用水稀释定容至刻度，2 °C~8 °C 冰箱中可保存 1 个月。

3.4.7 As(III)和 As(V)混合标准中间溶液（1.00 mg/L，以 As 计）：分别准确吸取 1.00 mL 浓度为 10.0 mg/L 的 As(III)标准储备液(3.4.1)和 As(V)标准储备液(3.4.2)于 10 mL 容量瓶中，用水稀释定容至刻度。临用现配。

3.4.8 砷形态混合标准使用溶液（10.0 μg/L，以 As 计）：分别准确吸取 1.00 mL 浓度为 1.00 mg/L 的 As(III)、As(V)、MMA、DMA 和 AsB 各砷形态标准中间液（3.4.6）于 100 mL 容量瓶中，用 0.15 mol/L 硝酸溶液（3.2.5）或水（仅限食用茵测定时）稀释定容至刻度。临用现配。

3.4.9 As(III)和 As(V)混合标准系列溶液：分别准确吸取一定量浓度为 1.00 mg/L 的 As(III)和 As(V)混合标准中间溶液（3.4.7），用 0.15 mol/L 硝酸溶液（3.2.5）或水（仅限食用茵测定时）稀释配制成浓度为 0.0 μg/L、1.0 μg/L、5.0 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L、50.0 μg/L 和 100.0 μg/L 的标准系列。临用现配。

注：根据实际样品中 As(III)和 As(V)的浓度适当调整标准系列溶液中 As(III)

和 As(V)的质量浓度，若样品中 As(III)和 As(V)的浓度超过标准曲线上限应稀释后重新测定。

## 4 仪器和设备

4.1 液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪 (LC-ICP-MS) 由液相色谱仪与电感耦合等离子体质谱仪组成。

4.2 组织匀浆器。

4.3 高速粉碎机。

4.4 微波消解系统：配有微波萃取罐。

4.5 离心机：转速 $\geq 8000$  r/min。

4.6 pH 计：精度为 0.01。

4.7 电子天平：感量为 0.1 mg 和 1 mg。

4.8 恒温干燥箱：控温精度 $\pm 2$  °C。

4.9 超声波清洗器。

4.10 滤膜：0.45  $\mu\text{m}$ 。

4.11 筛网；粒径 $\leq 425$   $\mu\text{m}$ （筛孔 $\geq 40$  目）。

注：所有玻璃器皿及微波萃取罐均需 (1+4) 的硝酸溶液浸泡 24 h 后，用自来水反复冲洗，最后用水冲洗干净。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样制备

#### 5.1.1 干样

谷物、干食用菌、婴幼儿谷类辅助食品，水产动物干制品等样品，取可食部分粉碎均匀，粒径达 425  $\mu\text{m}$  以下（相当于 40 目以上）；当采用热浸提法处理谷物试样时，试样需粉碎至粒径达 250  $\mu\text{m}$  以下（相当于 60 目以上）。婴幼儿或儿童食品（添加水产动物），如鱼（肉）酥、鱼（肉）松、鱼（肉）绒等干剂样品，取可食部分粉碎分散至均匀，装入洁净聚乙烯瓶中，密封保存备用。

#### 5.1.2 鲜（湿）样

鲜食用菌、水产动物等样品，洗净晾干，取可食部分匀浆至均质。鱼泥、鱼（肉）肠等样品，取可食部分匀浆至均质，装入洁净聚乙烯瓶中，密封，于

2 ℃~8 ℃冰箱冷藏备用。若需长时间存贮，于-20 ℃冰箱中保存。

## 5.2 试样提取

### 5.2.1 谷物试样提取

#### 5.2.1.1 热浸提法

称取谷物试样约 0.5 g~1.0 g（准确至 0.001 g）于 50 mL 塑料离心管中，加入 20 mL 0.15 mol/L 硝酸溶液（3.2.5），涡旋混匀。于 90 ℃恒温箱中热浸提 2.5 h，每隔 0.5 h 振摇一次。提取完毕，取出冷却至室温，8 000 r/min 离心 15 min，取上层清液，经 0.45 μm 滤膜过滤，待测。同时做空白试验。

#### 5.2.1.2 微波辅助提取法

称取谷物试样约 0.5 g~0.8 g（准确至 0.001 g）于微波萃取罐中，加入 15 mL 0.15 mol/L 硝酸溶液（3.2.5），混匀，盖好内盖，旋紧外盖，置于微波消解仪中，采用梯度升温方式进行提取，微波辅助提取程序见表 1。提取完毕，冷却后取出，8 000 r/min 离心 15 min，取上层清液，经 0.45 μm 滤膜过滤，待测。同时做空白试验。

表 1 微波辅助提取程序

步骤	功率/W	控制温度/℃	保持时间/min
1	1600	70	10
2	1600	90	10
3	1600	110	15

### 5.2.2 婴幼儿或儿童食品（添加水产动物）、水产动物试样提取

称取婴幼儿或儿童食品（添加水产动物）、水产动物试样约 1.0 g（精确至 0.001 g）于 50 mL 聚丙烯离心管中，加入 20 mL 0.15 mol/L 硝酸-0.45%过氧化氢提取液（3.2.6），涡旋混匀。于 90 ℃恒温箱中热浸提 2.5 h，每隔 0.5 h 振摇一次。提取完毕，取出冷却至室温，8 000 r/min 离心 15 min，取 5 mL 上清液置于离心管中，加入 5 mL 正己烷，振摇 1 min，8 000 r/min 离心 15 min，弃去上层正己烷，按此过程重复一次。吸取下层清液，经 0.45 μm 水系滤膜过滤，待测。同时做空白试验。

### 5.2.3 食用菌试样提取

称取干食用菌试样 0.2 g~0.5 g 或鲜食用菌试样 1.0 g~2.0 g（准确至 0.001

g) 于 15 mL 聚丙烯离心管中, 加入 10 mL 水, 置于 60 °C 超声水浴中提取 1 h, 每 20 min 振摇 1 次。提取完毕, 取出冷却至室温, 8000 r/min 离心 10 min, 吸取上层清液, 经 0.45 μm 滤膜过滤, 待测。同时做空白试验。

### 5.3 测定

#### 5.3.1 液相色谱参考条件 (一)

色谱分析柱: 阴离子交换色谱柱, 如 Hamilton PRP-X100 (250 mm×4.1 mm, 10 μm) 或等效柱; 预柱: 阴离子交换色谱柱, 如 Hamilton PRP-X100 (20 mm×2.1 mm, 10 μm) 或等效预柱。

流动相 A: 15 mmol/L 磷酸二氢铵溶液+1%甲醇, pH=6.0; 等度洗脱, 流速: 1.0 mL/min; 进样体积: 25 μL。

注: 此体系仅适用于大米、糙米等谷物试样中无机砷测定; 使用此体系确定分离度时, 浓度为 10.0 μg/L 的砷形态混合标准溶液中可不加入砷甜菜碱。

#### 5.3.2 液相色谱参考条件 (二)

色谱分析柱: 阴离子交换色谱柱, 如 Hamilton PRP-X100 (250 mm×4.1 mm, 10 μm) 或等效柱; 预柱: 阴离子交换色谱柱, 如 Hamilton PRP-X100 (20 mm×2.1 mm, 10 μm) 或等效预柱。

流动相B: 10 mmol/L磷酸氢二铵+1%甲醇, pH=8.4; 流动相C: 20 mmol/L磷酸氢二铵+1%甲醇, pH=8.4, 梯度洗脱, 洗脱程序见表2; 进样体积: 25 μL。

注: 此体系适用于除食用菌外的试样。

表2 梯度洗脱程序

时间/min	流速/ (mL/min)	B/%	C/%
0.00	1.0	100	0
4.99	1.0	100	0
5.00	1.2	0	100
10.99	1.2	0	100
11.00	1.0	100	0
15.00	1.0	100	0

### 5.3.3 液相色谱参考条件（二）

色谱分析柱：阴离子交换色谱柱，如 Dionex IonPac AS19（4 × 250 mm）或等效柱；预柱：阴离子交换色谱柱，如 Dionex IonPac AG19（4 × 50 mm）或等效预柱。

流动相D：20 mmol/L碳酸铵+1%甲醇，pH=9.7；等度洗脱，流速：1.0 mL/min；进样体积：25 μL。

注：此体系适用于食用菌试样。

### 5.3.4 电感耦合等离子体质谱仪参考条件

射频功率为1550 W；载气为高纯氩气；载气流速为0.65 L/min；补偿气流速为0.45 L/min；蠕动泵转速0.3 rps；监测质量数m/z=75（As），m/z=35（Cl）。

### 5.3.5 标准曲线绘制

用调谐液调整仪器各项指标，使仪器灵敏度、氧化物、双电荷、分辨率等各项指标符合测定要求。测定浓度为10.0 μg/L的砷形态混合标准溶液，确定各砷形态的分离度符合要求后，将As(III)和As(V)混合标准系列溶液按质量浓度由低到高分别注入液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪中，得到色谱图，以保留时间定性；以无机砷的浓度为横坐标，色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

### 5.3.6 样品测定

依次将空白溶液和试样溶液注入液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪，得到色谱图，以保留时间定性，根据标准曲线得到样品待测液中As(III)、As(V)的含量，平行测定次数不少于两次。

## 6 计算

试样中 As(III)或 As(V)的含量按公式（1）计算：

$$X = \frac{(c - c_0) \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000 \times 1\,000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$X$  ——样品中 As(III)或 As(V)的含量（以 As 计），单位为毫克每千克（mg/kg）；

$c$  ——测定溶液中 As(III)或 As(V)的浓度，单位为微克每升（μg/L）；

$c_0$  ——空白溶液中 As(III)或 As(V)的浓度，单位为微克每升（μg/L）；

$V$  ——加入的提取液体积 (mL)；

$m$  ——试样称样量 (g)；

1000 ——换算系数。

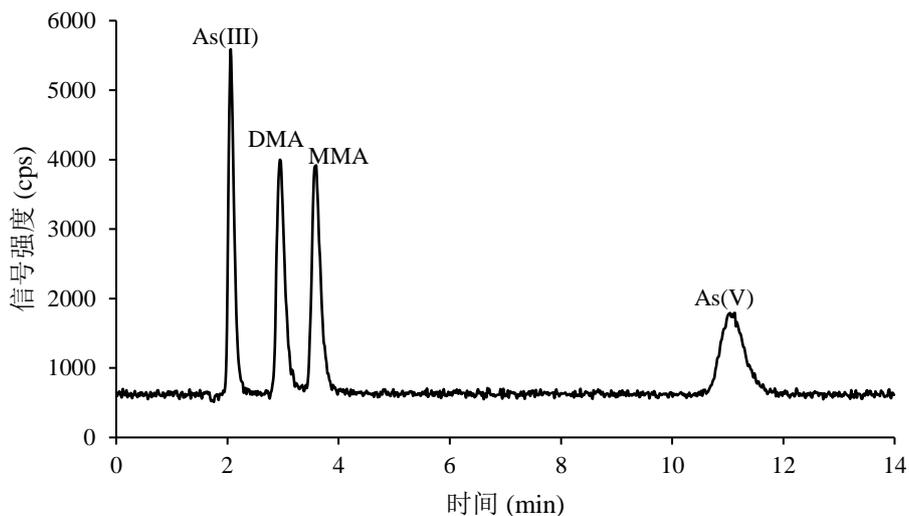
无机砷含量等于 As(III)含量与 As(V)含量之和。

当无机砷含量  $\geq 1.00$  mg/kg 时，计算结果保留 3 位有效数字，当无机砷含量  $< 1.00$  mg/kg 时，计算结果保留 2 位有效数字。

## 7 精密度

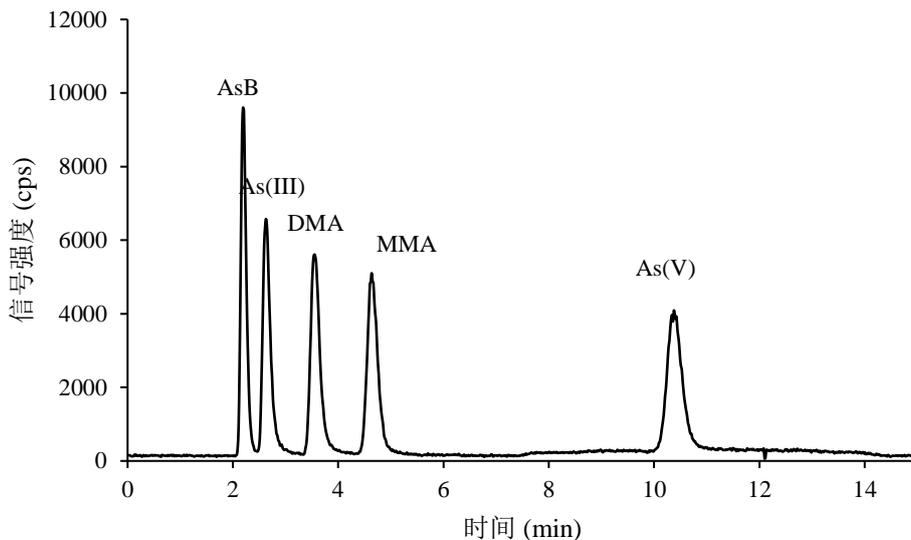
本操作规程的精密度是指在重复条件下获得的两次独立测定结果的相对相差，样品中无机砷的含量大于 1.0 mg/kg 时，相对相差不超过 10%；小于或等于 1.0 mg/kg 且大于 0.1 mg/kg 时，相对相差不超过 15%；小于或等于 0.1 mg/kg 时，相对相差不超过 20%。

## 8 附图



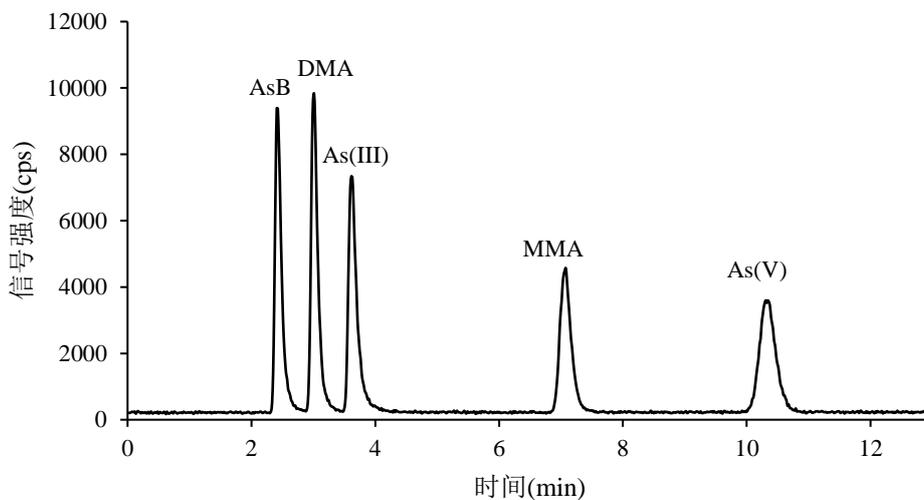
说明：As(III) ——亚砷酸根；DMA ——二甲基砷；MMA ——一甲基砷；As(V) ——砷酸根。

图 1 液相色谱参考条件（一），四种砷形态混合标准溶液色谱图（10  $\mu$ g/L）



说明：AsB —砷甜菜碱；As(III) —亚砷酸根；DMA —二甲基砷；MMA ——甲基砷；As(V) ——砷酸根。

图 2 液相色谱参考条件（二），五种砷形态混合标准溶液色谱图（10 μg/L）



说明：AsB —砷甜菜碱；As(III) —亚砷酸根；DMA —二甲基砷；MMA ——甲基砷；As(V) ——砷酸根。

图 3 液相色谱参考条件（三），五种砷形态混合标准溶液色谱图（10 μg/L）

## 9 说明

### 9.1 不同仪器的适用性说明

液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用技术具有操作简便、灵敏度高、线性范围宽等优点，已成为元素形态分析最具有应用前景的联用的方法之一。液相色谱用具有二元泵或四元泵，可进行梯度洗脱。不同品牌的电感耦合等离子体质谱仪，使用前需进行仪器调谐，保证调谐指标符合要求后，方可进行实验，调谐指标参见表 3。

表 3 仪器调谐控制指标

项目	范围	RSD
灵敏度 (kCPS)	${}^7\text{Li} > 30$ ${}^{89}\text{Y} > 100$ ${}^{205}\text{Tl} > 60$	5% 5% 5%
氧化物	<2%	
双电荷	<3%	
质 量 轴	Li (7): $7 \pm 0.1$ amu Y (89): $89 \pm 0.1$ amu Tl (205): $205 \pm 0.1$ amu	

注：调谐液浓度：1 ng/mL

## 9.2 关键试剂、标准品及耗材的原则性要求

对实验所用的水、硝酸、磷酸二氢铵、磷酸氢二铵、碳酸铵、正己烷、甲酸、氨水、甲醇、过氧化氢、玻璃容器等试剂耗材一定要进行验收，保证不会对砷的测定造成污染，特别要关注玻璃容器中砷的污染情况，如进样小瓶、容量瓶等。标准品建议购买经国家认证并授予证书的标准物质，保证溯源性。

## 9.3 实验准备过程的关注点

食品中无机砷测定属痕量分析，要防止样品在检测各环节被污染。玻璃器皿要经硝酸溶液浸泡，其他设备也要尽可能的洁净，避免背景值偏高影响灵敏度。

砷形态混合标准使用溶液和标准系列溶液需现用现配，避免砷形态之前的转化导致测定结果出现偏差。流动相需现用现配，避免长期暴露在空气中吸附空气中的杂质，导致背景值升高，影响灵敏度或造成污染。

#### 9.4 样品制备及分析时的关注点

样品制备和前处理过程需要始终确保所用试剂、容器、通风橱以及整个实验室环境的洁净。样品应当充分均浆或均质，以保证均匀性。谷物样品应当粉碎至规定的粒径以保证无机砷的提取效率。

配制样品提取液所使用的过氧化氢应当具有有效的氧化性，需在保质期内，使用后的过氧化氢应密封保存。提取液需现用现配，避免长期存储受到污染及减弱其氧化能力。样品前处理过程中应将样品与提取液经涡旋充分混合；90 °C 加热提取时需定期取出振摇；高速离心后，取上清液过0.45 μm水系滤膜。有条件可选择冷冻离心机，效果会更好。

分析时砷形态标准曲线的相关系数应 $\geq 0.999$ ，测定时样品溶液中砷形态浓度须在标准曲线的浓度范围内，当样品提取液中无机砷浓度含量过高时，适当稀释后（或适当调整加入的提取液体积）再进行测定，确保测定的准确性。没有适宜的基体有证标准物质时可采用加标回收试验进行质量控制，建议加标回收率控制在80%~120%范围内。

## 九、食品中无机砷测定的标准操作程序(HPLC-AFS)

### 1 适用范围

本程序规定了大米、糙米、婴幼儿或儿童食品（添加水产动物）、水产动物、食用菌中无机砷含量测定的液相色谱-原子荧光光谱法。

本程序适用于大米、糙米、婴幼儿或儿童食品（添加水产动物）、水产动物、食用菌中无机砷（包括砷酸根及其亚砷酸根）含量的测定。

本程序方法检出限（LOD）为：当称样量为1.0 g，加入提取试剂体积为20 mL时，无机砷的检出限为0.02 mg/kg。

### 2 原理

试样中无机砷经稀硝酸提取后，以液相色谱进行分离，分离后的目标化合物在酸性环境下与 $\text{KBH}_4$ 反应，生成气态砷化合物，以原子荧光光谱仪进行测定。以保留时间定性，外标法定量。

### 3 试剂和材料

除特别注明外，本实验所用试剂均为优级纯，水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 磷酸二氢铵（ $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ）：分析纯。

3.1.2 磷酸氢二铵（ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ）：分析纯。

3.1.3 硼氢化钾（ $\text{KBH}_4$ ）：分析纯。

3.1.4 氢氧化钾（ $\text{KOH}$ ）。

3.1.5 硝酸（ $\text{HNO}_3$ ）65%。

3.1.6 过氧化氢（ $\text{H}_2\text{O}_2$ ）：30%。

3.1.7 盐酸（ $\text{HCl}$ ）。

3.1.8 氨水（ $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ ）

3.1.9 正己烷[ $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ ]：色谱纯。

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 盐酸溶液（7+93）：量取70 mL盐酸，溶于水并稀释至1 000 mL，混匀。

3.2.2 硝酸溶液 (0.15 mol/L): 量取10 mL硝酸, 溶于水并稀释至1 000 mL, 混匀。

3.2.3 硝酸-过氧化氢溶液 (0.15 mol/L硝酸+0.45%过氧化氢): 量取10 mL硝酸, 15 mL 30%过氧化氢, 加水稀释至1 000 mL, 混匀。临用现配。

3.2.4 氢氧化钾溶液 (5 g/L): 称取5 g氢氧化钾, 溶于水并稀释至1 000 mL, 混匀。

3.2.5 硼氢化钾溶液 (20 g/L): 称取20 g硼氢化钾, 用5 g/L氢氧化钾溶液溶解并定容至1 000 mL, 混匀。临用现配。

3.2.6 流动相A (15 mmol/L磷酸二氢铵, pH=6.0): 称取1.73 g磷酸二氢铵, 溶于1 000 mL水中, 以氨水调节pH至6.0, 混匀。于超声水浴中超声脱气30 min, 备用。

3.2.7 流动相B (1 mmol/L磷酸氢二铵, pH=9.0): 称取0.132 g磷酸氢二铵, 溶于1 000 mL水中, 以氨水调pH至9.0, 混匀。于超声水浴中超声脱气30 min, 备用。

3.2.8 流动相C (30 mmol/L磷酸氢二铵, pH=8.5): 称取3.96 g磷酸氢二铵, 溶于1 000 mL水中, 以氨水调节pH至8.5, 混匀。于超声水浴中超声脱气30 min, 备用。

### 3.3 标准溶液

3.3.1 亚砷酸根溶液 (GBW 08666): 以砷 (As) 计, 经国家认证并授予标准物质证书的溶液标准物质。

3.3.2 砷酸根溶液 (GBW 08667): 以砷 (As) 计, 经国家认证并授予标准物质证书的溶液标准物质。

3.3.3 一甲基砷溶液 (GBW 08668): 以砷 (As) 计, 经国家认证并授予标准物质证书的溶液标准物质。

3.3.4 二甲基砷溶液 (GBW 08669): 以砷 (As) 计, 经国家认证并授予标准物质证书的溶液标准物质。

3.3.5 砷甜菜碱溶液 (GBW 08670): 以砷 (As) 计, 经国家认证并授予标准物质证书的溶液标准物质。

### 3.4 标准溶液的配制

3.4.1 亚砷酸根离子 (As(III)) 标准储备液 (10.0 mg/L, 以 As 计): 准确称取一定量的亚砷酸根溶液 (3.3.1), 用水稀释并定容至 10 mL, 2 °C~8 °C 冰箱中可保存 6 个月。

3.4.2 砷酸根离子 (As(V)) 标准储备溶液 (10.0 mg/L, 以 As 计): 准确称取一定

量的砷酸根溶液 (3.3.2), 用水稀释并定容至 10 mL, 2 °C~8 °C 冰箱中可保存 6 个月。

3.4.3 一甲基砷 (MMA) 标准储备溶液 (10.0 mg/L, 以 As 计): 准确称取一定量的 一甲基砷溶液 (3.3.3), 用水稀释并定容至 10 mL, 2 °C~8 °C 冰箱中可保存 6 个月。

3.4.4 二甲基砷 (DMA) 标准储备溶液 (10.0 mg/L, 以 As 计): 准确称取一定量的 二甲基砷溶液 (3.3.4), 用水稀释并定容至 10 mL, 2 °C~8 °C 冰箱中可保存 6 个月。

3.4.5 砷甜菜碱 (AsB) 标准储备溶液 (10.0 mg/L, 以 As 计): 准确称取一定量的 砷甜菜碱溶液 (3.3.5), 用水稀释并定容至 10 mL, 2 °C~8 °C 冰箱中可保存 6 个月。

3.4.6 砷形态标准中间溶液 (1.00 mg/L, 以 As 计): 分别准确移取 1.00 mL 浓度为 10.0 mg/L 的 As(III)、As(V)、MMA、DMA 和 AsB 标准储备溶液于 5 个 10 mL 容量瓶中, 用水稀释定容至刻度, 2 °C~8 °C 冰箱中可保存 1 个月。

3.4.7 As(III)和 As(V)混合标准中间溶液 (1.00 mg/L, 以 As 计): 分别准确吸取 1.00 mL 浓度为 10.0 mg/L 的 As(III)标准储备液(3.4.1)和 As(V)标准储备液(3.4.2) 于 10 mL 容量瓶中, 用水稀释定容至刻度。临用现配。

3.4.8 砷形态混合标准使用溶液 (10.0 μg/L 或 50 μg/L, 以 As 计): 分别准确吸取一定量浓度为 1.00 mg/L 的 As(III)、As(V)、MMA、DMA 和 AsB 各砷形态 标准中间液 (3.4.6) 于 100 mL 容量瓶中, 用 0.15 mol/L 硝酸溶液 (3.2.2) 配制 成 10 μg/L 或 50 μg/L 的混合标准溶液。临用现配。

3.4.9 As(III)和 As(V)混合标准系列溶液: 分别准确吸取一定量浓度为 1.00 mg/L 的 As(III)和 As(V)混合标准中间溶液 (3.4.7), 用 0.15 mol/L 硝酸溶液 (3.2.2) 稀 释配制成浓度为 0.0 μg/L、2.0 μg/L、5.0 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L、50.0 μg/L、100 μg/L 的标准系列。临用现配。

注: 根据实际样品中 As(III)和 As(V)的浓度适当调整标准系列溶液中 As(III) 和 As(V)的质量浓度, 若样品中 As(III)和 As(V)的浓度超过标准曲线上限应稀释 后重新测定。

## 4 仪器和设备

4.1 液相色谱-原子荧光光谱联用仪 (LC-AFS): 由液相色谱仪与原子荧光光谱仪组成。

4.2 组织匀浆器。

4.3 高速粉碎机。

4.4 微波消解系统: 配有微波萃取罐。

4.5 离心机: 转速 $\geq 8000$  r/min。

4.6 pH 计: 精度为 0.01。

4.7 电子天平: 感量为 0.1 mg 和 1 mg。

4.8 恒温干燥箱: 控温精度 $\pm 2$  °C。

4.9 超声波清洗器。

4.10 滤膜: 0.45  $\mu\text{m}$ 。

4.11 筛网: 粒径 $\leq 425$   $\mu\text{m}$  (筛孔 $\geq 40$  目)。

注: 玻璃器皿及微波萃取内罐均需以硝酸溶液 (1+4) 浸泡 24 h, 用自来水反复冲洗, 最后用水冲洗干净。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样制备

#### 5.1.1 干样

谷物、干食用菌、婴幼儿谷类辅助食品, 水产动物干制品等样品, 取可食部分粉碎均匀, 粒径达 425  $\mu\text{m}$  以下 (相当于 40 目以上); 当采用热浸提法处理谷物试样时, 试样需粉碎至粒径达 250  $\mu\text{m}$  以下 (相当于 60 目以上)。婴幼儿或儿童食品 (添加水产动物), 如鱼 (肉) 酥、鱼 (肉) 松、鱼 (肉) 绒等干剂样品, 取可食部分粉碎分散至均匀, 装入洁净聚乙烯瓶中, 密封保存备用。

#### 5.1.2 鲜 (湿) 样

鲜食用菌、水产动物等样品, 洗净晾干, 取可食部分匀浆至均质。鱼泥、鱼 (肉) 肠等样品, 取可食部分匀浆至均质, 装入洁净聚乙烯瓶中, 密封, 于 2 °C~8 °C 冰箱冷藏备用。若需长时间存贮, 于 -20 °C 冰箱中保存。

### 5.2 试样提取

#### 5.2.1 谷物试样提取

##### 5.2.1.1 热浸提法

称取谷物试样约 0.5 g~1.0 g (准确至 0.001 g) 于 50 mL 塑料离心管中, 加入 20 mL 0.15 mol/L 硝酸溶液 (3.2.2), 涡旋混匀。于 90 °C 恒温箱中热浸提 2.5 h, 每隔 0.5 h 振摇一次。提取完毕, 取出冷却至室温, 8 000 r/min 离心 15 min, 取上层清液, 经 0.45 μm 滤膜过滤, 待测。同时做空白试验。

#### 5.2.1.2 微波辅助提取法

称取谷物试样约 0.5 g~0.8 g (准确至 0.001 g) 于微波萃取罐中, 加入 15 mL 0.15 mol/L 硝酸溶液 (3.2.2), 混匀, 盖好内盖, 旋紧外盖, 置于微波消解仪中, 采用梯度升温方式进行提取, 微波辅助提取程序见表 1。提取完毕, 冷却后取出, 8 000 r/min 离心 15 min, 取上层清液, 经 0.45 μm 滤膜过滤, 待测。同时做空白试验。

表 1 微波辅助提取程序

步骤	功率/W	控制温度/°C	保持时间/min
1	1600	70	10
2	1600	90	10
3	1600	110	15

#### 5.2.2 婴幼儿或儿童食品 (添加水产动物)、水产动物试样提取

称取婴幼儿或儿童食品(添加水产动物)、水产动物试样约 1.0 g (精确至 0.001 g) 于 50 mL 聚丙烯离心管中, 加入 20 mL 0.15 mol/L 硝酸-0.45%过氧化氢提取液 (3.2.3), 涡旋混匀。于 90 °C 恒温箱中热浸提 2.5 h, 每隔 0.5 h 振摇一次。提取完毕, 取出冷却至室温, 8 000 r/min 离心 15 min, 取 5 mL 上清液置于离心管中, 加入 5 mL 正己烷, 振摇 1 min, 8 000 r/min 离心 15 min, 弃去上层正己烷, 按此过程重复一次。吸取下层清液, 经 0.45 μm 水系滤膜过滤, 待测。同时做空白试验。

#### 5.2.3 食用菌试样提取

称取干食用菌试样 0.2 g~0.5 g 或鲜食用菌试样 1.0 g~2.0 g (准确至 0.001 g) 于 15 mL 聚丙烯离心管中, 加入 10 mL 0.15 mol/L 硝酸溶液 (3.2.2), 置于 60 °C 超声水浴中提取 1 h, 每 20 min 振摇 1 次。提取完毕, 取出冷却至室温, 8000 r/min 离心 10 min, 吸取上层清液, 经 0.45 μm 滤膜过滤, 待测。同时做空白试验。

### 5.3 测定

#### 5.3.1 液相色谱参考条件（一）

色谱分析柱：阴离子交换色谱柱，如 Hamilton PRP-X100（250 mm×4.1 mm，10 μm）或等效柱；预柱：阴离子交换色谱柱，如 Hamilton PRP-X100（20 mm×2.1 mm，10 μm）或等效预柱。

流动相 A：15 mmol/L 磷酸二氢铵溶液，pH=6.0；流速：1.0 mL/min；进样量：100 μL。等度洗脱适用于稻谷、糙米、大米（粉）和婴幼儿谷类辅助食品。

#### 5.3.2 液相色谱参考条件（二）

色谱分析柱：阴离子交换色谱柱，如 Hamilton PRP-X100（250 mm×4.1 mm，10 μm）或等效柱；预柱：阴离子交换色谱柱，如 Hamilton PRP-X100（20 mm×2.1 mm，10 μm）或等效预柱。

流动相 B：1 mmol/L 磷酸氢二铵溶液，pH=9.0；流动相 C：30 mmol/L 磷酸氢二铵溶液，pH=8.5；流速：1.0 mL/min；进样量：100 μL。梯度洗脱程序见表 2。梯度洗脱程序适用于所有试样。

注：此体系适用于所有试样，根据各自实验室仪器设备情况适当调整流动相浓度及 pH，以保证分离度及灵敏度满足实验要求。

表 2 梯度洗脱程序

组成	时间/min		
	0~5	5~11	11~20
流动相 B%	100	0	100
流动相 C%	0	100	0

#### 5.3.4 原子荧光光谱参考条件

原子荧光检测参考条件如下：

- a) 负高压：280 V~300 V；
- b) 砷灯总电流：90 mA；
- c) 主电流/辅助电流：50/40 mA；
- d) 原子化方式：火焰原子化；
- e) 原子化器温度：200 °C；
- f) 载液：5%~7% 盐酸溶液；

- g) 还原剂：20 g/L硼氢化钾溶液；
- h) 载气（氩气）流速：400 mL/min；
- i) 辅助气（氩气）流速：600 mL/min。

### 5.3.5 标准曲线的制作

设定仪器最佳条件，待基线稳定后，测定砷形态混合标准溶液（10 μg/L或50 μg/L），确定各砷形态完全分离后，将As(III)和As(V)混合标准系列溶液按质量浓度由低到高分别注入液相色谱-原子荧光光谱联用仪中进行测定，以标准系列溶液中目标化合物的浓度为横坐标，以色谱峰面积为纵坐标，制作标准曲线。标准溶液色谱图见附图中图1、图2。

注：当测定有机砷含量较高的水产动物及其制品、食用菌及其制品等复杂基质样品中无机砷时，需采用质量浓度为50 μg/L的砷形态混合标准溶液确定分离度。

### 5.3.6 样品测定

吸取试样溶液100 μL注入液相色谱-原子荧光光谱联用仪中，得到色谱图，以保留时间定性。根据标准曲线得到试样溶液中As(III)与As(V)含量。

## 6 计算

试样中As(III)或As(V)含量按式（1）计算。

$$X = \frac{(c - c_0) \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000 \times 1\,000} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

*X* ——样品中 As(III)或 As(V)的含量（以 As 计），单位为毫克每千克（mg/kg）；

*c* ——测定溶液中 As(III)或 As(V)浓度，单位为微克每升（μg/L）；

*c*<sub>0</sub> ——空白溶液中 As(III)或 As(V)浓度，单位为微克每升（μg/L）；

*V* ——试样提取液体积，单位为毫升（mL）；

*m* ——试样称样量，单位为克（g）；

1 000 ——换算系数。

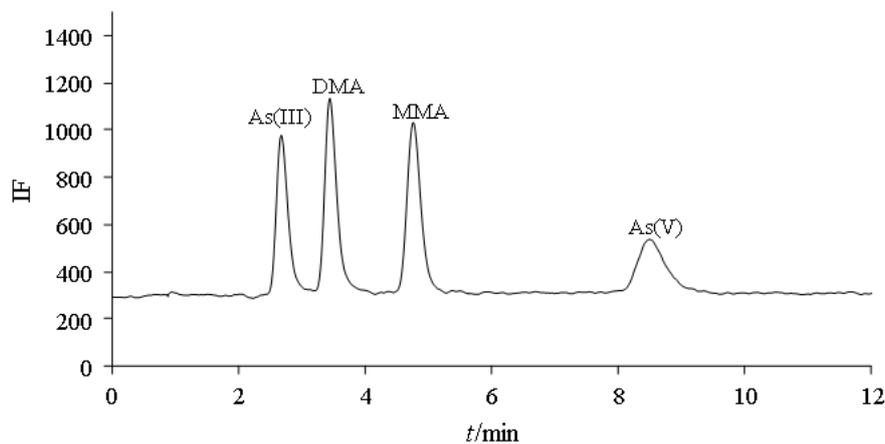
无机砷含量等于 As(III)含量与 As(V)含量之和。

当无机砷含量 $\geq 1.00$  mg/kg 时，计算结果保留 3 位有效数字，当无机砷含量 $< 1.00$  mg/kg 时，计算结果保留 2 位有效数字。

## 7 精密度

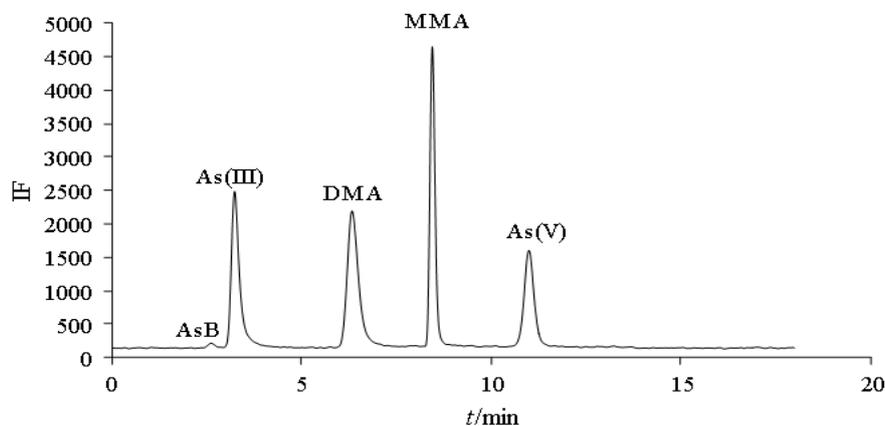
本操作规程的精密度是指在重复条件下获得的两次独立测定结果的相对相差，样品中无机砷的含量大于 1.0 mg/kg 时，相对相差不超过 10%；小于或等于 1.0 mg/kg 且大于 0.1 mg/kg 时，相对相差不超过 15%；小于或等于 0.1 mg/kg 时，相对相差不超过 20%。

## 8 附图



说明：As(III) —亚砷酸根；DMA —二甲基砷；MMA —一甲基砷；As(V) —砷酸根。

图 1 液相色谱参考条件（一）等度洗脱，四种砷形态混合标准溶液色谱图（10  $\mu$ g/L）



说明：AsB —砷甜菜碱；As(III) —亚砷酸根；DMA —二甲基砷；MMA —一甲基砷；As(V) —砷酸根。

图 2 液相色谱参考条件（二）梯度洗脱，五种砷形态混合标准溶液色谱图  
(50  $\mu\text{g/L}$ )

## 9 说明

### 9.1 不同仪器的适用性说明

液相色谱-原子荧光光谱联用技术具有操作简便、成本低、线性范围宽等优点，已成为元素形态分析较为常用的联用方法之一。液相色谱用具有二元泵或四元泵，可进行梯度洗脱。不同品牌的原子荧光光谱仪，使用前需进行仪器状态确认，保证仪器各项指标符合工作要求后，方可进行实验。

### 9.2 关键试剂、标准品及耗材的原则性要求

对实验所用的水、硝酸、磷酸二氢铵、磷酸氢二铵、正己烷、氨水、硼氢化钾、氢氧化钾、盐酸、过氧化氢、玻璃容器等试剂耗材一定要进行验收，保证不会对砷的测定造成污染，特别要关注玻璃容器中砷的污染情况，如进样小瓶、容量瓶等。标准品建议购买经国家认证并授予证书的标准物质，保证溯源性。

### 9.3 实验准备过程的关注点

食品中无机砷测定属痕量分析，要防止样品在检测各环节被污染。玻璃器皿要经硝酸溶液浸泡，其他设备也要尽可能的洁净，避免背景值偏高影响灵敏度。

砷形态混合标准使用溶液和标准系列溶液需现用现配，避免砷形态之前的转化导致测定结果出现偏差。流动相需现用现配，避免长期暴露在空气中吸附空气中的杂质，导致背景值升高，影响灵敏度或造成污染。

### 9.4 样品制备及分析时的关注点

样品制备和前处理过程需要始终确保所用试剂、容器、通风橱以及整个实验室环境的洁净。样品应当充分均浆或均质，以保证均匀性。谷物样品应当粉碎至规定的粒径以保证无机砷的提取效率。

配制样品提取液所使用的过氧化氢应当具有有效的氧化性，需在保质期内，使用后的过氧化氢应密封保存。提取液需现用现配，避免长期存储受到污染及减弱其氧化能力。样品前处理过程中应将样品与提取剂经涡旋充分混合；90  $^{\circ}\text{C}$  加热提取时需定期取出振摇；高速离心后，取上清液过0.45  $\mu\text{m}$  水系滤膜。有条件

可选择冷冻离心机，效果会更好。

分析时砷形态标准曲线的相关系数应 $\geq 0.999$ ，测定时样品溶液中砷形态浓度须在标准曲线的浓度范围内，当样品提取液中无机砷浓度含量过高时，适当稀释后（或适当调整加入的提取液体积）再进行测定，确保测定的准确性。在没有适宜的基体有证标准物质时可采用加标回收试验进行质量控制，建议加标回收率控制在80%~120%范围内。

## 十、食品中甲基汞测定的标准操作程序(HPLC-ICP/MS)

### 1 适用范围

本程序规定了食品中甲基汞的液相色谱—电感耦合等离子体质谱测定方法。

本程序适用于食品中甲基汞的测定,当取样量为 1 g,提取液体积为 10 mL,稀释倍数为 2.5 时,方法检出限为 0.002 mg/kg,方法定量限为 0.006 mg/kg。

### 2 原理

食品中甲基汞经超声波辅助 1 mol/L 盐酸-0.05 mol/L L-半胱氨酸盐酸盐溶液提取,调至一定 pH 值后,以液相色谱进行分离,分离后的目标化合物经过雾化由载气送入 ICP 炬焰中,经过蒸发、解离、原子化、电离等过程,大部分转化为带正电荷的离子,经离子采集系统进入质谱仪,质谱仪根据质荷比进行分离测定。以保留时间和质荷比定性,外标法峰面积定量。

### 3 试剂和材料

除非另有规定,本方法所用试剂均为优级纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 甲醇(CH<sub>3</sub>OH): 色谱纯。

3.1.2 盐酸(HCl)。

3.1.3 乙酸铵(CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>): 分析纯。

3.1.4 重铬酸钾(K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>): 分析纯。

3.1.5 硝酸(HNO<sub>3</sub>)。

3.1.6 L-半胱氨酸盐酸盐 (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>ClNO<sub>2</sub>S): 分析纯。

3.1.7 氨水(NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)。

3.1.8 甲基橙(C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>Na): 分析纯。

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 氨水溶液(1+1): 量取 50 mL 氨水,缓慢加入 50 mL 水中,混匀。

3.2.2 硝酸溶液(5+95): 量取 5 mL 硝酸,缓缓加入 95 mL 水中,混匀。

3.2.3 重铬酸钾的硝酸溶液(0.5 g/L): 称取 0.5 g 重铬酸钾,用硝酸溶液(5+95)溶解后稀释至 1000 mL,混匀。

3.2.4 甲醇水溶液(1+1): 量取100 mL甲醇, 缓慢加入100 mL水中, 混匀。

3.2.5 流动相 (5 %甲醇+0.01 mol/L乙酸铵+0.1 g/L L-半胱氨酸盐酸盐): 称取1 g L-半胱氨酸盐酸盐, 0.77 g乙酸铵, 置于1000 mL容量瓶中, 用水溶解, 再加入50 mL甲醇, 最后用水定容至刻度。经0.45  $\mu$ m有机系滤膜过滤后, 于超声水浴中超声脱气30 min。临用现配。

3.2.6 甲基橙指示剂 (1 g/L): 称取0.1 g甲基橙, 溶于100 mL水中, 混匀。

3.2.7 样品提取溶液 (1 mol/L 盐酸+ 0.05 mol/L L-半胱氨酸盐酸盐): 量取83 mL盐酸, 溶于水并稀释约至500 mL, 加入8.78 g L-半胱氨酸盐酸盐, 溶解后滴加5滴甲基橙指示剂 (1 g/L), 混匀后定容至1000 mL。

### 3.3 标准品

3.3.1 氯化汞( $\text{HgCl}_2$ , CAS号: 7487-94-7): 纯度 $\geq 99\%$ 。或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

3.3.2 氯化甲基汞( $\text{HgCH}_3\text{Cl}$ , CAS号: 115-09-3): 纯度 $\geq 99\%$ 。或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 汞标准储备液(200 mg/L): 准确称取氯化汞0.0270 g, 用重铬酸钾的硝酸溶液 (0.5 g/L)溶解, 移入100 mL容量瓶中, 加重铬酸钾的硝酸溶液 (0.5 g/L)至刻度, 混匀。

3.4.2 甲基汞标准储备液(200 mg/L): 准确称取0.0250 g氯化甲基汞, 用少量甲醇溶解, 移入100 mL容量瓶中, 加甲醇水溶液(1+1)至刻度, 混匀。

3.4.3 汞形态混合标准中间(1.00 mg/L): 分别准确吸取汞标准储备液、甲基汞标准储备液各0.500 mL于100 mL容量瓶中, 加流动相至刻度, 混匀。临用现配。

3.4.4 汞形态混合标准使用(100  $\mu$ g/L): 准确吸取汞形态混合标准中间(1.00 mg/L) 1.00 mL于10.0 mL容量瓶中, 加流动相至刻度, 混匀。临用现配。

3.4.5 甲基汞标准系列溶液: 分别准确吸取汞形态混合标准使用(100  $\mu$ g/L): 0 mL、0.020 mL、0.050 mL、0.100 mL、0.200 mL、0.500 mL和1.00 mL于10 mL容量瓶中, 加流动相至刻度, 混匀。此系列溶液汞的质量浓度分别为0  $\mu$ g/L、0.200  $\mu$ g/L、0.500  $\mu$ g/L、1.00  $\mu$ g/L、2.00  $\mu$ g/L、5.00  $\mu$ g/L、10.0  $\mu$ g/L。临用现配。

注: 可根据仪器的灵敏度及样品中甲基汞的实际含量确定标准系列溶液中甲

基汞的质量浓度。

## 4 仪器与设备

4.1 液相色谱-电感耦合等离子体质谱仪(HPLC-ICP-MS)：由液相色谱与电感耦合等离子体质谱仪组成。

4.2 电子天平：感量为0.01 mg、0.1 mg和1 mg。

4.3 匀浆机。

4.4 高速粉碎机。

4.5 冷冻离心机：转速 $\geq 8000$  r/min。

4.6 超声波清洗器。

4.7 有机系滤膜：0.45  $\mu$ m。

注：所有玻璃器皿均需硝酸溶液(1+5)浸泡过夜，用自来水反复冲洗，最后用水冲洗干净。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样制备

#### 5.1.1 固态样品

##### 5.1.1.1 干样

豆类、谷物、菌类、茶叶、干制水果、焙烤食品等低含水量样品，取可食部分，必要时经高速粉碎机粉碎均匀；对于固体乳制品、蛋白粉、面粉等呈均匀状的粉状样品，摇匀。

##### 5.1.1.2 鲜样

蔬菜、水果、水产品等高含水量样品必要时洗净，晾干，取可食部分匀浆均匀；对于肉类、蛋类等样品取可食部分匀浆均匀。

##### 5.1.1.3 速冻及罐头食品

经解冻的速冻食品及罐头样品，取可食部分匀浆均匀。

#### 5.1.2 液态样品

软饮料、调味品等样品摇匀。

#### 5.1.3 半固态样品

搅拌均匀。

注：在采样和制备过程中，应注意不使试样污染。

## 5.2 试样提取

称取样品0.50 g~1.5 g (精确到0.001 g)，置于15 mL塑料离心管中，加入10 mL样品提取溶液。室温下超声水浴提取60 min，期间振摇数次。4 °C下以 8000 r/min离心15 min。准确吸取2.00 mL上清液至5 mL容量瓶或刻度试管中，缓慢逐滴加入氨水溶液 (1+1)，至样液甲基橙指示剂刚变色，加水至刻度，混匀。经0.45 μm有机系滤膜过滤，待测。同时做空白试验。

注：滴加氨水溶液(1+1)时应缓慢逐滴加入，避免酸碱中和产生的热量来不及扩散而使温度很快升高，导致汞化合物挥发，造成测定值偏低。

## 5.3 测定

### 5.3.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

- a) 色谱柱：C18分析柱(150 mm×4.6 mm，5 μm)或等效色谱柱；
- b) 流动相：5 % 甲醇+0.01 mol/L乙酸铵+0.1 g/L L-半胱氨酸盐酸盐；
- c) 流速：1.0 mL/min；
- d) 进样体积：50 μL。

### 5.3.2 电感耦合等离子体质谱检测参考条件

电感耦合等离子体质谱仪参考条件如下：

- a) 射频功率：1200 W~1550 W；
- b) 采样深度：8 mm；
- c) 雾化室温度：2 °C；
- d) 载气(氩气)流量：0.85 L/min；
- e) 补偿气(氩气)流量：0.15 L/min；
- f) 积分时间：0.5 s；
- g) 检测质荷比(m/z)：202。

## 5.4 标准曲线的制作

设定仪器最佳条件，待基线稳定后，测定汞形态混合标准溶液(1.00 μg/L)，确定各汞形态的分离度，待分离度(R>1.5)达到要求后，将甲基汞标准系列溶液按质量浓度由低到高分别注入液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪中进行测定，

以标准系列溶液中甲基汞的质量浓度为横坐标,以色谱峰面积为纵坐标,制作标准曲线。汞形态混合标准溶液的色谱图参见附图1。

### 5.5 试样溶液的测定

在测定标准曲线相同的试验条件下,依次将空白溶液和试样溶液注入液相色谱-电感耦合等离子体质谱联用仪中,得到色谱图,以保留时间和质荷比定性。根据标准曲线得到试样溶液中甲基汞的质量浓度。平行测定次数不少于两次。试样溶液的色谱图参见附图2。

## 6 分析结果的表述

试样测定结果按下式计算:

$$X = \frac{(\rho - \rho_0) \times V \times f}{m \times 1000}$$

式中:

$X$  ——试样中甲基汞的含量(以 Hg计),单位为毫克每千克(mg/kg);

$f$  ——稀释倍数, 2.5;

$\rho$  ——经标准曲线得到的测定液中甲基汞的浓度,单位为微克每升( $\mu\text{g/L}$ );

$\rho_0$  ——经标准曲线得到的空白溶液中甲基汞的浓度,单位为微克每升( $\mu\text{g/L}$ );

$V$  ——加入提取试剂和氨水的体积,单位为毫升(mL);

$m$  ——试样称样量,单位为克(g);

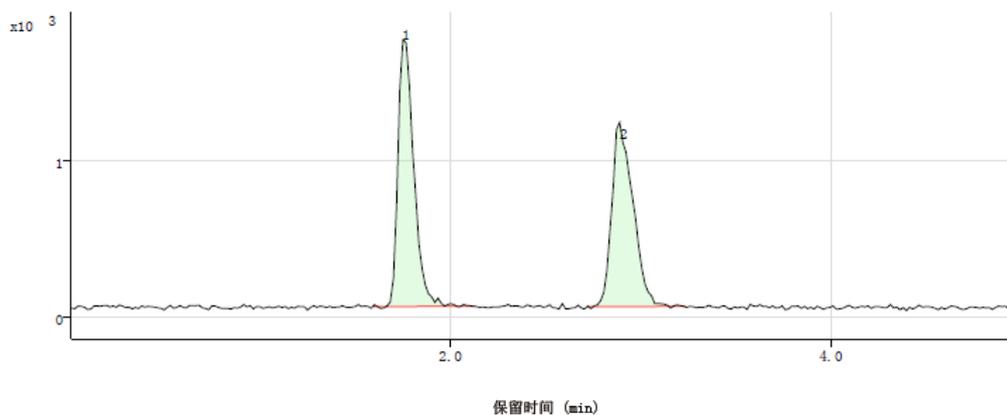
1000 ——换算系数。

当甲基汞含量 $\geq 0.100$  mg/kg时,计算结果保留三位有效数字;当甲基汞含量 $< 0.100$  mg/kg时,计算结果保留两位有效数字。

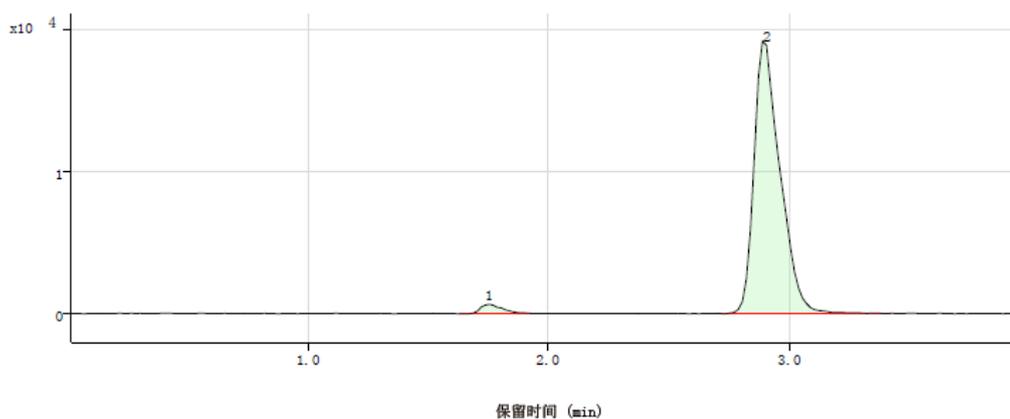
## 7 精密度

试样中甲基汞含量 $> 1$  mg/kg时,在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%; $0.1$  mg/kg $<$ 试样中甲基汞含量 $\leq 1$  mg/kg时,在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%;试样中甲基汞含量 $\leq 0.1$  mg/kg时,在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。

## 8 附图



附图 1 1.00 µg/L 标准溶液图谱  
(1.无机汞; 2.甲基汞)



附图 2 海水鱼样品图谱  
(1.无机汞; 2.甲基汞)

## 9 说明

9.1 样品溶液 pH 值要控制在所使用的 C<sub>18</sub> 色谱柱适宜 pH 范围内。调节 pH 时然后边振摇边逐滴加入氨水溶液，至溶液颜色突变为橙色立刻停止加入。

9.2 在测定过程中，需要每测定 10~20 个样品用同一份标准溶液或者定值参考物质检查仪器的稳定性。

9.3 尽可能使用与样品基质相同或相近的定值参考物质作为质量控制样品。没有合适的定值参考物质时，采用样品加标回收实验进行质量控制，回收率应在

80 % ~ 120 % 之间。

9.4 提取液中的 L-半胱氨酸盐酸盐可使用 L-半胱氨酸替代，浓度保持不变。

9.5 提取液采用 1 mol/L 盐酸+0.05 mol/L L-半胱氨酸盐酸盐，降低盐酸浓度可有效减少上机溶液中的离子浓度，减少干扰、降低基线、增加了灵敏度。同时降低提取液中的盐酸浓度可方便调节 pH 值。

## 十一、食品中甲基汞测定的标准操作程序(HPLC-AFS)

### 1 适用范围

本程序规定了食品中甲基汞的液相色谱—原子荧光光谱测定方法。

本程序适用于食品中甲基汞的测定,当取样量为 1 g,提取液体积为 10 mL,稀释倍数为 2.5 时,方法检出限为 0.008 mg/kg,方法定量限为 0.03 mg/kg。

### 2 原理

食品中甲基汞经超声波辅助 1 mol/L 盐酸+0.05 mol/L L-半胱氨酸盐酸盐溶液提取,调至一定 pH 值后,以液相色谱进行分离,色谱流出液进入在线紫外消解系统,在紫外光照射下与强氧化剂过硫酸钾反应,甲基汞转变为无机汞。酸性环境下,无机汞与硼氢化钾在线反应生成汞蒸气,由原子荧光光谱仪测定。保留时间定性,外标法峰面积定量。

### 3 试剂和材料

除非另有规定,本方法所用试剂均为分析纯,水为GB/T 6682规定的一级水。

#### 3.1 试剂

- 3.1.1 甲醇(CH<sub>3</sub>OH): 色谱纯。
- 3.1.2 氨水(NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O): 优级纯。
- 3.1.3 氢氧化钾(KOH)。
- 3.1.4 硼氢化钾(KBH<sub>4</sub>)。
- 3.1.5 过硫酸钾(K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>)。
- 3.1.6 乙酸铵(CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>)。
- 3.1.7 盐酸(HCl) : 优级纯。
- 3.1.8 硝酸(HNO<sub>3</sub>) : 优级纯。
- 3.1.9 重铬酸钾(K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>)。
- 3.1.10 L-半胱氨酸盐酸盐 (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>ClNO<sub>2</sub>S)。
- 3.1.11 甲基橙(C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>Na)。

#### 3.2 试剂配制

- 3.2.1 盐酸溶液(1+9): 量取100 mL盐酸,缓慢加入900 mL水中,混匀。

3.2.2 氢氧化钾溶液(2 g/L): 称取2.0 g氢氧化钾, 用水溶解后稀释至1000 mL, 混匀。

3.2.3 硼氢化钾溶液(2 g/L): 称取2.0 g硼氢化钾, 用氢氧化钾溶液(2 g/L)溶解后稀释至1000 mL, 混匀。临用现配。

3.2.4 过硫酸钾溶液(2 g/L): 称取1.0 g过硫酸钾, 用氢氧化钾溶液(2 g/L)溶解后稀释至500 mL, 混匀。临用现配。

3.2.5 硝酸溶液(5+95): 量取5 mL硝酸, 缓缓加入95 mL水中, 混匀。

3.2.6 重铬酸钾的硝酸溶液(0.5 g/L): 称取0.5 g重铬酸钾, 用硝酸溶液(5+95)溶解后稀释至1000 mL, 混匀。

3.2.7 氨水溶液(1+1): 量取 50 mL 氨水, 缓慢加入 50 mL 水中, 混匀。

3.2.8 甲醇水溶液(1+1): 量取100 mL甲醇, 缓缓加入100 mL水中, 混匀。

3.2.9 流动相 (5 % 甲醇+0.01 mol/L 乙酸铵+0.1 g/L L-半胱氨酸盐酸盐): 称取1 g L-半胱氨酸盐酸盐, 0.77 g 乙酸铵, 置于1000 mL容量瓶中, 用水溶解, 再加入50 mL 甲醇, 最后用水定容至刻度。经0.45 μm有机系滤膜过滤后, 于超声水浴中超声脱气30 min。临用现配。

3.2.10 甲基橙指示剂 (1 g/L): 称取0.1 g甲基橙, 溶于100 mL水中, 混匀。

3.2.11 样品提取溶液 (1 mol/L 盐酸+ 0.05 mol/L L-半胱氨酸盐酸盐): 量取83 mL 盐酸, 溶于水并稀释约至500 mL, 加入8.78 g L-半胱氨酸盐酸盐, 溶解后滴加5滴甲基橙指示剂 (1 g/L), 混匀后定容至1000 mL。

### 3.3 标准品

3.3.1 氯化汞( $\text{HgCl}_2$ , CAS号: 7487-94-7): 纯度 $\geq 99\%$ , 或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

3.3.2 氯化甲基汞( $\text{HgCH}_3\text{Cl}$ , CAS号: 115-09-3): 纯度 $\geq 99\%$ , 或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 汞标准储备液(200 mg/L): 准确称取氯化汞0.0270 g, 用重铬酸钾的硝酸溶液 (0.5 g/L)溶解, 移入100 mL容量瓶中, 加重铬酸钾的硝酸溶液 (0.5 g/L)至刻度, 混匀。

3.4.2 甲基汞标准储备液(200 mg/L): 准确称取0.0250 g氯化甲基汞, 用少量甲醇

溶解，移入100 mL容量瓶中，加甲醇水溶液(1+1)至刻度，混匀。

3.4.3 汞形态混合标准使用液(1.00 mg/L)：分别准确吸取汞标准储备液、甲基汞标准储备液各0.500 mL于100 mL容量瓶中，加流动相至刻度，混匀。临用现配。

3.4.4 汞形态混合标准溶液(10.0 µg/L)：准确吸取混合标准使用液(1.00 mg/L) 0.250 mL于25 mL容量瓶中，加流动相至刻度，混匀。临用现配。

3.4.5 甲基汞标准使用液(1.00 mg/L)：准确吸取甲基汞标准储备液(200 mg/L) 0.500 mL于100 mL容量瓶中，加流动相至刻度，混匀。临用现配。

3.4.6 甲基汞标准系列溶液：分别准确吸取甲基汞标准使用液(1.00 mg/L) 0 mL、0.010 mL、0.050 mL、0.100 mL、0.300 mL和0.500 mL于10 mL容量瓶中，加流动相至刻度，混匀。此系列溶液汞的质量浓度分别为0 µg/L、1.00 µg/L、5.00 µg/L、10.0 µg/L、30.0 µg/L、50.0 µg/L。临用现配。

注：可根据仪器的灵敏度及样品中甲基汞的实际含量确定标准系列溶液中甲基汞的质量浓度。

## 4 仪器与设备

4.1 液相色谱-原子荧光光谱联用仪(HPLC-AFS)：由液相色谱仪、在线紫外消解系统及原子荧光光谱仪组成。

4.2 电子天平：感量为0.01 mg、0.1 mg和1 mg。

4.3 匀浆机。

4.4 高速粉碎机。

4.5 冷冻离心机：转速≥8000 r/min。

4.6 超声波清洗器。

4.7 有机系滤膜：0.45 µm。

注：所有玻璃器皿均需硝酸溶液(1+5)浸泡过夜，用自来水反复冲洗，最后用水冲洗干净。

## 5 分析步骤

5.1 试样制备

5.1.1 固态样品

5.1.1.1 干样

豆类、谷物、菌类、茶叶、干制水果、焙烤食品等低含水量样品，取可食部分，必要时经高速粉碎机粉碎均匀；对于固体乳制品、蛋白粉、面粉等呈均匀状的粉状样品，摇匀。

#### 5.1.1.2 鲜样

蔬菜、水果、水产品等高含水量样品必要时洗净，晾干，取可食部分匀浆均匀；对于肉类、蛋类等样品取可食部分匀浆均匀。

#### 5.1.1.3 速冻及罐头食品

经解冻的速冻食品及罐头样品，取可食部分匀浆均匀。

#### 5.1.2 液态样品

软饮料、调味品等样品摇匀。

#### 5.1.3 半固态样品

搅拌均匀。

注：在采样和制备过程中，应注意不使试样污染。

### 5.2 试样提取

称取样品0.50 g~1.5 g(精确到0.001 g)，置于15 mL塑料离心管中，加入10 mL样品提取溶液。室温下超声水浴提取60 min，期间振摇数次。4℃下以8000 r/min离心15 min。准确吸取2.00 mL上清液至5 mL容量瓶或刻度试管中，缓慢逐滴加入氨水溶液(1+1)，至样液甲基橙指示剂刚变色，加水至刻度，混匀。经0.45 μm有机系滤膜过滤，待测。同时做空白试验。

### 5.3 仪器参考条件

#### 5.3.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

- a) 色谱柱：C18分析柱(150 mm×4.6 mm，5 μm)或等效色谱柱；
- b) 流动相：5%甲醇+0.01 mol/L乙酸铵+0.1 g/L L-半胱氨酸盐酸盐；
- c) 流速：1 mL/min；
- d) 进样体积：100 μL。

#### 5.3.2 原子荧光检测参考条件

原子荧光检测参考条件如下：

- a) 负高压：300 V；

- b) 汞灯电流：30 mA；
- c) 原子化方式：冷原子；
- d) 载液：盐酸溶液(1+9)；
- e) 载液流速：4.0 mL/min；
- f) 还原剂：2 g/L硼氢化钾溶液；
- g) 还原剂流速：4.0 mL/min；
- h) 氧化剂：2 g/L过硫酸钾溶液；
- i) 氧化剂流速：1.6 mL/min；
- j) 载气(氩气)流速：500 mL/min；
- k) 辅助气(氩气)流速：600 mL/min。

#### 5.4 标准曲线的制作

设定仪器最佳条件，待基线稳定后，测定汞形态混合标准溶液(10 μg/L)，确定各汞形态的分离度，待分离度( $R>1.5$ )达到要求后，将甲基汞标准系列溶液按质量浓度由低到高分别注入液相色谱-原子荧光光谱联用仪中进行测定，以标准系列溶液中目标化合物的浓度为横坐标，以色谱峰面积为纵坐标，制作标准曲线。汞形态混合标准溶液的色谱图参见附图1。

#### 5.5 试样溶液的测定

在测定标准曲线相同的试验条件下，依次将空白溶液和试样溶液注入液相色谱-原子荧光光谱联用仪中，得到色谱图，以保留时间和质荷比定性。根据标准曲线得到试样溶液中甲基汞的质量浓度。试样溶液的色谱图参见附图2。

### 6 分析结果的表述

试样测定结果按下式计算：

$$X = \frac{(\rho - \rho_0) \times V \times f}{m \times 1000}$$

式中：

$X$  ——试样中甲基汞的含量(以 Hg计)，单位为毫克每千克(mg/kg)；

$f$  ——稀释倍数，2.5；

$\rho$  ——经标准曲线得到的测定液中甲基汞的浓度，单位为微克每升(μg/L)；

$\rho_0$  ——经标准曲线得到的空白溶液中甲基汞的浓度，单位为微克每升( $\mu\text{g/L}$ );

$V$  ——加入提取试剂和氨水的体积，单位为毫升(mL);

$m$  ——试样称样量，单位为克(g);

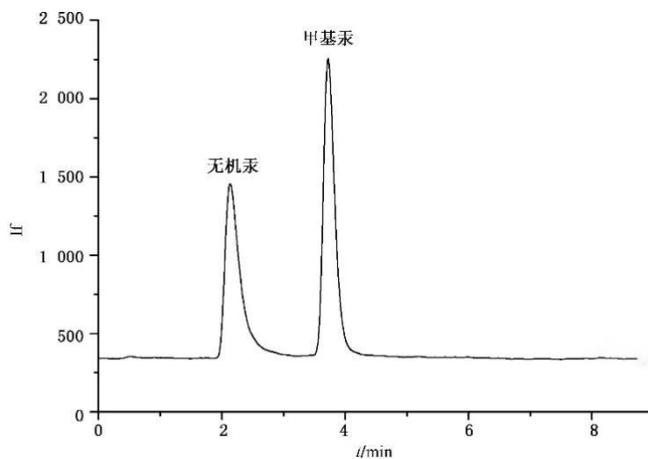
1000 ——换算系数。

当甲基汞含量 $\geq 1.00\text{ mg/kg}$ 时，计算结果保留三位有效数字；当甲基汞含量 $< 1.00\text{ mg/kg}$ 时，计算结果保留两位有效数字。

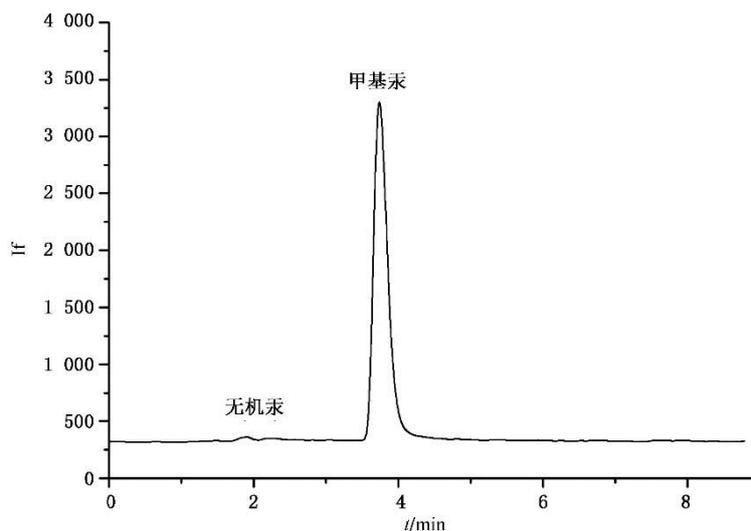
## 7 精密度

试样中甲基汞含量 $> 1\text{ mg/kg}$ 时，在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%； $0.1\text{ mg/kg} < \text{试样中甲基汞含量} \leq 1\text{ mg/kg}$ 时，在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%；试样中甲基汞含量 $\leq 0.1\text{ mg/kg}$ 时，在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。

## 8 附图



附图 1 10.00  $\mu\text{g/L}$  标准溶液图谱  
(1.无机汞; 2.甲基汞)



附图 2 海水鱼样品图谱  
(1. 无机汞；2.甲基汞)

## 9 说明

9.1 样品溶液 pH 值要控制在所使用的 C<sub>18</sub> 色谱柱适宜 pH 范围内。调节 pH 时，边振摇边逐滴加入氨水溶液，至溶液颜色突变为橙色立刻停止加入。

9.2 在测定过程中，需要每测定 10~20 个样品用同一份标准溶液或者定值参考物质检查仪器的稳定性。

9.3 尽可能使用与样品基质相同或相近的定值参考物质作为质量控制样品。没有合适的定值参考物质时，采用样品加标回收实验进行质量控制，回收率应在 80%~120% 之间。

9.4 提取液中的 L-半胱氨酸盐酸盐可使用 L-半胱氨酸替代，浓度保持不变。

9.5 提取液采用 1 mol/L 盐酸+0.05 mol/L L-半胱氨酸盐酸盐，降低盐酸浓度可减少盐酸用量和方便调节 pH 值。

### 第三节 生物毒素

序号	方法名称	起草人
1	食品中真菌毒素多组分测定的标准操作程序	蔡增轩 许娇娇 黄百芬
2	食品中交链孢霉毒素测定的标准操作程序	谢继安 刘柏林
3	牛奶中赭曲霉毒素 A、玉米赤霉烯酮及其代谢产物测定的标准操作程序	徐小民
4	边销茶中 T-2 毒素和 HT-2 毒素测定的标准操作程序	徐小民
5	食品中米酵菌酸测定标准操作程序	徐小民
6	蝉花子实体中白僵菌素测定的标准操作程序	

## 一、食品中真菌毒素多组分测定的标准操作程序（同位素稀释 HPLC-MS）

### 1 适用范围

本标准操作程序规定了食品中黄曲霉毒素等 16 种真菌毒素的同位素稀释液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准操作程序适用于小麦、大米、玉米及其制品以及膨化食品、婴幼儿辅食中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub>/B<sub>2</sub>/G<sub>1</sub>/G<sub>2</sub>、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、雪腐镰刀菌烯醇、3-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇、15-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇、玉米赤霉烯酮、赭曲霉毒素 A、伏马毒素 B<sub>1</sub>/B<sub>2</sub>/B<sub>3</sub>、T-2/HT-2 毒素、杂色曲霉毒素等 16 种真菌毒素的测定。

当称样量为 5 g，加入提取液体积为 20 mL，各种真菌毒素的检测限和定量限分别详见表 7（负离子模式）和表 8（正离子模式）。

### 2 原理

试样中的 16 种真菌毒素用乙腈-水-甲酸(70+29+1，体积比)溶液提取，提取液经稀释、离心、过滤后，取上清液加入一定浓度 <sup>13</sup>C 标记的真菌毒素同位素内标溶液，液相色谱-串联质谱仪多反应监测模式（正离子模式或负离子模式）测定，采用稳定同位素稀释内标法定量。

### 3 试剂和材料

除另有规定外，所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 乙腈（CH<sub>3</sub>CN）：色谱纯。

3.1.2 甲醇（CH<sub>3</sub>OH）：色谱纯。

3.1.3 甲酸（HCOOH）：色谱纯。

3.1.4 乙酸（CH<sub>3</sub>COOH）：色谱纯。

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 乙腈-水-甲酸溶液（70+29+1，体积比）：量取 700 mL 乙腈加入到 290 mL 水中，加入 10 mL 甲酸，混匀。

3.2.2 乙腈-水溶液（50+50，体积比）：量取 500 mL 乙腈加入到 500 mL 水中，混匀。

3.2.3 0.2%甲酸水溶液：吸取 2 mL 甲酸，用水稀释至 1 L，混匀。

### 3.3 标准品

3.3.1 黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (AFT B<sub>1</sub>, C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, CAS: 1162-65-8): 纯度≥98 %。

3.3.2 黄曲霉毒素 B<sub>2</sub> (AFT B<sub>2</sub>, C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>, CAS: 7220-81-7): 纯度≥98 %。

3.3.3 黄曲霉毒素 G<sub>1</sub> (AFT G<sub>1</sub>, C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>, CAS: 1165-39-5): 纯度≥98 %。

3.3.4 黄曲霉毒素 G<sub>2</sub> (AFT G<sub>2</sub>, C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>, CAS: 7241-98-7): 纯度≥98 %。

3.3.5 脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (DON, C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>, CAS: 51481-10-8): 纯度≥99 %。

3.3.6 雪腐镰刀菌烯醇 (NIV, C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>7</sub>, CAS: 23282-20-4): 纯度≥99 %。

3.3.7 3-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (3-AcDON, C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>7</sub>, CAS: 50722-38-8): 纯度≥99%。

3.3.8 15-乙酰基脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (15-AcDON, C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>7</sub>, CAS: 88337-96-6): 纯度≥99%。

3.3.9 玉米赤霉烯酮 (ZEN, C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>, CAS: 17924-92-4): 纯度≥99 %。

3.3.10 赭曲霉毒素 A (OTA, C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>6</sub>, CAS: 303-47-9): 纯度≥99 %。

3.3.11 伏马毒素 B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>, C<sub>34</sub>H<sub>59</sub>NO<sub>15</sub>, CAS: 116355-83-0): 纯度≥99 %。

3.3.12 伏马毒素 B<sub>2</sub> (FB<sub>2</sub>, C<sub>34</sub>H<sub>59</sub>NO<sub>14</sub>, CAS: 116355-84-1): 纯度≥99 %。

3.3.13 伏马毒素 B<sub>3</sub> (FB<sub>3</sub>, C<sub>34</sub>H<sub>59</sub>NO<sub>14</sub>, CAS: 136379-59-4): 纯度≥99 %。

3.3.14 T-2 毒素 (T-2, C<sub>24</sub>H<sub>34</sub>O<sub>9</sub>, CAS: 21259-20-1): 纯度≥99 %。

3.3.15 HT-2 毒素 (HT-2, C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>8</sub>, CAS: 26934-87-2): 纯度≥99 %。

3.3.16 杂色曲霉毒素 (ST, C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, CAS: 10048-13-2): 纯度≥99 %。

