



中华人民共和国国家标准

GB 23200.21—2016

食品安全国家标准 水果中赤霉素残留量的测定 液相色谱—质谱/质谱法

National food safety standards—
Determination of gibberellic acid residue in fruits—
Liquid chromatography–mass spectrometry

2016-12-18 发布

2017-06-18 实施



中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会
中 华 人 民 共 和 国 农 业 部 发 布
国家食品药品监督管理总局

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 SN/T 0350—2012《出口水果中赤霉素残留量的测定 液相色谱—质谱/质谱法》。与 SN/T 0350—2012 相比,主要变化如下:

- 标准文本格式修改为食品安全国家标准文本格式;
- 标准名称中“进出口水果”改为“水果”。
- 标准范围中增加“其他食品可参照执行”。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

- SN 0350—1995、SN/T 0350—2012。

食品安全国家标准

水果中赤霉酸残留量的测定 液相色谱—质谱/质谱法

1 范围

本标准规定了水果中赤霉酸残留量的制样和液相色谱—质谱/质谱测定方法。

本标准适用于苹果、橘子、桃子、梨和葡萄中赤霉酸残留量的检测,其他食品可参照执行。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB 2763 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法。

3 原理

用乙腈提取试样中残留的赤霉酸,提取液经液液分配净化后,用液相色谱—质谱/质谱测定和确证,外标法定量。

4 试剂和材料

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

4.1 试剂

4.1.1 乙腈(C_2H_3N):色谱纯。

4.1.2 甲醇(CH_4O):色谱纯。

4.1.3 乙酸乙酯($C_4H_8O_2$):色谱纯。

4.1.4 甲酸(CH_2O_2):色谱纯。

4.1.5 磷酸二氢钾(K_2HPO_4)。

4.1.6 氢氧化钠($NaOH$)。

4.1.7 硫酸(H_2SO_4)。

4.1.8 氯化钠($NaCl$)。

4.2 溶液配制

4.2.1 硫酸水溶液(pH 2.5):1滴硫酸加入 100 mL 水中,调节水 pH 为 2.5。

4.2.2 磷酸盐缓冲溶液(pH 7):6.7 g 磷酸二氢钾和 1.2 g 氢氧化钠溶解于 1 L 水中。

4.2.3 0.15%甲酸溶液:移取 0.15 mL 甲酸,用水稀释至 100 mL。

4.3 标准品

赤霉酸标准品(gibberellic acid, CAS 号:77-06-5, $C_{19}H_{22}O_6$):纯度 $\geq 98\%$ 。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 赤霉酸标准储备溶液:称取适量标准品,用甲醇溶解,溶液浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 。0℃~4℃冷藏避光保存。有效期 3 个月。

4.4.2 标准工作溶液:根据需要,用空白样品溶液将标准储备液稀释成 4 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、100 ng/mL 和 150 ng/mL 的标准工作溶液,相当于样品中含有 8 $\mu\text{g/kg}$ 、10 $\mu\text{g/kg}$ 、20 $\mu\text{g/kg}$ 、200 $\mu\text{g/kg}$ 和 300 $\mu\text{g/kg}$ 赤霉酸。临用前配制。

4.5 材料

有机相微孔滤膜:0.45 μm 。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱—质谱/质谱仪:配有电喷雾离子源。

5.2 分析天平:感量 0.01 g 和 0.0001 g。

5.3 pH 计。

5.4 旋转蒸发器。

5.5 涡旋振荡器。

5.6 离心机:4 000 r/min。

6 试样制备与保存

从所取全部样品中取出有代表性样品约 500 g,取样部位按 GB 2763 的规定执行。用粉碎机粉碎,混合均匀,均分成 2 份,分别装入洁净容器作为试样,密封,并标明标记。将试样于 -18°C 冷冻保存。

在抽样和制样的操作过程中,应防止样品污染或发生残留物含量的变化。

7 测定步骤

7.1 提取

称取 5 g 试样(精确到 0.01 g)置于 50 mL 塑料离心管中,加入 25 mL 乙腈和 2 g 氯化钠,涡旋 1 min,以 4 000 r/min 离心 5 min,将上层乙腈提取液转移至浓缩瓶中。下层溶液再用 20 mL 乙腈提取一次,合并乙腈提取液,在 45°C 以下水浴减压浓缩至近干。用 10 mL 硫酸水溶液将残渣转移至 50 mL 塑料离心管中,加入 20 mL 乙酸乙酯,涡旋 1 min,以 4 000 r/min 离心 5 min,乙酸乙酯转移至另一 50 mL 塑料离心管中,再加入 20 mL 乙酸乙酯,重复上述操作,合并乙酸乙酯提取液。加入 10 mL 磷酸盐缓冲溶液,涡旋,以 4 000 r/min 离心 5 min,分取磷酸盐缓冲盐溶液,乙酸乙酯层中再加入 10 mL 磷酸盐缓冲溶液提取一次,合并磷酸盐缓冲溶液,滴加 50% 硫酸溶液调节溶液 pH 为 2.5 ± 0.2 。加入 20 mL 乙酸乙酯,涡旋 1 min,以 4 000 r/min 离心 5 min,将上层乙酸乙酯转移至浓缩瓶中,磷酸盐缓冲盐溶液层中再加入 20 mL 乙酸乙酯提取一次,合并乙酸乙酯提取液在 45°C 以下水浴减压浓缩至近干。加 10.0 mL 甲醇—水(1+1, 体积比)溶解残渣,混匀,过 0.45 μm 滤膜,供液相色谱—质谱/质谱仪测定。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱—质谱/质谱

