

T/GXAS

团 体 标 准

T/GXAS 667—2023

沃柑中噻唑锌、亚胺唑、毒菌酚、氟吡菌酰胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of zinc
thiazole, fluopyram, imibenconazole, hexachlorophene residues in orah —
Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method

2023 - 12 - 29 发布

2024 - 01 - 04 实施

广西标准化协会 发 布

前 言

本文件参照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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广西分析测试协会提出、归口并宣贯。

本文件起草单位：广西博测检测技术服务有限公司、广西壮族自治区产品质量检验研究院、广西益谱检测技术有限公司、广西绿保环境监测有限公司、农业农村部亚热带果品蔬菜质量检验检测中心、广西壮族自治区分析测试研究中心、百色市检验检测中心、广西众晟生物科技有限公司、广西东盟食品检验检测中心、广西壮族自治区林业科学研究院、南宁市武鸣区经济作物技术服务中心、横州市综合检验检测中心、广西工商学校、柳州市农业技术推广中心、大新县农业农村局、钦北区市场监督管理局。

本文件主要起草人：何京明、覃当麟、苏丽梅、陈海燕、朱玉连、刘守廷、李治尧、黄秋琳、韦东、陈侶桦、黄云海、周华俏、韦子安、罗春桂、潘慧霞、杨旭萍、白韦英、李扬华、李冬桂、张志、黄海霞、潘泳花、黄巍、陆益、石梁稳、曾永明、罗维齐、李翔、赵艺锋、雷德东、梁力丹、唐标、班燕宁、韦彬彬、韦玉妮。

沃柑中噻唑锌、亚胺唑、毒菌酚、氟吡菌酰胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定沃柑中噻唑锌、亚胺唑、毒菌酚、氟吡菌酰胺残留量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于沃柑中噻唑锌、亚胺唑、毒菌酚、氟吡菌酰胺残留量的测定。

本文件噻唑锌、亚胺唑、毒菌酚、氟吡菌酰胺的检出限分别为0.006 mg/kg、0.002 mg/kg、0.001 mg/kg和0.001 mg/kg；定量限分别为0.02 mg/kg、0.006 mg/kg、0.003 mg/kg和0.003 mg/kg。

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 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

样品在 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液中恒温振荡，其中噻唑锌衍生化成2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑，样品中残留物在微酸性条件下，用0.5%甲酸乙腈溶液进行液液分配提取，经分散固相萃取净化，液相色谱-串联质谱法检测，外标法定量。

5 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂为分析纯以上试剂，水为GB/T 6682中规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 乙腈（ CH_3CN ，CAS号：75-05-8）：色谱纯。

5.1.2 甲醇（ CH_3OH ，CAS号：67-56-1）：色谱纯。

5.1.3 甲酸（ HCOOH ，CAS号：64-18-6）：色谱纯。

5.1.4 盐酸（ HCl ，CAS号：7647-01-0）：浓度36%~38%。

5.1.5 五水硫代硫酸钠（ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ，CAS号：10102-17-7）。

5.1.6 乙酸铵（ $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{NH}_4$ ，CAS号：631-61-8）。

5.1.7 氯化钠（ NaCl ，CAS号：7647-14-5）。

5.2 溶液配制

5.2.1 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液（1.0 mol/L）：称取24.818 g五水硫代硫酸钠（5.1.5），用水溶解，定容至100 mL，现用现配。

5.2.2 盐酸溶液（1 mol/L）：量取82 mL盐酸（5.1.4），用水定容至1000 mL，摇匀。

5.2.3 甲酸乙腈溶液（0.5%）：移取5 mL甲酸（5.1.3），用乙腈（5.1.1）稀释至1000 mL，摇匀备用。

5.2.4 酸性乙腈水溶液（1+2，V/V，含0.17%甲酸）：量取50 mL乙腈（5.1.1），加入100 mL水和0.25 mL甲酸（5.1.3），摇匀备用。

5.2.5 甲酸溶液(0.1%)：移取1 mL甲酸(5.1.3)，用水稀释至1000 mL，过0.22 μm微孔过滤膜，现用现配。

5.2.6 乙酸铵溶液(5 mmol/L)：称取0.3854 g乙酸铵(5.1.6)溶于100 mL水，用水定容至1000 mL，摇匀，过0.22 μm微孔过滤膜，现用现配。

5.3 标准品

5.3.1 2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑标准品(AMT, C₂H₃N₃S₂, CAS 号：2349-67-9)：纯度≥98%，或有标准物质证书的2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑标准溶液。