3.3.17 同位素内标 <sup>13</sup>C<sub>17</sub>-AFTB<sub>1</sub> (<sup>13</sup>C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>): 0.5 μg/mL, 纯度≥98 %。

3.3.18 同位素内标 <sup>13</sup>C<sub>17</sub>-AFTB<sub>2</sub> (<sup>13</sup>C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>): 0.5 μg/mL, 纯度≥98 %。

3.3.19 同位素内标 <sup>13</sup>C<sub>17</sub>-AFTG<sub>1</sub> (<sup>13</sup>C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>): 0.5 μg/mL, 纯度≥98 %。

3.3.20 同位素内标 <sup>13</sup>C<sub>17</sub>-AFTG<sub>2</sub> (<sup>13</sup>C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>): 0.5 μg/mL, 纯度≥98 %。

3.3.21 同位素内标 <sup>13</sup>C<sub>15</sub>-NIV (<sup>13</sup>C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>7</sub>): 25 μg/mL, 纯度≥99 %。

3.3.22 同位素内标 <sup>13</sup>C<sub>15</sub>-DON (<sup>13</sup>C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>): 25 μg/mL, 纯度≥99 %。

3.3.23 同位素内标 <sup>13</sup>C<sub>15</sub>-3-AcDON (<sup>13</sup>C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>7</sub>): 25 μg/mL, 纯度≥99 %。

3.3.24 同位素内标 <sup>13</sup>C<sub>15</sub>-15-AcDON (<sup>13</sup>C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>7</sub>): 10 μg/mL, 纯度≥99 %。

3.3.25 同位素内标 <sup>13</sup>C<sub>18</sub>-ZEN (<sup>13</sup>C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>): 25 μg/mL, 纯度≥99 %。

3.3.26 同位素内标  $^{13}\text{C}_{20}\text{-OTA}$  ( $^{13}\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{ClNO}_6$ ): 25  $\mu\text{g/mL}$ , 纯度 $\geq 99\%$ 。

3.3.27 同位素内标  $^{13}\text{C}_{34}\text{-FB}_1$  ( $^{13}\text{C}_{34}\text{H}_{59}\text{NO}_{15}$ ): 25  $\mu\text{g/mL}$ , 纯度 $\geq 99\%$ 。

3.3.28 同位素内标  $^{13}\text{C}_{34}\text{-FB}_2$  ( $^{13}\text{C}_{34}\text{H}_{59}\text{NO}_{14}$ ): 10  $\mu\text{g/mL}$ , 纯度 $\geq 99\%$ 。

3.3.29 同位素内标  $^{13}\text{C}_{34}\text{-FB}_3$  ( $^{13}\text{C}_{34}\text{H}_{59}\text{NO}_{14}$ ): 10  $\mu\text{g/mL}$ , 纯度 $\geq 99\%$ 。

3.3.30 同位素内标  $^{13}\text{C}_{24}\text{-T-2}$  ( $^{13}\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_9$ ): 25  $\mu\text{g/mL}$ , 纯度 $\geq 99\%$ 。

3.3.31 同位素内标  $^{13}\text{C}_{22}\text{-HT-2}$  ( $^{13}\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_8$ ): 25  $\mu\text{g/mL}$ , 纯度 $\geq 99\%$ 。

3.3.32 同位素内标  $^{13}\text{C}_{18}\text{-ST}$  ( $^{13}\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_6$ ): 25  $\mu\text{g/mL}$ , 纯度 $\geq 99\%$ 。

### 3.4 标准溶液的配制

#### 3.4.1 单一标准储备液

分别用乙腈或乙腈:水(50:50, 体积比)溶解或稀释 16 种真菌毒素的粉末(或液体)标准品, 按照表 1 配制 16 种真菌毒素单标标准储备液, 在  $-20^\circ\text{C}$  保存。

表 1 16 种真菌毒素单标溶液浓度

名称	浓度 $\mu\text{g/mL}$	溶剂	名称	浓度 $\mu\text{g/mL}$	溶剂
AFT B <sub>1</sub>	1.0	乙腈	ZEN	100	乙腈
AFT B <sub>2</sub>	1.0	乙腈	NIV	100	乙腈
AFT G <sub>1</sub>	1.0	乙腈	DON	100	乙腈
AFT G <sub>2</sub>	1.0	乙腈	3-AcDON	100	乙腈
OTA	1.0	乙腈	15-AcDON	100	乙腈
FB <sub>1</sub>	50	乙腈:水(50:50)	ST	10	乙腈
FB <sub>2</sub>	50	乙腈:水(50:50)	HT-2	100	乙腈
FB <sub>3</sub>	50	乙腈:水(50:50)	T-2	100	乙腈

#### 3.4.2 混合标准储备液

分别移取一定体积的 16 种真菌毒素单一标准储备液于 10 mL 容量瓶中, 用乙腈定容至刻度, 得混合标准中间液,  $-20^\circ\text{C}$  保存, 各毒素浓度详见表 2。

表 2 16 种真菌毒素混合标准储备液浓度

名称	浓度 μg/mL	名称	浓度 μg/mL	名称	浓度 μg/mL	名称	浓度 μg/mL
AFT B <sub>1</sub>	0.5	NIV	50	ZEN	5	OTA	0.5
AFT B <sub>2</sub>	0.5	DON	50	T-2	5	FB <sub>1</sub>	10
AFT G <sub>1</sub>	0.5	3-AcDON	50	HT-2	10	FB <sub>2</sub>	10
AFT G <sub>2</sub>	0.5	15- AcDON	50	ST	0.5	FB <sub>3</sub>	10

### 3.4.3 混合真菌毒素同位素内标工作液

分别移取一定体积的 16 种各真菌毒素同位素标准溶液于 5 mL 容量瓶中，用乙腈稀释定容至刻度，充分混匀后于 -20℃ 避光保存。16 种同位素内标浓度详见表 3。（注：使用前要恢复至室温并用涡旋混合器充分混匀）。

表 3 16 种真菌毒素稳定同位素混合溶液浓度

名称	浓度 μg/m L	名称	浓度 μg/m L	名称	浓度 μg/mL	名称	浓度 μg/m L
<sup>13</sup> C- AFTB <sub>1</sub>	0.01	<sup>13</sup> C-NIV	1.25	<sup>13</sup> C- OTA	0.02	<sup>13</sup> C-FB <sub>1</sub>	0.5
<sup>13</sup> C- AFTB <sub>2</sub>	0.01	<sup>13</sup> C-DON	1.25	<sup>13</sup> C-T-2	0.05	<sup>13</sup> C-FB <sub>2</sub>	0.5
<sup>13</sup> C- AFTG <sub>1</sub>	0.01	<sup>13</sup> C-3-AcDON	1.25	<sup>13</sup> C-ST	0.02	<sup>13</sup> C-FB <sub>3</sub>	0.5
<sup>13</sup> C- AFTG <sub>2</sub>	0.01	<sup>13</sup> C-15- AcDON	1.25	<sup>13</sup> C- ZEN	1.25	<sup>13</sup> C-HT-2	0.5

### 3.4.4 标准曲线的配制

准确移取混合标准储备液适量，采用 20% 乙腈-水溶液逐级稀释，配制成不同浓度点的混合标准曲线系列溶液，各标准点的含量见表 4。

分别准确移取 20 μL 同位素内标混合溶液于各内插管中，加入 180 μL 对应的混合标准曲线浓度点溶液，于涡旋混合器上混合均匀，配制成混合标准曲线溶液系列。

表 4 标准系列浓度

名称	系列 1 ng/mL	系列 2 ng/mL	系列 3 ng/mL	系列 4 ng/mL	系列 5 ng/mL	系列 6 ng/mL
AFT B <sub>1</sub>	0.05	0.1	0.2	0.5	1.0	2.0
AFT B <sub>2</sub>	0.05	0.1	0.2	0.5	1.0	2.0
AFT G <sub>1</sub>	0.05	0.1	0.2	0.5	1.0	2.0
AFT G <sub>2</sub>	0.05	0.1	0.2	0.5	1.0	2.0
NIV	5	10	20	50	100	200
DON	5	10	20	50	100	200
3-AcDON	5	10	20	50.0	100.0	200
15-AcDON	5	10	20	50.0	100.0	200
ZEN	0.5	1.0	2.0	5.0	10.0	20
T-2	0.5	1.0	2.0	5.0	10.0	20
HT-2	1.0	2.0	4.0	10.0	20.0	40
ST	0.05	0.1	0.2	0.5	1.0	2.0
OTA	0.05	0.1	0.2	0.5	1.0	2.0
FB <sub>1</sub>	1.0	2.0	4.0	10.0	20.0	40
FB <sub>2</sub>	1.0	2.0	4.0	10.0	20.0	40
FB <sub>3</sub>	1.0	2.0	4.0	10.0	20.0	40

#### 4 仪器与设备

4.1 超高压液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源。

4.2 高速离心机：转速 $\geq 10000$  r/min。

4.3 天平：感量 0.1 mg 和 0.001 g。

4.4 涡旋混合器。

4.5 超声波/涡旋振荡器或摇床。

4.6 移液器：量程 1  $\mu$ L~10  $\mu$ L、10  $\mu$ L~100  $\mu$ L 和 100  $\mu$ L~1000  $\mu$ L。

4.7 分液器（量程 10-100 mL）。

4.8 样品筛：0.5-1 mm 孔径。

4.9 氮吹仪。

4.10 高速粉碎机：转速 10000 r/min。

4.11 带盖离心管：50 mL 和 1.5 mL。

4.12 微孔滤膜（有机系）：孔径 0.22  $\mu\text{m}$ 。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样制备

谷物及其制品：采样量需大于 1 kg，用高速粉碎机将其粉碎，过筛，使其粒径小于 0.5-1 mm 孔径试验筛，混合均匀后缩分至 100 g，储存于样品瓶中，密封保存，供检测用。

### 5.2 样品提取及净化

准确称取 5 g（精确到 0.01 g）试样于 50 mL 离心管中，加入 20 mL 乙腈水-甲酸(70+29+1，体积比)溶液，并用涡旋混合器混匀 1 min，置于旋转摇床上振荡提取 30 min，取 1.0 mL 提取液至 1.5 mL 离心管中，以 10000 转/分钟离心 5 min。准确转移 0.5 mL 上清液于另一 1.5 mL 离心管中，加入 1.0 mL 水，旋涡混匀后，在 4℃ 下以 10000 转/分的转速离心 5 min，吸取上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜。吸取 180  $\mu\text{L}$  处理好的样品滤液于 300  $\mu\text{L}$  内插管中，加入 20  $\mu\text{L}$  同位素混合内标溶液，涡旋混匀，待进样。

### 5.3 液相色谱-串联质谱参考条件

#### 5.3.1 液相色谱条件

5.3.2.1 液相色谱柱：Waters BEH  $\text{C}_{18}$  柱（柱长 150 mm，柱内径 2.1 mm；填料粒径 1.7  $\mu\text{m}$ ），或等效柱。

5.3.2.2 柱温：40℃。

5.3.2.3 进样量：10  $\mu\text{L}$ 。

5.3.2.4 流速：0.3 mL/min。

5.3.2.5 流动相：A 相：水(ESI<sup>-</sup>)/0.2%甲酸水溶液(ESI<sup>+</sup>)；B 相：乙腈。

5.3.2.6 梯度洗脱程序见表 5 和表 6。

表 5 正离子模式液相色谱梯度洗脱程序

时间(min)	流速(mL/min)	A(%)	B(%)
0.0	0.30	80	20
1.0	0.30	80	20
4.0	0.30	60	40
10.0	0.30	30	70
10.2	0.30	0	100
11.8	0.30	0	100
12.0	0.30	80	20
15.0	0.30	80	20

表 6 负离子模式液相色谱梯度洗脱程序

时间(min)	流速(mL/min)	A(%)	B(%)
0.0	0.30	95	5
1.0	0.30	95	5
1.5	0.30	80	20
5.0	0.30	75	25
5.5	0.30	0	100
8.2	0.30	0	100
8.5	0.30	95	5
12.0	0.30	80	20

### 5.3.2 质谱参考条件

5.3.2.1 离子源：电喷雾离子源。

5.3.2.2 质谱扫描方式：多重反应监测模式（MRM）。

5.3.2.3 锥孔电压：3.0 kV。

5.3.2.4 加热气温度：500℃。

5.3.2.5 离子源温度：150℃。

5.3.2.6 脱溶剂气：800 L/H。

5.3.2.7 16 种真菌毒素及其同位素内标的质谱条件参考表 7 和表 8。

表 7 5 种负离子模式真菌毒素的质谱参数及其检出限

N O.	Mycotoxin	Parent	Daughter	Collision	Cone	Time	LOD ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
		Ion (m/z)	Ion (m/z)	Energy (V)	Energy (V)	(min)	
1	NIV	311	281*/187	10/25	14	3.07	35
2	DON	295	265*/137	12/18	14	3.33	5.0
3	3-Ac-DON	337	307*/173	10/12	12	5.31	6.5
4	15-Ac-DON	337	150*/219	12/12	12	5.19	7.5
5	ZEN	317	175*/131	24/30	44	7.05	5.0
6	$^{13}\text{C}$ -NIV	326	295	10	14	3.07	
7	$^{13}\text{C}$ -DON	310	279	12	16	3.33	
8	$^{13}\text{C}$ -3-Ac-DON	354	323	8	12	5.31	
9	$^{13}\text{C}$ -15-Ac-DON	354	292	12	12	5.19	
10	$^{13}\text{C}$ -ZEN	335	185	26	42	7.05	

注：\*表示定量子离子。

表 8 11 种正离子模式真菌毒素的质谱参数及其检出限

Mycotoxin	Parent Ion (m/z)	Daughter Ion (m/z)	Collision Energy (V)	Cone Energy (V)	Time (min)	LOD ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
AFTG <sub>2</sub>	331	313*/245	24/30	36	4.76	1.0
AFTG <sub>1</sub>	329	243*/311	28/20	36	5.16	0.2
AFTB <sub>2</sub>	315	287*/259	24/30	42	5.16	0.1
AFTB <sub>1</sub>	313	285*/241	20/35	37	5.56	0.1
T-2	484	305*/185	14/20	18	7.81	2.0
HT-2	425	263*/245	12/12	13	6.20	25

FB <sub>1</sub>	722	334*/352	40/32	42	5.75	10
FB <sub>2</sub>	706	336*/318	38/38	40	7.30	10
FB <sub>3</sub>	706	336*/318	38/38	40	6.66	50
OTA	404	239*/358	27/13	21	8.33	0.5
ST	325	281*/310	31/25	40	8.75	5.0
<sup>13</sup> C-AFTB <sub>1</sub>	330	301	20	37	5.56	
<sup>13</sup> C-AFTB <sub>2</sub>	332	303	24	42	5.16	
<sup>13</sup> C-AFTG <sub>1</sub>	346	257	28	36	5.16	
<sup>13</sup> C-AFTG <sub>2</sub>	348	330	24	36	4.76	
<sup>13</sup> C-T-2	508	322	15	15	7.81	
<sup>13</sup> C-HT-2	447	278	13	13	6.20	
<sup>13</sup> C-FB <sub>1</sub>	756	356	40	42	5.75	
<sup>13</sup> C-FB <sub>2</sub>	740	358	38	40	7.30	
<sup>13</sup> C-FB <sub>3</sub>	740	358	38	40	6.66	
<sup>13</sup> C-ST	343	327	25	33	8.75	
<sup>13</sup> C-OTA	424	250	27	21	8.33	

注：\*表示定量子离子。

#### 5.4 定性测定

试样中目标化合物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，变化范围应在±2.5%之内。

每种化合物的质谱定性离子应出现，至少应包括一个母离子和两个子离子，而且同一检测批次，对同一化合物，样品中目标化合物的两个子离子的相对丰度比与浓度相当的标准溶液相比，其允许偏差不超过表 9 规定的范围。

表 9 定性时相对离子丰度的最大允许偏差

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

## 6 分析结果的表述

### 6.1 标准曲线的制备

按 3.4.4 稀释配制系列标准曲线系列，由低到高浓度依次进样检测，以各化合物色谱峰与相对应内标色谱峰的峰面积比值-浓度作图，得到内标法-标准曲线回归方程；以各化合物色谱峰峰面积-浓度作图，得到基质匹配外标法-标准曲线回归方程。

### 6.2 试样溶液的测定

取 5.2 处理得到的待测溶液进样，内标法（或外标法）计算待测液中目标物质的质量浓度，按 6.3 计算样品中待测物的含量。

待测液中的响应值应在标准曲线线性范围内，超过线性范围则应适当减少取样量后重新测定。

按下式计算 16 种真菌毒素的残留量：

$$X = \frac{C \times V \times f}{m}$$

式中：

$X$ ——试样中待测毒素的含量，单位为微克每千克， $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；

$C$ ——试样中待测毒素按照内标法（或外标法）在标准曲线中对应的浓度，单位为纳克每升， $\text{ng}/\text{mL}$ ；

$V$ ——试样提取液的体积，单位为毫升， $\text{mL}$ ；

$m$ ——试样称样量，单位为克， $\text{g}$ ；

$f$ ——提取液稀释因子， $f=3$ ；

注：计算结果需扣除空白值，测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 23%。

## 8 说明

8.1 本标准操作程序适用于小麦、大米、玉米及其制品、膨化食品、婴幼儿辅食中多种真菌毒素的测定。

8.2 本方法涉及多种真菌毒素，其中包括高致癌化合物黄曲霉毒素，整个实验过程需在通风橱中进行且尽量做好防护措施，避免危害操作人员的健康。

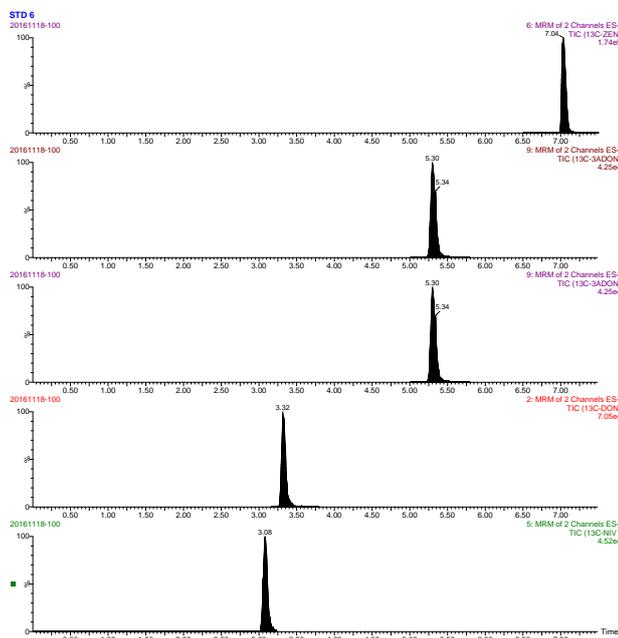
8.3 在开展方法应用前各实验室需根据本实验室仪器设备配置情况与使用状态，参考本方法的色谱和质谱参数参考条件进行优化，满足对各毒素的灵敏度要求。

8.4 为保证方法的灵敏度，对监测的离子要采取分段监测，各目标物的采集时间段可以设置为保留时间 $\pm 0.5$  min。

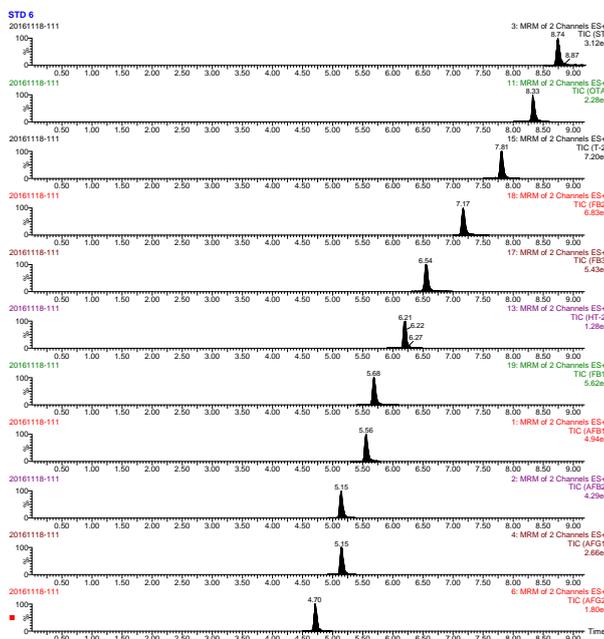
8.5 如试样中目标物含量超过国家食品安全标准 GB 2761 规定的限量值，需进行复核确证。

8.6 正离子模式下同位素内标 ( $^{13}\text{C}$ -ZEN) 对 ZEN 有干扰，只能在负离子模式下使用内标法定量检测。

9 附录



A: 5 种负离子模式（从下往上依次为：NIV、DON、15-ADON、3-ADON、ZEN）



B: 11 种正离子模式（从上往下： AFT G<sub>2</sub>、AFT G<sub>1</sub>、AFT B<sub>2</sub>、AFT B<sub>1</sub>、FB<sub>1</sub>、HT-2、FB<sub>3</sub>、FB<sub>2</sub>、T-2、OTA、ST）

图 1 16 种真菌毒素混合标准及内标溶液色谱图(A : ESI<sup>-</sup>; B: ESI<sup>+</sup>)

## 二、食品中交链孢霉毒素测定的标准操作程序（同位素稀释 HPLC-MS 法）

### 1 适用范围

本程序规定了小麦粉及其制品（挂面、饼干、面包、馒头等）、番茄及其制品、樱桃、车厘子、葡萄酒和植物油（含橄榄油）中 4 种交链孢霉毒素的液相色谱串联质谱测定方法。

本程序适用于小麦粉及其制品（挂面、饼干、面包、馒头等）、番茄及其制品、樱桃、车厘子、葡萄酒和植物油（含橄榄油）中细交链孢菌酮酸（Tenuazonic acid, TeA）、交链孢酚（Alternariol, AOH）、腾毒素（Tentoxin, TEN）和交链孢酚单甲醚（Alternariol monomethyl ether, AME）的测定。

本程序的方法检出限和定量限：当称样量为 5 g，TeA 的检出限和定量限分别为 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 1.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；AOH 的检出限和定量限分别为 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 1.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；TEN 的检出限和定量限分别为 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；AME 的检出限和定量限分别为 0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 0.15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 2 原理

样品经提取液振荡提取，低温高速离心，上清液过 HLB 固相萃取柱净化，液相色谱串联质谱测定，内标法定量。

### 3 试剂和材料

除特别注明外，本实验所用试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 乙腈（ $\text{CH}_3\text{CN}$ ）：色谱纯。

3.2 甲醇（ $\text{CH}_3\text{OH}$ ）：色谱纯。

3.3 无水磷酸二氢钠（ $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ）： $\geq 99.0\%$ 。

3.4 磷酸（ $\text{H}_3\text{PO}_4$ ）： $\geq 85.0\%$ 。

3.5 碳酸氢铵（ $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ）。

3.6 0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液（pH 3.0）：称取 6.0 g 无水磷酸二氢钠（3.3），溶解于 950 mL 水中，用磷酸（3.4）调节 pH 3.0，用水定容至 1000 mL，混匀。

3.7 样品提取液 A: 取 450 mL 乙腈 (3.1) 和 100 mL 甲醇 (3.2), 加到 450 mL 0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液 (pH 3.0) (3.6) 中, 混匀。

3.8 样品提取液 B: 取 550 mL 乙腈 (3.1), 加到 450 mL 0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液 (pH 3.0) (3.6) 中, 混匀。

3.9 20% 甲醇溶液: 取 20 mL 甲醇 (3.2), 加水定容至 100 mL, 混匀。

3.10 碳酸氢铵溶液 (1.0 mmol/L): 准确称取 0.08 g 碳酸氢铵 (3.5), 加水定容至 1000 mL, 混匀。

3.11 标准品:

3.11.1 细交链孢菌酮酸 (TeA,  $C_{10}H_{15}NO_3$ , CAS 号: 610-88-8): 100  $\mu$ g/mL, Romer Labs。

3.11.2 细交链孢菌酮酸-D<sub>13</sub> (TeA-D<sub>13</sub> (Major),  $C_{10}H_2D_{13}NO_3$ ): > 40%, Toronto Research Chemicals。

3.11.3 交链孢酚 (AOH,  $C_{14}H_{10}O_5$ , CAS 号: 641-38-3): 100  $\mu$ g/mL, Romer Labs。

3.11.4 交链孢酚-D<sub>2</sub> (AOH-D<sub>2</sub>,  $C_{14}H_8D_2O_5$ ): > 98%, Toronto Research Chemicals。

3.11.5 腾毒素 (TEN,  $C_{22}H_{30}N_4O_4$ , CAS 号: 28540-82-1): 100  $\mu$ g/mL, Romer Labs。

3.11.6 腾毒素-D<sub>3</sub> (TEN-D<sub>3</sub>,  $C_{22}H_{27}D_3N_4O_4$ ): > 98%, Toronto Research Chemicals。

3.11.7 交链孢酚单甲醚 (AME,  $C_{15}H_{12}O_5$ , CAS 号: 26894-49-5): 100  $\mu$ g/mL, Romer Labs。

3.11.8 交链孢酚单甲醚-D<sub>3</sub> (AME-D<sub>3</sub>,  $C_{15}H_9D_3O_5$ ): > 98%, Toronto Research Chemicals。

3.12 标准溶液的制备:

3.12.1 同位素内标储备液: 准确称取适量各种同位素内标标准品 (3.11), 用乙腈 (3.1) 溶解并定容, 混匀, 得到 TeA-D<sub>13</sub> 储备液 (100  $\mu$ g/mL)、AOH-D<sub>2</sub> 储备液 (100  $\mu$ g/mL)、TEN-D<sub>3</sub> 储备液 (100  $\mu$ g/mL) 和 AME-D<sub>3</sub> 储备液 (100  $\mu$ g/mL), -20°C 下避光保存。

3.12.2 混合标准工作液 (TeA: 500 ng/mL, AOH: 200 ng/mL, TEN: 100 ng/mL, AME: 20 ng/mL): 分别准确移取 250  $\mu$ L TeA 标准储备液 (100  $\mu$ g/mL)、100  $\mu$ L AOH 标准储备液 (100  $\mu$ g/mL)、50  $\mu$ L TEN 标准储备液 (100  $\mu$ g/mL) 和 10  $\mu$ L

AME 标准储备液 (100 µg/mL) 至 50 mL 容量瓶中, 用甲醇 (3.2) 定容至刻度, 混匀。避光保存于 4°C 冰箱内。

3.12.3 混合内标工作液 (TeA-D<sub>13</sub>: 500 ng/mL, AOH-D<sub>2</sub>: 200 ng/mL, TEN-D<sub>3</sub>: 100 ng/mL, AME-D<sub>3</sub>: 20 ng/mL): 分别准确移取 250 µL TeA-D<sub>13</sub> 储备液 (100 µg/mL)、100 µL AOH-D<sub>2</sub> 储备液 (100 µg/mL)、50 µL TEN-D<sub>3</sub> 储备液 (100 µg/mL) 和 10 µL AME-D<sub>3</sub> 储备液 (100 µg/mL) 至 50 mL 容量瓶中, 用甲醇 (3.2) 定容至刻度, 混匀, -20°C 下避光保存。

3.13 固相萃取柱: Waters Oasis HLB (200 mg/6 cc) 固相萃取柱或相当者。

## 4 仪器与设备

4.1 超高效液相色谱串联质谱仪: 配有电喷雾离子源。

4.2 电子天平: 感量 0.001 g 和 0.0001 g。

4.3 谷物研磨机/钢磨粉碎机。

4.4 均质机。

4.5 漩涡混匀器。

4.6 高速涡旋振荡器: 转速 ≥ 2000 rpm。

4.7 氮吹仪。

4.8 高速冷冻离心机: 转速 ≥ 12000 r/min, 温度范围: -10°C ~ +40°C。

4.9 移液器: 量程 10 µL ~ 100 µL 和 100 µL ~ 1000 µL。

## 5 分析步骤

### 5.1 样品制备:

谷物及其制品: 用谷物研磨机粉碎样品, 四分法缩分至 200 g 作为试样, 置于 -20°C 以下避光保存; 湿面、饼干、面包、馒头等应置于 -70°C 冰箱冷冻过夜, 取出后迅速用钢磨粉碎样品, 取 200 g 作为试样, 置于 -20°C 以下避光保存; 番茄、樱桃和车厘子等: 用均质机均质样品 (樱桃和车厘子应先去核), 取 200 g 作为试样, 置于 -20°C 以下避光保存。葡萄酒和植物油 (含橄榄油) 样品, 置于常温避光保存, 称样前需充分混匀。

### 5.2 样品提取和净化:

5.2.1 样品提取 (葡萄酒和植物油 (含橄榄油) 除外):

称取 5 g 试样（精确至 0.001 g）于 50 mL 刻度离心管中，加入 200  $\mu$ L 混合内标工作液（3.12.3），漩涡混匀 10 s，静置过夜。样品加入 25 mL 样品提取液 A（3.7），盖紧盖子，漩涡混匀 10 s，高速涡旋振荡器上振荡提取 15 min，于 4℃，10000 r/min 离心 10 min，取 5.0 mL 上清液，加入 15 mL 0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液（pH 3.0）（3.6），混匀，10000 r/min 离心 10 min，上清液待净化。

### 5.2.2 葡萄酒样品提取

称取 5 g 试样（精确至 0.001 g）于 50 mL 刻度离心管中，加入 200  $\mu$ L 混合内标工作液（3.12.3），漩涡混匀 10 s，静置过夜。加入 20 mL 0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液（pH 3.0）（3.6），混匀，10000 r/min 离心 10 min，移取 5 mL 上清液待净化。

### 5.2.3 植物油（含橄榄油）样品提取：

称取 5 g 植物油样品（精确至 0.001 g）于 50 mL 刻度离心管中，加入 200  $\mu$ L 混合内标工作液（3.12.3），漩涡混匀 10 s，静置过夜。样品加入 25 mL 样品提取液 B（3.8），盖紧盖子，漩涡混匀 10 s，高速涡旋振荡器上振荡提取 20 min，于 4℃，10000 r/min 离心 10 min，室温静置 2h，待溶液明显分层且上清液无细小油粒后，移取 5 mL 上清液，加入 15 mL 0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液（pH 3.0）（3.6），混匀，10000 r/min 离心 10 min，上清液待净化。

### 5.2.4 净化：

HLB 固相萃取柱依次用 5 mL 甲醇（3.2）和 5 mL 水活化。将稀释后的样品提取液（5.2.1 或 5.2.2）全部过柱，再用 5 mL 20% 甲醇溶液（3.9）淋洗，于负压状态下抽干柱子 5 min。依次用 5 mL 甲醇（3.2）和 5 mL 乙腈（3.1）洗脱，合并洗脱液于小试管中，45℃ 水浴氮吹近干，残渣先用 200  $\mu$ L 甲醇（3.2）复溶，涡旋混匀 10 s，再加 1.8 mL 水，涡旋混匀 10 s，于 4℃，12000 r/min 离心 10 min，上清液供 LC-MS/MS 分析。

## 5.3 测定条件：

### 5.3.1 超高效液相色谱条件：

5.3.1.1 色谱柱：Waters UPLC HSS T3 柱(2.1 mm×100 mm, 1.8  $\mu$ m)或 Waters UPLC BEH C18 柱(2.1 mm×100 mm, 1.7  $\mu$ m)或相当者；

5.3.1.2 流动相：A：碳酸氢铵溶液（1.0 mmol/L）（3.10）；B：甲醇（3.2）。

5.3.1.3 流动相梯度洗脱程序：见表 1。

5.3.1.4 柱温：40 °C。

5.3.1.5 样品室温度：10 °C。

5.3.1.6 进样量：10 μL。

表 1 液相色谱梯度洗脱程序

时间(min)	流速(mL/min)	A (%)	B (%)
0.0	0.25	95	5
2.0	0.25	95	5
3.0	0.25	25	75
4.0	0.25	10	90
6.0	0.25	10	90
6.5	0.25	95	5
10	0.25	95	5

5.3.2 质谱参考条件：

5.3.2.1 源子源：电喷雾离子源（ESI）。

5.3.2.2 电离方式：负离子方式。

5.3.2.3 喷雾电压：4500 V。

5.3.2.4 离子源温度：500 °C。

5.3.2.5 雾化气 Gas1：55 psi。

5.3.2.6 雾化气 Gas2：60 psi。

5.3.2.7 气帘气：35 psi。

5.3.2.8 碰撞气：8 psi。

5.3.2.9 检测方式：多离子反应监测 MRM。

5.3.2.10 4 种交链孢霉毒素及同位素内标物的保留时间、定性定量离子对及去簇电压、碰撞能量见表 2。

表2 4种交链孢霉毒素的质谱参数

目标物	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)
TeA	4.23	196.1	139.0*	-160	26
			112.0		31

TeA-D <sub>13</sub>	4.22	209.1	143.0	-160	28
AOH	4.97	257.1	213.0* 147.0	-180	30 43
AOH-D <sub>2</sub>	4.97	259.1	215.0	-180	31
TEN	5.16	413.3	141.1* 271.2	-140	25 21
TEN-D <sub>3</sub>	5.16	416.2	141.1	-140	26
AME	5.58	271.1	256.0* 228.0	-140	30 39
AME-D <sub>3</sub>	5.56	274.0	256.0	-140	31

注：带\*为定量离子。

## 5.4 测定

### 5.4.1 标准曲线的绘制

取适量混合标准工作液 (3.12.2) 和混合内标工作液 (3.12.3), 用甲醇 (3.2) 和水配制成标准系列, 其中 TeA 为: 10 ng、20 ng、50 ng、100 ng、200 ng 和 500 ng; AOH 为: 4.0 ng、8.0 ng、20 ng、40 ng、80 ng 和 200 ng; TEN 为: 2.0 ng、4.0 ng、10 ng、20 ng、40 ng 和 100 ng; AME 浓度为: 0.4 ng、0.8 ng、2.0 ng、4.0 ng、8.0 ng 和 20 ng; 标准系列各管含同位素内标为 TeA-D<sub>13</sub>: 100 ng, AOH-D<sub>2</sub>: 40 ng, TEN-D<sub>3</sub>: 20 ng, AME-D<sub>3</sub>: 4.0 ng, 具体配制信息见表 3 (注: 标准曲线系列溶液每份的甲醇含量约为 10%)。将标准系列溶液注入超高效液相色谱串联质谱仪, 得到 4 种交链孢霉毒素的色谱图和峰面积。分别以 TeA、AOH、TEN 和 AME 的浓度为横坐标, 以 TeA、AOH、TEN 和 AME 的峰面积与各自内标峰面积之比为纵坐标, 绘制 TeA、AOH、TEN 和 AME 标准曲线。

表3 4种交链孢霉毒素标准系列的配制方法

	STD-0	STD-1	STD-2	STD-3	STD-4	STD-5	STD-6
TeA (ng)	0	10	20	50	100	200	500
AOH (ng)	0	4.0	8.0	20	40	80	200
TEN (ng)	0	2.0	4.0	10	20	40	100
AME (ng)	0	0.4	0.8	2.0	4.0	8.0	20
同位素内标 (ng)	TeA-D <sub>13</sub> : 100, AOH-D <sub>2</sub> : 40, TEN-D <sub>3</sub> : 20, AME-D <sub>3</sub> : 4.0						

混合标准工作液加入量 ( $\mu\text{L}$ )	0	20	40	100	200	400	1000
混合内标工作液加入量 ( $\mu\text{L}$ )	200	200	200	200	200	200	200
甲醇 ( $\mu\text{L}$ )	800	780	760	700	600	400	—
定容	用水定容至 10 mL						

#### 5.4.2 试样溶液的测定

将试样溶液注入超高效液相色谱串联质谱仪，得到 4 种交链孢霉毒素及其同位素内标物的色谱图和峰面积。

#### 5.4.3 定性

各测定目标化合物的定性以保留时间和两对离子（特征离子对/定量离子对）色谱峰相对丰度进行。要求被测试样与标准溶液中目标化合物保留时间的相对偏差不大于 5%，同时被测试样中目标化合物的两个子离子的相对丰度比与标准溶液相比，允许的偏差不超过表 4 规定的范围。

表 4 定性测定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%

#### 5.4.4 空白试验：

除不加样品外，采用完全相同的测定步骤进行操作。

## 6 分析结果的表述

试样中 TeA、AOH、TEN 或 AME 的含量按下式进行计算。

$$\rho = \frac{X}{m}$$

式中： $\rho$ ——试样中 TeA、AOH、TEN 或 AME 的含量，单位为微克每千克 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )；

$X$ ——由标准曲线计算得到的试样溶液中 TeA、AOH、TEN 或 AME 的质量，单位为微克 (ng)；

$m$ ——试样质量，单位为克 (g)。

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，结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

## 8 说明

1.1 样品添加同位素内标后，应尽可能静置过夜，确保同位素内标充分浸润至样品中。

1.2 样品提取时，尤其是提取粉末状固体试样时，要保证一定的振荡强度和时  
间，低速振荡器的提取时间不少于 60 min，高速振荡器的提取时间不少于 20  
min。提取液使用低温高速离心，以确保离心的效果。

1.3 最终的样品定容溶液应在 4℃，12000 r/min 离心 10 min，上清液供检测。  
不可用 NYL、RC 和 PTFE 等滤膜过滤样品溶液，因为各类滤膜都会严重吸附  
AOH 和 AME，导致测定结果严重偏低。

1.4 由于不同基质的样品溶液对 4 种交链孢霉毒素均存在明显不同的基质抑制  
效应，应根据各自质谱仪灵敏度，考察不同样品基质溶液对 4 种交链孢霉毒素  
的抑制率，适当调整 4 种交链孢霉毒素的同位素内标浓度，以确保样品溶液中  
4 种交链孢霉毒素的同位素内标具有良好的响应值。

1.5 同位素内标的选择上，在 D（氘）取代数较少的化合物上，可以使用  $^{13}\text{C}$   
（碳 13）取代的同位素内标进行检测，这样可以避免待测物和同位素内标的离  
子通道相互干扰。例如：U- $^{13}\text{C}^{14}$  - AOH 比 AOH-D<sub>2</sub> 更好一些。

1.6 由于可获得的 TeA-D<sub>13</sub> 同位素标准是一个混合体，其主要成分为 TeA-D<sub>13</sub>  
（约 43%）、TeA-D<sub>12</sub>（约 41%）和 TeA-D<sub>11</sub>（约 13%），可以使用 TeA-D<sub>13</sub> 或  
TeA-D<sub>12</sub> 做为 TeA 的同位素内标使用，但应根据其具体含量配制成 100 μg/mL  
的储备液。

1.7 植物油（含橄榄油）样品提取过程中，由于样品提取液 B（3.8）的密度比  
植物油低，离心分层后，样品提取液在上层，植物油在下层，室温静置 2h 后，

待溶液明显分层且上清液无细小油粒后，再进行下一步处理。上清液无需使用正己烷脱脂。

1.8 当液质联用仪之前使用过强碱性流动相时，需要使用 0.1%甲酸水溶液冲洗整个管路和色谱柱，再用碳酸氢铵溶液（1.0 mmol/L）置换 0.1%甲酸水溶液，这样可以避免 TeA 过早出峰或 TeA 出很长伸舌峰的现象。

1.9 使用碳酸氢铵溶液作为流动相时，可以提高 4 种交链孢霉毒素的质谱灵敏度，但其浓度不宜过大，实验表明其浓度超过 1.0 mmol/L 时，会导致 TeA 出峰明显提前，峰型变宽和分叉，影响 TeA 的定性和定量分析。

1.10 在开始检测之前，应使用纯水代替样品，进行样品前处理后上机检测，得到全流程的检测空白，此空白应不得检出 4 种交链孢霉毒素待测物。

1.11 在检测中，尽可能使用有证标准物质作为质量控制样品，或采用加标回收试验进行质量控制。表 5 所列加标回收率范围仅供实验室参考使用。

表 5 各类样品的加标回收率范围

加标量（ $\mu$ g/kg）	TeA（%） 4.0~100	AOH（%） 0.8~20	TEN（%） 0.8~20	AME（%） 0.08~2.0
小麦粉	94.7~104.2	91.5~102.3	93.6~106.2	95.4~106.5
挂 面	94.1~106.8	92.2~101.8	94.2~107.3	96.3~109.3
饼 干	92.5~102.7	90.9~114.2	95.5~111.6	97.4~112.5
面 包	91.6~105.1	90.8~115.1	92.7~109.4	97.8~115.2
馒 头	90.2~101.4	90.3~115.6	96.1~113.2	94.3~110.9
番茄及其制品	94.4~108.1	92.3~107.5	94.3~106.9	94.4~109.1
樱 桃	95.1~106.8	91.9~108.3	93.6~107.7	96.8~112.3
车厘子	95.7~108.6	91.1~105.8	95.8~110.7	95.6~110.3
葡萄酒	92.9~99.2	94.6~113.4	94.0~103.8	96.5~107.9
植物油（含橄榄油）	93.5~105.1	93.6~105.1	92.3~101.5	97.6~112.9

1.12 在测定过程中，建议每测定 15~20 个样品用同一份标准溶液或标准物质检查仪器的稳定性。

1.13 本方法检出限和定量限制定原则：以定性离子通道中信噪比（S/N）为 3 时样品溶液中目标化合物的浓度为检出限；以定量离子通道信噪比（S/N）为 10 时样品溶液中目标化合物的浓度为定量限。

## 9 附录

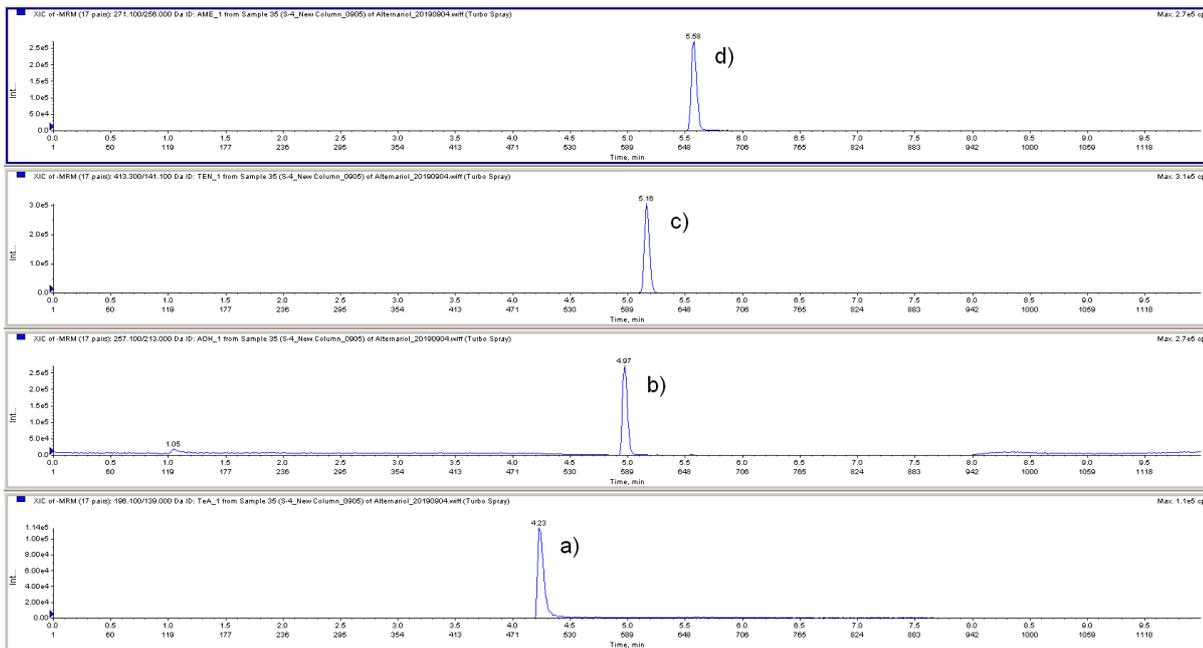


图 1 4 种交链霉菌毒素标准色谱图  
 a): TeA, b): AOH, c): TEN, d): AME

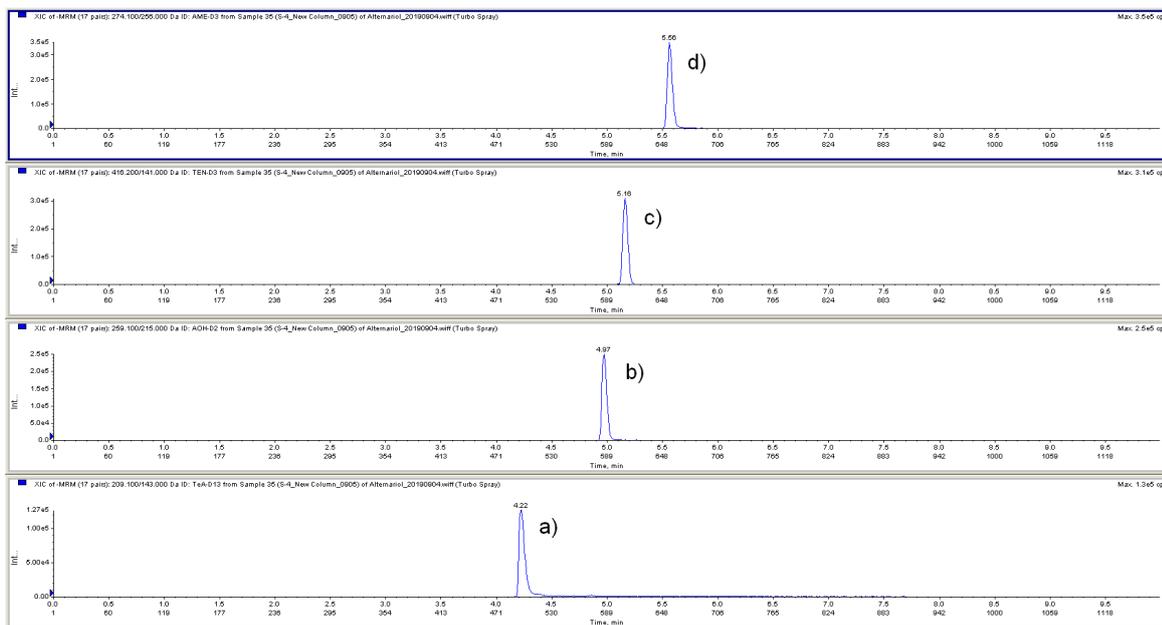


图 2 4 种交链霉菌毒素的同位素内标色谱图  
 a): TeA-D<sub>13</sub>, b): AOH-D<sub>2</sub>, c): TEN-D<sub>3</sub>, d): AME-D<sub>3</sub>

### 三、牛奶中赭曲霉毒素 A、玉米赤霉烯酮及其代谢产物测定的标准操作程序 (HPLC-MS 法)

#### 1 适用范围

本程序适用于牛奶中赭曲霉毒素 A、玉米赤霉醇、 $\beta$ -玉米赤霉醇、 $\alpha$ -玉米赤霉烯醇、 $\beta$ -玉米赤霉烯醇、玉米赤霉酮和玉米赤霉烯酮含量的测定。

#### 2 原理

试样中的赭曲霉毒素 A 和玉米赤霉醇类药物残留,通过免疫亲和柱净化和富集,净化液浓缩、定容和过滤后经液相色谱分离,串联质谱检测,同位素内标法定量。

#### 3 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

##### 3.1 试剂

3.1.1 乙腈( $\text{CH}_3\text{CN}$ ):色谱纯。

3.1.2 甲酸( $\text{HCOOH}$ ):色谱纯。

3.1.3 氯化钠( $\text{NaCl}$ )。

3.1.4 磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )。

3.1.5 磷酸二氢钾( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )。

3.1.6 氯化钾( $\text{KCl}$ )。

3.1.7 盐酸( $\text{HCl}$ )。

3.1.8 吐温-20( $\text{C}_{58}\text{H}_{114}\text{O}_{26}$ )

##### 3.2 试剂配制

3.2.1 0.1% 甲酸溶液:取 100  $\mu\text{L}$  甲酸,用纯水稀释至 1 L,混匀。

3.2.2 10% 盐酸溶液:取 1 mL 盐酸,用纯水稀释至 10 mL,混匀。

3.2.3 磷酸盐缓冲溶液(PBS):称取 8.00 g 氯化钠、1.20 g 磷酸氢二钠、0.20 g 磷酸二氢钾、0.20 g 氯化钾,用 900 mL 水溶解,用盐酸调节 pH 至  $7.4 \pm 0.1$ ,加水稀释至 1000 mL。

3.2.4 0.5% 吐温-20 的 PBS:取 5 g 吐温-20,用 PBS 稀释至 1000 mL。

##### 3.3 标准品

- 3.3.1 玉米赤霉醇 (ZAL,  $C_{18}H_{26}O_5$ , CAS: 26538-44-3), 纯度 $\geq 99.0\%$ 。
- 3.3.2  $\beta$ -玉米赤霉醇( $\beta$ -ZAL,  $\beta$ - $C_{18}H_{26}O_5$ , CAS: 42422-68-4), 纯度 $\geq 99.0\%$ 。
- 3.3.3  $\alpha$ -玉米赤霉烯醇( $\alpha$ -ZEL,  $\alpha$ - $C_{18}H_{24}O_5$ , CAS: 36455-72-8), 纯度 $\geq 99.0\%$ 。
- 3.3.4  $\beta$ -玉米赤霉烯醇( $\beta$ -ZEL,  $\beta$ - $C_{18}H_{24}O_5$ , CAS: 71030-11-0), 纯度 $\geq 99.0\%$ 。
- 3.3.5 玉米赤霉酮(ZAN,  $C_{18}H_{24}O_5$ , CAS: 5975-78-0), 纯度 $\geq 99.0\%$ 。
- 3.3.6 玉米赤霉烯酮 (ZEN,  $C_{18}H_{22}O_5$ , CAS: 17924-92-4), 纯度 $\geq 99.0\%$ 。
- 3.3.7 赭曲霉毒素 A (OTA,  $C_{20}H_{18}ClNO_6$ , CAS: 303-47-9), 纯度 $\geq 99.0\%$ 。
- 3.3.7  $D_5$ -玉米赤霉烯醇 ( $D_5$ - $\alpha$ -ZEL,  $\alpha$ - $C_{18}H_{19}D_5O_5$ ), 纯度 $\geq 99.0\%$ 。
- 3.3.8  $D_5$ - $\beta$ -玉米赤霉烯醇 ( $D_5$ - $\beta$ -ZEL,  $\beta$ - $C_{18}H_{19}D_5O_5$ ), 纯度 $\geq 99.0\%$ 。
- 3.3.9  $^{13}C$ -玉米赤霉烯酮 ( $^{13}C$ -ZEN,  $^{13}C_{18}H_{22}O_5$ ), 纯度 $\geq 99.0\%$ 。
- 3.3.10  $^{13}C$ -赭曲霉毒素 A ( $^{13}C$ -OTA,  $^{13}C_{20}H_{18}ClNO_6$ ), 纯度 $\geq 99.0\%$ 。

#### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 单一标准储备液(0.05 mg/mL): 玉米赤霉醇、 $\beta$ -玉米赤霉醇、 $\alpha$ -玉米赤霉烯醇、 $\beta$ -玉米赤霉烯醇、玉米赤霉酮、玉米赤霉烯酮和赭曲霉毒素 A 各 0.5 mg (精确至 0.01 mg), 分别用乙腈溶解并定容于 10 mL 容量瓶中, 配成浓度为 0.05 mg/mL 的单一标准储备液,  $-18^\circ C$  冰箱保存, 备用。

3.4.2 混合标准工作液 (100 ng/mL): 分别准确吸取 100  $\mu L$  的单一标准储备液于 50 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 配制成浓度为 100 ng/mL 的混合标准工作液,  $-18^\circ C$  下保存, 有效期 3 个月。

3.4.3 混合同位素内标工作液(50 ng/mL): 分别用乙腈稀释或溶解  $D_5$ - $\alpha$ -玉米赤霉烯醇、 $D_5$ - $\beta$ -玉米赤霉烯醇、 $^{13}C$ -玉米赤霉烯酮和  $^{13}C$ -赭曲霉毒素 A 标准物质液体或粉末。移取适量体积配制成含各同位素内标化合物浓度为 100 ng/mL 的混合同位素内标工作液,  $-18^\circ C$  下避光保存, 备用。

3.4.4 标准系列工作溶液: 准确移取混合标准工作液(100 ng/mL) 2  $\mu L$ 、5  $\mu L$ 、10  $\mu L$ 、20  $\mu L$ 、50  $\mu L$ 、100  $\mu L$ , 分别加入 20  $\mu L$  混合同位素内标工作液 (100 ng/mL), 用初始流动相定容至 1 mL, 配制浓度点为 0.2 ng/mL、0.5 ng/mL、1 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL 的系列标准溶液。

## 4 仪器和设备

- 4.1 天平:感量 0.01 g 和 0.00001 g。
- 4.2 超声波。
- 4.3 涡旋混合器。
- 4.4 离心机:转速 $\geq 6000$  r/min。
- 4.5 固相萃取装置(带真空泵)。
- 4.6 液相色谱-串联质谱仪:带电喷雾离子源。
- 4.7 液相色谱柱。
- 4.8 免疫亲和柱:赭曲霉毒素免疫亲和柱、玉米赤霉醇免疫亲和柱
- 4.9 微孔滤头:带 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜。
- 4.10 玻璃纤维滤纸 (GF/C)

## 5 分析步骤

### 5.1 样品提取

称取 50 g (精确到 0.01g) 均质试样于 50 mL 离心管中, 加入 10  $\mu\text{L}$  混合同位素内标工作溶液, 涡旋混匀。置于 4  $^{\circ}\text{C}$ 、10000 r/min 离心 10 min。去除表面脂层, 过玻璃纤维滤纸, 收集全部液体, 备用。

### 5.2 样品净化

将低温下保存的免疫亲和柱恢复至室温。

将 50 mL 注射器针筒联接于免疫亲和柱上, 待免疫亲和柱内原有液体流尽后, 将上述全部样液转移至 50 mL 注射器针筒中, 开始上样。调节下滴速度, 控制样液以 1 mL/min~3 mL/min 的速度稳定下滴。待样液滴完后, 依次用 10 mL 0.5% 吐温-20-PBS 溶液、10 mL PBS 溶液淋洗免疫亲和柱, 弃去全部流出液, 抽干小柱。

加入 3 mL 2% 乙酸-甲醇洗脱亲和柱, 控制 1 滴/秒的下滴速度, 收集全部洗脱液至试管中, 在 50  $^{\circ}\text{C}$  氮气缓慢将洗脱液吹至近干, 加入 0.5 mL 初始流动相复溶, 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤, 待进样。

### 5.3 液相色谱参考条件

流动相: A 相: 0.1% 甲酸溶液; B 相: 乙腈-甲醇 (1+1, v+v)。

梯度洗脱: 30 %B (0-1.0 min); 45%B (1-7.0 min); 45 %B (7.0-10.0 min);

45 %B-100%B (10.0-11.0 min); 100 %B (11.0-12.0 min); 100 %B-30 %B (12.0-12.1 min);

色谱柱: C<sub>18</sub> 柱(柱长 100mm, 柱内径 2.1mm;填料粒径 1.7 μ m), 或相当者;

流速: 0.3 mL/min;

柱温: 40°C;

进样体积: 5 μ L。

#### 5.4 质谱参考条件

表 1 赭曲霉毒素 A 和玉米赤霉醇类化合物质谱参数

化合物名称	母离子 (m/z)	定量离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)	定性离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)	内标物
OTA	404	239	27	358	13	<sup>13</sup> C <sub>20</sub> -
ZAL	321	277	25	303	20	D5-α-ZEL
β-ZAL	321	277	25	303	20	D5-β-ZEL
α-ZEL	319	160	30	275	20	D5-α-ZEL
β-ZEL	319	160	30	275	20	D5-β-ZEL
ZAN	319	205	25	275	20	13C-ZEN
ZEN	317	175	24	131	30	13C-ZEN
13C-OTA	424	250	27	/	/	/
D5-α-ZEL	324	160	30	/	/	/
D5-β-ZEL	324	160	30	/	/	/
13C-ZEN	335	185	26	/	/	/

#### 5.5 标准曲线法测定样品

在 5.3、5.4 的液相色谱串联质谱仪分析条件下, 将标准系列溶液由低到高浓度进样检测, 以各目标化合物色谱峰与各对应内标色谱峰的峰面积比值-浓度作图, 得到标准曲线回归方程, 其线性相关系数应大于 0.99。

## 6 分析结果的表述

$$X = \frac{\rho \times V \times 1000}{m \times 1000}$$

式中:

X——试样中赭曲霉毒素 A 或玉米赤霉醇类各化合物的含量, 单位为微克每

千克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ );

$\rho$ ——进样溶液中赭曲霉毒素 A 或玉米赤霉醇类各化合物按照内标法在标准曲线中对应的浓度, 单位为纳克每毫升( $\text{ng}/\text{mL}$ );

$V$ ——样品经净化洗脱后的最终定容体积, 单位为毫升( $\text{mL}$ );

1000——换算系数;

$m$ ——试样的称样量, 单位为克( $\text{g}$ )。

计算结果保留三位有效数字。

## 7 灵敏度

当称取样品 50 g 时, 赭曲霉毒素 A 检出限、定量限分别为  $0.0003 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $0.001 \mu\text{g}/\text{kg}$ ; 玉米赤霉醇类各化合物检出限、定量限分别为  $0.003 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $0.01 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

## 8. 说明

8.1 本方法涉及赭曲霉毒素A和玉米赤霉烯酮, 整个实验过程需在通风橱中进行且尽量做好防护措施, 避免危害操作人员的健康。

8.2 在开展方法应用前各实验室需根据本实验室仪器设备配置情况与使用状态, 参考本方法的色谱和质谱参数参考条件进行优化, 满足对各毒素的灵敏度要求。

8.3 本方法采用免疫亲和柱净化, 在开展方法应用前各实验室需对采购免疫亲和柱进行柱效验收。

### 9 附录

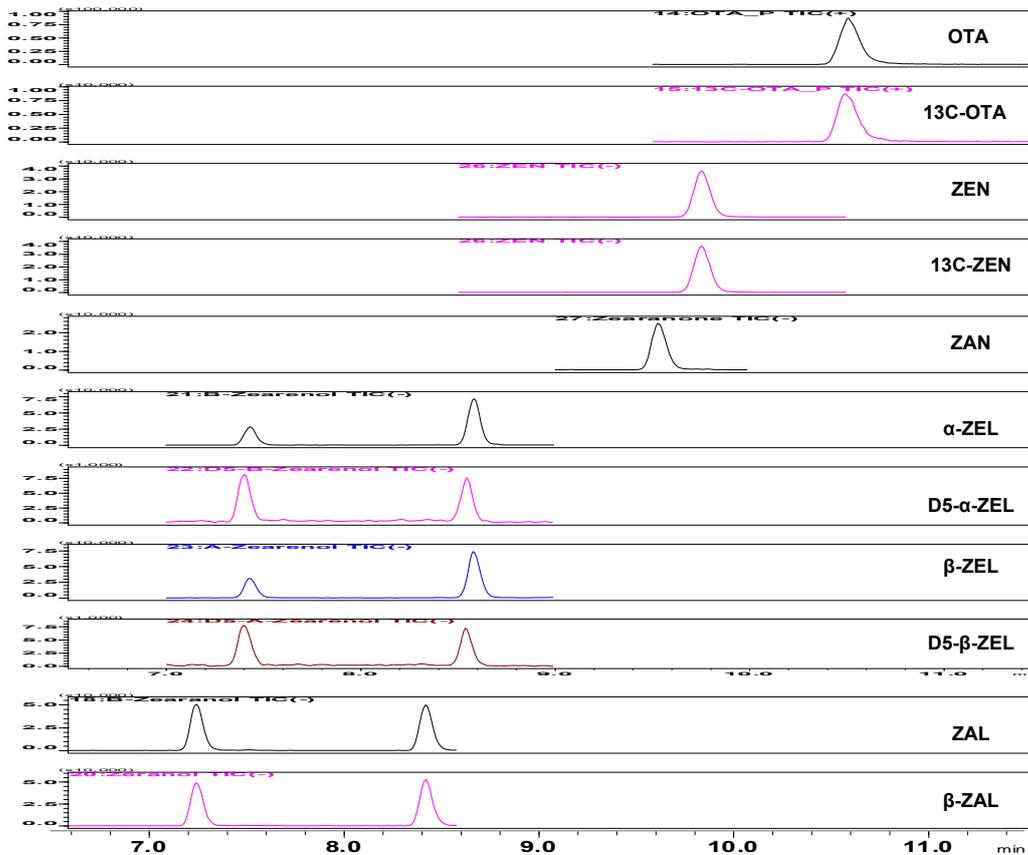


图 1 赭曲霉毒素 A 和玉米赤霉醇类化合物及其同位素内标化合物的 TIC 图  
 注：从左到右依次为 β-玉米赤霉醇、玉米赤霉醇、β-玉米赤霉烯醇、α-玉米赤霉烯醇、玉米赤霉酮、玉米赤霉烯酮、赭曲霉毒素 A

## 四、边销茶中 T-2 毒素和 HT-2 毒素测定的标准操作程序（HPLC-MS 法）

### 1 适用范围

本程序适用于边销茶中 T-2 和 HT-2 毒素含量的测定。

### 2 原理

试样中的 T-2 和 HT-2 毒素，用乙腈-水溶液提取，提取液用含吐温-20 的磷酸盐缓冲溶液稀释后，通过免疫亲和柱净化和富集，净化液浓缩、定容和过滤后经液相色谱分离，串联质谱检测，同位素内标法定量。

### 3 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 乙腈(CH<sub>3</sub>CN):色谱纯。

3.1.2 甲酸(HCOOH):色谱纯。

3.1.3 氯化钠(NaCl)。

3.1.4 磷酸氢二钠(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)。

3.1.5 磷酸二氢钾(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)。

3.1.6 氯化钾(KCl)。

3.1.7 盐酸(HCl)。

3.1.8 吐温-20(C<sub>58</sub>H<sub>114</sub>O<sub>26</sub>)

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 0.1%甲酸溶液：取 100 μL 甲酸，用纯水稀释至 1 L，混匀。

3.2.2 乙腈-水-甲酸溶液（70+29+1）：分别量取 700 mL 乙腈、290 mL 水、10 mL 甲酸，混匀。

3.2.3 10%盐酸溶液：取 1 mL 盐酸，用纯水稀释至 10 mL，混匀。

3.2.4 磷酸盐缓冲溶液(PBS):称取 8.00 g 氯化钠、1.20 g 磷酸氢二钠、0.20 g 磷酸二氢钾、0.20 g 氯化钾，用 900 mL 水溶解，用盐酸调节 pH 至 7.4±0.1，加水稀释至 1000 mL。

3.2.5 0.5%吐温-20 的 PBS:取 5 g 吐温-20，用 PBS 稀释至 1000 mL。

#### 3.3 标准品

3.3.1 T-2 毒素 (T-2,  $C_{24}H_{34}O_9$ , CAS: 21259-20-1): 纯度 $\geq$ 99%

3.3.2 HT-2 毒素 (HT-2,  $C_{22}H_{32}O_8$ , CAS: 26934-87-2): 纯度 $\geq$ 99%

3.3.3 同位素内标  $^{13}C_{24}$ -T-2 ( $^{13}C_{24}H_{34}O_9$ ): 25  $\mu$ g/mL, 纯度 $\geq$ 99%。

3.3.4 同位素内标  $^{13}C_{22}$ -HT-2 ( $^{13}C_{22}H_{32}O_8$ ): 25  $\mu$ g/mL, 纯度 $\geq$ 99%。

#### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 标准储备溶液: 分别用乙腈溶解或稀释 T-2、HT-2 固体或液体标准物质, 配制成 T-2 毒素 5  $\mu$ g/mL 标准储备溶液, HT-2 毒素 10  $\mu$ g/mL 标准储备溶液在  $-20^{\circ}C$  避光保存。

3.4.2 混合标准工作液 (T-2: 0.5  $\mu$ g/mL; HT-2: 1  $\mu$ g/mL): 分别准确移取 T-2 (5  $\mu$ g/mL)、HT-2 标准储备液 (10  $\mu$ g/mL) 各 1.0 mL 至 10 mL 容量瓶中, 乙腈定容。此溶液密封后避光  $-20^{\circ}C$  下保存。

3.4.3 混合同位素内标工作液 (1  $\mu$ g/mL): 准确移取 25  $\mu$ g/mL  $^{13}C_{24}$ -T-2、 $^{13}C_{22}$ -HT-2 各 1.00 mL, 用乙腈定容至 25 mL。在  $-20^{\circ}C$  下避光保存, 备用。

3.4.4 标准系列工作溶液: 准确移取混合标准工作液 2  $\mu$ L、5  $\mu$ L、10  $\mu$ L、20  $\mu$ L、50  $\mu$ L, 分别加入 40  $\mu$ L 1  $\mu$ g/mL 的混合同位素内标工作液, 用初始流动相定容至 1 mL, 配制系列标准溶液。

## 4 仪器和设备

4.1 天平: 感量 0.01 g 和 0.00001 g。

4.2 超声波。

4.3 涡旋混合器。

4.4 离心机: 转速 $\geq$ 6000 r/min。

4.5 固相萃取装置 (带真空泵)。

4.6 液相色谱-串联质谱仪: 带电喷雾离子源。

4.7 液相色谱柱。

4.8 免疫亲和柱: T-2 免疫亲和柱 (HT-2 毒素交叉反应率 $\geq$ 85%)。

4.9 微孔滤头: 带 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜。

4.10 玻璃纤维滤纸 (GF/C)

## 5 分析步骤

### 5.1 样品提取

称取 2 g（精确到 0.01g）均质试样于 50 mL 离心管中，加入 20 mL 乙腈-水-甲酸（70+29+1），涡旋 1 min，超声提取 20 min，再涡旋振荡提取 30 min。10000 r/min 离心 5 min。准确移取上清液 4 mL，加入混合同位素内标工作液 20  $\mu$ L，用 0.5%吐温-20-PBS 溶液稀释至 50 mL，6000 r/min 离心 5 min 或玻璃纤维滤纸过滤，上清液备用。

### 5.2 样品净化

将低温下保存的免疫亲和柱恢复至室温。

待免疫亲和柱内原有液体流尽后，开始上样，调节下滴速度，控制样液以 1 mL/min~3 mL/min 的速度稳定下滴。待样液滴完后，依次用 10 mL 0.5%吐温-20-PBS 溶液、10 mL PBS 溶液淋洗免疫亲和柱，弃去全部流出液，抽干小柱。

加入 3 mL 甲醇洗脱亲和柱，控制 1 滴/秒的下滴速度，收集全部洗脱液至试管中，在 50  $^{\circ}$ C 氮气缓慢将洗脱液吹至近干，加入 0.5 mL 初始流动相复溶，0.22  $\mu$ m 滤膜过滤，待进样。

### 5.3 液相色谱参考条件

流动相：A 相：0.1%甲酸溶液；B 相：乙腈。

梯度洗脱：40%B (0min~1.0 min)，100%B (1.0 min~4.0 min)，40%B (6.1 min~9.0min)；

色谱柱：C<sub>18</sub> 柱(柱长 100mm，柱内径 2.1mm;填料粒径 1.7  $\mu$ m)，或相当者；

流速：0.3 mL/min；

柱温：40 $^{\circ}$ C；

进样体积：5  $\mu$ L。

### 5.4 质谱参考条件

表 1 T-2 毒素和 HT-2 毒素质谱参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)	离子加合 模式
T-2	484	305*/185	14/20	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>
HT-2	425	263*/245	12/12	[M+H] <sup>+</sup>
<sup>13</sup> C-T-2	508	322	15	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>

$^{13}\text{C-HT-2}$	447	278	13	$[\text{M}+\text{H}]^+$
----------------------	-----	-----	----	-------------------------

### 5.5 标准曲线法测定样品

在 5.3、5.4 的液相色谱串联质谱仪分析条件下，将标准系列溶液由低到高浓度进样检测，以 T-2、HT-2 毒素色谱峰与各对应内标色谱峰的峰面积比值-浓度作图，得到标准曲线回归方程，其线性相关系数应大于 0.99。

## 6 分析结果的表述

$$X = \frac{\rho \times V_1 \times V_3 \times 1000}{V_2 \times m \times 1000} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

$X$ ——试样中 T-2 或 HT-2 毒素的含量，单位为微克每千克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )；

$\rho$ ——进样溶液中 T-2 或 HT-2 毒素按照内标法在标准曲线中对应的浓度，单位为纳克每毫升( $\text{ng}/\text{mL}$ )；

$V_1$ ——试样提取液体积，单位为毫升( $\text{mL}$ )；

$V_3$ ——样品经净化洗脱后的最终定容体积，单位为毫升( $\text{mL}$ )；

1000——换算系数；

$V_2$ ——用于净化分取的样品体积，单位为毫升( $\text{mL}$ )；

$m$ ——试样的称样量，单位为克( $\text{g}$ )。

计算结果保留三位有效数字。

## 7 灵敏度

当称取样品 2.00 g 时，T-2、HT-2 毒素检出限分别为 0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限分别为 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

## 8 说明

8.1 本方法涉及 T-2、HT-2 毒素，整个实验过程需在通风橱中进行且尽量做好防护措施，避免危害操作人员的健康。

8.2 在开展方法应用前各实验室需根据本实验室仪器设备配置情况与使用状态，参考本方法的色谱和质谱参数参考条件进行优化，满足对各毒素的灵敏度要求。

8.3 本方法采用免疫亲和柱净化，在开展方法应用前各实验室需对采购免疫亲和柱进行柱效验收，尤其 HT-2 毒素的交叉反应率，需 T-2 和 HT-2 毒素的柱回收率均满足要求方可使用。

## 9 附录

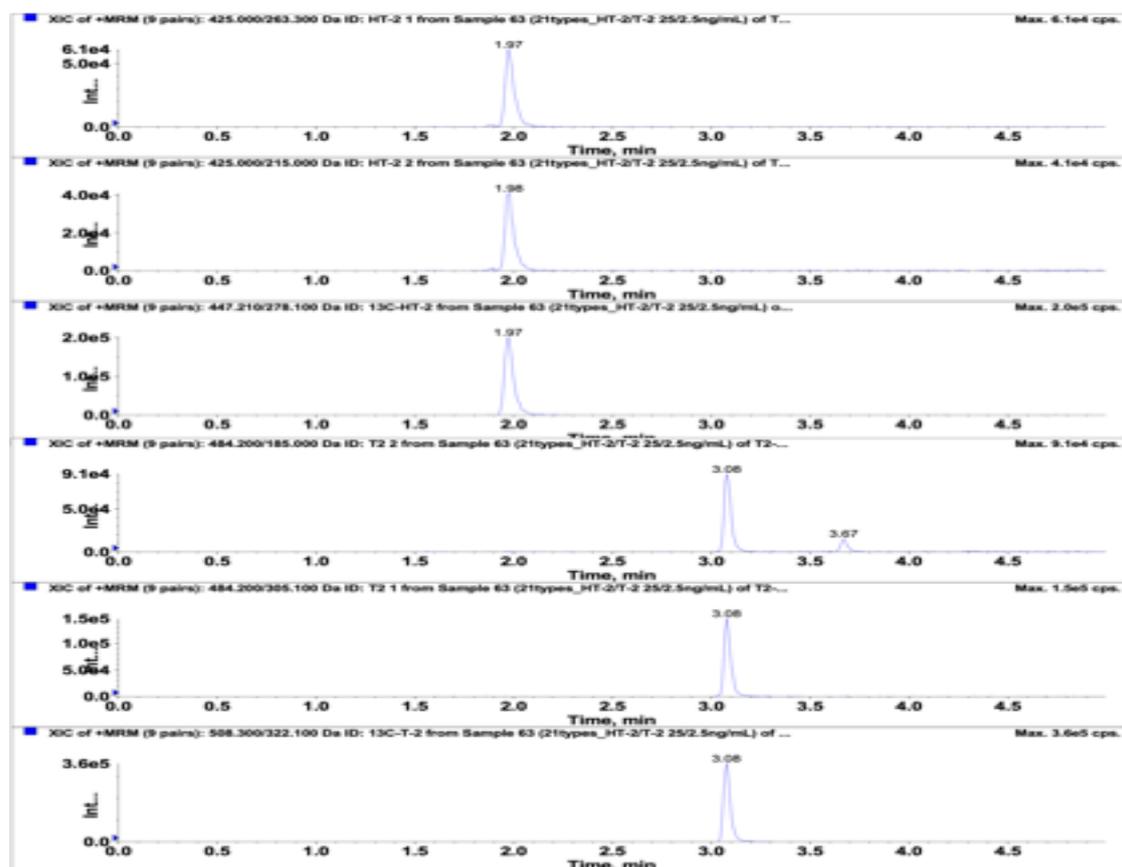


图 1 T-2、HT-2 毒素及其同位素内标化合物的各离子通道图

注：从下往上依次为 HT-2、13C-HT-2、T-2、13C-T-2

## 五、食品中米酵菌酸测定标准操作程序（HPLC-MS 法）

### 1 适用范围

本程序规定了食品中米酵菌酸的液相色谱-串联质谱测定方法。

本程序适用于谷物及其制品、银耳及其制品、木耳及其制品、木耳种植用菌包中米酵菌酸的测定。

本程序的方法检出限为 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 $3 \mu\text{g}/\text{kg}$ （菌株培养液为 $10 \text{ng}/\text{mL}$ ）。

