

BJS

食品补充检验方法

BJS 202006

水果、蔬菜中丁醚脞的测定 液相色谱-质谱法

2020-11-19 发布

国家市场监督管理总局 发布

水果、蔬菜中丁醚脞的测定

液相色谱-质谱法

1 范围

本方法规定了水果、蔬菜中丁醚脞的高效液相色谱-串联质谱测定方法。
本方法适用于水果、蔬菜中丁醚脞的测定。

2 原理

样品经乙腈提取,基质分散固相萃取净化,采用液相色谱-串联质谱仪检测,外标法定量。

3 试剂和材料

除另有规定外,本方法中所用试剂均为分析纯,水为符合 GB/T 6682 中规定的一级水。

3.1 试剂

3.1.1 乙腈(CH_3CN):色谱纯。

3.1.2 甲酸(HCOOH):色谱纯。

3.1.3 无水硫酸钠(Na_2SO_4):分析纯。用前在 $650\text{ }^\circ\text{C}$ 灼烧 4 h,贮于干燥器中,冷却后备用。

3.1.4 氯化钠(NaCl):分析纯。

3.1.5 0.1%甲酸水溶液:准确吸取 1 mL 甲酸(3.1.2),用水定容至 1 L,混匀。

3.2 标准品

丁醚脞标准物质($\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8$,CAS 号:80060-09-9);纯度 $\geq 95.0\%$,或经过国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.3 标准溶液配制

3.3.1 丁醚脞标准储备液(100 mg/L):准确称取丁醚脞标准品(3.2)1 mg(精确到 0.01 mg)于 10 mL 容量瓶中,用乙腈(3.1.1)溶解并定容至刻度,摇匀,配制成质量浓度为 100 mg/L 的标准储备液, $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 冷冻保存,有效期为 6 个月。

3.3.2 丁醚脞标准中间液(10 mg/L):精确移取 1.0 mL 丁醚脞标准储备液(3.3.1)于 10 mL 容量瓶中,用乙腈(3.1.1)定容至刻度,摇匀, $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 冷冻保存,有效期为 1 个月。

3.3.3 丁醚脞标准工作液(现用现配):精确移取 1.0 mL 丁醚脞标准中间液(3.3.2)于 10 mL 容量瓶中,加乙腈(3.1.1)定容至刻度,即为标准工作液 a(1 mg/L)。精确移取 1.0 mL 标准工作液 a 于 10 mL 容量瓶中,加乙腈(3.1.1)定容至刻度,即为标准工作液 b(0.1 mg/L)。

3.4 N-丙基乙二胺(PSA)

40 μm ~100 μm 。

3.5 十八烷基硅烷键合硅胶(ODS)

40 μm ~100 μm 。

4 仪器和设备

4.1 液相色谱-串联质谱仪(LC-MS/MS); 带电喷雾离子源(ESI 源)。

4.2 分析天平: 感量分别为 0.000 1 g 和 0.000 01 g。

4.3 涡漩振荡器。

4.4 均质器。

4.5 粉碎机。

4.6 离心机: 转速 $\geq 10\ 000$ r/min。

5 分析步骤

5.1 试样制备和保存

水果和蔬菜类样品: 取不少于 500 g 代表性样品, 切碎后, 均质、混匀, 装入洁净容器, 于 $-18\ ^\circ\text{C}$ (或 $-18\ ^\circ\text{C}$ 以下) 冷冻避光保存。

5.2 试样前处理

5.2.1 试样提取

称取试样 5 g (精确至 0.01 g) 于 50 mL 离心管中, 准确加入 20 mL 乙腈(3.1.1), 涡漩振荡 2 min, 加入 2 g 无水硫酸钠(3.1.3) 和 1 g 氯化钠(3.1.4), 继续涡漩振荡 2 min 后, 5 000 r/min 离心 2 min, 上清液待净化。

