

附件 5

ICS 67.050

CCS X 04



中华人民共和国国家标准

GB 23200.XXX—XXXX

食品安全国家标准 植物源性食品中草甘膦等 4 种农药及其代 谢物残留量的测定 液相色谱-质谱联用法

National food safety standard

Determination of four pesticides including glyphosate and their metabolites
residues in foods of plant origin

Liquid chromatography - mass spectrometry method

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX-发布

XXXX-XX-XX 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
中华人民共和国农业农村部
国家市场监督管理总局

发布

前 言

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

本标准系首次发布。

征求意见稿

食品安全国家标准

植物源性食品中草甘膦等 4 种农药及其代谢物残留量的测定

液相色谱-质谱联用法

1 范围

本文件规定了植物源性食品中草甘膦及其代谢物（氨基磷酸、N-乙酰氨基磷酸、N-乙酰草甘膦、N-甲基草甘膦）、草铵膦及其代谢物（3-甲基磷酸亚基丙酸、N-乙酰草铵膦）、乙烯利、膦酸（见附录A）残留量的液相色谱-质谱联用测定方法。

本文件适用于植物源性食品中草甘膦及其代谢物、草铵膦及其代谢物、乙烯利、膦酸残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 2763 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试样用水提取，提取液经固相萃取净化，液相色谱串联质谱仪检测，外标法定量。

4 试剂和材料

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。

4.1 试剂

4.1.1 二氯甲烷（ CH_2Cl_2 ，CAS 号：75-09-2）。

4.1.2 碳酸氢铵（ CH_5NO_3 ，CAS 号：1066-33-7）。

4.1.3 氨水（ H_5NO ，CAS 号：1336-21-6）。

4.1.4 乙酸（ CH_3COOH ，CAS 号：64-19-7）。

4.2 溶液配制

4.2.1 乙酸水溶液：取 57.2 μL 乙酸，用水定容至 10 mL，混匀，取 1 mL 定容液用水定容至 1 L，混匀。

4.2.2 200 mmol/L 碳酸氢铵-0.05%氨水水溶液：称取 15.8 g 碳酸氢铵，用水溶解，加入 0.5 mL 氨水，并定容至 1000 mL，混匀。

4.3 标准品

4 种农药及其代谢物标准品，参见附录 A，纯度 \geq 98%。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 标准储备溶液（1000 mg/L）：准确称取约 10 mg（精确至 0.1 mg）各农药标准品，用水溶解并分别在聚乙烯或聚丙烯容量瓶（4.5.1）中定容，避光-18 $^{\circ}\text{C}$ 及以下条件保存于聚乙烯或聚丙烯储液瓶（4.5.2），有效期 1 年。

4.4.2 混合标准储备溶液（50 mg/L）：准确吸取一定量的农药标准储备溶液（4.4.1）于聚乙烯或聚丙烯容量瓶（4.5.1）中，用水定容至刻度，避光-18 $^{\circ}\text{C}$ 及以下条件保存于聚乙烯或聚丙烯储液瓶（4.5.2），有效期 6 个月。

4.4.3 混合标准溶液（5 mg/L）：准确吸取一定量的混合标准储备溶液（4.4.2）于聚乙烯或聚丙烯容量瓶（4.5.1）中，用水定容至刻度，避光-18 $^{\circ}\text{C}$ 及以下条件保存于聚乙烯或聚丙烯储液瓶（4.5.2），有效期 1 个月。

4.5 材料

4.5.1 容量瓶：10 mL，聚乙烯或聚丙烯材质。

4.5.2 储液瓶，聚乙烯或聚丙烯材质。

4.5.3 固相萃取柱：苯乙烯-二乙烯苯-N-乙烯基吡咯烷酮聚合物柱，60mg，容积 3mL，或相当者。

4.5.4 离心管：5 和 50 mL，聚乙烯或聚丙烯材质。

4.5.5 微孔滤膜（水相），0.22 μm ，或相当者。

4.5.6 进样瓶，聚乙烯或聚丙烯材质。

5 仪器

5.1 液相色谱-三重四极杆质谱联用仪：配有电喷雾离子源（ESI）。

5.2 分析天平：感量 0.1 mg 和 0.01 g。

5.3 离心机：转速不低于 7000 r/min。

5.4 组织捣碎机。

5.5 涡旋混合器。

5.6 振荡器：转速不低于 200 r/min。。

6 试样制备

6.1 试样制备

样品测定部位按照 GB 2763 附录 A 的规定执行，取样量按照相关标准或规定执行。

蔬菜、水果、食用菌和糖料作物，对于个体较小的样品，取样后全部处理；对于个体较大的样品，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。