### 2 原理

试样中的米酵菌酸用氨化甲醇水溶液提取后，阴离子交换柱净化，采用液相色谱-串联质谱仪检测，外标法定量。

### 3 试剂和材料

除另有说明，所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 乙腈（ $\text{CH}_3\text{CN}$ ）：色谱纯。

3.1.2 甲酸（ $\text{CH}_2\text{O}_2$ ）：色谱纯。

3.1.3 甲醇（ $\text{CH}_3\text{OH}$ ）。

3.1.4 氨水（ $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ ）：25% ~ 28%。

3.1.5 硫酸铵（ $\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ ）。

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 1%氨水-80%甲醇水溶液：量取80 mL甲醇，加入1.0 mL氨水，加水定容到100 mL，混匀。

3.2.2 1%甲酸-甲醇溶液：吸取1.0 mL甲酸，加甲醇至100 mL，混匀。

3.2.3 0.1%甲酸水溶液：吸取甲酸1.0 mL用水稀释至1000 mL，混匀。

3.2.4 乙腈-水溶液（1:1）：取乙腈20 mL用水稀释至40 mL，混匀。

#### 3.3 米酵菌酸标准品

米酵菌酸（ $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_7$ ，CAS号：11076-19-0）：纯度 $\geq 95\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

注:标准物质可以使用满足溯源要求的商品化标准溶液。

### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 米酵菌酸标准中间液（10 μg/mL）：吸取米酵菌酸标准储备液适量，用甲醇稀释后配制。于-20 °C冰箱中避光保存，有效期为6个月。

3.4.2 米酵菌酸标准使用液（1 μg/mL）：准确吸取米酵菌酸标准中间液适量，用甲醇稀释后配制。临用现配。

3.4.3 米酵菌酸标准系列工作溶液：分别准确吸取米酵菌酸标准使用液适量，用乙腈-水溶液（1:1）稀释定容，配制成米酵菌酸浓度分别为1.0 μg/L、2.0 μg/L、5.0 μg/L、10.0 μg/L、25.0 μg/L、50.0 μg/L的标准工作溶液。临用现配。

### 3.5 材料

固相萃取柱：混合型强阴离子交换柱（60 mg/3 mL）或等效品，临用前依次用3.0 mL甲醇和3.0 mL水活化，保持柱体湿润。

## 4 仪器和设备

4.1 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源。

4.2 天平：感量为0.01 mg和0.01 g。

4.3 固相萃取装置（带真空泵）。

4.4 氮吹仪。

4.5 粉碎机（带φ0.425 mm筛）。

4.6 超声波振荡器：30 kHz ~50kHz。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样制备

谷物及其制品不少于1 kg；木耳培养基（菌包）不少于3个，打开外包装后，剪或切开菌包，混匀后缩分；银耳及其制品、木耳及其制品不少于500 g。干试样经固体粉碎机粉碎均匀；鲜（湿）试样剪碎或切碎，匀浆处理，混合均匀，供检测样本每份不少于100g，储存于样品瓶或塑封袋中，密封冷冻保存。菌株培养基冻融，分离培养液后冷冻保存。

### 5.2 试样处理

5.2.1 谷物及其制品、银耳及其制品、干木耳、木耳培养基提取

准确称取约2 g试样（精确至0.01 g）于50 mL离心管中，加入20 mL1%氨水-80%甲醇水溶液（干木耳加入40 mL1%氨水-80%甲醇水溶液），充分混匀，室温下置于暗处浸泡1 h后，超声提取30 min，于4000 rpm离心5 min，准确移取5.00 mL上清液，待净化。

#### 5.2.2 鲜湿木耳提取

准确称取约2 g试样（精确至0.01 g）于50 mL离心管中，加入20 mL1%氨水-80%甲醇水溶液，充分混匀，室温下置于暗处浸泡1 h后加入3 g硫酸铵，超声提取30 min于10000 rpm离心5 min，准确移取5.00 mL上清液，待净化。

#### 5.2.3 菌株冻融后的培养液

取1 mL培养液，待净化。

#### 5.2.4 净化

将待净化液转移到经活化平衡的固相萃取柱中，依次用3 mL水和3 mL甲醇淋洗，弃去流出液，再用5 mL 1%甲酸-甲醇溶液洗脱，收集洗脱液，于40 °C水浴中氮吹至干，准确加入1.00 mL（注：干木耳加入0.5 mL）乙腈-水溶液（1:1），涡旋溶解残渣，经0.22 μm微孔滤膜过滤，供液相色谱-串联质谱分析。

### 5.3 仪器参考条件

#### 5.3.1 液相色谱条件

色谱柱：C<sub>18</sub> 色谱柱（柱长100 mm，柱内径2.1 mm，填料粒径1.7 μm）或同等性能的色谱柱；

流动相：A为0.1%甲酸水溶液，B为乙腈，梯度洗脱程序见表1；

流速：0.35 mL/min；

柱温：40 °C；

进样量：5 μL。

表1 梯度洗脱程序

时间 (min)	0.1% 甲酸水 (%)
0.0	30
3.0	90
5.0	90

5.5	30
9.0	30

### 5.3.2 质谱条件

电离方式：电喷雾离子源负离子模式（Electron spray ionization, ESI<sup>-</sup>）；辅助加热气：空气，10L/min；雾化气：氮气，3L/min；干燥气：氮气，10L/min；碰撞气：氩气；接口温度：230℃；加热块温度：400℃；脱溶剂温度：526℃；MRM多反应监测模式，参数见表2。

表 2 米酵菌酸的质谱参数

化合物	扫描模式	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)
米酵菌酸	ESI <sup>-</sup>	485.2	441.2 <sup>*</sup>	14
			397.2	18

注：\*为定量离子。

### 5.4 定性确证

按照仪器参考条件测定试样溶液和标准工作溶液，试样中的米酵菌酸色谱峰与标准工作溶液保留时间相比，变化范围在±2.5%之内。米酵菌酸的质谱定性离子必须出现，且同一检测批次，试样中米酵菌酸的两个子离子的相对丰度比(k)与浓度相当的标准工作溶液相比，其允许偏差不超过表3规定的范围，则可判定为试样中存在米酵菌酸。

表 3 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>50	50≥k>20	20≥k>10	k≤10
允许的最大偏差 (%)	± 20	± 25	± 30	± 50

米酵菌酸的质量色谱图参见附录。

### 5.5 定量测定

#### 5.5.1 工作曲线的制作

将米酵菌酸标准系列工作溶液分别注入液相色谱-质谱/质谱仪中，测定相应的质量色谱峰面积，以标准系列工作溶液的浓度为横坐标，以质量色谱峰峰面积

的响应值为纵坐标，绘制工作曲线。10 μg/L米酵菌酸标准溶液的质量色谱图参见附录。

### 5.5.2 试样溶液的测定

将试样溶液按仪器参考条件进行测定，得到相应的试样溶液的质量色谱峰面积。根据工作曲线得到试样溶液中米酵菌酸的浓度。

## 6 结果计算和表述

试样中米酵菌酸含量按下式计算：

$$X = \frac{\rho \times V_1 \times V_3 \times 1000}{m \times V_2 \times 1000}$$

式中：

$X$ ——试样中米酵菌酸的含量，单位为微克每千克（μg/kg）；

$\rho$ ——由工作曲线得出的试样溶液中米酵菌酸的浓度，单位为微克每升（μg/L）；

$V_1$ ——试样溶液提取液体积，单位为毫升（mL）；

$V_2$ ——用于净化移取的试样溶液体积，单位为毫升（mL）；

$V_3$ ——样品经净化洗脱后的最终定容体积，单位为毫升（mL）；

$m$ ——试样的称样量，单位为克（g）。

1000——单位换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%。

## 8 说明

8.1 净化柱推荐用填装较为宽松的SPE柱，如国产的PAX小柱。

8.2 米酵菌酸即使是-20℃保存，也会逐渐转变成异米酵菌酸，其色谱峰在米酵菌酸之后（见附录 图1中3.5 min时的小峰），当小峰的峰面积达到大峰的20%时，需要更换标准品。

8.3 木耳培养基（菌包）内部为松散の木屑、棉籽壳、玉米芯、麦麸、豆粕等的碎末，去掉外部塑料包装后，剪开或切开菌包后可以轻松捏碎混匀。

## 9 附录

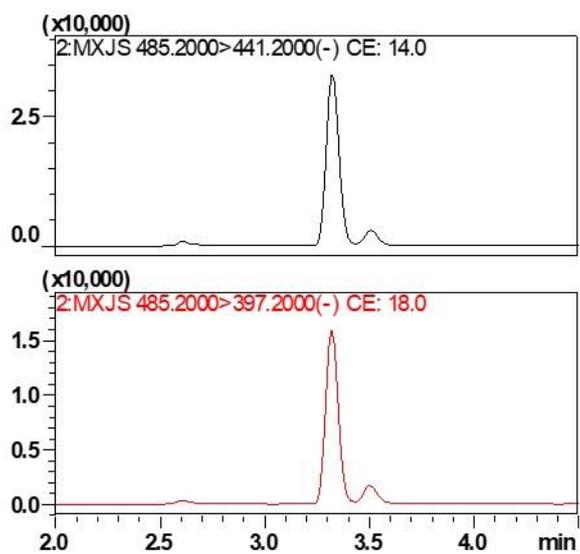


图 1 米酵菌酸 MRM 图谱 (10  $\mu\text{g/L}$ )

## 六、 蝉花子实体中白僵菌素测定的标准操作程序(固相萃取 HPLC-MS)

### 1 适用范围

本程序规定了蝉花子实体原料中白僵菌素的测定方法。

本程序适用于蝉花子实体中白僵菌素的测定。

### 2 原理

试样中的白僵菌素，用乙腈-水溶液提取,提取液经固相萃取柱净化后，超高压液相色谱-串联质谱检测，外标法定量。

### 3 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T6682 规定的一级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 甲醇 (CH<sub>4</sub>O)：色谱纯。

3.1.2 乙腈 (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>ON)：色谱纯。

3.1.3 甲酸 (CH<sub>3</sub>COOH)：色谱纯。

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 乙腈-水溶液 (85+15)：量取 150 mL 水加入到 850 mL 乙腈中，混匀。

3.2.2 乙腈-水溶液 (10+90)：量取 900 mL 水加入到 100 mL 乙腈中，混匀。

3.2.3 乙腈-水溶液 (50+50)：量取 500 mL 水加入到 500 mL 乙腈中，混匀。

3.2.4 乙腈-水溶液 (90+10)：量取 100 mL 水加入到 900 mL 乙腈中，混匀。

3.2.5 0.2%甲酸-水溶液：准确量取 2 mL 甲酸加入到 1000 mL 水中，混匀。

#### 3.3 标准品

白僵菌素 (BEA, C<sub>45</sub>H<sub>57</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub> , CAS号：26048-05-5)：纯度≥97%。

#### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 标准储备溶液 (1.00 mg/mL)：称取 BEA 10 mg (精确至 0.01 mg)，用乙腈溶解并定容至 10 mL。将溶液转移至试剂瓶中，在-20℃下密封保存，有效期一年。

3.4.2 标准工作溶液 1 (60.0 μg/mL)：准确吸取 1.00 mg/mL BEA 标准储备液 0.6 mL 于 10 mL 容量瓶中，加乙腈定容至刻度。在-20℃下密封保存，有效期半年。

3.4.3 标准工作溶液 2 (6.00 μg/mL)：准确吸取 60.0 μg/mL 标准工作溶液 1 mL 于

10 mL 容量瓶中，加乙腈定容至刻度。在-20℃下密封保存，有效期半年。

## 4 仪器与设备

4.1 液相色谱-串联质谱仪：带电喷雾离子源。

4.2 电子天平：感应量 0.01 g 和 0.000 01 g。

4.3 涡旋振荡器。

4.4 固相萃取装置。

4.5 固相萃取柱：兼具亲水基团（吡咯烷酮基团）和疏水基团（二乙烯基苯）吸附剂填料的固相萃取小柱，200 mg，3 mL，或相当者。

4.6 高速离心机。

4.7 匀浆机。

4.8 水相微孔滤膜：0.22 μm。

## 5 操作步骤

### 5.1 试样提取

称取2 g（准确至0.01 g）试样于50 mL离心管（或均质袋）中，加入40.0 mL（V1）乙腈-水（85+15），高速混匀120 s，置于涡旋振荡器中180rpm振荡提取30 min，室温静置15~20 min。移取10 mL上清液（V2）于50 mL离心管中，加入20 mL（V3）超纯水进行稀释，涡旋混匀后室温静置15~20 min，收集上清液于干净的容器中备用。

### 5.2 试样净化

取4 mL（V4）上清液全部通过事先用3 mL甲醇和3 mL超纯水预先活化的SPE柱，再依次用3 mL 10%乙腈水溶液和3 mL 50%乙腈水溶液淋洗、负压下抽干SPE柱。最后用2 mL（V）90%乙腈水溶液洗脱，负压下抽干SPE柱并收集洗脱液，涡旋混匀，采用0.22 μm微孔滤膜过滤于进样瓶中，待进样。

### 5.3 液相色谱参考条件

色谱参考条件列出如下：

- a) 色谱柱：C18 柱（柱长 100 mm，柱内径 2.1 mm，填料粒径 1.7 μm）；
- b) 流动相： A 相：0.2%甲酸水； B 相：乙腈；
- c) 梯度洗脱： 0~1 min，80% A； 3 min，60% A； 12 min，30% A； 12.1

~15.0 min, 10% A; 15.1~17.0 min, 80% A;

- d) 流速: 0.30 mL/min;
- e) 柱温: 35°C;
- f) 进样体积 2  $\mu$ L。

#### 5.4 质谱参考条件

质谱参考条件如下:

- a) 检测方式: 多离子反应监测 (MRM);
- b) 扫描时间 (Scan Time): 0.5 sec;
- c) 离子源: Tube Spray; 电离方式: ESI+; 离子喷雾电压: 5500V; 离子源温度: 550°C
- d) 碰撞解离能量 CAD medium;
- e) 气体 1 (Ion Source Gas 1) 55 psi; 气体 2 (Ion Source Gas 2) 55 psi; 帘气 (Curtain Gas, CUR) 35 psi;
- f) 离子选择参数: 参见表 1;
- g) 多反应监测 (MRM- ESI+) 色谱图: 见图 1。

表 1 离子选择参数表

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压 (V) DP	碰撞能量 (eV) CE
白僵菌素	801.4	244.1*/262.1	73/60	42/42

#### 5.5 定性测定

目标化合物的定性以保留时间和两对离子 (特征离子对/定量离子对) 所对应的 LC-MS/MS 色谱峰相对丰度进行。试样中目标化合物对应色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰相比较, 变化范围应在  $\pm 2.5\%$  之内。

试样中与标准溶液中目标化合物色谱峰丰度比, 同一检测批次样品中目标化合物的两对离子对应的 LC-MS/MS 色谱峰相对丰度比与浓度相当的标准溶液相比, 其允许偏差不超过表 2 规定的范围。

表 2 定性时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	20~50	10~20	≤10
允许相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

## 5.6 标准曲线的制作

### 5.6.1 基质匹配标准溶液：

准确称取不含目标物的蝉花子实体干粉 6 份，每份为 2 g（精确至 0.01 g），分别加入 6.00 μg/mL 标准工作溶液 5 μL、10 μL、50 μL、100 μL、200 μL 和 500 μL，按照“5.1、5.2”的步骤操作，得浓度分别为 0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL 的系列基质匹配标准溶液。

### 5.6.2 标准曲线

在 5.3、5.4 的液相色谱串联质谱仪分析条件下，将基质匹配标准溶液由低到高浓度进样检测，外标法定量，以 BEA 色谱峰面积-浓度作图，得到标准曲线回归方程，其线性相关系数应大于 0.99。

## 5.7 试样溶液的测定

取 5.2 处理得到的待测溶液进样，外标法计算待测液中目标物质的质量浓度，按第 6 章计算样品中待测物的含量。待测样液中的响应值应在标准曲线线性范围内，超过线性范围则应适当减少取样量重新测定。

## 5.8 空白试验

不称取试样，按 5.1 和 5.2 的步骤做空白实验。应确认不含有干扰待测组分的物质。

## 6 分析结果的表述

试样中 BEA 的含量按下式计算：

$$X = \frac{\rho \times V \times f \times 100}{m \times 1000}$$

式中：

X——试样中 BEA 的含量，单位为微克每百克（μg/100 g）；

ρ——试样中 BEA 按照外标法在标准校正曲线中对应的质量浓度，单位为

纳克每毫升 (ng/mL) ;

f——样液稀释因子;

V——试样最终定容体积, 单位为毫升 (mL);

m——试样的称样量, 单位为克 (g);

1000——换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

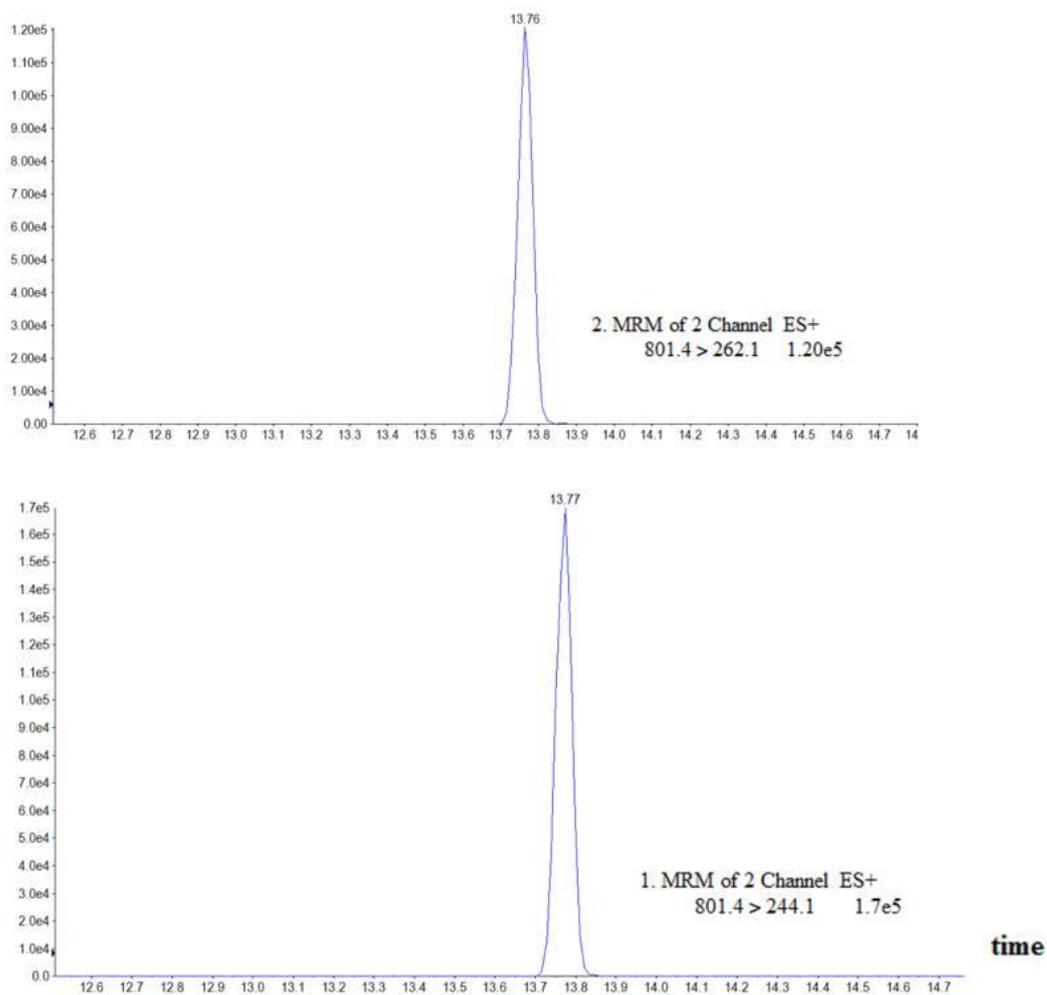
在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

## 8 说明

当称原料试样 2.0 g 时, 方法中的白僵菌素检出限为 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限为 1.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

## 9 附录

## 白僵菌素标准物质多反应检测 (MRM) 色谱图

图 1 5  $\mu\text{g/L}$  白僵菌素标准物质多反应检测 (MRM) 色谱图

上: 白僵菌素定量离子色谱图 (801.4&gt;244.1)

下: 白僵菌素定性离子色谱图 (801.4&gt;262.1)

## 第四节 农药残留

序号	手册提供方法	起草人
1.	植物源性样品中 104 种农药残留量的测定标准操作程序 气相色谱-质谱联用法	卢大胜，徐骞， 贺巍巍
2.	植物源性样品中 79 种农药残留量的测定标准操作程序 液相色谱-质谱联用法	卢大胜，徐骞， 贺巍巍

## 一、植物源性样品中 104 种农药残留量的测定标准操作程序 气相色谱-质谱联用法

### 1 适用范围

本程序规定了植物源性样品（蔬菜、水果和菌菇）中104种农药(参见附录A)残留量的气相色谱-质谱联用测定方法。

本程序适用于植物源性样品（蔬菜、水果和菌菇）中104种农药残留的测定，当称样量为10 g，定容体积10 mL时，其检出限为0.003 mg/kg，定量限为0.01 mg/kg。

### 2 原理

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

### 3 试剂与材料

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

#### 3.1 试剂

3.1.1 乙腈：色谱纯。

3.1.2 无水硫酸镁：分析纯。

3.1.3 氯化钠：分析纯。

3.1.4 柠檬酸钠：分析纯。

3.1.5 柠檬酸氢二钠：分析纯。

#### 3.2 材料

3.2.1 乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶（PSA）：40~60 μm。

3.2.2 石墨化炭黑（GCB）：40~120 μm。

3.2.3 陶瓷均质子：2 cm（长）×1 cm（外径）。

3.2.4 微孔滤膜（有机相）：13 mm×0.22 μm。

#### 3.3 标准品：

##### 3.3.1 农药标准储备液：

标准储备溶液(1000 mg/L)：准确称取 10 mg(精确至 0.1 mg) 各农药标准品，用乙腈溶解并定容至 10 mL，得到浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备溶液。避光-18℃保存，有效期半年。或购买有证标准储备溶液各农药标准品混合储备液，有效期参考证书。

### 3.3.2 农药标准中间液:

使用 1.0 mL 分度吸管各移取 1.0 mL 的各储备液于 10 mL 的容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀, 配成 100.0 ng/ $\mu$ L 的溶液 1, 临用时配置。

使用 1.0 mL 分度吸管移取 1.0 mL 的溶液 1 于 10 mL 的容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀, 配成 10.0 ng/ $\mu$ L 的溶液 2, 临用时配置。

使用 1.0 mL 分度吸管移取 1.0 mL 的溶液 2 于 10 mL 的容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀, 配成 1.0 ng/ $\mu$ L 的溶液 3, 临用时配置。

### 3.3.3 基质混合标准工作溶液:

基质空白溶液是按 5.2 进行前处理后, 待用。按表 1 配置标准曲线:

表 1 标准曲线配制表

标准号	S1	S2	S3	S4	S5	S6
浓度, $\mu$ g/L	10	20	50	100	200	500
溶液 3 (1.0 ng/ $\mu$ L), $\mu$ L	10	20	50	/	/	/
溶液 2 (10 ng/ $\mu$ L), $\mu$ L	/	/	/	10	20	50
乙腈, $\mu$ L	40	30	0	40	30	0
基质空白溶液, $\mu$ L	950	950	950	950	950	950

## 4 仪器和设备

4.1 气相色谱-三重四极杆质谱联用仪: 配有电子轰击源 (EI)。

4.2 分析天平: 感量 0.1 mg。

4.3 天平: 感量 0.01 g。

4.4 离心机: 转速不低于 4200 r/min。

4.5 组织捣碎机。

4.6 涡旋混合器。

4.7 气密性进样针: 10  $\mu$ L、25  $\mu$ L、50  $\mu$ L、100  $\mu$ L、500  $\mu$ L、1000  $\mu$ L。

## 5 分析步骤

### 5.1 样品的制备及保存:

蔬菜和水果的取样量按照相关标准的规定执行, 食用菌样品随机取样 1 kg。样品取样部位按照手册中样品制备规定执行。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，用四分法取样或直接放入组织捣碎机中捣碎成匀浆，放入聚乙烯瓶中。将样品保存置于-18℃冷冻保存。

## 5.2 水果蔬菜及鲜食用菌样品的前处理：

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 乙腈振荡 1 min，然后加入 4 g 硫酸镁、1 g 氯化钠、1 g 柠檬酸钠、0.5 g 柠檬酸氢二钠及 1 颗陶瓷均质子，盖上离心管盖，剧烈震荡 1 min 后 4200 r/min 离心 5 min。吸取 6 mL 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），涡旋混匀 1 min。4200 r/min 离心 5 min，吸取上清液，用于测定。

## 5.3 测定条件：

### 5.3.1 气相色谱条件

- a) 色谱柱：Agilent HP-5 mS UI (30 m×0.25 μm×0.25 mm)，或相当者；
- b) 色谱柱温度：60℃保持 1 min，然后以 40℃/min 程序升温至 120℃，再以 5℃/min 升温至 310℃，保持 5 min；
- c) 载气：氦气，纯度 ≥ 99.999%，流速 1.0 mL/min；
- d) 进样口温度：280℃；
- e) 进样量：1 μL；
- f) 进样方式：不分流进样；
- g) 电子轰击源：70 eV；
- h) 离子源温度：280℃；
- i) 传输线温度：280℃；
- j) 溶剂延迟：3 min；
- k) 多反应监测：每种农药分别选择一对定量离子，一对定性离子。每组所有需要检测离子对按照出峰顺序，分时段分别检测。每种农药的保留时间、定量离子对、定性离子对和碰撞电压，参见附录 A。

## 5.4 样品测定

### 5.4.1 定量测定

取待测样品溶液和相应的标准溶液等体积进样测定，按外标法以标准曲线对样品进行定量。标准溶液及待测样品溶液中各农药的响应值均应在仪器检测的线

性范围之内。

#### 5.4.2 定性测定

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，目标化合物的质谱定量和定性离子均出现，而且同一检测批次，对同一化合物，样品中目标化合物的定性离子和定量离子的相对丰度比与质量浓度相当的基质标准溶液相比，其允许偏差不得超过表 2 规定的范围，则可判断样品中存在目标农药。

表 2 定性测定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%

## 6 计算

### 6.1 空白试验

除不加样品外，采用完全相同的测定步骤进行操作。

### 6.2 定量分析

结果按式（1）计算试样中各农药的残留量，计算结果需扣除空白值。

计算公式：

$$C = \frac{c \times v \times K \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

- C — 试样中农药的含量， mg/kg；
- c — 待测样中化合物的浓度， ng/mL；
- K — 稀释倍数；
- v — 检测溶液体积， mL；
- m — 样品质量， g。

计算结果应扣除空白值，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，保留三位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15 %。

## 8 说明

### 8.1 不同仪器的适用性说明

不同仪器公司生产的不同型号的GC-MS/MS对农药的响应存在一定差异，验

证工作时采用了Agilent 7010 GC-MS/MS气液相色谱-三重四级杆质谱联用仪，如果使用其他品牌的设备，需对碰撞能量进行优化。

## 8.2 关键试剂、标准品及耗材的原则性要求

本方法对于所用试剂的纯度有着严格的要求，实验所用的水、试剂必须保证不含或少含待测物质，以测定的试剂空白越低越好为原则，最好使用色谱纯及以上试剂。空白值不得高于最低检测限的 1/2，用于样品含量计算的校准，若空白值高于最低检测限的 1/2，需找出原因后再进行该批样品的分析。标准品建议购买经国家或权威机构认证并授予证书的标准物质，具有可溯源性。

## 8.3 实验前需要注意的关键点

根据仪器的实际使用频率和仪器的干净程度，可在使用前需对设备进行维护，如：清洗维护雾化器组件、清洗电喷雾雾化室、调整电喷雾雾化器针位置、清洗离子源等。

在实验过程中涉及到农药危险品和化学试剂，实验操作中要相关的职业规范，另外本方法需要使用离心机，在使用的过程中要按照离心机的操作规范进行。

## 8.4 样品制备和前处理过程需要注意的关键点

样品制备和前处理过程需要始终确保所用试剂、容器、通风橱以及整个实验室环境的洁净；制备每一个样品均需要充分清洗粉组织捣碎机，避免交叉污染；QuEChERS萃取法在加入萃取盐（ $MgSO_4$ ）时，会放出热量，建议使用冷藏过夜的乙腈作为提取试剂，可以有效避免发热造成热不稳定性农药回收率的损失；加入萃取盐后需迅速振摇，防止结块造成回收率降低。

对于深色样品可以考虑用石墨化碳黑进行净化，但该净化方式会对平面结构的化合物（如：五氯苯、五氯硝基苯、特丁硫磷、皮蝇磷、啉硫磷、杀螨酯、苯硫磷、蝇毒磷等）有较强的吸附作用，使用时需做好质量评估，确保其回收率在规定的范围内。

在使用QuEChERS萃取法时，一般要求样品中水的含量和有机试剂（乙腈）的比例达到约1:1，对于部分含水量不到90%的基质需要增加去离子水，如：黑木耳含水量约30%，在萃取时需加入6 mL去离子水。

## 8.5 仪器检测过程中需要注意的关键点

上机分析过程依次为空白溶剂、标准序列、样品、设备稳定性检测，在每测定12 h，需插入标准序列的中间浓度点，要求中间浓度点色谱峰的峰面积的差异

小于20%，全过程的空白试剂各色谱峰必须低于标准序列最低点。设备稳定性检测方法同上，前后运行过程中各色谱峰的峰面积的差异小于15%。

每批次样品测试过程中均要求进行空白样品添加回收试验或质控样品进行质量控制，其回收率要在70-130%，或准确度在规定的范围之内。

附录A中的定量离子对是在纯标下响应最强的离子对，在实际测试过程中，不同的基质可能会造成离子干扰，如有干扰可以选择无干扰的离子对作为定量离子。

附录A中提供的保留时间是按5.3的仪器方法，通过调整色谱柱的长度（一般新色谱柱在 $30\text{ m}\pm 1\text{ m}$ ）将甲基毒死蜱的保留时间锁定为 $18.111\pm 0.05\text{ min}$ （保留时间锁定），得到相对应的各个化合物的保留时间。实际测试中，可以按仪器的实际情况进行调整。

## 9 附录

9.1 附录 A 104 种农药的保留时间、定量离子对、定性离子对

9.2 附录 B 浓度为 100 ng/mL 纯标 TIC 图

## 附录 A

## 104 种农药化合物的保留时间、定量离子对、定性离子对和碰撞能量

注：“\*”为定量离子

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量(V)
敌敌畏	Dichlorvos	6.188	109*	79	5
敌敌畏	Dichlorvos	6.188	184.9	93	10
敌敌畏	Dichlorvos	6.188	144.9	109	10
敌敌畏	Dichlorvos	6.188	187.1	93	10
乙拌磷亚砷	Disulfoton-sulfoxide	7.365	96.9*	47	40
乙拌磷亚砷	Disulfoton-sulfoxide	7.365	125	96.9	5
乙拌磷亚砷	Disulfoton-sulfoxide	7.365	96.9	64.9	20
乙拌磷亚砷	Disulfoton-sulfoxide	7.365	96.9	78.9	15
虫螨畏	Methacrifos	10.458	207.9*	180.1	5
虫螨畏	Methacrifos	10.458	124.9	47.1	10
虫螨畏	Methacrifos	10.458	124.9	79	5
虫螨畏	Methacrifos	10.458	179.9	93	5
五氯苯	Pentachlorobenzene	10.859	249.9*	215	20
五氯苯	Pentachlorobenzene	10.859	248	213	20
五氯苯	Pentachlorobenzene	10.859	251.9	217	20
五氯苯	Pentachlorobenzene	10.859	249.9	179	30
异丙威 1	Isoproc carb I	11.124	121*	77.1	20
异丙威 1	Isoproc carb I	11.124	136	121.1	10
异丙威 1	Isoproc carb I	11.124	121	103.1	10
异丙威 1	Isoproc carb I	11.124	136	77.1	30
仲丁威	Fenobucarb	12.510	121*	77	20
仲丁威	Fenobucarb	12.510	121	103.1	15
仲丁威	Fenobucarb	12.510	149.9	121.1	5
仲丁威	Fenobucarb	12.510	121	93.1	5
丙线磷	Ethoprophos	13.007	157.9*	97	15
丙线磷	Ethoprophos	13.007	157.9	114	5
丙线磷	Ethoprophos	13.007	138.9	97	5
丙线磷	Ethoprophos	13.007	157.9	81	15
α-六六六	BHC-alpha	14.321	216.9*	181	5
α-六六六	BHC-alpha	14.321	218.9	183	5
α-六六六	BHC-alpha	14.321	180.9	145	15
α-六六六	BHC-alpha	14.321	182.9	147	15
六氯苯	Hexachlorobenzene	14.592	283.8*	213.9	30
六氯苯	Hexachlorobenzene	14.592	283.8	248.8	15
六氯苯	Hexachlorobenzene	14.592	281.8	211.9	30
六氯苯	Hexachlorobenzene	14.592	248.9	214	15
异丙威 2	Isoproc carb II	14.969	121*	77.1	20

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量(V)
异丙威 2	Isoprocarb II	14.969	136	121.1	10
异丙威 2	Isoprocarb II	14.969	136	77.1	30
异丙威 2	Isoprocarb II	14.969	121	91.1	10
$\beta$ -六六六	BHC-beta	15.360	181*	145	15
$\beta$ -六六六	BHC-beta	15.360	216.9	181.1	5
$\beta$ -六六六	BHC-beta	15.360	218.9	183.1	5
$\beta$ -六六六	BHC-beta	15.360	183	147	15
$\gamma$ -六六六	BHC-gamma	15.582	216.9*	181	5
$\gamma$ -六六六	BHC-gamma	15.582	181	145	15
$\gamma$ -六六六	BHC-gamma	15.582	218.9	183.1	5
$\gamma$ -六六六	BHC-gamma	15.582	183	147	15
五氯硝基苯	Pentachloronitrobenzene	15.758	141.9*	106.9	30
五氯硝基苯	Pentachloronitrobenzene	15.758	248.8	213.8	15
五氯硝基苯	Pentachloronitrobenzene	15.758	176.9	141.9	15
五氯硝基苯	Pentachloronitrobenzene	15.758	213.8	178.8	15
特丁硫磷	Terbufos	15.871	230.9*	175	10
特丁硫磷	Terbufos	15.871	230.9	129	20
特丁硫磷	Terbufos	15.871	152.9	97	5
特丁硫磷	Terbufos	15.871	230.9	185	5
磷胺 1	Phosphamidon I	16.398	127*	109	10
磷胺 1	Phosphamidon I	16.398	127	95	15
磷胺 1	Phosphamidon I	16.398	192.9	127	5
磷胺 1	Phosphamidon I	16.398	226.9	127	5
二嗪农	Diazinon	16.415	137.1*	84	10
二嗪农	Diazinon	16.415	137.1	54	20
二嗪农	Diazinon	16.415	199.1	93	15
二嗪农	Diazinon	16.415	199.1	135.1	10
乙拌磷	Disulfoton	16.504	88*	60	5
乙拌磷	Disulfoton	16.504	142	109	5
乙拌磷	Disulfoton	16.504	142	80.9	15
乙拌磷	Disulfoton	16.504	186	97	15
$\delta$ -六六六	BHC-delta	16.517	217*	181.1	5
$\delta$ -六六六	BHC-delta	16.517	181.1	145.1	15
$\delta$ -六六六	BHC-delta	16.517	219	183.1	5
$\delta$ -六六六	BHC-delta	16.517	183.1	147.1	15
百菌清	Chlorothalonil	16.709	265.9*	230.9	20
百菌清	Chlorothalonil	16.709	265.9	133	45
百菌清	Chlorothalonil	16.709	265.9	168	30
百菌清	Chlorothalonil	16.709	109	74	30
氯唑磷	Isazofos	16.889	161*	119.1	5
氯唑磷	Isazofos	16.889	161	146	5

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量(V)
氯唑磷	Isazofos	16.889	256.9	162	5
氯唑磷	Isazofos	16.889	207.9	165.9	10
乙嘧硫磷	Etrimfos	16.970	181.1*	153.1	10
乙嘧硫磷	Etrimfos	16.970	292.1	181.1	5
乙嘧硫磷	Etrimfos	16.970	181.1	56.1	25
乙嘧硫磷	Etrimfos	16.970	292.1	153.1	25
异稻瘟净	Iprobenfos	17.135	203.9*	91	5
异稻瘟净	Iprobenfos	17.135	121.9	121	15
异稻瘟净	Iprobenfos	17.135	203.9	121.1	35
异稻瘟净	Iprobenfos	17.135	245.9	91	15
磷胺 2	Phosphamidon II	17.820	127*	109.0	10
磷胺 2	Phosphamidon II	17.820	127	95.0	15
磷胺 2	Phosphamidon II	17.820	192.9	127.0	5
磷胺 2	Phosphamidon II	17.820	226.9	127.0	5
甲基对硫磷	Parathion-methyl	18.103	262.9*	109	10
甲基对硫磷	Parathion-methyl	18.103	125	47	10
甲基对硫磷	Parathion-methyl	18.103	125	79	5
甲基对硫磷	Parathion-methyl	18.103	109	79	5
甲基毒死蜱	Chlorpyrifos-methyl	18.110	124.9*	47	15
甲基毒死蜱	Chlorpyrifos-methyl	18.110	78.9	47	10
甲基毒死蜱	Chlorpyrifos-methyl	18.110	285.9	93	25
甲基毒死蜱	Chlorpyrifos-methyl	18.110	125	79	5
乙烯菌核利	Vinclozolin	18.119	187*	124	20
乙烯菌核利	Vinclozolin	18.119	197.9	145	15
乙烯菌核利	Vinclozolin	18.119	212	172.1	15
乙烯菌核利	Vinclozolin	18.119	187	159	10
三氯杀虫酯	Plifenate	18.135	175*	111	20
三氯杀虫酯	Plifenate	18.135	175	147	10
三氯杀虫酯	Plifenate	18.135	241.9	170	20
三氯杀虫酯	Plifenate	18.135	241.9	172	20
甲基立枯磷	Tolclofos-methyl	18.274	267*	252	15
甲基立枯磷	Tolclofos-methyl	18.274	125	79	5
甲基立枯磷	Tolclofos-methyl	18.274	267	93	30
甲基立枯磷	Tolclofos-methyl	18.274	267	221.9	25
七氯	Heptachlor	18.299	271.7*	236.9	15
七氯	Heptachlor	18.299	273.7	238.9	15
七氯	Heptachlor	18.299	273.7	236.9	15
七氯	Heptachlor	18.299	236.9	118.8	25
甲草胺	Alachlor	18.422	188.1*	160.1	10
甲草胺	Alachlor	18.422	160.1	132.1	15
甲草胺	Alachlor	18.422	188.1	132.1	20

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量(V)
甲草胺	Alachlor	18.422	237.1	160.1	10
环庚草醚	Cinmethylin	18.597	105.1*	77	20
环庚草醚	Cinmethylin	18.597	105.1	79	10
环庚草醚	Cinmethylin	18.597	123.1	81	10
环庚草醚	Cinmethylin	18.597	105.1	51	35
皮蝇磷	Fenchlorphos	18.660	285*	269.9	15
皮蝇磷	Fenchlorphos	18.660	286.9	272	15
皮蝇磷	Fenchlorphos	18.660	125	47.1	15
皮蝇磷	Fenchlorphos	18.660	125	79	5
杀螟硫磷	Fenitrothion	19.187	125.1*	47	15
杀螟硫磷	Fenitrothion	19.187	125.1	79	5
杀螟硫磷	Fenitrothion	19.187	277	260.1	5
杀螟硫磷	Fenitrothion	19.187	109	79	5
甲基嘧啶磷	Pirimiphos-methyl	19.308	290*	125	20
甲基嘧啶磷	Pirimiphos-methyl	19.308	232.9	151	5
甲基嘧啶磷	Pirimiphos-methyl	19.308	232.9	125	5
甲基嘧啶磷	Pirimiphos-methyl	19.308	304.9	180	5
艾氏剂	Aldrin	19.594	262.9*	192.9	35
艾氏剂	Aldrin	19.594	254.9	220	20
艾氏剂	Aldrin	19.594	262.9	190.9	35
艾氏剂	Aldrin	19.594	264.9	192.9	35
马拉硫磷	Malathion	19.654	126.9*	99	5
马拉硫磷	Malathion	19.654	172.9	99	15
马拉硫磷	Malathion	19.654	157.8	125	5
马拉硫磷	Malathion	19.654	126.9	55	5
倍硫磷	Fenthion	19.905	278*	109	15
倍硫磷	Fenthion	19.905	124.9	47	10
倍硫磷	Fenthion	19.905	124.9	79	5
倍硫磷	Fenthion	19.905	278	169	15
毒死蜱	Chlorpyrifos	19.993	196.9*	169	15
毒死蜱	Chlorpyrifos	19.993	198.9	171	15
毒死蜱	Chlorpyrifos	19.993	313.8	257.8	15
毒死蜱	Chlorpyrifos	19.993	313.8	285.8	5
三氯杀螨醇	Dicofol	20.012	139*	75	30
三氯杀螨醇	Dicofol	20.012	139	111	10
三氯杀螨醇	Dicofol	20.012	111	74	40
三氯杀螨醇	Dicofol	20.012	140.9	113	20
(乙基)对硫磷	Parathion ethyl	20.019	109*	81	15
(乙基)对硫磷	Parathion ethyl	20.019	139	109	5

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量(V)
(乙基)对硫磷	Parathion ethyl	20.019	291	109	15
(乙基)对硫磷	Parathion ethyl	20.019	109	91	5
水胺硫磷	Isocarbophos	20.247	120*	92	10
水胺硫磷	Isocarbophos	20.247	135.9	108	15
水胺硫磷	Isocarbophos	20.247	121	65.1	15
水胺硫磷	Isocarbophos	20.247	121	93	10
甲基异硫磷	Isofenphos-methyl	20.955	199*	121	15
甲基异硫磷	Isofenphos-methyl	20.955	121	65	20
甲基异硫磷	Isofenphos-methyl	20.955	121	39.1	40
甲基异硫磷	Isofenphos-methyl	20.955	199	65	40
顺式环氧七氯	Heptachlor exo-epoxide	21.110	352.8*	262.9	15
顺式环氧七氯	Heptachlor exo-epoxide	21.110	354.8	264.9	15
顺式环氧七氯	Heptachlor exo-epoxide	21.110	262.9	193	35
顺式环氧七氯	Heptachlor exo-epoxide	21.110	352.8	316.8	5
氧氯丹	Chlordane-oxy	21.150	114.9*	51.1	25
氧氯丹	Chlordane-oxy	21.150	114.9	87	15
氧氯丹	Chlordane-oxy	21.150	184.9	121	15
氧氯丹	Chlordane-oxy	21.150	184.9	85	30
反式环氧七氯	Heptachlor endo-epoxide	21.278	135*	99	15
反式环氧七氯	Heptachlor endo-epoxide	21.278	183	119	30
反式环氧七氯	Heptachlor endo-epoxide	21.278	216.9	182	20
反式环氧七氯	Heptachlor endo-epoxide	21.278	216.9	147	40
毒虫畏	Chlorfenvinphos	21.548	266.9*	159	20
毒虫畏	Chlorfenvinphos	21.548	294.9	266.9	5
毒虫畏	Chlorfenvinphos	21.548	266.9	81	30
毒虫畏	Chlorfenvinphos	21.548	266.9	203	10
灭蚜磷	Mecarbam	21.624	158.9*	131	5
灭蚜磷	Mecarbam	21.624	130.9	74	5
灭蚜磷	Mecarbam	21.624	130.9	86	10
灭蚜磷	Mecarbam	21.624	158.9	86	15
喹硫磷	Quinalphos	21.630	146*	118	10

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量(V)
喹硫磷	Quinalphos	21.630	146	91	30
喹硫磷	Quinalphos	21.630	157	129.1	15
喹硫磷	Quinalphos	21.630	157	102	30
腐霉利	Procymidone	21.838	96*	67.1	10
腐霉利	Procymidone	21.838	96	53.1	15
腐霉利	Procymidone	21.838	282.8	96	10
腐霉利	Procymidone	21.838	284.8	96	10
烯虫酯	Methoprene	21.934	111.1*	55	15
烯虫酯	Methoprene	21.934	153	111.1	5
烯虫酯	Methoprene	21.934	111.1	83	10
烯虫酯	Methoprene	21.934	73	55	10
反式氯丹	Chlordane-trans	21.990	372.8*	265.8	15
反式氯丹	Chlordane-trans	21.990	271.7	236.9	15
反式氯丹	Chlordane-trans	21.990	374.8	265.8	15
反式氯丹	Chlordane-trans	21.990	372.8	300.7	10
杀扑磷	Methidathion	22.099	144.9*	85	5
杀扑磷	Methidathion	22.099	144.9	58.1	15
杀扑磷	Methidathion	22.099	85	58	5
杀扑磷	Methidathion	22.099	124.9	47	15
o,p'-滴滴伊	DDE-o,p'	22.249	246*	176.2	30
o,p'-滴滴伊	DDE-o,p'	22.249	248	176.2	30
o,p'-滴滴伊	DDE-o,p'	22.249	317.8	248	15
o,p'-滴滴伊	DDE-o,p'	22.249	317.8	246	15
α-硫丹	Endosulfan I	22.428	194.9*	159	5
α-硫丹	Endosulfan I	22.428	194.9	160	5
α-硫丹	Endosulfan I	22.428	194.9	125	20
α-硫丹	Endosulfan I	22.428	236.8	118.9	25
杀虫畏	Tetrachlorvinphos	22.482	329*	108.9	25
杀虫畏	Tetrachlorvinphos	22.482	109	78.9	5
杀虫畏	Tetrachlorvinphos	22.482	78.9	47	10
杀虫畏	Tetrachlorvinphos	22.482	329	78.9	40
乙拌磷砒	Disulfoton sulfone	22.525	152.9*	97	10
乙拌磷砒	Disulfoton sulfone	22.525	213	96.9	15
乙拌磷砒	Disulfoton sulfone	22.525	124.9	96.9	5
乙拌磷砒	Disulfoton sulfone	22.525	213	153	5
顺式氯丹	Chlordane-cis	22.555	271.8*	236.9	15
顺式氯丹	Chlordane-cis	22.555	372.8	265.9	25
顺式氯丹	Chlordane-cis	22.555	372.8	300.9	10
顺式氯丹	Chlordane-cis	22.555	372.8	336.9	10
反式九氯	Nonachlor, trans-	22.743	271.8*	236.9	15
反式九氯	Nonachlor, trans-	22.743	406.8	299.8	15

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量(V)
反式九氯	Nonachlor, trans-	22.743	408.8	301.8	15
反式九氯	Nonachlor, trans-	22.743	406.8	297.8	15
杀螨酯	Chlorfenson	22.865	175*	111	10
杀螨酯	Chlorfenson	22.865	111	75	15
杀螨酯	Chlorfenson	22.865	177	113	10
杀螨酯	Chlorfenson	22.865	175	75	30
溴丙磷	Profenofos	23.306	207.9*	63	30
溴丙磷	Profenofos	23.306	338.8	268.7	15
溴丙磷	Profenofos	23.306	296.8	268.7	5
溴丙磷	Profenofos	23.306	207.9	98.9	25
狄氏剂	Dieldrin	23.391	277*	241	5
狄氏剂	Dieldrin	23.391	262.9	193	35
狄氏剂	Dieldrin	23.391	262.9	191	35
狄氏剂	Dieldrin	23.391	345	262.7	5
p,p'-滴滴伊	DDE-p,p'	23.418	246.1*	176.2	30
p,p'-滴滴伊	DDE-p,p'	23.418	315.8	246	15
p,p'-滴滴伊	DDE-p,p'	23.418	317.8	246	15
p,p'-滴滴伊	DDE-p,p'	23.418	317.8	248	15
烯效唑	Uniconazole	23.439	234.1*	165.1	10
烯效唑	Uniconazole	23.439	234.1	137.0	15
烯效唑	Uniconazole	23.439	131.1	77.0	25
烯效唑	Uniconazole	23.439	131.1	103.0	10
o,p'-滴滴滴	DDD-o,p'	23.719	235*	165.1	25
o,p'-滴滴滴	DDD-o,p'	23.719	235	200.1	10
o,p'-滴滴滴	DDD-o,p'	23.719	199.1	164.1	20
o,p'-滴滴滴	DDD-o,p'	23.719	165.1	115.1	35
噻嗪酮	Buprofezin	23.783	104*	77	10
噻嗪酮	Buprofezin	23.783	104	51	35
噻嗪酮	Buprofezin	23.783	83	56	15
噻嗪酮	Buprofezin	23.783	249.1	193	10
苜氯三唑醇	Diclobutrazol	23.785	269.8*	158.9	20
苜氯三唑醇	Diclobutrazol	23.785	271.8	160.9	15
苜氯三唑醇	Diclobutrazol	23.785	158.8	89	35
苜氯三唑醇	Diclobutrazol	23.785	158.8	122.9	20
氟硅唑	Flusilazole	23.863	233*	165.1	15
氟硅唑	Flusilazole	23.863	233	91	20
氟硅唑	Flusilazole	23.863	314.7	232.9	10
氟硅唑	Flusilazole	23.863	220	139	20
乙氧氟草醚	Oxyfluorfen	23.890	252*	196	20
乙氧氟草醚	Oxyfluorfen	23.890	252	146	30
乙氧氟草醚	Oxyfluorfen	23.890	299.9	222.8	15

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量(V)
乙氧氟草醚	Oxyfluorfen	23.890	361	299.8	15
异狄氏剂	Endrin	24.168	262.8*	193	35
异狄氏剂	Endrin	24.168	244.8	173	30
异狄氏剂	Endrin	24.168	316.7	280.8	5
异狄氏剂	Endrin	24.168	316.7	100.8	10
溴虫腈	Chlorfenapyr	24.459	137*	102	15
溴虫腈	Chlorfenapyr	24.459	247.1	227.1	20
溴虫腈	Chlorfenapyr	24.459	328	247	20
溴虫腈	Chlorfenapyr	24.459	137	75	30
β-硫丹	Endosulfan II	24.523	206.9*	172	15
β-硫丹	Endosulfan II	24.523	194.9	158.9	10
β-硫丹	Endosulfan II	24.523	194.9	124.9	25
β-硫丹	Endosulfan II	24.523	276.7	240.9	5
p,p'-滴滴滴	DDD-p,p'	24.939	237*	165.1	25
p,p'-滴滴滴	DDD-p,p'	24.939	165.1	115	35
p,p'-滴滴滴	DDD-p,p'	24.939	237	200.1	15
p,p'-滴滴滴	DDD-p,p'	24.939	199.1	164.1	20
顺式九氯	Nonachlor, cis-	25.021	406.8*	299.8	15
顺式九氯	Nonachlor, cis-	25.021	408.8	299.8	15
顺式九氯	Nonachlor, cis-	25.021	406.8	108.8	15
顺式九氯	Nonachlor, cis-	25.021	410.8	301.7	15
o,p'-滴滴涕	DDT-o,p'	25.039	235*	165.2	20
o,p'-滴滴涕	DDT-o,p'	25.039	237	165.2	20
o,p'-滴滴涕	DDT-o,p'	25.039	235	199.1	15
o,p'-滴滴涕	DDT-o,p'	25.039	199	163.1	35
噁霜灵	Oxadixyl	25.113	163*	132.1	5
噁霜灵	Oxadixyl	25.113	163	117.1	25
噁霜灵	Oxadixyl	25.113	132	117.1	15
噁霜灵	Oxadixyl	25.113	232.9	146.1	10
乙硫磷	Ethion	25.195	152.9*	96.9	10
乙硫磷	Ethion	25.195	124.9	96.9	0
乙硫磷	Ethion	25.195	230.9	175	10
乙硫磷	Ethion	25.195	230.9	129	20
三唑磷	Triazophos	25.644	161.2*	134.2	5
三唑磷	Triazophos	25.644	161.2	106.1	10
三唑磷	Triazophos	25.644	161.2	91	15
三唑磷	Triazophos	25.644	257	162.1	5
克瘟散	Edifenphos	26.026	172.9*	109	5
克瘟散	Edifenphos	26.026	108.9	65.1	15
克瘟散	Edifenphos	26.026	201	109	10
克瘟散	Edifenphos	26.026	201	173	0

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量(V)
硫丹硫酸酯	Endosulfan sulfate	26.080	271.9*	237	20
硫丹硫酸酯	Endosulfan sulfate	26.080	273.8	238.9	15
硫丹硫酸酯	Endosulfan sulfate	26.080	273.8	236.9	15
硫丹硫酸酯	Endosulfan sulfate	26.080	271.9	235	15
丙环唑 1	Propiconazole I	26.158	172.9*	145	15
丙环唑 1	Propiconazole I	26.158	172.9	109	30
丙环唑 1	Propiconazole I	26.158	172.9	74	45
丙环唑 1	Propiconazole I	26.158	258.8	69	10
p,p'-滴滴涕	DDT-p,p'	26.262	235*	165.2	20
p,p'-滴滴涕	DDT-p,p'	26.262	237	165.2	20
p,p'-滴滴涕	DDT-p,p'	26.262	235	199.2	15
p,p'-滴滴涕	DDT-p,p'	26.262	165	115.1	30
丙环唑 2	Propiconazole II	26.382	172.9*	145.0	15
丙环唑 2	Propiconazole II	26.382	172.9	109.0	30
丙环唑 2	Propiconazole II	26.382	172.9	74.0	45
丙环唑 2	Propiconazole II	26.382	258.8	69.0	10
环嗪酮	Hexazinone	26.665	171*	71.1	10
环嗪酮	Hexazinone	26.665	171	85.1	10
环嗪酮	Hexazinone	26.665	128	83	10
环嗪酮	Hexazinone	26.665	98	70.1	5
增效醚	Piperonyl butoxide	27.205	176.1*	131.1	15
增效醚	Piperonyl butoxide	27.205	176.1	103.1	25
增效醚	Piperonyl butoxide	27.205	176.1	117.1	20
增效醚	Piperonyl butoxide	27.205	177	119.1	10
哒嗪硫磷	Pyridaphenthion	27.951	340*	199	5
哒嗪硫磷	Pyridaphenthion	27.951	204	203.1	5
哒嗪硫磷	Pyridaphenthion	27.951	188	82	10
哒嗪硫磷	Pyridaphenthion	27.951	188	91	10
亚胺硫磷	Phosmet	27.979	160*	77.1	20
亚胺硫磷	Phosmet	27.979	160	133.1	10
亚胺硫磷	Phosmet	27.979	160	105	15
亚胺硫磷	Phosmet	27.979	132.9	77.1	15
胺菊酯 1	Tetramethrin I	28.037	164*	107.1	10
胺菊酯 1	Tetramethrin I	28.037	164	77.1	25
胺菊酯 1	Tetramethrin I	28.037	123	81.1	10
胺菊酯 1	Tetramethrin I	28.037	107	91	10
苯硫磷	EPN	28.137	169*	141.1	5
苯硫磷	EPN	28.137	169	77.1	25
苯硫磷	EPN	28.137	185	157.1	5
苯硫磷	EPN	28.137	157	77.1	20
胺菊酯 2	Tetramethrin II	28.291	164*	107.1	10

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量(V)
胺菊酯 2	Tetramethrin II	28.291	164	77.1	25
胺菊酯 2	Tetramethrin II	28.291	123	81.1	10
胺菊酯 2	Tetramethrin II	28.291	107	77.0	10
联苯菊酯	Bifenthrin	28.325	181.2*	166.2	10
联苯菊酯	Bifenthrin	28.325	181.2	165.2	25
联苯菊酯	Bifenthrin	28.325	166.2	165.2	20
联苯菊酯	Bifenthrin	28.325	182.2	167.2	10
甲氰菊酯	Fenpropathrin	28.513	181.1*	152.1	25
甲氰菊酯	Fenpropathrin	28.513	207.9	181	5
甲氰菊酯	Fenpropathrin	28.513	125	55.1	10
甲氰菊酯	Fenpropathrin	28.513	264.9	210	10
甲基谷硫磷	Azinphos-methyl	29.364	160*	132.1	5
甲基谷硫磷	Azinphos-methyl	29.364	160	77	20
甲基谷硫磷	Azinphos-methyl	29.364	132.1	77	15
甲基谷硫磷	Azinphos-methyl	29.364	77	51	15
伏杀硫磷	Phosalone	29.386	182*	111	15
伏杀硫磷	Phosalone	29.386	121.1	65	10
伏杀硫磷	Phosalone	29.386	182	75	35
伏杀硫磷	Phosalone	29.386	182	138	10
吡丙醚	Pyriproxyfen	29.608	136.1*	78.1	20
吡丙醚	Pyriproxyfen	29.608	136.1	96	15
吡丙醚	Pyriproxyfen	29.608	321	222	10
吡丙醚	Pyriproxyfen	29.608	226.1	186.2	15
氰氟草酯	Cyhalofop-butyl	29.826	256.2*	120.1	10
氰氟草酯	Cyhalofop-butyl	29.826	120.1	91	15
氰氟草酯	Cyhalofop-butyl	29.826	229.2	109.1	15
氰氟草酯	Cyhalofop-butyl	29.826	256.2	91.1	25
γ-氯氟氰菊酯	Cyhalothrin (Gamma)	30.271	197*	141.1	10
γ-氯氟氰菊酯	Cyhalothrin (Gamma)	30.271	181.2	152.1	25
γ-氯氟氰菊酯	Cyhalothrin (Gamma)	30.271	197	161.1	5
γ-氯氟氰菊酯	Cyhalothrin (Gamma)	30.271	141	115.1	15
λ-氯氟氰菊酯	Cyhalothrin (Lambda)	30.272	208.1*	181.1	10
λ-氯氟氰菊酯	Cyhalothrin (Lambda)	30.272	181.1	152.1	30
λ-氯氟氰菊酯	Cyhalothrin (Lambda)	30.272	181.1	127.1	30

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量(V)
λ-氯氟氰菊酯	Cyhalothrin (Lambda)	30.272	181.1	77.0	45
顺式-氯菊酯	cis-Permethrin	31.542	183.1*	168.1	10
顺式-氯菊酯	cis-Permethrin	31.542	183.1	153.1	15
顺式-氯菊酯	cis-Permethrin	31.542	182.9	155.1	10
顺式-氯菊酯	cis-Permethrin	31.542	162.9	91.1	15
反式-氯菊酯	trans-Permethrin	31.819	162.9*	91.1	15
反式-氯菊酯	trans-Permethrin	31.819	163	91.0	15
反式-氯菊酯	trans-Permethrin	31.819	163	127.0	5
反式-氯菊酯	trans-Permethrin	31.819	183.1	168.1	10
蝇毒磷	Coumaphos	31.979	210*	182	10
蝇毒磷	Coumaphos	31.979	361.9	109	15
蝇毒磷	Coumaphos	31.979	225.9	163.1	15
蝇毒磷	Coumaphos	31.979	210	154.1	15
氟氯氰菊酯 1	Cyfluthrin I	32.778	162.9*	90.9	15
氟氯氰菊酯 1	Cyfluthrin I	32.778	162.9	127	5
氟氯氰菊酯 1	Cyfluthrin I	32.778	198.9	170.1	25
氟氯氰菊酯 1	Cyfluthrin I	32.778	226.9	76.9	25
氟氯氰菊酯 2	Cyfluthrin II	32.962	162.9*	90.9	15
氟氯氰菊酯 2	Cyfluthrin II	32.962	162.9	127.0	5
氟氯氰菊酯 2	Cyfluthrin II	32.962	198.9	170.1	25
氟氯氰菊酯 2	Cyfluthrin II	32.962	226.9	76.9	25
氟氯氰菊酯 3	Cyfluthrin III	33.108	162.9*	90.9	15
氟氯氰菊酯 3	Cyfluthrin III	33.108	162.9	127.0	5
氟氯氰菊酯 3	Cyfluthrin III	33.108	198.9	170.1	25
氟氯氰菊酯 3	Cyfluthrin III	33.108	226.9	76.9	25
氟氯氰菊酯 4	Cyfluthrin IV	33.189	162.9*	90.9	15
氟氯氰菊酯 4	Cyfluthrin IV	33.189	162.9	127.0	5

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量(V)
氟氰菊酯 4	Cyfluthrin IV	33.189	198.9	170.1	25
氟氰菊酯 4	Cyfluthrin IV	33.189	226.9	76.9	25
氯氰菊酯 1	Cypermethrin I	33.290	163*	91	10
氯氰菊酯 1	Cypermethrin I	33.290	163	127	5
氯氰菊酯 1	Cypermethrin I	33.290	164.9	91	10
氯氰菊酯 1	Cypermethrin I	33.290	181	152.1	25
氯氰菊酯 2	Cypermethrin II	33.488	163.1*	127.1	5
氯氰菊酯 2	Cypermethrin II	33.488	163.1	91.0	15
氯氰菊酯 2	Cypermethrin II	33.488	165.1	91.1	15
氯氰菊酯 2	Cypermethrin II	33.488	181.2	152.1	25
氯氰菊酯 3	Cypermethrin III	33.626	163.1*	127.1	5
氯氰菊酯 3	Cypermethrin III	33.626	163.1	91.0	15
氯氰菊酯 3	Cypermethrin III	33.626	165.1	91.1	15
氯氰菊酯 3	Cypermethrin III	33.626	181.2	152.1	25
氯氰菊酯 4	Cypermethrin IV	33.699	163.1*	127.1	5
氯氰菊酯 4	Cypermethrin IV	33.699	163.1	91.0	15
氯氰菊酯 4	Cypermethrin IV	33.699	165.1	91.1	15
氯氰菊酯 4	Cypermethrin IV	33.699	181.2	152.1	25
氟氰戊菊酯 1	Flucythrinate I	33.811	156.9*	107.1	15
氟氰戊菊酯 1	Flucythrinate I	33.811	198.9	157	10
氟氰戊菊酯 1	Flucythrinate I	33.811	198.9	107	25
氟氰戊菊酯 1	Flucythrinate I	33.811	156.9	77	35
醚菊酯	Ethofenprox	33.912	163*	135.1	10
醚菊酯	Ethofenprox	33.912	163	107.1	20
醚菊酯	Ethofenprox	33.912	135	107	10
醚菊酯	Ethofenprox	33.912	107	77	15
氟氰戊菊酯 2	Flucythrinate II	34.187	156.9*	107.1	10
氟氰戊菊酯 2	Flucythrinate II	34.187	198.9	157.0	10
氟氰戊菊酯 2	Flucythrinate II	34.187	198.9	107.0	25
氟氰戊菊酯 2	Flucythrinate II	34.187	156.9	77.0	35
氟硅菊酯	Silafluofen	34.220	179.2*	151.1	10
氟硅菊酯	Silafluofen	34.220	286	258.1	10

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量(V)
氟硅菊酯	Silafluofen	34.220	179.2	91.1	20
氟硅菊酯	Silafluofen	34.220	151.1	91.1	10
氰戊菊酯 1	Fenvalerate I	35.099	167*	125.1	5
氰戊菊酯 1	Fenvalerate I	35.099	208.9	141.1	15
氰戊菊酯 1	Fenvalerate I	35.099	181	152.1	20
氰戊菊酯 1	Fenvalerate I	35.099	224.9	119	15
氰戊菊酯 2	Fenvalerate II	35.506	167*	125.1	5
氰戊菊酯 2	Fenvalerate II	35.506	208.9	141.1	15
氰戊菊酯 2	Fenvalerate II	35.506	181	152.1	25
氰戊菊酯 2	Fenvalerate II	35.506	224.9	119.0	15
氟胺氰菊酯 1	Fluvalinate-tau I	35.514	250*	55	40
氟胺氰菊酯 1	Fluvalinate-tau I	35.514	181	152	40
氟胺氰菊酯 1	Fluvalinate-tau I	35.514	250	200	40
氟胺氰菊酯 1	Fluvalinate-tau I	35.514	252.1	55	40
氟胺氰菊酯 2	Fluvalinate-tau II	35.644	250*	55	40
氟胺氰菊酯 2	Fluvalinate-tau II	35.644	181	152	40
氟胺氰菊酯 2	Fluvalinate-tau II	35.644	250	200	40
氟胺氰菊酯 2	Fluvalinate-tau II	35.644	252.1	55	40
溴氰菊酯 1	Deltamethrin I	36.509	252.9*	93	15
溴氰菊酯 1	Deltamethrin I	36.509	181	152.1	25
溴氰菊酯 1	Deltamethrin I	36.509	250.7	172	5
溴氰菊酯 1	Deltamethrin I	36.509	252.9	174	5
溴氰菊酯 2	Deltamethrin II	36.604	252.9*	93	15
溴氰菊酯 2	Deltamethrin II	36.604	181	152.1	25
溴氰菊酯 2	Deltamethrin II	36.604	250.7	172	5
溴氰菊酯 2	Deltamethrin II	36.604	252.9	174	5

附录 B 浓度为 100 ng/mL 的纯标 TIC 图谱

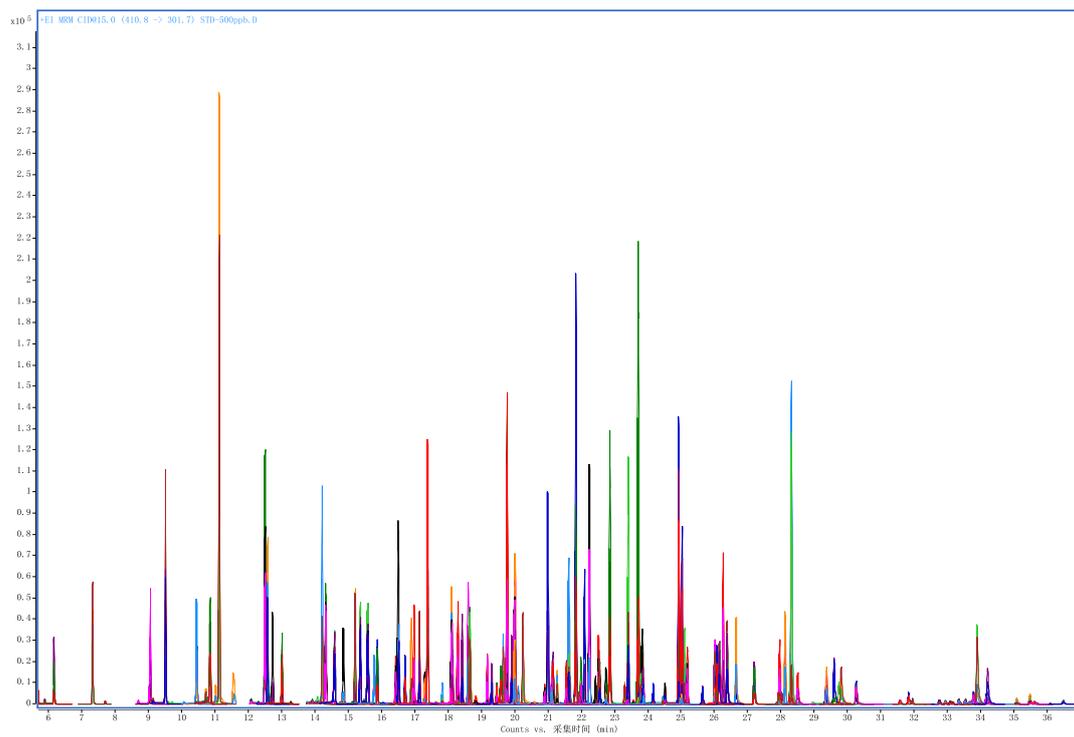


图 1, 100 ng/mL 的纯标 TIC 图

## 二、植物源性样品中 79 种农药残留量的测定标准操作程序 液相色谱-质谱联用法

### 1 适用范围

本程序规定了植物源性样品(蔬菜、水果和菌菇)中 79 种农药(参见附录 A)残留量的气相色谱-质谱联用测定方法。

本程序适用于植物源性样品(蔬菜、水果和菌菇)中 79 种农药残留的测定,当称样量为 10 g,定容体积 10 mL 时,其检出限为 0.003 mg/kg,定量限为 0.01 mg/kg。

### 2 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。

### 3 试剂与材料

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

#### 3.1 试剂

3.1.1 乙腈: 色谱纯。

3.1.2 甲醇: 色谱纯。

3.1.3 甲酸: 色谱纯。

3.1.4 甲酸铵: 色谱纯。

3.1.4 硫酸镁: 分析纯。

3.1.5 氯化钠: 分析纯。

3.1.6 柠檬酸钠: 分析纯。

3.1.7 柠檬酸氢二钠: 分析纯。

#### 3.2 材料

3.2.1 乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶 (PSA): 40~60  $\mu\text{m}$ 。

3.2.2 石墨化炭黑 (GCB): 40~120  $\mu\text{m}$ 。

3.2.3 陶瓷均质子: 2 cm (长)  $\times$  1 cm (外径)。

3.2.4 微孔滤膜 (有机相): 13 mm  $\times$  0.22  $\mu\text{m}$ 。

#### 3.3 溶液配制

3.3.1 0.1%甲酸+5 mmol 甲酸铵+水: 甲醇 (98:2) 溶液: 量取 979 mL 去离子水,

加入 1 mL 甲酸，加入 0.315 g 甲酸铵，超声溶解。再加入 20 mL 甲醇，超声混匀，过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜备用。

3.3.2.0.1%甲酸+5 mmol 甲酸铵+甲醇：水（98:2）溶液：量取 19 mL 去离子水，加入 1 mL 甲酸，加入 0.315 g 甲酸铵，超声溶解。在 980 mL 甲醇中加入上述液体，超声混匀，过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜备用。

### 3.4 标准品：

#### 3.4.1 农药标准储备液：

标准储备溶液(1000 mg/L)：准确称取 10 mg(精确至 0.1 mg) 各农药标准品，用乙腈溶解并定容至 10 mL，得到浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备溶液。避光-18 $^{\circ}\text{C}$  保存，有效期半年。或购买有证标准储备溶液各农药标准品混合储备液，有效期参考证书。

#### 3.4.2 农药标准中间液：

使用 1.0 mL 分度吸管各移取 1.0 mL 的各储备液于 10 mL 的容量瓶中，用乙腈稀释至刻度，摇匀，配成 100.0 ng/ $\mu\text{L}$  的溶液 1，临用时配置。

使用 1.0 mL 分度吸管移取 1.0 mL 的溶液 1 于 10 mL 的容量瓶中，用乙腈稀释至刻度，摇匀，配成 10.0 ng/ $\mu\text{L}$  的溶液 2，临用时配置。

使用 1.0 mL 分度吸管移取 1.0 mL 的溶液 2 于 10 mL 的容量瓶中，用乙腈稀释至刻度，摇匀，配成 1.0 ng/ $\mu\text{L}$  的溶液 3，临用时配置。

#### 3.4.3 基质混合标准工作溶液：

基质空白溶液是按 5.2 进行前处理后，待用。按表 1 配置标准曲线：

表 1 标准曲线配制表

标准号	S1	S2	S3	S4	S5	S6
浓度, $\mu\text{g/L}$	5	10	20	50	100	200
溶液 3 (1.0 ng/ $\mu\text{L}$ ), $\mu\text{L}$	5	10	20	50	/	/
溶液 2 (10 ng/ $\mu\text{L}$ ), $\mu\text{L}$	/	/	/	/	10	20
乙腈, $\mu\text{L}$	45	40	30	0	40	30
基质空白溶液, $\mu\text{L}$	950	950	950	950	950	950

## 4 仪器和设备

4.1 液相色谱-三重四极杆质谱联用仪：配有电喷雾离子源（ESI）。

4.2 分析天平：感量 0.1 mg。

4.3 天平：感量 0.01 g。

4.4 离心机：转速不低于 4200 r/min。

4.5 组织捣碎机。

4.6 涡旋混合器。

4.7 气密性进样针：10  $\mu$ L、25  $\mu$ L、50  $\mu$ L、100  $\mu$ L、500  $\mu$ L、1000  $\mu$ L。

## 5 分析步骤

### 5.1 样品的制备及保存：

蔬菜和水果的取样量按照相关标准的规定执行，食用菌样品随机取样 1 kg。样品取样部位按照手册中样品制备的规定执行。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，用四分法取样或直接放入组织捣碎机中捣碎成匀浆，放入聚乙烯瓶中。将样品保存置于-18℃冷冻保存。

### 5.2 水果蔬菜及鲜食用菌样品的前处理：

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 乙腈振荡 1 min，然后加入 4 g 硫酸镁、1 g 氯化钠、1 g 柠檬酸钠、0.5 g 柠檬酸氢二钠及 1 颗陶瓷均质子，盖上离心管盖，剧烈震荡 1 min 后 4200 r/min 离心 5 min。吸取一定量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），涡旋混匀 1 min。4200 r/min 离心 5 min，吸取上清液 0.5 mL 加入 0.5 mL 去离子水，混匀后过 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜，用于测定。

### 5.3 测定条件：

#### 5.3.1 液相色谱条件

a) 色谱柱：Thermo Fisher<sup>TM</sup> Accucore aQ (150 mm $\times$ 2.1 mm: 2.6  $\mu$ m) 或等同 C18 色谱柱。

b) 流动相：A 相为水：甲醇=98 : 2（含 5 mmol 甲酸铵和 0.1%甲酸），B 相为甲醇：水=98 : 2（含 5 mmol 甲酸铵和 0.1%甲酸）。流动相梯度条件见表 1；

c) 流速：0.4 mL/min

- d) 柱温：35℃  
e) 进样量：2 μL；

表 1 流动相及其梯度条件 (V<sub>A</sub>+V<sub>B</sub>)

