

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 5442—2022

出口植物源食品中丙硫菌唑及其代谢物 残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

Determination of prothioconazole and its metabolite residues
in foodstuffs of plant origin for export—
LC-MS/MS method

2022-03-14 发布

2022-10-01 实施

中华人民共和国海关总署 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》、GB/T 20001.4—2015《标准编写规则 第4部分：试验方法标准》和 SN/T 0001—2016《出口食品、化妆品理化测定方法标准编写的基本规定》的规定起草。

请注意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这些专利的责任。

本文件由中华人民共和国海关总署提出并归口。

本文件起草单位：中华人民共和国合肥海关技术中心、中华人民共和国银川海关技术中心、中华人民共和国杭州海关技术中心、中国民航大学。

本文件主要起草人：宋伟、韩芳、王芳焕、陈达、楼成杰、吕亚宁、刘宇欣、周典兵、丁磊、许曼曼、王钰、贾学颖、侯建波、郑平。

以正式出版文本为准

出口植物源食品中丙硫菌唑及其代谢物 残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本文件规定了出口植物源食品中丙硫菌唑及其代谢物脱硫丙硫菌唑残留量的液相色谱-质谱/质谱检测方法。

本文件适用于小麦、大麦、燕麦、黑麦、玉米、赤豆、油菜籽、大豆、花生仁、葵花籽、甜菜、生菜、番茄、黄瓜、马铃薯、梨、葡萄、草莓等植物源食品中丙硫菌唑及其代谢物脱硫丙硫菌唑残留量的定性鉴别及定量测定。

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 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 方法原理

样品中丙硫菌唑及其代谢物脱硫丙硫菌唑残留采用含 0.1% 甲酸的乙腈溶液提取，基质分散固相萃取净化后，采用液相色谱-质谱/质谱测定，外标法定量。

5 试剂和材料

除非另有说明，所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 乙腈：色谱纯。

5.2 乙酸：色谱纯。

5.3 甲酸：色谱纯。

5.4 乙酸铵：色谱纯。

5.5 正己烷：色谱纯。

5.6 抗坏血酸。

5.7 氯化钠。

5.8 无水硫酸镁：经 650 °C 灼烧 4 h，储于干燥器中，冷却后备用。

5.9 1% 甲酸乙腈溶液：取 1.0 mL 甲酸(5.3)至 100 mL 容量瓶中，并用乙腈(5.1)定容至刻度，充分混

匀,备用。

5.10 1.5%抗坏血酸溶液:取15g抗坏血酸(5.6),用水稀释并定容至1000mL。

5.11 20%乙腈溶液:取20mL乙腈(5.1),用水稀释并定容至100mL。

5.12 丙硫菌唑标准物质(prothioconazole): $C_{14}H_{15}Cl_2N_3OS$,CAS号178928-70-6;脱硫丙硫菌唑标准物质(prothioconazole-desthio): $C_{14}H_{15}Cl_2N_3O$,CASNO.120983-64-4。纯度均大于等于98%。

5.13 标准储备溶液的配制:准确称取适量丙硫菌唑、脱硫丙硫菌唑标准品(精确至0.1mg),分别用乙腈溶解,配制成浓度为1.0mg/mL标准储备溶液,0℃~4℃下避光保存,可使用6个月。

5.14 中间混合标准溶液:分别吸取1.00mL丙硫菌唑标准储备液及1.00mL脱硫丙硫菌唑标准储备液(5.13),移入100mL棕色容量瓶,用乙腈定容,该溶液浓度为10μg/mL。0℃~4℃冷藏避光保存,可使用3个月。

5.15 标准工作溶液:根据需要,吸取适量标准中间溶液(5.14),配制成1.25μg/L、2.5μg/L、5μg/L、25μg/L、50μg/L的混合标准溶液,使用前配制。

5.16 十八烷基键合硅胶(C_{18}),50μm。

5.17 N-丙基乙二胺(PSA),40μm~60μm。

5.18 滤膜:0.22μm,有机系。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-质谱/质谱仪:配电喷雾离子源(ESI)。