干制的蔬菜、水果和食用菌，加入 4 倍质量的水，放入组织捣碎机中捣碎成匀浆，放入聚乙烯瓶中。

谷类粉碎后使其全部可通过 425 μm 的标准网筛，放入聚乙烯瓶或袋中。

油料和坚果粉碎后充分混匀，放入聚乙烯瓶或袋中。

茶叶和香辛料（调味料）粉碎后充分混匀，放入聚乙烯瓶或袋中。

植物油类搅拌均匀，放入聚乙烯瓶中。

6.2 试样贮存

将试样按照测试和备用分别存放。于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 及以下条件保存。

7 分析步骤

7.1 蔬菜、水果、食用菌和糖料

称取 5 g 试样（精确至 0.01 g）于 50 mL 塑料离心管中，加入 25 mL 水，涡旋混匀后浸泡 30 min，200 r/min 振荡提取 30 min，之后 5000 r/min 离心 5 min，定量吸取 2 mL 上清液，转移至固相萃取柱（4.5.3），负压下使上清液逐滴通过净化柱，5 mL 塑料离心管接收淋出液。吸取淋出液经微孔滤膜（4.5.6）过滤，装入聚乙烯或聚丙烯进样瓶（4.5.7），待测定。

对于干制的蔬菜、水果和食用菌，称取 5 g 制备后的试样（精确至 0.01 g）于 50 mL 塑料离心管中，按上述方式处理。

7.2 谷物、油料和坚果

称取 2 g 试样（精确至 0.01 g）于 50 mL 塑料离心管中，加入 20 mL 乙酸水溶液（4.2.1），涡旋混匀后浸泡 30 min，200 r/min 振荡提取 30 min，5000 rpm 离心 5 min，收集上清液。取 6 mL 上清液于 50 mL 塑料离心管中，加入 30 mL 二氯甲烷，涡旋混匀，5000 rpm 离心 5 min，取水相清液（大豆和杏仁等蛋白含量高的基质可再用二氯甲烷重复多次）。使用固相萃取柱（4.5.3），将 2 mL 水相清液上柱，负压下使提取液逐滴通过净化柱，5 mL 塑料离心管接收淋出液。吸取淋出液经微孔滤膜（4.5.6）过滤，

装入聚乙烯或聚丙烯进样瓶（4.5.7），待测定。

7.3 茶叶和香辛料（调味料）

称取 2 g 试样（精确至 0.01 g）于 50 mL 塑料离心管中，加入 20 mL 水，涡旋混匀后浸泡 30 min，200 r/min 振荡提取 30 min，7000 r/min 离心 5 min，定量吸取 2 mL 上清液，转移至固相萃取柱（4.5.3），负压下使提取液逐滴通过净化柱，5 mL 塑料离心管接收淋出液。吸取淋出液经微孔滤膜（4.5.6）过滤，装入聚乙烯或聚丙烯进样瓶（4.5.7），待测定。

7.4 植物油

称取 1 g 试样（精确至 0.01 g）于 50 mL 塑料离心管中，加入 10 mL 水，涡旋混匀后浸泡 30 min，200 r/min 振荡提取 30 min，5000 r/min 离心 5 min，定量吸取 2 mL 下层水相，转移至固相萃取柱（4.5.3），负压下使提取液逐滴通过净化柱，5 mL 塑料离心管接收淋出液。吸取淋出液经微孔滤膜（4.5.6）过滤，装入聚乙烯或聚丙烯进样瓶（4.5.7），待测定。

7.5 测定

7.5.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：填料为季铵化聚乙烯醇的阴离子分析柱，150 mm×4.0 mm（内径），5 μm（粒径），或相当者；
- b) 流动相：A 相为水，B 相为 200 mmol/L 碳酸氢铵 - 0.05% 氨水水溶液（4.2.2）。流动相梯度条件见表 1；
- c) 流速：0.6 mL/min；
- d) 柱温：40℃；
- e) 进样量：10 μL。

表 1 流动相及其梯度条件（ V_A+V_B ）

时间 min	V_A	V_B
0.00	90	10
0.50	90	10
1.00	60	40
4.00	20	80
5.00	17.5	82.5
6.00	5	95
12.00	5	95
12.10	90	10
15.00	90	10