时间 min	流动相 V <sub>A</sub>	流动相 V <sub>B</sub>
0	100	0
4	80	20
5.5	60	40
10.5	0	100
12.9	0	100
15	100	0
20	100	0

### 5.3.2 质谱条件

- a) 离子源：ESI (+/-)  
b) 毛细管正电压 4000 V；  
c) 鞘气温度 400℃；鞘气流速 12 L/min；  
d) 干燥气温度：180℃；干燥气流速：16 L/min；  
e) 雾化器压力：35 psi  
f) 多反应监测：每种农药分别选择一对定量离子，一对定性离子。每组所有需要检测离子对按照出峰顺序，分时段分别检测。每种农药的保留时间、定量离子对、定性离子对和碰撞电压，参见附录 A。

## 5.4 样品测定

### 5.4.1 定量测定

取待测样品溶液和相应的标准溶液等体积进样测定，按外标法以标准曲线对样品进行定量。标准溶液及待测样品溶液中各农药的响应值均应在仪器检测的线性范围之内。

### 5.4.2 定性测定

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，目标化合物的质谱定量和定性离子均出现，而且同一检测批次，对同一化合物，样品中目标化合物的定性离子和定量离子的相对丰度比与质量浓度相当的基质标准溶液相比，其允许偏差不得超过表 2 规定的范围，则可判断样品中存在目标农药。

表 2 定性测定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%

## 6 计算

### 6.1 空白试验

除不加样品外，采用完全相同的测定步骤进行操作。

### 6.2 定量分析

结果按式（1）计算试样中各农药的残留量，计算结果需扣除空白值。

计算公式：

$$C = \frac{c \times v \times K \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

- C — 试样中农药的含量，mg/kg；
- c — 待测样中化合物的浓度，ng/mL；
- K — 稀释倍数；
- v — 检测溶液体积，mL；
- m — 样品质量，g。

计算结果应扣除空白值，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，保留三位有效数字。

啶虫脒、烯酰吗啉、氟啶虫胺胍和速灭磷定量结果根据 2 个峰面积之和计算标准曲线斜率及截距，再计算样品中的浓度。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15%。

## 8 说明

### 8.1 不同仪器的适用性说明

不同仪器公司生产的不同型号的 LC-MS/MS 对农药的响应存在一定差异，验证工作时采用了 Agilent 6490 LC-MS/MS 液相色谱-三重四级杆质谱联用仪，如果使用其他品牌的设备，需对碰撞能量进行优化，如：岛津的 Q1 Pre/Q3 Pre、AB 的 DP 电压、Waters 的 Cone 电压等。在选用等效的色谱柱时，氟啶虫胺胍可能会有不能完全分离的情况。

### 8.2 关键试剂、标准品及耗材的原则性要求

本方法对于所用试剂的纯度有着严格的要求，实验所用的水、试剂必须保证

不含或少含待测物质，以测定的试剂空白越低越好为原则，最好使用色谱纯及以上试剂。空白值不得高于最低检测限的 1/2，用于样品含量计算的校准，若空白值高于最低检测限的 1/2，需找出原因后再进行该批样品的分析。标准品建议购买经国家或权威机构认证并授予证书的标准物质，具有可溯源性。

### 8.3 实验前需要注意的关键点

根据仪器的实际使用频率和仪器的干净程度，可在使用前需对设备进行维护，如：清洗维护雾化器组件、清洗电喷雾雾化室、调整电喷雾雾化器针位置、清洗离子源等。

在实验过程中涉及到农药危险品和化学试剂，实验操作中要相关的职业规范，另外本方法需要使用离心机，在使用的过程中要按照离心机的操作规范进行。

### 8.4 样品制备和前处理过程需要注意的关键点

样品制备和前处理过程需要始终确保所用试剂、容器、通风橱以及整个实验室环境的洁净；制备每一个样品均需要充分清洗粉组织捣碎机，避免交叉污染；QuEChERS萃取法在加入萃取盐（ $MgSO_4$ ）时，会放出热量，建议使用冷藏过夜的乙腈作为提取试剂，可以有效避免发热造成热不稳定性农药回收率的损失；加入萃取盐后需迅速振摇，防止结块造成回收率降低。

对于深色样品可以考虑用石墨化碳黑进行净化，但该净化方式会对平面结构的化合物（如：多多菌灵、抗蚜威、甲基硫菌灵、苯线磷砒、甲萘威、吗菌灵、甲硫威、烯酰吗啉、嘧霉胺、苯噻酰草胺、苯线磷、戊唑醇、oxythiocarb、苯霜灵、吡唑嘧菌酯、丙环唑、甲拌磷、咪酰胺、硫线磷、丁氟螨酯、苯醚甲环唑、四螨嗪、联苯肼酯、嘧啶磷、噁草酮、炔螨特、乙螨唑、除虫菊素、二甲戊灵、螺螨酯、阿维菌素、哒螨灵）有较强的吸附作用，使用时需做好质量评估，确保其回收率在规定的范围内。

在使用QuEChERS萃取法时，一般要求样品中水的含量和有机试剂（乙腈）的比例达到约1:1，对于部分含水量不到90%的基质需要增加去离子水，如：黑木耳含水量约30%，在萃取时需加入6 mL去离子水。

### 8.5 仪器检测过程中需要注意的关键点

上机分析过程依次为空白溶剂、标准序列、样品、设备稳定性检测，在每测定12h，需插入标准序列的中间浓度点，要求中间浓度点色谱峰的峰面积的差异小于20%，全过程的空白试剂各色谱峰必须低于标准序列最低点。设备稳定性检

测方法同上，前后运行过程中各色谱峰的峰面积的差异小于15%。

每批次样品测试过程中均要求进行空白样品添加回收试验或质控样品进行质量控制，其回收率要在70-130%，或准确度在规定的范围之内。

附录A中的定量离子对是在纯标下响应最强的离子对，在实际测试过程中，不同的基质可能会造成离子干扰，如有干扰可以选择无干扰的离子对作为定量离子。

## 9 附录

9.1 附录 A 79 种农药的保留时间、定量离子对、定性离子对

9.2 附录 B 浓度为 100 ng/mL 纯标 TIC 图

## 附录 A

## 79 种农药化合物的保留时间、定量离子对、定性离子对和碰撞能量

注：“\*”为定量离子

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量 (V)	极性
甲胺磷	Methamidophos	2.745	142	125	10	Positive
甲胺磷	Methamidophos	2.745	142	94*	15	Positive
乙酰甲胺磷	Acephate	3.410	184	143*	5	Positive
乙酰甲胺磷	Acephate	3.410	184	125	17	Positive
氧乐果	Omethoate	4.261	214	182.9	5	Positive
氧乐果	Omethoate	4.261	214	124.9*	17	Positive
灭蝇胺	Cyromazine	4.343	167	125	20	Positive
灭蝇胺	Cyromazine	4.343	167	85*	25	Positive
呋虫胺	Dinotefuran	4.645	203.1	157	2	Positive
呋虫胺	Dinotefuran	4.645	203.1	129*	6	Positive
涕灭威砒	Aldicarb sulfone	4.805	223	148	1	Positive
涕灭威砒	Aldicarb sulfone	4.805	223	76*	1	Positive
涕灭威亚砒	Aldicarb sulfoxide	4.846	207	132.1*	1	Positive
涕灭威亚砒	Aldicarb sulfoxide	4.846	207	89.1	9	Positive
烯啶虫胺	Nitenpyram	5.423	271.1	225.1*	5	Positive
烯啶虫胺	Nitenpyram	5.423	271.1	126	29	Positive
灭多威	Methomyl	5.501	163.1	106.1	5	Positive
灭多威	Methomyl	5.501	163.1	88.1*	5	Positive
甲基砒内吸磷	Demeton-S-methyl sulfone	5.695	263	169	9	Positive
甲基砒内吸磷	Demeton-S-methyl sulfone	5.695	263	109*	25	Positive
噻虫嗪	Thiamethoxam	5.975	292	211.1*	5	Positive
噻虫嗪	Thiamethoxam	5.975	292	181.1	21	Positive
久效磷	Monocrotophos	6.083	224.1	127*	20	Positive
久效磷	Monocrotophos	6.083	224.1	98.1	20	Positive
噻虫胺	Clothianidin	6.508	250	169.1*	9	Positive
噻虫胺	Clothianidin	6.508	250	132	9	Positive
安果	Formotion	6.518	258	211*	15	Positive
安果	Formotion	6.518	258	175	15	Positive
环氧虫啉	Cycloxaprid	6.556	323.2	277	10	Positive
环氧虫啉	Cycloxaprid	6.556	323.2	126*	40	Positive
3-羟基克百威	3-Hydroxycarbofuran	6.584	238	181*	5	Positive
3-羟基克百威	3-Hydroxycarbofuran	6.584	238	163	10	Positive
速灭磷 1	Mevinphos 1	6.600	225	193	2	Positive

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量 (V)	极性
速灭磷 1	Mevinphos 1	6.600	225	127*	15	Positive
吡虫啉	Imidacloprid	6.651	256.1	209.1	9	Positive
吡虫啉	Imidacloprid	6.651	256.1	175.1*	17	Positive
乐果	Dimethoate	6.701	230	199	2	Positive
乐果	Dimethoate	6.701	230	125*	17	Positive
蚜灭磷	Vamidothion	6.741	288	146*	5	Positive
蚜灭磷	Vamidothion	6.741	288	118	21	Positive
多菌灵	Carbendazim	6.794	192.1	160.1*	17	Positive
多菌灵	Carbendazim	6.794	192.1	132.1	33	Positive
氟啶虫胺脒	Sulfoxaflor	6.825	278	173.9*	10	Positive
氟啶虫胺脒	Sulfoxaflor	6.825	278	153.9	30	Positive
氟吡呋喃酮	Flupyradifurone	6.842	289.1	126.1*	20	Positive
氟吡呋喃酮	Flupyradifurone	6.842	289.1	90	40	Positive
氯噻啉	Imidaclothiz	6.871	262	181*	15	Positive
氯噻啉	Imidaclothiz	6.871	262	122.1	30	Positive
啶虫脒	Acetamiprid	7.102	223.1	126*	17	Positive
啶虫脒	Acetamiprid	7.102	223.1	56.2	13	Positive
速灭磷 2	Mevinphos 2	7.122	225	193	2	Positive
速灭磷 2	Mevinphos 2	7.122	225	127*	15	Positive
涕灭威	Aldicarb	7.378	208.1	116.2*	1	Positive
涕灭威	Aldicarb	7.378	208.1	89.1	9	Positive
噻虫啉	Thiacloprid	7.449	253	126*	17	Positive
噻虫啉	Thiacloprid	7.449	253	90.1	45	Positive
派虫啉	IPP 1	7.576	367.2	263.1	15	Positive
派虫啉	IPP 1	7.576	367.2	137.1*	25	Positive
速灭威	Metolcarb	7.702	166	109.1*	5	Positive
速灭威	Metolcarb	7.702	166	94.1	33	Positive
甲基硫菌灵	Thiophanate-methyl	7.871	343.1	151*	17	Positive
甲基硫菌灵	Thiophanate-methyl	7.871	343.1	117.9	65	Positive
残杀威	Propoxur	7.885	210.1	111.1*	9	Positive
残杀威	Propoxur	7.885	210.1	93.1	21	Positive
克百威	Carbofuran	7.974	222.1	165.1	5	Positive
克百威	Carbofuran	7.974	222.1	123.1*	17	Positive
甲基内吸磷	Demeton-S-methyl	8.021	253	89*	10	Positive
甲基内吸磷	Demeton-S-methyl	8.021	253	61	35	Positive
苯线磷砒	Fenamiphos sulfone	8.168	336	266*	20	Positive
苯线磷砒	Fenamiphos sulfone	8.168	336	188	30	Positive
苯线磷亚砒	Fenamiphos sulfoxide	8.175	320.1	233	17	Positive
苯线磷亚砒	Fenamiphos sulfoxide	8.175	320.1	108.1*	45	Positive
派虫啉	IPP 2	8.219	367.2	263.1	15	Positive
派虫啉	IPP 2	8.219	367.2	137.1*	25	Positive

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量 (V)	极性
抗蚜威	Pirimicarb	8.291	239.1	182.1	9	Positive
抗蚜威	Pirimicarb	8.291	239.1	72.1*	17	Positive
甲萘威	Carbaryl	8.351	202.1	145.1*	5	Positive
甲萘威	Carbaryl	8.351	202.1	127.1	29	Positive
灭除威	XMC	8.422	180.1	123.1*	5	Positive
灭除威	XMC	8.422	180.1	95	21	Positive
异丙威	Isoprocarb	8.476	194.1	137.1	5	Positive
异丙威	Isoprocarb	8.476	194.1	95.1*	9	Positive
甲拌磷砒	Phorate sulfone	8.492	293	171*	5	Positive
甲拌磷砒	Phorate sulfone	8.492	293	143	15	Positive
苯胺灵	Propham	8.506	180	138*	5	Positive
苯胺灵	Propham	8.506	180	120	15	Positive
甲拌磷亚砒	Phorate sulfoxide	8.533	277	199	15	Positive
甲拌磷亚砒	Phorate sulfoxide	8.533	277	143*	5	Positive
莠去津	Atrazine	8.681	216	174*	15	Positive
莠去津	Atrazine	8.681	216	132	20	Positive
甲霜灵	Metalaxyl	8.695	280	220*	10	Positive
甲霜灵	Metalaxyl	8.695	280	192	15	Positive
吗菌灵	Dodemorph	8.697	282	116	20	Positive
吗菌灵	Dodemorph	8.697	282	98*	30	Positive
避蚊胺	DEET	8.760	192.3	91.5	31	Positive
避蚊胺	DEET	8.760	192.3	65.1*	47	Positive
埃卡瑞丁	Picaridin	8.922	230	130*	15	Positive
埃卡瑞丁	Picaridin	8.922	230	95	35	Positive
甲基谷硫磷	Azinphos methyl	8.973	318	160*	5	Positive
甲基谷硫磷	Azinphos methyl	8.973	318	132	10	Positive
内吸磷	Demeton-S	9.001	259	61	35	Positive
内吸磷	Demeton-S	9.001	259	89*	10	Positive
异噁草酮	Clomazone	9.084	240	125.1*	17	Positive
异噁草酮	Clomazone	9.084	240	89.1	53	Positive
甲硫威	Methiocarb	9.226	226.1	169.1	1	Positive
甲硫威	Methiocarb	9.226	226.1	121.1*	13	Positive
烯酰吗啉	Dimethomorph 1	9.273	388.1	301.1*	17	Positive
烯酰吗啉	Dimethomorph 1	9.273	388.1	165.1	33	Positive
三唑酮	Triadimefon	9.359	294	197	9	Positive
三唑酮	Triadimefon	9.359	294	69*	17	Positive
烯酰吗啉	Dimethomorph 2	9.415	388.1	301.1*	17	Positive
烯酰吗啉	Dimethomorph 2	9.415	388.1	165.1	33	Positive
腈菌唑	Myclobutanil	9.442	289.1	125.1	33	Positive
腈菌唑	Myclobutanil	9.442	289.1	70.1*	17	Positive
联苯肼酯	Bifenazate	9.451	301	170	20	Positive

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量 (V)	极性
联苯肼酯	Bifenazate	9.451	301	198*	5	Positive
嘧霉胺	Pyrimethanil	9.52	200.1	183	25	Positive
嘧霉胺	Pyrimethanil	9.52	200.1	107*	25	Positive
苯噻酰草胺	Mefenacet	9.588	299	148.1*	9	Positive
苯噻酰草胺	Mefenacet	9.588	299	120.1	25	Positive
苯线磷	Fenamiphos	9.751	304.1	217.1*	21	Positive
苯线磷	Fenamiphos	9.751	304.1	202.1	37	Positive
苯氧威	Fenoxycarb	9.765	302	116.2	5	Positive
苯氧威	Fenoxycarb	9.765	302	88.2*	20	Positive
戊唑醇	Tebuconazole	9.924	308.2	125	37	Positive
戊唑醇	Tebuconazole	9.924	308.2	70.1*	21	Positive
苯霜灵	Benalaxyl	9.954	326	294	5	Positive
苯霜灵	Benalaxyl	9.954	326	148*	10	Positive
吡唑醚菌酯	Pyraclostrobin	10.064	388	194.1	5	Positive
吡唑醚菌酯	Pyraclostrobin	10.064	388	163.1*	17	Positive
丙环唑	Propiconazole	10.097	342	159	20	Positive
丙环唑	Propiconazole	10.097	342	69*	20	Positive
甲拌磷	Phorate	10.124	261.1	199	3	Positive
甲拌磷	Phorate	10.124	261.1	75.1*	5	Positive
咪酰胺	Prochloraz	10.213	376	308*	10	Positive
咪酰胺	Prochloraz	10.213	376	266	10	Positive
硫线磷	Cadusafos	10.236	271	159*	10	Positive
硫线磷	Cadusafos	10.236	271	131	20	Positive
丁氟螨酯	Cyflumetofen	10.308	448	173.1*	25	Positive
丁氟螨酯	Cyflumetofen	10.308	448	249.2	2	Positive
苯醚甲环唑	Difenoconazole	10.312	406	251.1*	25	Positive
苯醚甲环唑	Difenoconazole	10.312	406	111.1	69	Positive
螺螨酯	Spirodiclofen	10.375	411	313	5	Positive
螺螨酯	Spirodiclofen	10.375	411	71.1*	15	Positive
四螨嗪	Clofentezine	10.403	303	138.1*	9	Positive
四螨嗪	Clofentezine	10.403	303	102.1	20	Positive
氟啶胺	Fluazinam	10.478	462.9	415.9*	13	Negative
氟啶胺	Fluazinam	10.478	462.9	397.9	13	Negative
噁草酮	Oxadiazon	10.529	345.1	303	5	Positive
噁草酮	Oxadiazon	10.529	345.1	220*	17	Positive
啉啶磷	Pirimiphos-ethyl	10.533	334	198*	20	Positive
啉啶磷	Pirimiphos-ethyl	10.533	334	182	25	Positive
炔螨特	Propargite	10.748	368	231.1*	1	Positive
炔螨特	Propargite	10.748	368	175.1	9	Positive
除虫菊素	Pyrethrin	10.801	329.2	161.1*	9	Positive
除虫菊素	Pyrethrin	10.801	329.2	105.1	41	Positive

中文名称	英文名称	保留时间	母离子	子离子	碰撞能量 (V)	极性
二甲戊灵	Pendimethalin	10.820	282	212*	5	Positive
二甲戊灵	Pendimethalin	10.820	282	194	15	Positive
乙螨唑	Etoxazole	10.830	360	141.1*	33	Positive
乙螨唑	Etoxazole	10.830	360	304.3	17	Positive
阿维菌素	Abamectin	10.978	895.5	751.3*	45	Positive
阿维菌素	Abamectin	10.978	895.5	449.2	50	Positive
吡螨灵	Pyridaben	11.082	365	309	10	Positive
吡螨灵	Pyridaben	11.082	365	147*	20	Positive

附录 B

浓度为 100 ng/mL 的纯标 TIC 图谱

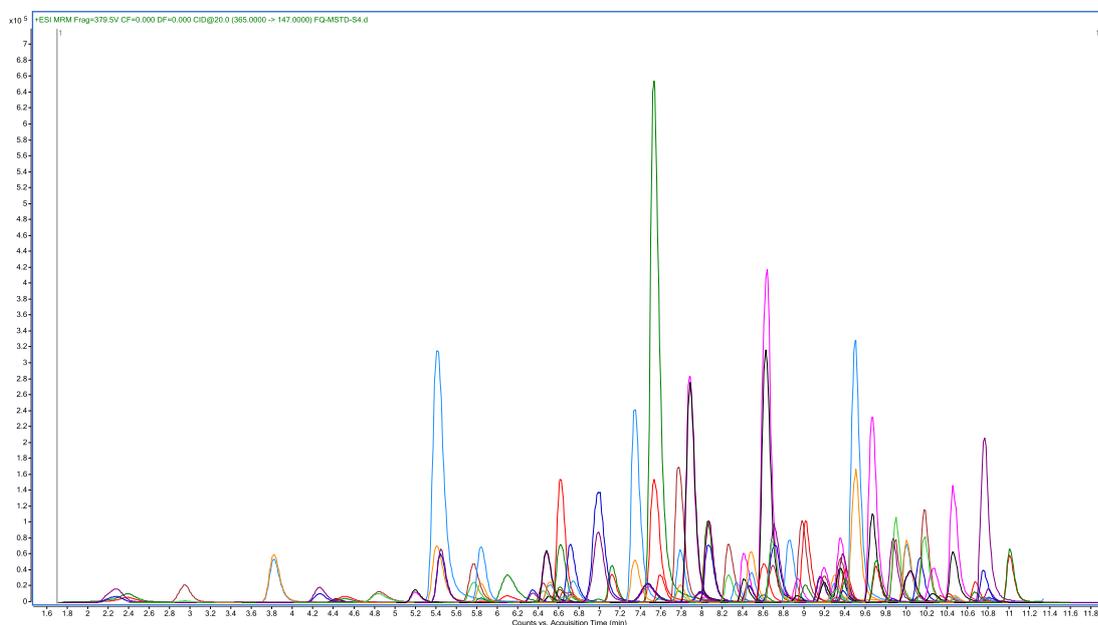


图 1 纯标加标 TIC 图谱

## 第五节 兽药及违禁药物

序号	手册提供的方法	起草人
1	动物源性食品中 $\beta$ -受体激动剂残留测定的标准操作程序 GC/MS 法	吴平谷
2	动物性食品中 $\beta$ -受体激动剂残留检测标准操作程序 LC/MS/MS 法	吴平谷、范赛
3	动物源性食品中阿奇霉素测定的标准操作程序	邵兵、张晶
4	动物源性食品中氟苯尼考和氟苯尼考胺测定的标准操作程序	邵兵、张晶
5	动物源性食品中四环素类药物残留量测定的标准操作程序	邵兵
6	动物源性食品中喹诺酮类药物残留测定的标准操作程序	邵兵、张晶、杨奕
7	禽肉和禽蛋中硝基咪唑类药物残留的测定 液相色谱-质谱/质谱法	邵兵、张晶、孟娟、范赛、高洁
8	水产品中渔用麻醉剂测定的标准操作程序	刘平, 王莉莉, 张楠, 李丽萍, 范赛, 赵榕
9	淡水鱼中地西洋和奥沙西洋残留量测定的标准操作程序 液相色谱-串联质谱法	龙朝阳、方磊
10	禽肉和禽蛋中抗球虫药物残留测定的标准操作程序 液相色谱-串联质谱法	徐小民、宋书锋、张晶、范赛

## 一、动物源性食品中 $\beta$ -受体激动剂残留测定的标准操作程序 GC/MS 法

### 1 适用范围

本程序适用于动物源性食品中 10 种  $\beta$ -受体激动剂残留的气相色谱—质谱联用法测定。

当试样取 5.0 g 时, 本方法 10 种  $\beta$ -受体激动剂的检出限为 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限为 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ~2.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 2 原理

本方法采用  $\beta$ -葡萄糖苷酸酶/芳基硫酸酯酶解动物源性食品, 然后通过固相萃取柱净化, 用双三甲基硅基三氟乙酰胺 (BSTFA) +1% ( $\phi$ ) 三甲基氯硅烷 (TMCS) 衍生后采用 GC/MS 测定动物源性食品中 10 种  $\beta$ -受体激动剂残留, 同位素内标法定量。

### 3 试剂

除非另有说明, 所有试剂均为分析纯。

3.1 甲醇 (色谱纯);

3.2 盐酸;

3.3 正己烷;

3.4 乙酸乙酯 (色谱纯);

3.5 氨水;

3.6 无水硫酸钠, 于 450 $^{\circ}\text{C}$  灼烧 4h, 冷却后贮于干燥器中备用。

3.7 特布他林、克伦特罗、沙丁胺醇、马布特罗、西马特罗、班布特罗、克仑潘特、苯氧丙酚胺、卡布特罗; 莱克多巴胺标准品。

3.8  $\text{D}_9$ -克伦特罗、 $\text{D}_3$ -沙丁胺醇、 $\text{D}_5$ -莱克多巴胺内标。

3.9  $\beta$ -葡萄糖苷酸酶/芳基硫酸酯酶购自 Sigma;

3.10 双三甲基硅基三氟乙酰胺 (BSTFA) +1% ( $\phi$ ) 三甲基氯硅烷 (TMCS)。

3.11  $\beta$ -受体激动剂标准储备溶液: 分别称取各种受体激动剂标准品 10 mg 于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 存放在 -18 $^{\circ}\text{C}$  冰箱中备用; 受体激动剂混合标准使用液用甲醇稀释至 0.1 mg/L。

3.12  $\text{D}_9$ -克伦特罗、 $\text{D}_3$ -沙丁胺醇、 $\text{D}_5$ -莱克多巴胺 (1.0 mg/L) 受体激动剂内标混合液:

使用时用甲醇稀释储备液至 1.0 mg/L 混合液。

## 4 仪器与耗材

- 4.1 气相色谱质谱仪。
- 4.2 漩涡混匀器。
- 4.3 氮吹仪。
- 4.4 具塞刻度试管:10 mL。
- 4.5 固相萃取仪。
- 4.6 离心机:最低转速 8000 r/min
- 4.7 SLW 固相萃取柱:规格为 500 mg/6 ml (杭州福裕科技服务有限公司)。

## 5 操作步骤

### 5.1 样品采集、制备、保存

动物组织(包括肌肉、肝脏、肾脏、肺等)采集 200-500 g 或熟肉制品(牛肝、羊肝、牛肉、羊肉、驴肉),用组织捣碎机绞碎,四分法取 50-100 g,放在具塞玻璃瓶或者食品袋中,贴上标签后,放在-18℃冰箱冻藏。

### 5.2 样品酶解

称取经绞碎均匀 5.00 g(熟肉制品称 2.5 g)样品于 50 mL 离心管中,加 50  $\mu$ L 1.0 mg/L 受体激动剂内标混合液,静置 10 min,加入 15 mL 0.2 mol/L pH5.2 乙酸钠-醋酸缓冲液,用匀质机匀质 20s,加入 50  $\mu$ L  $\beta$ -葡萄糖醛苷酶 / 芳基硫酸酯酶液,在 37℃ 水浴中水解 16 h 后取出冷却,8000 r/min 离心 10 min,分出上层溶液,(注意如果液面有脂肪析出,可以用棉花过滤)用 2.0 mol/L 盐酸溶液调节至  $2.0 \pm 0.1$  (pH 测定仪),再在 8000 r/min 离心 10 min,分出上清液待用。

### 5.3 样品净化

取 SLW(或者 SLS)固相萃取柱,先用甲醇 5 mL、水 5 mL、50 mmol/L 盐酸 5 mL 活化柱子,然后将 10 mL 上清液加到柱子上过柱,再用 5 mL 水淋洗除杂,真空泵抽干 5 min,先用 5 mL 甲醇洗脱,然后用 10 mL 5% 氨化乙酸乙酯洗脱收集,在 50℃ 水浴中氮气吹干。

### 5.4 样品衍生

蒸发剩余物加 0.1 mL 双三甲基硅基三氟乙酰胺 (BSTFA) +1% ( $\phi$ ) 三甲基氯硅烷

(TMCS), 在 80℃ 的烘箱中加热衍生 1.0 h, 氮气吹干, 加 0.2 mL 甲苯溶解; 另外分别取标准溶液, 加 50 μL 内标使用液, 氮气吹干后与样品同时进行衍生化。取 1.0 μL 甲苯溶液进行 GC-MS 分析。

## 5.5 样品分析

### 5.5.1 色谱质谱参考条件

- a) HP-5 MS 5%苯基甲基聚硅氧烷弹性石英毛细管柱 (30 m×0.25 mm×0.25 μm) 或等同柱;
- b) 进样口温度: 280℃;
- c) 柱温: 初温 100℃, 保持 3 min, 然后以 10℃/min 升至 280℃, 保持 5 min, 300℃ 保持 5 min;
- d) 载气: 氮气, 纯度 ≥99.999%, 流速 1 mL/min;
- e) 进样量: 1-2 μL;
- f) 电离方式: EI 源, 70eV。
- g) 离子源温度: 230℃;
- h) 进样方式: 不分流进样;
- i) 溶剂延迟: 11 min。
- j) 传输线温度: 280℃

5.5.2 选择离子监测方式: 监测离子见下表1, 标准总离子流图见下图1, 样品空白离子流图见图2。

表 1 参考保留时间及监测离子

化合物	内标	保留时间	定量离子 m/z	定性离子 m/z	检测限 μg/kg	定量限 μg/kg
马布特罗	D <sub>9</sub> -克伦特罗	11.39	86	277、296、367	1.0	2.0
特布他林	D <sub>3</sub> -沙丁胺醇	13.77	356	86、426、370	0.5	1.0
D <sub>9</sub> -克伦特罗		13.78	262	95		
卡布特罗	D <sub>9</sub> -克伦特罗	13.78	325	86、282、308	1.0	2.0
克伦特罗	D <sub>9</sub> -克伦特罗	13.83	262	86、243、277	1.0	2.0
西马特罗	D <sub>9</sub> -克伦特罗	14.00	72	219、276、287	1.0	2.0
D <sub>3</sub> -沙丁胺醇		14.51	372	86、443		

沙丁胺醇	D <sub>3</sub> -沙丁胺醇	14.52	369	86、440、384	0.5	1.0
克仑潘特	D <sub>9</sub> -克伦特罗	14.82	00	262、243、277	1.0	2.0
苯氧丙酚胺	D <sub>5</sub> -莱克多巴胺	17.93	178	267、430、267	1.0	2.0
班布特罗	D <sub>5</sub> -莱克多巴胺	18.98	354	86、282、354、	1.0	2.0
D <sub>5</sub> -莱克多巴胺		20.26	255	507		
莱克多巴胺	D <sub>5</sub> -莱克多巴胺	20.26	250	179、267、502	1.0	2.0

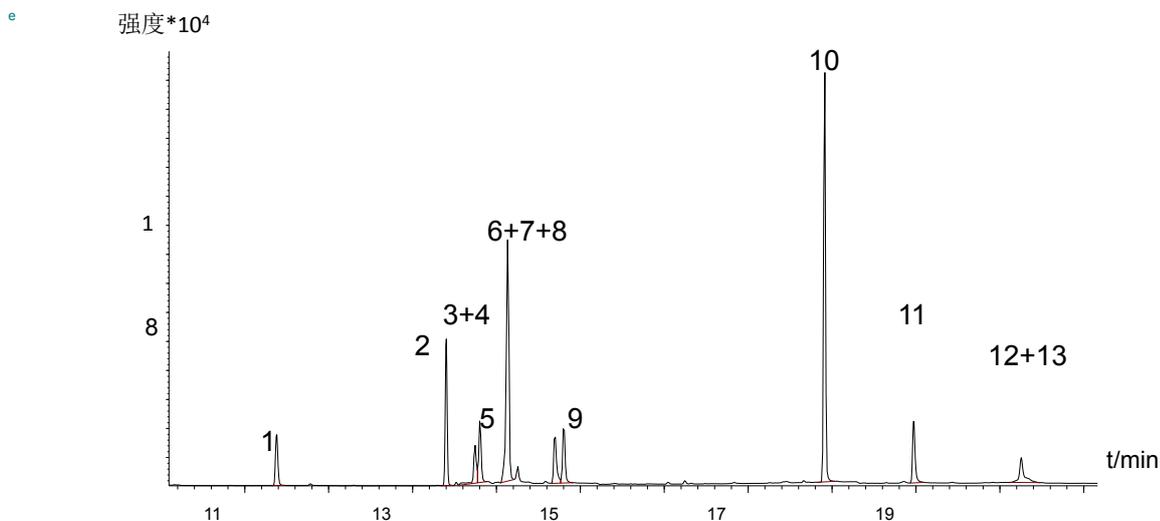


图 1 受体激动剂标准及内标总离子流图

1.马布特罗；2.特布他林；3+4 D<sub>9</sub>-克伦特罗+卡布特罗；5. 克伦特罗；6+7+8. 西马特罗+D<sub>3</sub>-沙丁胺醇+沙丁胺醇；9. 克仑潘特；10. 苯氧丙酚胺；11. 班布特罗；12+13 D<sub>5</sub>-莱克多巴胺+莱克多巴胺

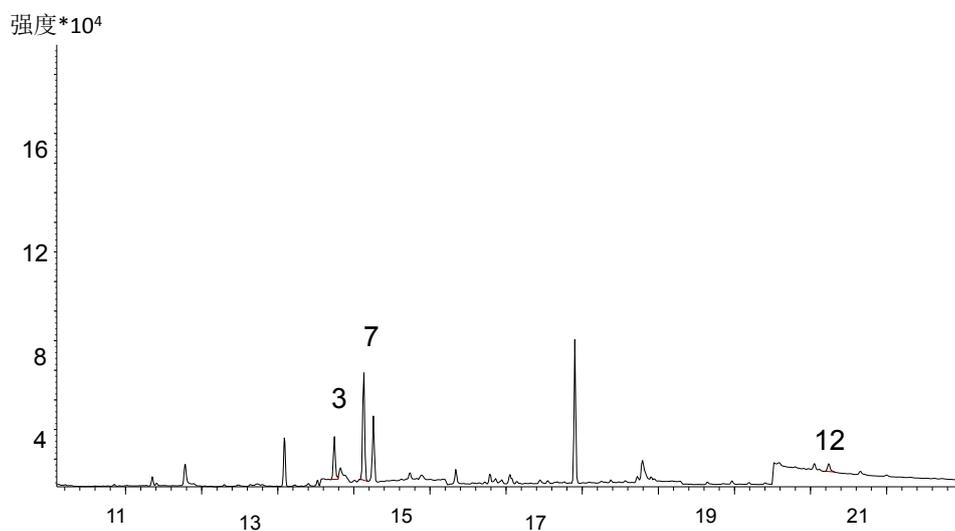


图 2 动物肌肉空白离子流图

3.D<sub>9</sub>-克伦特罗；7.D<sub>3</sub>-沙丁胺醇；12.D<sub>5</sub>-莱克多巴胺

### 5.5.3 样品测定

分别取 100, 150, 200, 250, 500 μL 混合标准使用液, 加 50 μL 内标使用液, 氮气吹干衍生后进行仪器分析, 绘制标准曲线; 然后进行样品测定, 根据标准曲线计算样品中 10 种受体激动剂含量  $n$ 。根据受体激动剂保留时间及碎片离子进行定性、定量分析。

### 5.5.4 定性

仪器检测过程中在相同实验条件下, 试样中目标化合物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较, 变化范围应在 ±2.5% 之内。每种目标化合物的质谱定性定量离子必须出现, 样品中目标化合物的定性离子与定量离子的相对丰度与浓度相当标准溶液的相对丰度一致, 相对丰度偏差不超过表 2 的规定, 则可判断试样中存在对应的被测物。

表2 定性离子相对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	±10 %	±15 %	±20 %	±50 %

## 6 计算

试样中对应 10 种受体激动剂含量按式 (1) 计算:

$$X = \frac{n}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$X$  —— 试样中对应 10 种受体激动剂含量, 单位为微克每千克 (μg/kg);

$n$  —— 试样中中色谱峰与内标色谱峰的峰面积比值对应的受体激动剂的含量, 单位为纳克 (ng);

$m$  —— 样品的取样量, 单位为克 (g);

结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

为了保证分析结果的准确, 要求每批样品至少做一个加标回收实验, 加标 5.0 μg/kg β-受体激动剂, 回收率应在 60-120% 范围之内。

## 8 说明

8.1 本方法中气相色谱质谱参考条件是在 Aglient 仪器上获得，各种类型的气相色谱质谱仪均可以参考借鉴。

8.2 动物源性食品基质复杂，特别是烹饪加工后食品，因此对净化要求比较高，目前  $\beta$ -受体激动剂净化方法主要用固相萃取净化，包括阳离子交换（如 SCX、SLW、SLS、WCX 等）、混合阳离子交换（如 MCX、PCX 等）净化。实验室应该对净化柱进行验收。

8.3 对于每批固相萃取柱应采用空白样品提取液加标或 40 mmol/L 盐酸溶液加标进行验收，标准回收率在 80%以上。SLW、SLS 相对 MCX、PCX 沙丁胺醇、特布他林绝对回收率要高。

8.4 本方法 SLW 用 5%氨化乙酸乙酯洗脱，要求现配现用，充分混匀，特别注意浓氨水容易吸水失效，直接影响洗脱效果。如果用 MCX、PCX 洗脱溶剂为 5%氨化甲醇，5%氨化乙酸乙酯相对 5%氨化甲醇洗脱物杂质较少。

8.5 市场上有双三甲基硅基三氟乙酰胺（BSTFA）+1%（ $\phi$ ）三甲基氯硅烷（TMCS）混合硅烷化衍生试剂，硅烷化衍生要求在水情况下进行，样品净化后蒸发剩余物必须吹干，如有水分影响衍生效果。

8.6 如果碰到干扰样品，也可将酶解液在碱性条件下用乙酸乙酯：异丙醇（6:4; V:V)提取后进一步净化，或者采用 LC/MS/MS 进一步确证。

## 二、动物源性食品中 $\beta$ -受体激动剂残留测定的标准操作程序 LC/MS/MS 法

### 1 适用范围

本程序适用于超高效液相色谱三重四极杆串联质谱联用仪 (UPLC-MS/MS) 对动物性食品中 16 种  $\beta$ -受体激动剂类残留的同时测定。

本程序适用于动物源性食品中 16 种  $\beta$ -受体激动剂类残留的同时测定。本方法 16 种  $\beta$ -受体激动剂类的检出限为 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限为 0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 2 原理

动物源性食品经过  $\beta$ -葡萄糖苷酸酶/芳基硫酸酯酶解, 酶解液通过固相萃取柱净化, 洗脱浓缩后用 UPLC-MS/MS 测定 16 种  $\beta$ -受体激动剂类残留, 内标法定量。

### 3 仪器设备与试剂

#### 3.1 仪器设备

3.1.1 超高效液相色谱三重四极杆串联质谱联用仪 (UPLC-MS/MS)

3.1.2 电子天平

3.1.3 氮吹仪

3.1.4 具塞试管等玻璃仪器

3.1.5 高速冷冻离心机、离心管

#### 3.2 试剂

3.2.1 浓氨水、浓盐酸、乙酸铵、乙酸钠、冰乙酸: 分析纯

3.2.2 甲醇: 色谱纯

3.2.3 乙酸乙酯: 色谱纯

3.2.4 固相萃取柱: PXC 规格为 200 mg/6 mL (阳离子交换树脂) 或等效固相萃取柱。SLS 固相萃取柱: 规格为 500 mg/6 mL (阳离子交换树脂) 或等效固相萃取柱 (杭州福裕科技服务有限公司)。

3.2.5  $\beta$ -葡萄糖苷酸酶/芳基硫酸酯酶购 MERCK 货号 1.04114.0002; 2-8 $^{\circ}\text{C}$  保存。

#### 3.3 试剂配制

3.3.1 固相萃取淋洗液配制: 吸取 0.33 mL 浓盐酸与 100 mL 纯水混合配成浓度为 40 mmol/L 的盐酸溶液作为淋洗液。

3.3.2 5%氯化乙酸乙酯：取 5 mL 浓氨水，用乙酸乙酯定容至 100 mL 混匀，现配现用。

3.3.3 0.2 mol/L pH5.2 乙酸钠-醋酸缓冲液：称取 13.6 g 乙酸钠，用 500 mL 水溶解用乙酸调节 pH5.2。

3.3.4 2.5%甲酸甲醇：取 2.5 mL 甲酸，用甲醇定容至 100 mL 混匀，现配现用。

3.3.5 0.1%氯化甲醇：取 0.1 mL 浓氨水，用甲醇定容至 100 mL 混匀，现配现用。

3.3.6 2.5%氯化甲醇：取 2.5 mL 浓氨水，用甲醇定容至 100 mL 混匀，现配现用。

3.3.7 流动相 0.1%甲酸水溶液：取 1.0 mL 甲酸，用水定容至 1000 mL 混匀，过膜后待用；

0.1%甲酸甲醇溶液：取 1.0 mL 甲酸，用甲醇定容至 1000 mL 混匀，过膜后待用。

#### 3.4 标准品

3.4.1 克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、特布他林、马布特罗、妥布特罗、氯丙那林、西布特罗、溴布特罗、喷布特罗、克伦普罗、西马特罗、非诺特罗、齐帕特罗、班布特罗、苯乙醇胺 A 标准品：纯度大于 98.0%

3.4.2 D<sub>9</sub>-克仑特罗、D<sub>3</sub>-沙丁胺醇、D<sub>6</sub>-莱克多巴胺纯度大于 99.0%。

#### 3.5 标准溶液配制

3.5.1 1.0 mg/mL β-受体激动剂标准储备溶液：分别称取各种 β-受体激动剂标准品 10 mg（精确到 0.1 mg）于 10 mL 容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，存放在-18℃冰箱中备用。

3.5.2 10.0 μg/mL β-受体激动剂混合标准贮备液：取 1.0 mg/mL 各种 β-受体激动剂贮备液 1.0 mL，用甲醇定容至 100 mL，得到 10.0 μg/mL β-受体激动剂混合应用液，-18℃保存 6 个月。

3.5.3 100 μg/L β-受体激动剂混合标准应用液：取 10.0 μg/mL β-受体激动剂混合标准贮备液 1.0 mL，用甲醇定容至 100 mL，得到 100 μg/L β-受体激动剂混合标准应用液，4℃保存 1 个月。

3.5.4 D<sub>9</sub>-克仑特罗、D<sub>3</sub>-沙丁胺醇、D<sub>5</sub>-莱克多巴胺（1.0 mg/mL）β-受体激动剂内标储备溶液：称取 D<sub>9</sub>-克仑特罗、D<sub>3</sub>-沙丁胺醇、D<sub>5</sub>-莱克多巴胺、D<sub>9</sub>-特布他林各 10 mg（精确到 0.1 mg）于 10 mL 容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，存放在-18℃冰箱中备用。

3.5.5 250 μg/L β-受体激动剂内标混和应用液：分别取 1 mL 3 种 1.0 mg/mL β-受体激动剂内标储备溶液于 100 mL 容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，得 10.0 μg/mL β-受体激动剂内标混合标准贮备液，进一步用甲醇稀释至 250 μg/L β-受体激动剂内标混和应用

液，4℃保存。

## 4 样品处理及分析

4.1 试样的制备和保存：动物组织(包括肌肉、肝脏、肾脏、肺等)或熟肉制品(牛肝、羊肝、牛肉、羊肉、驴肉)采集 200-500 g，用组织捣碎机绞碎，四分法取 50-100 g，放在具塞塑料瓶(管)中，贴上标签后，称取试样后将剩余试样放在-18℃冰箱冻藏。

### 4.2 净化(方法 1)

4.2.1 酶解：称取经绞碎均匀 5.00 g(熟肉制品称 2.5 g)样品于 50 mL 离心管中，加 40 μL 250 μg/L β-受体激动剂内标混和应用液静置 10 min，加入 15 mL 0.2 mol/L pH5.2 乙酸钠-醋酸缓冲液，用匀质机匀质 20s，加入 100 μL β-葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶液，在 37℃水浴中水解 16h 后取出冷却，12000 r/min 离心 10 min，分出上层溶液，(注意如果液面有脂肪析出，可以用滤纸过滤)用 3.0 mol/L 盐酸溶液调节至 2.0±0.1(pH 测定仪)，进一步 12000 r/min 离心 10 min，分出上清液待净化。

4.2.2 净化：依次用 5 mL 水、5 mL 甲醇、5 mL 水、5 mL 40 mmol/L 的盐酸溶液活化平衡 SLS 固相萃取柱，然后取 5 mL 上述上清液至柱内，待样品过柱后，用 5 mL 水、5 mL 甲醇淋洗除杂，真空抽干柱内液体后加入 10 mL 5%氨化乙酸乙酯洗脱收集于 10 mL 具塞试管内，在 50℃水浴中氮气吹干。先加入 0.1 mL 甲醇超声溶解残留物，再加入 0.9 mL 10% 甲醇/水溶液混匀，过 0.22 μm 滤膜后待 LC-MS/MS 分析。

### 4.3 净化(方法 2)

4.3.1 酶解：称取 2.00 g 经绞碎均匀的动物组织于 50 mL 离心管中，加 40 μL 250 μg/L β-受体激动剂内标混和应用液静置 10 min，加入 10 mL 0.2 mol/L pH5.2 乙酸钠-醋酸缓冲液，用匀质机匀质 20s，加入 100 μL β-葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶液，在 37℃水浴中水解 16h 后取出冷却，4℃下 12000 r/min 离心 10 min，分出上层溶液，采用 10 mL 0.2 mol/L pH5.2 乙酸钠-醋酸缓冲液重复提取一次，进一步 4℃下 12000 r/min 离心 10 min，分出上清液转移至 50 mL 离心管中加入 10 mL 正己烷涡旋振荡 30 min，室温下 12000 r/min 离心 10 min 取下层液体待净化。

4.3.2 净化：依次用 5 mL 甲醇、5 mL 水活化平衡 PXC 固相萃取柱，然后取 10 mL 上述上清液至柱内，待样品过柱后，用 5 mL 水、5 mL 2.5%甲酸水，3 mL 0.1%氨化甲醇淋洗除杂，真空抽干柱内液体后加入 6 mL 2.5%氨化甲醇洗脱收集于 10 mL 具塞试管内，在 50℃水浴中氮气吹干。先加入 0.1 mL 甲醇超声溶解残留物，再加入 0.9 mL 10%甲醇/水溶

液混匀，过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜后待 LC-MS/MS 分析。

## 5 测定与计算

### 5.1 仪器参考条件

#### 5.1.1 液相色谱参考条件

(a) 色谱柱：Waters BEH C18 柱（1.7  $\mu\text{m}$ ，2.1 mm $\times$ 100 mm）或相当色谱柱；柱温：40 $^{\circ}\text{C}$ 。

(b) 流动相分别采用 A 为 5 mmol/L 乙酸铵溶液，B 为乙腈（含 0.1%甲酸），采用的梯度洗脱：0-0.5 min，5%B；0.5-2.0 min，50%B；2.0-3.0 min，95%B；3.0-5.5 min，95%B；5.5-6.0 min，5%B；6.0-8.0 min，5%B。

(c) 流速：0.3 mL/min。

(d) 进样体积：2-5  $\mu\text{L}$ （视仪器灵敏度）。

#### 5.1.2 质谱仪参考条件

(a) 离子源：电喷雾离子源（ESI）。

(b) 毛细管电压：0.5kV；离子源温度：150 $^{\circ}\text{C}$ ；脱溶剂温度：400 $^{\circ}\text{C}$ 。

(c) 扫描方式：克仑特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、特布他林、马布特罗、妥布特罗、氯丙那林、西布特罗、溴布特罗、喷布特罗、克伦普罗、西马特罗、非诺特罗、齐帕特罗、班布特罗、苯乙醇胺 A、D6-莱克多巴胺、D3-沙丁胺醇及 D9-克仑特罗均为正离子扫描。

(d) 检测方式：多反应检测（MRM）。

(e) 雾化气、气帘气、辅助加热气由氮气发生器产生或使用高纯氮气、碰撞气均为高纯氩气；使用前应调节各气体流量以使质谱灵敏度达到检测要求。

(f) 锥孔电压、碰撞能量等电压值应优化至最优灵敏度。

(g) 定性离子对、定量离子对，锥孔电压及碰撞能量见附录表 1。

### 5.2 标准曲线的制作

分别吸取 100.0  $\mu\text{g/L}$   $\beta$ -受体激动剂混合标准应用液 5  $\mu\text{L}$ 、10  $\mu\text{L}$ 、20  $\mu\text{L}$ 、50  $\mu\text{L}$ 、100  $\mu\text{L}$ ，250  $\mu\text{g/L}$   $\beta$ -受体激动剂内标混和应用液 40  $\mu\text{L}$ ，用 10%甲醇/水溶液定容至 1.0 mL，制备成  $\beta$ -受体激动剂含量 0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10 ng/mL 的标准溶液（含 10 ng/mL 的内标溶液）供样品测定用，UPLC-MS/MS 分析后绘制标准曲线。

### 5.3 测定

将试样溶液同标准溶液一起进行测定，根据测定液中  $\beta$ -受体激动剂的含量计算试样

中  $\beta$ -受体激动剂的含量。

#### 5.4 定性

每种被测组分选择1个母离子、2个以上子离子，在相同实验条件下，样品中待测物质的保留时间与标准溶液中对应的保留时间偏差在 $\pm 2.5\%$ 之间，且样品图谱中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液图谱中对应的定性离子的相对丰度进行比较，偏差不超过表1规定的范围，则可判定为样品中检出对应的待测物。

表1 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%	$K \geq 50$	$20 < K < 50$	$10 < K < 20$	$K \leq 10$
允许最大偏差%	$\pm 20$	$\pm 25$	$\pm 30$	$\pm 50$

## 6 计算

试样中  $\beta$ -受体激动剂含量按式（1）计算

$$X = \frac{C * 1 * 1000}{m * 1000} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

$X$ ——样品中响应  $\beta$ -受体激动剂含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

$C$ ——测定液中响应  $\beta$ -受体激动剂的含量，单位为纳克每毫升（ $\text{ng}/\text{mL}$ ）；

$1$ ——测定液定容体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；

$m$ ——样品质量，单位为克（ $\text{g}$ ）；

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，保留2位有效数字（或小数点后1位）。

## 7 精密度和回收率

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。为了保证分析结果的准确，要求每批样品至少做一个加标回收实验，加标 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$   $\beta$ -受体激动剂回收率为70-130%。

## 8 说明

8.1 本方法中液相色谱质谱参考条件是在WATERS TQS仪器上获得，各种类型的液相色谱质谱仪均可以参考借鉴。

8.2 动物源性食品基质复杂，特别是烹饪加工后食品，因此对净化要求比较高，目前 $\beta$ -受体激动剂净化方法主要用固相萃取净化，包括阳离子交换（如SCX、SLW、SLS、WCX等）、混合阳离子交换（如MCX、PCX等）净化。实验室应该对柱子进行验收。

8.3 对于每批固相萃取柱应采用空白样品提取液加标或40 mmol/L盐酸溶液加标进行验收，标准回收率在80%以上。SLW、SLS相对MCX、PCX沙丁胺醇、特布他林绝对回收率要高。

8.4 固相萃取过柱净化前的上清液应该澄清透明，浑浊则影响过柱净化效果，应该进一步离心或过滤。

8.5 本方法SLS用5%氨化乙酸乙酯洗脱，用PCX洗脱溶剂为2.5%氨化甲醇，洗脱液要求现配现用，充分混匀，特别注意浓氨水容易吸水失效，直接影响洗脱效果。5%氨化乙酸乙酯相对2.5%氨化甲醇洗脱物杂质较少。

8.6 3种内标可以按照各实验室实际情况进行调整以满足定量要求。

8.7 如果碰到有干扰样品，也可以将酶解液在碱性条件下用乙酸乙酯：异丙醇（6:4; V:V）提取后进一步净化以除去干扰物质。

## 9 参考文献

9.1 GB/T22286-2008 动物源性食品中多种 $\beta$ 受体激动剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法。

9.2 农业部1029号公告-1-2011 饲料中16种 $\beta$ 受体激动剂的测定 液相色谱-串联质谱法。

## 10 附录

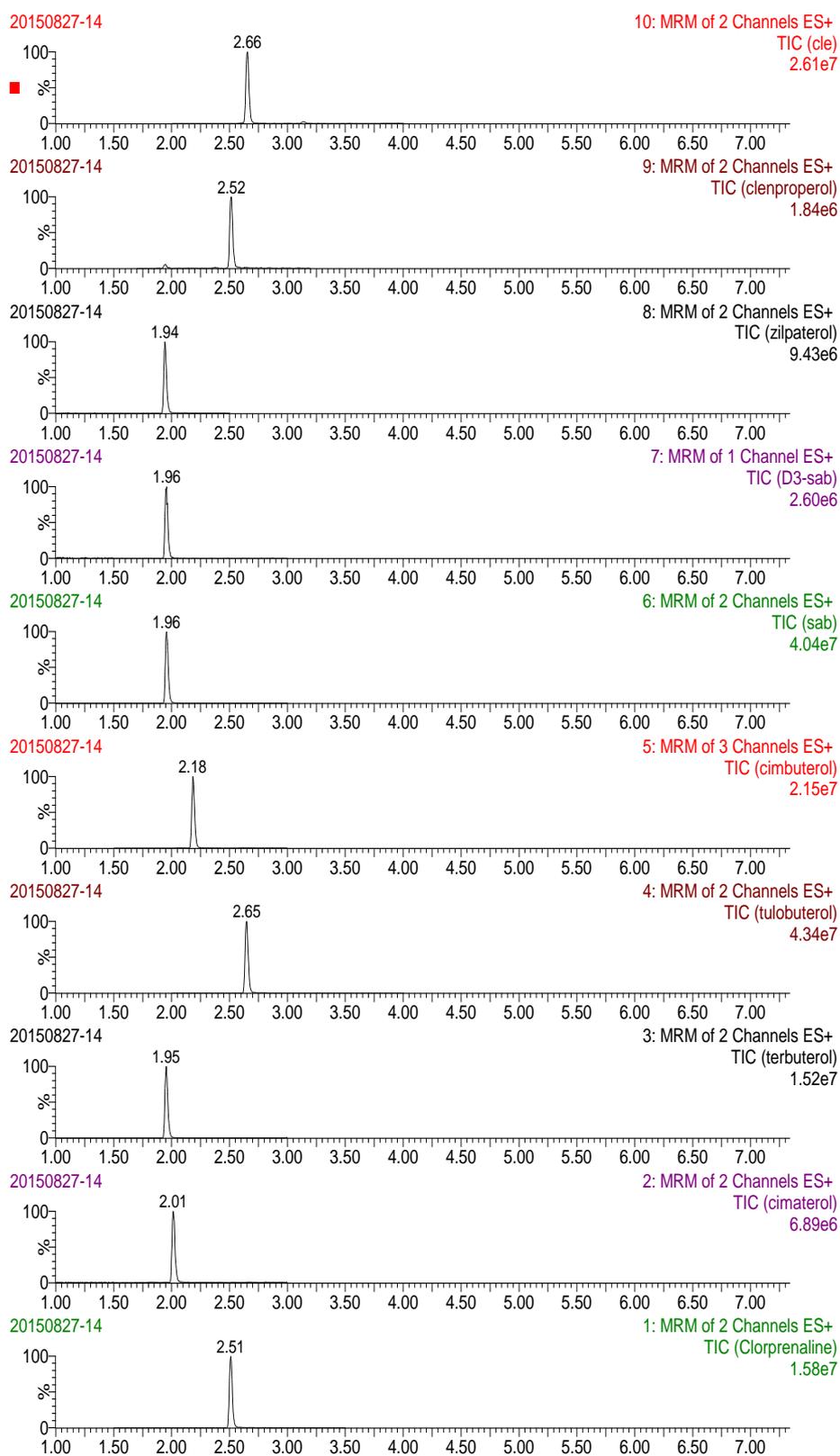
表 1 各化合物质谱参数

	名称	英文	分子量	母离子	子离子	锥空电压	碰撞电压	参考保留时间 min	参考内标物
1	马布特罗	mabuterol	310	311.29	237.17*/217.13	20	26/18	2.98	D <sub>6</sub> -莱克多巴胺
2	妥布特罗	tulobuterol	227	228.16	154.07*/172.16	2	16/12	2.77	D <sub>6</sub> -莱克多巴胺
3	氯丙那林	clorprenaline	213	214.22	154.10*/196.10	4	18/18	2.62	D <sub>6</sub> -莱克多巴胺
4	西布特罗	cimbuterol	233	234.35	160.20*/216.10	28	16/16/16	2.24	D <sub>6</sub> -莱克多巴胺
5	溴布特罗	brombuterol	366	367.22	293.02*/349	38	18/18	2.88	D <sub>6</sub> -莱克多巴胺
6	喷布特罗	penbutolol	291	292.42	201.20*/236.29	4	16/16	3.76	D <sub>3</sub> -沙丁胺醇
7	克伦普罗	clenproperol	262	263.03	245.04*/202.88	30	25/20	2.88	D <sub>6</sub> -莱克多巴胺
8	西马特罗	cimaterol	219	220.29	202.10*/160.19	30	16/16	2.07	D <sub>3</sub> -沙丁胺醇
9	特布他林	terbutaline	225	226.22	152.19*/125.0	4	18/18	1.99	D <sub>3</sub> -沙丁胺醇
10	非诺特罗	fenoterol	303	304.3	135*/106.9/286.3	30	20/12/14	2.14	D <sub>6</sub> -莱克多巴胺
11	齐帕特罗	zilpaterol	261	262.3	244.3*/185.3	20	20/13	2.06	D <sub>9</sub> -克仑特罗
12	班布特罗	bambuterol	367	368.42	294.27*/72/312.30	2	14/20/14	2.79	D <sub>9</sub> -克仑特罗
13	克仑特罗	clenbuterol	276	277.29	203.11*/259.0	14	16/16	2.76	D <sub>9</sub> -克仑特罗
14	莱克多巴胺	ractopamine	301	302.35	164.23*/284.0	44	16/16	2.46	D <sub>6</sub> -莱克多巴胺
15	沙丁胺醇	salbutamol	239	240.35	148.16*/222.0	6	18/12	1.99	D <sub>3</sub> -沙丁胺醇
16	苯乙醇胺 A	phenylethanliamine A	344	345.42	150.16*/327	8	20/20	3.29	D <sub>9</sub> -克仑特罗

17	D <sub>6</sub> -莱克多巴胺	D <sub>6</sub> -ractopamine	307	308.42	168.21*	10	16	2.45	—
18	D <sub>3</sub> -沙丁胺醇	D <sub>3</sub> -salbutamol	242	243.35	151.16*	4	18	1.99	—
19	D <sub>9</sub> -克仑特罗	D <sub>9</sub> -clenbuterol	285	286.35	204.13*	4	16	2.75	—

带\*为定量离子

# 动物性食品中阿奇霉素的测定 标准操作程序 (SOP)



# 动物性食品中阿奇霉素的测定 标准操作程序 (SOP)

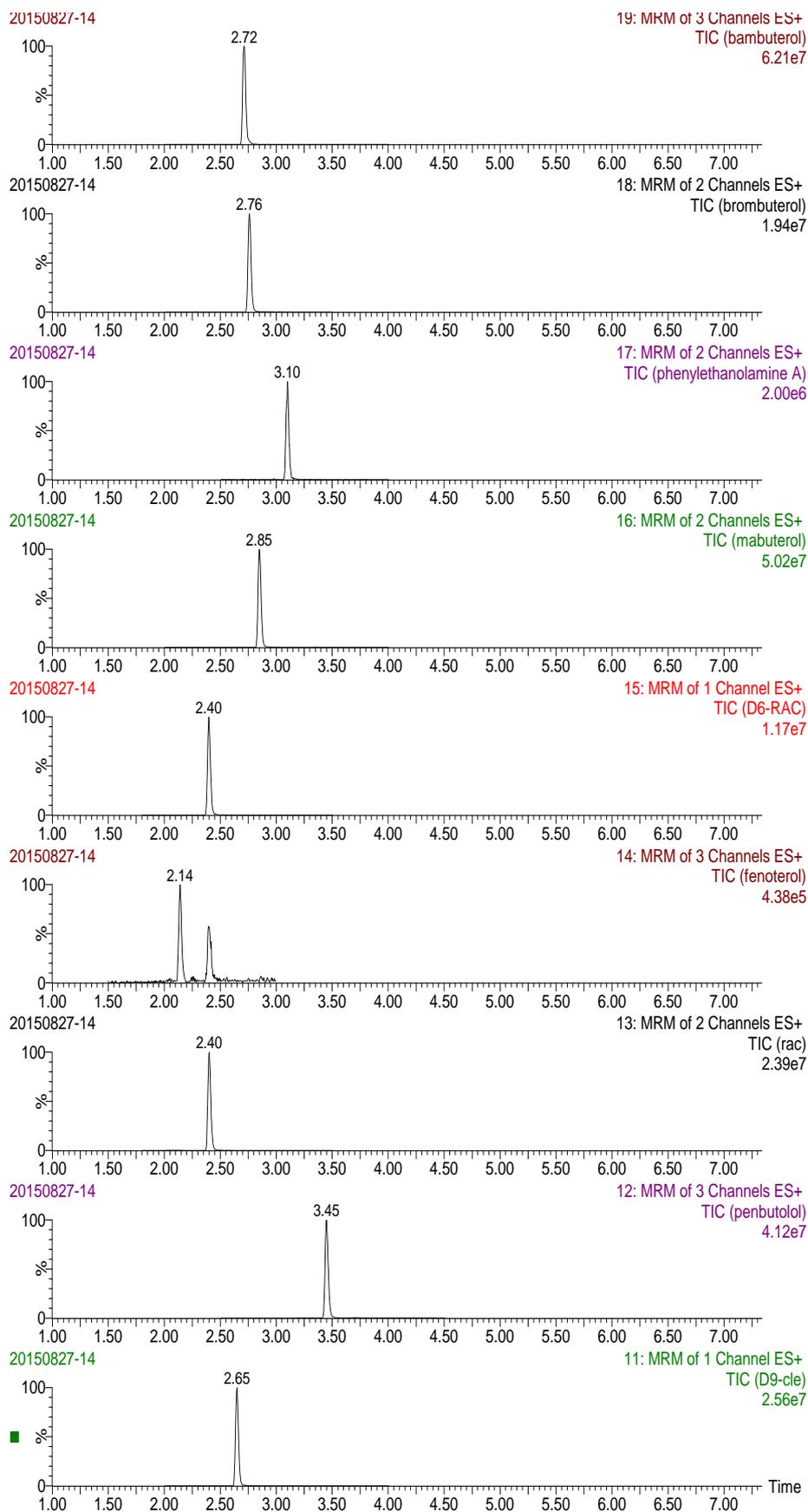


图 1 16 种受体激动剂及 3 种内标物标准总离子流图

### 三、动物性食品中阿奇霉素测定的标准操作程序

#### 1 范围

本标准操作程序规定了鸡肉、猪肉、牛肉、羊肉、猪肝及相关熟制品中阿奇霉素的液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准操作程序适用于鸡肉、猪肉、牛肉、羊肉、猪肝及相关熟制品中阿奇霉素残留量的测定。

#### 2 原理

采用乙腈水溶液提取样品中的阿奇霉素药物残留，经低温离心，上清液用增强型除脂固相萃取填料 (EMR-lipid) 净化，液相色谱-质谱/质谱测定，同位素内标法定量。

#### 3 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

##### 3.1 试剂

3.1.1 乙腈 (CH<sub>3</sub>CN)：色谱纯。

3.1.2 甲醇 (CH<sub>3</sub>OH)：色谱纯。

3.1.3 甲酸 (HCOOH)：优级纯。

##### 3.2 试剂配制

3.2.1 1%甲酸乙腈溶液：量取 1 mL 甲酸，加入 100 mL 乙腈中，充分混匀

3.2.2 1%甲酸水溶液：量取 1 mL 甲酸，加入 100 mL 水中，充分混匀。

3.2.3 0.1%甲酸水溶液：量取 1 mL 甲酸，加入 1 L 水中，充分混匀。

##### 3.3 标准品

3.3.1 阿奇霉素 (C<sub>38</sub>H<sub>72</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>)：1000 mg/L。

3.3.2 阿奇霉素-d<sub>3</sub> (C<sub>38</sub>H<sub>69</sub>D<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>)：100 mg/L。

##### 3.4 标准溶液的制备

3.4.1 标准储备液：质量浓度为 1000 mg/L。 -20℃ 以下避光贮存，保存期为 12 个月。

3.4.2 标准中间液：准确量取 0.1 mL 阿奇霉素标准储备液，用甲醇定容至 10 mL，标准中间液质量浓度为 10 mg/L， -20℃ 以下避光贮存，保存期为 12 个月。

## 动物性食品中阿奇霉素的测定 标准操作程序 (SOP)

---

3.4.3 内标标准中间液：准确量取 0.2 mL 阿奇霉素-D3 标准储备液，用甲醇定容至 10 mL，标准中间液质量浓度为 2 mg/L，-20℃ 以下避光贮存，保存期为 6 个月。

3.4.4 标准使用液：准确吸取标准中间液 0.1 mL，用乙腈定容至 10 mL，标准使用液质量浓度为 0.1 mg/L，4℃ 贮存，保存期为 30 天。

3.4.5 内标标准使用液：准确吸取内标标准中间液 1 mL，用甲醇定容至 10 mL，标准使用液质量浓度为 0.2 mg/L，4℃ 贮存，保存期为 30 天。

### 3.5 材料

3.5.1 聚丙烯离心管（50 mL，2 mL）。

3.5.2 EMR-lipid 固相萃取净化填料或相当者。

### 4 仪器和设备

4.1 液相色谱-三重四极杆串联质谱仪：配有电喷雾离子源。

4.2 天平：感量为 0.1 mg 和 0.01 g。

4.3 超声提取仪

4.4 涡旋混合器。

4.5 低温离心机：转速 $\geq$ 8000 rpm。

4.6 移液器：量程 10  $\mu$ L~100  $\mu$ L 和 100  $\mu$ L~1000  $\mu$ L。

### 5 分析步骤

#### 5.1 试样制备

从所取全部样品中取出代表性样品约 500 g，剔除筋膜。用组织匀浆机充分捣碎均匀，均分成两份，分别装入洁净容器中，密封，并标明标记，于 -18℃ 以下冷冻存放。

#### 5.2 试样提取和净化

##### 5.2.1 试样提取

称取均质试样 2.0 g（精确到 0.01 g），置于 50 mL 聚丙烯离心管中，准确加入 100  $\mu$ L 内标标准使用液（3.4.5），加入 2 mL% 甲酸水涡旋混匀（3.2.2），再加

## 动物性食品中阿奇霉素的测定 标准操作程序 (SOP)

入 8 mL 1% 甲酸乙腈溶液 (3.2.1)，漩涡混合 30 s，超声提取 10 min。10 000 r/min 离心 10 min (温度低于 5 °C)。上清液待转出。

### 5.2.2 试样净化

取一 2 mL 离心管，加入 50 mg EMR-lipid 净化填料 (3.5.2)，再移入前述上清液 1 mL，震荡 1 min，10000 r/min 离心 5 min，取上清液用于 UPLC-MS/MS 测定。

### 5.3 仪器参考条件

#### 5.3.1 色谱条件

5.3.1.1 色谱柱：ACQUITY UPLC® BEH C18 (1.7 μm, 2.1 mm × 100 mm) 或相当者。

5.3.1.2 流动相：A 为 0.1% 甲酸水溶液 (3.2.3)；B 为乙腈。流速：0.30 mL/min；梯度洗脱见表 1：

表 1 梯度洗脱条件

时间 (min)	%A 0.1%甲酸	%B 乙腈
0.0	70	30
2.0	70	30
5.0	50	50
6.0	20	80
6.5	0	100
8.0	0	100
8.5	70	30
10.0	70	30

5.3.1.3 柱温：40° C。

5.3.1.4 进样量：5 μL。

#### 5.3.2 质谱条件

5.3.2.1. 电喷雾离子源：离子源温度：150° C。

## 动物性食品中阿奇霉素的测定 标准操作程序 (SOP)

5.3.2.2 毛细管电压：2.5 kV。

5.3.2.3 脱溶剂气温度：450° C。

5.3.2.4 脱溶剂气流量：1000 L/h。

5.3.2.5 扫描模式：正离子多离子反应监测模式 (MRM)。其它质谱参数见表 2：

表 2 阿奇霉素及内标的质谱参数\*

化合物	母离子 (m/z)	定量离子 (碰撞能量 eV)	定性离子	锥孔电压 (V)
阿奇霉素	749.5	158(38)	591.5(30)	25
阿奇霉素-D <sub>3</sub>	752.5	158 (38)	594.5(30)	25

\*：对不同质谱仪器，仪器参数可能存在差异，测定前应将质谱参数优化到最佳。

### 5.4 标准曲线的制作

以目标组分峰面积与内标的峰面积之比Y为纵坐标，以标准工作液的质量浓度 $\rho$  ( $\mu\text{g/L}$ )为横坐标，进行线性回归，绘制标准曲线。标准溶液的色谱图见附录A 图A.1。

### 5.5 试样溶液的测定

将试样溶液注入LC-MS/MS仪中，测得其峰面积，以保留时间(偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内)和监测离子的相对丰度比(监测离子相对丰度的最大允许偏差见表3)定性。根据标准曲线得到待测试样溶液中目标物的质量浓度。平行测定次数不少于两次。

表 3 监测离子相对丰度的最大允许偏差

相对离子丰度%	>50	20~50	10~20	$\leq 10$
允许的相对偏差%	$\pm 20$	$\pm 25$	$\pm 30$	$\pm 50$

## 6 分析结果的表述

试样中待测物的含量按式 (1) 计算：

$$X = \frac{\rho \times v \times f}{m \times 1000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

$X$ —试样中待测物的含量, 单位为微克每千克 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ );

$\rho$ —由标准曲线得到的待测液中待测物的质量浓度, 单位为微克每升 ( $\mu\text{g}/\text{L}$ );

$v$ —待测液的最终定容体积, 单位为毫升 (mL);

$m$ —试样的量, 单位为克 (g)。

$f$ —稀释倍数。

以重复条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示, 结果保留两位有效数字。

### 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。

### 8 检出限和定量限

阿奇霉素的检出限和定量限分别为  $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$  和  $2.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 9 注意事项

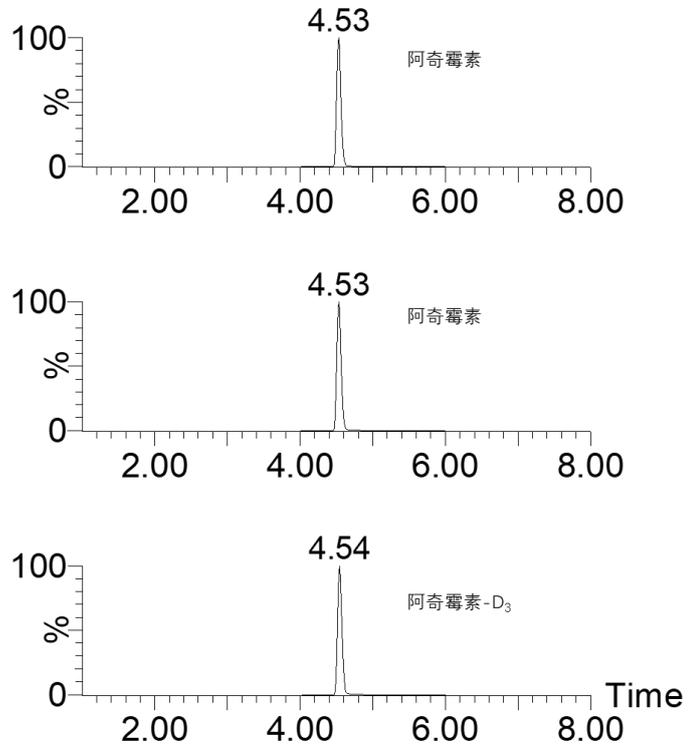
市售的阿奇霉素及同位素内标标准品既有固态, 也有液态, 可根据实际需要购买。C13 标记的阿奇霉素或者大于三个 D 标记的阿奇霉素也可用作同位素内标。

若样品脂肪含量偏高除脂效果不理想, 可在净化后加入正己烷清洗进一步除脂。

本操作程序中规定的液相色谱、质谱参数为参考条件。诸如锥孔电压、碰撞能量、以及液相梯度程序等均仅供参考, 可根据实验室配置的设备情况酌情作适当调整。

附录 A

阿奇霉素的液相色谱质谱图



A.1 阿奇霉素标准溶液MRM色谱图

---

## 四、动物源性食品中氟苯尼考和氟苯尼考胺测定的标准操作程序

### 5 适用范围

本标准操作程序规定了鸡肉、鸡蛋、牛奶、蜂蜜中氟苯尼考和氟苯尼考胺的液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准操作程序适用于鸡肉、鸡蛋、巴氏消毒奶、纯牛奶等液态奶及蜂蜜中氟苯尼考和氟苯尼考胺残留量的测定。

### 6 原理

采用乙腈提取样品中的氟苯尼考和氟苯尼考胺药物残留，经低温离心，乙腈层用C18固相萃取填料净化，吹干、定容，正己烷洗涤，取下层液相色谱-质谱/质谱测定，同位素内标法定量。

### 7 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 乙腈 (CH<sub>3</sub>CN)：色谱纯。

3.1.2 甲醇 (CH<sub>3</sub>OH)：色谱纯。

3.1.3 正己烷 (CH<sub>3</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)：色谱纯。

3.1.4 氨水 (NH<sub>3</sub> H<sub>2</sub>O)：优级纯。

3.1.5 氯化钠 (NaCl)：分析纯。

3.1.6 无水硫酸钠 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)：分析纯。使用前经马弗炉 550℃灼烧 2h，冷却后密封保存。

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 10%乙腈水溶液：量取 10 mL 乙腈，用水稀释至 100 mL。

3.2.2 0.01%氨水溶液：量取 100 μL 氨水加入 1L 超纯水中，充分混匀。

#### 3.3 标准品

3.3.1 氟苯尼考 (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>FNO<sub>4</sub>S)：98%。

3.3.2 氟苯尼考胺 (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>FNO<sub>3</sub>S)：98%。

3.3.3 氟苯尼考胺-d<sub>3</sub> (C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>D<sub>3</sub>FNO<sub>3</sub>S)：98%。

3.3.4 氯霉素-d<sub>5</sub> (C<sub>11</sub>H<sub>7</sub>D<sub>5</sub>C<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)：98%。

---

### 3.4 标准溶液

3.4.1 标准储备液：分别准确称取氟苯尼考、氟苯尼考胺、氟苯尼考胺-d<sub>3</sub>和氯霉素-d<sub>5</sub>标准品 10.0 mg（按纯度示值折算），用甲醇溶解并定容至 10 mL，标准储备溶液质量浓度均为 1000 mg/L。-20℃以下避光贮存，保存期为 12 个月。

3.4.2 标准中间液：分别准确量取 100 μL 氟苯尼考和氟苯尼考胺标准储备液，用甲醇定容至 10 mL，标准中间液质量浓度为 10 mg/L，-20℃以下避光贮存，保存期为 6 个月。

3.4.3 内标标准中间液：分别准确量取 100 μL 氟苯尼考胺-d<sub>3</sub>和氯霉素-d<sub>5</sub>标准储备液，用甲醇定容至 10 mL，标准中间液质量浓度为 10 mg/L，-20℃以下避光贮存，保存期为 6 个月。

3.4.4 标准使用液：准确吸取标准中间液 100 μL，用 10%乙腈-水溶液定容至 10 mL，标准使用液质量浓度为 0.1 mg/L，4℃贮存，保存期为 7 天。

3.4.5 内标标准使用液：准确吸取内标标准中间液 100 μL，用 10%乙腈-水溶液定容至 10 mL，标准使用液质量浓度为 0.1 mg/L，4℃贮存，保存期为 7 天。

### 3.5 材料

3.5.1 聚丙烯离心管（50 mL，1.5 mL）。

3.5.2 Discovery® DSC-18 净化填料或相当者。

## 8 仪器和设备

4.1 液相色谱-三重四极杆串联质谱仪：配有电喷雾离子源。

4.2 天平：感量为 0.1 mg 和 0.01 g。

4.3 超声提取仪

4.4 涡旋混合器。

4.5 低温离心机：转速≥8000 rpm。

4.6 氮吹仪。

4.7 移液器：量程 10 μL~100 μL 和 100 μL~1000 μL。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样制备

---

将现场采集的样品放入小型冷冻箱中运输到实验室，在-4 °C以下保存，2天内进行处理。牛奶样品取适量新鲜或冷冻解冻的样品混合均匀；鸡蛋取适量新鲜或冷冻解冻的样品，去壳后混合均匀。

## 5.2 试样提取和净化

### 5.2.1 试样提取

#### 5.2.1.1 牛奶

牛奶样品摇匀，称取均质试样 2.0 g（精确到 0.01 g），置于 50 mL 聚丙烯离心管中，准确加入 50 μL 内标标准使用液（3.4.5），再加入 1.0 g 氯化钠，充分振摇，再加入 10 mL 乙腈，漩涡混合 30 s，超声提取 10 min。10 000 r/min 离心 10 min（温度低于 5 °C）。上清液待转出。

#### 5.2.1.2 鸡蛋、鸡肉、蜂蜜

称取均质试样 2.0 g（精确到 0.01 g），置于 50 mL 聚丙烯离心管中，准确加入 50 μL 内标标准使用液（3.4.5），加入 1 mL 水涡旋混匀，再加入 10 mL 乙腈，漩涡混合 30 s，超声提取 10 min。10 000 r/min 离心 10 min（温度低于 5 °C）。上清液待转出。

### 5.2.1 试样净化

另取一 15 mL 离心管，加入 250 mg Discovery® DSC-18（3.5.2）吸附剂和 2 g 无水硫酸钠（3.1.6），再移入前述上清液 7 mL，震荡 1 min，9000 r/min 离心 5 min，取上清液 5 mL 转至另一离心管中，在微弱的氮气流下吹干，加入 0.5 mL 10%乙腈水溶液（3.2.1）溶解残渣，漩涡混合 1 min，转入 1.5 mL 离心管中，加入 0.5 mL 正己烷，充分振摇 1 min，14 000 r/min 离心 5 min 后，弃正己烷层。吸取下层用于 HPLC-MS/MS 测定。

## 5.3 仪器参考条件

### 5.3.1 色谱条件

5.3.1.1 色谱柱：ACQUITY UPLC® BEH C18（1.7 μm，2.1 mm×100 mm）或相当者。

5.3.1.2 流动相：A 为 0.01%氨水溶液（3.2.2）；B 为乙腈。流速：0.35 mL/min；梯度洗脱见表 1：

表 1 梯度洗脱条件

时间 (min)	%A 0.01%氨水	%B 乙腈
0.0	90	10
2.0	75	25
4.0	60	40
4.5	0	100
6.5	0	100
7.0	90	10
8.5	90	10

5.3.1.3 柱温：40° C。

5.3.1.4 进样量：5 μL。

5.3.2 质谱条件

5.3.2.1. 电喷雾离子源：离子源温度：150° C。

5.3.2.2 毛细管电压：2.5 kV。

5.3.2.3 脱溶剂气温度：450° C。

5.3.2.4 脱溶剂气流量：1000 L/h。

5.3.2.5 扫描模式：多离子反应监测模式（MRM）。其它质谱参数见表 2：

表 2 氟苯尼考和氟苯尼考胺的质谱参数\*

化合物	电离模式	母离子 (m/z)	定量离子 (碰撞能量 eV)	定性离子	锥孔电压 (V)
氟苯尼考胺	ESI+	248	230 (10)	130(20)	25
氟苯尼考胺-d <sub>3</sub>	ESI+	251	233 (10)		25
氟苯尼考	ESI-	356	336 (10)	185(18)	25
氯霉素-d <sub>5</sub>	ESI-	326	157 (15)		25

\*：对不同质谱仪器，仪器参数可能存在差异，测定前应将质谱参数优化到最佳。

5.4 标准曲线的制作

以目标组分峰面积与内标的峰面积之比 Y 为纵坐标，以标准工作液的质量

浓度 $\rho$  ( $\mu\text{g/L}$ ) 为横坐标, 进行线性回归, 绘制标准曲线。标准溶液及试样加标溶液的色谱图见附录 A 图 A.1 和 A.2。

### 5.5 试样溶液的测定

将试样溶液注入 LC-MS/MS 仪中, 测得其峰面积, 以保留时间 (偏差在  $\pm 2.5\%$  之内) 和监测离子的相对丰度比 (监测离子相对丰度的最大允许偏差见表 3) 定性。根据标准曲线得到待测试样溶液中氟苯尼考和氟苯尼考胺的质量浓度。平行测定次数不少于两次。

表 3 监测离子相对丰度的最大允许偏差

相对离子丰度%	>50	20~50	10~20	$\leq 10$
允许的相对偏差%	$\pm 20$	$\pm 25$	$\pm 30$	$\pm 50$

## 6 分析结果的表述

试样中待测物的含量按式 (1) 计算:

$$X = \frac{\rho \times v \times f}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$X$ —试样中待测物的含量, 单位为微克每千克 ( $\mu\text{g/kg}$ );

$\rho$ —由标准曲线得到的待测液中待测物的质量浓度, 单位为微克每升 ( $\mu\text{g/L}$ );

$v$ —待测液的最终定容体积, 单位为毫升 (mL);

$m$ —试样的量, 单位为克 (g)。

$f$ —稀释倍数。

以重复条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示, 结果保留两位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 25%。

## 10 检出限和定量限

氟苯尼考的检出限和定量限分别为  $0.05 \mu\text{g/kg}$  和  $0.2 \mu\text{g/kg}$ , 氟苯尼考胺

---

的检测限和定量限分别为 0.5  $\mu\text{g/kg}$  和 2.0  $\mu\text{g/kg}$ 。

## 11 说明

9.1 文本中的液相色谱质谱参考条件是在 Waters TQ-S 仪器上获得，各种类型的液相色谱质谱仪均可参考借鉴。

9.2 由于不同样品所造成的基质干扰不同，实际检测中应进行预实验。如表 2 中定量离子噪音较高时，可选其它离子进行定量。

9.3 牛奶样品提取过程中加入氯化钠起到盐析的作用，高速离心后由上到下分别是乙腈层、奶皮层和盐水层，各层之间边界清晰，小心吸取乙腈层进行下一步处理。

9.4 目前市售的氟苯尼考的同位素标记物多为氟苯尼考-d<sub>3</sub>，由于同位素峰效应，该物质用作内标时会造成定量结果偏低，特别是对含量高的样品影响更大，因此不建议使用。

9.5 氟苯尼考胺的峰形受流动相和色谱柱影响较大，受基质的影响也较大，建议选用较新的色谱柱开展本项目。

9.6 在检测中，尽可能使用有证标准物质作为质量控制样品，也可采用加标回收试验进行质量控制。

9.7 在测定过程中，建议每测定 10~20 个样品用同一份标准溶液获标准物质核查仪器的稳定性。

9.8 本方法检出限和定量限制定原则：以定性离子通道中信噪比 ( $S/N$ ) 为 3 时样品溶液中目标化合物的浓度为检出限；以定量离子通道信噪比 ( $S/N$ ) 为 10 时样品溶液中目标化合物的浓度为定量限。

## 10 参考文献

[1] GB/T 20756-2006 可食动物肌肉、肝脏和水产品中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

[2] SN/T 1865-2016 出口动物源食品中甲砒霉素、氟甲砒霉素和氟苯尼考胺残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

[3] 李莹莹, 宋永青, 赵榕, 等。液质联用检测鱼肉中氟苯尼考和氟苯尼考胺的残留量[J]. 食品科学, 2010, 31(12): 219-222

[4] Barreto F, Ribeiro C, Barcellos Hoff R, et al. Determination of chloramphenicol,

---

thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in poultry, swine, bovine and fish by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 2016, 1449: 48–53.

