



中华人民共和国国家标准

GB XXXX—XXXX

食品安全国家标准 食品中壬基酚的测定

(征求意见稿)

20XX-XX-XX 发布

20XX-XX-XX 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局 发布

食品安全国家标准

食品中壬基酚的测定

1 范围

本标准规定了食品中 4-壬基酚的液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于饮料类食品、乳及乳制品、谷物及其制品、焙烤食品、水果、蔬菜、食用植物油、肉及肉制品及特殊膳食用食品中 4-壬基酚的测定。

2 原理

试样用乙腈提取，反相 C_{18} 色谱柱分离，液相色谱-串联质谱仪检测，同位素内标法定量。

3 试剂

除非另有说明，本方法所有试剂均为色谱纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

- 3.1.1 甲醇 (CH_3OH)。
- 3.1.2 乙腈 (CH_3CN)。
- 3.1.3 氨水 ($NH_3 \cdot H_2O$)：浓度 25%~28%。

3.2 试剂配制

- 3.2.1 2% 氨水乙腈溶液：量取氨水 10 mL，用乙腈定容至 500 mL。
- 3.2.2 70% 乙腈溶液：量取乙腈 700 mL，用水定容至 1000 mL。
- 3.2.3 50% 乙腈溶液：量取乙腈 500 mL，用水定容至 1000 mL。
- 3.2.4 0.1% 氨水溶液：移取氨水 1 mL，用水定容至 1000 mL。

3.3 标准品

- 3.3.1 4-壬基酚 ($C_{15}H_{24}O$) 标准品
4-壬基酚（支链异构体的混合物， $C_{15}H_{24}O$ ，CAS号：84852-15-3）标准溶液：1000 mg/L。
- 3.3.2 同位素内标 (3,5,3-壬基酚- $^{13}C_6$)
3,5,3-壬基酚- $^{13}C_6$ 标准品，纯度大于99%。

3.4 标准溶液配制

- 3.4.1 4-壬基酚标准储备液 (100 mg/L)：准确移取 4-壬基酚标准溶液 (1000 mg/L) 1.00 mL 于 10 mL 容量瓶中，用甲醇稀释并定容至刻度，混匀，配成浓度为 100 mg/L 标准储备液，-18℃ 保存，保存期 6 个月。
- 3.4.2 同位素内标标准储备液 (200 mg/L)：准确称取 10.0 mg 3,5,3-壬基酚- $^{13}C_6$ 标准品（精确至 0.000 1g），置于 10 mL 小烧杯中，用甲醇溶解，转移至 50 mL 棕色容量瓶中，用甲醇定容至刻度，混匀，配成浓度为 200 mg/L 标准储备液，-18℃ 保存，保存期 6 个月。
- 3.4.3 4-壬基酚标准中间液-1 (1.0 mg/L)：吸取 100 μ L 4-壬基酚标准储备液 (100 mg/L)，置于 10 mL 棕色容量瓶中，用甲醇定容至刻度，配成浓度为 1.0 mg/L 的标准中间液-1，-18℃ 保存，保存期 3 个月。

3.4.4 4-壬基酚标准中间液-2 (0.10 mg/L)：吸取1.0 mL 4-壬基酚标准中间液-1 (1.0 mg/L)，置于10 mL棕色容量瓶中，用甲醇定容至刻度，配成浓度为0.10 mg/L的标准中间液-2，-18℃保存，保存期1个月。

3.4.5 同位素内标中间液-1 (1.0 mg/L)：吸取50 μL同位素内标标准储备液 (200 mg/L)，置于10 mL棕色容量瓶中，用甲醇定容至刻度，配成浓度为1.0 mg/L的同位素内标中间液，-18℃保存，保存期3个月。

3.4.6 同位素内标中间液-2 (0.020 mg/L)：吸取1.0 mL同位素内标中间液-1 (1.0 mg/L)，置于50 mL棕色容量瓶中，用甲醇定容至刻度，配成浓度为0.020 mg/L的同位素内标次级中间液，-18℃保存，保存期1个月。

3.4.7 4-壬基酚标准系列工作液-1：分别吸取4-壬基酚标准中间液-1 (1.0 mg/L) 10.0 μL、20.0 μL、50.0 μL、100 μL、200 μL、1000 μL，以及同位素内标中间液-1 (1.0 mg/L) 50 μL，置于10 mL棕色容量瓶中，用乙腈定容至刻度。4-壬基酚浓度依次为1.00 ng/mL、2.00 ng/mL、5.00 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL、100 ng/mL，标准工作液中同位素内标溶液浓度为5.0 ng/mL。现用现配。

