



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 5448—2022

出口植物源性食品中三氯甲基吡啶及其 代谢物的测定 气相色谱-质谱/质谱法

Determination of nitrapyrin pesticide and metabolites residues in foods of plant
origin for export Gas chromatography-tandem mass spectrometry 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》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：中华人民共和国广州海关。

本文件主要起草人：韩世鹤、陈捷、杨洋、孙灵慧、李立、庄嘉、何曼莉。

以正式出版文本为准

出口植物源性食品中三氯甲基吡啶及其代谢物的测定 气相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本文件规定了出口植物源性食品中三氯甲基吡啶及其代谢物 6-氯吡啶-2-羧酸的气相色谱-质谱/质谱测定方法。

本文件适用于小麦、高粱、大米、玉米、生菜、柑橘、甜玉米、开心果仁和爆谷中三氯甲基吡啶及其代谢物 6-氯吡啶-2-羧酸的定性定量测定。

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/T 6682 分析实验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

试样中的残留物采用酸性乙腈提取,QuEChERS 方法净化后经甲酯化衍生,气相色谱-质谱/质谱仪测定,基质匹配内标法定量。

5 试剂和材料

所有试剂除特殊注明外,均为分析纯,水为 GB/T 6682—2008 规定的一级水。

- 5.1 乙腈:色谱纯。
- 5.2 乙酸乙酯:色谱纯。
- 5.3 甲醇:色谱纯。
- 5.4 海砂:颗粒度 0.5 mm~1 mm。
- 5.5 氯化钠。
- 5.6 无水硫酸镁。
- 5.7 无水硫酸钠:经 650 °C 烧灼 4 h,在干燥器内冷却至室温后储于密封容器中备用。
- 5.8 浓硫酸。
- 5.9 甲酸。
- 5.10 饱和氯化钠溶液:称取 36 g 氯化钠,溶于 100 mL 水中。
- 5.11 2%硫酸钠溶液:称取 2 g 硫酸钠,溶于 100 mL 水中。

5.12 标准物质:

5.12.1 三氯甲基吡啶(Nitrapyrin), CAS号 1929-82-4, 分子式: $C_6H_3Cl_4N$, 纯度大于或等于 99%, 6-氯吡啶-2-羧酸(6-Chloro-2-pyridinecarboxylic Acid), CAS号 4684-94-0, 分子式: $C_6H_4ClNO_2$, 纯度大于或等于 99%。

5.12.2 内标物: 2-吡啶甲酸甲酯(Methyl picolinate), CAS号 2459-07-6, 分子式: $C_7H_7NO_2$, 纯度大于或等于 98%。

5.13 空白基质溶液: 用不含三氯甲基吡啶和 6-氯吡啶-2-羧酸残留的样品, 除不加内标外, 按照 8.1、8.2 和 8.3 中规定进行操作制备空白基质溶液。

5.14 标准溶液

5.14.1 标准储备液(1 000 mg/L): 分别准确称取 10 mg(精确到 0.1 mg)三氯甲基吡啶和 6-氯吡啶-2-羧酸标准物质, 用甲醇溶解并定容至 10 mL, 避光-18℃冰箱内保存。

5.14.2 中间标准储备液(40 mg/L): 分别准确吸取适量标准储备液, 用甲醇稀释配制成 40 mg/L 的中间标准储备液, 避光-18℃冰箱内保存。

5.14.3 衍生混合标准使用液(20 mg/L): 分别准确移取 0.50 mL 三氯甲基吡啶和 6-氯吡啶-2-羧酸(5.14.2)于具塞比色管中, 除不加内标外, 按照 8.3 步骤衍生, 用空白基质液(5.13)定容至 1.0 mL, 此衍生混合标准浓度为 20 mg/L, 现用现配。

5.15 内标溶液(10 mg/L): 准确称取 10 mg(精确至 0.1 mg)2-吡啶甲酸甲酯, 用乙酸乙酯溶解并至 10 mL, 混匀为内标储备液。内标储备溶液用乙酸乙酯稀释至 10 mg/L 为内标溶液。

5.16 材料

5.16.1 乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶(PSA): $40\mu m \sim 60\mu m$ 。

5.16.2 十八烷基硅烷键合硅胶(C18): $40\mu m \sim 60\mu m$ 。

5.16.3 石墨化炭黑(GCB): $40\mu m \sim 120\mu m$ 。

5.16.4 微孔滤膜: $13\text{ mm} \times 0.22\mu m$, 有机相。

6 仪器和设备

6.1 气相色谱-三重四极杆质谱联用仪: 配有电子轰击源(EI)。

6.2 分析天平: 感量分别为 0.000 1 g 和 0.01 g。

6.3 离心机: 转速不低于 4 500 r/min。

6.4 组织捣碎机。

6.5 水平振荡器: 振荡频次不低于 400 r/min。

6.6 旋涡混匀器。

6.7 加热水浴摇床。

6.8 氮吹仪: 可控温。

7 试样制备与保存

7.1 试样的制备

7.1.1 生菜、柑橘、甜玉米(鲜食玉米)、爆谷(爆米花)、开心果仁

取代表性样品约 500 g, 放入组织捣碎机中捣碎, 装入聚乙烯瓶或袋中, 密封并标明标记。

7.1.2 小麦、高粱、大米、玉米(干)