---

## 五、动物源性食品中四环素类药物残留量测定的标准操作程序

### 1 适用范围

本程序规定了动物源性食品中10种四环素类药物残留量的液相色谱串联质谱测定方法。

本标准适用于猪肉、鸡肉、猪肝、猪肾、牛奶、鸡蛋等动物源性食品中二甲胺四环素、四环素、土霉素、金霉素、甲烯土霉素、去甲金霉素、强力霉素、差向四环素，差向金霉素，差向土霉素10种四环素类喹诺酮类兽药残留量的测定。

本程序的方法检测限和定量限：称样量5.0 g，定容体积1.0 ml，检测限：土霉素、金霉素、四环素、强力霉素、甲烯土霉素、去甲金霉素、差向土霉素、差向四环素、差向金霉素、强力霉素为0.3 µg/kg，二甲胺四环素为1.0 µg/kg。定量限：土霉素、金霉素、四环素、强力霉素、甲烯土霉素、去甲金霉素、差向土霉素、差向四环素、差向金霉素、强力霉素为1.0 µg/kg，二甲胺四环素为3.0 µg/kg。

### 2 原理

用0.1 mol/L EDTA-McIlvaine 缓冲液(pH 4.0) 提取样品中的四环素类抗生素，经过滤和离心后，上清液经 HLB 固相萃取柱净化。高效液相色谱-质谱/质谱测定，用阴性样品基质加标外标法定量。

### 3 试剂和材料

除特殊注明外，本法所用试剂均为色谱纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 柠檬酸 (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>): 分析纯。

3.2 十二水合磷酸氢二钠 (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O) 或磷酸氢二钠 (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>): 分析纯。

3.3 甲醇 (CH<sub>3</sub>OH): 色谱纯。

3.4 乙腈 (CH<sub>3</sub>CN): 色谱纯。

3.5 甲醇-乙腈溶液: 准确量取 40 mL 甲醇于 100 mL 量筒中，加乙腈至刻度。

3.6 甲酸 (HCOOH): 色谱纯。

3.7 氢氧化钠 (NaOH): 分析纯。

3.8 乙二胺四乙酸二钠 (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>8</sub>): 分析纯。

3.9 磷酸氢二钠溶液: 0.2 mol/L。称取 71.63 g 十二水合磷酸氢二钠 (或 28.39 g 磷酸氢二钠) (3.2)，用水溶解，定容至 1000 mL。

---

3.10 柠檬酸溶液: 0.1 mol/L。称取 21.01 g 一水合柠檬酸, 用水溶解, 定容至 1000 mL。

3.11 McIlvaine 缓冲溶液: 将 1000 mL 0.1 mol/L 柠檬酸溶液 (3.10) 与 625 mL 0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液 (3.9) 混合, 必要时用盐酸或氢氧化钠调节 pH 至 4.0 ± 0.05。

3.12 EDTA-McIlvaine 缓冲溶液: 0.1 mol/L。称取 60.5 g 乙二胺四乙酸二钠 (3.8) 放入 1625 mL McIlvaine 缓冲溶液 (3.11) 中, 振摇使其溶解。

3.13 5% 甲醇水溶液: 准确量取 5 mL 甲醇于 100 mL 量筒中, 加水定容至刻度。

3.14 0.2% 甲酸水溶液: 准确量取 200 μL 甲酸于 100 mL 量筒中, 加水定容至刻度。

3.15 四环素类药物标准物质: 二甲胺四环素 (Minocycline, CAS: 10118-90-8), 土霉素 (Oxytetracycline, CAS: 6153-64-6), 四环素 (Tetracycline, CAS: 60-54-8), 去甲基金霉素 (Demeclocycline, CAS: 127-33-3), 金霉素 (Chlortetracycline, CAS: 57-62-5), 甲烯土霉素 (Methacycline, CAS: 914-00-1), 强力霉素 (Doxycycline, CAS: 564-25-0), 差向四环素 (4-Epitetracycline, CAS: 64-75-5), 差向土霉素 (4-Epioxytetracycline, CAS: 35259-39-3), 差向金霉素 (4-Epichlortetracycline, CAS: 14297-93-9)。纯度均大于等于 95%。

#### 3.16 标准溶液

3.16.1 标准储备液: 分别称取 0.0100 g 标准品 (3.15) 置于 10.0 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 标准储备液浓度为 1 mg/mL, -20 °C 冰箱中保存, 有效期 12 个月。

3.16.2 标准工作液: 分别取各标准储备液 (3.16.1) 100 μL 至 10.0 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 配成混合标准溶液。各组分浓度为 10 μg/mL。此标准工作液 4°C 保存, 可保存 3 个月

3.17 HLB 固相萃取柱(200 mg, 6 mL)或其它等效柱

## 4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱-串联质谱仪: 配有电喷雾离子源。

4.2 电子天平: 感量 0.000 1 g。

4.3 电子天平: 感量 0.01 g。

- 
- 4.4 组织匀浆机。
  - 4.5 漩涡混合器。
  - 4.6 冷冻离心机：最高转速 $\geq 10000$  r/min。
  - 4.7 聚丙烯离心管：50 mL。
  - 4.8 酸度计：精度 0.01。
  - 4.9 氮吹仪。
  - 4.10 固相萃取仪。

## 5 分析步骤

### 5.1 样品制备：

5.1.1 动物肌肉和动物内脏：将现场采集的样品放入小型冷冻箱中运输到实验室，在温度 $-10$  °C以下保存，一周内进行处理。取适量新鲜或冷冻解冻的动物组织样品去筋、捣碎均匀。

5.1.2 牛奶：取适量新鲜或冷冻解冻的样品混合均匀。

5.1.3 鸡蛋：取适量新鲜或冷冻解冻的样品，去壳后混合均匀。

### 5.2 样品提取净化：

#### 5.2.1 提取

##### 5.2.1.1 动物肌肉组织、肝脏、肾脏、

称取均质试样 5 g（精确到 0.01 g），置于 50 mL 聚丙烯离心管中，加入 20 mL 0.1 mol/L EDTA-McIlvaine 缓冲溶液（3.12），1000 r/min 漩涡混合 1 min，超声提取 10 min，10000 r/min 离心 5 min（温度低于 5°C），提取两次，合并上清液，用快速滤纸过滤，待净化。

##### 5.2.1.2 牛奶

称取均质试样 5 g（精确到 0.01 g），置于 50 mL 聚丙烯离心管中，用 40 mL 0.1 mol/L EDTA-McIlvaine 缓冲溶液（3.12）提取，1000 r/min 漩涡混合 1 min，超声提取 10 min，10 000 r/min 离心 10 min（温度低于 5 °C），取上清液，用快速滤纸过滤，待净化。

##### 5.2.1.3 鸡蛋

称取均质试样 5 g（精确到 0.01 g），置于 50 mL 聚丙烯离心管中，用 20 mL 0.1 mol/L EDTA-McIlvaine 缓冲溶液（3.12）提取，1000 r/min 漩涡混合 1 min，

超声提取 10 min, 加入 10 ml 甲醇并充分混匀, 室温静置 10 分钟沉淀蛋白, 10000 r/min 离心 10 min (温度低于 5 °C), 取上清液, 用快速滤纸过滤, 加水至 100 ml, 待净化。

### 5.2.2 净化

HLB 固相萃取柱 (200 mg, 6 mL), 使用时用 6 mL 甲醇活化、6 mL 水平衡。将 5.2.1 提取溶液以 2~3 mL/min 的速度过柱, 弃去滤液, 用 2 mL 5% 甲醇水溶液 (3.13) 淋洗, 弃去淋洗液, 将小柱抽干, 再用 6 mL 甲醇洗脱并收集洗脱液。洗脱液用氮气吹干, 用 1 mL 0.2% 甲酸水 (3.14) 溶解, 1000 r/min 漩涡混合 1 min, 用于上机测定。

## 5.3 测定条件

### 5.3.1 液相色谱条件

5.3.1.1 色谱柱: Waters ACQUITY UPLCTM BEH C18 柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 或其它等效柱

5.3.1.2 流动相: 甲醇-0.1%甲酸水梯度淋洗, 梯度列表见表 1。

5.3.1.3 流速: 0.3 mL/min

5.3.1.4 柱温: 40 °C

5.3.1.5 进样体积: 10 μL

表1 分离10种四环素的参考梯度条件

时间 (min)	0.1%甲酸水 (%)	甲醇 (%)
0	90	10
4.5	60	30
7.0	10	90
7.1	1	99
9.0	1	99
9.1	90	10

### 5.3.2 质谱条件

5.3.2.1 离子化模式: 电喷雾电离正离子模式 (ESI+)

5.3.2.2 质谱扫描方式: 多反应离子监测 (MRM)

5.3.2.3 毛细管电压: 2.8 kV

5.3.2.4 源温度: 100 °C

5.3.2.5 脱溶剂气温度: 350 °C

5.3.2.6 脱溶剂气流量：600 L/h。

5.3.2.7 电子倍增电压：650 V。

5.3.2.8 碰撞室压力：0.28 Pa

5.3.2.9 其它质谱参数见表 2

表 2 10 种四环素类药物主要参考质谱参数

化合物	RT (min)	母离子	子离子	碰撞能量 (eV)	锥孔电压 (V)
土霉素	4.90	461.0	426.0*	18	40
			443.0	10	
差向土霉素	4.60	461.0	426.0*	18	40
			444.0	10	
金霉素	6.29	479.2	444.2 *	20	35
			154.0	25	
差向金霉素	5.93	479.2	444.2 *	20	35
			154.0	25	
四环素	4.73	445.0	410.0*	25	35
			427.0	15	
差向四环素	3.97	445.0	410.0*	25	35
			427.0	15	
二甲胺四环素	4.28	458.0	441.0*	20	35
			352.1	27	
强力霉素	6.73	445.0	428.0*	14	30
			153.9	20	
甲烯土霉素	6.59	443.1	426.2*	20	30
			153.9	15	
去甲金霉素	5.73	465.1	430.0*	20	35
			448.0	15	

注：带\*为定量离子

## 5.4 测定

### 5.4.1 标准曲线的绘制

准确移取适量混合标准工作液（3.16.2），用空白基质提取液配制成混合标准系列，各组分浓度分别为：1  $\mu\text{g/L}$ 、2.5  $\mu\text{g/L}$ 、5  $\mu\text{g/L}$ 、10  $\mu\text{g/L}$ 、20  $\mu\text{g/L}$ 、50  $\mu\text{g/L}$  和 100  $\mu\text{g/L}$ 。将混合标准系列注入超高效液相色谱串联质谱，得到个组分的色谱图和峰面积。以目标化合物的浓度为横坐标，以目标化合物的峰面积为纵坐标，绘制工作曲线。

## 5.4.2 试样溶液的测定

## 5.4.3 定性

试样中目标化合物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，变化范围应在±5%之内，同时样品中目标化合物的两个子离子的相对丰度比与浓度相当的标准溶液相比，其允许偏差不超过表3规定的范围。

表3 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%
允许相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

## 5.4.4 空白试验

除不加样品外，采用完全相同的测定步骤进行操作。

## 5.5 色谱图

见附件图1

## 6 分析结果的表述

按下式计算四环素类药物残留量。

$$X = \frac{CV \times 1000}{M \times 1000}$$

式中：

$X$  ——样品中待测组分的含量，单位微克每千克， $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

$C$  ——测定液中待测组分的浓度，单位纳克每毫升， $\text{ng}/\text{mL}$ 。

$V$  ——定容体积，单位毫升， $\text{mL}$ 。

$M$  ——样品称样量，单位克， $\text{g}$ 。

## 7 质量控制和质量保证

### 7.1 精密度和准确度试验

在分析实际试样前，实验室必须达到可接受的精密度和准确度水平。通过对加标试样的分析，验证分析方法的可靠性。

取不少于3份基质与实际试样相似的空白样品，分别加入标准溶液。将制备好的加标试样按上述方法进行分析，各目标化合物的回收率应在75-125%范围内，精密度（RSD）小于20%。

在进行实际试样分析之前，必须达到上述标准。当试样的提取、净化方法进

---

行了修改以及更换分析操作人员后，必须重复上述试验并直至达到上述标准。实验室每6个月应进行上述试验，并直至达到上述标准。

如果可以获得与试样具有相似基质的标准参考物，则可以用标准参考物代替加标试样进行精密度准确度试验。

## 7.2 方法空白

每个批次最多15个样品，需做一次方法空白试验。

## 7.3 质控样品

每个批次最多15个样品，需带一个质控样品。质控样品可以是标准参考物也可以是已知浓度的加标样品。目标化合物的测定值根据加标浓度应在标准值的75%~125%范围之内。

## 7.4 保留时间窗口

每100次进行窗口确定标准溶液的分析，确定保留时间窗口的正确。当更换色谱柱或改变色谱参数后均必须使用窗口确定标准溶液对保留时间窗口进行校准。

## 7.5 质谱仪的质量数校正

用校正液及时进行质谱仪的质量校正，确保监测离子的质量数不发生改变。

10.6 为了保证分析结果的准确，要求在分析每批样品时，需分析10%的平行样，平行样间结果的相对标准偏差 $\leq 20\%$ ；每批样品按不同样品类别分别进行加标 $5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 试验，计算添加回收率，多组分残留测定添加回收率应在 $60\% \sim 120\%$ 范围之内。

## 8 说明

8.1 由于四环素类物质容易与金属离子螯合形成沉淀，所以样品提取液为EDTA-McIlvaine缓冲溶液，掩蔽金属离子，提供相应的pH条件。

8.2 采用EDTA-McIlvaine缓冲溶液提取试样后，上清液中可能会有脂肪等悬浮物，用快速滤纸过滤去除其中的悬浮杂质，以免固相萃取操作堵塞小柱。

8.3 在样品的提取过程中，务必使用低温离心机，提取液低温离心( $4^{\circ}\text{C}$ )，使脂肪析出，并用快速滤纸过滤去除脂肪，以免在过HLB固相萃取小柱时堵塞固相萃取柱。

8.4 上机待测溶液中甲醇（有机相）的比例不能高于10%，否则会造成待测组分的色谱峰展宽，降低灵敏度。

8.5 由于样品基质对待测组分测定影响较大，故采用基质加标工作曲线，以稳定待测组分回收率和准确定量。

8.6 在仪器灵敏度满足检测需求的情况下，可以取部分提取液过HLB小柱，以减少样品分析周期。

## 附录

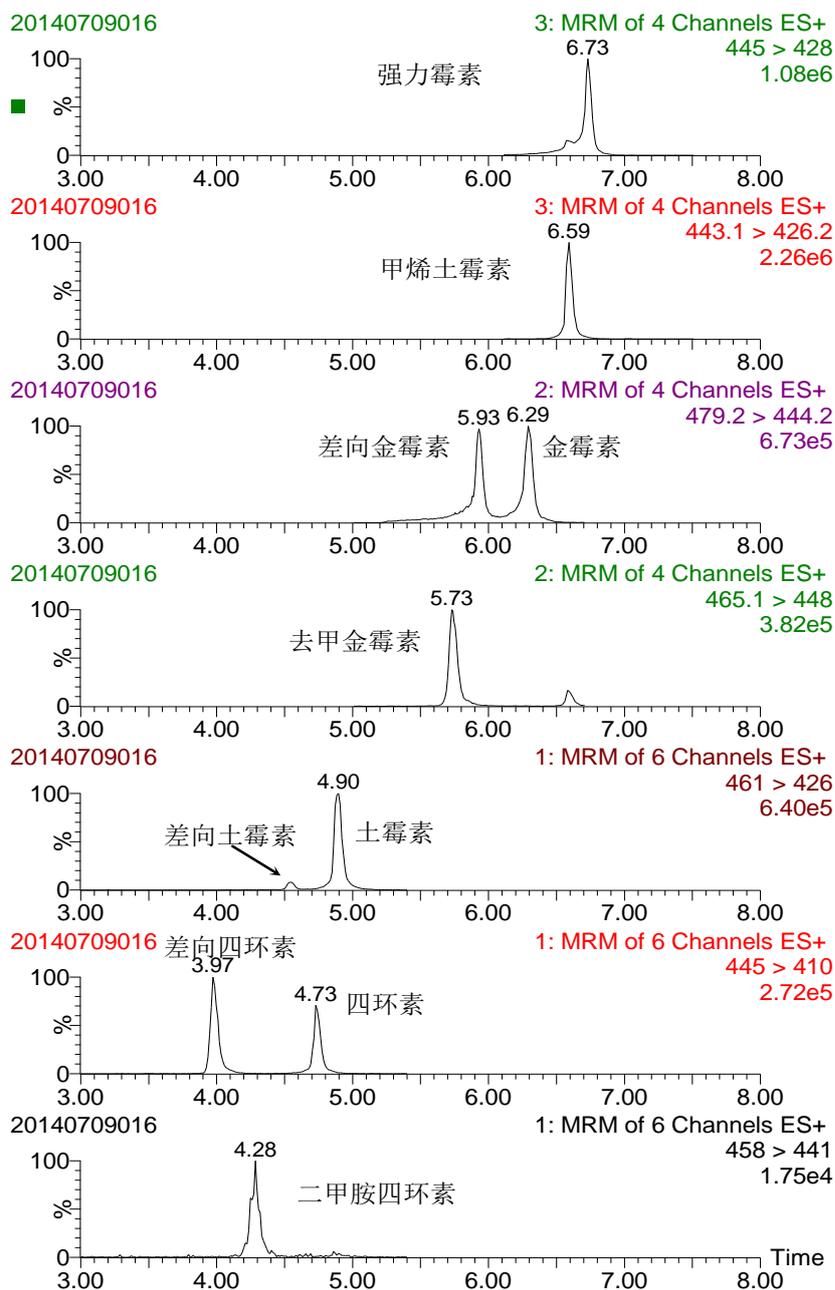


图 1 10 种四环素类药物的标准溶液 LC-MS/MS 谱图  
(其中差向土霉素的浓度为 2  $\mu\text{g/L}$ ，其余 9 种药物为 20  $\mu\text{g/L}$ )

## 六、动物源性食品中喹诺酮药物残留量测定的标准操作程序

### 1 适用范围

本程序规定了动物源性食品中14种喹诺酮药物残留量的液相色谱串联质谱测定方法。

本标准适用于猪肉、猪肝、猪肾、牛奶、鸡蛋、鸡肝、鸡心及淡水鱼、虾等动物源性食品中恩诺沙星、诺氟沙星、培氟沙星、环丙沙星、氧氟沙星、沙拉沙星、依诺沙星、洛美沙星、吡哌酸、萘啶酸、奥索利酸、氟甲喹、西诺沙星、单诺沙星14种喹诺酮类兽药残留量的测定。

本程序方法一的方法检测限和定量限：称样量2.0 g，定容体积1.0 mL，检出限 ( $S/N=3$ )：氟甲喹、萘啶酸、奥索利酸、西诺沙星、恩诺沙星、单诺沙星、洛美沙星、氧氟沙星、环丙沙星、沙拉沙星、诺氟沙星、培氟沙星、吡哌酸、依诺沙星均为0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；定量限 ( $S/N=10$ )：氟甲喹、萘啶酸、奥索利酸、西诺沙星、恩诺沙星、单诺沙星、洛美沙星、氧氟沙星、环丙沙星、沙拉沙星、诺氟沙星、培氟沙星、吡哌酸，依诺沙星均为1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

本程序方法二的方法检测限和定量限：称样量2.0 g，定容体积10.0 mL，检出限 ( $S/N=3$ )：氟甲喹、萘啶酸、奥索利酸、西诺沙星、恩诺沙星、单诺沙星、洛美沙星、氧氟沙星，环丙沙星、沙拉沙星、诺氟沙星、培氟沙星、吡哌酸、依诺沙星均为3.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；定量限 ( $S/N=10$ )：氟甲喹、萘啶酸、奥索利酸、西诺沙星、西诺沙星、恩诺沙星、单诺沙星、洛美沙星、氧氟沙星，环丙沙星、沙拉沙星、诺氟沙星、培氟沙星、吡哌酸为，依诺沙星为均10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 2 原理

用 0.1 mol/L EDTA-McIlvaine 缓冲液(pH 4.0) 提取样品中的喹诺酮类抗生素，经过滤和离心后，上清液经 HLB 固相萃取柱净化（方法一）或样品经酸性乙腈水溶液提取，C18 固相萃取填料净化（方法二）。高效液相色谱-质谱/质谱测定，用阴性样品基质加标外标法定量。

### 3 试剂和材料

除特殊注明外，本法所用试剂均为色谱纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 柠檬酸 ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ )：分析纯。

- 
- 3.2 十二水合磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )或磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ): 分析纯。
- 3.3 甲醇( $\text{CH}_3\text{OH}$ ): 色谱纯。
- 3.4 乙腈( $\text{CH}_3\text{CN}$ ): 色谱纯。
- 3.5 冰乙酸( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ): 优级纯
- 3.6 冰乙酸-乙腈-水溶液(1+84+15): 分别移取 1 mL 冰乙酸、15 mL 水, 均置于 100 mL 量筒中, 混匀后加入乙腈至 100 mL 刻度。该溶液中含 1%冰乙酸、84%乙腈和 15%水。
- 3.7 甲醇-乙腈溶液: 准确量取 40 mL 甲醇于 100 mL 量筒中, 加乙腈至刻度。
- 3.8 甲酸( $\text{HCOOH}$ ): 色谱纯。
- 3.9 氢氧化钠( $\text{NaOH}$ ): 分析纯。
- 3.10 乙二胺四乙酸二钠( $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8$ ):  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ , 分析纯。
- 3.11 磷酸氢二钠溶液: 0.2 mol/L。称取 71.63 g 十二水合磷酸氢二钠(或 28.39 g 磷酸氢二钠)(3.2), 用水溶解, 定容至 1000 mL。
- 3.12 柠檬酸溶液: 0.1 mol/L。称取 21.01 g 一水合柠檬酸, 用水溶解, 定容至 1000 mL。
- 3.13 McIlvaine 缓冲溶液: 将 1000 mL 0.1 mol/L 柠檬酸溶液(3.12)与 625 mL 0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液(3.10)混合, 必要时用盐酸或氢氧化钠调节 pH 至  $4.0 \pm 0.05$ 。
- 3.14 EDTA-McIlvaine 缓冲溶液: 0.1 mol/L。称取 60.5 g 乙二胺四乙酸二钠(3.10)放入 1625 mL McIlvaine 缓冲溶液(3.13)中, 振摇使其溶解。
- 3.15 5%甲醇水溶液: 准确量取 5 mL 甲醇于 100 mL 量筒中, 加水定容至刻度。
- 3.16 0.1%甲酸水溶液: 准确量取 200  $\mu\text{L}$  甲酸于 100 mL 量筒中, 加水定容至刻度。
- 3.17 喹诺酮类药物标准物质: 恩诺沙星(Enrofloxacin, CAS: 93106-60-6)、诺氟沙星(Norfloxacin, CAS: 70458-96-7)、诺氟沙星- $\text{d}_5$ (Norfloxacin- $\text{d}_5$ , CAS: 1015856-57-1)、培氟沙星(Pefloxacin, CAS: 6159-55-3)、环丙沙星(Ciprofloxacin, CAS: 85721-33-1)、氧氟沙星(Ofloxacin, CAS: 82419-36-1)、沙拉沙星(Sarafloxacin, CAS: 98105-99-8)、依诺沙星(Enoxacin, CAS: 74011-58-8)、洛美沙星(Lomefloxacin, CAS: 98079-51-7)、吡哌酸(Pipemidic acid, CAS: 51940-44-4)、萘啶酸(Nalidixic acid,

---

CAS: 389-08-2)、奥索利酸(Oxolinic acid, CAS: 14698-29-4)、氟甲喹(Flumequine, CAS: 42835-25-6)、西诺沙星(Cinoxacin, CAS: 28657-80-9)、单诺沙星(Danofloxacin, CAS: 74011-58-8) (纯度>99%)

### 3.18 标准溶液

3.18.1 标准储备液: 分别称取 0.0100 g 标准品 (3.17) 置于 10.0 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 标准储备液浓度为 1 mg/mL, -20 °C 冰箱中保存, 有效期 12 个月。

3.18.2 标准工作液: 分别取各标准储备液 (3.18.1) 100 μL 至 10.0 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 配成混合标准溶液。各组分浓度为 10 μg/mL。此标准工作液 4°C 保存, 可保存 3 个月

3.19 HLB 固相萃取柱(200 mg, 6 mL)或其它等效柱

3.20 Discovery® DSC-18 净化填料或相当者。

## 4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱-串联质谱仪: 配有电喷雾离子源。

4.2 电子天平: 感量 0.000 1 g。

4.3 电子天平: 感量 0.01 g。

4.4 组织匀浆机。

4.5 漩涡混合器。

4.6 冷冻离心机: 最高转速 ≥ 10000 r/min。

4.7 聚丙烯离心管: 50 mL。

4.8 酸度计: 精度 0.01。

4.9 氮吹仪。

4.10 固相萃取仪。

## 9 分析步骤

### 5.1 样品制备:

5.1.1 动物肌肉和动物内脏: 将现场采集的样品放入小型冷冻箱中运输到实验室, 在温度-10 °C 以下保存, 一周内进行处理。取适量新鲜或冷冻解冻的动物组织样品去筋、捣碎均匀。

---

5.1.2 牛奶：取适量新鲜或冷冻解冻的样品混合均匀。

5.1.3 鸡蛋：取适量新鲜或冷冻解冻的样品，去壳后混合均匀。

5.2 样品前处理：

### 方法一 固相萃取法

5.2.1 提取

5.2.1.1 动物肌肉组织、肝脏、肾脏、心脏

称取均质试样 2 g（精确到 0.01 g），置于 50 mL 聚丙烯离心管中，加入 10 mL 0.1 mol/L EDTA-McIlvaine 缓冲溶液（3.14），1000 r/min 旋涡混合 1 min，超声提取 10 min，10000 r/min 离心 5 min（温度低于 5℃），提取两次，合并上清液，用快速滤纸过滤，待净化。

5.2.1.2 牛奶

称取均质试样 2 g（精确到 0.01 g），置于 50 mL 聚丙烯离心管中，用 20 mL 0.1 mol/L EDTA-McIlvaine 缓冲溶液（3.14）提取，1000 r/min 旋涡混合 1 min，超声提取 10 min，10 000 r/min 离心 10 min（温度低于 5℃），取上清液，用快速滤纸过滤，待净化。

5.2.1.3 鸡蛋

称取均质试样 2 g（精确到 0.01 g），置于 50 mL 聚丙烯离心管中，用 10 mL 0.1 mol/L EDTA-McIlvaine 缓冲溶液（3.14）提取，1000 r/min 旋涡混合 1 min，超声提取 10 min，加入 5 ml 甲醇并充分混匀，室温静置 10 分钟沉淀蛋白，10000 r/min 离心 10 min（温度低于 5℃），取上清液，用快速滤纸过滤，加水至 50 ml，待净化。

5.2.2 净化

HLB 固相萃取柱（200 mg，6 mL），使用时用 6 mL 甲醇活化、6 mL 水平衡。将 5.2.1 提取溶液以 2~3 mL/min 的速度过柱，弃去滤液，用 2 mL 5% 甲醇水溶液（3.15）淋洗，弃去淋洗液，将小柱抽干，再用 6 mL 甲醇洗脱并收集洗脱液。洗脱液用氮气吹干，用 1 mL 0.1% 甲酸水（3.16）溶解，1000 r/min 旋涡混合 1 min，用于上机测定。

### 方法二 QuEChERS 法

5.2.3 提取

称取均质试样 2 g（精确到 0.01 g）于 50 mL 塑料离心管内，加入 10 mL 含

冰乙酸-乙腈-水溶液 (3.6), 震荡 1 min, 超声 15 min, 以 9000 r/min 离心 5 min, 取上清液备用。

#### 5.2.4 净化

另取一 15 mL 离心管, 加入 250 mg Discovery<sup>®</sup> DSC-18 吸附剂, 再移入前述上清液 6 mL, 震荡 1 min, 9000 r/min 离心 5 min, 取上清液 1 mL 并用 1 mL 0.1% 甲酸水溶液稀释后用于测定。

### 5.3 测定条件

#### 5.3.1 液相色谱条件

5.3.1.1 色谱柱: Waters ACQUITY UPLC<sup>™</sup> BEH C18 柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 或其它等效柱

5.3.1.2 流动相: A (40% 甲醇-乙腈溶液 (3.7)); B (0.1%甲酸水溶液 (3.13)) 梯度洗脱, 梯度条件见表 1。

5.3.1.3 流速: 0.2 mL/min

5.3.1.4 柱温: 40°C

5.3.1.5 进样体积: 5 μL

表 1 分离 14 种喹诺酮参考梯度条件

时间 (min)	甲醇/乙腈 (%)	0.2%甲酸水 (%)
0	10	90
6	30	70
9	50	50
9.5	100	0
10.5	100	0
11	10	90
15	10	90

#### 5.3.2 质谱条件

5.3.2.1 离子化模式: 电喷雾电离正离子模式 (ESI+).

5.3.2.2 质谱扫描方式: 多反应离子监测 (MRM).

5.3.2.3 毛细管电压: 2.0 kV.

5.3.2.4 源温度: 110°C.

5.3.2.5 脱溶剂气温度：350℃。

5.3.2.6 脱溶剂气流量：500 L/h。

5.3.2.7 电子倍增电压：650 V。

5.3.2.8 碰撞室压力：0.28 Pa

5.3.2.9 其它质谱参数见表 2

表 2 14 种喹诺酮的主要参考质谱参数

化合物	RT (min)	母离子	子离子	碰撞能量 (eV)	锥孔电压 (V)
吡哌酸	3.93	304.3	217.1*	21	38
			189.0	32	38
培氟沙星	5.14	334.3	290.3*	17	38
			233.2	25	38
氧氟沙星	5.04	362.2	318.3*	18	38
			261.2	27	38
依诺沙星	4.79	321.4	303.3*	19	50
			233.9	22	50
诺氟沙星	5.08	320.3	302.3*	19	50
			276.3	17	50
环丙沙星	5.32	332.2	314.3*	19	36
			288.3	17	36
恩诺沙星	5.84	360.3	316.4*	19	38
			342.3	23	38
单诺沙星	5.64	358.3	340.3*	25	38
			82.0	42	38
洛美沙星	5.66	352.3	265.2*	23	36
			308.3	17	36
沙拉沙星	6.74	386.3	342.3*	18	40
			299.3	28	40

西诺沙星	7.76	263.1	244.1*	16	35
			188.8	28	35
奥索利酸	8.67	262.1	244.1*	16	50
			155.9	28	50
萘啶酸	10.32	233.1	215.1*	15	26
			187.0	28	26
氟甲喹	10.67	262.2	244.1*	17	50
			202.1	28	50

注：带\*为定量离子

## 5.4 测定

### 5.4.1 标准曲线的绘制

准确移取适量混合标准工作液（3.18.2），用空白基质提取液配制成混合标准系列，各组分浓度分别为：1.0 μg/L、2.5 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、20 μg/L、50 μg/L 和 100 μg/L。将混合标准系列注入超高效液相色谱串联质谱以，得到个组分的色谱图和峰面积。以目标化合物的浓度为横坐标，以目标化合物的峰面积为纵坐标，绘制工作曲线。

### 5.4.2 试样溶液的测定

### 5.4.3 定性

试样中目标化合物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，变化范围应在±5%之内，同时样品中目标化合物的两个子离子的相对丰度比与浓度相当的标准溶液相比，其允许偏差不超过表 3 规定的范围。

表 3 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%
允许相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

### 5.4.4 空白试验

除不加样品外，采用完全相同的测定步骤进行操作。

## 5.5 色谱图

见附件图 1

## 6 分析结果的表述

---

按下式计算喹诺酮类药物残留量。

$$X = \frac{CV \times 1000}{M \times 1000}$$

式中：

$X$  ——样品中待测组分的含量，单位微克每千克， $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

$C$  ——测定液中待测组分的浓度，单位纳克每毫升， $\text{ng}/\text{mL}$ 。

$V$  ——定容体积，单位毫升， $\text{mL}$ 。

$M$  ——样品称样量，单位克， $\text{g}$ 。

## 7 质量控制和质量保证

### 7.1 精密度和准确度试验

在分析实际试样前，实验室必须达到可接受的精密度和准确度水平。通过对加标试样的分析，验证分析方法的可靠性。

取不少于3份基质与实际试样相似的空白样品，分别加入标准溶液。将制备好的加标试样按上述方法进行分析，各目标化合物的回收率应在75-125%范围内，精密度（RSD）小于20%。

在进行实际试样分析之前，必须达到上述标准。当试样的提取、净化方法进行了修改以及更换分析操作人员后，必须重复上述试验并直至达到上述标准。实验室每6个月应进行上述试验，并直至达到上述标准。

如果可以获得与试样具有相似基质的标准参考物，则可以用标准参考物代替加标试样进行精密度准确度试验。

### 7.2 方法空白

每个批次最多15个样品，需做一次方法空白试验。

### 7.3 质控样品

每个批次最多15个样品，需带一个质控样品。质控样品可以是标准参考物也可以是已知浓度的加标样品。目标化合物的测定值根据加标浓度应在标准值的75%~125%范围之内。

### 7.4 保留时间窗口

### 7.5 质谱仪的质量数校正

用校正液及时进行质谱仪的质量校正，确保监测离子的质量数不发生改变。

10.6 为了保证分析结果的准确，要求在分析每批样品时，需分析10%的平行

---

样，平行样间结果的相对标准偏差 $\leq 20\%$ ；每批样品按不同样品类别分别进行加标 $5.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 试验，计算添加回收率，多组分残留测定添加回收率应在 $60\% \sim 120\%$ 范围之内。

## 8 说明

8.1 配制 $0.1 \text{ mol}/\text{L}$  EDTA-McIlvaine时，务必先配制McIlvaine缓冲溶液，调节并调节pH至 $4.0 \pm 0.05$ ；再加入EDTA，可加热或超声助溶，保证完全溶解。

8.2 采用方法一进行样品前处理，务必使用低温离心机，提取液低温离心( $4^\circ\text{C}$ )，使脂肪析出，并用快速滤纸过滤去除脂肪，以免在过HLB固相萃取小柱时堵塞固相萃取柱。

8.3 采用方法一时，如鸡蛋样品提取液浑浊，导致HLB小柱堵塞，可向提取液中加入 $5 \text{ mL}$   $7\%$  钨酸钠溶液和 $5 \text{ mL}$   $0.2 \text{ mol}/\text{L}$  盐酸溶液并充分混匀沉淀蛋白， $10000 \text{ r}/\text{min}$ 离心 $10 \text{ min}$ （温度为 $4^\circ\text{C}$ ）后过HLB柱。

8.4 采用方法二QuEChERS法进行前处理，试样中加入酸性乙腈溶液后需立即震荡或旋涡混匀，以免样品聚团或者结块。

8.5 采用方法二上样溶液中的有机溶剂比例较高，可能会产生溶剂效应，可视具体检测结果和仪器灵敏度适当减少进样体积。

8.6 采用方法二进行样品前处理时，建议不要使用含有 $\text{MgSO}_4$ 填料的QuEChERS试剂包，如用商品化的QuEChERS试剂包请仔细确认填料种类和含量。

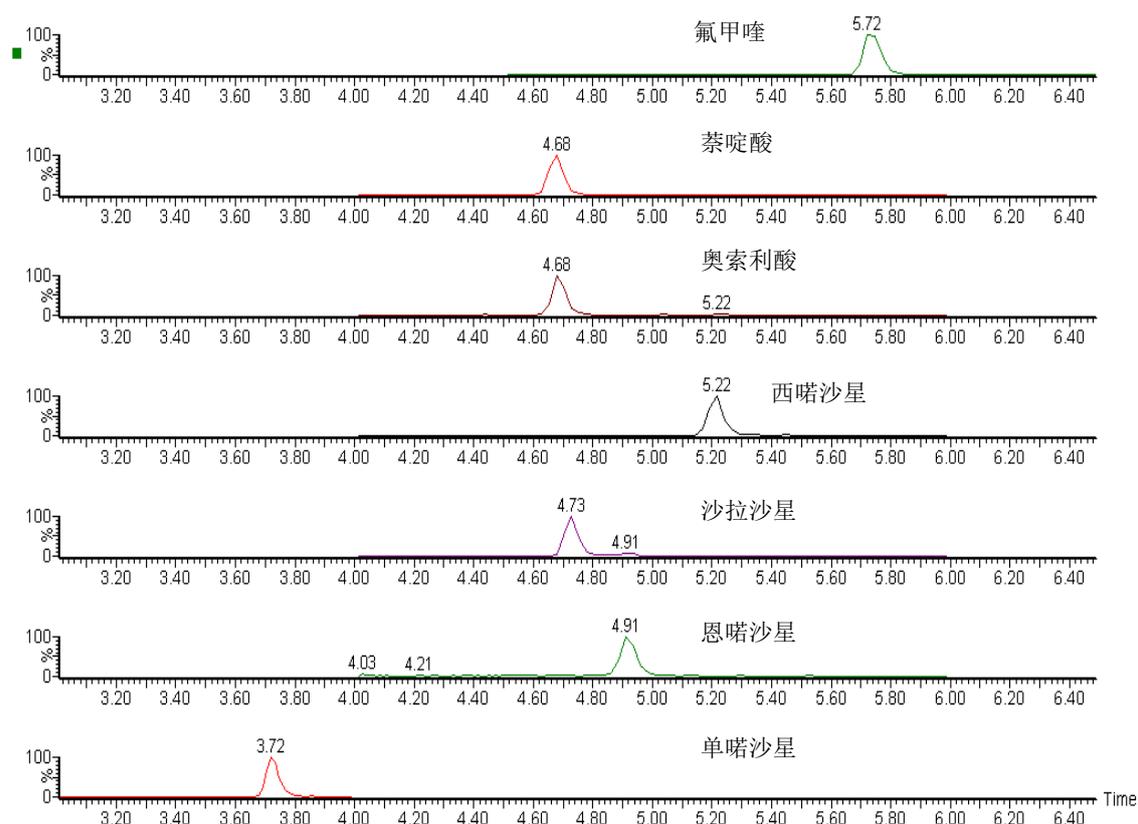
8.7 本实验可采用甲醇- $0.1\%$ 甲酸水作为流动相，实验前请仔细确认每个目标化合物的保留时间。

8.8 若因实验室仪器灵敏度的原因，使用方法二达不到手册方法规定的检出限，需采用方法一，以提高灵敏度。

注：该标准中奥索利酸即恶喹酸、单诺沙星即达氟沙星，且该标准适用于二氟沙星和麻保沙星。

## 9 附录

std5ppb



std5ppb

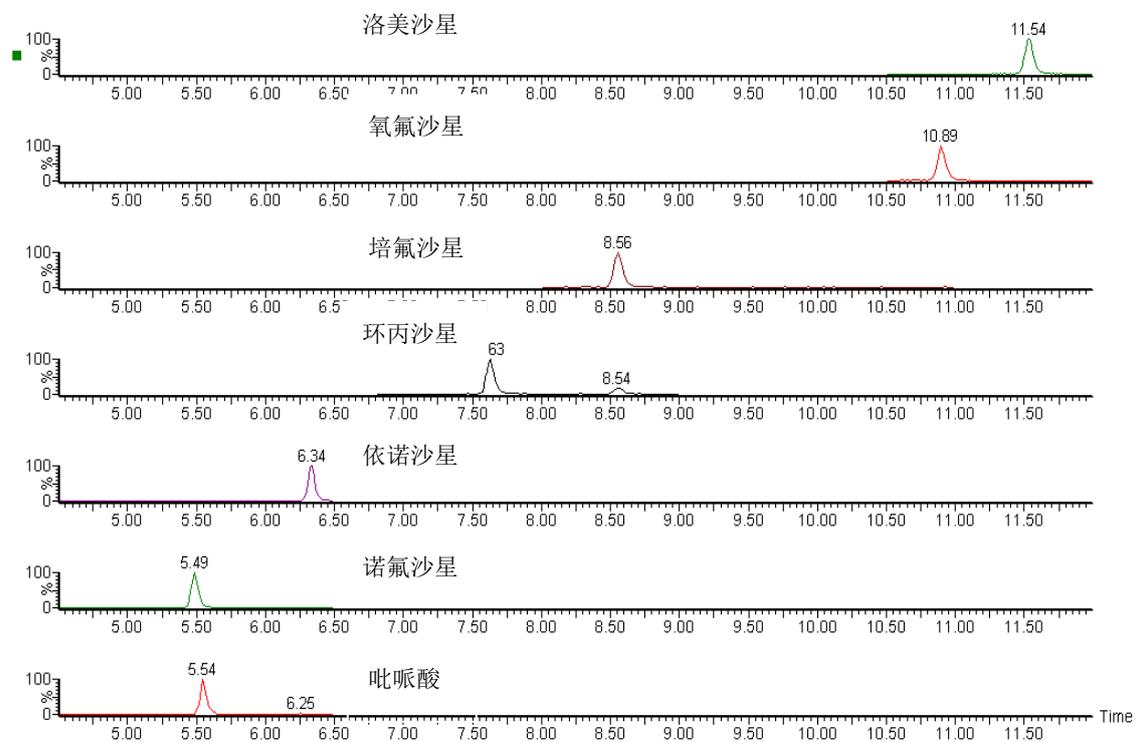


图1 14种素类药物的标准溶液LC-MS/MS

---

## 七、禽肉和禽蛋中硝基咪唑类药物残留的测定 液相色谱-质谱/质谱法

### 1 范围

本程序适用于超高效液相色谱三重四极杆串联质谱联用仪（UPLC-MS/MS）对禽肉和禽蛋中9种硝基咪唑类药物残留的同时测定。

本程序规定了禽畜肌肉、禽蛋样品中甲硝唑、二甲硝唑、洛硝哒唑、奥硝唑、替硝唑、异丙硝唑、2-甲硝基咪唑、氯甲硝咪唑、苯硝咪唑及其代谢物羟基甲硝唑和羟甲基甲硝咪唑残留量的同时测定。

### 2 原理

样品经2%三氯乙酸提取，提取液浓缩后酸性溶液溶解，采用MCX混合阳离子固相萃取柱净化，采用高效液相色谱-串联质谱测定，内标法定量。

### 3 试剂和材料

除非另有规定，本方法所用试剂均为优级纯，水为GB/T6682规定的一级水。所用试剂临用现配。

#### 3.1 试剂

3.1.1 浓氨水（浓度为25%~28%）：优级纯

3.1.2 乙腈：色谱纯

3.1.3 甲醇：色谱纯

3.1.4 三氯乙酸：分析纯

3.1.5 甲酸：色谱纯

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 2%三氯乙酸溶液：称取20 g三氯乙酸，用水溶解并稀释至1 L。

3.2.2 5%氨化甲醇溶液：取5 mL浓氨水，用甲醇定容至100 mL。

3.2.3 0.1%甲酸水溶液：取1 mL甲酸，用水定容至1 L。

3.2.4 甲醇水溶液（1+9，体积比）：量取10 mL甲醇于90 mL水中，混匀。

#### 3.3 标准品

3.3.1 甲硝唑标准品：纯度大于99.0%

3.3.2 甲硝唑-*d*<sub>4</sub>或相当者。

- 
- 3.3.3 羟基甲硝唑：纯度大于99.0%。
- 3.3.4 羟基甲硝唑-*d*<sub>2</sub>或相当者。
- 3.3.5 羟甲基甲硝咪唑：纯度大于99.0%。
- 3.3.6 二甲硝唑：又名迪美唑，纯度大于99.0%。
- 3.3.7 二甲硝唑-*d*<sub>3</sub>或相当者。
- 3.3.8 洛硝哒唑：又名罗硝唑，纯度大于99.0%。
- 3.3.9 洛硝哒唑-*d*<sub>3</sub>或相当者。
- 3.3.10 奥硝唑：纯度大于99.0%。
- 3.3.11 替硝唑：纯度大于99.0%。
- 3.3.12 苯硝咪唑：纯度大于99.0%。
- 3.3.13 异丙硝唑：纯度大于99.0%。
- 3.4 标准溶液配制：纯度大于99.0%。
- 3.4.1 硝基咪唑类化合物标准储备液（1 mg/mL）：分别准确称取10 mg（精确到0.01 mg）甲硝唑、二甲硝唑、羟基甲硝唑、羟甲基甲硝咪唑、洛硝哒唑、奥硝唑、替硝唑、苯硝咪唑、异丙硝唑标准品，分别用甲醇分别溶解定容至10 mL，-18℃保存12个月。
- 3.4.2 混合硝基咪唑类化合物标准中间液（10.0 mg/L）：分别准确吸取上述1 mg/mL标准储备液各0.1 mL至10 mL容量瓶中，用甲醇定容刻度，配制成浓度为10.0 mg/L的混合标准中间液。
- 3.4.3 混合硝基咪唑类化合物标准使用液（100 μg/L）：准确吸取上述10.0 mg/L标准中间液0.1 mL至10 mL容量瓶中，用甲醇定容刻度，配制成浓度为100 μg/L的混合标准使用液。
- 3.4.3 硝基咪唑类化合物同位素内标标准使用液：将同位素内标用甲醇按照适当的比例稀释，配制成100 μg/L的同位素内标标准使用液。
- 3.5 材料
- 3.5.1 Oasis MCX固相萃取柱（150 mg，6 mL）或等效柱。
- 3.5.2 聚丙烯离心管：50 mL。
- 3.5.3 聚丙烯离心管：15 mL。

## 4 仪器设备

---

4.1 液相色谱-三重四极杆质谱联用仪，配有电喷雾离子源。

4.2 电子天平：感量为0.01 g和0.0001 g。

4.3 高速低温离心机。

4.4 涡旋混合器。

4.5 均质机。

4.6 固相萃取仪。

4.7 超声波清洗仪。

4.8 氮吹仪。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样制备

5.1.1 禽畜肌肉取可食部分用绞拌机绞碎并混合均匀装入具塞样品瓶内，取样后密封标记，-18℃保存。

5.1.2 禽蛋类样品去壳后充分混匀，装入具塞样品瓶内，取样后密封标记，-18℃保存。

### 5.2 样品提取

称取试样2 g（精确至0.01 g）于50 mL离心管中，加入20 μL 100 μg/L同位素内标混合应用液，涡旋震荡1 min，再加入10 mL 2%三氯乙酸溶液，混匀后超声提取30 min，4℃ 10000 rpm 离心10 min，取上清液转移至50 mL离心管中待净化。

### 5.3 样品净化：

预先用5 mL甲醇、5 mL水，5 mL 2%三氯乙酸溶液依次活化MCX固相萃取小柱，然后将提取液转移到固相萃取柱上，上样完毕后依次用5 mL水、5 mL甲醇淋洗固相萃取柱，然后加5 mL 5%氨化甲醇洗脱，收集于洗脱液于40℃下用氮气吹干，用1 mL甲醇水溶液（1+9）复溶，转移至色谱小瓶中，待LC-MS/MS分析。

### 5.4 仪器参考条件

#### 5.4.1 液相色谱参考条件

5.4.1.1 色谱柱：Waters BEH C18柱（1.7μm，2.1 mm×100 mm）或相当者；

5.4.1.2 柱温：40℃。

5.4.1.3 流动相分别采用A为0.1%的甲酸水溶液，B为甲醇，采用的梯度洗脱：0-1.0 min，5%B；1.0-3.0 min，20%B；3.0-5.0 min，100%B；5.0-7.0 min，100%B；7.1 min，5%B。

5.4.1.4 流速：0.3 mL/min。

5.4.1.5 进样量：5  $\mu$ L。

5.4.2 质谱仪参考条件

5.4.2.1 离子源：电喷雾离子源（ESI）。

5.4.2.2 毛细管电压：1.0 kV；离子源温度：150℃；脱溶剂温度：400℃。

5.4.2.3 扫描方式：正离子扫描。

5.4.2.4 检测方式：多反应检测（MRM）。

5.4.2.5 锥孔电压、碰撞能量等电压值应优化至最优灵敏度。

5.4.2.6 定性离子对、定量离子对，锥孔电压及碰撞能量见表1。

表 1 目标化合物的主要参考质谱参数

化合物	英文	母离子 (m/z)	锥孔电压 (V)	子离子 (m/z)	碰撞电压 (eV)
羟基甲硝唑	metronidazole- hydroxy	188	25	123*	10
				126	14
羟基甲硝唑- $d_2$	metronidazole- hydroxy- $d_2$	190	30	125*	10
				128	14
羟甲基甲硝唑 <sup>a</sup>	2-hydroxymethyl-1- methyl-5- nitromidazole	158	30	55	16
				140*	10
甲硝唑	metronidazole	172	20	82	20
甲硝唑- $d_4$	metronidazole- $d_4$	176	30	128*	14
				82	22
洛硝哒唑	ronidazole	201	30	132*	14
				55	20
洛硝哒唑- $d_3$	ronidazole- $d_3$	204	30	140*	10
				55	20
二甲硝唑	dimetridazole	142	20	143*	10
				81	18
二甲硝唑- $d_3$	dimetridazole- $d_3$	145	25	96*	14
				83	20
替硝唑 <sup>b</sup>	tinidazole	248	30	99*	16
				121*	16
				128	22

苯硝咪唑 <sup>b</sup>	5-nitrobenzimidazole	164	20	91	18
				118*	15
奥硝唑 <sup>b</sup>	onidazole	220	20	82	18
				128*	11
异丙硝唑 <sup>b</sup>	ipronidazole	170	30	109	20
				124*	14

a内标为羟基甲硝唑-*d*<sub>2</sub>; b内标为二甲硝唑-*d*<sub>3</sub>; \*为定量离子

### 5.5定性测定

在相同实验条件下，样品中待测物质的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，变化范围应在±2.5%之间。

每种被测组分的质谱定性离子应出现，至少应包括选择一个母离子和两个子离子，且样品图谱中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液图谱中对应的定性离子的相对丰度进行比较，偏差不超过表3规定的范围，则可判定为样品中检出对应的待测物。

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 ≤ 10
允许最大偏差%	±20	±25	±30	±50

### 5.6标准曲线的制作

分别吸取100.0 μg/L混合硝基咪唑类化合物标准应用液10 μL、20 μL、50 μL、100 μL、200 μL、500 μL，各加入100.0 ng/mL硝基咪唑类化合物同位素内标应用液20 μL，用甲醇水溶液（1+9）定容至1.0 mL，制备成硝基咪唑类化合物含量分别为1 μg/L、2 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、20 μg/L、50 μg/L的标准系列，LC-MS/MS分析后绘制标准曲线。在优化的液相色谱串联质谱仪分析条件下，将标准系列溶液由低浓度到高浓度分别进样检测，以目标化合物色谱峰与对应内标色谱峰的峰面积比值-浓度作图，得到标准曲线回归方程，其线性相关系数应大于0.99。

### 5.7试样测定

取根据5.2、5.3处理得到的待测溶液进样，内标法计算待测液中目标物质的质量浓度，按6计算样品中待测物的含量。试液中待测物的响应值应在标准曲线线性范围内，超过线性范围则应适当减少取样量后重新测定。

## 6 分析结果的表述

---

试样中硝基咪唑类化合物的含量按式（1）计算

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

式中：

X——试样中硝基咪唑类化合物及其代谢物的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g/kg}$ ）；

C——试样中硝基咪唑类化合物及其代谢物按照内标法在标准曲线中对应的质量浓度，单位为纳克每毫升（ $\text{ng/mL}$ ）；

V——试样待测液的定容体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；

m——样品质量，单位为克（ $\text{g}$ ）；

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，保留2位有效数字（或小数点后2位）。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。

## 8 检出限

本方法条件下，禽肉和禽蛋中硝基咪唑类药物的检出限为 $0.2 \mu\text{g/kg}$ ，定量限为 $0.5 \mu\text{g/kg}$ 。

## 9 注意事项

9.1 市售的目标化合物标准品既有固态，也有液态，后者既包括单标溶液，也包括混合标准溶液。可根据实际需要购买。

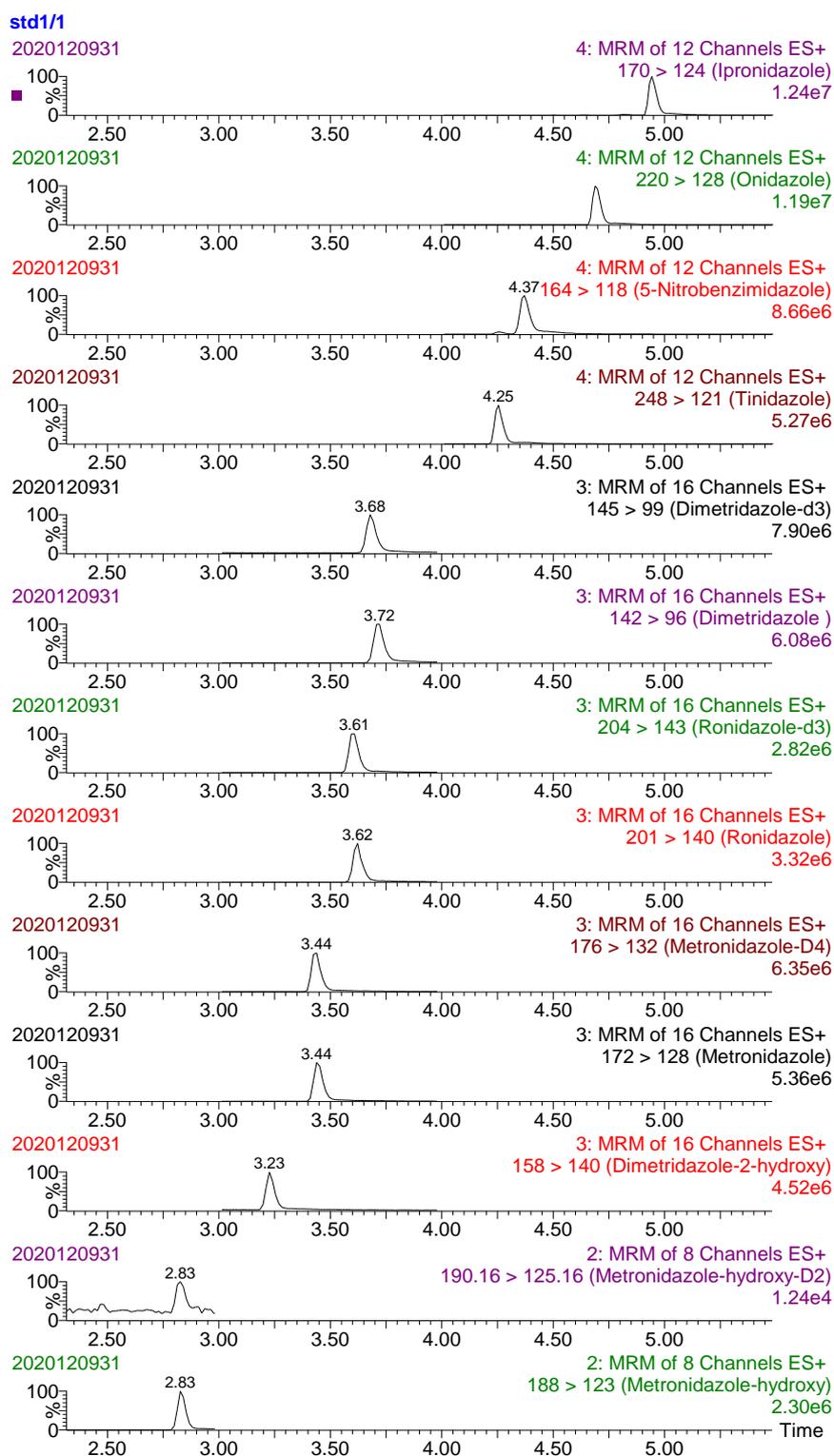
9.2 固相萃取柱使用前需验收考察柱效，使用标准溶液考察时绝对回收率应在80%以上，以保证样品中的硝基咪唑类抗生素的有效富集。

9.3 为了保证分析结果的准确，要求每批样品至少做一个加标回收实验，建议加标 $2 \mu\text{g/kg}$ ，硝基咪唑类药物回收率应为60-130%之间。

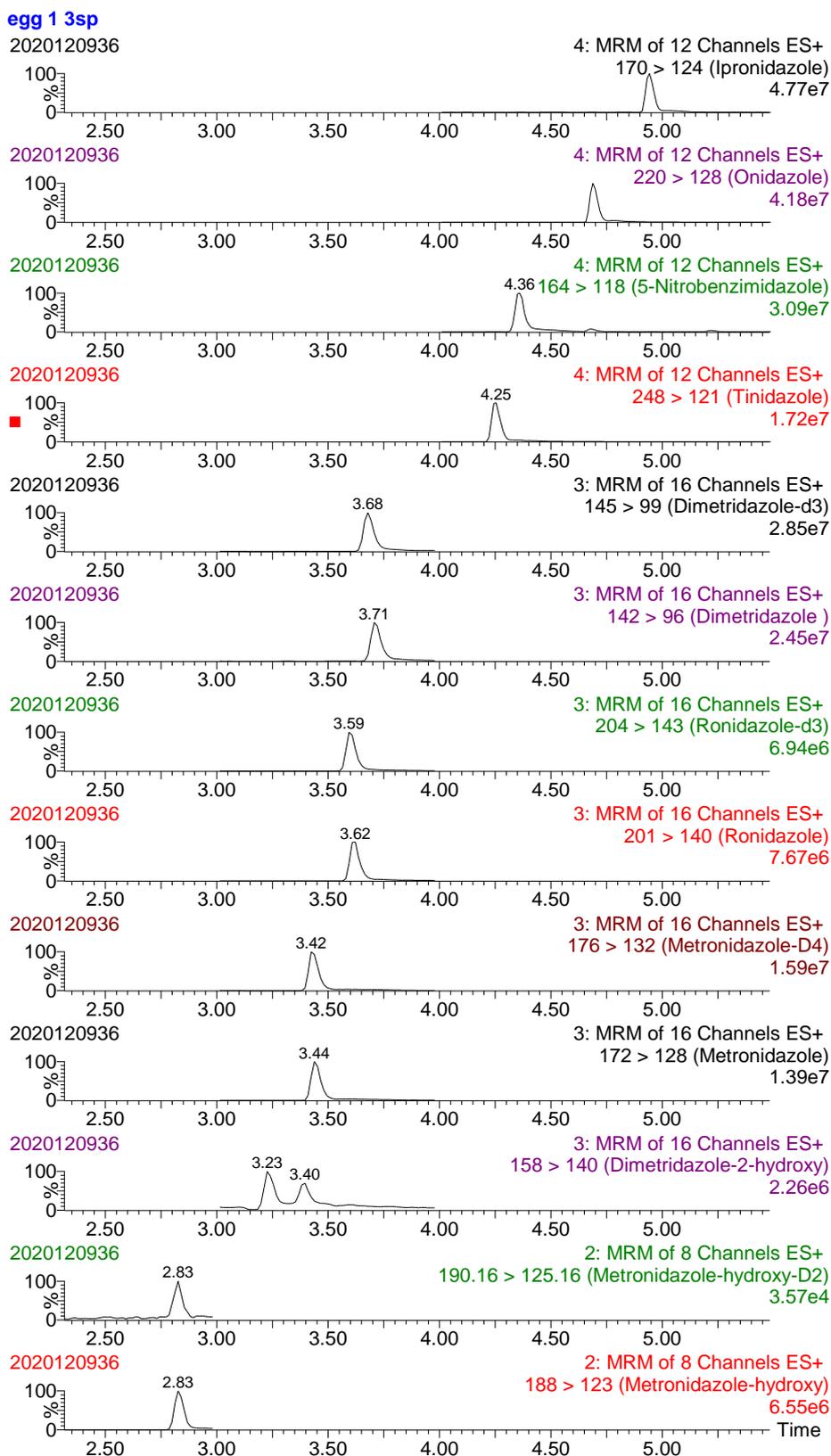
9.4 本操作程序中规定的液相色谱、质谱参数为参考条件。如锥孔电压、碰撞能量、以及液相梯度程序等均仅供参考，可根据实验室配置的设备情况酌情作适当调整。

附录 A

硝基咪唑类药物残留的液相色谱质谱图



A.1 硝基咪唑类药物标准溶液MRM色谱图



A.2 鸡蛋加标样品中硝基咪唑类药物MRM色谱图

## 八、水产品中渔用麻醉剂测定的标准操作程序

### 1 适用范围

本程序规定了水产品中 2 种渔用麻醉剂残留量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本程序适用于鱼、虾、贝类等水产品中丁香酚和 3-氨基苯甲酸乙酯甲基磺酸盐（MS-222）2 种渔用麻醉剂残留量的测定。

本程序的方法检出限和定量限：当称样量 5 g，丁香酚麻醉剂检出限为 0.30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；MS-222 检出限 0.14  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限 0.45  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 2 原理

试样用乙腈/水（80:20，v/v）提取，经 HMR 或 EMR 固相萃取小柱净化，常温下氮吹至近干，用 0.5 mL 甲醇/水(25:75，V/V)溶液复溶，液相色谱串联三重四极杆质谱检测，保留时间和质谱特征碎片离子丰度比定性，同位素内标法定量。

### 3 试剂

以下实验试剂除特别说明外均为优级纯，实验用水为 GB/T 6682 的一级水。

3.1 甲醇（CH<sub>4</sub>O）：色谱纯

3.2 乙腈（C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N）：色谱纯

3.3 无水硫酸钠

3.3 标准品

2 种渔用麻醉剂标准品和丁香酚-d<sub>3</sub> 标准品，参见附录 A，纯度 $\geq 95\%$ 。

3.4 标准溶液的配制

3.4.1 标准储备溶液（1 000 mg/L）：分别精确称取 2 种渔用麻醉剂标准品 0.01 g(精确到 0.0001 g)，用甲醇准确定容至 10 mL，振荡摇匀，配制成浓度均为 1 000 mg/L 的储备液。储存于-20℃冰箱中。

3.4.2 混合标准中间液（10.0 mg/L）：逐一吸取一定体积的单个渔用麻醉剂类化合物标准储备溶液（3.4.1）分别注入同一容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，稀释成 10.0 mg/L 的混合标准中间液，4℃避光密封保存。

3.4.3 标准曲线：使用时用空白基质配成不同浓度的标准工作溶液，其中 MS-222 工作曲线浓度为 0.1、1.0、10.0、20.0、50.0、100.0  $\mu\text{g/L}$ ；其他组分工作曲线浓度为 1.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0  $\mu\text{g/L}$ 。

#### 4 仪器与耗材

4.1 超高效液相色谱-电喷雾-串联三重四极杆质谱仪

4.2 冷冻离心机：转速不低于 12 000r/min

4.3 涡旋振荡器

4.4 分析天平：感量 0.1 mg 和 0.01 g

4.5 均质机

4.6 超声波振荡器

4.7 氮吹仪

4.8 纳鸥科技 Anavo HMR-Lipid 高效除脂专用柱, 600 mg, 6 mL,30/PK, 或安捷伦 Captiva EMR-Lipid 固相萃取柱, 600 mg, 6 mL

#### 5 操作步骤

##### 5.1 试样制备

鱼类，去头、骨、内脏，取肌肉等可食部位绞碎混合均匀；虾类清洗后，去虾头、虾皮、肠腺，得到整条虾肉绞碎混合均匀；贝类清洗后，收集全部的软组织和体液匀浆，混合均匀，-18℃以下冷冻保存，备用。