7.5.2 质谱参考条件

- a) 离子源类型：电喷雾离子源；
- b) 扫描方式：负离子扫描；
- c) 电喷雾电压：-4000 V；
- d) 离子源温度：600 ℃；
- e) 多反应监测：每种农药分别选择至少 2 个子离子。所有需要检测的子离子按照出峰顺序，分时段分别检测。每种农药的电离方式、保留时间、去簇电压、离子对质谱参数，参见附录 B。

7.5.3 基质匹配标准工作曲线

选择与被测样品性质相同或相似的空白样品按照7.1~7.4部分进行前处理，得到空白基质溶液。精确吸取一定量的混合标准溶液，逐级用空白基质溶液稀释成质量浓度为0.005 mg/L、0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.2 mg/L和0.5 mg/L的基质匹配标准工作溶液，根据仪器性能和检测需要选择不少于5个浓度点，供液相色谱-质谱联用仪测定。以农药定量用子离子的质量色谱图峰面积为纵坐标，相对应的基质匹配标准工作溶液质量浓度为横坐标，绘制基质匹配标准工作曲线。

7.5.4 定性及定量

7.5.4.1 保留时间

被测试样中目标农药色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，偏差应在 ± 0.1 min 之内。

7.5.4.2 离子丰度比

在相同实验条件下进行样品测定时，如果检出的色谱峰的保留时间与标准样品相一致，并且目标化合物选择的子离子均出现，而且同一检测批次，对同一化合物，样品中目标化合物的离子丰度比与质量浓度相当的基质标准溶液相比，其允许偏差不超过表 2 规定的范围，则可判断样品中存在目标农药。

表 2 定性时离子丰度比的最大允许偏差

离子丰度比	>50%	>20%至 50% (含)	>10%至 20% (含)	$\leq 10\%$
允许相对偏差	$\pm 20\%$	$\pm 25\%$	$\pm 30\%$	$\pm 50\%$

本方法的标准物质 LC-MS/MS 多反应监测质量色谱图参见附录 C。

7.5.4.3 定量

外标法定量。

7.6 试样溶液的测定

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

7.7 平行试验

按以上步骤对同一试样进行平行试验测定。

7.8 空白试验

除不加试样外，采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

8 结果计算

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

$$\omega = \frac{\rho_1 \times A \times V}{A_s \times m} \times \frac{1000}{1000} \quad (1)$$

$$\omega = \frac{\rho_2 \times V}{m} \times \frac{1000}{1000} \quad (2)$$

式中：

ω ——试样中被测物残留量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

ρ_1 ——基质匹配标准工作溶液中被测物的质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

ρ_2 ——从基质匹配标准工作曲线中得到的试样溶液中被测物的质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

A ——试样溶液中被测物的质量色谱图峰面积；

A_s ——基质匹配标准工作溶液中被测物的质量色谱图峰面积；

V ——提取液体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样的质量（干制的蔬菜、水果和食用菌样品为干样质量），单位为克（g）。

计算结果保留 2 位有效数字，残留量超 1 mg/kg 时保留 3 位有效数字。

9 精密度

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

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

10 其他

本标准方法对各种化合物的定量限为 0.05 mg/kg（参见附录 A）。

附录 A

(资料性)

4 种农药及代谢物中英文名称、分子式、CAS 号和定量限

4 种农药及代谢物的中英文名称、分子式、CAS 号和定量限，见表 A.1。

表 A.1 4 种农药及其代谢物中英文名称、分子式、CAS 号和定量限

序号	农药中文名	农药英文名	分子式	CAS 号	定量限, mg/kg
1	草甘膦	Glyphosate	$C_3H_5NO_3P$	1071-83-6	0.05
2	氨基甲磷酸	Aminomethyl phosphonic acid (AMPA)	CH_6NO_3P	1066-51-9	0.05
3	N-乙酰氨基甲磷酸	N-acetyl aminomethyl phosphonic acid (N-acetyl AMPA)	$C_3H_8NO_4P$	57637-97-5	0.05
4	N-乙酰草甘膦	N-acetyl glyphosate	$C_5H_{10}NO_6P$	129660-96-4	0.05
5	N-甲基草甘膦	N-methyl glyphosate	$C_4H_{10}NO_5P$	24569-83-3	0.05
6	膦酸	Phosphonic acid	H_2PO_3	13598-36-2	0.05
7	草铵膦	Glufosinate-ammol/Lonium	$C_5H_{15}N_2O_4P$	77182-82-2	0.05
8	3-甲基磷酸亚基丙酸	3-Methyl phosphinopropionic acid (MPPA)	$C_4H_9O_4P$	15090-23-0	0.05
9	N-乙酰草铵膦	N-acetyl glufosinate	$C_7H_{14}NO_5P$	73634-73-8	0.05
10	乙烯利	Ethephon	$C_2H_6ClO_3P$	16672-87-0	0.05