5.2.2 试样净化

移取 3 mL 提取液(5.2.1) 于 10 mL 聚丙烯离心管中, 加入 0.5 g 无水硫酸钠(3.1.3)、0.4 g PSA(3.4) 和 0.4 g ODS(3.5), 涡漩混合 1 min, 10 000 r/min 离心 1 min, 上清液过 0.22 μm 微孔滤膜, 上机测定。

5.2.3 基质标准工作溶液配制

分别精密移取丁醚脲标准工作液 b(3.3.3) 40 μL 、100 μL 、200 μL , 标准工作液 a(3.3.3) 40 μL 、100 μL 、200 μL 、300 μL 分别于 7 个 2 mL 容量瓶中, 用空白基质液(5.5) 定容至刻度, 配制成质量浓度为 0.002 mg/L、0.005 mg/L、0.010 mg/L、0.020 mg/L、0.050 mg/L、0.100 mg/L、0.150 mg/L 的系列标准工作溶液。基质标准工作溶液应现用现配。

整个操作过程应尽量避光(直射阳光)。

当进样浓度超过 0.10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 丁醚脲会吸附在进样系统中导致系统性污染, 可在进样前通过插入空白试剂消除系统污染, 防止假阳性的产生。

5.3 液相色谱-质谱测定

5.3.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

- 色谱柱：Eclipse Plus C₁₈ (2.1 mm×50 mm, 1.8 μm), 或性能相当者。
- 柱温：35 ℃。
- 流速：0.3 mL/min。
- 进样体积：1.0 μL。
- 流动相：A 相为 0.1% 甲酸水溶液 (3.1.5), B 相为乙腈 (3.1.1), 梯度洗脱条件见表 1。

表 1 流动相及梯度洗脱条件

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	80	20
2.0	80	20
4.0	15	85
6.0	15	85
6.1	80	20
8.0	80	20

5.3.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

- 离子源：电喷雾离子源 (ESI), 正离子模式；
- 扫描方式：多反应监测 (MRM)；
- 毛细管电压：4.0 kV；
- 毛细管温度：300 ℃；
- 雾化气：氮气, 3 L/min；
- 碰撞气：氩气 (Ar), 气压为 270 kPa；
- 干燥气流速：10 L/min；
- 定性离子对、定量离子对参见表 2。

表 2 丁醚脲主要质谱参数

组分	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	一级四级杆 射频电压 Q1 V	碰撞电压 CE eV	三级四级杆射频 电压 Q3 电压 V
丁醚脲	385.1	329.1 ^a	12	21	24
	385.1	278.1	12	32	20
^a 定量离子。					

5.3.3 定性测定

按照 5.3.1 和 5.3.2 的条件测定试样和基质标准工作液, 试样溶液中目标化合物色谱峰的保留时间

与基质标准工作液中丁醚脲色谱峰的保留时间相比较,变化范围应在±2.5%之内。

目标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,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与浓度相当基质的标准工作溶液相比,其允许偏差不超过表 3 规定的范围。

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/%	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

5.3.4 定量测定

将基质标准工作溶液(5.2.3)注入液相色谱-串联质谱仪中,按仪器参考条件(5.3.1 和 5.3.2)进行测定,得到丁醚脲相应的标准溶液的色谱峰面积。以基质标准工作溶液的质量浓度为横坐标,以丁醚脲定量离子色谱峰的峰面积为纵坐标,绘制标准工作曲线。将试样溶液(5.2.2)按仪器参考条件(5.3.1 和 5.3.2)进行测定,得到试样溶液的色谱峰面积,根据基质标准工作曲线得到试样溶液中丁醚脲的质量浓度。试样溶液中丁醚脲的响应值应在标准曲线线性范围内,若超过工作曲线线性范围,应用空白基质稀释后再进样分析。