液相色谱—质谱/质谱参考条件如下:

- 色谱柱: C_{18} 柱, 150 mm $\times$ 4.6 mm(内径), 膜厚 5 μm , 或相当者;
- 流动相: 乙腈—0.15 % 甲酸水溶液 (35+65, 体积比);
- 流速: 0.4 mL/min;
- 进样量: 30 μL ;
- 离子源: 电喷雾离子源;
- 扫描方式: 负离子扫描;
- 检测方式: 多反应监测;
- 雾化气、气帘气、辅助气和碰撞气均为高纯氮气; 使用前, 应调节各气体流量以使质谱灵敏度达

到检测要求,参考条件参见表 A.1。

7.2.2 液相色谱—质谱/质谱测定

根据样液中赤霉酸的含量情况,选定响应值适宜的标准工作液进行色谱分析,标准工作液应有 5 个浓度水平。待测样液中赤霉酸的响应值均应在仪器检测的工作曲线范围内。在上述色谱条件下,赤霉酸的参考保留时间约为 4.9 min。标准溶液的选择性离子流图参见图 B.1。

7.2.3 液相色谱—质谱/质谱确证

按照上述条件测定样品和标准工作液,如果检测的质量色谱峰保留时间与标准工作液一致,允许偏差小于±2.5%;定性离子对的相对丰度与浓度相当标准工作液的相对丰度一致,相对丰度允许偏差不超过表 1 规定,则可判断样品中存在相应的被测物。

表 1 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差 单位为百分率

相对丰度(基峰)	>50	20~50(含)	10~20(含)	≤10
允许的相对偏差	±20	±25	±30	±50

7.3 空白试验

除不加试样外,均按 7.1~7.2 的规定执行。

8 结果计算和表述

用色谱数据处理机或按式(1)计算试样中赤霉酸残留含量。

$$X = \frac{C_i \times V \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:
X ——试样中赤霉酸的残留量,单位为微克每千克(μg/kg);
C_i ——从标准曲线上得到的赤霉酸浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
V ——样液最终定容体积,单位为毫升(mL);
m ——最终样液代表的试样质量,单位为克(g);
1 000——换算系数。

计算结果须扣除空白值,测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留 2 位有效数字。

9 精密度

- 9.1 在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值与其算术平均值的比值(百分率),应符合附录 C 的要求。
- 9.2 在再现性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值与其算术平均值的比值(百分率),应符合附录 D 的要求。

10 定量限和回收率

10.1 定量限

本方法的定量限为 10 μg/kg。

10.2 回收率

在不同添加水平条件下的回收率参见附录 E。

附录 A
(资料性附录)

API 4000 LC-MS/MS 系统电喷雾离子源参考条件¹⁾

监测离子对及电压参数:

- a) 电喷雾电压(IS): -4 500 V;
- b) 雾化气压力(GS1): 241.15 kPa(35 psi);
- c) 气帘气压力(CUR): 172.25 kPa(25 psi);
- d) 辅助气流速(GS2): 310.05 kPa(45 psi);
- e) 离子源温度(TEM): 550 °C;
- f) 碰撞气(CAD): 6;
- g) 离子对、去簇电压(DP)、碰撞气能量(CE)及碰撞室出口电压(CXP)见 A.1。

表 A.1 离子对、去簇电压(DP)、碰撞气能量(CE)和碰撞室出口电压(CXP)

名称	母离子 m/z	子离子 m/z	去簇电压(DP) V	碰撞气 能量(CE) V	碰撞室出口 电压(CXP) V
赤霉素	345.1	239.2 ^a 143.2	-45	-21 -34	-11
^a 为定量离子。					

1) 非商业性声明:附录 A 所列参数是在 API 4000 质谱仪完成的,此处列出试验用仪器型号仅是为了提供参考,并不涉及商业目的,鼓励标准使用者尝试不同厂家和型号的仪器。