##### 5.2 样品提取

准确称取混匀样品 5 g（精确至 0.01 g）于 50 mL 聚丙烯离心管中，加入浓度为 10.0  $\mu\text{g/mL}$  的丁香酚-d3 内标溶液 25  $\mu\text{L}$ ，混匀静置 20 min。加入 4 mL 纯水，涡旋振荡混均后，加入乙腈溶液 16 mL，振荡 3 min，超声 30 min，10000 r/min 离心 5 min，取上清液待净化。

##### 5.3 样品净化

将合并后的上清液离心 10 min，取 6 mL 上清液加载到 HMR 或 EMR 固相萃取小柱上，正压收集全部流出液。取全部流出液，加入 1 g NaCl，振荡 5 min，离心 5 min。移取上层 4 mL 乙腈层于 15 mL 离心管中，常温下氮吹至近

干，用 0.5 mL 甲醇/水(25:75, V/V)溶液复溶，10000r/min 离心 5 min，取上清液供 LC-MS/MS 测定（相当于浓缩 2.5 倍）。

#### 5.4 测定

##### 5.4.1 仪器参考条件

###### 5.4.1.1 色谱条件

5.4.1.1.1 色谱柱：Kromasil EternityXT-2.5-PhenylHexy(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm) 或相当者；

5.4.1.1.2 柱温：40℃；

5.4.1.1.3 流动相：A 为甲醇，B 为超纯水；梯度洗脱：0~0.5 min, 25%A；0.5~1.5 min, 25%~60%A；1.5~5.5 min, 60%A；5.5~6.0 min, 60%~90%A；6.0~7.0 min, 90%~25%A；7.0~8.0 min, 25%A；

5.4.1.1.4 进样量 10 μL。

###### 5.4.1.2 质谱条件

5.4.1.2.1 离子源：电喷雾离子源（ESI）；

5.4.1.2.2 毛细管电压：2.50 kV，离子源温度：150℃，脱溶剂温度：500℃；

5.4.1.2.3 脱溶剂气流 N<sub>2</sub>，流速 800 L/h；锥孔气流 N<sub>2</sub>，流速 50 L/h；碰撞气体氩气；

5.4.1.2.4 检测方式：多反应检测（MRM）

5.4.1.2.5 扫描方式：正负离子扫描。

5.4.1.2.6 锥孔电压、碰撞能量等电压值应优化至最优灵敏度；

5.4.1.2.7 每种化合物的定量离子对、定性离子对、锥孔电压和碰撞能量，参见附录 B。

##### 5.4.2 定性及定量

###### 5.4.2.1 定性

在相同实验条件下，样品中待测物质的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，变化范围应在±2.5%之间。

每种被测组分的质谱定性离子应出现，至少应包括选择一个母离子和两个子离子，且样品图谱中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液图谱中对应的定性离子的相对丰度进行比较，偏差不超过表 1 规定的范围，则可判定为样品中检出对应的待测物。

表 1 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 ≤ 10
允许最大偏差%	± 20	± 25	± 30	± 50

#### 5.4.2.2 定量离子、定性离子

选择离子监测方式：定量离子、定性离子见附录 B，质谱图见附录 C。

#### 5.4.2.3 试样溶液的测定

将标准工作溶液和试样溶液依次注入液相色谱-串联质谱仪中，保留时间和定性离子定性，测得定量离子峰面积，待测样液中化合物的响应值应在仪器检测的定量测定线性范围之内。

### 5.5 标准曲线绘制及样品测定

在优化的液相色谱串联质谱仪分析条件下，将标准系列溶液由低浓度到高浓度分别进样检测，以目标化合物色谱峰与对应内标色谱峰的峰面积比值-浓度作图，得到标准曲线回归方程，其线性相关系数应大于 0.99。取根据 5.2、5.3 处理得到的待测溶液进样，内标法计算待测液中目标物质的质量浓度，按 6 计算样品中待测物的含量。试液中待测物的响应值应在标准曲线线性范围内，超过线性范围则应适当减少取样量后重新测定。

## 6 计算

试样中渔用麻醉剂含量按式（1）进行计算。

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

式中：

$X$  —— 试样中渔用麻醉剂的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

$c$  —— 试样被测液的浓度，单位为纳克每毫升（ $\text{ng}/\text{mL}$ ）；

$V$  —— 样品最终定容体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；

$m$  —— 试样质量，单位为克（ $\text{g}$ ）；

$f$  —— 稀释倍数。

计算结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

通过向阴性鱼肉样品基质中添加分析物进行测定，以确定方法的准确度和精

密度。首先精确称取 5.0 g 鱼肉样品，加入适量的内标及混合标准溶液，按优化的条件进行处理和测定，丁香酚采用内标法进行计算，MS-222 麻醉剂采用基质匹配外标法计算，结果见表 2。在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

表 2 阴性鱼肉样品基质中 7 种渔用麻醉剂的回收率及精密度 ( $n=6$ )

化合物	添加水平/ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	平均回收率 /%	相对标准偏差 /%
丁香酚	5	78.2	9.1
	50	72.6	11.5
	100	82.1	4.1
MS-222	0.5	106.0	20.1
	10	98.7	4.2
	100	101.5	2.2

## 8 注意事项

8.1 固相萃取柱使用前需验收考察柱效，柱子回收率应在 80%以上，以保证样品中渔用麻醉剂的有效吸附。

8.2 为了保证分析结果的准确，要求每批样品至少做一个加标回收实验，回收率应为 60-130%之间。

8.3 本操作程序中规定的液相色谱、质谱参数为参考条件。诸如锥孔电压、碰撞能量、以及液相梯度程序等均仅供参考，可根据实验室配置的设备情况酌情作适当调整。

8.4 本操作中目标组分均为易挥发成分，氮吹需在常温下进行，且避免吹干，以免造成目标物损失。

## 附录 A

(资料行附录)

表 A.1 7 种渔用麻醉剂化合物信息

序号	中文名称	英文名称	CAS 登录号	分子式	相对分子量
1	丁香酚	Eugenol	97-53-	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	164.20
2	MS-222	MS-222	886-86-2	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>5</sub> S	261.29
3	丁香酚- d3	Eugenol-d3	1335401-17-6	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> D <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	167.22

## 附录 B

(资料类附录)

表 B.1 7 种丁香酚类及内标化合物定量离子对、定性离子对、碰撞能量

渔用麻醉剂	ESI	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	锥孔电压 /V	碰撞能量 /eV
丁香酚	-	163	148 (1) 121	15	13 24
丁香酚-d3	-	166	148 (1) 121	15	13 24
MS-222	+	166	138 (1) 94 77	24	18 26 30

注：(1) 为定量离子；ESI: 电喷雾离子源

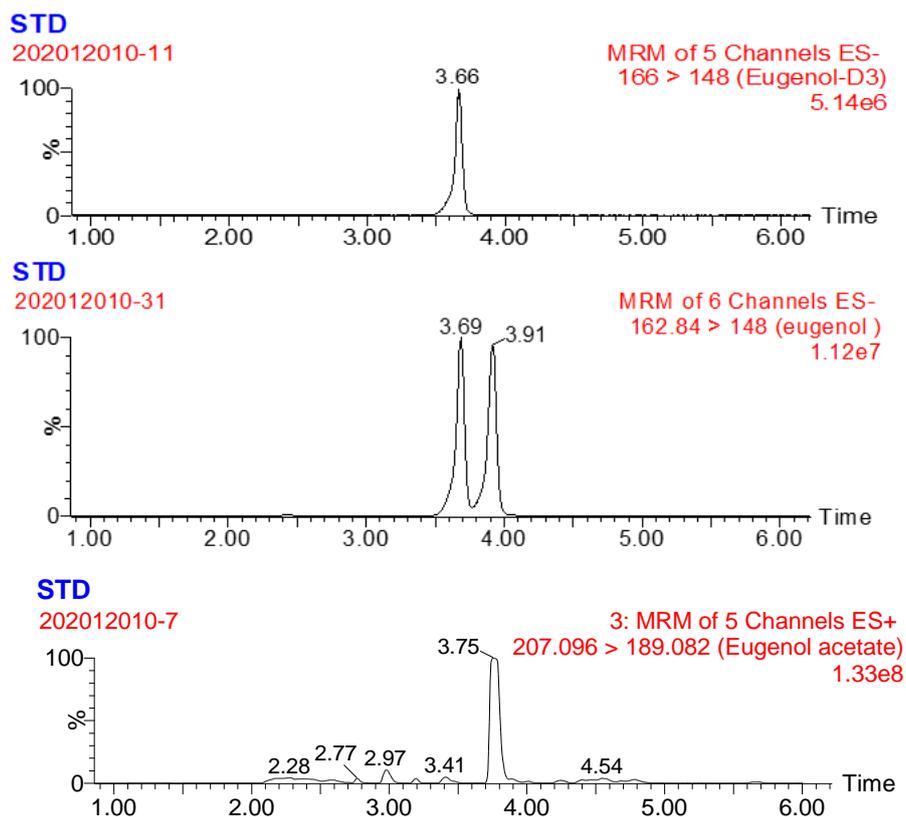


图 C.1 2 种渔用麻醉剂及内标化合物多重反应监测（MRM）色谱图

## 九、淡水鱼中地西洋和奥沙西洋残留量测定的标准操作程序 液相色谱-串联质谱法

### 1 适用范围

本程序规定了淡水鱼中地西洋和奥沙西洋残留量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本程序适用于淡水鱼中地西洋和奥沙西洋残留量的测定。

本程序的方法检出限和定量限：当称样量为 2 g，总定容体积为 1 mL 时，地西洋和奥沙西洋的检出限和定量限分别为 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 2 原理

鱼肉样品用乙腈提取，低温高速离心，上清液经 C18 固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱测定，同位素内标法定量。

### 3 仪器设备与试剂

#### 3.1 仪器设备

3.1.1 超高效液相色谱三重四极杆串联质谱联用仪（UPLC-MS/MS）：配有电喷雾离子源。

3.1.2 电子天平。

3.1.3 涡旋混合器。

3.1.4 水浴超声装置。

3.1.5 氮吹仪。

3.1.6 冷冻离心机。

#### 3.2 试剂

3.2.1 硫酸钠（ $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ）：分析纯。

3.2.2 氯化钠（ $\text{NaCl}$ ）：分析纯。

3.2.3 甲醇（ $\text{CH}_3\text{OH}$ ）：色谱纯。

3.2.4 乙腈（ $\text{CH}_3\text{CN}$ ）：色谱纯。

3.2.5 甲酸（ $\text{HCOOH}$ ）：色谱纯。

3.2.6 固相萃取柱：C18 固相萃取柱（500 mg，3 mL）。

### 3.2.7 微孔滤膜 (0.22 $\mu\text{m}$ )

## 3.3 试剂配制

3.3.1 流动相 0.1%甲酸水溶液：取 1.0 mL 甲酸，加水定容至 1000 mL，混匀。

3.3.2 40%甲醇水溶液：取 40 mL 甲醇，加水定容至 100 mL，混匀。

3.3.3 50%乙腈水溶液：取 50 mL 乙腈，加水定容至 100 mL，混匀。

## 3.4 标准品

地西洋 (Diazepam CAS: 439-14-5)

奥沙西洋 (Oxazepam CAS: 604-75-1)

D<sub>5</sub>-地西洋 (Diazepam-D<sub>5</sub> CAS: 65854-76-4)

D<sub>5</sub>-奥沙西洋 (Oxazepam-D<sub>5</sub> CAS: 65854-78-6)

## 3.5 标准溶液配制

3.5.1 标准物质溶液 (地西洋、奥沙西洋：1000 mg/L，D<sub>5</sub>-地西洋、D<sub>5</sub>-奥沙西洋：100 mg/L)。

3.5.2 标准储备液 (10 mg/L)：准确吸取地西洋和奥沙西洋标准物质溶液 100  $\mu\text{L}$ ，分别用 50%乙腈水(3.3.3)稀释定容至 10 mL，得到地西洋和奥沙西洋的单标标准储备液，于 4 °C 贮存，保存期为 6 个月。

3.5.3 标准中间液 (1 mg/L)：分别准确吸取地西洋和奥沙西洋的单标标准储备液 (3.5.2) 1 mL，用 50%乙腈水(3.3.3)稀释定容至 10 mL，得到地西洋和奥沙西洋的单标标准中间液，于 4 °C 贮存，保存期为 1 个月。

3.5.4 混合标准应用液 (200  $\mu\text{g/L}$ )：准确吸取地西洋和奥沙西洋的单标标准中间液 (3.5.3) 2 mL，用 50%乙腈水(3.3.3)定容至 10 mL，得到 200  $\mu\text{g/L}$  地西洋和奥沙西洋混合标准应用液。按照稀释浓度，现配现用。

3.5.5 D<sub>5</sub>-地西洋、D<sub>5</sub>-奥沙西洋内标中间液 (1 mg/L)：准确吸取 D<sub>5</sub>-地西洋和 D<sub>5</sub>-奥沙西洋标准物质溶液 100  $\mu\text{L}$ ，分别用 50%乙腈水(3.3.3)稀释定容至 10 mL，得到 D<sub>5</sub>-地西洋和 D<sub>5</sub>-奥沙西洋的单标内标中间液，于 4 °C 贮存，保存期为 1 个月。

3.5.6 D<sub>5</sub>-地西洋、D<sub>5</sub>-奥沙西洋混合内标应用液 (200  $\mu\text{g/L}$ )：分别取 D<sub>5</sub>-地西洋、D<sub>5</sub>-奥沙西洋的单标内标中间液 (3.5.5) 2 mL，用 50%乙腈水(3.3.3)定容至 10 mL，得到 200  $\mu\text{g/L}$  D<sub>5</sub>-地西洋和 D<sub>5</sub>-奥沙西洋混合内标应用液。按照稀释浓度，现配现用。

## 4 样品处理及分析

4.1 试样的制备和保存：取鱼肉可食部分充分绞碎，匀质。分出 500 g 作为试样，试样置于-20℃ 以下避光保存。

### 4.2 提取

准确称取约 2.0 g（精确至 0.001 g）鱼肉样品于 50 mL 聚丙烯离心管中，加入 50  $\mu$ L 200  $\mu$ g/L 的混合内标应用液（3.5.6），加入 10 mL 乙腈，涡旋 30 min，超声 20 min。加入 1 g 氯化钠和 4 g 硫酸钠，4℃ 以 4700 r/min 离心 6 min，转移全部上清液至 15 mL 聚丙烯离心管中，残渣用 5 mL 乙腈重复提取一次，合并上清液。40℃ 水浴中氮气吹干，用 3 mL 40% 甲醇水溶液（3.3.2）复溶，待净化。

### 4.3 净化

C18 柱依次用 3 mL 甲醇和 3 mL 水活化，提取液离心后过柱，用 3 mL 40% 甲醇水（3.3.2）淋洗，抽干柱内液体后用 3 mL 甲醇洗脱于小试管中，40℃ 水浴中氮气吹干，用 40% 甲醇水（3.3.2）定容至 1 mL，过 0.22  $\mu$ m 滤膜后待 LC-MS/MS 分析。

## 5 测定与计算

### 5.1 液相色谱参考条件

5.1.1 色谱柱：ACQUITY UPLC® BEH C18 液相色谱柱（50 mm×2.1 mm，1.7  $\mu$ m），或性能相当者。

5.1.2 流动相：流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液，流动相 B 为甲醇。流速为 0.3 mL/min，梯度洗脱，梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间 min	流动相 A %	流动相 B %
0.0	60	40
0.5	60	40
3.0	30	70
3.5	5	95

4	5	95
4.1	60	40
6	60	40

5.1.3 柱温：40℃。

5.1.4 进样量：5 μL。

5.2 质谱参考条件

5.2.1 离子源：电喷雾离子源（ESI）。

5.2.2 扫描方式：正离子扫描。

5.2.3 检测方式：多反应监测（MRM）。

5.2.4 离子源温度：500℃。

5.2.5 雾化气、干燥气均为高纯氮气，使用前应调节各气体流量以使质谱灵敏度达到检测要求。

5.2.6 定量离子对、定性离子对、去簇电压及碰撞能量见表 2。

表 2 地西洋及奥沙西洋质谱参数

序号	化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压 V	碰撞能量 eV
1	地西洋	285.1	154.1*	100	35
			193.1	100	50
2	D <sub>5</sub> -地西洋	289.7	198.3*	100	43
			227.1	100	34
3	奥沙西洋	287.3	241.1*	140	30
			269.1	140	19
4	D <sub>5</sub> -奥沙西洋	292.1	246.0*	140	30
			274.2	140	20

注：带\*为定量离子。

5.3 标准曲线的制作

分别吸取地西洋和奥沙西洋混合标准应用液（3.5.4）及 D<sub>5</sub>-地西洋、D<sub>5</sub>-奥沙西洋混合内标应用液（3.5.6）适量，用 40% 甲醇水（3.3.2）配制成地西洋和奥沙西洋含量为 1.0 μg/L、2.0 μg/L、5.0 μg/L、10 μg/L、20 μg/L、50 μg/L 的标

准溶液（内标浓度 10  $\mu\text{g/L}$ ）。将混合标准系列注入超高效液相色谱-串联质谱仪，得到地西洋和奥沙西洋及其同位素内标的色谱图和峰面积。以目标化合物的浓度为横坐标，以目标化合物与其同位素内标的峰面积比为纵坐标，绘制标准曲线。标准溶液的色谱图见附录 A 图 A.1 和 A.2。

#### 5.4 试样溶液的测定

将 5  $\mu\text{L}$  待测试样溶液注入超高效液相色谱-串联质谱仪，测得峰面积。以保留时间（偏差在  $\pm 2.5\%$  之内）和监测离子的相对丰度比（监测离子相对丰度的最大允许偏差见表 3）定性。根据工作曲线得到待测试样溶液中地西洋和奥沙西洋的质量浓度。

表 3 监测离子相对丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20~50	>10~20	$\leq 10$
允许的相对偏差	$\pm 20\%$	$\pm 25\%$	$\pm 30\%$	$\pm 50\%$

## 6 分析结果的计算

试样中目标化合物的含量按式（1）计算：

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

式中：

- X —— 试样中目标化合物的含量，单位为微克每千克 ( $\mu\text{g/kg}$ )；
- c —— 试样溶液中目标化合物的质量浓度，单位为微克每升 ( $\mu\text{g/L}$ )；
- V —— 试样溶液的体积，单位为毫升 (mL)；
- m —— 试样的质量，单位为克 (g)；

以重复条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15%。

## 8 说明

8.1 文本中的液相色谱质谱参考条件是在 AB SCIEX QTRAP 5500 仪器上获得，各种类型的液相色谱质谱仪可参考借鉴。

8.2 加乙腈提取时，每加完一个样品应立即进行涡旋混匀，以防止乙腈过早使蛋白凝固变性，降低提取效率。

8.3 固相萃取过柱净化前的上清液应尽可能澄清透明，浑浊可能影响过柱净化效果，应进一步离心或过滤。

## 附录 A

### 地西洋、D<sub>5</sub>-地西洋和奥沙西洋、D<sub>5</sub>-奥沙西洋的标准品色谱图

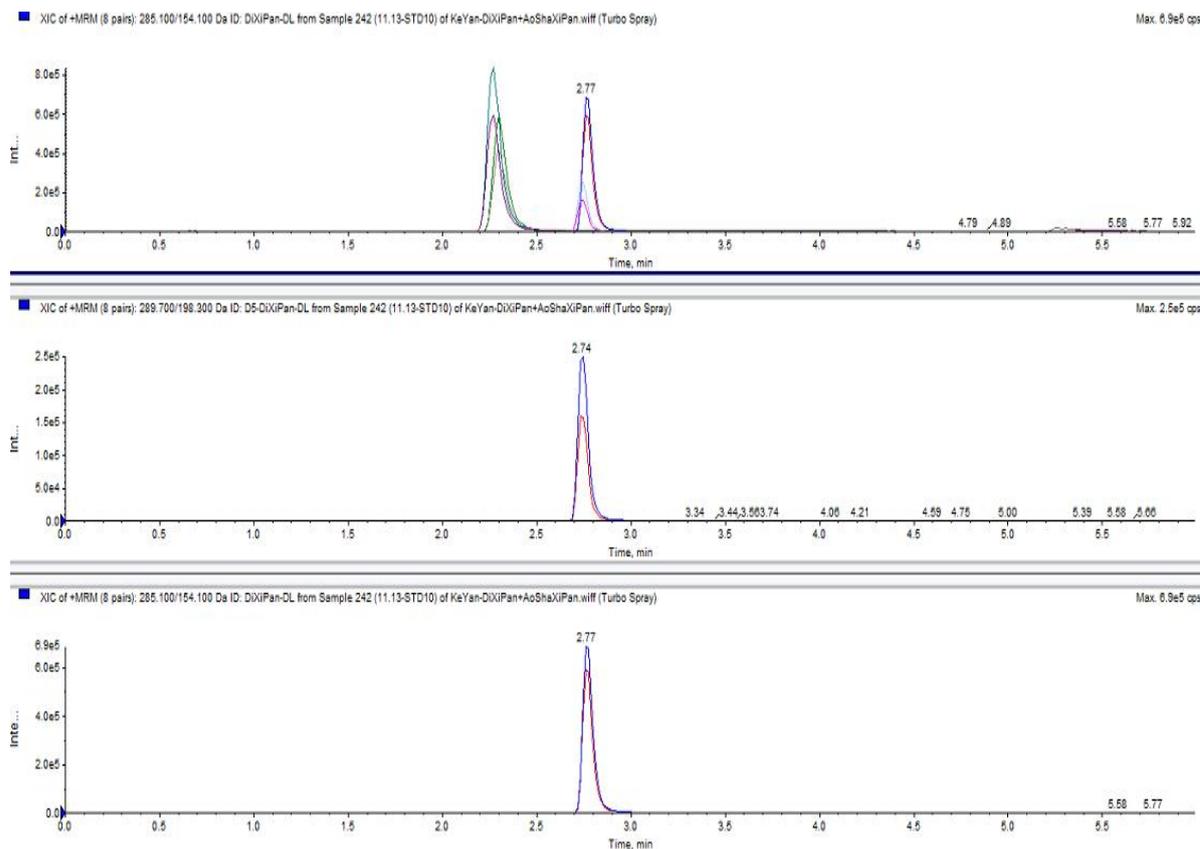


图 A.1 10  $\mu\text{g/L}$  地西洋和 D<sub>5</sub>-地西洋的多反应监测色谱图

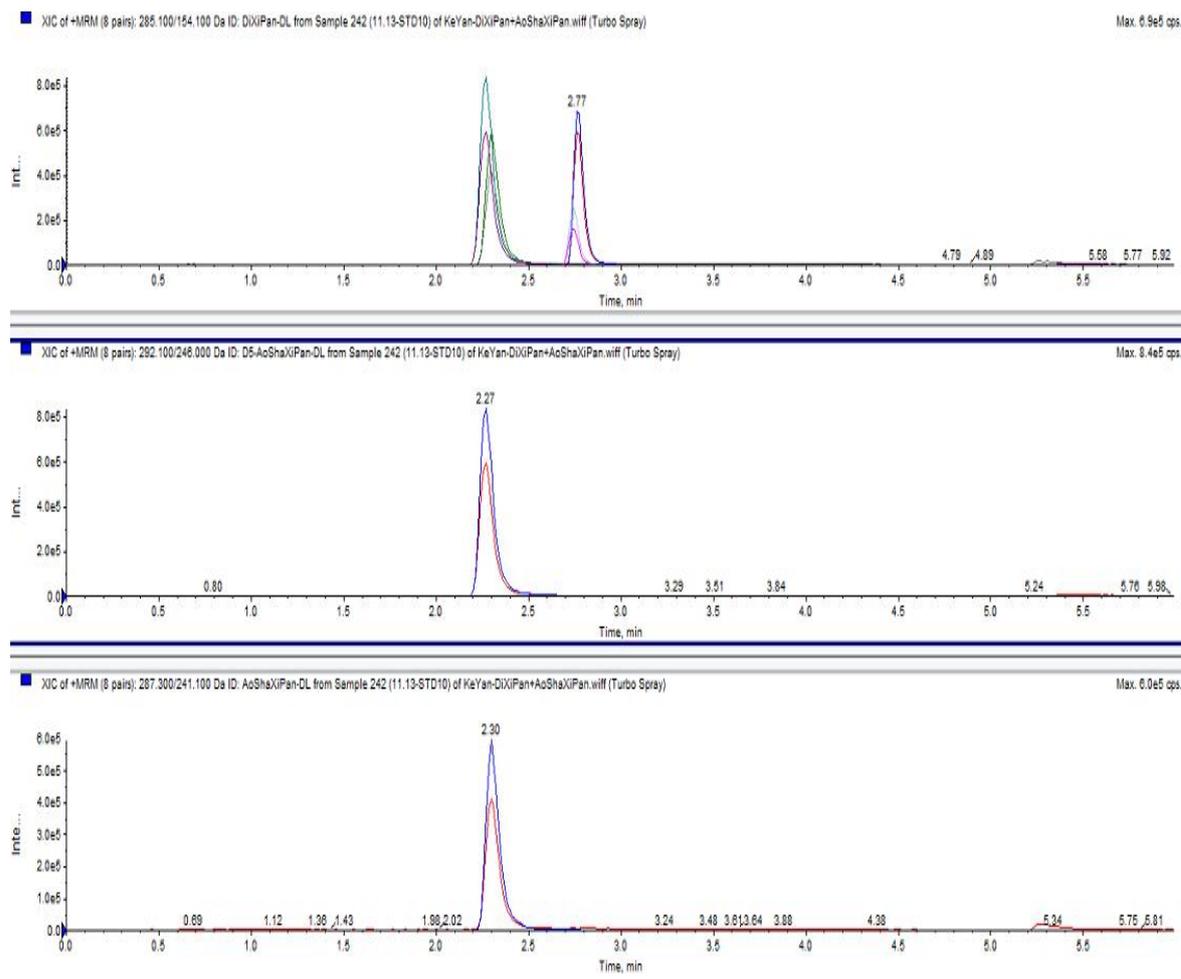


图 A.2 10  $\mu\text{g/L}$  奥沙西洋和 D<sub>5</sub>-奥沙西洋的多反应监测色谱图

## 十、禽肉和禽蛋中抗球虫药物残留测定的标准操作程序

### 1 适用范围

本程序规定了动物性食品中抗球虫药物的液相色谱-串联质谱测定方法。

本程序适用于畜禽肉和禽蛋中抗球虫药物的测定。

地克珠利和尼卡巴嗪（以4,4-二硝基均二苯脲计）的方法检出限和定量限分别为0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。托曲珠利、托曲珠利亚砒和托曲珠利砒的方法检出限和定量限分别为1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和3.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 2 原理

试样中尼卡巴嗪（以4,4-二硝基均二苯脲计）、地克珠利、托曲珠利、托曲珠利亚砒和托曲珠利砒等抗球虫药物采用乙腈提取，硅胶分散固相萃取和正己烷脱脂净化，液相色谱-串联质谱仪检测，同位素内标法定量。

### 3 试剂和材料

除另有说明，所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 乙腈（ $\text{CH}_3\text{CN}$ ）：色谱纯。

3.1.2 甲醇（ $\text{CH}_3\text{OH}$ ）：色谱纯。

3.1.3 甲酸（ $\text{HCO}_2\text{H}$ ）：色谱纯。

3.1.4 正己烷（ $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ）：色谱纯。

3.1.5 二甲基甲酰胺（ $\text{HCON}(\text{CH}_3)_2$ ）。

3.1.6 氯化钠（ $\text{NaCl}$ ），于500  $^\circ\text{C}$ 烘烤12 h。

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 0.03%甲酸水溶液：吸取甲酸0.3 mL用水稀释至1000 mL，混匀。

#### 3.3 抗球虫药物标准品

3.3.1 4,4-二硝基均二苯脲（ $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_5$ ）：纯度 $\geq 98\%$ 。

3.3.2 地克珠利（ $\text{C}_{17}\text{H}_9\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_2$ ）：纯度 $\geq 98\%$ 。

3.3.3 托曲珠利（ $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ ）：纯度 $\geq 98\%$ 。

3.3.4 托曲珠利亚砒（ $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$ ）：纯度 $\geq 98\%$ 。

3.3.5 托曲珠利砒 ( $C_{18}H_{14}F_3N_3O_6S$ ) : 纯度  $\geq 98\%$ 。

3.3.6 4,4-二硝基均二苯脲- $D_8$  ( $C_{13}H_2D_8N_4O_5$ ) : 纯度  $\geq 98\%$ 。

3.3.7 托曲珠利- $D_3$  ( $C_{18}H_{11}D_3F_3N_3O_4S$ ) : 纯度  $\geq 98\%$ 。

注: 标准物质可以使用满足溯源要求的商品化标准溶液。

#### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 单一标准和单一内标储备液 (100 mg/L) : 分别准确称取4,4-二硝基均二苯脲、地克珠利、托曲珠利、托曲珠利亚砒、托曲珠利砒、4,4-二硝基均二苯脲- $D_8$ 和托曲珠利- $D_3$ 约2.5 mg (精确至0.01 mg), 用二甲基甲酰胺溶解并分别转移到不同的25 mL容量瓶中, 用二甲基甲酰胺定容到刻度, 摇匀, 于-18 °C冰箱中避光保存, 有效期为12个月。

3.4.2 混合标准中间液 (10 mg/L) : 准确吸取4,4-二硝基均二苯脲、地克珠利、托曲珠利、托曲珠利亚砒和托曲珠利砒各单一标准储备液1 mL, 用二甲基甲酰胺定容到10 mL, 混匀, 于-18 °C冰箱中避光保存, 有效期为12个月。

3.4.3 混合标准使用液 (1 mg/L) : 准确吸取混合标准中间液1 mL, 用甲醇定容到10 mL, 混匀, 于-18 °C冰箱中避光保存, 有效期为6个月。

3.4.4 混合内标使用液 (0.5 mg/L) : 准确吸取4,4-二硝基均二苯脲- $D_8$ 和托曲珠利- $D_3$ 单一内标储备液0.05 mL, 用甲醇定容到10 mL, 混匀, 于-18 °C冰箱中避光保存, 有效期为3个月。

注: 标准标准溶液从冰箱中取出后必须要回温到室温, 如果出现沉淀物, 需要超声溶解。

3.4.5 混合标准系列工作溶液: 分别准确吸取混合标准使用液适量, 用乙腈-水溶液(1:1)稀释定容, 配制成浓度分别为0.25  $\mu\text{g/L}$ 、0.75  $\mu\text{g/L}$ 、2.0  $\mu\text{g/L}$ 、5.0  $\mu\text{g/L}$ 、10.0  $\mu\text{g/L}$ 、25.0  $\mu\text{g/L}$ 、50.0  $\mu\text{g/L}$ 的系列工作溶液, 每毫升中加入混合内标使用液10  $\mu\text{L}$ 。临用现配。

#### 3.5 材料

中性硅胶: 粒径60-200  $\mu\text{m}$ 。

### 4 仪器和设备

4.1 液相色谱-串联质谱仪: 配有电喷雾离子源。

4.2 天平: 感量为0.01 mg和0.01 g。

- 4.3 匀浆机。
- 4.4 涡旋振荡器。
- 4.5 高速离心机：4000 rpm。
- 4.6 超声波清洗器：30 kHz ~50kHz。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样制备

取切成小块后的畜禽肉或去壳后的禽蛋0.5~1 kg, 高速匀浆处理, 混合均匀, 分装于2~3个样品瓶中, 每瓶不少于100 g, 密封, 于-18 °C冷冻保存。

### 5.2 试样处理

准确称取约5 g试样（精确至0.01 g）于50 mL离心管中, 准确加入100 μL混合内标使用液（0.5 mg/L）、2 mL水（鸡蛋不用加水）、10 mL乙腈, 涡旋振荡5 min, 再超声提取20 min。之后加入氯化钠约2 g, 混匀。于4000 rpm离心5 min。取1 mL上清液于事先加入50 mg 硅胶的2 mL离心管中, 涡旋混匀, 于4000 rpm离心5 min, 取0.5 mL上清液于2 mL离心管中, 加入0.5 mL水和0.5 mL正己烷, 涡旋混匀, 4000 rpm离心5 min, 弃去上层正己烷, 下层经0.22 μm微孔滤膜过滤后LC-MS/MS测定。

### 5.3 仪器参考条件

#### 5.3.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱：C<sub>18</sub> 色谱柱（柱长100 mm, 柱内径2.1 mm, 填料粒径2.5 μm）或同等性能的色谱柱；
- b) 流动相：A为0.03 %甲酸水溶液, B为甲醇, 梯度洗脱程序见表1；
- c) 流速：0.35 mL/min；
- d) 柱温：40 °C；
- e) 进样量：5 μL。

表1 梯度洗脱程序

时间 (min)	0.03%甲酸水 (%)
0.0	45
3.0	90

5.0	90
5.5	45
9.0	45

### 5.3.2 质谱条件

电离方式：电喷雾离子源负离子模式（Electron spray ionization, ESI<sup>-</sup>）；辅助加热气：空气，10 L/min；雾化气：氮气，3 L/min；干燥气：氮气，10 L/min；碰撞气：氩气；接口温度：300 °C；加热块温度：400 °C；脱溶剂管温度：250 °C；MRM多反应监测模式，参数见表2。

表 2 抗球虫药物的质谱参数

化合物	扫描模式	定量离子对 m/z (CE, eV)	定性离子对 m/z (CE, eV)	内标
4,4-二硝基均二苯脲	ESI <sup>-</sup>	301>137 (15)	301>107 (33)	4,4-二硝基均二苯脲-D <sub>8</sub>
地克珠利	ESI <sup>-</sup>	405>334 (18)	405>335 (18)	
托曲珠利	ESI <sup>-</sup>	424>42 (20)	425>42 (20)	托曲珠利-D <sub>3</sub>
托曲珠利亚砒	ESI <sup>-</sup>	440>42 (15)	440>371 (20)	
托曲珠利砒	ESI <sup>-</sup>	456>42 (20)	457>42 (20)	
4,4-二硝基均二苯脲-D <sub>8</sub>	ESI <sup>-</sup>	309>141 (15)	309>111 (33)	/
托曲珠利-D <sub>3</sub>	ESI <sup>-</sup>	427>42 (20)	428>42 (20)	/

### 5.4 定性确证

按照仪器参考条件测定试样溶液和标准工作溶液，试样中的抗球虫药物色谱峰与标准工作溶液保留时间相比，变化范围在±2.5 %之内。抗球虫药物的质谱定性离子必须出现，且同一检测批次，试样中抗球虫药物的两个子离子对的相对丰度比(k)与浓度相当的标准工作溶液相比，其允许偏差不超过表3规定的范围，则可判定为试样中存在抗球虫药物。

表 3 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>50	50≥k>20	20≥k>10	k≤10
允许的最大偏差 (%)	± 20	± 25	± 30	± 50

## 5.5 定量测定

### 5.5.1 工作曲线的制作

将抗球虫药物混合标准系列工作溶液分别注入液相色谱-质谱/质谱仪中，测定相应的色谱峰面积，以标准系列工作溶液每毫升所含待测物的质量为横坐标，以待测物色谱峰面积与内标峰面积之比为纵坐标，绘制工作曲线。抗球虫药物的色谱图参见附录A。

### 5.5.2 试样溶液的测定

将试样溶液按仪器参考条件进行测定，得到相应的试样溶液的色谱峰面积。根据工作曲线得到试样溶液中抗球虫药物的含量。

## 6 结果计算和表述

试样中待测物含量按式（1）计算：

$$X = \frac{\rho \times f}{m} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

$X$ ——试样中待测物的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

$\rho$ ——由工作曲线得到的试样溶液中待测物的质量，单位为纳克（ $\text{ng}$ ）；

$f$ ——内标稀释倍数（ $\text{mL}$ ）（按本程序操作， $f=10$ ）；

$m$ ——试样的称样量，单位为克（ $\text{g}$ ）。

计算结果保留到小数点后一位。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。

## 8 说明

8.1 尼卡巴嗪是4,4-二硝基均二苯脲和羟基二甲基嘧啶的混合物，其残留标志物以4,4-二硝基均二苯脲计。若购买的标准品是尼卡巴嗪，配制时需要折算成4,4-二硝基均二苯脲的量（已经注明以4,4-二硝基均二苯脲计的尼卡巴嗪标准溶液不需要折算）。

8.2 鉴于地克珠利等抗球虫药物标准储备液的配制难度较大，需要较大量的二甲基甲酰胺，建议直接购买有证标准溶液。

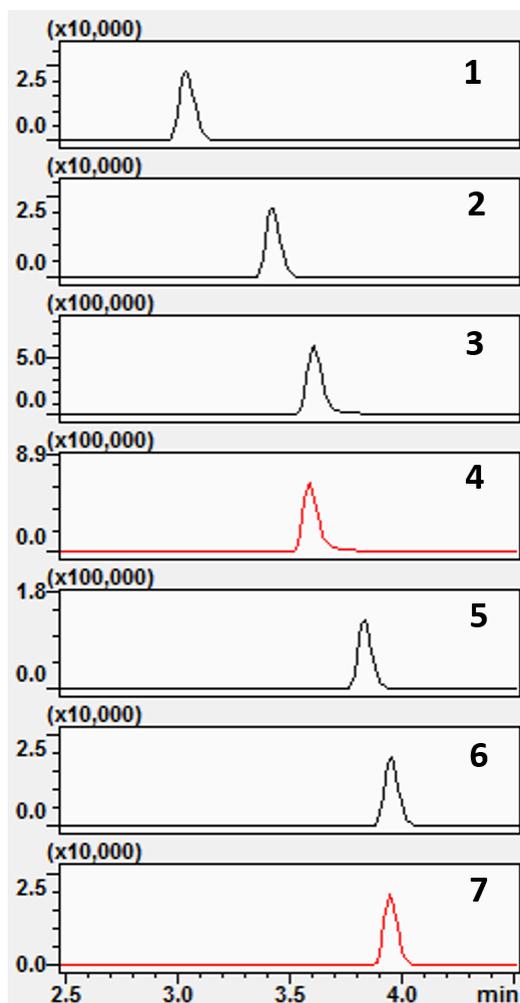
8.3 地克珠利和4,4-二硝基均二苯脲等在甲醇中的溶解度很低，所有标准储备液均建议采用二甲基甲酰胺配制，且储备液浓度不宜超过100 mg/L，超过此浓度无法完全溶解。混合标准中间液也需要采用二甲基甲酰胺配制，否则，-18 °C冰箱放置后容易出现沉淀物。

8.4 本程序涉及的抗球虫药物，流动相不同，仪器响应差异较大，响应值0.1%氨水/甲醇>水/甲醇>0.03%甲酸水/甲醇>0.1%甲酸水/甲醇，考虑到色谱保留的稳定性和基质效应，本程序采用0.03%甲酸水/甲醇作为流动相。如果灵敏度达不到本程序规定的检出限要求，可以考虑采用0.1%氨水/甲醇作为流动相，但需要采用耐碱的色谱柱，且需要注意控制色谱峰的保留时间偏离，不要偏差过大。

8.5 如果灵敏度达不到本程序规定的检出限要求，可以适当增加提取液，如2 mL提取液，加入100 mg硅胶净化后氮吹到约0.1 mL，加1 mL乙腈-水溶液（1:1）溶解、过滤膜后测定。

## 附录 A

## 抗球虫药物标准溶液质量色谱图

图 A 抗球虫药物的 LC-MS/MS 谱图 (5  $\mu\text{g/L}$ )

- 1、托曲珠利亚砒；2、托曲珠利砒；3、4,4-二硝基均二苯脲；4、4,4-二硝基均二苯脲- $\text{D}_8$ ；5、地克珠利；6、托曲珠利；7、和托曲珠利- $\text{D}_3$

## 第六节 食品加工贮藏产生的污染物

序号	手册提供的方法	起草人
1	食品中氯丙醇酯和缩水甘油酯的 $^{13}\text{C}_3$ 同位素稀释-气相色谱-串联质谱测定法标准操作程序	傅武胜 蓝丽华 李益 陈锦雄

## 一、食品中氯丙醇酯和缩水甘油酯的 $^{13}\text{C}_3$ 同位素稀释-气相色谱-串联质谱测定法标准操作程序

### 1 适用范围

本操作程序适用于油脂及其制品、婴幼儿配方食品、乳及乳制品、水产动物及其制品、肉及肉制品、膨化食品、焙烤食品和油炸小食品中 3-氯-1,2-丙二醇酯（3-MCPDE）、2-氯-1,3-丙二醇酯（2-MCPDE）和缩水甘油酯(GE)含量的  $^{13}\text{C}_3$  同位素稀释-气相色谱-串联质谱法测定。

当植物油脂、动物油脂的称取量为 0.1 g 时，3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE 的检出限为 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。当婴幼儿配方食品（固体）的称取量为 0.5 g 时，3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE 的检出限为 6.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。液体试样称取量为 3.0 g 时，3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE 的检出限为 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 3.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

鱼油粉等油脂制品和其他食品中 3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE 的检出限和定量限，需根据植物油脂、动物油脂中 3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE 的检出限和定量限和试样的脂肪含量折算得到。

### 2 原理

在提取的脂肪或油脂试样中，加入同位素内标，用氢氧化钠-甲醇水解，使氯丙醇脂肪酸酯、缩水甘油酯（GE）分别转化为氯丙醇和缩水甘油，加入酸化溴化钠终止水解，水解生成的缩水甘油转化为 3-溴-1,2 丙二醇（3-MBPD），溶液经异辛烷萃取后，水相用苯基硼酸衍生，以气相色谱-串联质谱仪检测，内标法定量。

在碱水解过程中，少部分 3-氯-1,2 丙二醇脂肪酸酯（3-MCPDE）的水解产物 3-氯-1,2-丙二醇（3-MCPD）可转化为缩水甘油，溴化后生成与缩水甘油酯处理后的同一产物 3-MBPD。因此，在计算试样中 GE 含量时，需要扣除 3-MCPDE 水解转化的含量。

### 3 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

#### 3.1 试剂

- 3.1.1 甲醇 (CH<sub>3</sub>OH)。
- 3.1.2 异辛烷 (C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>)：色谱纯。
- 3.1.3 丙酮 (CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>)。
- 3.1.4 甲苯 (C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>)：色谱纯。
- 3.1.5 甲基叔丁基醚 (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>O)。
- 3.1.6 硫酸 (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)：纯度≥98%。
- 3.1.7 苯基硼酸 (C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>BO<sub>2</sub>)：纯度≥97%。
- 3.1.8 溴化钠 (NaBr)：纯度≥99.5%。
- 3.1.9 氢氧化钠 (NaOH)。
- 3.1.10 无水硫酸钠 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)。
- 3.1.11 氨水 (NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)：质量分数约 25%。
- 3.1.12 乙醇 (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)：体积分数≥95%。
- 3.1.13 乙醚 (C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O)。
- 3.1.14 石油醚：沸程为 30 °C~60 °C。
- 3.1.15 乙二醇 (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>)。

### 3.2 溶液配制

- 3.2.1 25%硫酸溶液：量取 25 mL 硫酸缓缓倒入 75 mL 水中，并不断搅拌，冷却至室温后转移至 100 mL 容量瓶中，加水定容至刻度，混匀。
- 3.2.2 酸化溴化钠溶液 (600 g/L)：称取 60 g 溴化钠，加水溶解，转移至 100 mL 容量瓶中，加入 3.5 mL 25%硫酸溶液，用水定容至刻度，混匀。
- 3.2.3 氢氧化钠-甲醇溶液 (0.35 mol/L)：称取 3.5 g 氢氧化钠，加入甲醇溶解，转移至 250 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度，混匀，转移至塑料瓶中，于 10 °C 下保存。
- 3.2.4 乙醚-石油醚溶液 (1+1)：量取乙醚和石油醚各 100 mL，混匀。
- 3.2.5 1%乙二醇溶液：移取 100 μL 乙二醇，加水定容至 10 mL，混匀。
- 3.2.6 丙酮-水溶液 (19+1)：量取 95 mL 丙酮，加入 5 mL 水，混匀。
- 3.2.7 苯基硼酸溶液：称取 12 g 苯基硼酸，加入 100 mL 丙酮-水溶液 (19+1)，充分振摇；若出现溶解不完全，可取上清液用于衍生。室温下保质期 3 个月。

### 3.3 标准品

- 3.3.1 3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯 (C<sub>35</sub>H<sub>67</sub>ClO<sub>4</sub>, CAS 号 51930-97-3)：纯度≥98%，

或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.3.2  $^{13}\text{C}_3$ -3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯 ( $\text{C}_{32}^{13}\text{C}_3\text{H}_{67}\text{ClO}_4$ , 缩写  $^{13}\text{C}_3$ -3-MCPDE): 纯度 $\geq 96\%$ 。

3.3.3 2-氯-1,3-丙二醇硬脂酸二酯 ( $\text{C}_{39}\text{H}_{75}\text{ClO}_4$ , CAS 号 26787-56-4): 纯度 $\geq 98\%$ , 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.3.4  $\text{D}_5$ -2-氯-1,3-丙二醇硬脂酸二酯 ( $\text{C}_{39}\text{H}_{70}\text{D}_5\text{ClO}_4$ , CAS 号 1329796-49-7, 缩写  $\text{D}_5$ -2-MCPDE): 纯度 $\geq 98\%$ 。

3.3.5 缩水甘油棕榈酸酯 ( $\text{C}_{19}\text{H}_{36}\text{O}_3$ , CAS 号 7501-44-2): 纯度 $\geq 98\%$ , 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.3.6  $\text{D}_5$ -缩水甘油棕榈酸酯 ( $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{D}_5\text{O}_3$ , CAS 号 1794941-80-2, 缩写  $\text{D}_5$ -GE): 纯度 $\geq 98\%$ 。

以上标准品的其他信息见附表 1。

### 3.4 标准溶液配制

#### 3.4.1 标准溶液

3.4.1.1 氯丙醇脂肪酸酯和缩水甘油酯标准储备液 ( $50.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ): 分别称取适量 3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯、2-氯-1,3-丙二醇硬脂酸二酯、缩水甘油棕榈酸酯 (精确至  $0.01\ \text{mg}$ ) 于 3 支  $25\ \text{mL}$  容量瓶中, 加入甲苯溶解, 定容至刻度, 混匀, 配制成浓度为  $50.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$  的标准储备液, 分别以 3-MCPD、2-MCPD、缩水甘油计, 折算系数见附表 1。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中, 于  $-20\ ^\circ\text{C}$  下保存, 保存期 12 个月。

3.4.1.2 氯丙醇脂肪酸酯混合标准工作液 ( $4.00\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ): 准确移取  $2.00\ \text{mL}$  氯丙醇脂肪酸酯标准储备液 ( $50.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ) 于  $25\ \text{mL}$  容量瓶中, 用甲苯定容至刻度, 混匀。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中, 于  $-20\ ^\circ\text{C}$  下保存, 保存期 3 个月。

3.4.1.3 缩水甘油酯标准工作液 ( $4.00\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ): 准确移取  $2.00\ \text{mL}$  缩水甘油酯标准储备液 ( $50.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ) 于  $25\ \text{mL}$  容量瓶中, 用甲苯定容至刻度, 混匀。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中, 于  $-20\ ^\circ\text{C}$  下保存, 保存期 3 个月。

#### 3.4.2 同位素内标溶液

3.4.2.1 内标储备液 ( $10.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ): 准确称取适量 (精确至  $0.01\ \text{mg}$ )  $^{13}\text{C}_3$ -3-MCPDE、 $\text{D}_5$ -2-MCPDE、 $\text{D}_5$ -GE 标准品于 3 支  $25\ \text{mL}$  容量瓶中, 加入甲苯溶解, 定容至刻度, 混匀, 溶液的浓度为  $10.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$ , 分别以  $^{13}\text{C}_3$ -3-MCPD、 $\text{D}_5$ -2-MCPD、 $\text{D}_5$ -缩

水甘油计。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20℃下保存，保存期 12 个月。

3.4.2.2 内标工作液 (2.00 µg/mL)：准确移取 2.00 mL 内标储备液 (10.0 µg/mL) 于同一支容量瓶中，加入甲苯定容至 10.0 mL，混匀。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20℃下保存，保存期 3 个月。

#### 3.4.3 氯丙醇脂肪酸酯标准系列溶液

准确移取适量氯丙醇脂肪酸酯标准工作液 (4.00 µg/mL)，经甲苯稀释至浓度为 0.05 µg/mL、0.10 µg/mL、0.500 µg/mL、1.00 µg/mL、2.00 µg/mL、4.00 µg/mL，混匀；准确移取 100 µL 标准系列溶液和 100 µL 内标工作液 (2.00 µg/mL)，混匀，得到质量分别为 5.00 ng、10.0 ng、50.0 ng、100 ng、200 ng、400 ng 的系列标准液，然后按照 5.3~5.5 步骤操作。临用现配。

#### 3.4.4 缩水甘油酯标准系列溶液

准确移取适量缩水甘油酯标准工作液 (4.00 µg/mL)，经甲苯稀释至浓度为 0.05 µg/mL、0.10 µg/mL、0.50 µg/mL、1.00 µg/mL、2.00 µg/mL、4.00 µg/mL；各准确移取 100 µL 标准系列溶液和 100 µL 内标工作液 (2.00 µg/mL)，混匀，得到 5.00 ng、10.0 ng、50.0 ng、100 ng、200 ng、400 ng 的系列标准液，然后按照 5.3~5.5 步骤操作。临用现配。

## 4 仪器和设备

### 4.1 气相色谱-串联质谱仪。

注：若配置色谱柱反吹功能或程序升温进样口 (PTV) 将可显著减少试液对仪器造成的污染。

4.2 电子天平：感量分别为 0.01 mg 和 1 mg。

4.3 低温恒温箱或冷却水循环装置：控温精度为 10℃±1℃。

4.4 恒温水浴振荡器：控温精度为±5℃。

4.5 涡旋混合器。

4.6 超声波振荡器。

4.7 旋转蒸发仪。

4.8 离心机。

4.9 恒温干燥箱。

4.10 氮吹仪。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样制备

液态样品称取前应摇匀；对于常温下为固体或半固体的棕榈油或动物油脂及其制品等，取样前于60℃左右加热熔化，摇匀；对于婴幼儿配方食品外的其他食品，取可食部分均质。制备后的试样于4℃冷藏保存。

### 5.2 试样提取

#### 5.2.1 植物油脂、动物油脂

称取试样 0.1 g（精确至 1 mg）于 15 mL 离心管中，准确加入内标工作液（2.00 μg/mL）100 μL，混匀，供水解操作。

注：自加入内标开始的步骤（5.2~5.5），也可采用经验证符合要求的自动化前处理仪器操作。

#### 5.2.2 鱼油粉等油脂制品

对于鱼油粉等油脂制品，参照 GB 5009.6 第三法（碱水解法）提取脂肪后，计算脂肪含量，再按照 5.2.1 步骤操作。

#### 5.2.3 婴幼儿配方食品

称取粉状试样 0.5 g（精确至 1 mg）或液态试样 3.0 g（精确至 0.01 g）于 50 mL 离心管中，准确加入内标工作液（2.00 μg/mL）100 μL；加入 2 mL 65℃的热水，涡旋混匀，再加入 1 mL 氨水，涡旋，在 65℃水浴下振荡 30 min 后，冷却至室温。加入 3 mL 乙醇，涡旋后加入 5 mL 乙醚，振摇 5 min，然后加入 5 mL 石油醚，继续振摇 5 min。静置待溶液分层后，转移上层溶液至离心管中；于下层水相中再加入乙醚和石油醚各 5 mL，重复萃取 1 次，合并有机相于 40℃下氮吹至干，供水解操作。

#### 5.2.4 其他食品

称取试样 3.0 g~5.0 g（精确至 0.01 g）于玻璃纤维滤筒中，扎好口，然后置于 250 mL 三角烧瓶中，加入 25 mL 石油醚后盖塞，以 120 r/min 速度振荡 2~3 h，将提取液转移，再次加入 25 mL 石油醚提取 2 h，合并两次提取液，减压浓缩至 1.0 mL。将溶液转移至 10 mL 试管中，用 6 mL 石油醚分两次淋洗鸡心瓶内壁，将淋洗液全部转移至玻璃试管中，于 55℃下水浴加热，之后在 100℃下再加热约 1 h，冷却至室温称重，计算脂肪含量。准确称取脂肪 0.1 g（精确至 1 mg）于 15 mL 离心管中，准确加入内标工作液（2.00 μg/mL）100 μL，混匀，供水解

操作。

注：试样中脂肪含量低于 10% 时，应适当增加称样量，并增加石油醚的用量，使得到的脂肪不少于 0.3 g。必要时，应根据产品配方特点，采用 GB 5009.6 中第三法（碱水解法）的步骤进行脂肪的提取，再称取脂肪按照 5.2.1 的步骤操作。

### 5.3 水解

于标准系列溶液、上述试样溶液中加入 100  $\mu\text{L}$  甲苯和 200  $\mu\text{L}$  甲基叔丁基醚，混匀后于 10  $^{\circ}\text{C}$  下冷却 6 min，加入 0.35 mol/L 氢氧化钠-甲醇溶液 200  $\mu\text{L}$ ，立即涡旋，然后于 10  $^{\circ}\text{C}$  下放置 7 min，进行酯键断裂反应，结束后加入 600  $\mu\text{L}$  酸化溴化钠溶液（600 g/L），涡旋，终止水解反应，溶液待净化。

### 5.4 液-液萃取净化

在上述水解后的溶液中加入 600  $\mu\text{L}$  异辛烷，涡旋，进行液-液萃取，静置分层后弃去异辛烷层，必要时可离心使溶液分层彻底，再次加入 600  $\mu\text{L}$  异辛烷，重复净化步骤，弃去异辛烷层，下层水相供衍生用。

注：若出现凝固现象，可加热溶解，必要时振荡，至试液充分均匀。

### 5.5 衍生化

于净化后的水溶液中加入 100  $\mu\text{L}$  苯基硼酸溶液，涡旋后，加入 100  $\mu\text{L}$  1% 乙二醇溶液和 1 mL 异辛烷，涡旋，静置分层，必要时可离心使分层彻底；取上层溶液经无水硫酸钠脱水后，将溶液转移至进样瓶中，供气相色谱-串联质谱仪检测。

### 5.6 空白对照

除不加试样外，采用与试样操作完全相同的步骤进行，测定结果应低于检出限。

### 5.7 仪器参考条件

#### 5.7.1 气相色谱条件

5.7.1.1 色谱柱：5% 苯基-甲基聚硅氧烷毛细管色谱柱（柱长 30 m，内径 0.25 mm，膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ ），或性能相当者；

注：若使用柱中反吹功能，可将柱长为 15 m 的 2 根色谱柱连接后使用；配柱后反吹功能时，使用柱长为 30 m 的分离柱和毛细管空柱（5 m $\times$ 180  $\mu\text{m}$ ）各 1 根。

5.7.1.2 载气：高纯氦气，纯度 $\geq$ 99.999%，流速为 1.5 mL/min；

5.7.1.3 进样量：1  $\mu\text{L}$ ，不分流进样，溶剂延迟时间：5 min；

5.7.1.4 进样口升温程序：80  $^{\circ}\text{C}$  保持 0 min，300  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升温至 165  $^{\circ}\text{C}$ ，保持 10 min，再以 300  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升温至 320  $^{\circ}\text{C}$ ，保持 8 min。

5.7.1.5 色谱柱程序升温：70  $^{\circ}\text{C}$  保持 2 min，20  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升温至 200  $^{\circ}\text{C}$ ，再以 40  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升温至 300  $^{\circ}\text{C}$ ，保持 4 min。

注：若未配置程序升温进样口，进样口温度为 250  $^{\circ}\text{C}$ 。若使用柱中反吹，在最后一个目标物出峰 1 min 后开始反吹。

## 5.7.2 质谱条件

5.7.2.1 电离源：电子轰击离子源（EI）。

5.7.2.2 电离能量：70 eV。

5.7.2.3 离子源温度：250  $^{\circ}\text{C}$ 。

5.7.2.4 传输线温度：300  $^{\circ}\text{C}$ 。

5.7.2.5 扫描模式：多反应监测（MRM）。

5.7.2.6 质谱采集分辨率：单位分辨率。

5.7.2.7 其他监测参数见表 1。

表 1 氯丙醇及 3-溴-1, 2-丙二醇衍生物的多反应监测模式（MRM）监测参数

待测化合物	母离子 (m/z)	子离子(m/z)	碰撞电压 (eV)
3-MCPD	196	147*	8
	198	147	8
2-MCPD	196	104*	14
	198	104	14
3-MBPD	240	147*	8
	242	147	8
$^{13}\text{C}_3$ -3-MCPD	199	149*	8
	201	149	8
D <sub>5</sub> -2-MCPD	201	107*	14
	203	107	14
D <sub>5</sub> -3-MBPD	245	150*	8
	247	150	8
$^{13}\text{C}_3$ -3-MBPD	243	149*	8

注：带\*号为定量离子对。

## 5.8 测定

在给定分析条件下，将制备后的空白溶液、标准系列溶液和试样溶液注入气相色谱-串联质谱仪中，进行定性分析和定量测定。

### 5.8.1 定性测定

在相同测定条件下，试液与相应标准溶液中被测物的保留时间偏差不超过 $\pm 0.5\%$ ，并且在扣除背景后的试样质谱图中，所有监测离子均出现且信噪比 $\geq 3$ ，而且定性离子的相对丰度与浓度相当标准溶液中定性离子的相对丰度的偏差应符合表 2 的规定，则可判断试样中存在对应的被测物。在上述气相色谱-串联质谱条件下，氯丙醇和 3-MBPD 及其内标衍生物的监测离子、MRM 色谱图、全扫描质谱图分别见附表 2、附图 1、2。

表 2 MRM 监测时定性离子对相对丰度的最大允许偏差

相对基峰离子丰度	>50%	20%~50%	10%~20%	$\leq 10\%$
允许的偏差	$\pm 20\%$	$\pm 25\%$	$\pm 30\%$	$\pm 50\%$

### 5.8.2 定量测定

#### 5.8.2.1 标准曲线的绘制

测得氯丙醇、3-MBPD 及同位素内标的峰面积，以氯丙醇脂肪酸酯的质量（以 3-MCPD、2-MCPD 计）为横坐标，以氯丙醇与相应内标的峰面积比为纵坐标，绘制氯丙醇脂肪酸酯的标准曲线。同理，以 GE 的质量（以缩水甘油计）为横坐标，以 GE 水解溴化后的产物 3-MBPD 与相应内标的峰面积比为纵坐标，绘制 GE 的标准曲线。

#### 5.8.2.2 试样溶液的测定

测得氯丙醇、3-MBPD 和同位素内标的峰面积并计算其比值。根据氯丙醇脂肪酸酯、GE 的标准曲线，分别计算得到氯丙醇脂肪酸酯、GE 的质量。试液中氯丙醇、3-MBPD 与内标的峰面积比值应在标准曲线的线性范围内；若质量超过标准曲线的线性范围，应将试样（提取的脂肪、油脂）用甲苯稀释或调整内标的添加量后重新测定，并使得衍生后试样溶液中内标与标准曲线中内标的质量浓度相同。

## 6 分析结果的表述

### 6.1 试样中氯丙醇脂肪酸酯含量的计算

#### 6.1.1 植物油脂、动物油脂、婴幼儿配方食品和脂肪

试样或脂肪中氯丙醇脂肪酸酯的含量按公式（1）计算：

$$X = \frac{M_1}{m} \times \frac{1\ 000}{1\ 000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$X_1$ —试样中 3-MCPDE、2-MCPDE 的含量（3-MCPD、2-MCPD 计），单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

$M_1$ —由氯丙醇脂肪酸酯标准曲线计算的 3-MCPDE、2-MCPDE 的质量，单位为纳克（ng）；

$m$ —试样或脂肪的称取量，单位为克（g）；

1 000—换算系数。

计算结果应扣除空白值，保留三位有效数字。

### 6.1.2 鱼油粉等油脂制品和其他食品

鱼油粉等油脂制品和其他食品中氯丙醇脂肪酸酯的含量按公式（2）计算：

$$X = C \times \frac{F}{m} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$X$ —试样中 3-MCPDE、2-MCPDE 的含量（以 3-MCPD、2-MCPD 计），单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

$C$ —按公式（1）计算得到的脂肪中 3-MCPDE、2-MCPDE 的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

$F$ —试样中提取得到的脂肪质量，单位为克（g）；

$m$ —试样或脂肪的称取量，单位为克（g）；

计算结果应保留三位有效数字。

## 6.2 试样中 GE 含量的计算

### 6.2.1 植物油脂、动物油脂、婴幼儿配方食品和脂肪

#### 6.2.1.1 GE 总量的计算

GE 的总量按公式（3）计算：

$$G_{\text{总}} = \frac{M_1}{m} \times \frac{1\,000}{1\,000} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

$G_{\text{总}}$ —试样或脂肪中 GE 的总量（以缩水甘油计），单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

$M_1$ —由 GE 标准曲线计算得到 GE（以缩水甘油计）的质量，单位为纳克（ng）；

$m$ —试样或脂肪的称取量，单位为克（g）；

1 000—换算系数。

计算结果应扣除空白值，保留三位有效数字。

### 6.2.1.2 3-MCPDE 转化而成 3-MBPD 峰面积的计算

在氯丙醇脂肪酸酯标准系列中，以 3-MCPDE 与  $^{13}\text{C}_3$ -3-MCPDE 的峰面积比为横坐标，3-MBPD 与  $^{13}\text{C}_3$ -3-MBPD 的峰面积比为纵坐标，进行一元线性回归，得到线性方程。按公式（4）计算 3-MCPDE 转化得到 3-MBPD 的峰面积  $A_1$ 。

$$A_1 = \left( \frac{A_2}{A_{IS_2}} \times a + b \right) \times A_{IS_1} \dots\dots\dots (4)$$

式中：

$A_1$ —试样中由 3-MCPDE 转化而成 3-MBPD 的峰面积；

$A_2$ —试样中 3-MCPDE 的峰面积；

$A_{IS_2}$ —试样中内标  $^{13}\text{C}_3$ -3-MCPDE 的峰面积；

$A_{IS_1}$ —试样中由内标  $^{13}\text{C}_3$ -3-MCPDE 转化而成  $^{13}\text{C}_3$ -3-MBPD 的峰面积；

$a$ —回归方程的斜率；

$b$ —回归方程的截距。

### 6.2.1.3 试样或脂肪中 GE 含量的计算

根据 GE 的标准曲线，计算得到 GE 的总量；并由  $A_1$  和 D<sub>5</sub>-3-MBPD 的峰面积比值计算 3-MCPDE 转化得到 3-MBPD（以缩水甘油计）的质量，即  $M_{\text{转化}}$ 。按公式（5）扣除 3-MCPDE 转化得到 3-MBPD（以缩水甘油计）的量，得到试样中 GE 的含量。

$$G_1 = G_{\text{总}} - \frac{M_{\text{转化}}}{m} \times \frac{1\,000}{1\,000} \dots\dots\dots (5)$$

式中：

$G_1$ —试样或脂肪中 GE 的含量（以缩水甘油计），单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

$G_{\text{总}}$ —GE 的总量（以缩水甘油计），单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

$M_{\text{转化}}$ —通过 GE 的标准曲线计算 3-MCPDE 转化得到 3-MBPD（以缩水甘油计）的质量，单位为纳克（ng）；

$m$ —试样或脂肪的称取量，单位为克（g）；

1 000—换算系数。

计算结果应扣除空白值，保留三位有效数字。

### 6.2.2 鱼油粉等油脂制品和其他食品

鱼油粉等油脂制品和其他食品中 GE 的含量按公式 (6) 计算:

$$G_2 = G_1 \times \frac{F}{m} \dots\dots\dots (6)$$

式中:

$G_2$ —试样中 GE 的含量 (以缩水甘油计), 单位为微克每千克 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ );

$G_1$ —按公式(5)计算得到的脂肪中 GE 的含量, 单位为微克每千克 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ );

$F$ —试样中提取得到的脂肪质量, 单位为克 (g);

$m$ —试样的称取量, 单位为克 (g);

计算结果应保留三位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过其算数平均值的 15%。

## 附录

## 1、氯丙醇酯和缩水甘油酯有关信息及其苯基硼酸衍生物的色谱图和质谱图

氯丙醇脂肪酸酯、缩水甘油棕榈酸酯等标准品的信息以及折算系数见附表 1。

附表 1 标准品的信息和折算系数

中文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	折算系数
3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯	51930-97-3	C <sub>35</sub> H <sub>67</sub> ClO <sub>4</sub>	587.36	5.314
2-氯-1,3-丙二醇硬脂酸二酯	26787-56-4	C <sub>39</sub> H <sub>75</sub> ClO <sub>4</sub>	643.46	5.821
缩水甘油棕榈酸酯	7501-44-2	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>3</sub>	312.49	4.218
<sup>13</sup> C <sub>3</sub> -3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯	/	C <sub>32</sub> <sup>13</sup> C <sub>3</sub> H <sub>67</sub> ClO <sub>4</sub>	590.34	5.199
D <sub>5</sub> -3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯	1185057-55-9	C <sub>35</sub> H <sub>62</sub> D <sub>5</sub> ClO <sub>4</sub>	592.39	5.126
D <sub>5</sub> -2-氯-1,3-丙二醇硬脂酸二酯	1329796-49-7	C <sub>39</sub> H <sub>70</sub> D <sub>5</sub> ClO <sub>4</sub>	648.49	5.611
D <sub>5</sub> -缩水甘油棕榈酸酯	1794941-80-2	C <sub>19</sub> H <sub>31</sub> D <sub>5</sub> O <sub>3</sub>	317.52	4.015
3-氯-1,2-丙二醇	96-24-2	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> ClO <sub>2</sub>	110.54	/
2-氯-1,3-丙二醇	497-04-1	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> ClO <sub>2</sub>	110.54	/
缩水甘油	556-52-5	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	74.08	/
D <sub>5</sub> -3-氯-1,2-丙二醇	342611-01-2	C <sub>3</sub> H <sub>2</sub> D <sub>5</sub> ClO <sub>2</sub>	115.57	/
D <sub>5</sub> -2-氯-1,3-丙二醇	121674-05-4	C <sub>3</sub> H <sub>2</sub> D <sub>5</sub> ClO <sub>2</sub>	115.57	/
D <sub>5</sub> -3-溴-1,2-丙二醇	1246820-48-3	C <sub>3</sub> H <sub>2</sub> D <sub>5</sub> BrO <sub>2</sub>	169.02	/

注：折算系数，指待测物与其扣除脂肪酰基后氯丙醇、缩水甘油的相对分子质量之比值，同位素内标的折算系数，指同位素标准品与对应氯丙醇同位素、缩水甘油同位素的相对分子质量之比值。

氯丙醇和 3-MBPD 及其内标衍生物的多反应监测 (MRM) 参数见附表 2。

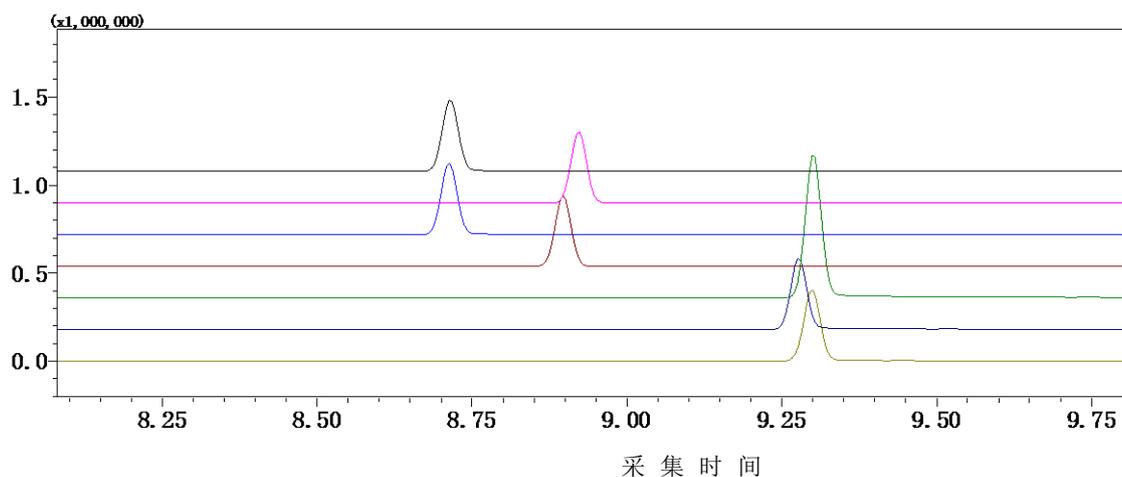
附表 2 标准溶液中氯丙醇和 3-MBPD 及其内标衍生物的多反应监测 (MRM) 参数

待测物	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞电压 eV
3-MCPDE	196*	147*	8
	198	147	8
2-MCPDE	196*	104*	14
	198	104	14

GE	240*	147*	8
	242	147	8
<sup>13</sup> C <sub>3</sub> -3-MCPDE	199*	149*	8
	201	149	8
D <sub>5</sub> -2-MCPDE	201*	107*	14
	203	107	14
D <sub>5</sub> -GE	245*	150*	8
	247	150	8
<sup>13</sup> C <sub>3</sub> -3-MBPD	243*	149*	8

注：\*为定量离子对。

标准溶液中氯丙醇和 3-MBPD 及其内标衍生物的色谱图见附图 1。

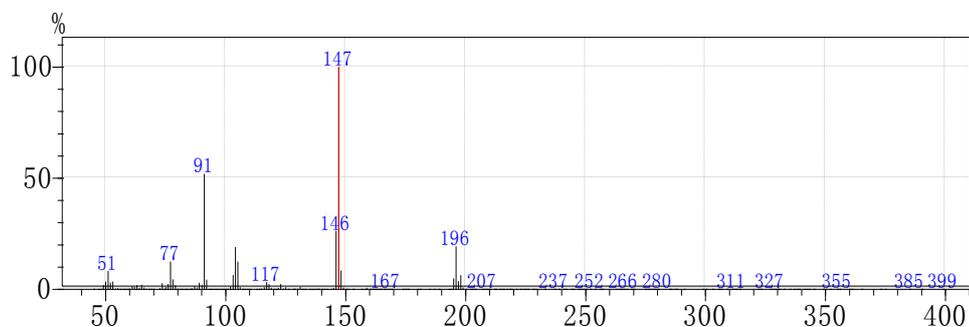


说明：

- 1—3-MCPDE
- 2—<sup>13</sup>C<sub>3</sub>-3-MCPDE
- 3—2-MCPDE
- 4—D<sub>5</sub>-2-MCPDE
- 5—GE (3-MBPD)
- 6—D<sub>5</sub>-GE (D<sub>5</sub>-3-MBPD)
- 7—<sup>13</sup>C<sub>3</sub>-3-MBPD

附图 1 标准溶液中氯丙醇和 3-MBPD 及其内标衍生物的色谱图

氯丙醇酯和 3-MBPD 标准苯基硼酸衍生物的全扫描质谱图见附图 2。



说明：

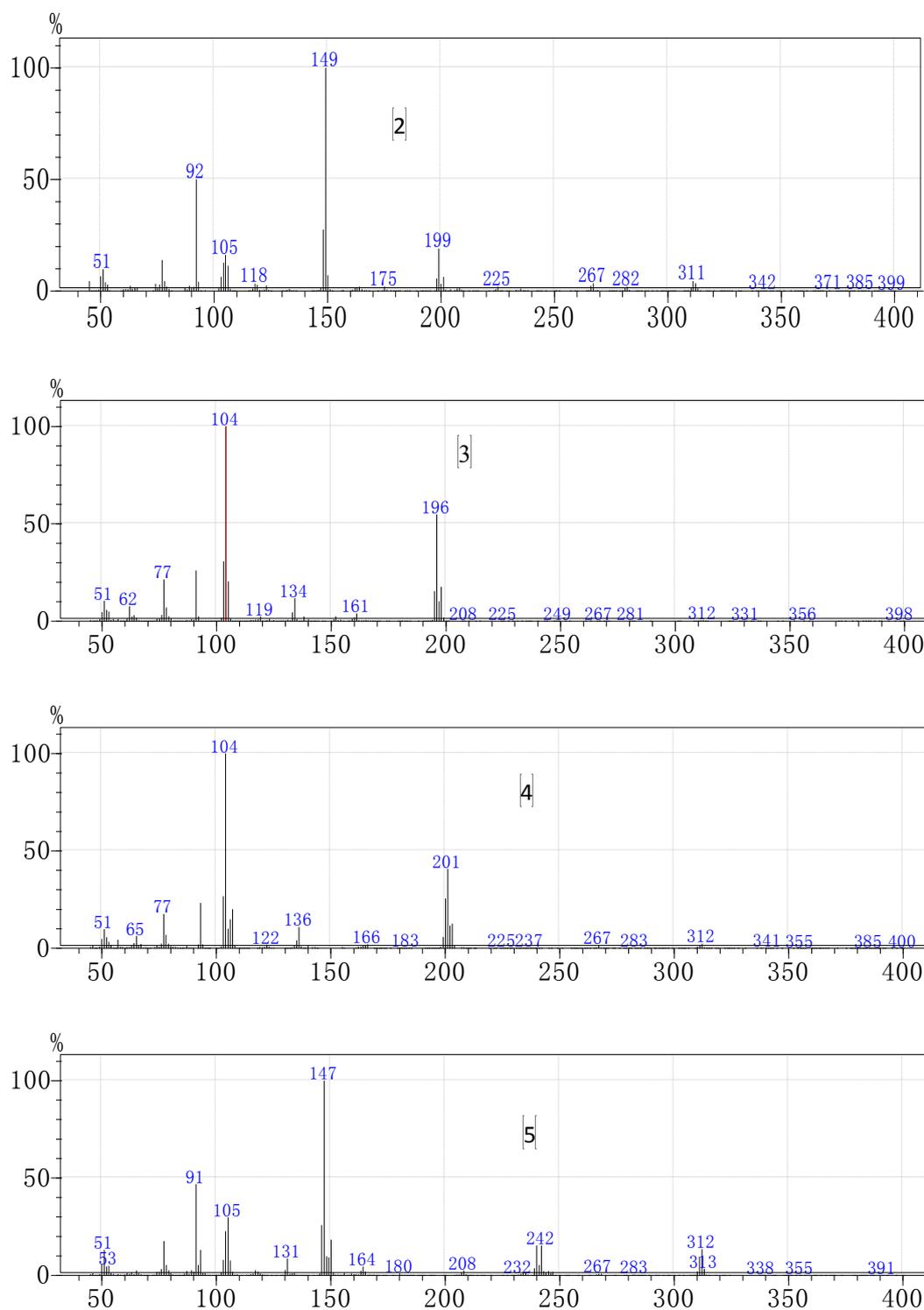
- 1—3-MCPD
- 2—<sup>13</sup>C<sub>3</sub>-3-MCPD
- 5—3-MBPD
- 6—D<sub>5</sub>-3-MBPD