取代表性样品约 500 g, 粉碎后使其全部可通过 $425\mu m$ 的标准网筛, 放入聚乙烯瓶或袋中, 密封并

标明标记。

7.2 试样的保存

将试样按照测试和备用分别存放。于-18℃条件下保存。在抽样及制样的操作过程中,应防止样品受到污染或发生残留物含量的变化。

8 测定步骤

8.1 提取

8.1.1 生菜、柑橘、甜玉米(鲜食玉米)

称取样品10g(精确至0.01g)至50mL离心管中,加入10mL乙腈、0.1mL甲酸,涡旋1min,于振荡器(振荡频次约300r/min)震摇提取15min,加入3g氯化钠,再震摇5min后,4500r/min离心5min,取上清液4mL,待净化。

8.1.2 小麦、高粱、大米、玉米(干)、爆谷(爆米花)、开心果仁

称取样品5g(精确至0.01g)至50mL离心管中,加入15g海砂、5mL水涡旋混匀,静置30min,加入10mL乙腈、0.1mL甲酸,涡旋1min,于振荡器震摇提取15min,加入3g氯化钠后再震摇5min后,4500r/min离心5min,取上清液4mL,待净化。

8.2 净化

将4mL待净化样液加入到内含50mg PSA,100mg C18,100mg GCB,MgSO₄ 200mg的10mL塑料离心管中,涡旋混匀1min,4500r/min离心5min,准确吸取2mL净化液于10mL试管中,于40℃水浴中氮气吹干后迅速加入1mL甲醇震荡溶解残渣,待衍生。

8.3 衍生

将1mL待衍生液(8.2)置于冰水浴中,缓慢加入200μL浓硫酸,55℃下衍生30min,衍生溶液在50℃水浴吹氮至近干,加5mL饱和氯化钠溶液(5.10)振荡溶解,转移至50mL离心管中;衍生试管再用5mL乙酸乙酯进行洗涤后倒入同一离心管中振荡提取3min,于4500r/min离心5min,取上清液置于干净的50mL另一离心管中,用乙酸乙酯再重复提取两次,每次加乙酸乙酯3mL,合并提取液后用2mL2%硫酸钠溶液洗涤,静置分层。取乙酸乙酯层过装有无水硫酸钠的漏斗,收集全部滤液。在40±2℃下氮吹浓缩至约1mL,转移至2mL刻度试管,加入40μL内标溶液(5.15)(相当于2-吡啶甲酸甲酯400ng),用乙酸乙酯溶解并定容至2mL,过0.2μm微孔滤膜,待GC-MS/MS分析。

8.4 测定

8.4.1 仪器参考条件

8.4.1.1 色谱柱:35%-苯基-聚硅氧烷石英毛细管柱;30m×0.25mm×0.25μm,或相当者。

8.4.1.2 升温程序:70℃保持1.5min,然后以20℃/min程序升温至180℃,再以5℃/min升温至210℃,再以25℃/min升温至280℃,保持5min。

8.4.1.3 载气:氮气,纯度≥99.999%,流速1.2mL/min。

8.4.1.4 进样口温度:250℃。

8.4.1.5 进样量:1μL。

8.4.1.6 进样方式:不分流进样,2 min 后开阀。

8.4.1.7 电子轰击源:70 eV。

8.4.1.8 离子源温度:230 ℃。

8.4.1.9 传输线温度:280 ℃。

8.4.1.10 溶剂延迟:3 min。

8.4.1.11 多反应监测:保留时间、定量离子对、定性离子对和碰撞能量,参见附录 A。

8.4.2 标准工作曲线

精确吸取一定量的衍生混合标准溶液(5.14.3)及内标溶液(5.15),用过滤后的空白基质溶液(5.13)稀释配制成终浓度为 0.0 mg/L、0.025 mg/L、0.050 mg/L、0.10 mg/L、0.20 mg/L 和 0.40 mg/L 的标准工作溶液,标准工作液中内标浓度为 0.20 mg/L,供气相色谱-质谱联用仪测定。以农药定量离子峰面积和内标物定量离子峰面积的比值为纵坐标,农药标准溶液质量浓度和内标物浓度的比值为横坐标,绘制标准曲线。

