

ICS 67.050
X 10



中华人民共和国国家标准

GB/T 23750—2009

植物性产品中草甘膦残留量的测定 气相色谱-质谱法

Determination of glyphosate residues in plant products—
GC-MS method

2009-05-13 发布

2009-08-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准等同采用了 AOAC 官方方法 2000.05《作物中草甘膦及氨甲基膦酸的测定》。本标准在技术内容上与该方法一致,经验证后,按 GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第4部分:化学分析方法》对 AOAC 官方方法 2000.05 的个别内容作了编辑性修改。

本标准的附录 A 和附录 B 均为资料性附录。

本标准由中国标准化研究院提出并归口。

本标准起草单位:中华人民共和国上海出入境检验检疫局、上海市质量技术监督局、中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:李波、郭德华、卫锋、陈家华、谢燕、杨锡全、倪旦红、韩丽。

植物性产品中草甘膦残留量的测定 气相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了植物性产品中草甘膦(PMG)及其降解产物氨甲基膦酸(AMPA)残留量的气相色谱-质谱测定方法。

本标准适用于粮谷(大豆、小麦)、水果(甘蔗、柑橙)等植物产品中草甘膦及其降解产物氨甲基膦酸残留量的检测和确证。

本标准的定量限(LOQ):0.05 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 5009.3—2003 食品中水分的测定

3 原理

样品用水提取,经阳离子交换柱(CAX)净化,与七氟丁醇(HFB)和三氟乙酸酐(TFAA)衍生化反应后,用气相色谱-质谱联用仪测定,外标法定量。

4 试剂和材料

除另有规定外,所用试剂均为分析纯,水为去离子水。

- 4.1 乙酸乙酯:色谱纯。
- 4.2 甲醇:色谱纯。
- 4.3 二氯甲烷。
- 4.4 盐酸。
- 4.5 磷酸二氢钾(KH_2PO_4)。
- 4.6 三氟乙酸酐(TFAA):纯度 $\geq 99\%$ 。
- 4.7 七氟丁醇(HFB):纯度 $\geq 98\%$ 。
- 4.8 柠檬醛:纯度 $\geq 95\%$,色泽呈深棕色时弃用。
- 4.9 酸度调节剂:称取16 g磷酸二氢钾溶于160 mL水中,加入13.4 mL盐酸和40 mL甲醇,混匀。
- 4.10 CAX洗脱液:分别量取160 mL水、2.7 mL盐酸和40 mL甲醇,混匀。
- 4.11 0.2%柠檬醛乙酸乙酯溶液:100 mL乙酸乙酯中加入200 μL 柠檬醛,混匀,避光冷藏,有效期为1个月。
- 4.12 衍生试剂:三氟乙酸酐(TFAA)-七氟丁醇(HFB)(2+1,体积比),临用前配制,并于 $-40\text{ }^\circ\text{C}$ 以下的低温冰箱中冷冻保存。
- 4.13 草甘膦标准品:纯度 $\geq 98.0\%$ 。
- 4.14 氨甲基膦酸标准品:纯度 $\geq 98.0\%$ 。
- 4.15 草甘膦、氨甲基膦酸标准储备溶液:分别准确称取适量的草甘膦、氨甲基膦酸标准品于聚乙烯或

GB/T 23750—2009

聚丙烯塑料瓶中,用水溶解,加2滴盐酸,充分振摇,确保其全部溶解,配制成浓度为1.0 mg/mL的标准储备溶液,0℃~4℃保存,有效期为1年。

4.16 草甘膦、氨甲基膦酸混合标准中间溶液:用水将标准储备溶液(4.15)分别稀释成1.0 μg/mL、10.0 μg/mL、100 μg/mL的混合中间溶液,存放于聚乙烯或聚丙烯塑料瓶中,0℃~4℃保存,有效期为6个月。

4.17 草甘膦、氨甲基膦酸混合标准工作溶液:用CAX洗脱液(4.10)稀释混合标准中间溶液(4.16),分别配制成2.5 ng/mL、5 ng/mL、25 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、400 ng/mL各级混合标准工作溶液,存放于聚乙烯或聚丙烯塑料管中,0℃~4℃保存,有效期为3个月,但出现谱峰异常时应考虑重新配制。