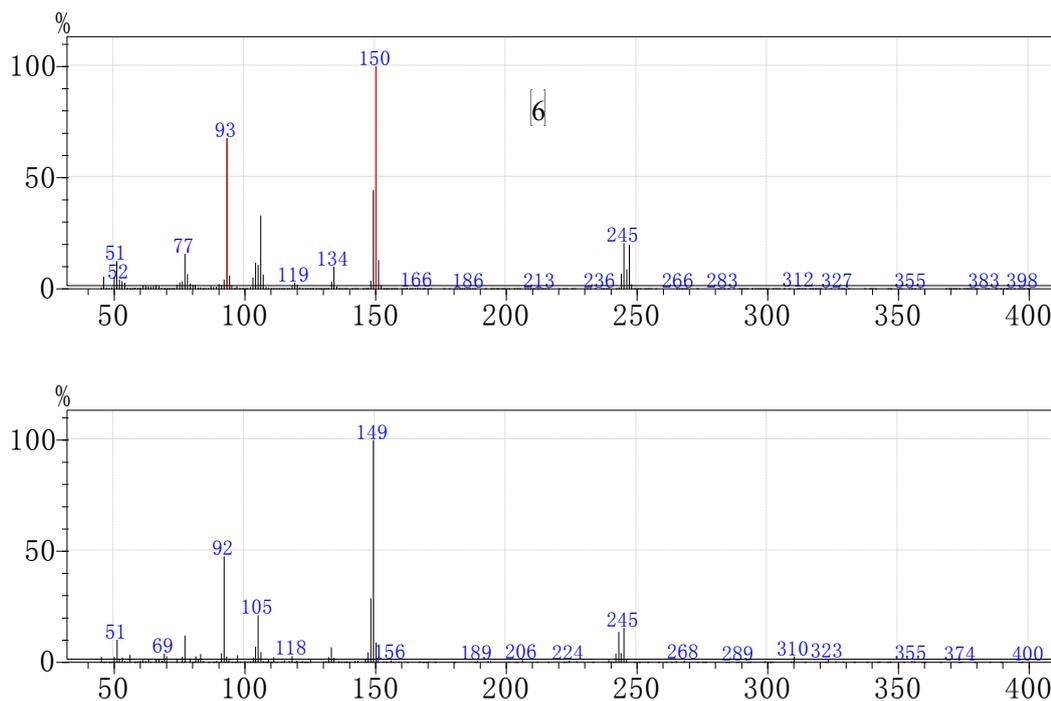
3—2-MCPD

7—<sup>13</sup>C<sub>3</sub>-3-MBPD

4—D<sub>5</sub>-2-MCPD

附图 2 氯丙醇和 3-MBPD (10 μg/mL) 及其内标衍生物的全扫描质谱图





附图 2 (续)

## 2、样品处理全自动平台

采用样品前处理全自动平台的操作程序参考条件见附表 3。动植物油脂可直接称样后测定，婴幼儿配方乳粉应提取脂肪后再测定，按照 5.2~5.5 步骤，完成碱水解、液-液萃取净化、衍生和进样等操作步骤，实现氯丙醇酯和 GE 标准系列溶液的自动化制备、标准曲线绘制。平台基本配置包括涡旋混合器、加热振荡器、温度控制盒、液-液萃取装置、洗针装置、进样装置、溶剂瓶、内标瓶和样品瓶等。

附表 3 步骤 5.2~5.4 样品前处理全自动平台参考条件

序号	步骤	装置	溶剂或操作	参数	说明
1	加液	1000 $\mu$ L 注射器	甲苯	100 $\mu$ L	
2	加液	1000 $\mu$ L 注射器	甲基叔丁基醚	200 $\mu$ L	
3	涡旋	涡旋装置		1500 r/min, 10 s	
4	冷却	温度控制盒		10 $^{\circ}$ C, 7 min	
5	加液	250 $\mu$ L 注射器	0.35 mol/L 氢氧化钠-甲醇溶液	200 $\mu$ L	
6	涡旋	涡旋装置		1500 r/min, 10 s	
7	水解	温度控制盒		10 $^{\circ}$ C, 7 min	
8	加液	1000 $\mu$ L 注射器	酸化溴化钠溶液	600 $\mu$ L	

9	溴代	涡旋装置		1500 r/min, 10 s	
10	放置			5 min	
11	加液	液-液萃取装置	异辛烷	600 $\mu$ L	
12	脱脂	涡旋装置		2000 r/min, 10 s	
13	加热	加热振荡装置		80 $^{\circ}$ C, 250 r/min, 1~4 min	若试液中出现凝固现象
14	弃液	液-液萃取装置	上层异辛烷溶液	600 $\mu$ L	
15	加液	液-液萃取装置	异辛烷	600 $\mu$ L	
16	脱脂	涡旋装置		2000 r/min, 10 s	
17	弃液	液-液萃取装置	上层异辛烷溶液	600 $\mu$ L	
18	加液	250 $\mu$ L 注射器	苯基硼酸饱和溶液	100 $\mu$ L	
19	衍生	涡旋装置		2000 r/min, 30 s	
20	加液	250 $\mu$ L 注射器	1%乙二醇溶液	100 $\mu$ L	
21	涡旋	涡旋装置		1500 r/min, 30 s	
22	加液	液-液萃取装置	异辛烷	1.0 mL	
23	涡旋	涡旋装置		2000 r/min, 30 s	
24	萃取	液-液萃取装置	上层异辛烷溶液	600 $\mu$ L~1.0 mL	
25	转移	液-液萃取装置	至装有无水硫酸钠的进样瓶中		
26	涡旋	涡旋装置		1500 r/min, 10 s	
27	进样	GC-MS/MS 仪	2 $\mu$ L 或 1 $\mu$ L 衍生液		

版权说明：不得全文或摘录其中内容发表，引用时应予以说明引自福建省疾病预防控制中心研究成果。

## 第七节 食品添加剂

序号	手册提供的方法	起草人
1	食品中铝的电感耦合等离子体质谱测定法标准操作程序	刘桂华、姜杰、张慧敏、胡曙光
2	食品中铝的分光光度测定法标准操作程序	赵馨、赵云峰、赵凯
3	饮料中苯甲酸、山梨酸、糖精钠和脱氢乙酸的液相色谱测定法标准操作程序	陈福尊、路杨、刘梦颖、王丽英、任贝贝
4	GB 5009.97.2023 食品中环己基氨基磺酸盐的测定 第一法和第二法	
5	GB 5009.140-2023 食品中乙酰磺胺酸钾的测定	
6	GB 5009.263-2016 食品中阿斯巴甜和阿力甜的测定	
7	GB 5009.298-2023 食品中三氯蔗糖（蔗糖素）的测定	

## 一、食品中铝的电感耦合等离子体质谱测定法标准操作程序

### 1 适用范围

本操作程序适用于食品中铝含量的电感耦合等离子体质谱（简称ICP-MS）法测定。

本操作程序的检出限（LOD）为 0.6 mg/kg（以取样量 0.5 g、定容至 25 mL 计）。

### 2 原理

样品经过消解后，消解液以气溶胶形态引入电感耦合等离子体质谱仪中测定，根据各元素的质荷比进行分离，元素质谱信号强度与进入质谱仪的粒子数成正比，即与样品浓度成正比，通过比较样品质谱信号强度和标准校正曲线的信号强度，对试样溶液中的元素进行定量分析。

### 3 试剂

除非另有说明，本方法使用试剂均为优级纯试剂，水为GB/T 6682的一级水。

3.1 硝酸（HNO<sub>3</sub>）：经亚沸蒸馏或采用高纯或超纯试剂。

3.2 氩气（Ar）：高纯氩气（>99.99%）或液氩。

3.3 硝酸溶液（5+95）：取 50 mL 硝酸，缓慢加入 950 mL 水中，用水稀释至 1000 mL。

3.4 铝元素标准储备液（1000 μg/mL）：可购买高纯度的有证单标溶液。

3.5 标准使用液溶液：吸取 1.00 mL 的单元素标准储备液，用硝酸溶液（3.4）定容至 100 mL，标准使用液的浓度为 10 μg/mL。

3.6 标准系列溶液：分别取适量标准使用液，用硝酸溶液（3.4）配成浓度为 0.0、0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 μg/mL 的标准系列溶液，也可依据样品消化液中元素质量浓度水平延长标准系列的浓度范围。

3.7 内标元素储备液（1000 mg/L）（钪元素）。采用有证标准物质单元素标准储备液。建议使用在线内标，内标储备溶液浓度各为 10 μg/mL，使用前用硝酸溶液（3.4）逐级稀释至各为 1 μg/mL。

### 4 仪器与耗材

4.1 电感耦合等离子体质谱仪（ICP-MS）。

4.2 密闭微波消解系统，配有聚四氟乙烯消解罐。

4.3 压力消解罐，配有聚四氟乙烯消解内罐。

4.4 恒温干燥箱（烘箱）。

4.5 控温电热板。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样预消解

高脂肪、高蛋白、高淀粉、高纤维等难消解试样，取样加硝酸后，需进行冷消化（放置至少1h，最好过夜）。

### 5.2 试样消解

5.2.1 微波消解：称取干燥的试样 0.2 g~0.5 g（精确到 0.001 g）于微波消解罐中，加入 8 mL~10 mL 硝酸，加盖放置 1 h，旋紧罐盖，按照微波消解仪的标准操作步骤进行消解（消解参考条件见表 1），冷却后取出，缓慢打开罐盖排气，将消解罐放在控温电热板，于 100℃加热赶酸 20 min 或超声脱气 2 min~5 min 后，将消化液转移至 25 mL 或 50 mL 容量瓶中，用少量水分 3 次洗涤内罐，合并洗涤液定容至刻度，混匀备用，同时做试剂消化空白试验。

5.2.2 压力罐消解：称取干燥的试样 0.2 g~1.0 g（精确到 0.001 g）于消解内罐中，加入 3 mL~5 mL 硝酸，盖好内盖，放置 1 h 或过夜，旋紧不锈钢外套，放入恒温干燥箱消解（消解参考条件参见表 1），冷却至室温，然后缓慢旋松不锈钢外套，将消解内罐取出，放在控温电热板上或超声水浴箱中，于 100℃加热赶酸 20 min 或超声脱气 2 min~5 min 后，将消化液转移至 25 mL 或 50 mL 容量瓶中，用少量水分 3 次洗涤内罐，合并洗涤液定容至刻度，混匀备用，同时做试剂消化空白试验。

安全提示：必须严格遵循仪器设备使用说明，称样量不能超过消解容器的最大允许量。

### 5.3 测定

5.3.1 按照仪器生产厂家的标准操作步骤进行仪器起始化、质量校准、流量最佳化及进行仪器其他操作条件的调试，使灵敏度、氧化物和双电荷化合物指标达到测定要求，仪器参考条件见表 2。

5.3.2 选择铝元素的质量数为 27，内标元素钪的质量数为 45，编辑测定方法，依次将试剂空白、标准系列、样品溶液引入仪器进行测定。

### 5.3.3 标准曲线的制作

将标准系列溶液分别注入电感耦合等离子质谱仪中，测定元素的信号响应值，以元素浓度为横坐标，以元素与所选内标元素信号响应值的比值——离子每秒计数值比（CPS ratio）为纵坐标，绘制标准曲线。

### 5.3.4 试样溶液的测定

试样溶液注入电感耦合等离子质谱仪中，得到相应的信号响应比值，根据标准曲线计算待测液中Al元素的浓度。

## 6 计算

按式（1）计算试样中铝含量（以干样计）。

$$X = \frac{(c - c_0) \times V}{m} \times f \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$X$ —— 试样中 Al 元素含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

$c$ —— 试样溶液中被测元素质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

$c_0$ —— 试样空白液中被测元素质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

$V$ —— 试样消化液定容体积，单位为毫升（mL）；

$f$ —— 试样稀释倍数；

$m$ —— 试样质量，单位为克（g）；

计算结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

表 1 样品消解参考条件

消解方式	步骤	控制温度 $^{\circ}\text{C}$	升温时间	恒温时间
微波消解	1	120	5 min	5 min
	2	150	5 min	10 min
	3	190	5 min	20 min
压力罐消解	1	80	/	2 h
	2	120	/	2 h
	3	160	/	4 h

表 2 电感耦合等离子体质谱仪操作参考条件

仪器参数	数值	仪器参数	数值
射频功率	1500 W	雾化器/雾化室	高盐雾化器/同心雾化器
等离子体气流量	15.00 L/min	采样锥/截取锥	镍锥
载气流量	0.80 L/min	采样深度	8~10 mm
辅助气流量	0.40 L/min	采集模式	跳峰 (Spectrum)
氦气流量 (碰撞池)	4.5 mL/min	检测方式	自动
雾化室温度	2□	每峰测定点数	3
分析泵速	0.1 r/s	重复次数	3

注：如果是单独元素测定，不与As、Cr等元素同时测定，可选择普通模式。

## 8 说明

8.1 铝天然存在于食物中，食品中铝有本底值存在，其含量差别较大，其规律表现为植物性食品高于动物性食品。在植物性食品中，以干豆类含量最高，粮谷类次之，蔬菜、水果类最低；动物性食品中，畜禽类稍高，蛋奶鱼较低；饮料和调味品中铝含量甚低。另外一些食物中铝含量较高，主要是一些面制加工食品及膨化食品，如油条、馒头、粉丝、糕点、挂面等，这主要是由于在加工过程中使用了含铝添加剂作为膨松剂的缘故。在监测和管理食品加工中铝添加剂的使用情况时，采用此方法消化时使用硝酸试剂即可。而如果需要检测样品本底铝含量水平时，消化样品需采用硝酸-氢氟酸体系，需将难溶的铝或结合态的铝（硅铝酸盐等）彻底消化，氢氟酸只需加入 0.2 mL~0.5 mL，建议消解后将氢氟酸彻底赶净，否则氢氟酸会对雾化器有损伤。或者使用氢氟酸专用雾化器，定容体积尽可能大些。

8.2 食品中铝元素属于微量元素分析，在实验操作中很容易受到环境、试剂及容器的污染，因此，在实验中尽量使用超纯试剂，避免使用玻璃器皿，无论是新购买的试剂还是容器，实验前需做试剂消化空白，计算检出限是否符合方法的要求。

8.3 传统的湿式消解法及干法消解为敞开式消解，元素易受到污染或损失，消化空白较高，不适用于低浓度 Al 元素的测定，本规程采用微波消解法及压力罐消解，这两种方法都属于密闭高压体系，减少了实验环境对测定结果的影响，同时只使用硝酸一种试剂，目的是可以与其他元素同时测定，同时还减少了试剂带来污染。

8.4 内标元素及内标使用液浓度：使用内标的目的是用来物理性、基体性干扰，正确使用内标可以有效校准信号抑制或增强的干扰。内标的选取应满足，样品溶液中不能含，质量数与待测元素接近，内标在溶液中的化学性质应与待测元素相似。根据以上条件，铝的内标可选择钪（ $^{45}\text{Sc}$ ）及锗（ $^{72}\text{Ge}$ ）。

内标既可在配制标准系列工作溶液和样品溶液时手动加入，亦可由仪器在线加入。由于不同仪器采用不同的内标内径蠕动泵管，使得内标进入样品中的浓度有所不同，建议内标元素在混合和后浓度在 0.025 mg/L~0.05 mg/L 之间。

8.5 大批量样品测定时，每个样品测试之间可采用 0.2% 半胱氨酸硝酸溶液、5% 硝酸溶液依次清洗管路，以减少记忆效应。

## 二、食品中铝的分光光度测定法标准操作程序

### 1 适用范围

本操作程序适用于食品中铝的分光光度法测定。

本操作程序的检出限(LOD)为 2 mg/kg(以取样量 1.0 g、定容至 25 mL 计)。

### 2 原理

试样经处理后,在乙二胺-盐酸缓冲介质中(pH6.7~7.0),聚乙二醇辛基苯醚(Triton X-100)和溴代十六烷基吡啶(CPB)的存在下,三价铝离子与铬天青 S 反应生成蓝绿色的四元胶束,于 620nm 波长处测定吸光度值并与标准系列比较定量。

### 3 试剂

除非另有说明,所用试剂为分析纯,试验用水为 GB/T6682 规定的一级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 硝酸(HNO<sub>3</sub>) 优级纯

3.1.2 硫酸(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 优级纯

3.1.3 盐酸(HCl) 优级纯

3.1.4 氨水(NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O)

3.1.5 无水乙醇(C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) 优级纯

3.1.6 对硝基酚(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>3</sub>)

3.1.7 铬天青 S (C<sub>23</sub>H<sub>13</sub>O<sub>9</sub>SCl<sub>2</sub>Na<sub>3</sub>)

3.1.8 乙二胺(C<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>)

3.1.9 聚乙二醇辛基苯醚(Triton X-100)

3.1.10 溴代十六烷基吡啶(C<sub>21</sub>H<sub>38</sub>BrN) 简称 CPB

3.1.11 抗坏血酸(C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>)

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 盐酸溶液(6 mol/L): 量取 50 mL 盐酸缓慢与 50 mL 水混溶。

3.2.2 硫酸溶液[1% (v/v)]: 取 1 mL 硫酸置于约 80 mL 水中,放冷后再稀释至 100 mL。

3.2.3 对硝基酚乙醇溶液(1.0 g/L): 称取 0.10 g 对硝基酚,溶于 100 mL 无水乙醇中。

3.2.4 氨水 (1+1)：量取 10 mL 氨水，加入 10 mL 水中。

3.2.5 硝酸溶液 (0.5 mol/L)：取 3.1 mL 硝酸置于适量水中，再稀释至 100 mL。

3.2.6 乙醇溶液[1+1 (v/v)]：量取 50 mL 乙醇溶于 50 mL 水中，混匀。

3.2.7 铬天青 S 溶液 (1.0 g/L)：称取 0.10 g 铬天青 S 溶于 100 mL 乙醇溶液中，混匀。

3.2.8 聚乙二醇辛基苯醚溶液[3+100 (v/v)]：吸取 3.0 mL Triton X-100 溶于 100 mL 水中。

3.2.9 溴代十六烷基吡啶溶液 (3.0 g/L)：称取 0.30 g CPB 溶于 15 mL 无水乙醇中，加水稀释至 100 mL。

3.2.10 乙二胺-盐酸缓冲溶液 (pH 6.7~7.0)：取无水乙二胺 100 mL 沿玻棒缓慢加入 200 mL 水中，待冷却后再沿玻棒缓缓加入 190 mL 盐酸，混匀，若 pH 大于 7.0 或小于 6.7 时可分别添加盐酸或乙二胺溶液[1+2 (v/v)]用酸度计进行调节。

3.2.11 抗坏血酸溶液 (10 g/L)：称取 1.0 g 抗坏血酸，用水溶解并定容至 100 mL。临用时现配。

### 3.3 标准品

金属铝 (纯度 99.99%)，或一定浓度的有证铝标准溶液。

### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 铝标准储备液：精密称取 1.0000 g 金属铝 (纯度 99.99%)，加 50 mL 6 mol/L 盐酸溶液，加热溶解，冷却后，移入 1000 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度。该溶液每毫升相当于 1 mg 铝。

3.4.2 铝标准中间液：吸取 5.0 mL 铝标准储备液，置于 50 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，该溶液每毫升相当于 100 $\mu$ g 铝。

3.4.3 铝标准使用液：吸取 1.00 mL 铝标准中间液，置于 100 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，该溶液每毫升相当于 1.00  $\mu$ g 铝。

## 4 仪器与耗材

所有玻璃仪器、消解罐均需以硝酸 (1+5) 浸泡 24h 以上，用水反复冲洗，最后用去离子水冲洗晾干后方可使用。

4.1 分光光度计。

4.2 可调式控温电热炉，50 mL 聚四氟乙烯消化管。

4.3 分析天平 (感量 0.1 mg)。

4.4 酸度计（pH 准确至 0.01）。

4.5 恒温干燥箱。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样预处理

5.1.1 在采样和制备过程中，应注意不使试样污染，应避免使用含铝器具。

5.1.2 将试样粉碎均匀，取约 30 g 置 85℃ 恒温干燥箱中干燥 4 h。

### 5.2 试样消解

称取干燥的试样 0.5 g~2.5 g（准确至 0.1 mg），置于 50 mL 聚四氟乙烯消化管中，加入 10 mL 硝酸，0.5 mL 硫酸，在可调式控温电热炉上加热，推荐条件：100℃ 加热 1h，升至 150℃ 加热 1h，再升至 180℃ 加热 2h，然后升至 200℃，若变棕黑色，再补加硝酸消化。直至管口冒白烟，消化液呈无色透明或略带黄色。取出冷却，用水转移至 25 mL 容量瓶中，定容，混匀备用，同时做试剂空白试验。

### 5.3 测定步骤

5.3.1 吸取 1.0 mL（V<sub>2</sub>）试样消化液、试剂空白液分别置于 25 mL 具塞比色管中，加水至 10 mL 刻度。

5.3.2 另取 25 mL 具塞比色管 7 支，分别加入铝标准使用溶液 0 mL、0.50 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL 和 5.0 mL（各相当于铝 0 μg、0.50 μg、1.0 μg、2.0 μg、3.0 μg、4.0 μg 和 5.0 μg），并依次向各管中加入 1% 硫酸溶液 1 mL，加水至 10 mL 刻度。

5.3.3 向标准管、试样管、试样空白管中滴加 1 滴对硝基酚溶液，混匀，滴加氨水至浅黄色，滴加 0.5 mol/L 硝酸溶液至黄色刚刚消失，再多加 1.0 mL，加入 1 mL 10 g/L 抗坏血酸溶液，混匀后加 3.0 mL 铬天青 S 溶液，混匀后加 1.0 mL Triton X-100 溶液，3.0 mL CPB 溶液，3.0 mL 乙二胺-盐酸缓冲溶液，加水定容至 25 mL，混匀，放置 30 min。

5.3.4 于 620 nm 波长处，用 1 cm 比色皿以空白管为参比测定吸光度值，并绘制标准曲线比较定量。

## 6 计算

试样中铝含量按式（1）计算（以干样计）

$$X = \frac{(A_1 - A_0) \times V_1 \times 1000}{m \times V_2 \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$X$ ——试样中铝的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

$A_1$ ——测定用试样消化液中铝的质量，单位为微克（ $\mu\text{g}$ ）；

$A_0$ ——试样空白液中铝的质量，单位为微克（ $\mu\text{g}$ ）；

$V_1$ ——试样消化液总体积，单位为毫升（mL）；

$V_2$ ——测定用试样消化液体积，单位为毫升（mL）；

$m$ ——试样质量，单位为克（g）。

结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

### 三、饮料中苯甲酸、山梨酸、糖精钠和脱氢乙酸的液相色谱测定法标准操作程序

#### 1 适用范围

本操作程序适用于饮料中苯甲酸、山梨酸、糖精钠和脱氢乙酸的液相色谱法测定。

当取样量 2.5 g，定容 50 mL 时，苯甲酸、山梨酸、糖精钠(以糖精计)和脱氢乙酸的检出限均为 0.006 g/kg，定量限均为 0.02 g/kg。

#### 2 原理

样品经水提取，高蛋白样品经蛋白沉淀剂沉淀蛋白后，采用液相色谱分离、二极管阵列检测器检测，外标法定量。

#### 3 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

##### 3.1 试剂

3.1.1 甲醇(CH<sub>3</sub>OH)：色谱纯。

3.1.2 亚铁氰化钾[K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>·3H<sub>2</sub>O]。

3.1.3 乙酸锌 [Zn(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O]。

3.1.4 磷酸二氢铵 [NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>]。

3.1.5 氢氧化钠[NaOH]。

##### 3.2 试剂配制

3.2.1 亚铁氰化钾溶液(92 g/L)：称取 106 g 亚铁氰化钾，加入适量水溶解，用水定容至 1000 mL。

3.2.2 乙酸锌溶液 (183 g/L)：称取 220 g 乙酸锌溶于少量水中，加入 30 mL 冰乙酸，用水定容至 1000 mL。

3.2.3 磷酸二氢铵溶液(0.1 mol/L)：称取 11.5 g 磷酸二氢铵，加入适量水溶解，用水定容至 1000 mL，经 0.22 μm 水相微孔滤膜过滤后备用。

3.2.4 氢氧化钠溶液 (20 g/L)：称取 2.0 g 氢氧化钠，加入适量水溶解，定容至 10 mL。

### 3.3 标准品

3.3.1 苯甲酸( $C_6H_5COOH$ ) 标准溶液(1000 mg/L)。

3.3.2 山梨酸( $C_6H_8O_2$ ) 标准溶液(1000 mg/L)。

3.3.3 糖精钠(以糖精计)( $C_6H_4CONaSO_2$ ), 标准溶液(1000 mg/L)。

3.3.4 脱氢乙酸( $C_8H_8O_4$ , CAS 号: 520-45-6), 纯度 $\geq 99.0\%$ 。

### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 脱氢乙酸标准储备溶液(1000 mg/L): 准确称取脱氢乙酸 0.0500 g(精确到 0.0001 g), 用氢氧化钠溶液(3.2.4)溶解后, 用水定容至 50 mL, 4℃贮存, 保存期为 6 个月。

注: 当使用固体标准品时, 分别准确称取苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸 0.1000 g(精确到 0.0001 g)、糖精钠 0.1170 g(精确到 0.0001 g); 山梨酸和苯甲酸使用甲醇溶解并定容, 脱氢乙酸使用氢氧化钠溶液(3.2.4)溶解, 用水定容, 糖精钠使用水溶解并定容; 定容体积均为 100 mL, 4℃贮存, 保存期为 6 个月。糖精钠固体含结晶水, 使用前需在 120℃烘 4h, 干燥器中冷却至室温后备用。

3.4.2 苯甲酸、山梨酸、糖精钠(以糖精计)和脱氢乙酸混合标准中间溶液(200 mg/L): 分别准确吸取苯甲酸、山梨酸、糖精钠和脱氢乙酸标准储备溶液各 5.0 mL 于 25 mL 容量瓶中, 用水定容, 于 4℃贮存, 保存期为 3 个月。

3.4.3 苯甲酸、山梨酸、糖精钠(以糖精计)和脱氢乙酸混合标准系列工作溶液: 分别准确吸取苯甲酸、山梨酸、糖精钠和脱氢乙酸混合标准中间溶液 0.05 mL、0.10 mL、0.25 mL、0.50 mL、1.0 mL、2.0 mL、2.5 mL、3.5 mL, 用水定容至 10 mL, 配制成质量浓度分别为 1.00 mg/L、2.00 mg/L、5.00 mg/L、10.0 mg/L、20.0 mg/L、40.0 mg/L、50.0 mg/L、70.0 mg/L 的混合标准系列工作溶液。临用现配。

### 3.5 材料

3.5.1 水相微孔滤膜: 0.22  $\mu m$ 。

3.5.2 塑料离心管: 50 mL。

## 4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱仪: 配二极管阵列检测器。

4.2 分析天平: 感量为 0.01 g 和 0.0001 g。

4.3 涡旋振荡器。

4.4 离心机：转速 >8000r/min。

4.5 超声波发生器。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样提取

#### 5.1.1 一般性试样

准确称取约 2.50 g(精确到 0.01 g)试样于 50 mL 具塞离心管中，加水定容至 50 mL，涡旋混匀，取适量上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜，待液相色谱测定。

#### 5.1.2 含蛋白质试样

准确称取约 2.50 g(精确到 0.01 g)试样于 50 mL 具塞离心管中，加水定容至约 40 mL，涡旋混匀，加亚铁氰化钾溶液 2 mL 和乙酸锌溶液 2 mL，混匀，加水定容至 50 mL，于 8000r/min 离心 5 min，取适量上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜，待液相色谱测定。

#### 5.1.3 含二氧化碳试样

准确称取约 2.50 g(精确到 0.01 g)试样于 50 mL 具塞离心管中，超声 10 min，除去二氧化碳后按 5.1.1 处理。

### 5.2 仪器参考条件

5.2.1 色谱柱：Agilent Extend C18 柱，柱长 250 mm，内径 4.6 mm，粒径 5  $\mu\text{m}$ ，不建议更换色谱柱。

5.2.2 流动相：梯度洗脱。

时间	A: 甲醇%	B: 磷酸二氢铵溶液 (3.2.3) (%)
0.0	10	90
6.0	10	90
7.0	45	55
12.0	45	55
15.0	70	30
16.0	10	90
20.0	10	90

5.2.3 流速：1.0 mL/min。

5.2.4 检测波长：230 nm。

5.2.5 进样量：20  $\mu\text{L}$ 。

### 5.3 标准曲线的制作

将混合标准系列工作溶液分别注入液相色谱仪中，测定相应的峰面积，以混合标准系列工作溶液的质量浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

### 5.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱仪中，得到峰面积，根据标准曲线得到待测液中苯甲酸、山梨酸、糖精钠(以糖精计)和脱氢乙酸的质量浓度。

## 6 分析结果的表述

试样中苯甲酸、山梨酸、糖精钠(以糖精计)和脱氢乙酸的含量按下式计算：

$$X = \frac{\rho \times V}{m \times 1000}$$

式中：

X—试样中待测组分含量，单位为克每千克(g/kg)；

$\rho$ —由标准曲线得出的试样液中待测物的质量浓度，单位为毫克每升(mg/L)；

V—试样定容体积，单位为毫升(mL)；

m—试样质量，单位为克(g)；

1000—由 mg/kg 转换为 g/kg 的换算因子。

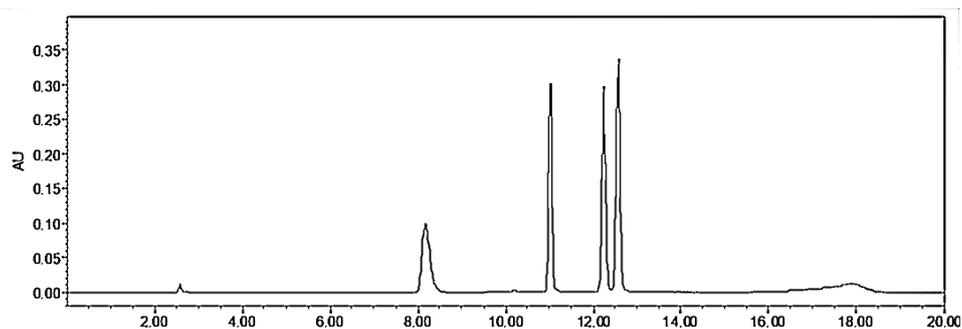
结果保留 3 位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

## 8 注意事项

样品中的咖啡因会对苯甲酸的测定造成影响，建议标准品配置时加入一定量的咖啡因，以确保分离效果；同时为保证咖啡因的分离，不建议更换色谱柱。



1 糖精钠 2 苯甲酸 3 山梨酸 4 脱氢乙酸

图 1 苯甲酸、山梨酸、糖精钠、脱氢乙酸标准品色谱图

## 第八节 有机污染物

序号	手册提供的方法	起草人
1	食品中全氟和多氟烷基化合物测定的标准操作程序	李丽萍、张楠、陈东、范赛、赵榕
2	谷物和肉类中有机磷酸酯阻燃剂测定的标准操作程序	吉文亮、王溪
3	婴幼儿配方食品和水产品中含氟液晶单体残留测定的标准操作程序	尹杰、邵兵、陈东、杨润晖、孟娟、张晶

## 一、食品中全氟和多氟烷基化合物测定的标准操作程序

### 1 适用范围

本方法规定了食品中全氟和多氟烷基化合物含量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本方法适用于畜禽肉、水产品、乳粉、液态乳及蛋类中 23 种全氟和多氟烷基化合物的定量测定。

### 2 原理

试样经提取、离心后，上清液经固相萃取柱净化，用液相色谱-串联质谱测定，内标法定量。

### 3 试剂和材料

#### 3.1 试剂

3.1.1 乙腈 (CH<sub>3</sub>CN)：色谱纯。

3.1.2 甲醇 (CH<sub>3</sub>OH)：色谱纯。

3.1.3 甲酸铵 (HCOONH<sub>4</sub>)：液质联用级。

3.1.4 超纯水 (H<sub>2</sub>O)：电阻率为 18.2 MΩ · cm。

注：以上试剂在使用前均应做本底测试。

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 2 mmol/L 甲酸铵溶液：称取 0.063 g 甲酸铵 (3.1.3)，用超纯水 (3.1.4) 溶解并稀释至 500 mL，混匀。

#### 3.3 标准品

23 种全氟和多氟烷基化合物混合标准品：5.0 ug/mL，DRE-Q35000066。中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子量详见表 1。

表 1 23 种全氟化合物标准品的中文名称、英文名称、缩略语、CAS 登录号、分子式、相对分子量

中文名称	英文名名称	缩略语	分子式
全氟丁酸	Perfluorobutanoic acid	PFBA	C <sub>4</sub> HF <sub>7</sub> O <sub>2</sub>
全氟戊酸	Perfluoropentanoic acid	PFPeA	C <sub>5</sub> HF <sub>9</sub> O <sub>2</sub>
全氟己酸	Perfluorohexanoic acid	PFHxA	C <sub>6</sub> HF <sub>11</sub> O <sub>2</sub>
全氟庚酸	Perfluoroheptanoic acid	PFHpA	C <sub>7</sub> HF <sub>13</sub> O <sub>2</sub>

全氟辛酸	Perfluorooctanoic acid	PFOA	C <sub>8</sub> HF <sub>15</sub> O <sub>2</sub>
全氟壬酸	Perfluorononanoic acid	PFNA	C <sub>9</sub> HF <sub>17</sub> O <sub>2</sub>
全氟癸酸	Perfluorodecanoic acid	PFDA	C <sub>10</sub> HF <sub>19</sub> O <sub>2</sub>
全氟十一酸	Perfluoroundecanoic acid	PFUdA	C <sub>11</sub> HF <sub>21</sub> O <sub>2</sub>
全氟十二酸	Perfluorododecanoic acid	PFDoA	C <sub>12</sub> HF <sub>23</sub> O <sub>2</sub>
全氟十三酸	Perfluorotridecanoic acid	PFTTrDA	C <sub>13</sub> HF <sub>25</sub> O <sub>2</sub>
全氟十四烷酸	Perfluorotetradecanoic acid	PFTTeDA	C <sub>14</sub> HF <sub>27</sub> O <sub>2</sub>
全氟十六烷酸	Perfluorohexadecanoic acid	PFHxDA	C <sub>16</sub> HF <sub>31</sub> O <sub>2</sub>
全氟十八酸	Perfluorooctadecanoic acid	PFODA	C <sub>18</sub> HF <sub>35</sub> O <sub>2</sub>
全氟丁烷磺酸	Perfluorobutanesulfonic acid	PFBS	C <sub>4</sub> HF <sub>9</sub> O <sub>3</sub> S
全氟己烷磺酸	Perfluorohexanesulfonic acid	PFHxS	C <sub>6</sub> HF <sub>13</sub> O <sub>3</sub> S
全氟辛烷磺酸	Perfluorooctane sulfonic acid	PFOS	C <sub>8</sub> HF <sub>17</sub> O <sub>3</sub> S
全氟癸烷磺酸	Perfluorodecanesulfonic acid sodium	PFDS	C <sub>10</sub> F <sub>21</sub> O <sub>3</sub> S
全氟戊烷磺酸	Perfluoropentanesulfonic acid	PFPeS	C <sub>5</sub> HF <sub>11</sub> O <sub>3</sub> S
全氟庚烷磺酸	Perfluoroheptanesulfonic acid	PFHpS	C <sub>7</sub> HF <sub>15</sub> O <sub>3</sub> S
全氟壬烷磺酸	perfluorononanesulfonic acid	PFNS	C <sub>9</sub> HF <sub>19</sub> O <sub>3</sub> S
4,8-二氧杂-3H-全氟壬酸	4,8-Dioxa-3H-perfluorononanoic acid	DONA	C <sub>7</sub> H <sub>2</sub> F <sub>12</sub> O <sub>4</sub>
6:2 氯代多氟烷基醚磺酸/9-氯十六氟-3-氧烷酮-1-磺酸	9-Chlorohexadecafluoro-3-oxanonane-1-sulfonic acid	F-53B (6/2)	C <sub>8</sub> HCIF <sub>16</sub> O <sub>4</sub> S
8:2 氯代多氟烷基醚磺酸	8:2 chlorinated polyfluorinated ether sulfonic acid	F-53B (8/2)	C <sub>10</sub> HCIF <sub>20</sub> O <sub>4</sub> S

13 种全氟化合物同位素混合内标：<sup>13</sup>C<sub>5</sub>-PFHxA、<sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFBA、<sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOA、<sup>13</sup>C<sub>9</sub>-PFNA、<sup>13</sup>C<sub>6</sub>-PFDA、<sup>13</sup>C<sub>7</sub>-PFUdA、<sup>13</sup>C<sub>2</sub>-PFDoA、<sup>13</sup>C<sub>3</sub>-PFHxS、<sup>13</sup>C<sub>8</sub>-PFOS、<sup>13</sup>C<sub>5</sub>-PFPeA、<sup>13</sup>C<sub>3</sub>-PFBS、<sup>13</sup>C<sub>4</sub>-PFHpA、<sup>13</sup>C<sub>2</sub>-PFTeDA。

### 3.4 标准溶液的配制

3.4.1 混合标准中间液：用甲醇（3.1.2）将 23 种混合标准溶液（3.3.1）配制成浓度为 200 ng/mL 全氟化合物的混合标准中间液，4℃ 保存。

3.4.2 同位素内标工作液：用甲醇（3.1.2）将 13 种同位素混合内标溶液（3.4.1）配制成浓度为 200 ng/mL 全氟化合物的内标工作液，4℃ 保存。

3.4.3 混合标准工作溶液：用甲醇溶液将混合标准中间液（3.4.1）逐级稀释为浓度 0.2 ng/mL、1.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL、50.0 ng/mL 混合标准系列溶液，标准曲线中全氟化合物的定量内标浓度为 5.0 ng/mL。

## 4 仪器和设备

4.1 液相色谱-串联质谱仪，配有电喷雾离子源（ESI 源）。

4.2 涡旋振荡器。

4.3 组织捣碎机。

4.4 均质器。

4.5 离心机：转速  $\geq 10000$  r/min。

4.6 电子天平：感量分别为 0.0001 g 和 0.001 g。

4.7 超声波恒温水浴振荡器。

4.8 具塞离心管：15 mL 和 50 mL。

4.9 高效除酯固相萃取柱：Anavo HLB-P/HMR-Lipid, 200 mg/300 mg, 6 mL 或 Captiva EMR-Lipid600 mg, 6 mL。

注：4.8、4.9 的耗材在使用前均应做本底测试。

## 5 试样制备与保存

5.1 固体样品（畜禽肉、水产品、乳粉）：

畜禽肉及水产品：取适量有代表性的可食部分试样，切成小块，组织捣碎机捣碎，均分成两份，作为试样和留样，分别装入洁净容器中，密封并标记，于-18℃避光保存。

乳粉：混合均匀并均分成两份，作为试样和留样，分别装入洁净容器中，密封并标记，于-18℃避光保存。

5.2 液体样品（蛋类和液态乳）：

蛋类：将生蛋破壳后搅拌使得蛋清和蛋白混合均匀后均分成两份，作为试样和留样，分别装入洁净容器中，密封并标记，于-18℃避光保存。

液态乳：将均质的液态乳样品均分成两份，作为试样和留样，分别装入洁净

容器中，密封并标记，于-18℃避光保存。

## 6 测定步骤

### 6.1 提取

#### 6.1.1 固体样品（畜禽肉、水产品、乳粉）：

准确称取2 g（精确至0.001 g）试样置于50 mL具塞离心管中，加入10 μL同位素内标使用液（3.4.2），准确加入2.0 mL超纯水（3.1.5），涡旋震荡3 min，加入8.0 mL乙腈（3.1.1），混匀超声震荡30 min，10000 r/min离心10 min，取上清液待净化。

#### 6.1.2 液体样品（蛋类和液态乳）

准确称取5 g（精确至0.001 g）试样置于50 mL具塞离心管中，加入25 μL同位素内标使用液（3.4.2），加入20 mL乙腈（3.1.1），混匀超声震荡30 min，10000 r/min离心10 min，取上清液10.0 mL待净化。

### 6.2 净化

吸取上述上清液，按图 A 方式过固相萃取柱（4.9），收集流出液，加 1.5 g 氯化钠混匀震荡分层，10000 r/min 离心 10 min，取上层乙腈层 4.0 mL 氮吹吹干，0.2 mL 甲醇复溶后供液相色谱-串联质谱仪测定。

### 6.3 色谱测定

#### 6.3.1 液相色谱-串联质谱检测

##### 6.3.1.1 参考液相色谱条件

a) 色谱柱： Shim-pack GISS Hp 3 μm C18 (2.1 mm×150 mm, HSS)，或性能相当者。

b) 流动相： A 为甲醇， B 为 2 mmol/L 甲酸铵溶液。梯度洗脱程序见表 2。

c) 流速： 0.4 mL/min。

d) 柱温： 35 ℃。

e) 进样量： 2 μL。

表 2 梯度洗脱程序

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
Initial	20	80
0.5	20	80

9.0	95	5
12.0	95	5
12.1	20	80

## 6.3.1.2 参考质谱条件

- a)离子源：电喷雾离子源（ESI 源）；  
b)检测方式：多反应监测（MRM）；  
c)扫描方式：负离子模式扫描；  
d)毛细管电压：2000 V；  
e)脱溶剂气温度：500 ℃；  
f)脱溶剂流量：1000 L/Hr；  
g)锥孔反吹气流量：150 L/Hr。

质谱参数见表 3。

表 3 23 种全氟化合物及其内标定性、定量离子对和质谱分析参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (V)
PFBA	213	169.0*	20	8
PFPeA	262.9	218.9*	24	8
PFHxA	312.9	268.9*	8	10
	312.9	118.9	8	16
PFHpA	362.9	318.9*	22	10
	362.9	168.9	22	14
PFOA	412.9	368.9*	18	10
	412.9	168.9	18	18
PFNA	462.9	418.9*	8	10
	462.9	218.9	8	14
PFDA	512.9	468.9*	24	10
	512.9	218.9	24	181
PFUdA	562.9	518.9*	10	10
	562.9	268.9	10	18
PFDoA	612.9	568.9*	30	12
	612.9	168.9	30	22
PFTrDA	662.9	618.9*	30	10
	662.9	168.9	30	26
PFTeDA	712.9	668.9*	34	12
	712.9	168.9	34	28
PFHxDA	812.9	768.9*	30	14

	812.9	168.9	30	32
PFODA	912.9	868.9*	30	14
	912.9	268.9	30	30
L-PFBS	298.9	79.9*	76	26
	298.9	98.8	76	24
L-PFHxS	398.9	79.9*	20	36
	398.9	98.8	20	30
L-PFOS	498.9	79.9*	20	42
	498.9	98.8	20	38
L-PFDS	598.9	79.9*	20	52
	598.9	98.9	20	42
6/2F-53B	530.9	82.9*	58	34
	530.9	351.0	58	28
8/2F-53B	630.9	82.9*	36	28
	630.9	451.1	36	26
PFNS	548.5	79.8*	4	48
	548.5	98.9	4	44
DONA	376.7	84.9*	2	30
	376.7	250.8	2	12
PFPeS	348.6	79.9*	20	28
	348.6	98.8	20	28
PFHpS	448.9	79.9*	94	36
	448.9	98.8	94	32
<sup>13</sup> C <sub>5</sub> -PFHxA	317.7	272.8	214	8
<sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFBA	216.9	171.9	8	8
<sup>13</sup> C <sub>8</sub> -PFOA	420.6	375.7*	2	18
	420.6	171.8	2	10
<sup>13</sup> C <sub>9</sub> -PFNA	471.7	426.7*	2	10
	471.7	171.8	2	16
<sup>13</sup> C <sub>6</sub> -PFDA	518.6	473.7*	2	12
	518.6	222.8	2	18
<sup>13</sup> C <sub>7</sub> -PFUdA	569.6	524.7*	8	12
	569.6	273.8	8	18
<sup>13</sup> C <sub>2</sub> -PFD <sub>0</sub> A	614.9	569.9*	30	12
	614.9	169.1	30	26
<sup>13</sup> C <sub>3</sub> -PFHxS	401.6	79.8*	14	32
	401.6	98.7	14	34
<sup>13</sup> C <sub>8</sub> -PFOS	506.6	79.8*	2	44
	506.6	98.7	2	44
<sup>13</sup> C <sub>5</sub> -PFPeA	267.7	222.8*	14	8
<sup>13</sup> C <sub>3</sub> -PFBS	301.5	82.8*	34	24

	301.5	120.9	34	26
<sup>13</sup> C <sub>4</sub> -PFHpA	366.5	168.8	30	16
	366.5	321.8*	30	8
<sup>13</sup> C <sub>2</sub> -PFTeDA	714.5	169.0	12	32
	714.5	669.6*	12	14

\*定量离子对。

注：6.3.1.2 的质谱条件仅供参考，当采用不同质谱仪器时，仪器参数可能存在差异，测定前应将质谱参数优化到最佳。

### 6.3.1.3 标准工作曲线制作

将试样溶液同混合标准工作溶液（3.5.3）按仪器参考条件（6.3.1）一起进行测定，根据测定液中23种全氟化合物的含量计算试样中的含量。

### 6.3.1.4 定性测定

在相同试验条件下测定试样和混合标准工作溶液，记录试样和混合标准工作液中23种全氟化合物的色谱保留时间，以相对于最强离子丰度的百分比作为定性离子的相对离子丰度。若试样中检出与混合标准工作液（3.5.3）中23种全氟化合物保留时间一致的色谱峰，且其定性离子与浓度相当的标准溶液中相应的定性离子的相对丰度相比，偏差不超过表4规定的范围，则可以确定试样中检出相应的23种全氟化合物。

表 4 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

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

### 6.3.1.5 定量测定

若试样检出与混合标准工作液（3.5.3）一致的23种全氟化合物，根据标准工作曲线按内标法以内标校正后的响应值计算得到其含量。

## 6.1 空白试验

除不加试样外，均按试样同法操作。

## 7 结果计算

结果按式（1）计算：

$$X = \frac{(c-c_0) \times V \times f}{m} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

X—试样中各待测组分的含量，单位为微克每千克（μg/kg）；

$c$ —从标准工作曲线中读出的样品溶液中各待测组分的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

$c_0$ —从标准工作曲线中读出的空白溶液中各待测组分的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

$V$ —试样溶液最终定容体积，单位为毫升（mL）；

$f$ —试样制备过程中的稀释倍数；

$m$ —称样量，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，结果保留三位有效数字。

## 8 检测方法的灵敏度、准确度、精密度

### 8.1 灵敏度

当固体试样量为 2 g（精确至 0.001 g）、定容体积为 10.0 mL 时，液体试样 5 g（精确至 0.001 g），定容体积为 25.0 mL 时 全氟丁烷羧酸（PFBA）和全氟戊烷羧酸（PFPeA）的检出限为 0.6  $\mu\text{g/kg}$ 、定量限为 1.8  $\mu\text{g/kg}$ ；剩余 21 种全氟化合物的检出限为 0.3  $\mu\text{g/kg}$ 、定量限为 1.0  $\mu\text{g/kg}$ 。

### 8.2 准确度

本方法在 1~5  $\mu\text{g/kg}$  添加浓度范围内，回收率为 80%~110%。

### 8.3 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

## 二、谷物和肉类中有机磷酸酯阻燃剂测定的标准操作程序

### 1 范围

本程序适用于液相色谱-三重四极杆串联质谱仪 (LC-MS/MS) 对谷物和肉类中 16 种有机磷酸酯阻燃剂的同时测定。

本程序规定了谷物 (大米、玉米、小麦) 和肉类 (猪肉、牛肉、羊肉) 样品中磷酸三甲酯 (TMP)、磷酸三乙酯 (TEP)、磷酸三丙酯 (TnPP)、磷酸三异丙酯 (TiPP)、磷酸三正丁酯 (TnBP)、磷酸三异丁酯 (TiBP)、磷酸三 (2-乙基己基) 酯 (TEHP)、磷酸三 (2-丁氧乙基) 酯 (TBOEP)、磷酸三苯酯 (TPhP)、磷酸三甲苯酯 (TMPP)、2-乙基己基二苯基磷酸酯 (EHDPP)、磷酸三 (2-氯乙基) 酯 (TCEP)、磷酸三 (2-氯丙基) 酯 (TCiPP)、磷酸三 (1,3-二氯-2-丙基) 酯 (TDCiPP)、2,2-二 (氯甲基-1,3-丙二醇双 [双 (2-氯乙基) 磷酸酯]) (V6)、磷酸三 (2,3-二溴丙基) 酯 (TDBPP) 的同时测定。

当试样取 1.0 g 时, 本方法 16 种有机磷酸酯阻燃剂检出限为 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (TEHP 0.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), 定量限为 2.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (TEHP 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )。

### 2 原理

样品经 0.5% 甲酸乙腈提取, 提取液 QuEChERS 净化, 高效液相色谱-串联质谱测定, 内标法定量。TCEP、EHDPP、TMPP、TBOEP、V6、TDBPP 采用外标法定量。

### 3 试剂

除非另有规定, 本方法所用试剂均为分析纯, 水为符合 GB/T 6682 的一级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 无水硫酸镁: 于 550  $^{\circ}\text{C}$  煅烧 5 h, 冷却后贮存于干燥器中备用。

3.1.2 无水硫酸钠: 于 550  $^{\circ}\text{C}$  煅烧 5 h, 冷却后贮存于干燥器中备用。

3.1.3 乙腈: 色谱纯

3.1.4 甲醇: 色谱纯

3.1.5 甲酸: 色谱纯

## 3.2 试剂配制

3.2.1 0.5%甲酸乙腈：取 0.5 mL 甲酸，用乙腈溶解并稀释至 100 mL。

3.2.2 80%甲醇溶液：量取 80 mL 甲醇于 20 mL 水中，混匀。

3.3 TMP、TEP、TnPP、TiPP、TnBP、TiBP、TEHP、TBOEP、TPhP、TMPP、EHDPP、TCEP、TCiPP、TDCiPP、V6、TDBPP 标准品。

3.4 TMP-D<sub>9</sub>、TEP-D<sub>15</sub>、TnPP-D<sub>21</sub>、TnBP-D<sub>27</sub>、TEHP-D<sub>51</sub>、TPhP-D<sub>15</sub>、TCPP-D<sub>18</sub>、TDCPP-D<sub>15</sub> 内标。

## 3.5 标准溶液配制：

3.5.1 有机磷酸酯阻燃剂标准储备液 1 mg/mL (TEHP 0.1 mg/mL)：分别准确称取 10 mg (精确到 0.01 mg) TMP、TEP、TnPP、TiPP、TnBP、TiBP、TEHP、TBOEP、TPhP、TMPP、EHDPP、TCEP、TCiPP、TDCiPP、V6、TDBPP 标准品，分别用甲醇溶解并定容至 10 mL，-18 °C 保存 6 个月。吸取 TEHP 标准储备液 1 mL 至 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度，配制成 0.1 mg/mL 标准储备液。

3.5.2 混合标准中间液 10 mg/L (TEHP 1 mg/L)：分别准确吸取上述标准储备液各 0.1 mL 至 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容刻度，配制成浓度为 10 mg/L 的混合标准中间液 (TEHP 1 mg/L)。

3.5.3 混合标准使用液 100 μg/L (TEHP 10 μg/L)：准确吸取上述 10.0 mg/L 标准中间液 0.1 mL 至 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容刻度，配制成浓度为 100 μg/L 的混合标准使用液 (TEHP 10 μg/L)。

3.5.4 内标用甲醇配置成 10 mg/L (TEHP-D<sub>51</sub> 1 mg/L) 混合内标储备液。使用时用甲醇稀释成 1 mg/L 混合内标使用液 (TEHP-D<sub>51</sub> 0.1 mg/L)。

## 4 仪器和耗材

4.1 液相色谱-三重四极杆质谱联用仪，配有电喷雾离子源。

4.2 电子天平：感量为 0.01 g 和 0.0001 g。

4.3 高速低温离心机。

4.4 涡漩混合器。

4.5 均质机。

4.6 超声波清洗仪。

4.7 氮吹仪。

4.8 微孔滤膜：PTFE 材质，0.2  $\mu\text{m}$ 。

4.9 PSA

4.10 C18

4.11 EMR-Lipid

## 5 分析步骤

### 5.1 试样制备

5.1.1 谷物（大米、玉米、小麦）样品采集 200~500 g，打碎并混合均匀，四分法取 50~100 g 装入具塞样品瓶内，贴上标签后室温密封保存。

5.1.2 肉类（猪肉、牛肉、羊肉）样品采集 200~500 g，用组织捣碎机绞碎，四分法取 50~100 g 装入具塞样品瓶内，贴上标签后-18  $^{\circ}\text{C}$  冰箱密封保存。

### 5.2 样品提取

谷物：称取 1.0 g（精确至 0.001 g）混合均匀的样品于 50 mL 离心管中，加入 1 mg/L 混合内标使用液（TEHP-D<sub>51</sub> 0.1 mg/L）10  $\mu\text{L}$ ，加入 2 mL 水混匀，静置 10 min。加入 0.5%甲酸乙腈溶液 10 mL，涡旋混匀 2 min，超声（25 kHz）提取 10 min，加入 4 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>，涡旋 2 min，8000 r/min 离心 5 min，吸取上清液 6 mL 待净化。

肉类：称取 1.0 g（精确至 0.001 g）混合均匀的样品于 50 mL 离心管中，加入 1 mg/L 混合内标使用液（TEHP-D<sub>51</sub> 0.1 mg/L）10  $\mu\text{L}$ ，加入 2 mL 水混匀，静置 10 min。加入 0.5%甲酸乙腈溶液 10 mL，涡旋混匀 2 min，超声（25 kHz）提取 10 min，加入 1 g EMR-Lipid，4 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>，涡旋 2 min，-20  $^{\circ}\text{C}$  冷冻 30 min。取出样品，8000 r/min 离心 5 min，吸取上清液 6 mL 待净化。

### 5.3 样品净化：

吸取上清液 6 mL 置于 15 mL 净化管中（600 mg MgSO<sub>4</sub>，200 mg PSA，150 mg C18），涡旋混匀。10000 r/min 离心 5 min，吸取上清液 4 mL 在微弱的氮气流下吹干（30  $^{\circ}\text{C}$  水浴），用 0.4 mL 80%甲醇复溶，混合均匀。10000 r/min 离心 5 min，0.2  $\mu\text{m}$  PTFE 滤膜过滤，供高效液相色谱-串联质谱测定。

### 5.4 仪器参考条件

#### 5.4.1 液相色谱参考条件

5.4.1.1 色谱柱：Waters BEH C18 柱（1.7  $\mu\text{m}$ ，2.1 mm  $\times$  100 mm）或相当者；

5.4.1.2 柱温：40 °C。

5.4.1.3 流动相分别采用 A 相为含 0.1%甲酸的水溶液，B 相为乙腈；梯度洗脱程序：0~0.2 min, 10%B; 0.2~9 min, 10%~70%B; 9~10 min, 70~98%B; 10~14 min, 98%B; 14~15 min, 98%~10%B。

5.4.1.4 流速：0.4 mL/min。

5.4.1.5 进样量：2 μL。

5.4.2 质谱仪参考条件

5.4.2.1 离子源：电喷雾离子源（ESI）。

5.4.2.2 毛细管电压：2.5 kV；离子源温度：150 °C；脱溶剂温度：600 °C。去溶剂流速 1000 L/Hr；锥孔流速 150 L/Hr；雾化气压力 7.0 bar；碰撞气流速 0.15 mL/min

5.4.2.3 扫描方式：正离子扫描。

5.4.2.4 检测方式：多反应检测（MRM）。

5.4.2.5 锥孔电压、碰撞能量等应优化至最优灵敏度。

5.4.2.6 定性离子对、定量离子对，锥孔电压及碰撞能量见表 1。

表 1 目标化合物质谱参数

化合物	对应内标	保留时间 /min	母离子 ( <i>m/z</i> )	子离子 ( <i>m/z</i> )	锥孔电 压/ V	碰撞能量 / eV
TMP	TMP-D <sub>9</sub>	1.45	141.1	79.0/109.0*	10	15/10
TEP	TEP-D <sub>15</sub>	3.96	183.1	81.0/99.0*	10	30/18
TiPP	TnPP-D <sub>21</sub>	6.23	225.1	99.0/141.0*	10	15/8
TnPP	TnPP-D <sub>21</sub>	6.74	225.1	99.0/141.0*	10	15/8
TiBP	TnBP-D <sub>27</sub>	9.00	267.2	99.0*/155.0	10	18/10
TnBP	TnBP-D <sub>27</sub>	9.12	267.2	99.0*/155.0	10	18/10
TCEP	/	5.47	285.1	63.0/99.0*	10	20/20
TPhP	TPhP-D <sub>15</sub>	8.99	327.1	77.0*/215.1	10	35/25
TCiPP	TCiPP-D <sub>18</sub>	7.24	327.1	99.0*/251.0	10	20/9
EHDPP	/	10.83	363.2	77/251.1*	10	35/15
TMPP	/	10.50	369.4	91.0/166.1*	10	35/30
TBOEP	/	9.73	399.4	199.1*/299.2	10	15/12

TDCiPP	TDCiPP-D <sub>15</sub>	8.67	431.1	99.0*/209.0	10	25/15
TEHP	TEHP-D <sub>51</sub>	12.72	435.4	99.0*/113.1	10	15/10
V6	/	7.62	582.9	297.0/361.0*	10	30/20
TDBPP	/	9.12	698.6	99.0*/298.9	10	30/15
TMP-D9	/	1.40	150.1	115.0	10	15
TEP-D15	/	3.88	198.1	102.0	10	18
TnPP-D21	/	6.62	246.1	102.0	10	15
TnBP-D27	/	8.99	294.2	102.0	10	18
TPhP-D15	/	8.92	342.1	82.1	10	35
TCiPP-D18	/	7.26	345.1	102.0	10	20
TDCiPP-D15	/	8.62	446.1	102.0	10	25
TEHP-D51	/	12.55	486.4	102.0	10	25

注：\*定量离子

### 5.5 定性测定

在相同实验条件下，样品中待测物质的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，变化范围应在±5.0%之间。每种被测组分的质谱定性离子应出现，至少应包括选择一个母离子和一个子离子，且样品图谱中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液图谱中对应的定性离子的相对丰度进行比较，偏差不超过表 2 规定的范围，则可判定为样品中检出对应的待测物。

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≤10
允许最大偏差%	±20	±25	±30	±50

### 5.6 标准曲线的制作

分别吸取 100 μg/L (TEHP 10 μg/L) 混合标准使用液 10 μL、20 μL、50 μL、100 μL、200 μL、500 μL，加入 1 mg/L 混合内标使用液 (TEHP-D<sub>51</sub> 0.1 mg/L) 10 μL，用 80% 甲醇溶液定容至 1.0 mL，制备成含量分别为 1 μg/L、2 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、20 μg/L、50 μg/L (TEHP 0.1 μg/L、0.2 μg/L、0.5 μg/L、1 μg/L、2 μg/L、5 μg/L) 的标准系列，HPLC-MS/MS 分析后绘制标准曲线。根据标准曲线计算样品中 16 种有机磷酸酯阻燃剂含量。

### 5.7 试样测定

取根据 5.2、5.3 处理得到的待测溶液进样，内标法计算待测液中目标物质的

质量浓度，TCEP、EHDPP、TMPP、TBOEP、V6、TDBPP 采用外标法定量。试液中待测物的响应值应在标准曲线线性范围内，超过线性范围则应适当稀释后重新测定。

## 6 分析结果的表述

试样中有机磷酸酯阻燃剂的含量按式（1）计算

$$X = \frac{C \times V \times f}{m} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

$X$ ——试样中有机磷酸酯阻燃剂的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

$C$ ——试样中有机磷酸酯阻燃剂在标准曲线中对应的质量浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g}/\text{L}$ ）；

$V$ ——试样待测液的定容体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；

$f$ ——稀释倍数；

$m$ ——样品质量，单位为克（ $\text{g}$ ）；

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，保留 2 位有效数字（或小数点后 2 位）。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。为了保证分析结果的准确，要求每批样品至少做一个加标回收实验，加标  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  有机磷酸酯阻燃剂，回收率应在 60-130%范围之内。

## 8 说明

8.1 本方法中高效液相色谱-质谱/质谱参考条件是在 Waters-TQ-XS 仪器上获得，各种类型的液相色谱-质谱/质谱仪均可以参考借鉴。

8.2 污染控制：

8.2.1 由于在前处理过程中易引入有机磷酸酯阻燃剂污染，应首先对使用的全部耗材进行验收。

8.2.2 每批样品前处理时必须加一个过程空白，除不称取试样外，完全按照整个样品分析过程进行。本底在 1/2~1 倍检出限时不用扣除空白值，高于检出限时需

要扣除空白值。

8.2.3  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  及  $\text{MgSO}_4$  在未煅烧时均会引入污染, 经过  $550^\circ\text{C}$  煅烧 5 h 后可使污染大幅减少。

8.2.4 尼龙和再生纤维素材质的微孔滤膜会引入污染, PTFE 材质的微孔滤膜引入污染较少, 推荐采用。

8.2.5 为控制仪器残留, 建议每针进样前后增加洗针程序。高浓度样品进样后进空白样品确保没有残留。如果仪器带有本底污染(来自流动相或管路), 经冲洗无法去除, 可尝试使用纳鸥鬼峰捕集柱( $50\text{ mm}\times 2.1\text{ mm}$ ), 每针样品进样前平衡 3 min, 平衡不充分可能带来保留时间不稳定的问题, 建议每批样品进样时同时进质控样, 以校正保留时间。

8.3 为了保证分析结果的准确, 要求每批样品至少做一个加标回收实验, 建议加标  $10\ \mu\text{g}/\text{kg}$ , 有机磷酸酯阻燃剂回收率应为 60-130% 之间。

8.4 TCiPP 及 TCiPP-D<sub>18</sub> 峰形可能不好, TCiPP-D<sub>18</sub> 为团簇峰, 可一起积分, 线性关系良好, 不影响定量结果。

8.5 TCEP、EHDPP、TMPP、TBOEP、V6、TDBPP 采用外标法定量。其中, EHDPP 和 TMPP 暂无市售内标。TCEP、TBOEP、V6、TDBPP 有市售内标可选用, 分别是 TCEP-D<sub>12</sub>、TBOEP-D<sub>27</sub>、V6-D<sub>16</sub>、TDBPP-D<sub>15</sub>。本方法中, TCEP-D<sub>12</sub> 在玉米和小麦中有干扰峰, 因此 TCEP 采用外标法定量, 回收率 70%~120%。若采用不同厂家的仪器时发现 TCEP-D<sub>12</sub> 响应稳定, TCEP 也可采用内标法定量。TBOEP-D<sub>27</sub>、V6-D<sub>16</sub>、TDBPP-D<sub>15</sub> 由于货期原因, 本方法目前 TBOEP、V6、TDBPP 采用外标法定量, 回收率 60%~120%。

8.6 标准品相关信息见附录 A。16 种有机磷酸酯阻燃剂标准溶液的提取离子流图见附录 B。

## 附录 A

表 A.1 标准品相关信息

化合物	英文名	缩写	分子式	CAS 号
磷酸三甲酯	Trimethyl phosphate	TMP	C <sub>3</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub> P	512-56-1
磷酸三乙酯	Triethyl phosphate	TEP	C <sub>6</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> P	78-40-0
磷酸三异丙酯	Triisopropyl phosphate	TiPP	C <sub>9</sub> H <sub>21</sub> O <sub>4</sub> P	513-02-0
磷酸三丙酯	Tri-n-propyl Phosphate	TnPP	C <sub>9</sub> H <sub>21</sub> O <sub>4</sub> P	513-08-6
磷酸三异丁酯	Triisobutyl phosphate	TiBP	C <sub>12</sub> H <sub>27</sub> O <sub>4</sub> P	126-71-6
磷酸三正丁酯	Tributyl phosphate	TnBP	C <sub>12</sub> H <sub>27</sub> O <sub>4</sub> P	126-73-8
磷酸三(2-氯乙基)酯	Tris(2-chloroethyl) phosphate	TCEP	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>4</sub> P	115-96-8
磷酸三苯酯	Triphenyl phosphate	TPhP	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> P	115-86-6
磷酸三(2-氯丙基)酯	Tris(2-chloroisopropyl) phosphate	TCiPP	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>4</sub> P	13674-84-5
磷酸 2-乙基己基二苯酯	2-Ethylhexyl diphenyl phosphate	EHDP P	C <sub>20</sub> H <sub>27</sub> O <sub>4</sub> P	1241-94-7
磷酸三甲苯酯	Tricresyl Phosphate	TMPP	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>4</sub> P	1330-78-5
磷酸三(丁氧基乙基)酯	Tris(2-butoxyethyl) phosphate	TBOE P	C <sub>18</sub> H <sub>39</sub> O <sub>7</sub> P	78-51-3
磷酸三(1,3-二氯-2-丙基)酯	Tris(1,3-dichloroisopropyl) phosphate	TDCi PP	C <sub>9</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>6</sub> O <sub>4</sub> P	13674-87-8

磷酸三(2-乙基己基)酯	Tris(2-ethylhexyl) phosphate	TEHP	$C_{24}H_{51}O_4P$	78-42-2
2,2-二(氯甲基)-1,3-丙二醇双[双(2-氯乙基)磷酸酯]	2,2-bis(chloromethyl)trimethylene bis(bis(2-chloroethyl)phosphate)	V6	$C_{13}H_{24}Cl_6O_8P_2$	38051-10-4
磷酸三(2,3-二溴丙基)酯	Tris(2,3-dibromopropyl)phosphate	TDBP P	$C_9H_{15}Br_6O_4P$	126-72-7
磷酸三甲酯-D <sub>9</sub>	Trimethyl phosphate-D <sub>9</sub>	TMP-D <sub>9</sub>	$C_3D_9O_4P$	32176-12-8
磷酸三乙酯-D <sub>15</sub>	Triethyl phosphate-D <sub>15</sub>	TEP-D <sub>15</sub>	$C_6D_{15}O_4P$	135942-11-9
磷酸三丙酯-D <sub>21</sub>	Tri-n-propyl Phosphate-D <sub>21</sub>	TnPP-D <sub>21</sub>	$C_9D_{21}O_4P$	1219794-92-9
磷酸三正丁酯-D <sub>27</sub>	Tributyl phosphate-D <sub>27</sub>	TnBP-D <sub>27</sub>	$C_{12}D_{27}O_4P$	61196-26-7
磷酸三(2-乙基己基)酯-D <sub>51</sub>	Tris(2-ethylhexyl) phosphate-D <sub>51</sub>	TEHP-D <sub>51</sub>	$C_{24}D_{51}O_4P$	1259188-37-8
磷酸三苯酯-D <sub>15</sub>	Triphenyl phosphate-D <sub>15</sub>	TPhP-D <sub>15</sub>	$C_{18}D_{15}O_4P$	1173020-30-8
磷酸三(2-氯乙基)酯-D <sub>12</sub>	Tris(2-chloroethyl) phosphate-D <sub>12</sub>	TCEP-D <sub>12</sub>	$C_6D_{12}Cl_3O_4P$	1276500-47-0
磷酸三(2-氯丙基)酯-D <sub>18</sub>	Tris(2-chloroisopropyl) phosphate-D <sub>18</sub>	TCiPP-D <sub>18</sub>	$C_9D_{18}Cl_3O_4P$	1447569-78-9
磷酸三(1,3-二氯-2-丙基)酯-D <sub>15</sub>	Tris(1,3-dichloroisopropyl) phosphate-D <sub>15</sub>	TDCiPP-D <sub>15</sub>	$C_9D_{15}Cl_6O_4P$	1447569-77-8
三(2-丁氧基乙基)	Tris(2-butoxyethyl)	TBOE	$C_{18}H_{32}O_7$	78-51-3

磷酸酯-D <sub>27</sub>	phosphate-D <sub>27</sub>	P-D <sub>27</sub>	<sup>7</sup> O <sub>7</sub> P	(Unlabelled)
2,2-二(氯甲基)- 1,3-丙二醇双[双 (2-氯乙基)磷酸 酯]-D <sub>16</sub>	2,2- bis(chloromethyl)trimet hylene bis(bis(2- chloroethyl)phosphate)- D <sub>16</sub>	V6- D <sub>16</sub>	C <sub>13</sub> H <sub>8</sub> D <sub>16</sub> Cl <sub>6</sub> O <sub>8</sub> P <sub>2</sub>	38051-10-4 (Unlabelled)
三(2,3-二溴丙 基)磷酸酯-D <sub>15</sub>	Tris(2,3- dibromopropyl)phospha te-D <sub>15</sub>	TDBP P-D <sub>15</sub>	C <sub>9</sub> D <sub>15</sub> Br <sub>6</sub> O <sub>4</sub> P	126-72-7 (Unlabelled)

附录 B

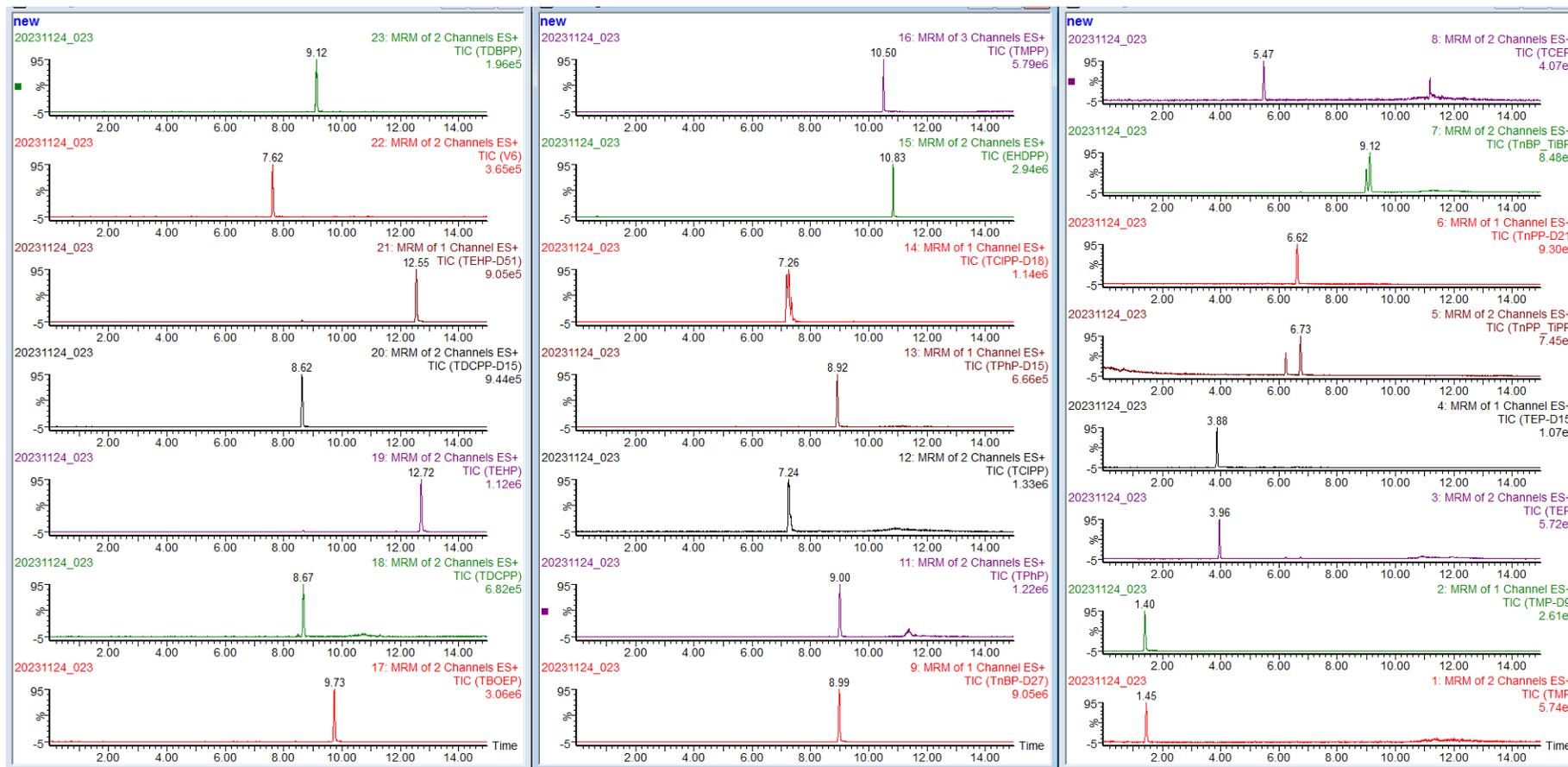


图 B.1 16 种有机磷酸酯阻燃剂标准溶液的提取离子流图  
(TEHP 0.5  $\mu\text{g/L}$ , 其余 15 种 5  $\mu\text{g/L}$ )