附录 B

(资料性)

4 种农药及其代谢物的电离方式、保留时间、去簇电压、离子对质谱参数

4 种农药及其代谢物的电离方式、保留时间、去簇电压、离子对质谱参数，见表 B.1。

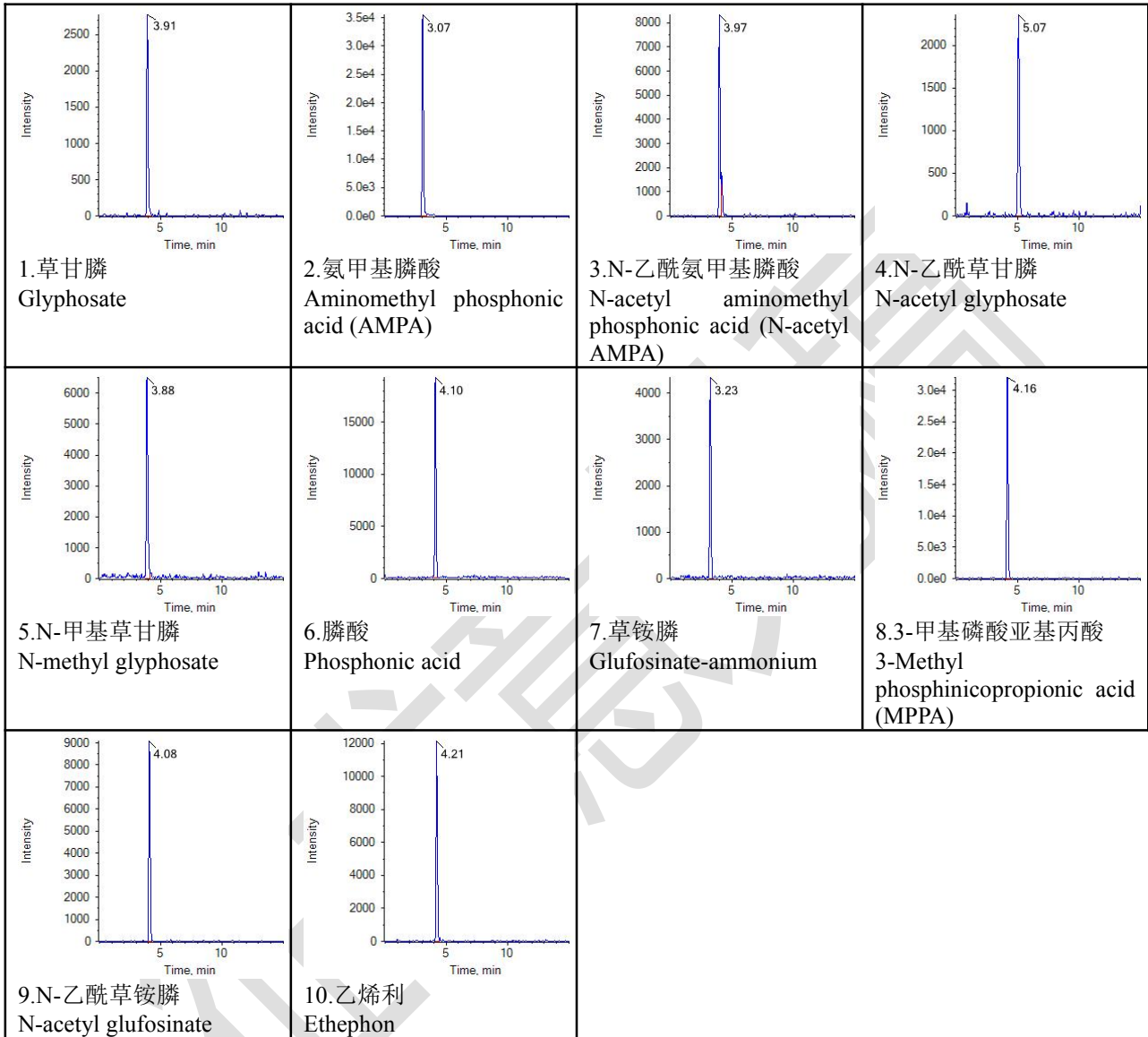
表 B.1 4 种农药及其代谢物的电离方式、保留时间、去簇电压、离子对质谱参数

序号	中文名称	英文名称	电离方式	保留时间 min	去簇电压 V	离子对 I <i>m/z</i>	碰撞能 eV	离子对 II <i>m/z</i>	碰撞能 eV
1	草甘膦	Glyphosate	负	3.91	-30	168/63	-33	168/79	-53
2	氨基甲磷酸	Aminomethyl phosphonic acid (AMPA)	负	3.07	-49	110/79	-37	110/63	-23
3	N-乙酰氨基甲磷酸	N-acetyl aminomethyl phosphonic acid (N-acetyl AMPA)	负	3.97	-35	152/63	-40	152/110	-20
4	N-乙酰草甘膦	N-acetyl glyphosate	负	5.07	-35	210/63	-40	210/150	-17
5	N-甲基草甘膦	N-methyl glyphosate	负	3.88	-35	182/79	-33	182/63	-35
6	磷酸	Phosphonic acid	负	4.10	-30	81/79	-20	81/63	-39
7	草铵膦	Glufosinate-ammol/Lonium	负	3.23	-45	180/63	-59	180/85	-26
8	3-甲基磷酸亚基丙酸	3-Methyl phosphinicopropionic acid (MPPA)	负	4.16	-35	151/63	-47	151/133	-17
9	N-乙酰草铵膦	N-acetyl glufosinate	负	4.08	-35	222/63	-61	222/136	-29
10	乙烯利	Ethephon	负	4.21	-40	143/107	-13	143/79	-20

附录 C
(资料性)

4 种农药及其代谢物多反应监测 (MRM) 质量色谱图

4 种农药及其代谢物多反应监测 (MRM) 质量色谱图, 见图 C. 1



附 录 D
(资料性)
精密度的表示和计算

重复性限 (r) 要求见表 D.1, 再现性限 (R) 要求见表 D.2。

表 D.1 重复性限 (r)

序号	中文名称	英文名称	重复性限 (r)		