5.3.2 氟吡菌酰胺标准品(C₁₆H₁₁ClF₆N₂O, CAS 号：658066-35-4)：纯度≥99%，或有标准物质证书的氟吡菌酰胺标准溶液。

5.3.3 亚胺唑标准品(C₁₇H₁₃Cl₃N₄S, CAS 号：86598-92-7)：纯度≥99%，或有标准物质证书的亚胺唑标准溶液。

5.3.4 毒菌酚标准品(C₁₃H₆Cl₆O₂, CAS 号：70-30-4)：纯度≥99%，或有标准物质证书的毒菌酚标准溶液。

5.4 标准溶液配制

5.4.1 2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑标准储备溶液(1 000 mg/L)

准确称取10 mg(精确至0.1 mg)2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑标准品(5.3.1)于10 mL容量瓶中，用甲醇(5.1.2)溶解，并定容至10 mL。避光于-18℃及以下条件保存，有效期6个月。

5.4.2 氟吡菌酰胺标准储备溶液(1 000 mg/L)

准确称取10 mg(精确至0.1 mg)氟吡菌酰胺标准品(5.3.2)于10 mL容量瓶中，用乙腈(5.1.1)溶解，并定容至10 mL。避光于-18℃及以下条件保存，有效期6个月。

5.4.3 亚胺唑标准储备溶液(1 000 mg/L)

准确称取10 mg(精确至0.1 mg)亚胺唑标准品(5.3.3)于10 mL容量瓶中，用甲醇(5.1.2)溶解，并定容至10 mL。避光于-18℃及以下条件保存，有效期6个月。

5.4.4 毒菌酚标准储备溶液(1 000 mg/L)

准确称取10 mg(精确至0.1 mg)毒菌酚标准品(5.3.4)于10 mL容量瓶中，用甲醇(5.1.2)溶解，并定容至10 mL。避光于-18℃及以下条件保存，有效期6个月。

5.4.5 混合标准储备溶液(100 mg/L)

移取1.0 mL的标准储备溶液(5.4.1~5.4.4)于10 mL容量瓶中，用乙腈(5.1.1)定容至10 mL，避光于-18℃及以下条件保存，有效期2个月。

5.4.6 混合标准溶液(10 mg/L)

移取1.0 mL混合标准储备溶液(5.4.5)于10 mL容量瓶中，用乙腈(5.1.1)定容至10 mL，避光于-18℃及以下条件保存，有效期1个月。

5.5 材料

5.5.1 十八烷基硅烷键合硅胶(C18)：粒径40 μm~60 μm。

5.5.2 carbon S 吸附剂：粒径40 μm~120 μm。

5.5.3 微孔滤膜(水相)：0.22 μm或相当者。

5.5.4 微孔滤膜(有机相)：0.22 μm或相当者。

6 仪器设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源(ESI)。

6.2 分析天平：感量0.01 mg和感量0.01 g。

- 6.3 组织捣碎仪。
- 6.4 涡旋振荡仪。
- 6.5 离心机：转速不低于 4 500 r/min，配聚丙烯离心管。
- 6.6 氮吹仪。
- 6.7 pH 计。
- 6.8 超声清洗仪。
- 6.9 恒温振荡仪。

7 样品制备

沃柑样品取样部位按照GB 2763的规定执行。随机取样2 kg，每个果实（去柄）十字对称切开为4片，取对角2片放入组织捣碎机中捣碎成匀浆，分取400 g~500 g放入带盖的无色聚乙烯容器内，贴好标签。若不能立即检验，在-18 ℃及以下条件储存。

8 试验步骤

8.1 提取

称取10 g（精确至0.01 g）样品于50 mL具塞离心管中，加入3 mL $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液（5.2.1）混匀，在37 ℃恒温下以180 rpm的速率振荡30 min，加入0.4 mL盐酸溶液（5.2.2）调节pH值约为3，准确加入甲酸乙腈溶液（5.2.3）20.0 mL，超声提取5 min，涡旋提取10 min，加入5 g氯化钠后涡旋2 min，在4 500 r/min下离心5 min，备用。

8.2 净化

移取上清液（8.1）5.0 mL于内含125 mg C18（5.5.1）、12.5 mg carbon S（5.5.2）的15 mL离心管中，涡旋振荡2 min，于4 500 r/min离心5 min得到净化液。准确移取3.0 mL净化液于15 mL离心管中，40 ℃水浴氮吹至约0.1 mL，冷却至室温，用酸性乙腈水溶液（5.2.4）定容至1.0 mL，涡旋振荡1 min，过0.22 μm 滤膜后备用。