6.2 分析天平:感量为0.01g和0.0001g。

6.3 粉碎机。

6.4 组织捣碎机。

6.6 样品筛:孔径为2mm。

6.6 均质器:15000r/min。

6.7 涡旋振荡器。

6.8 高速冷冻离心机:转速不低于10000r/min。

7 分析步骤

7.1 样品制备与保存

7.1.1 小麦、大麦、燕麦、黑麦、玉米、赤豆、油菜籽、大豆、花生仁、葵花籽

取出有代表性样品500g,用粉碎机全部粉碎后充分混匀,均匀分成2份作为试样,分装入洁净的容器内,密封并做好标记,于-18℃以下温度避光保存。

7.1.2 甜菜、生菜、番茄、黄瓜、葡萄、草莓、梨、马铃薯

按GB2763的规定取样执行。对于个体较小的样品,取样后全部处理;对于个体较大的基本均匀样品,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,均匀分成2份作为试样,装入洁净容器内,密封并做好标记,于-18℃以下温度保存。

7.2 提取

7.2.1 小麦、大麦、燕麦、黑麦、大豆、玉米、赤豆、马铃薯

称取约 5 g 试样(精确至 0.01 g),置于 50 mL 具塞棕色离心管中,快速加入 10 mL 抗坏血酸溶液(5.10),涡旋 1 min 使试样完全润湿,然后加入 10 mL 1% 甲酸乙腈溶液(5.9),涡旋振荡后超声提取 10 min;向离心管中加入 5 g 氯化钠(5.7),涡旋振荡 1 min;8 000 r/min 4℃离心 5 min,取 1.0 mL 上层清液待净化。

7.2.2 甜菜、生菜、番茄、黄瓜、葡萄、梨、草莓

称取约 5 g 试样(精确至 0.01 g),置于 50 mL 具塞棕色离心管中,快速加入 10 mL 抗坏血酸溶液(5.10),涡旋 1 min;加入 10 mL 1% 甲酸乙腈溶液(5.9)涡旋振荡提取 2 min,之后向离心管中加入 5 g 氯化钠(5.7),涡旋振荡 1 min;8 000 r/min 4℃离心 5 min,取 1.0 mL 上层清液待净化。

7.2.3 油菜籽、花生仁、葵花籽

称取约 5 g 试样(精确至 0.01 g),置于 50 mL 具塞棕色离心管中,快速加入 10 mL 抗坏血酸溶液(5.10),涡旋 1 min 使试样完全润湿,然后加入 10 mL 1% 甲酸乙腈溶液(5.9),涡旋振荡后超声提取 10 min;向离心管中加入 5 g 氯化钠(5.7),涡旋振荡 1 min;8 000 r/min 4℃离心 5 min,取 2.0 mL 上层清液,之后加入乙腈饱和的正己烷溶液除油数次,取 1.0 mL 下层乙腈溶液待净化。

7.3 净化

7.3.1 小麦、大麦、燕麦、黑麦、玉米、赤豆、大豆、甜菜、生菜、番茄、黄瓜、葡萄、草莓、马铃薯、梨

将 1.0 mL 上清液放入装有 50 mg C_{18} (5.16)、50 mg PSA(5.17)和 150 mg 无水硫酸镁(5.8)的 2 mL 离心管中,涡旋 30 s,10 000 r/min 4℃离心 5 min;取 0.5 mL 上清液,加入 0.5 mL 20% 乙腈溶液(5.11)稀释后过有机系滤膜至棕色样品瓶,供 HPLC-MS/MS 检测。

7.3.2 油菜籽、花生仁、葵花籽

将 1.0 mL 上清液放入装有 150 mg C_{18} (5.16)、50 mg PSA(5.17)和 150 mg 无水硫酸镁(5.8)的 2 mL 离心管中;涡旋 30 s,10 000 r/min 4℃离心 5 min;取 0.5 mL 上清液,加入 0.5 mL 20% 乙腈溶液(5.11)稀释后过有机系滤膜(如有浑浊,可 10 000 r/min 4℃离心 5 min,再取上清液过有机系滤膜)至棕色样品瓶,供 HPLC-MS/MS 检测。

7.4 测定

7.4.1 液相色谱参考条件

7.4.1.1 液相色谱柱: C_{18} 色谱柱,50 mm×2.0 mm(内径),1.8 μ m,或性能相当者。

7.4.1.2 流动相:A 为纯水,B 为乙腈。

7.4.1.3 柱温:35℃±1℃。

7.4.1.4 进样量:10.0 μ L。

7.4.1.5 流速:0.4 mL/min。

7.4.1.6 流动相及梯度洗脱条件:见表 1。

表 1 流动相及梯度洗脱条件($V_A + V_B$)