### 三、婴幼儿配方食品和水产品中含氟液晶单体残留测定的标准操作程序

#### 1 范围

本程序适用于大气压气相色谱三重四极杆串联质谱联用仪 (APGC-MS/MS) 对婴幼儿配方食品和水产品中39种含氟液晶单体残留的同时测定。

本程序规定了婴幼儿配方食品和水产样品中39种含氟液晶单体残留量的同时测定。

#### 2 原理

样品经正己烷/二氯甲烷 (1:1, 体积比) 提取, 提取液浓缩后二氯甲烷溶解, 采用弗罗里硅土 (Florisil) 固相萃取柱净化, 大气压气相色谱-串联质谱测定, 内标法定量。

#### 3 试剂和材料

注: 除非另有规定, 本方法所用试剂均为色谱纯, 水为GB/T6682规定的一级水。

##### 3.1 试剂

3.1.1 二氯甲烷。

3.1.2 正己烷。

3.1.3 异辛烷。

##### 3.2 标准品

3.2.1 1-氟-4-[2-(4-丙基苯)乙炔基]苯: 纯度大于99.0%

3.2.2 4-氰基-3-氟苯基 4-苯甲酸乙酯: 纯度大于99.0%。

3.2.3 4-乙氧基-2,3-二氟-4-(4-丙基苯)-苯: 纯度大于99.0%。

3.2.4 1-乙基-4-[(4-氟苯基)乙炔基]苯: 纯度大于99.0%。

3.2.5 1-乙氧基-2,3-二氟-4-(反式-4-丙基环己基)苯: 纯度大于99.0%。

3.2.6 4-乙氧基-2,3-二氟-4'-(反式-4-丙基环己基)联苯: 纯度大于99.0%。

3.2.7 2,3-二氟-1-甲基-4-[(反式,反式)-4'-戊基[1,1'-环己基环己烷]-4-基]苯: 纯度大于99.0%。

3.2.8 1-乙氧基-2,3-二氟-4-[(反式,反式)-4'-丙基[1,1'-环己基环己烷]-4-基]-苯: 纯

度大于99.0%。

3.2.9 3,4,5-三氟-1-[反式-4'-(反式-4"-戊基环己基)-环己基]苯：纯度大于99.0%。

3.2.10 2,3-二氟-1-丙氧基-4-[4-(4-丙基环己基)环己基]苯：纯度大于99.0%。

3.2.11 1-[4-(4-叔丁基环己基)环己基]-4-乙氧基-2,3-二氟-苯：纯度大于99.0%。

3.2.12 2-氟-4-[4'-丙基-1,1'-bi(环己基)-4-基]苯基 三氟甲基 乙醚：纯度大于99.0%。

3.2.13 3,4,5-三氟-4'-[(反式)-4'-乙基[1,1'-环己基环己烷]-4-基]-1,1'-联苯：纯度大于99.0%。

3.2.14 丙基环己基-2,6-二氟苯基-二氟甲氧基-3,4,5-三氟苯：纯度大于99.0%。

3.2.15 4-[二氟(3,4,5-三氟苯氧基)甲基]-4"-乙基-2',3,5-三氟-1,1':4',1"-三联苯：纯度大于99.0%。

3.2.16 4-(二氟(3,4,5-三氟苯氧基)甲基)-2',3,5-三氟-4"-丙基-1,1':4',1"-三联苯：纯度大于99.0%。

3.2.17 4"-丁基-4-(二氟(3,4,5-三氟苯氧基)甲基)-2',3,5-三氟-1,1':4',1"-三联苯：纯度大于99.0%。

3.2.18 4-[二氟(3,4,5-三氟苯氧基)甲基]-2',3,5-三氟-4"-戊基-1,1':4',1"-三联苯：纯度大于99.0%。

3.2.19 1-氟-4-[(反式,反式)-4'-丙基[1,1'-环己基环己烷]-4-基]苯：纯度大于99.0%。

3.2.20 1-丁氧基-2,3-二氟-4-(反式-4-丙基环己基)苯：纯度大于99.0%。

3.2.21 反式-1-乙氧基-2,3-二氟-4-(4-戊基环己基)苯：纯度大于99.0%。

3.2.22 2'-氟-4"-丙基-[1,1':4',1"-三联苯]-4-腈：纯度大于99.0%。

3.2.23 4-氰基-3,5-二氟苯基 4-丁基-苯甲酸酯：纯度大于99.0%。

3.2.24 3'-氟-4"-丙基-[1,1':4',1"-三联苯]-4-腈：纯度大于99.0%。

3.2.25 2,3-二氟-4-甲基-4'-(反式-4-丙基环己基)-1,1'-联苯：纯度大于99.0%。

3.2.26 4-乙氧基-2,3-二氟-4'-(反式-4-乙基环己基)-1,1'-联苯：纯度大于99.0%。

3.2.27 4-氰基-3,5-二氟苯基 4-苯甲酸戊酯：纯度大于99.0%。

3.2.28 2',3,4,5-四氟-4'-(反式-4-丙基环己基)联苯：纯度大于99.0%。

3.2.29 2,3-二氟-1-甲氧基-4-[4-(4-丙基环己基)环己基]苯：纯度大于99.0%。

3.2.30 4-[二氟(3,4,5-三氟苯氧基)-甲基]-3,5-二氟-4'-丙基-1,1'-联苯：纯度大于99.0%。

3.2.31 4-[反式-4-(反式-4-丙基环己基)环己基]-1-三氟甲氧基苯：纯度大于99.0%。

3.2.32 4-丁基-4''-乙基-2'-氟-1,1':4,1''-三联苯：纯度大于99.0%。

3.2.33 4'-[(反式,反式)-4'-乙基[1,1'-联环己烷]-4-基]-3,4-二氟-1,1'-联苯：纯度大于99.0%。

3.2.34 反式,反式-3,4-二氟-4'-(4'-丙基双环己基-4-基)联苯：纯度大于99.0%。

3.2.35 2',3,5-三氟-4''-(反式-4-丙基环己基)-4-(三氟甲氧基)-1,1':4,1''-三联苯：纯度大于99.0%。

3.2.36 2-[4'-[二氟(3,4,5-三氟-2-甲基-苯氧基)甲基]-3',5'-二氟-[1,1'-联苯]-4-基]-5-乙基-四氢-吡喃：纯度大于99.0%。

3.2.37 4'-[(反式,反式)-4'-丁基[1,1'-环己基环己烷]-4-基]-3,4-二氟-1,1'-联苯：纯度大于99.0%。

3.2.38 4''-乙基-2'-氟-4-丙基-1,1':4,1''-三联苯：纯度大于99.0%。

3.2.39 4-[二氟-(3,4,5-三氟-2-甲基-苯氧基)-甲基]-3,5-二氟-4'-丙基-1,1'-联苯：纯度大于99.0%。

3.2.40  $^{13}\text{C}_{12}$ -多氯联苯-52内标标准品：纯度大于99.0%。

3.2.41  $^{13}\text{C}_{12}$ -多氯联苯-180内标标准品：纯度大于99.0%。

3.3 标准溶液配制：纯度大于99.0%。

3.3.1 氟代液晶单体标准储备液（1 mg/mL）：分别准确称取10 mg（精确到0.01 mg）39种氟代液晶单体标准品，用正己烷分别溶解定容至10 mL，-18℃保存12个月。

3.3.2 混合氟代液晶单体标准中间液（10.0 mg/L）：分别准确吸取上述1 mg/mL标准储备液各0.1 mL至10 mL容量瓶中，用正己烷定容刻度，配制成浓度为10.0 mg/L的混合标准中间液。

3.3.3 混合氟代液晶单体标准使用液（100 μg/L）：准确吸取上述10.0 mg/L标准中间液0.1 mL至10 mL容量瓶中，用异辛烷定容刻度，配制成浓度为100 μg/L的混合标准使用液。

3.3.3 多氯联苯同位素内标标准使用液：将同位素内标用异辛烷按照适当的比例

稀释，配制成100  $\mu\text{g/L}$ 的同位素内标标准使用液。

### 3.5 材料

3.5.1 Florisil固相萃取柱（500 mg，6 mL）。

3.5.2 聚丙烯离心管：50 mL。

3.5.3 聚丙烯离心管：15 mL。

### 4 仪器设备

4.1 大气压气相色谱-三重四极杆质谱联用仪，配有大气压气相色谱电离源（AP GC）。

4.2 电子天平：感量为0.01 g和0.0001 g。

4.3 高速低温离心机。

4.4 涡漩混合器。

4.5 均质机。

4.6 真空冷冻干燥仪。

4.7 超声波清洗仪。

4.8 氮吹仪。

### 5 分析步骤

#### 5.1 试样制备

婴幼儿配方奶粉装入具塞样品瓶内，取样后密封标记， $-18^{\circ}\text{C}$ 保存。

婴幼儿配方米粉装入具塞样品瓶内，取样后密封标记， $-18^{\circ}\text{C}$ 保存。

水产样品置于洁净的玻璃培养皿中，在超低温冰箱（ $-80^{\circ}\text{C}$ ）中放置24小时，以保证样品彻底冻结，再将样品连同托盘置于真空冷冻干燥仪中（冻干机提前预热半小时），之后样品在 $-50^{\circ}\text{C}$ 、0.040 mbar条件下冻干（至少24小时）。将冻干的样品研磨成粉状，装入具塞样品瓶内，取样后密封标记， $-18^{\circ}\text{C}$ 保存。

#### 5.2 样品提取

准确称取0.5 g（精确至0.01 g）试样于50 mL离心管中，加入5 ng同位素内标混合应用液，涡旋震荡1 min，用20 mL正己烷/二氯甲烷（1:1，体积比）

在40℃ 超声提取30 min。 4℃10000 rpm 离心10 min，取上清液转移至50 mL 离心管中待净化。

### 5.3 样品净化：

提取物旋转蒸发至干，然后用2 mL二氯甲烷复溶。预先用6 mL二氯甲烷活化弗罗里硅土固相萃取柱，然后将复溶液转移到固相萃取柱上，上样完后用6 mL二氯甲烷洗脱，收集流出液和洗脱液于40℃ 微弱的氮气流吹干，用1 mL异辛烷复溶，转移至玻璃小瓶中，待APGC-MS/MS分析。

### 5.4 仪器参考条件

#### 5.4.1 气相色谱参考条件

(a) 色谱柱：DB-5 mS毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm, 0.10 μm)连接一段无填料的熔融石英柱（约0.4 m）或相当者；

(b) 进样口温度：280℃。

(c) 程序升温初始柱温为80℃，保持1 min，再以40℃/min升温至160℃，然后以10℃/min升温至240℃，保持5 min；再以5℃/min升温至300℃，保持6 min。

(d) 氮气流速：1.2 mL/min。

(e) 进样量：1 μL。

#### 5.4.2 质谱仪参考条件

(a) 离子源：大气压气相色谱电离源（APGC）。

(b) 电晕针放电电流：3.0 μA；离子源温度：150℃；传输管温度：380℃。

(c) 氮气做辅助气、锥孔气和尾吹气，流量分别为250 L/h, 250 L/h和350 mL/min。

(c) 扫描方式：正离子扫描。

(d) 检测方式：多反应检测（MRM）。

(e) 锥孔电压、碰撞能量等电压值应优化至最优灵敏度。

(f) 定性离子对、定量离子对，锥孔电压及碰撞能量见表1。

表 1 目标化合物的主要参考质谱参数

化合物	缩写	母离子 ( <i>m/z</i> )	子离子 ( <i>m/z</i> )	锥孔电 压 (V)	碰撞能 量 (eV)
1-氟-4-[2-(4-丙基苯)乙炔基]苯 <sup>a</sup>	FPEB	239.3	196.5*	20	45
			176.7		45
4-氰基-3-氟苯基 4-苯甲酸乙酯 <sup>a</sup>	CFPEB	270.3	133.5*	20	15
			105.5		45
4-乙氧基-2,3-二氟-4-(4-丙基苯)- 苯 <sup>a</sup>	EDPBB	276.9	219.4*	10	20
			249.0		10
1-乙基-4-[(4-氟苯基)乙炔基]苯 <sup>a</sup>	EFPEB	225.3	196.9*	35	25
			210.2		25
1-乙氧基-2,3-二氟-4-(反式-4-丙 基环己基)苯 <sup>a</sup>	EDPrB	282.4	169.4*	35	20
			197.3		15
4-乙氧基-2,3-二氟-4'-(反式-4-丙 基环己基)联苯 <sup>b</sup>	EDPB	358.7	245.4*	10	35
			232.3		40
2,3-二氟-1-甲基-4-[(反式,反式)- 4'-戊基[1,1'-环己基环己烷]-4- 基]苯 <sup>b</sup>	DMPBB	362.5	154.1*	20	40
			141.5		50
1-乙氧基-2,3-二氟-4-[(反式,反 式)-4'-丙基[1,1'-环己基环己烷]- 4-基]-苯 <sup>b</sup>	EDFPBB	364.4	156.4*	35	35
			169.4		25
3,4,5-三氟-1-[反式-4'-(反式 -4"-戊基环己基)-环己基]苯 <sup>b</sup>	TPeCB	366.4	231.5*	25	10
			81.5		45
2,3-二氟-1-丙氧基-4-[4-(4-丙基 环己基)环己基]苯 <sup>b</sup>	DPPCB	378.3	336.3*	25	5
			156.4		45
1-[4-(4-叔丁基环己基)环己基]- 4-乙氧基-2,3-二氟-苯 <sup>b</sup>	BCEDB	378.3	184.4*	35	25
			156.4		30
2-氟-4-[4'-丙基-1,1'-bi(环己基)- 4-基]苯基 三氟甲基 乙醚 <sup>a</sup>	FPrBP	386.4	206.4*	25	30
			83.1		25
3,4,5-三氟-4'-[(反式)-4'-乙基 [1,1'-环己基环己烷]-4-基]-1,1'- 联苯 <sup>b</sup>	TrBB	400.3	234.4*	15	50
			221.4		50
丙基环己基-2,6-二氟苯基-二氟 甲氧基-3,4,5-三氟苯 <sup>a</sup>	PDDMTB	415.2	265.3*	50	25
			291.2		25
4-[二氟(3,4,5-三氟苯氧基)甲 基]-4"-乙基-2',3,5-三氟- 1,1':4',1"-三联苯 <sup>b</sup>	DTMETT	508.1	346.4*	45	50
			361.2		15
4-(二氟(3,4,5-三氟苯氧基)甲 基)-2',3,5-三氟-4"-丙基- 1,1':4',1"-三联苯 <sup>b</sup>	PDTFMTFT	522.1	375.2*	35	30
			346.2		40
	BDTMTT	536.1	345.9*	50	50

4"-丁基-4-(二氟(3,4,5-三氟苯氧基)甲基)-2',3,5-三氟-1,1':4,1"-三联苯 <sup>b</sup>			389.2		15
4-[二氟(3,4,5-三氟苯氧基)甲基]-2',3,5-三氟-4"-戊基-1,1':4,1"-三联苯 <sup>b</sup>	DTMTPT	550.1	346.2*	50	50
			403.3		40
1-氟-4-[(反式,反式)-4'-丙基[1,1'-环己基环己烷]-4-基]苯 <sup>a</sup>	FPCB	302.4	122.5*	30	15
			204.1		15
1-丁氧基-2,3-二氟-4-(反式-4-丙基环己基)苯 <sup>a</sup>	BDPrB	310.3	254.4*	15	10
			156.4		10
反式-1-乙氧基-2,3-二氟-4-(4-戊基环己基)苯 <sup>a</sup>	EDPeB	310.4	197.4*	30	15
			169.4		20
2'-氟-4"-丙基-[1,1':4,1"-三联苯]-4-腈 <sup>b</sup>	FPTC	316.1	286.9*	20	35
			260.3		35
4-氰基-3,5-二氟苯基 4-丁基-苯甲酸酯 <sup>a</sup>	CDBB	316.2	161.5*	20	35
			133.5		35
3'-氟-4"-丙基-[1,1':4,1"-三联苯]-4-腈 <sup>b</sup>	FPrTC	316.4	286.6*	40	45
			260.0		45
2,3-二氟-4-甲基-4'-(反式-4-丙基环己基)-1,1'-联苯 <sup>b</sup>	DMPPrB	328.3	230.4*	10	30
			243.4		25
4-乙氧基-2,3-二氟-4'-(反式-4-乙基环己基)-1,1'-联苯 <sup>b</sup>	EDEB	344.3	197.4*	45	50
			232.4		50
4-氰基-3,5-二氟苯基 4-苯甲酸戊酯 <sup>a</sup>	CDPeB	330.2	175.5*	20	10
			91.5		50
2',3,4,5-四氟-4'-(反式-4-丙基环己基)联苯 <sup>a</sup>	TePrB	350.3	250.3*	5	40
			219.3		40
2,3-二氟-1-甲氧基-4-[4-(4-丙基环己基)环己基]苯 <sup>b</sup>	DMPCB	351.2	170.4*	20	40
			239.3		40
4-[二氟(3,4,5-三氟苯氧基)-甲基]-3,5-二氟-4'-丙基-1,1'-联苯 <sup>a</sup>	DTMDPB	409.2	249.3*	10	25
			259.4		25
4-[反式-4-(反式-4-丙基环己基)环己基]-1-三氟甲氧基苯 <sup>a</sup>	PCTB	368.4	188.3*	40	20
			69.6		20
4-丁基-4"-乙基-2'-氟-1,1':4,1"-三联苯 <sup>b</sup>	BEFT	333.2	289.9*	35	35
			228.9		35
4'-[(反式,反式)-4'-乙基[1,1'-联环己烷]-4-基]-3,4-二氟-1,1'-联苯 <sup>b</sup>	EBDB	382.3	203.4*	20	50
			216.3		15
反式,反式-3,4-二氟-4'-(4'-丙基双环己基-4-基)联苯 <sup>b</sup>	DPrBB	396.3	216.4*	30	30
			229.6		30
2',3,5-三氟-4"-丙基环己基)-4-(三氟甲氧基)-1,1':4,1"-三联苯 <sup>b</sup>	TPrTT	492.2	394.3*	50	50
			322.3		50

2-[4'-[二氟(3,4,5-三氟-2-甲基-苯氧基)甲基]-3',5'-二氟-[1,1'-联苯]-4-基]-5-乙基-四氢-吡喃 <sup>b</sup>	DTMPMDP	495.2	439.1*	20	20
			145.4		45
4'-[(反式,反式)-4'-丁基[1,1'-环己基环己烷]-4-基]-3,4-二氟-1,1'-联苯 <sup>b</sup>	BBDB	410.4	216.3*	45	35
			229.2		35
4"-乙基-2'-氟-4-丙基-1,1':4,1"-三联苯 <sup>b</sup>	EFPT	319.3	229.3*	40	35
			290.2		30
4-[二氟-(3,4,5-三氟-2-甲基-苯氧基)-甲基]-3,5-二氟-4'-丙基-1,1'-联苯 <sup>b</sup>	DTMPMDB	423.3	202.2*	5	45
			259.3		30
PCB52- <sup>13</sup> C <sub>12</sub>	PCB52- <sup>13</sup> C <sub>12</sub>	304.1	234.2*	20	30
			269.1		20
PCB180- <sup>13</sup> C <sub>12</sub>	PCB180- <sup>13</sup> C <sub>12</sub>	407.9	338.0*	30	35
			373.0		25

<sup>a</sup>内标为PCB52-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>; <sup>b</sup>内标为PCB180-<sup>13</sup>C<sub>12</sub>; \*为定量离子

## 5.5 定性测定

在相同实验条件下，样品中待测物质的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，变化范围应在±5%之间

每种被测组分的质谱定性离子应出现，至少应包括选择一个母离子和两个子离子，且样品图谱中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液图谱中对应的定性离子的相对丰度进行比较，偏差不超过表2规定的范围，则可判定为样品中检出对应的待测物。

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 ≤ 10
允许最大偏差%	±20	±25	±30	±50

## 5.6 标准曲线的制作

分别吸取10.0 μg/L混合含氟液晶单体标准应用液10 μL、50 μL、100 μL、500 μL；100.0 μg/L混合含氟液晶单体标准应用液100 μL、200 μL、500 μL，各加入500.0 μg/L的PCB类化合物同位素内标应用液10 μL，用异辛烷定容至1.0 mL，制备成含氟液晶单体混合溶液含量分别为0.1 μg/L、0.5 μg/L、1 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、20 μg/L、50 μg/L的标准系列，APGC-MS/MS分析后绘制标准曲线。在优化的大气压气相色谱串联质谱仪分析条件下，将标准系列溶液由低浓度到高浓度分别进样检测，以目标化合物色谱峰与对应内标色谱峰的峰面积比值-浓度作图，得到标准曲线回归方程，其线性相关

系数应大于0.99。

## 5.7 试样测定

取根据5.2、5.3处理得到的待测溶液进样，内标法计算待测液中目标物质的质量浓度，按6计算样品中待测物的含量。试液中待测物的响应值应在标准曲线线性范围内，超过线性范围则应适当减少取样量后重新测定。

## 6 分析结果的表述

试样中含氟液晶单体的含量按式（1）计算

$$C_{dw} = \frac{C \times V \times 1000}{m \times 1000} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

$C_{dw}$ ——试样中含氟液晶单体的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g/kg}$ ，干重）；

$C$ ——试样中含氟液晶单体按照内标法在标准曲线中对应的质量浓度，单位为纳克每毫升（ $\text{ng/mL}$ ）；

$V$ ——试样待测液的定容体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；

$m$ ——样品质量，单位为克（ $\text{g}$ ）；

对于冻干样品，需要把浓度换算成湿重下的浓度，按式（2）计算

$$C_{ww} = C_{dw} \times (1 - W) \dots \dots \dots (2)$$

式中：

$C_{ww}$ ——试样中含氟液晶单体的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g/kg}$ ，湿重）；

$C_{dw}$ ——试样中含氟液晶单体的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g/kg}$ ，干重）；

$W$ ——试样的含水量。

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，保留2位有效数字（或小数点后2位）。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。

## 8 检出限

本方法条件下，婴幼儿配方食品和水产品的检出限为 0.003-0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ （干重），定量限为 0.01-1.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ （干重）。

## 9 注意事项

9.1 市售的目标化合物标准品既有固态，也有液态，后者既包括单标溶液，也包括混合标准溶液。可根据实际需要购买。

9.2 根据样品实际情况选择是否冻干。

9.3 若样品除脂效果不理想可在上机前在 $-20^{\circ}\text{C}$ 下冷冻一小时后离心取上清进行仪器分析，或者在适当增加定溶液体积。

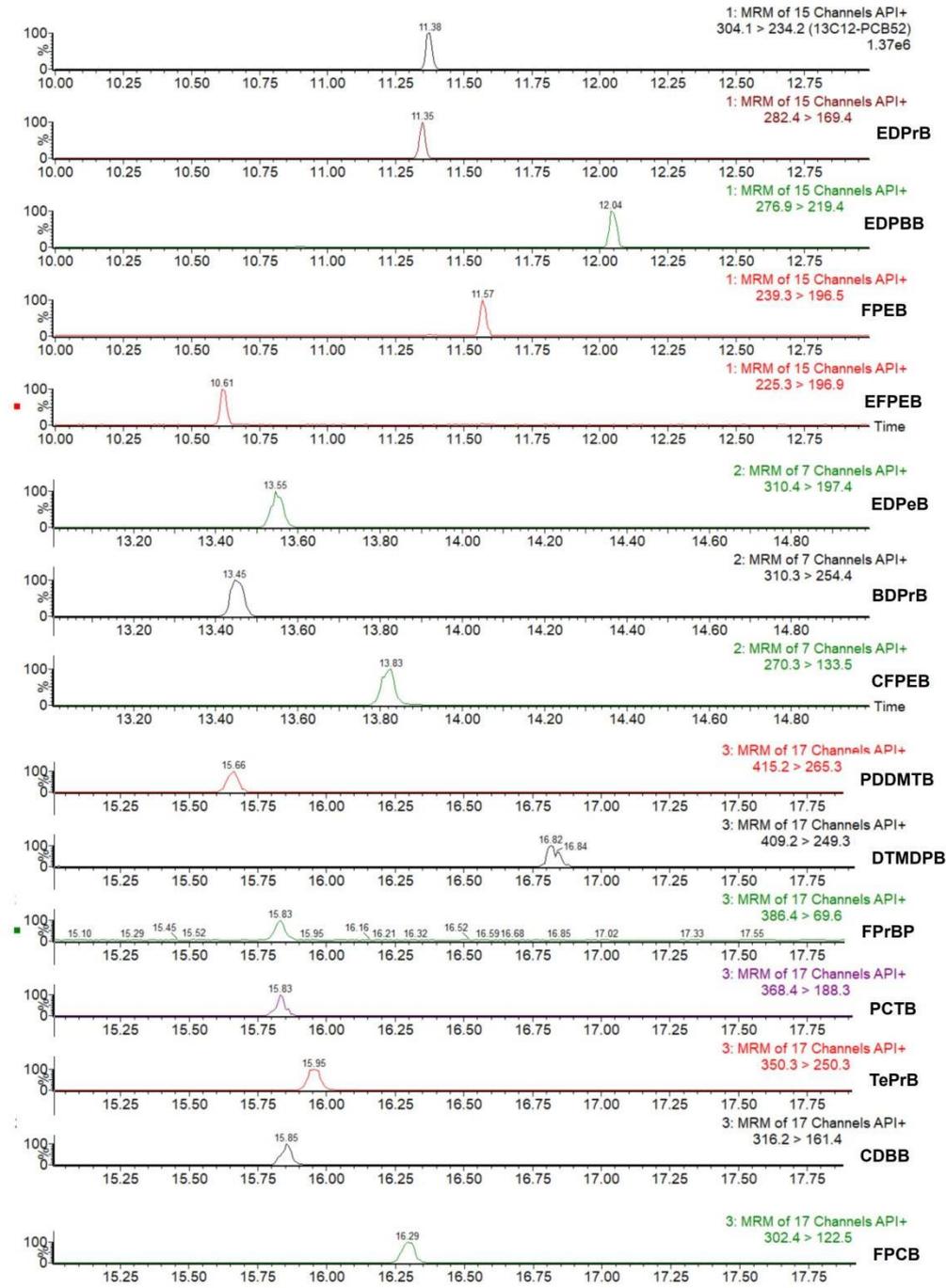
9.4 固相萃取柱使用前需验收考察柱效，使用标准溶液考察时绝对回收率应在 80% 以上，以保证样品中的含氟液晶单体的有效富集。

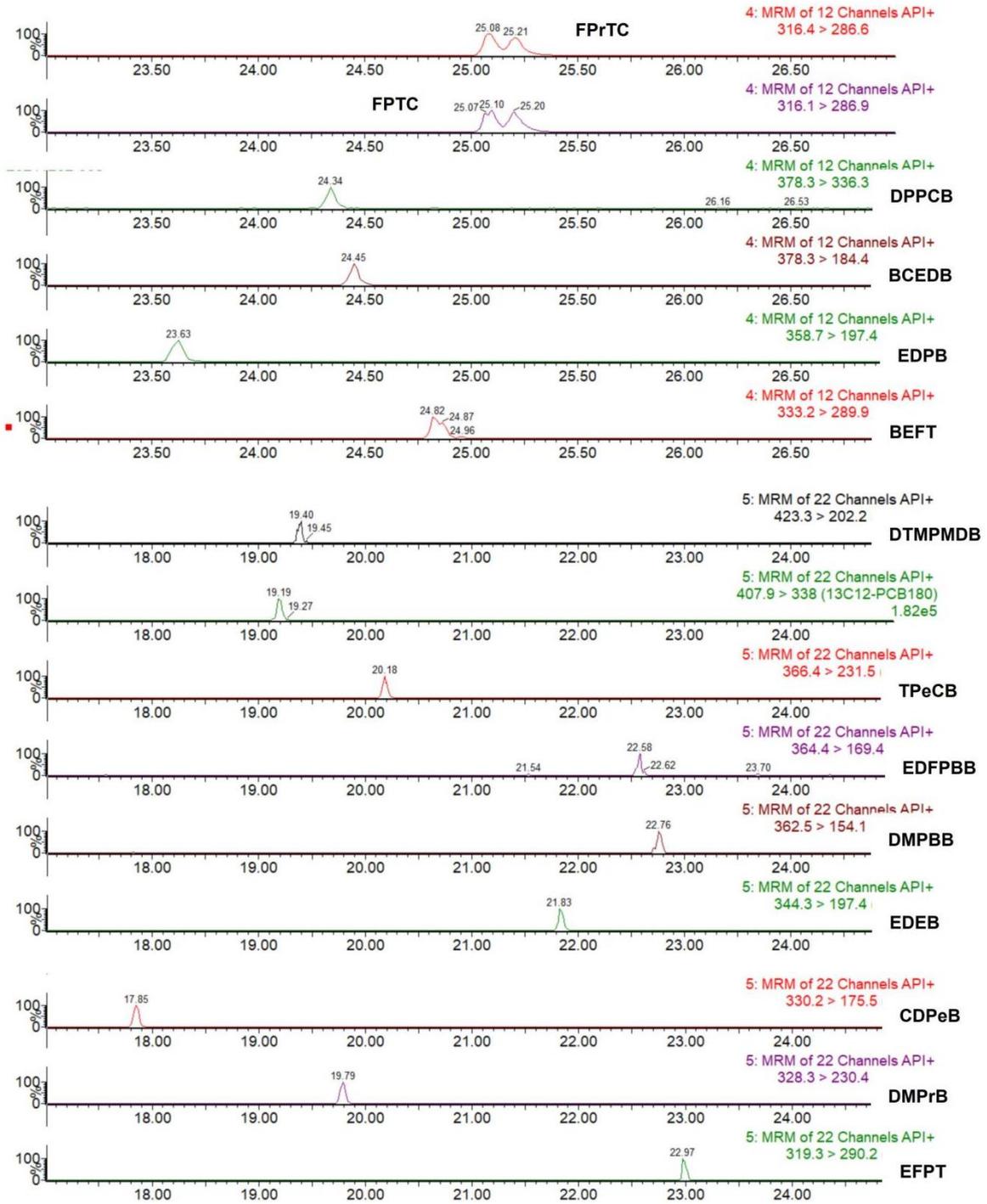
9.5 为了保证分析结果的准确，要求每批样品至少做一个加标回收实验，建议加标 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，含氟液晶单体回收率应为 60-120%之间。

9.6 本操作程序中规定的大气压气相色谱、质谱参数为参考条件。如色谱柱型号、锥孔电压、碰撞能量、以及程序升温等均仅供参考，可根据实验室配置的设备情况酌情作适当调整。

附录 A

含氟液晶单体的气相色谱图







A.1 含氟液晶单体标准溶液MRM色谱图

## 第九节 食品接触材料污染物

序号	手册提供的方法	起草人
1	食品包装用复合膜、袋有机磷酸酯阻燃剂迁移量测定的标准操作程序	刘伟、范赛、王子怡、赵榕
2	食品接触材料及制品 47 种元素迁移量测定的标准操作程序	钟怀宁、李丹、谢仓昊

## 一、食品包装用复合膜、袋有机磷酸酯阻燃剂迁移量测定的标准操作程序

### 1 范围

本规程规定了食品包装用复合膜、袋有机磷酸酯阻燃剂迁移量的测定方法。

本规程适用于食品包装用复合膜、袋有机磷酸酯阻燃剂迁移量的测定。

### 1 术语和定义

#### 1.1 迁移试验

在规定条件下,为测定食品接触材料及制品的组分迁移到与之接触的食品或食品模拟物等测试介质中的量而进行的试验。

#### 1.2 食品模拟物

能够接近真实地反映食品接触材料及制品中组分向与之接触的食品中的迁移,具有某类食品的典型共性,用于模拟食品进行迁移试验的测试介质。

### 2 原理

食品包装用复合膜、袋按照GB 31604.1和GB 5009.156进行迁移试验后,分别采用液相色谱-串联质谱法和气相色谱-串联质谱法检测。其中4% (体积分数) 乙酸、10% (体积分数) 乙醇以及化学替代溶剂95% (体积分数) 乙醇浸泡液过滤后直接采用液相色谱-串联质谱仪测定;化学替代溶剂异辛烷浸泡液过滤后直接采用气相色谱-串联质谱仪测定。选择反应监测模式进行检测,外标法定量。

### 3 试剂

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为GB/T 6682规定的一级水,试验中容器及转移器具应避免使用塑料材质。

#### 3.1 试剂

3.1.1 冰乙酸 ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ): 色谱纯。

3.1.2 无水乙醇 ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ): 色谱纯。

3.1.3 异辛烷 ( $\text{C}_8\text{H}_{18}$ ): 色谱纯。

3.1.4 甲醇 ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ): 色谱纯。

3.1.5 乙腈 (CH<sub>3</sub>CN)：色谱纯。

3.1.6 甲酸 (CH<sub>3</sub>COOH)：色谱纯。

### 3.2 试剂配制

3.2.1 4% (体积分数) 乙酸溶液、10% (体积分数) 乙醇溶及化学替代溶剂95% (体积分数) 乙醇溶液的配制按照GB 5009.156操作。

3.2.2 0.1% (体积分数) 甲酸溶液：取1 mL甲酸至1L容量瓶中，加水定容至刻度。

### 3.3 标准品

有机磷酸酯阻燃剂的中文名称、英文名称、缩略语、CAS登录号、分子式、相对分子量详见表1。

表 1 有机磷酸酯阻燃剂化合物信息

中文名称	英文名名称	缩略语	CAS 登录号	分子式	相对分子量
磷酸三甲酯	Tris(methyl) phosphate	TMP	512-56-1	C <sub>9</sub> H <sub>21</sub> O <sub>4</sub> P	140.1
磷酸三乙酯	Tris(ethyl) phosphate	TEP	78-40-0	C <sub>6</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> P	182.2
磷酸三丙酯	Tris-n-propyl phosphate	TnPP	513-08-6	C <sub>9</sub> H <sub>21</sub> O <sub>4</sub> P	224.2
磷酸三异丙酯	Triisopropyl phosphate	TiPP	513-02-0	C <sub>9</sub> H <sub>21</sub> O <sub>4</sub> P	224.2
磷酸三正丁酯	Tris-n-butyl phosphate	TBP	126-73-8	C <sub>12</sub> H <sub>27</sub> O <sub>4</sub> P	266.3
磷酸三异丁酯	Tris(isobutyl) phosphate	TiBP	126-71-6	C <sub>12</sub> H <sub>27</sub> O <sub>4</sub> P	266.3
磷酸三正戊酯	Tri-n-pentyl Phosphate	TnPtP	2528-38-3	C <sub>15</sub> H <sub>33</sub> O <sub>4</sub> P	308.4
磷酸三(2-乙基己基)酯	Tris(2-ethylhexyl) phosphate	TEHP	78-42-2	C <sub>24</sub> H <sub>51</sub> O <sub>4</sub> P	434.6
磷酸三苯酯	Tris(phenyl) phosphate	TPhP	115-86-6	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> P	326.3
磷酸三甲苯酯	Tris(methylphenyl) phosphate	TMPP	1330-78-5	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>4</sub> P	368.4
磷酸三(2-异丙基苯基)酯	Tris(4-isopropylphenyl) phosphate	TiPPP	68937-41-7	C <sub>27</sub> H <sub>33</sub> O <sub>4</sub> P	452.5

2-乙基己基二苯基磷酸酯	2-ethylhexyl diphenyl phosphate	EHdPP	1241-94-7	C20H27O4P	362.4
磷酸三(2-丁氧乙基)酯	Tris(2-butoxyethyl) phosphate	TBOEP	78-51-3	C18H39O7P	398.5
磷酸三(2-氯乙基)酯	Tris(2-chloroethyl) phosphate	TCEP	115-96-8	C6H12Cl3O4P	285.5
磷酸三(2-氯丙基)酯	Tris(2-chloroisopropyl) phosphate	TCiPP	13674-84-5	C9H18Cl3O4P	327.6
磷酸三(1,3-二氯-2-丙基)酯	Tris(1,3-dichloroisopropyl) phosphate	TdCiPP	13674-87-8	C9H15Cl6O4P	430.9

3.3.1 标准储备溶液 (1000 mg/L, 乙腈): 准确称取 16 种标准品 (精确至 0.1 mg), 分别用乙腈溶解后转移至 10 mL 容量瓶中, 并用乙腈定容至刻度, 混匀。于 4℃ 下避光保存, 保存期 6 个月。

3.3.2 混合标准中间溶液 (10 mg/L, 乙腈): 分别准确吸取标准储备液 (1000 mg/L) 0.25 mL 于 25 mL 容量瓶中, 加乙腈定容至刻度, 混匀。于 4℃ 下避光保存, 保存期 6 个月。

3.3.3 标准储备溶液 (1000 mg/L, 异辛烷): 准确称取 16 种标准品 (精确至 0.1 mg), 分别用异辛烷溶解后转移至 10 mL 容量瓶中, 并用异辛烷定容至刻度, 混匀。于 4℃ 下避光保存, 保存期 6 个月。

3.3.4 混合标准中间溶液 (10 mg/L, 异辛烷): 分别准确吸取标准储备液 (1000 mg/L, 异辛烷) 0.25 mL 于 25 mL 容量瓶中, 加异辛烷定容至刻度, 混匀。于 4℃ 下避光保存, 保存期 6 个月。

3.3.5 水基食品模拟物系列标准工作溶液: 分别准确吸取 10 μL、20 μL、50 μL、100 μL、200 μL、500 μL 混合标准中间溶液 (10 mg/L, 乙腈) 于 10 mL 容量瓶中, 用 10% (体积分数) 乙醇溶液定容。所得标准工作溶液中各目标物质浓度分别为 0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L、0.10 mg/L、0.20 mg/L、0.50 mg/L。采用相同方式, 分别用 4% (体积分数) 乙酸溶液和 95% (体积分数) 乙醇溶液配制相同浓度系列的标准工作溶液。临用现配。

3.3.6 异辛烷化学替代溶剂系列标准工作溶液: 分别准确吸取 10 μL、20 μL、50 μL、100 μL、200 μL、500 μL 混合标准中间溶液 (10 mg/L, 异辛烷) 于 10 mL 容量瓶中, 用异辛

烷定容。所得标准工作溶液中各目标物质浓度分别为 0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L、0.10 mg/L、0.20 mg/L、0.50 mg/L。临用现配。

## 4 仪器与耗材

- 4.1 液相色谱-串联质谱仪：配电喷雾离子源（ESI）
- 4.2 气相色谱-串联质谱仪：配电子轰击离子源（EI）
- 4.3 涡旋振荡器
- 4.4 恒温干燥箱
- 4.5 电子天平：感量为 0.1 mg。
- 4.6 微孔滤膜：0.22 μm。

## 5 分析步骤

### 5.1 迁移试验

按照GB 5009.156和GB 31604.1的要求对食品接触材料及制品进行迁移试验。迁移试验所得浸泡液如不能立即测定，应置于0℃~4℃冰箱避光保存，保存期不超过一周。若进行下一步试验，应将浸泡液恢复至室温。

### 5.2 食品模拟物试液的制备

#### 5.2.1 水性、酸性、酒精类食品模拟物

将迁移试验中得到的 4%（体积分数）乙酸、10%（体积分数）乙醇以及化学替代溶剂 95%（体积分数）乙醇浸泡液通过 0.22 μm 再生纤维素滤膜过滤，供液相色谱-串联质谱仪测定。

#### 5.2.2 异辛烷食品模拟物

将迁移试验中得到的化学替代溶剂异辛烷浸泡液通过 0.22 μm 尼龙滤膜过滤，供气相色谱-串联质谱仪测定。

### 5.3 空白试液的制备

按 6.2.1 和 6.2.2 处理未与食品接触材料及制品接触的食品模拟物、化学替代溶剂，分别供液相色谱-串联质谱仪和气相色谱-串联质谱仪测定。

### 5.4 仪器参考条件

#### 5.4.1 液相色谱-串联质谱参考条件如下：

- a) 色谱柱：ACQUITY™ PREMIER BEH C18 (Waters)，柱长 100 mm，内径 2.1 mm，粒径；或性能相当者。
- b) 流动相：A: 0.1% (体积分数) 甲酸溶液；B: 甲醇。梯度洗脱程序见表 2。
- c) 柱温：30℃。
- d) 进样量：5 μL。
- e) 离子化模式：电喷雾电离正离子模式 (ESI+)。
- f) 质谱扫描方式：多反应监测 (MRM)。
- g) 其他质谱参考条件参见附录 A。

表 2 液相色谱梯度洗脱程序

时间/min	流速/ (mL/min)	A/%	B/%
0.5	0.3	90	10
4.0	0.3	90	10
6.0	0.3	0	100
7.0	0.3	0	100
9.0	0.3	90	10

#### 5.4.2 气相色谱-串联质谱参考条件如下：

- a) 色谱柱：OPTIMA 5 MS Accent (MACHEREY-NAGEL)，长度 30 m，内径 0.25 mm，膜厚 0.25 μm；或性能相当者。
- b) 程序升温：初始温度 50℃，保持 1 min；10 °C/min 升至 250 °C；25 °C/min 升至 300 °C，保持 6 min。
- c) 进样口温度：250 °C。
- d) 质谱接口温度：250 °C。
- e) 离子源温度：300 °C。

- f) 载气：He（纯度>99.999%），1.0 mL/min 恒流。
- g) 进样量：1  $\mu$ L。
- h) 进样方式：不分流进样。
- i) 电离方式：EI。
- j) 质谱扫描方式：多反应监测（MRM）。
- k) 其他质谱参考条件参见附录 A。

### 5.5 标准曲线的制作

按照 6.4.1 和 6.4.2 所列的仪器参考条件，分别将系列标准工作溶液分别注入液相色谱-串联质谱仪和气相色谱-串联质谱仪中，测定相应的峰面积。以标准系列工作溶液中目标物质浓度为横坐标，以对应的定量离子峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线，得到线性方程。标准工作液的典型总离子流色谱图见附录 B。

### 5.6 试液测定

#### 5.6.1 定性确证

按照 6.4.1 和 6.4.2 所列的仪器参考条件，若试液与标准溶液中待测物的保留时间偏差在  $\pm 0.5\%$  范围内，所有定性离子的信噪比（S/N）均超过 3:1，且定性离子对的相对丰度与浓度相当的标准溶液的相对丰度偏差不超过表 3 的规定，则可判断样品中存在相应的待测物

表 3 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度, $k$ /%	$k \geq 50$	$20 < k < 50$	$10 < k \leq 20$	$k \leq 10$
允许的相对偏差 /%	$\pm 20$	$\pm 25$	$\pm 30$	$\pm 50$

#### 5.6.2 定量测定

按照 6.4.1 和 6.4.2 所列的仪器参考条件，对试样溶液（6.2）和空白试液（6.3）依次进行测定，得到目标物质定量离子峰面积，根据标准曲线计算试样试液、空白试液中目标物质的浓度  $c$ 、 $c_0$ 。如果试样的浓度超过标准工作曲线，也可对试样进行适当地稀释后再测定。

## 6 分析结果的表述

食品包装用复合膜、袋中的有机磷酸酯阻燃剂迁移量以 mg/kg 表示时，按式（1）进行计算。

$$X_1 = \frac{(c-c_0) \times V}{1000 \times S} \times F \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$X_1$ ——食品接触材料及制品中有机磷酸酯阻燃剂的特定迁移量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

$c$ ——试样浸泡液中有机磷酸酯阻燃剂的含量，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）或微克每千克（ $\mu\text{g/kg}$ ）

$c_0$ ——空白浸泡液中有机磷酸酯阻燃剂的含量，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）或微克每千克（ $\mu\text{g/kg}$ ）

$V$ ——试样浸泡液的体积或质量，单位为升（L）或千克（kg）；

1000——换算系数；

$S$ ——迁移实验中试样与浸泡液接触面积，单位为平方分米（ $\text{dm}^2$ ）；

$F$ ——在实际使用情形下，食品接触材料及制品的接触面积（ $S$ ）与食品或食品模拟液体积（ $V$ ）的比（ $S/V$ ），各种液态食品密度通常以  $1\text{kg/L}$  计，单位为平方分米每千克（ $\text{dm}^2/\text{kg}$ ）。

在实际使用情形下，当  $S/V$  已知时， $F$  即为实际  $S/V$ ；当  $S/V$  未知时， $F$  采用  $6\text{dm}^2/\text{kg}$ ，即  $6\text{dm}^2$  食品接触材料及制品接触  $1\text{kg}$  食品或者食品模拟物。

结果至少保留 2 位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过其算术平均值的 15%。

## 8 其他

化学替代溶剂 95%（体积分数）乙醇中三甲基磷酸酯（TMP）的定量限为  $10\ \mu\text{g/L}$ ；其余情况下，有机磷酸酯阻燃剂的定量限均为  $1\ \mu\text{g/L}$

## 附录 A

## 有机磷酸酯阻燃剂类化合物的主要参考质谱参数

表 A.1 气相色谱-串联质谱参考条件

化合物	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)
TMP	5.396	110	79*	12
		110	95	9
TEP	8.097	155	99*	15
		99	81	18
TiPP	9.034	99	81*	18
		141	99	9
TnPP	11.714	99	81*	18
		141	99	9
TiBP	13.404	99	81*	18
		99	63	30
TBP	15.022	99	81*	18
		99	63	30
TCEP	16.355	205	143*	9
		249	125	9
TCiPP	16.705	125	99*	15
		99	81	18
TnPtP	18.037	99	81*	18
		99	63	30
TdCiPP	21.714	99	81*	18
		191	75	15
TBOEP	22.196	125	99*	12
		125	81	24
TPhP	22.244	326	169*	30
		326	215	24
EHdPP	22.365	251	77*	24
		251	152	24
TEHP	22.494	99	81*	21
		99	63	30
T-o-CP**	23.221	181	166*	15
		181	115	30
T-m-CP**	23.551	368	165*	36
		368	243	24
T-p-CP**	24.067	368	165*	39
		368	108	18
TiPPP	24.157	118	91*	24
		118	115	18

注：对于不同型号/品牌的质谱仪器，仪器参数可能存在差异，测定前应将质谱参数优化到最佳。

\*为定量离子。\*\*T-o-CP、T-m-CP 和 T-p-CP 迁移量之和为 TMPP 迁移量。

表 A.2 液相色谱-串联质谱参考条件

化合物	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)
TMP	2.23	140.6	79.0*	40	24
		140.6	109.0	40	14
TEP	3.44	182.7	127.0*	32	12
		182.7	155.0	32	10
TiPP	4.12	224.8	99.0*	26	18
		224.8	141.0	26	10
TnPP	4.21	224.8	99.0*	26	18
		224.8	141.0	26	10
TiBP	4.67	266.8	99.0*	28	18
		266.8	211.1	28	10
TBP	4.67	266.8	99.0*	28	18
		266.8	211.1	28	10
TCEP	3.68	284.8	99.0*	32	26
		286.8	99.0	32	24
TClIPP	4.20	326.7	99.0*	30	22
		326.7	99.0	28	18
TnPtP	5.00	308.8	99.0*	36	18
		308.8	169.1	36	10
TdCiPP	4.47	430.7	99.0*	30	22
		432.7	99.0	36	28
TBOEP	4.73	398.8	57.1*	42	30
		398.8	199.1	42	16
TPhP	4.50	326.9	77.2*	66	36
		326.9	152.2	66	42
CDPP	4.63	340.7	91.9*	64	36
		340.7	152.2	64	28
EHdPP	4.96	362.9	153.0*	22	30
		362.9	251.2	22	18
TEHP	5.97	435.2	99.0*	28	16
		435.2	113.2	28	10
TMPP	4.86	368.6	91.1*	66	36
		368.6	165.2	66	56
TiPPP	5.24	453.1	327.2*	50	26
		453.1	369.2	50	20

注：对于不同型号/品牌的质谱仪器，仪器参数可能存在差异，测定前应将质谱参数优化到最佳。\*为定量离子。

附录 B

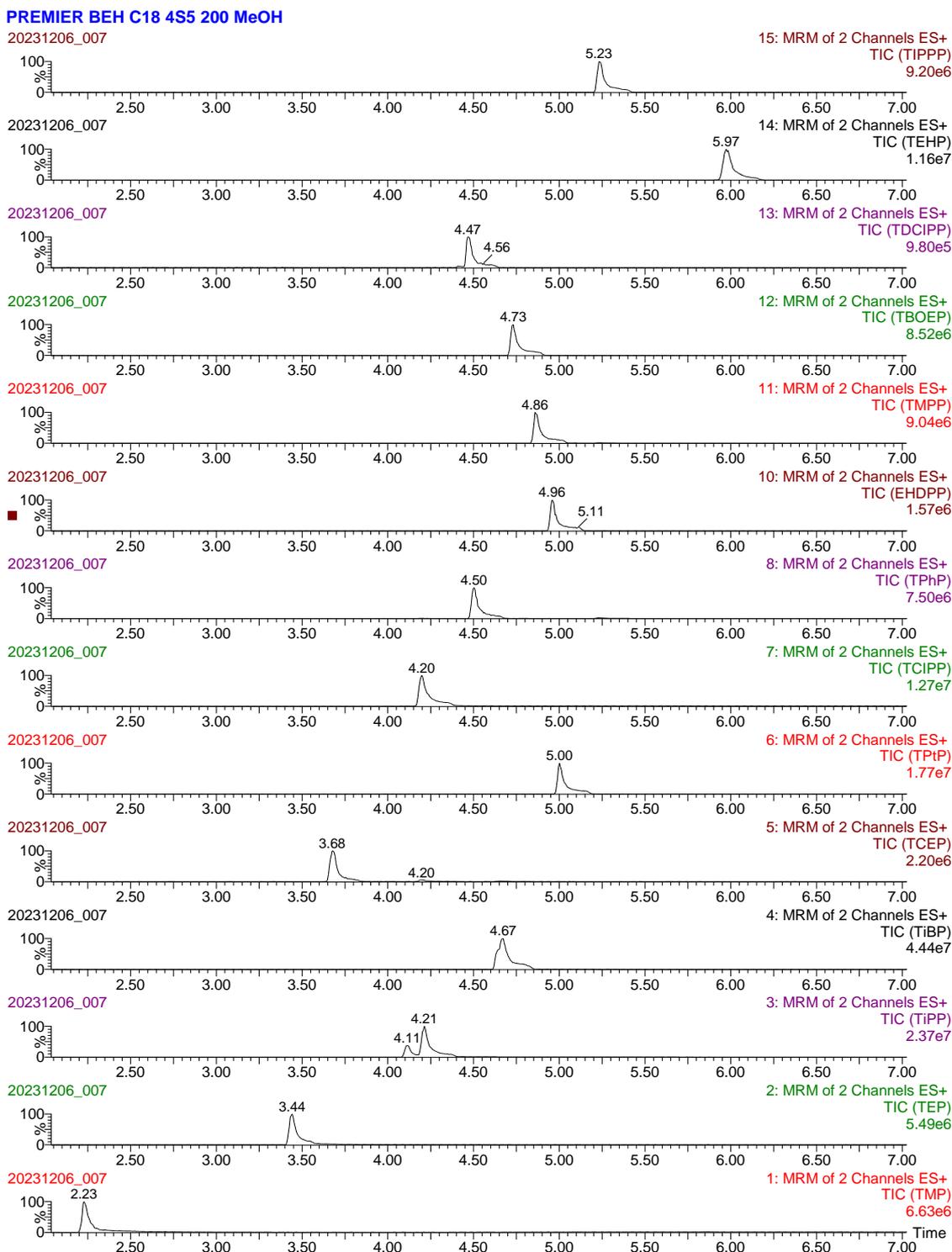


图 B. 16 种有机磷酸酯阻燃剂类化合物液相色谱-串联质谱总离子流图 (浓度 200 μg/L)

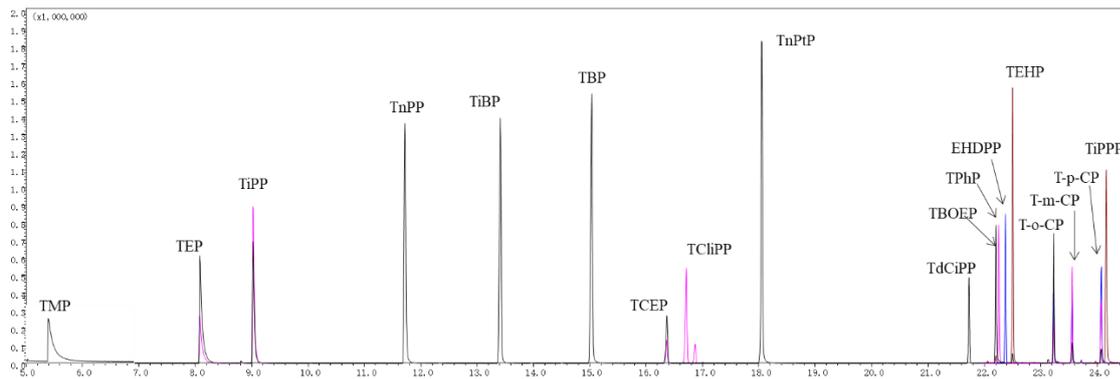


图 B.2 16 种有机磷酸酯阻燃剂类化合物气相色谱-串联质谱总离子流图 (浓度 100  $\mu\text{g/L}$ )





素或多元素标准储备溶液。

## 5.7 标准溶液配制

5.7.1 混合标准工作溶液：准确吸取适量单元素或多元素标准储备液（5.6.1），用 4% 乙酸（5.4）逐级稀释配成混合标准系列溶液，各元素浓度可参考表 1。混合标准系列溶液后转移至洁净聚乙烯瓶中保存。

汞元素另配标准系列，加入金标准溶液稳定。配置完成后转移至洁净的玻璃瓶中保存。

表 4 混合标准系列溶液

序号	元素	标准系列浓度 (µg/L)						
		1	2	3	4	5	6	7
1	钡、锂、锶、锰、铜、铬、钼、银、钴、钒、硼、镉、铅、硒、锑、铍、镍、锡、砷、钨、钛	0	0.5	1	5	10	20	50
2	铈、铀、钍、钷、镧、铈、镨、镱、钆、钷、钇、钆、铽、镱、铈、铈、铈、铈	0	0.1	0.5	1	5	10	/
3	汞	0	0.5	1	2.5	5	10	/
4	钾、钙、钠、镁、铝、铁、锌	0	50	100	200	500	1000	/

5.7.2 内标混合标准工作液：准确吸取适量单元素或多元素标准储备液（5.6.2），用 1% 硝酸溶液配置成合适浓度的多内标使用液。

注：内标溶液可在配制混合标准系列溶液和待测样品溶液中手动定量加入，亦可由仪器在线加入。若样品进样量与内标进样量为 20:1 时，内标浓度建议配制为 1 mg/L~2 mg/L；若样品进样量与内标进样量为 1:1 时，内标浓度建议配制为 20 µg/L~50 µg/L。

## 6 分析步骤

### 6.1 试样制备

6.1.1 迁移试验条件：根据样品材质选择迁移试验条件。

表 2 迁移试验条件举例

材料及制品类别	典型样品	迁移试验条件
陶瓷（烹饪）	锅（陶瓷）	4%乙酸，98℃，2h
陶瓷（常温）	碗（陶瓷）、盘（陶瓷）、杯（陶瓷）、 壶（陶瓷）、餐勺（陶瓷）	4%乙酸，22℃，24h
可微波炉使用制品	碗（陶瓷）、盘（陶瓷）、杯（陶瓷）	4%乙酸，100℃，15 min

### 6.1.2 迁移试验方法

根据样品类型选择迁移试验方法，具体操作流程以及实例参考附录A。

表 3 迁移试验方法举例

样品类别	典型样品	试验方法
空心制品	碗、杯、盘、盆、锅、饭盒、桶、壶	灌装法
非空心制品	餐刀、叉、餐勺、筷子	全浸没法

#### 6.1.2.1 灌装法

6.1.2.1.1 计算样品预计和实际与食品模拟物接触的面积以及食品模拟物的体积，选择合适的面积体积比。

6.1.2.1.2 将已达到试验温度的食品模拟物加入空心制品中；另取容器（烧杯或结晶缸）做空白。

6.1.2.1.3 记录加入的食品模拟物体积，然后将试样置于已达到试验温度的恒温设备中，按规定的试验条件（温度、时间）进行迁移试验。

#### 6.1.2.2 全浸没法

6.1.2.2.1 计算样品预计和实际与食品模拟物接触的面积以及食品模拟物的体积，选择合适的面积体积比。

6.1.2.2.2 在试验用容器中注入已达到试验温度的食品模拟物，将试样完全浸没在食品模拟物中，记录加入的食品模拟物体积，按规定的试验条件（温度、时间）进行迁移试验；另取容

器（烧杯或结晶缸）做空白。

### 6.1.3 迁移试验要求

对于重复使用的样品，须进行三次迁移试验，每次均使用一份新的食品模拟物，取第三次迁移实验得到的浸泡液进行测定。

## 6.2 仪器参考条件

### 6.2.1 载气系统

氩气纯度应在99.996%以上，氮气纯度应在99.999%以上。

### 6.2.2 设定仪器条件

表 4 ICP-MS 参考工作条件

等离子体排气	> 0.50 mbar
雾化器温度	2.7 °C
雾化器流量	1.0 L/min
蠕动泵速率	40 rpm
冷却气流量	14 L/min
辅助气流量	0.8 L/min
等离子体功率	1550 W
真空程度	$<5 * 10^{-7}$ mbar
涡轮泵频率	>800 Hz
冲洗时间	60 sec
样品吸取时间	68 ec

### 6.2.3 运行校准曲线溶液

6.2.3.1 测定空白试液的质谱信号强度后，按顺序由低到高分别测定混合标准工作溶液中各元素的质谱信号强度，根据待测元素与其内标元素质谱信号强度比值和对应的元素浓度绘制标准曲线。

6.2.3.2 测试方法空白试液来检查测试过程是否有污染。

6.2.3.3 测试迁移试液：对空白试液和迁移试液依次进样，扣除空白值，得到目标物质的校正强度。

6.2.3.4 根据校正强度，用标准曲线定量，并根据待测元素的原子量选择合适的内标元素进行

校正。

表 5 部分待测元素推荐用内标元素

待测元素	As	Cd	Cr	Ni
内标元素	$^{72}\text{Ge}/^{115}\text{In}$	$^{103}\text{Rh}/^{115}\text{In}$	$^{72}\text{Ge}$	$^{72}\text{Ge}$
待测元素	Pb	Sb	Zn	Hg
内标元素	$^{185}\text{Re}/^{209}\text{Bi}$	$^{103}\text{Rh}/^{115}\text{In}$	$^{72}\text{Ge}/^{103}\text{Rh}$	$^{115}\text{In}/^{209}\text{Bi}$

## 7 结果计算

目标元素的迁移量根据标准曲线进行计算：

$$X = \frac{(C - C_0) * V_1}{S_1} * \frac{S_2}{V_2}$$

$X$ ：不锈钢制品中目标元素的迁移量  $\mu\text{g}/\text{kg}$

$C$ ：迁移试液中目标物浓度（仪器读数）  $\mu\text{g}/\text{L}$

$C_0$ ：空白试液中目标物浓度（仪器读数）  $\mu\text{g}/\text{L}$

$V_1$ ：迁移实验中食品模拟物体积，  $\text{mL}$

$S_1$ ：迁移实验中食品模拟物与制品中接触的面积，  $\text{dm}^2$

$V_2$ ：不锈钢制品实际接触食品模拟物体积，  $\text{mL}$

$S_2$ ：不锈钢制品实际与食品模拟物接触的面积，  $\text{dm}^2$

计算结果保留3位有效数字。

## 8 注意事项

8.1 硝酸、乙酸属于腐蚀性液体，使用时需要带上丁腈手套，在通风环境下使用。

8.2 迁移实验中，对于电热食品加工设备等产品，如果产品说明书标示了额定容积，应取最小额定容积及其对应的接触面积作为食品模拟物体积与样品接触面积之比。

8.3 迁移实验中面积体积比参考《食品接触材料及制品迁移试验标准实施指南》进行，容器参考填充法、餐具参考全浸没法（面积体积比未知）。所采样品应具有代表性。样品应完整、无变形、规格一致。采样数量应能满足检验的需要，供检测与复测之用。

8.4 适配容器样品，如产品本身带有适配封盖，可按照正常使用时的封盖状况进行试验。

8.5 当需要对镀锡或镀铬薄板容器进行食品模拟物的迁移试验时，应尽可能模拟容器正常使用时的密封状态，防止空气进入容器内。如果浸泡液有损失需要补液。

8.6 食品模拟物需要提前预热，迁移试验温度是食品模拟物的温度，不是烘箱温度。迁移试验的温度和时间误差参考 GB 5009.156-2016 《食品安全国家标准 食品接触材料及制品迁移试验预处理方法通则》中附录 C 的要求进行操作。

## 9 附录

### 迁移试验方法及结果计算实例

#### 9.1 灌装法（已知标称体积）

9.1.1 陶瓷杯有标称容积 $V_2$  250 mL，计算样品的内表面积。测得的表面积 $S_2$ 为 $0.45 \text{ dm}^2$ 。

9.1.2 在平行试样中分别灌注食品模拟物（4%乙酸） $V_1$  250 mL浸泡，在常温 $22^\circ\text{C}$ 时24小时。

9.1.3 迁移试验完成后，用注射器抽取浸泡液，经滤膜过滤（4.6）后，进行47种金属元素的测试。

9.1.4 本例中，杯身铅迁移量的检测结果是 $0.4 \text{ mg/L}$ ，由于迁移实验中的面积体积比与实际使用相同，本检测结果无需进行S/V换算。

#### 9.2 灌装法（未知标称体积）

9.2.1 陶瓷杯未明确产品规格信息，根据食品模拟物与样品上边缘（溢出面）的距离不超过1cm的高度，计算表面积。测得的表面积 $S_2$ 为 $0.45 \text{ dm}^2$ ，并记录对应的体积 $V_2$ 。

9.2.2 在平行试样中根据 $V_2$ 分别灌注食品模拟物 $V_1$ （4%乙酸）浸泡，在常温 $22^\circ\text{C}$ 时24小时。

9.2.3 迁移试验完成后，用注射器抽取浸泡液，经滤膜过滤（4.6）后，进行46元素的测试。

9.2.4 本例中，杯身铅迁移量的检测结果是 $0.4 \text{ mg/L}$ ，由于迁移实验中的面积体积比与实际使用相同，本检测结果无需进行S/V换算。

#### 9.3 全浸没法（部分浸没）

9.3.1 根据样品形状，选择合适的浸泡容器。如不锈钢菜刀，选择1L 烧杯。

9.3.2 根据容器的刻度 $V_1$ 粗略计算单个样品浸泡面积 $S_1$ ，本例中 $V_1=500 \text{ mL}$ ，食品模拟物浸没单把菜刀面积计算 $S_1$ 为 $1.4 \text{ dm}^2$ 。

9.3.3 通过增加样品数量增加迁移实验中食品模拟物与样品中接触的面积 $S_1$ 或在容器中加入惰性材料增高液面。调整迁移实验中面积体积比 $S_1/V_1$ 接近 $6 \text{ dm}^2/\text{kg}$ 。本例中样品量增加至2

把，迁移实验中食品模拟物与样品中接触的面积 $S_1$ 达到 $2.8 \text{ dm}^2$ ，则 $S_1/V_1 = 5.6 \text{ dm}^2/\text{kg}$ 。

9.3.4 在平行试样中根据 $V_2$ 分别灌注食品模拟物 $V_1$ （4%乙酸），记录液面高度  $H$ 。在电热板加热煮沸模拟液30分钟。迁移试验完成后，补充新的食品模拟物至刻度 $H$ ，并在室温下放置24小时。此过程重复3次。

9.3.5 第三次迁移试验完成后，用注射器抽取浸泡液，经滤膜过滤（4.6）后，进行46种元素的测试。

9.3.6 本例中，样品经过三次迁移试验后铬迁移量的检测结果是 $0.5 \text{ mg/L}$ ，由于迁移实验中的面积体积比与实际使用不相同， $S_2/V_2$ 未知用途，采用 $6 \text{ dm}^2/\text{kg}$ 计算。本检测结果经 $S/V$ 换算后为 $0.536 \text{ mg/kg}$ 。

## 第十节 非食用物质

序号	手册提供的方法	起草人
1	食品中碱性橙等 10 种工业染料测定的标准操作程序 液相色谱法	冯家力

## 一、食品中碱性橙等 10 种工业染料测定的标准操作程序

### 1 适用范围

本方法适用于调味料及肉制品中碱性橙 2、碱性橙 21、碱性橙 22、碱性嫩黄、罗丹明 B、酸性橙 II、苏丹红 I ~ IV 含量检测。

本方法中碱性橙2、碱性橙21、碱性橙22、罗丹明B的检出限为0.01 mg/kg；酸性橙II、碱性嫩黄检出限为0.007 mg/kg、苏丹红 I ~ IV 检出限为0.01 mg/kg。

### 2 原理

样品经乙腈提取后，HLB 柱净化，经反相色谱柱分离，DAD 检测器进行分析测定。

### 3 试剂

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

3.1 乙酸铵：优级纯。

3.2 乙腈：分析纯。

3.3 甲醇：色谱纯。

3.4 甲酸：色谱纯。

3.5 平衡液：50 mmol/L 乙酸铵水溶液。

3.6 淋洗液：50 mmol/L 乙酸铵水溶液含甲醇 5.0%（体积分数）。

3.7 洗脱液 1：丙酮-甲醇溶液（50+50，体积比）。

3.8 洗脱液 2：丙酮-正己烷溶液（5+95，体积比）。

3.9 定容液：5 mmol/L 乙酸铵水溶液含甲醇 50%（体积分数）、甲酸 0.1%（体积分数）。

3.10 标准品：碱性橙 2（ACROS 公司），碱性橙 21、碱性橙 22(TCI 公司)，碱性嫩黄（TCI 公司），罗丹明 B、酸性橙 II、苏丹红 I ~ IV(Dr.Ehrenstorfer GmbH)。

3.11 标准储备液（1.00 mg/mL）：分别称取碱性橙 2、碱性橙 21、碱性橙 22，碱性嫩黄，酸性橙 II，罗丹明 B 10 mg（精确至 0.1 mg）置于 10 mL 容量瓶中，加 50%甲醇溶解并定容至刻度；分别称取苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV 10 mg（精确至 0.1 mg）置于 10 mL 容量瓶中，用乙醚溶解后用甲醇定容。

3.12 标准中间液（10.0 μg/mL）：分别取碱性橙 2、碱性橙 21、碱性橙 22，碱性嫩黄，酸性橙 II、罗丹明 B、苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV 标准储备液 100 μL 至 10 mL 容量瓶中，加 50%甲醇定容至刻度，混匀。

## 4 仪器与耗材

- 4.1 高效液相色谱仪附 DAD 检测器
- 4.2 天平：感量 0.0001 g 和 0.00001 g
- 4.3 超声波清洗仪
- 4.4 离心机：10000r/min
- 4.5 涡旋混质器
- 4.6 粉碎机
- 4.7 HLB 固相萃取小柱（60 mg，3 mL）

## 5 操作步骤

### 5.1 样品处理

#### 5.1.1 提取

取样品可疑部分打碎混匀。称取 2.0 g 均匀样品于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 乙腈，涡旋混匀，超声提取 20 min，10000 r/min 离心 10 min，取 5 mL 上清液备用。

#### 5.1.2 净化

将 5 mL 样品提取液和 5 mL 平衡液混匀，过 HLB 固相萃取柱（预先用甲醇 3 mL，水 3 mL，平衡液 3 mL 活化），用淋洗液 3 mL，水 3 mL 淋洗，3 mL 洗脱液 1，3 mL 洗脱液 2 洗脱。收集洗脱液，50℃下氮气吹至近干，用定容液定容至 0.50 mL，经 0.45 μm 滤膜过滤，上机。

### 5.2 测定

#### 5.2.1 仪器条件

5.2.1.1 色谱柱：Waters Xbridge C18 3.5 μm, 4.6×250 mm。

5.2.1.2 流速：1.0 mL/min 。

5.2.1.3 柱温：30℃ 。

5.2.1.4 检测波长：碱性橙 2（460nm）；碱性嫩黄（435nm）；碱性橙 21、碱性橙 22（485nm）；酸性橙 II（500nm）；罗丹明 B(550nm)；苏丹红 I（478nm）；苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV（520nm）。

5.2.1.5 进样量：10 μL。

5.2.1.6 流动相：见表 1。

表 1 流动相（梯度）

时间 (min)	甲醇 (%)	10 mmol/L 乙酸铵水溶液含 0.1%甲酸 (%)
0.00	40.0	60.0
6.00	65.0	35.0
12.00	98.0	2.0
20.00	98.0	2.0
21.00	40.0	60.0
30.00	40.0	60.0

### 5.2.2 标准曲线

吸取碱性橙 2、碱性橙 21、碱性橙 22，碱性嫩黄，酸性橙 II，罗丹明 B、苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV 标准中间液 0.10、0.25、0.50、2.5 mL 至 10 mL 容量瓶中，用定容液稀释配制混合标准系列浓度为 0.10、0.25、0.50、2.50  $\mu\text{g/mL}$ 。将标准系列溶液在上述色谱条件下进行测定，用标准系列溶液浓度为横坐标，用相应的峰面积为纵坐标进行线性回归。

### 5.3 色谱图

见图 1。

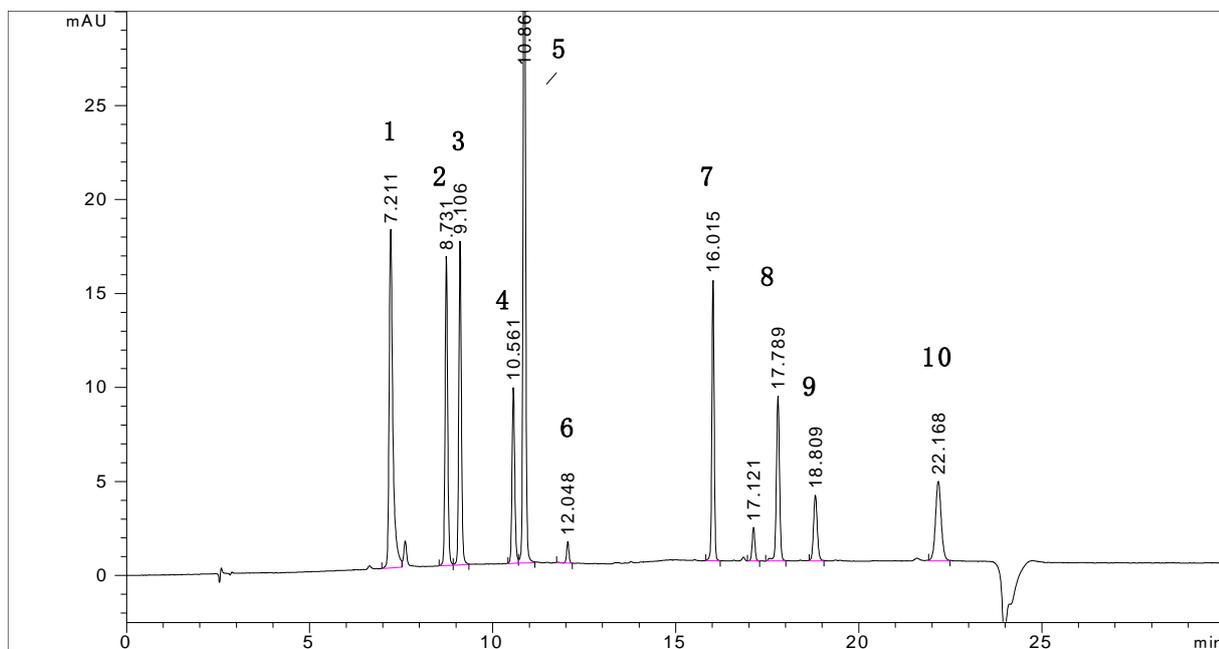


图 1 10 种染料标准色谱图

(1-碱性橙 2, 2-碱性嫩黄, 3-碱性橙 21, 4-碱性橙 22, 5-酸性橙 II,

6-罗丹明 B, 7-苏丹红 I, 8-苏丹红 II, 9-苏丹红 III, 10-苏丹红 IV)

## 6 结果计算

按公式 (1) 计算每种染料的含量

$$X=2\times C\times V/m \cdots \cdots (1)$$

式中:

$X$ —样品中每种染料的含量, 单位为毫克每千克 (mg/kg);

$C$ —由标准曲线查出的样液中每种染料的浓度, 单位为微克每毫升 ( $\mu\text{g/mL}$ );

$V$ —定容体积, 单位为毫升 (mL);

$m$ —样品的质量, 单位为克 (g)。

结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。