附 录 B
(资料性附录)
赤霉酸标准品选择性离子流图

赤霉酸(5 ng/mL)标准品的选择性离子流图见图 B.1。

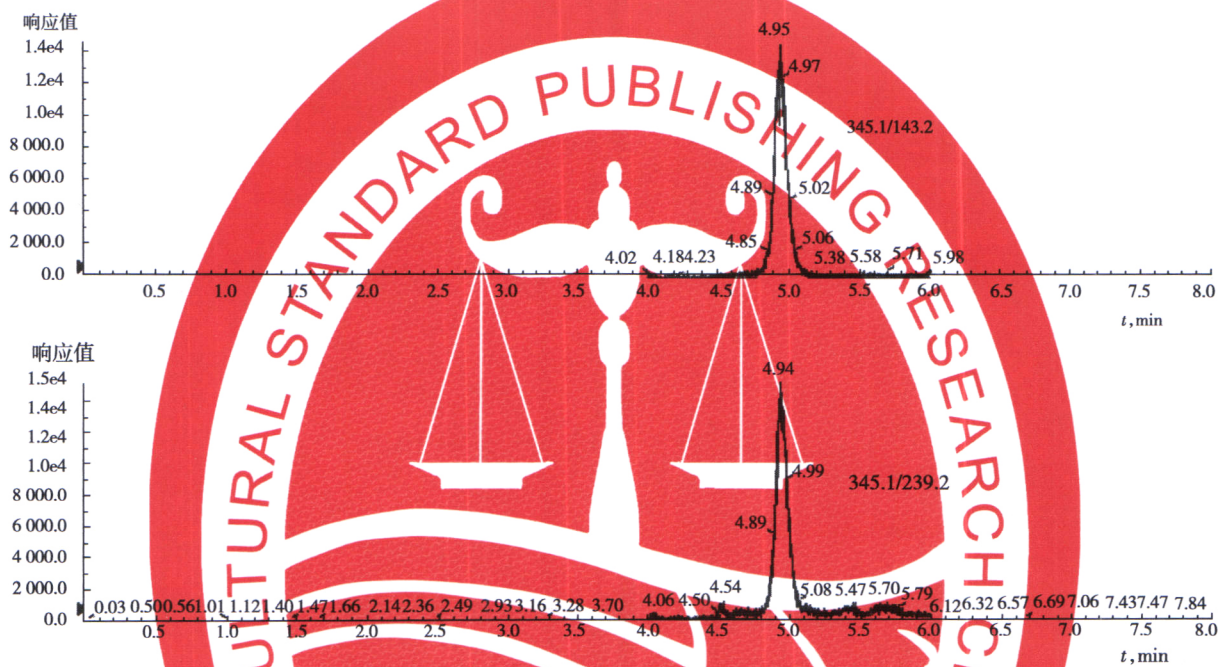


图 B.1 赤霉酸(5 ng/mL)标准品的选择性离子流图

附 录 C
(规范性附录)
实验室内重复性要求

实验室内重复性要求见表 C.1。

表 C.1 实验室内重复性要求

被测组分含量(C) mg/kg	精密度 %
$C \leq 0.001$	36
$0.001 < C \leq 0.01$	32
$0.01 < C \leq 0.1$	22
$0.1 < C \leq 1$	18
$C > 1$	14

附 录 D
(规范性附录)
实验室间再现性要求

实验室间再现性要求见表 D. 1。

表 D. 1 实验室间再现性要求

被测组分含量(C) mg/kg	精密度 %
$C \leq 0.001$	54
$0.001 < C \leq 0.01$	46
$0.01 < C \leq 0.1$	34
$0.1 < C \leq 1$	25
$C > 1$	16



附 录 E
(资料性附录)
样品的添加浓度及回收率

样品的添加浓度及回收率见表 E.1。

表 E.1 样品的添加浓度及回收率

基质	添加浓度, $\mu\text{g/kg}$	回收率, %	精密度, %
苹果	10	70.4~98.7	7.5
	20	70.8~100.8	5.2
	200	70.3~106.0	3.2
橘子	10	74.0~97.4	4.2
	20	74.0~97.5	4.3
	200	75.2~103.6	7.1
桃子	10	71.6~99.3	13.7
	20	73.8~102.8	10.5
	200	71.6~103.0	12.6
梨	10	70.4~109.0	5.3
	20	73.3~102.2	8.8
	200	73.7~101.0	5.7
葡萄	10	70.2~98.3	13.0
	20	70.3~98.1	9.4
	200	70.0~102.0	8.9

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
食 品 安 全 国 家 标 准
水 果 中 赤 霉 酸 残 留 量 的 测 定
液 相 色 谱 — 质 谱 / 质 谱 法

GB 23200.21—2016

* * *

中 国 农 业 出 版 社 出 版
(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)
(邮政编码: 100125 网址: www.ccap.com.cn)
北 京 印 刷 一 厂 印 刷
新 华 书 店 北 京 发 行 所 发 行 各 地 新 华 书 店 经 销

* * *

开 本 880mm×1230mm 1/16 印 张 1 字 数 20 千 字

2017 年 6 月 第 1 版 2017 年 6 月 北 京 第 1 次 印 刷

书 号: 16109·4110

定 价: 24.00 元



GB 23200.21—2016

版 权 专 有 侵 权 必 究
举 报 电 话: (010) 65005894