4.18 CAX交换柱:AG 50W-X8(200目~400目),H⁺,0.8 cm×4 cm。使用时不采用真空泵抽气,且不得使其干涸。

注:可采用商品化的CAX小柱[Bio-Rad Poly-Prep No. 731-6214 CA 94547,USA],或同等性能的其他小柱。

5 仪器和设备

5.1 气相色谱-质谱仪:四极杆质谱仪,配有EI源并具有选择离子功能。

5.2 分析天平:感量0.1 mg和0.01 g各一台。

5.3 旋涡振荡器。

5.4 均质器。

5.5 旋转蒸发器。

5.6 恒温箱或其他恒温加热器。

5.7 固相萃取装置。

5.8 离心机:转速≥4 000 r/min,配有50 mL聚乙烯或聚丙烯离心管、150 mL或250 mL聚乙烯或聚丙烯离心瓶。

5.9 氮气吹干仪。

5.10 聚乙烯或聚丙烯具塞刻度试管:15 mL。

5.11 玻璃衍生瓶:4 mL,瓶盖内衬聚四氟乙烯垫。

6 测定步骤

6.1 试样制备

6.1.1 大豆、小麦

将样品按四分法缩分出约1 kg,全部磨碎并通过20目筛,混匀,均分成两份试样,装入洁净的容器内,密封,标明标记,常温保存。

6.1.2 甘蔗

去皮、切成小段,称取500 g,速冻后取出切成细末,混匀,均分成两份试样,装入洁净的容器内,密封,标明标记,0℃~4℃保存。

6.1.3 柑橙类

去皮或核,取可食部分500 g,匀浆,均分成两份试样,装入洁净的容器内,密封,标明标记,0℃~4℃保存。

6.1.4 水分测定

以上制备后的试样先按GB/T 5009.3—2003直接干燥法进行水分测定,并记录水分含量。

6.2 试样提取

称取25 g试样(精确到0.01 g)于150 mL或250 mL聚乙烯或聚丙烯塑料离心瓶中,加水至含水量达到125 mL。混匀后浸泡0.5 h,高速均质5 min,于3 500 r/min离心10 min。取上清液20 mL至

50 mL 聚乙烯或聚丙烯离心管中(高蛋白质样品,如大豆,加入 100 μ L 盐酸,旋涡振荡 1 min,于 3 500 r/min 离心 5 min,取上清液 15 mL 至另一 50 mL 聚乙烯或聚丙烯离心管中),加入 15 mL 二氯甲烷,旋涡振荡 2 min,于 3 500 r/min 离心 5 min(高脂肪样品再用二氯甲烷重复 1 次~2 次),取上清液 4.5 mL 置于 15 mL 聚乙烯塑料具塞刻度试管中,加入 0.5 mL 酸度调节剂(4.9),混匀,待净化。

6.3 净化

CAX 小柱(4.18)经 10 mL 水活化后,加入 1.0 mL 提取液(6.2),用 0.7 mL CAX 洗脱液(4.10)淋洗两次,再用 13 mL CAX 洗脱液(4.10)洗脱并收集,洗脱液于 40 $^{\circ}$ C 旋转浓缩至约 1 mL 后用 CAX 洗脱液(4.10)定容至 2.0 mL,待衍生。

6.4 衍生化

取 1.6 mL 衍生试剂(4.12)于 4 mL 衍生瓶中,加盖后放入-40 $^{\circ}$ C 以下的低温冰箱中冷冻 0.5 h 后取出,用移液枪在衍生剂液面下缓慢加入 50 μ L 净化提取液(混合标准工作溶液进行同步同体积衍生),加盖小心混匀后于 90 $^{\circ}$ C 衍生 1 h(每 15 min 小心振摇一次)。取出冷却至室温,用氮气吹干,并继续氮吹 0.5 h。加 250 μ L 0.2% 柠檬醛乙酸乙酯溶液(4.11)溶解残渣,混匀后供 GC-MS 分析。

6.5 气相色谱-质谱测定

6.5.1 气相色谱-质谱条件

- 色谱柱:DB-5MS,30 m $\times$ 0.25 mm(内径) $\times$ 0.25 μ m(膜厚),或相当者;
- 升温程序:80 $^{\circ}$ C 保持 1.5 min,以 30 $^{\circ}$ C/min 升至 260 $^{\circ}$ C,保持 1 min,再以 30 $^{\circ}$ C/min 升至 300 $^{\circ}$ C;
- 载气:氮气,纯度 $\geq$ 99.999%,流速 1.0 mL/min;
- 进样口温度:200 $^{\circ}$ C;
- 进样方式:无分流进样,0.75 min 后开阀;
- 进样量:2 μ L;
- 电离方式:EI,70 eV;
- 接口温度:270 $^{\circ}$ C;
- 离子源温度:250 $^{\circ}$ C;
- 溶剂延迟:3.5 min;
- 调谐方式:用 PFTBA 在 350 m/z~650 m/z 范围,对 414 m/z、502 m/z、614 m/z 进行手动调谐,使 1.0 ng/mL 标准溶液的色谱信噪比 $\geq$ 10:1;
- 测定方式:选择离子监测方式(SIM);
- 监测离子:见表 1。