在上述色谱和质谱条件下,丁醚脲标准品溶液多反应监测提取离子色谱图及定量定性离子流图参见附录 A。

5.4 平行试验

按以上步骤对同一试样进行平行试验。

5.5 空白试验

除不加试样外,均按上述步骤进行。

6 结果计算

试样中被测目标物以质量分数 w 计,数值以毫克每千克(mg/kg)表示,按公式(1)计算。

$$w = \rho \times \frac{V}{m} \times \frac{1\ 000}{1\ 000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

w ——试样中被测组分的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

ρ ——从标准曲线上得到的被测组分溶液质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——样品溶液定容体积,单位为毫升(mL);

m ——试样的质量,单位为克(g)。

计算结果需扣除空白值,当结果小于 1 mg/kg 时保留两位有效数字,当结果大于 1 mg/kg 时保留三位有效数字。

7 精密度和准确度

7.1 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%。

7.2 准确度

本方法在 0.010 mg/kg~1.0 mg/kg 添加浓度范围内,回收率为 60%~120%。

8 检出限和定量限

本方法规定水果和蔬菜中丁醚脲的定量限为 0.010 mg/kg,检出限为 0.003 mg/kg。

附录 A

(资料性)

丁醚脞标准品溶液多反应监测提取离子色谱图及定量定性离子流图

丁醚脞标准溶液的总离子流图及定量定性离子流图见图 A.1。

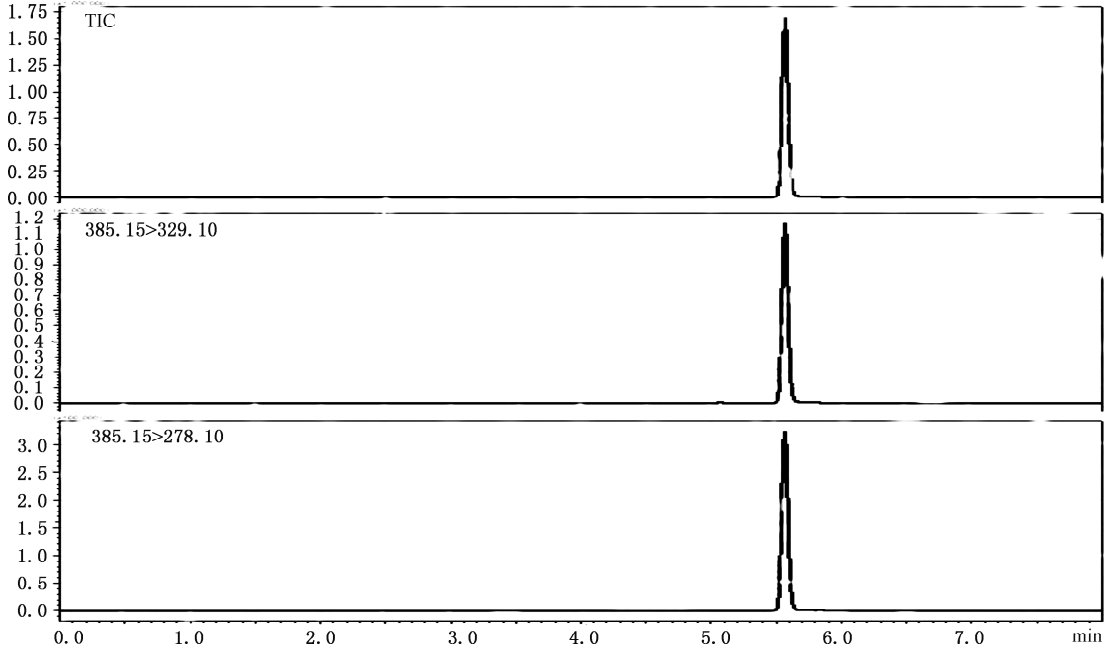


图 A.1 丁醚脞标准溶液的总离子流图及定量定性离子流图

本方法研制及起草单位：浙江省食品药品检验研究院。

本方法验证单位：四川省食品药品检验检测院、陕西省食品药品监督检验研究院、辽宁省食品检验检测院、杭州市疾病预防控制中心、杭州绿城农科检测技术有限公司。

本方法主要起草人：徐潇颖、刘柱、王峰、陈碧莲、罗金文。