8.3 测定

8.3.1 液相色谱条件

液相色谱参考条件如下：

- 色谱柱：C18-AQ 2.1 mm×100 mm 粒径 1.9 μm ，或相当者；
- 流动相：正模式扫描流动相：A相为0.1%甲酸溶液（5.2.5），B相为甲醇（5.1.2）；负模式扫描流动相：A相为5 mmol/L 乙酸铵溶液（5.2.6），B相为乙腈。流动相梯度条件见表1、表2；
- 流速：0.3 mL/min；
- 柱温：40 ℃；
- 进样量：3 μL 。

表1 正模式扫描流动相及其梯度条件

时间	流动相A(%)	流动相B(%)
0.00	80	20
2.00	80	20
3.00	30	70
4.00	2	98
5.01	2	98
5.10	80	20
9.00	80	20

表2 负模式扫描流动相及其梯度条件

时间	流动相A(%)	流动相B(%)
0.00	60	40
2.00	30	70
4.00	5	95
7.00	5	95
7.10	60	40
9.00	60	40

8.3.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下:

- 离子源类型: 电喷雾离子源;
- 扫描方式: 正离子和负离子分开扫描;
- 电喷雾电压: 正离子 4 000 V, 负离子-3 500 V;
- 离子源温度: 300 ℃;
- 雾化气压力: 0.242 MPa;
- 辅助加热气: 0.242 MPa;
- 检测方式: 多反应监测, 2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑、氟吡菌酰胺、亚胺唑、毒菌酚残留物的保留时间、母离子、子离子及质谱参数, 参见表3。

表3 2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑、氟吡菌酰胺、亚胺唑、毒菌酚残留物的保留时间、母离子、子离子及质谱参数

序号	中文名	英文名	电离方式	保留时间 (min)	去簇电 压 (V)	离子对 I (定 量) (m/z)	碰撞 能(V)	离子对 II (定 性) (m/z)	碰撞 能(V)
1	2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑	2-amino-5-sulfanyl-1,3,4-thiadiazole	正	1.636	135	134.2/43.3	38	134.2/75.3	38
2	氟吡菌酰胺	Fluopyram	正	5.02	100	397.3/173.2	32	397.3/208.2	19
3	亚胺唑	Imibenconazole	正	5.484	120	413.2/125.1	37	413.2/127.3	37
4	毒菌酚	Hexachlorophe	负	3.921	-100	405.1/197	-40	405.1/195	-35

8.3.3 标准工作曲线

空白样品按照8.1、8.2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(5.4.6), 逐级用空白基质溶液稀释成质量浓度为0.002mg/L、0.005mg/L、0.010mg/L、0.020mg/L、0.050mg/L、0.100 mg/L、0.200 mg/L、0.500 mg/L的基质匹配标准工作溶液, 或逐级用空白基质溶液稀释成质量浓度与样液中浓度相近的标准品系列工作溶液, 根据仪器性能和检测需要选择不少于5个浓度点。以定量用子离子的质量色谱图面积为纵坐标、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。

8.3.4 定性

被测样品中目标物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较, 相对误差应在±2.5%之内。且检测到的离子相对丰度, 应当与浓度相当的校正标准溶液相对丰度一致, 其允许偏差不超过表4规定的范围, 则可判断样品中存在目标物。2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑、氟吡菌酰胺、亚胺唑、毒菌酚标准溶液LC-MS/MS多反应监测质量色谱图参见附录A。

表4 定性时离子丰度比的最大允许偏差

单位为百分比				
离子丰度比	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许相对偏差	±20	±25	±30	±50

8.3.5 定量

将基质匹配标准工作溶液和样品溶液经由液相色谱-串联质谱仪测定，根据保留时间、离子丰度比进行定性；测得定量离子离子的质量色谱图峰面积与标准图峰面积比较进行定量。同时进行空白试验。

9 试验数据处理

9.1 样品中各残留量以质量分数 W 计，按公式(1)计算。

$$W = \frac{(\rho - \rho_0) \times V_3 \times V_1}{m \times V_2} \times \frac{1000}{1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- W ——样品中各被测物残留量的数值，单位为毫克每千克 (mg/kg)；
 ρ ——从基质匹配标准工作曲线中得到的样品溶液中被测物的质量浓度的数值，单位为毫克每升 (mg/L)；
 ρ_0 ——从基质匹配标准工作曲线中得到的空白试验样品溶液中被测物的质量浓度的数值，单位为毫克每升 (mg/L)；
 V_3 ——样液最终定容体积，单位为毫升 (mL)；
 V_1 ——样品提取液总体积，单位为毫升 (mL)；
 m ——样品质量的数值，单位为克 (g)；
 V_2 ——氮吹时移取净化液的体积，单位为毫升 (mL)。