3.4.8 4-壬基酚标准系列工作液-2：分别吸取4-壬基酚标准中间液-2 (0.10 mg/L) 10.0 μL、20.0 μL、50.0 μL、100 μL、200 μL，以及同位素内标中间液-2 (0.020 mg/L) 200 μL，置于10 mL棕色容量瓶中，用水定容至刻度。4-壬基酚浓度依次为0.1 ng/mL、0.2 ng/mL、0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL，标准工作液中同位素内标溶液浓度为0.400 ng/mL。现用现配。

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 分析天平：感量为0.000 1 g和0.01 g。

4.3 涡旋混合器。

4.4 高速冷冻离心机：4℃，转速不低于10 000 r/min。

4.5 匀浆机。

4.6 粉碎机。

4.7 超声波仪。

5 试样制备与保存

5.1 试样制备

5.1.1 液体样品

采样量需要大于0.5 L，对于瓶装、袋装需要至少采集两个包装（同一批次或批号），直接摇匀，取其中100 g (mL) 供检测使用。

5.1.2 固体样品

采样量需大于0.2 kg，块状样品切碎后，用粉碎机将其粉碎，混匀后分装至50 g，储存于样品袋中，密封保存，供检测使用。

5.1.3 半固态样品

采样量需要大于0.2 kg，对于瓶装、袋装需要至少采集两个包装（同一批次或批号），用匀浆机混匀后，储存于样品瓶中，取其中50 g样品供检测使用。

5.2 试样保存

乳粉、米粉、大米、面条、食用植物油可常温保存；肉及肉制品、水果、蔬菜需-18℃保存，包装饮用水、液体乳、果汁、植物蛋白饮料、婴幼儿营养果泥、发酵乳需0~4℃保存。

6 分析步骤

6.1 试样前处理

6.1.1 包装饮用水

准确移取1.0 mL试样，加入20.0 μL同位素内标中间液-2（0.020 mg/L），涡旋震荡10 s，经液相色谱-串联质谱仪测定。

6.1.2 苹果汁、植物蛋白饮料、液体乳、发酵乳等液体样品

称取1 g试样（精确至0.01 g），置于5 mL玻璃刻度管中，加入25 μL同位素内标中间液-1（1.0 mg/L），涡旋10 s后，再加入乙腈3.0 mL（发酵乳、苹果汁等酸性样品加入3.0 mL 2%氨水乙腈溶液），具塞后剧烈震荡5 s，超声提取10 min，冷却至室温后，用乙腈定容至5.0 mL，涡旋混匀，吸取1.0 mL上层溶液转移到离心管中，4℃条件下10000 r/min离心5 min，如果试液还浑浊，可再离心一次，取上清液经液相色谱-串联质谱仪测定。

6.1.3 食用植物油

称取1 g试样（精确至0.01 g），置于10 mL玻璃刻度管中，加入25 μL同位素内标中间液-1（1.0 mg/L），涡旋10 s后，再准确加入乙腈5.0 mL，具塞后用手剧烈震荡1 min左右，静置30 min，待分层后，吸取1.0 mL上层溶液转移到离心管中，4℃条件下10000 r/min离心5 min，如果试液还浑浊，可再离心一次，取上清液经液相色谱-串联质谱仪测定。

6.1.4 面包、饼干、大米、面条等固体样品

称取1 g试样（精确至0.01 g），置于10 mL玻璃刻度管中，加入25 μL同位素内标中间液-1（1.0 mg/L），再准确加入70%乙腈溶液5.0 mL（面包样品加入30 μL同位素内标中间液-1，再准确加入70%乙腈溶液6.0 mL），涡旋30 s后，具塞超声提取30 min，冷却至室温后，吸取1.0 mL上层溶液转移到离心管中，4℃条件下10000 r/min离心5 min，如果试液还浑浊，可再离心一次，取上清液经液相色谱-串联质谱仪测定。

6.1.5 肉及其制品

称取1 g试样（精确至0.01g），置于10 mL玻璃刻度管中，加入25 μL同位素内标中间液-1（1.0 mg/L），再准确加入乙腈5.0 mL，涡旋10 s后，具塞超声提取30 min，冷却至室温后，吸取1.0 mL上层溶液转移到离心管中，4℃条件下10000 r/min离心5 min，如果试液还浑浊，可再离心一次，取上清液经液相色谱-串联质谱仪测定。

6.1.6 果泥、苹果、草莓、胡萝卜、番茄等水果、蔬菜

称取1 g试样（精确至0.01g），置于5 mL玻璃刻度管中，加入25 μL同位素内标中间液-1（1.0 mg/L），再加入乙腈3.5 mL（果泥、苹果等酸性水果样品加入2%氨水乙腈溶液3.5 mL），涡旋10 s后，具塞超声提取30 min，冷却至室温后，用乙腈定容至5.0 mL，涡旋混匀，吸取1.0 mL上层溶液转移到离心管中，4℃条件下10000 r/min离心5 min，如果试液还浑浊，可再离心一次，取上清液经液相色谱-串联质谱仪测定。