表 1 草甘膦和氨甲基磷酸的监测离子及其丰度比

名称	监测离子(m/z)	监测离子丰度比/%
草甘膦(PMG)	612(定量离子)、611、584、460	100:92:66:34
氨甲基磷酸(AMPA)	446(定量离子)、372、502	100:45:38

6.5.2 气相色谱-质谱测定

根据样液中被测组分含量,选定浓度相近的标准工作溶液,其响应值均应在仪器检测的线性范围内。对标准工作溶液与样液等体积参插进样测定,外标法定量。在上述色谱条件下,草甘膦和氨甲基磷酸标准品对应的衍生物选择离子色谱图参见附录 A 中图 A.1。

定性测定,样液如果检出色谱峰的保留时间与标准溶液相一致,并且被测样品与标准品的质谱图相似,所选择的全部监测离子均出现;而且之间的丰度比也相一致,相似度在 $\pm$ 20%之内时,则可确证此待测物。在上述气相色谱-质谱条件下,氨甲基磷酸的保留时间约为 4.5 min,草甘膦的保留时间约为 5.2 min,质谱图参见附录 B 中图 B.1 至图 B.2。

6.6 空白试验

除不加试样外,其余均按上述测定步骤进行。

GB/T 23750—2009

6.7 结果计算和表述

按式(1)分别计算样品中草甘膦和氨甲基磷酸的残留含量(计算结果需扣除空白值):

$$X_i = \frac{A_i \times c_s}{A_s \times c \times 1\,000} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X_i ——试样中草甘膦或氨甲基磷酸的残留含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

A_i ——样液的选择离子色谱图中草甘膦或氨甲基磷酸的峰面积;

c_s ——标准工作溶液中草甘膦或氨甲基磷酸的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

A_s ——标准工作溶液的选择离子色谱图中草甘膦或氨甲基磷酸的峰面积;

c ——最终样液中所代表样品的量,单位为克每毫升(g/mL)。

最终样液中所代表样品的量按式(2)计算:

$$c = \frac{m \times 4.5 \times V_1 \times V_2}{125 \times 5.0 \times V_3 \times V_4} \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

m ——样品的取样质量,单位为克(g);

V_1 ——提取液中取出进行CAX柱净化的溶液体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——CAX柱净化后取出进行衍生的溶液体积,单位为毫升(mL);

V_3 ——CAX柱净化后的定容体积,单位为毫升(mL);

V_4 ——衍生化后最终的定容体积,单位为毫升(mL)。

测定结果以草甘膦和氨甲基磷酸之和表示,保留两位有效数字。

7 回收率和精密度

7.1 回收率

本方法添加回收率实验数据如下:

——0.05 mg/kg:草甘膦,70.0%~101%;氨甲基磷酸,72.6%~101%;

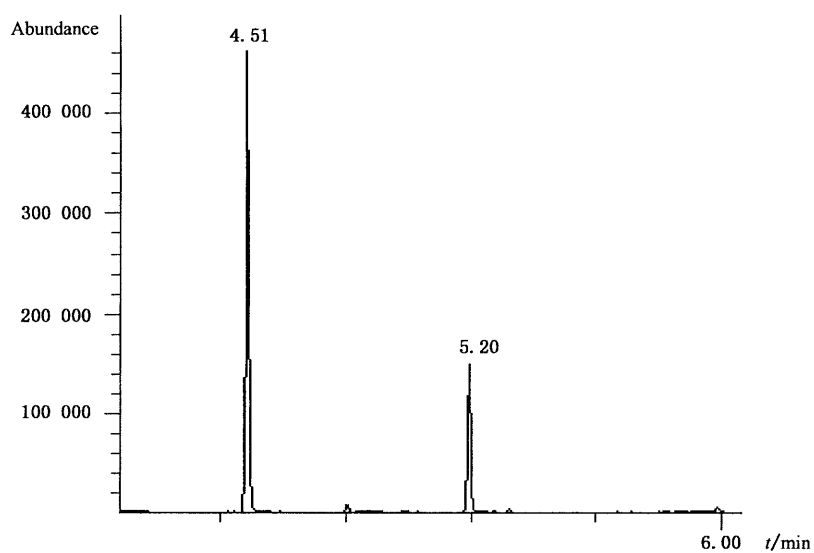
——0.50 mg/kg:草甘膦,74.2%~106%;氨甲基磷酸,74.6%~108%;