时间/min	流动相 V_A /%	流动相 V_B /%
0.00	80	20
0.50	80	20
2.00	40	60
4.00	40	60
4.50	10	90
6.50	10	90
7.00	80	20
11.00	80	20

7.4.2 质谱参考条件

7.4.2.1 离子源:电喷雾离子源(ESI)。

7.4.2.2 扫描方式:正负切换模式。

7.4.2.3 检测方式:多反应监测模式(MRM)。

7.4.2.4 雾化气、干燥气、鞘气、碰撞气均为高纯氮气及其他合适气体;使用前应调节各气体流量以使质谱灵敏度达到检测要求。喷雾电压、碎裂电压、碰撞能等电压值应优化至最佳灵敏度,参考质谱参数参见附录 A。

7.4.3 定性测定

按照液相色谱-质谱/质谱条件测定样品和标准工作溶液,如果检测的质量色谱峰保留时间与标准品保留时间相差不超过 $\pm 2.5\%$,定性离子对的相对丰度(是用相对于最强离子丰度的强度百分比表示)与浓度相当的标准工作溶液的相对丰度一致,相对丰度允许偏差不超过表 2 规定的范围,则可判断样品中存在对应的被测物。

表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对丰度/%	>50	>20~50	>10~20	≤ 10
允许的相对偏差/%	± 20	± 25	± 30	± 50

7.4.4 定量测定

在相同实验条件下,将系列标准工作溶液(5.15)按浓度由低到高进样检测,以定量离子峰面积-浓度作图,得到标准曲线。待测样液中丙硫菌唑及其代谢物的响应值应在标准曲线线性范围内,超过线性范围则应稀释至相应范围内再进样分析。采用外标法定量。在上述色谱条件下,丙硫菌唑及其代谢物脱硫丙硫菌唑的多反应监测(MRM)色谱图参见附录 B,出峰时间分别为 2.9 min 和 3.2 min。

7.4.5 空白试验

除不加试样外,按上述测定步骤进行。

7.4.6 结果计算与表述

试样中待测物的含量由色谱数据处理软件或按式(1)计算获得,计算结果需扣除空白值。

$$X = \frac{c \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X —— 试样中被测物残留量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c —— 从标准工作曲线得到的被测组分溶液浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V —— 样液最终定容体积,单位为毫升(mL);

m —— 样液相当的试样质量,单位为克(g)。

8 定量限与回收率

8.1 定量限(LOQ)

本方法丙硫菌唑、脱硫丙硫菌唑的定量限均为 0.005 mg/kg。

8.2 回收率

在三个添加浓度范围内,小麦、大麦、燕麦、黑麦、玉米、赤豆、油菜籽、大豆、花生仁、葵花籽、甜菜、生菜、番茄、黄瓜、马铃薯、梨、葡萄、草莓中丙硫菌唑及其代谢物不同添加水平的平均回收率数据参见附录 C。

以正式出版文本为准

附录 A

(资料性)

液相色谱-质谱/质谱仪器参数参考条件¹⁾

液相色谱-质谱/质谱仪器参数参考条件

- a) 干燥气温度:320 ℃。
- b) 干燥气流量:6 L/min。
- c) 雾化气压力:275.8 kpa。
- d) 鞘气温度:320 ℃。
- e) 鞘气流量:12 L/min。
- f) 毛细管电压:3 000 V(Pos),3 500 V(Neg)。
- g) 喷嘴电压:500 V。
- h) 定量离子对、定性离子对的碎裂电压(FP)、碰撞气能量(CE)见表 A.1。