			0.05 mg/kg	0.1 mg/kg	1 mg/kg
1	草甘膦	Glyphosate	0.0184	0.037	0.28
2	氨基磷酸	Aminomethyl phosphonic acid (AMPA)	0.0212	0.038	0.29
3	N-乙酰氨基磷酸	N-acetyl aminomethyl phosphonic acid (N-acetyl AMPA)	0.0178	0.035	0.28
4	N-乙酰草甘膦	N-acetyl glyphosate	0.0179	0.033	0.28
5	N-甲基草甘膦	N-methyl glyphosate	0.0144	0.031	0.26
6	磷酸	Phosphonic acid	0.0167	0.027	0.23
7	草铵膦	Glufosinate-ammol/Lonium	0.0184	0.033	0.26
8	3-甲基磷酸亚基丙酸	3-Methyl phosphinopropionic acid (MPPA)	0.0158	0.027	0.27
9	N-乙酰草铵膦	N-acetyl glufosinate	0.0204	0.034	0.25
10	乙烯利	Ethephon	0.0175	0.033	0.26

表 D.2 再现性限 (R)

序号	中文名称	英文名称	再现性限 (R)		
			0.05 mg/kg	0.1 mg/kg	1 mg/kg
1	草甘膦	Glyphosate	0.0264	0.044	0.41
2	氨基磷酸	Aminomethyl phosphonic acid (AMPA)	0.0247	0.049	0.38
3	N-乙酰氨基磷酸	N-acetyl aminomethyl phosphonic acid (N-acetyl AMPA)	0.0255	0.049	0.37
4	N-乙酰草甘膦	N-acetyl glyphosate	0.024	0.045	0.40
5	N-甲基草甘膦	N-methyl glyphosate	0.0227	0.045	0.36
6	磷酸	Phosphonic acid	0.0240	0.039	0.41
7	草铵膦	Glufosinate-ammol/Lonium	0.0281	0.048	0.39
8	3-甲基磷酸亚基丙酸	3-Methyl phosphinopropionic acid (MPPA)	0.0200	0.036	0.43
9	N-乙酰草铵膦	N-acetyl glufosinate	0.0220	0.037	0.40
10	乙烯利	Ethephon	0.0212	0.040	0.40