——2.0 mg/kg:草甘膦,75.0%~103%;氨甲基磷酸,80.5%~108%。

7.2 精密度

本方法的相对标准偏差≤15%。

附录 A
(资料性附录)
标准品衍生物选择离子色谱图



4.51 min 为氨甲基膦酸;

5.20 min 为草甘膦。

图 A.1 氨甲基膦酸、草甘膦标准品衍生物的选择离子色谱图

附录 B
(资料性附录)
标准品衍生物质谱图

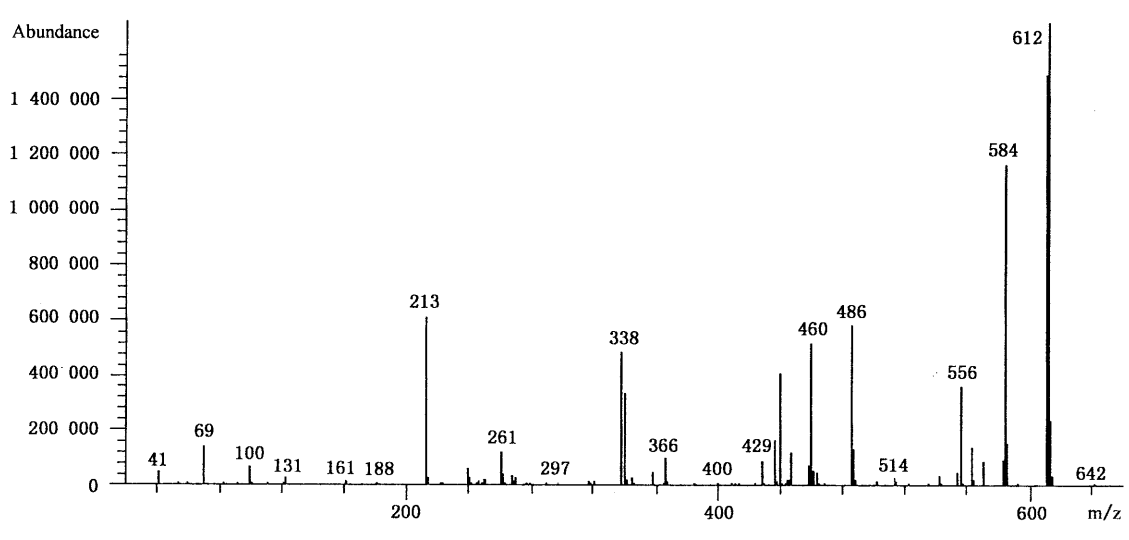


图 B.1 草甘膦标准品衍生物的全扫描质谱图

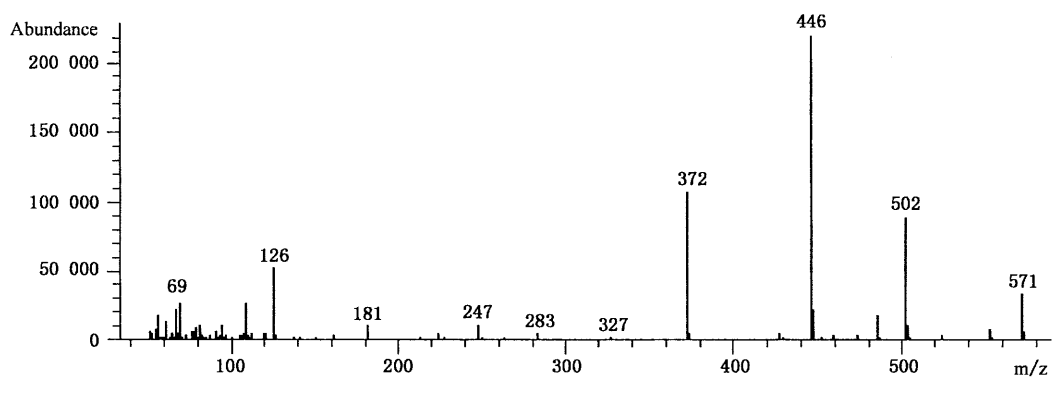


图 B.2 氨基甲基膦酸标准品衍生物的全扫描质谱图