表 A.1 丙硫菌唑及脱硫丙硫菌唑的定量离子对、定性离子对、FP、CE

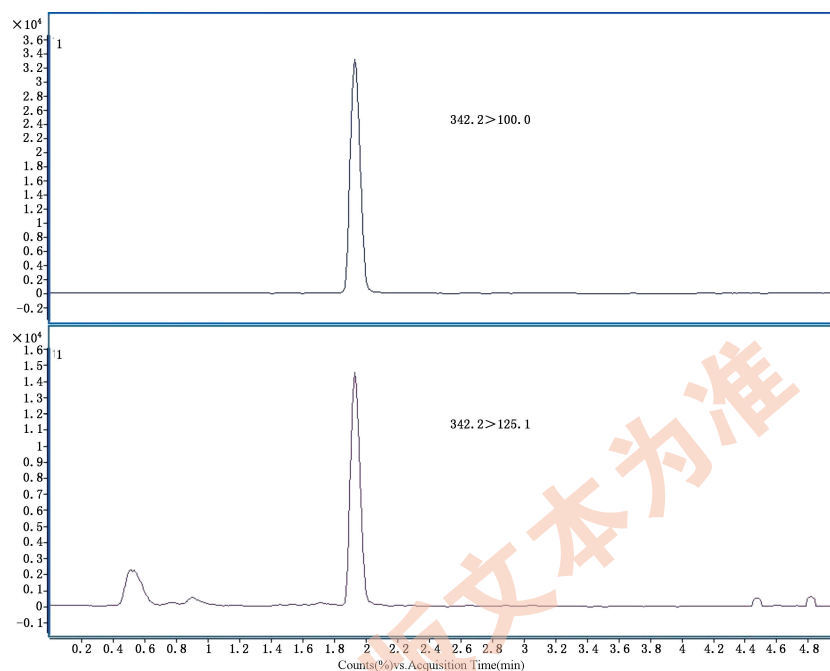
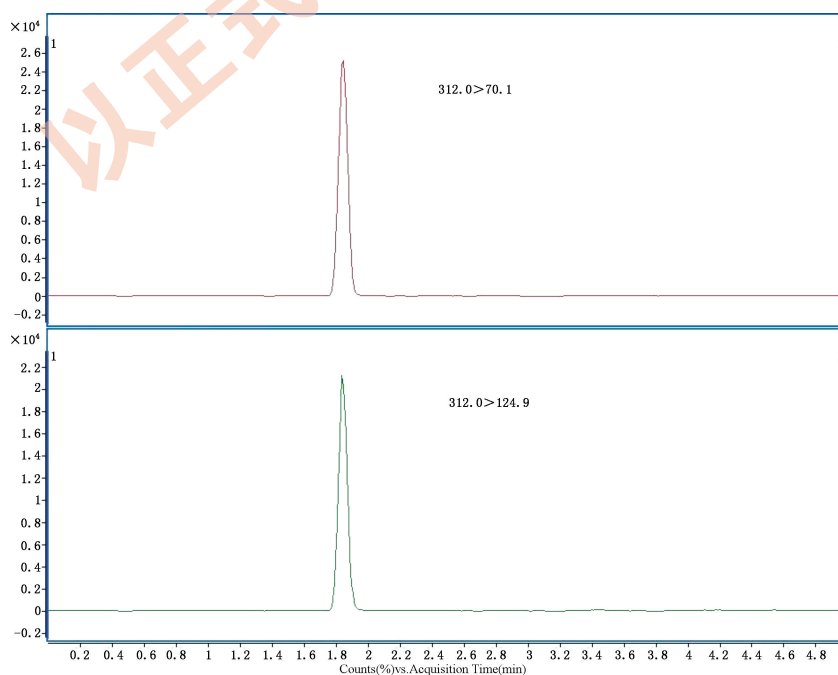
电离模式	化合物名称	定性离子对	定量离子对	碎裂电压/V	碰撞能量/V
ESI ⁻	丙硫菌唑	342.2/100.0	342.2/100.0	110	12
		342.2/125.1			16
ESI ⁺	脱硫丙硫菌唑	312.0/70.1	312.0/70.1	98	20
		312.0/124.9			40

1) 非商业性声明:表 A.1 所列参数是在 Agilent 6460A LC-MS/MS 质谱仪上完成的,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)

丙硫菌唑及脱硫丙硫菌唑标准品多反应监测(MRM)色谱图

图 B.1 丙硫菌唑标准物质多反应监测(MRM)色谱图(10.0 $\mu\text{g/L}$)图 B.2 脱硫丙硫菌唑标准物质多反应监测(MRM)色谱图(10.0 $\mu\text{g/L}$)

附 录 C

(资料性)

不同基质中丙硫菌唑及脱硫丙硫菌唑添加水平及回收率数据

表 C.1 样品的添加浓度及回收率的实验数据($n=6$)