9.2 样品中噻唑锌残留量以质量分数 $W_{\text{噻唑锌}}$ 计，按公式(2)计算。

$$W_{\text{噻唑锌}} = \frac{\omega_{\text{AMTD}} \times 329.8}{133.2 \times 2} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

- $W_{\text{噻唑锌}}$ ——样品中噻唑锌残留量的数值，单位为毫克每千克 (mg/kg)；
 ω_{AMTD} ——样品中2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑残留量的数值，单位为毫克每千克 (mg/kg)；
329.8 ——噻唑锌的摩尔质量，单位为克每摩尔 (g/mol)；
133.2 ——2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑的摩尔质量，单位为克每摩尔 (g/mol)；
2 ——噻唑锌转化成2-氨基-5-巯基-1,3,4-噻二唑的系数。
计算结果 $< 1 \text{ mg/kg}$ 保留2位有效数字，当结果 $\geq 1 \text{ mg/kg}$ 保留3位有效数字。

10 精密度

10.1 在重复性条件下获得的两次独立测定结果的相对标准偏差，应符合表5的要求。

10.2 在再现性条件下获得的两次独立测定结果的相对标准偏差，应符合表5的要求。

表5 目标分析物质量分数范围内的重复性、再现性相对标准偏差的要求

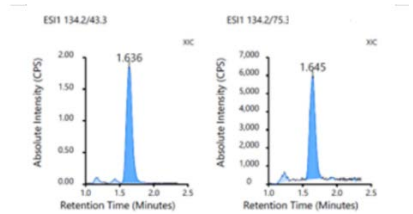
质量分数 (ρ)	重复性相对标准偏差	再现性相对标准偏差
$\rho \leq 0.001 \text{ mg/kg}$	$\leq 30\%$	$\leq 40\%$
$0.001 \text{ mg/kg} < \rho \leq 0.01 \text{ mg/kg}$	$\leq 20\%$	$\leq 30\%$
$0.01 \text{ mg/kg} < \rho \leq 0.1 \text{ mg/kg}$	$\leq 15\%$	$\leq 20\%$
$0.1 \text{ mg/kg} < \rho \leq 10\,000 \text{ mg/kg}$	$\leq 10\%$	$\leq 15\%$

附 录 A

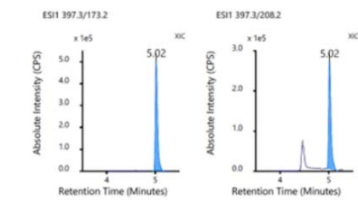
(规范性)

2-氨基-5-巯基-1, 3, 4-噻二唑、氟吡菌酰胺、亚胺唑、毒菌酚标准溶液多反应监测（MRM）质量色谱图

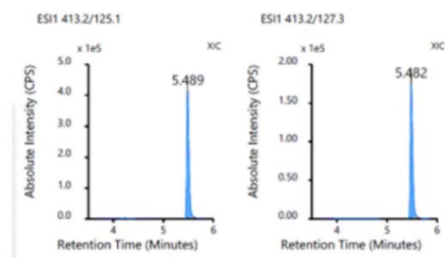
2-氨基-5-巯基-1, 3, 4-噻二唑、氟吡菌酰胺、亚胺唑、毒菌酚标准溶液多反应监测（MRM）质量色谱图见图A. 1～图A. 4。



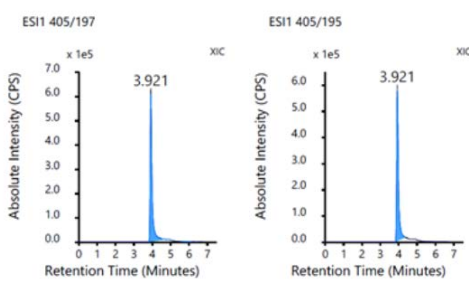
图A. 1 2-氨基-5-巯基-1, 3, 4-噻二唑标准溶液多反应监测（MRM）质量色谱图



图A. 2 氟吡菌酰胺标准溶液多反应监测（MRM）质量色谱图



图A. 3 亚胺唑标准溶液多反应监测（MRM）质量色谱图



图A. 4 毒菌酚标准溶液多反应监测（MRM）质量色谱图

中华人民共和国团体标准
沃柑中噻唑锌、亚胺唑、毒菌酚、氟吡菌酰胺
残留量的测定 液相色谱-串联质谱法
T/GXAS 667—2023

广西标准化协会统一印制

版权专有 侵权必究