6.1.7 乳粉

称取1 g试样（精确至0.01 g），置于10 mL玻璃刻度管中，依次加入30 μL同位素内标中间液-1（1.0 mg/L）和50℃左右热水2.0 mL，涡旋10 s待充分溶解后，再加入乙腈定容至6.0 mL，具塞后剧烈震荡1 min，使蛋白质沉淀，超声提取10 min，冷却至室温后，吸取1.0 mL上层溶液转移到离心管

中，4℃条件下 10000 r/min 离心 5 min，如果试液还浑浊，可再离心一次，取上清液经液相色谱-串联质谱仪测定。

6.1.8 米粉

称取 1 g 试样（精确至 0.01 g），置于 10 mL 玻璃刻度管中，加入 35 μ L 同位素内标中间液-1（1.0 mg/L），再准确加入 50% 乙腈溶液 7.0 mL，涡旋 30 s 后，超声提取 30 min，冷却至室温后，吸取 1.0 mL 上层溶液转移到离心管中，4℃条件下 10000 r/min 离心 5 min，如果试液还浑浊，可再离心一次，取上清液经液相色谱-串联质谱仪测定。

6.2 仪器参考条件

6.2.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱：C₁₈ 色谱柱（4.6 mm×50 mm，1.9 μ m）或性能相当者，配保护预柱（2.1 mm×12.5 mm，5 μ m）；
- 流动相：0.1% 氨水溶液+甲醇=（10+90），V/V；
- 流速：0.35 mL/min；
- 柱温：30℃；
- 进样量：3 μ L（包装饮用水样品，进样量 20 μ L）。

6.2.2 质谱参考条件

- 离子化模式：电喷雾电离负离子模式（ESI）；
 - 质谱扫描方式：多反应监测（MRM）；
 - 分辨率：单位分辨率。
- 其它参考质谱条件见附录A。

6.3 标准曲线的制作

将壬基酚标准系列工作液分别注入液相色谱-串联质谱仪中，测定相应的峰面积，以标准系列工作溶液中 4-壬基酚的浓度为横坐标，以 4-壬基酚与同位素内标峰面积比为纵坐标，绘制标准曲线。

4-壬基酚标准工作液的多反应监测（MRM）图参见附录B。

6.4 试样溶液的测定

6.4.1 定性测定

被测组分选择一个母离子，2 个子离子，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 $\pm 2.5\%$ 之内；且样品中被测组分定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液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，则可判定为样品中存在对应的待测物。

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（%）	> 50	> 20-50	> 10-20	≤ 10
允许的最大偏差（%）	± 20	± 25	± 30	± 50

6.4.2 定量测定

将试样溶液注入液相色谱-串联质谱仪中，得到 4-壬基酚峰面积与对应的同位素内标物峰面积比值，根据标准曲线得到待测液中 4-壬基酚的浓度。

6.5 空白试验

除不称取试样外，均按照上述测定步骤进行。

6.6 质量控制

本标准中使用到的所有有机溶剂和实验器皿，在使用前，应进行空白试验。应确认不含有干扰待测组分的物质。

7 分析结果的表述

试样中4-壬基酚的含量按公式（1）计算：

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

式中：

X —试样中 4-壬基酚的含量，包装饮用水单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ），其他样品单位为微克每千克（ $\mu\text{g/kg}$ ）；

c —试样溶液中 4-壬基酚的浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；

V —试样前处理中定容体积或加入提取溶液的体积，单位为毫升（ mL ）；包装饮用水试样为取样体积，单位为毫升（ mL ）；

m —试样的质量，单位为（ g ）；包装饮用水为试样体积，单位为毫升（ mL ）；

1000—换算系数。

计算结果需扣除空白值，保留三位有效数字。

8 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与其算术平均值的比值（百分率），应符合附录C的要求。

在再现性条件下获得的两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。

9 其他

当试样量为1.0 mL时，包装饮用水的检出限为0.05 $\mu\text{g/L}$ ，定量限为0.1 $\mu\text{g/L}$ ；当试样量为1 g（精确至0.01g）时，其它类食品的检出限均为1 $\mu\text{g/kg}$ ，定量限均为2 $\mu\text{g/kg}$ 。

附录 A

质谱参考条件

A.1 质谱参考条件:

- a) 干燥气温度: 340 °C (氮气);
- b) 干燥气流速: 8 L/min (氮气);
- c) 雾化器压力: 40 psi (氮气);
- d) 毛细管电压: 4000 V;
- e) 定性离子对、定量离子对、碎裂电压及碰撞能量见表 A.1。

表 A.1 主要质谱参数

被测物质名称	母离子	子离子	碎裂电压/V	碰撞能量/eV
4-壬基酚	219.2	133.0*; 147.0	120	30/25
4-壬基酚同位素内标	225.2	139.1	100	30

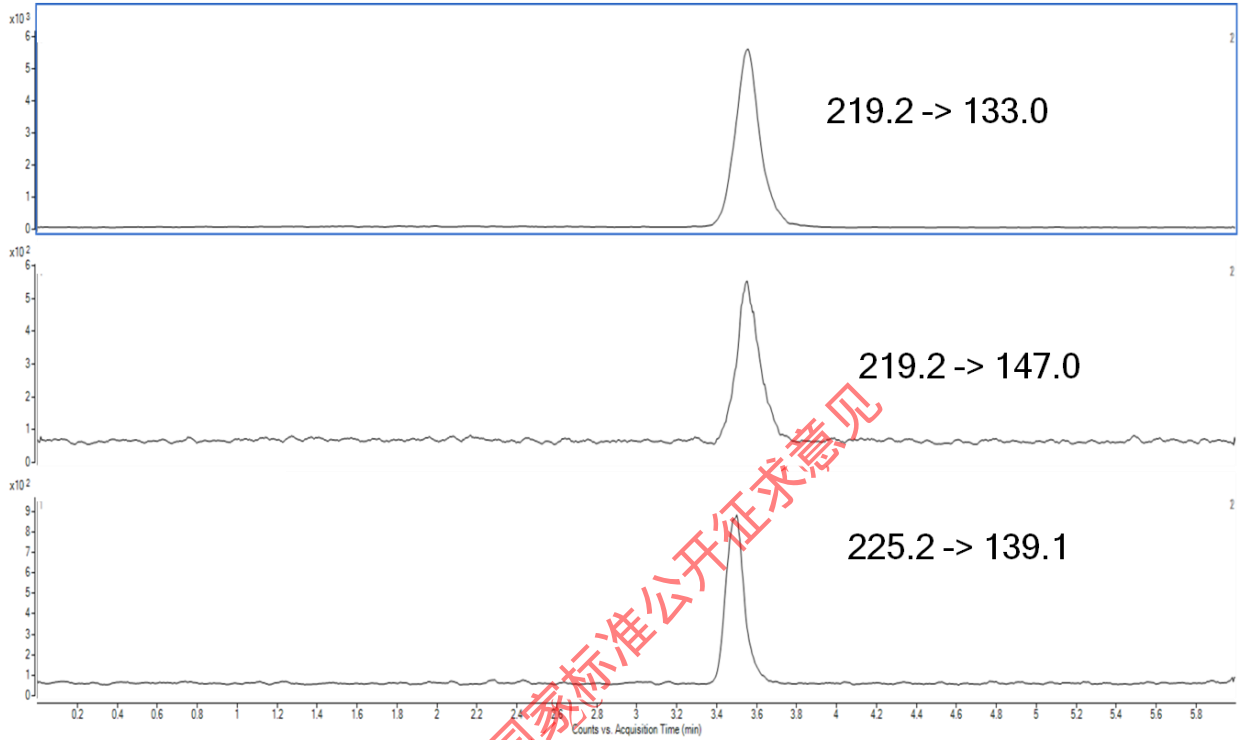
注: *为定量离子; 对于不同质谱仪器, 质谱参数可能存在差异, 测定前应将质谱参数优化到满足方法要求。

公开意见征集
食品安全国家标准
公开征求意见稿
GB 31606-2016

附录 B

4-壬基酚标准品及其内标的多反应监测 (MRM) 图

4-壬基酚标准品 (10 µg/L) 及其内标的多反应监测 (MRM) 图见图B.1。



图B.1 4-壬基酚标准品 (10 µg/L) 及其内标的多反应监测 (MRM) 图

公开意见 食品安全国家标准公开征求意见

附录 C

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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	变异系数 (%)
$>0.1\sim\leq 1$	25
$>1\sim\leq 10$	20
$>10\sim\leq 100$	15
$>100\sim\leq 1000$	10
>1000	8

食品安全国家标准公开征求意见稿
GB 20062-2006

附录 D

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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	变异系数 (%)
$>0.1\sim\leq 1$	30
$>1\sim\leq 10$	25
$>10\sim\leq 100$	18
$>100\sim\leq 1000$	15
>1000	10

食品安全国家标准公开征求意见稿
GB 2762-2017 附录 D.1