样品名称	丙硫菌唑		脱硫丙硫菌唑	
	添加浓度 /(mg/kg)	回收率范围 /%	添加浓度 /(mg/kg)	回收率范围 /%
小麦	0.005	73.4~86.8	0.005	72.4~89.4
	0.100	80.3~93.3	0.100	82.8~97.4
	0.400	80.4~96.3	0.400	88.8~100.0
大麦	0.005	70.4~92.4	0.005	76.8~95.2
	0.200	81.4~94.4	0.200	84.1~97.7
	0.400	82.9~93.4	0.400	81.6~95.2
燕麦	0.005	71.4~90.2	0.005	73.2~88.0
	0.050	81.4~97.9	0.050	79.9~92.9
	0.100	81.2~93.9	0.100	81.7~92.6
黑麦	0.005	70.2~86.8	0.005	72.0~89.0
	0.050	80.9~95.8	0.050	80.9~94.8
	0.100	82.0~94.6	0.100	85.1~93.4
玉米	0.005	69.4~92.8	0.005	77.6~93.0
	0.100	82.8~96.0	0.100	82.1~93.5
	0.400	89.8~99.9	0.400	89.0~100.5
赤豆	0.005	71.0~91.4	0.005	77.8~96.0
	0.400	88.0~99.2	0.400	85.2~99.0
	1.000	89.4~98.8	1.000	87.6~93.8
油菜籽	0.005	64.8~84.2	0.005	66.4~86.8
	0.100	80.6~91.5	0.100	80.9~93.4
	0.200	80.1~93.6	0.200	80.9~94.5
大豆	0.005	73.2~90.2	0.005	75.0~89.2
	0.050	80.9~92.4	0.050	84.5~91.8
	1.000	92.8~98.1	1.000	92.4~97.8
花生仁	0.005	60.2~77.6	0.005	64.4~84.2
	0.020	65.6~82.0	0.020	68.4~84.0
	0.200	81.6~92.8	0.200	80.0~90.0

表 C.1 样品的添加浓度及回收率的实验数据($n=6$)

样品名称	丙硫菌唑		脱硫丙硫菌唑	
	添加浓度 /(mg/kg)	回收率范围 /%	添加浓度 /(mg/kg)	回收率范围 /%
葵花籽	0.005	65.6~85.6	0.005	61.8~80.8
	0.050	70.1~84.4	0.050	75.6~86.3
	0.200	80.8~93.9	0.200	82.3~92.7
甜菜	0.005	78.6~94.2	0.005	81.0~95.6
	0.100	80.7~96.7	0.100	80.9~94.7
	0.300	81.8~94.1	0.300	81.7~93.9
生菜	0.005	77.4~90.6	0.005	72.4~90.6
	0.010	76.2~89.5	0.010	81.0~95.2
	0.200	85.4~94.2	0.200	86.2~96.0
番茄	0.005	75.8~92.8	0.005	79.6~97.0
	0.010	79.7~94.1	0.010	79.9~94.5
	0.200	84.0~91.5	0.200	84.2~94.4
黄瓜	0.005	79.6~93.0	0.005	79.8~98.4
	0.200	81.6~95.5	0.200	80.3~96.6
	0.300	83.6~93.2	0.300	84.3~95.0
马铃薯	0.005	66.4~85.4	0.005	80.0~93.2
	0.020	80.4~92.4	0.020	80.8~95.8
	0.040	82.1~92.6	0.040	84.7~101.4
梨	0.005	61.2~82.6	0.005	79.6~98.2
	0.010	76.3~85.4	0.010	78.0~88.2
	0.200	80.2~87.2	0.200	83.8~95.5
葡萄	0.005	76.0~94.0	0.005	80.4~93.4
	0.010	78.7~91.9	0.010	75.9~90.2
	0.200	80.4~95.1	0.200	83.1~96.7
草莓	0.005	80.8~93.0	0.005	81.6~93.8
	0.010	78.3~91.0	0.010	79.3~91.9
	0.200	82.2~92.0	0.200	83.0~95.8
	2.000	88.5~95.0	2.000	90.6~96.6

以正式出版文本为准

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
出口植物源食品中丙硫菌唑及其代谢物
残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法
SN/T 5442—2022

*

中国海关出版社有限公司出版发行
北京市朝阳区东四环南路甲1号(100023)
编辑部:(010)65194242-7530
网址 www.customskb.com/book
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 23 千字
2022年9月第一版 2022年9月第一次印刷
印数 1—500

*

书号: 155175·836 定价 18.00 元



SN/T 5442-2022