8.4.3 气相色谱-质谱/质谱测定

8.4.3.1 定性测定

按照上述条件测定样品和基质混合标准工作溶液,如果待测物质的色谱峰保留时间与基质标准工作液的保留时间偏差在 $\pm 0.5\%$ 之内;定性离子对的相对丰度与浓度相近的基质标准工作液的相对丰度一致,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
允许相对偏差/%	± 20	± 25	± 30	± 50

8.4.3.2 定量测定

本方法中采用内标校准曲线法定量测定。为减少基质对定量测定的影响,定量用标准曲线应采用基质标准工作溶液绘制的标准曲线,并且保证所测样品中待测物的响应值均在线性范围以内。在上述色谱条件下三氯甲基吡啶、6-氯吡啶-2-羧酸的参考保留时间分别约为 7.32 min、7.97 min。基质标准溶液的多反应监测(MRM)色谱图参见图 B.1。

8.5 空白试验

除不称取试样外,均按上述步骤进行。

9 结果计算与表述

用气相色谱数据处理软件或按照式(1)计算试样中三氯甲基吡啶或 6-氯吡啶-2-羧酸的含量:

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

式中:

X —— 试样中待测化合物的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

A —— 样液中待测化合物峰面积与内标的峰面积比值;

c_i ——空白基质加标标准溶液中待测化合物的浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——样液最终定容体积,单位为毫升(mL);

A_s ——空白基质加标标准溶液中待测化合物峰面积与内标的峰面积;

m ——最终样液所代表试样量,单位为克(g)。

注 1: 计算结果应扣除空白值,计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,保留两位有效数字,含量超 1 mg/kg 时保留三位有效数字。

注 2: 不同国家对残留限量定义不同,可根据需求将三氯甲基吡啶及其代谢物 6-氯吡啶-2-羧酸进行加和,或折算。

10 定量限、回收率

10.1 定量限

本方法定量限:生菜和柑橘为 0.01 mg/kg,开心果仁为 0.02 mg/kg,甜玉米为 0.025 mg/kg,小麦、高粱、大米、玉米和爆谷均为 0.05 mg/kg。

10.2 回收率

三氯甲基吡啶和 6-氯吡啶-2-羧酸在不同基质、不同添加水平的回收率范围见表 2。

表 2 生菜、柑橘、甜玉米、小麦、高粱、大米、玉米、开心果仁和爆谷的添加回收率范围(n=6)

样品名称	添加水平/(mg/kg)	回收率范围(%)	
		三氯甲基吡啶	6-氯吡啶-2-羧酸
生菜	0.010	80.0~89.0	82.3~93.2
	0.020	88.5~90.8	86.5~96.1
	0.100	90.4~94.6	88.1~94.1
柑橘	0.010	85.4~98.9	93.5~109
	0.020	91.9~99.8	98.2~108
	0.060	94.3~102	92.7~105
甜玉米	0.025	81.3~94.5	87.5~96.7
	0.050	81.1~85.0	89.1~101
	0.200	90.5~99.6	85.6~92.2
小麦	0.050	86.8~98.1	87.7~97.6
	0.100	88.1~102	84.4~95.3
	0.500	88.2~97.7	84.5~91.5
高粱	0.050	81.1~97.9	86.5~97.2
	0.100	82.4~84.5	90.7~100
	0.200	81.8~90.6	97.0~100
玉米	0.050	84.1~101	93.7~98.7
	0.100	81.6~98.0	90.6~99.2
	0.200	87.5~94.3	84.7~94.9

表 2 生菜、柑橘、甜玉米、小麦、高粱、大米、玉米、开心果仁和爆谷的添加回收率范围(n=6) (续)

样品名称	添加水平/(mg/kg)	回收率范围(%)	
		三氯甲基吡啶	6-氯吡啶-2-羧酸
大米	0.050	86.2~92.3	89.8~93.5
	0.100	84.3~91.1	83.6~91.9
	0.200	87.3~91.9	84.7~87.9
爆谷	0.050	81.0~94.2	91.0~100
	0.100	81.6~98.0	90.7~102
	0.200	88.1~94.4	88.0~99.6
开心果仁	0.020	94.3~104	90.7~95.5
	0.040	101~113	82.5~96.4
	0.200	90.1~101	97.8~102

附 录 A
(资料性)
参考质谱条件

表 A.1 保留时间及多反应监测离子和碰撞能量

序号	化合物	保留时间/min	定量离子对	碰撞能量/V	定性离子对	碰撞能量/V
1	6-氯吡啶-2-羧酸甲酯	7.32	113/78	16	112/76	10
					141/113	4
2	三氯甲基吡啶	7.97	193.9/133	16	195.9/135	16
					195.9/195.9	5
3	2-吡啶甲酸甲酯	6.13	107.1/79	4	79.1/52	16
					78.1/51	10

附 录 B
(资料性)

三氯甲基吡啶及 6-氯-2-吡啶羧酸甲酯标准品多反应监测(MRM)色谱图

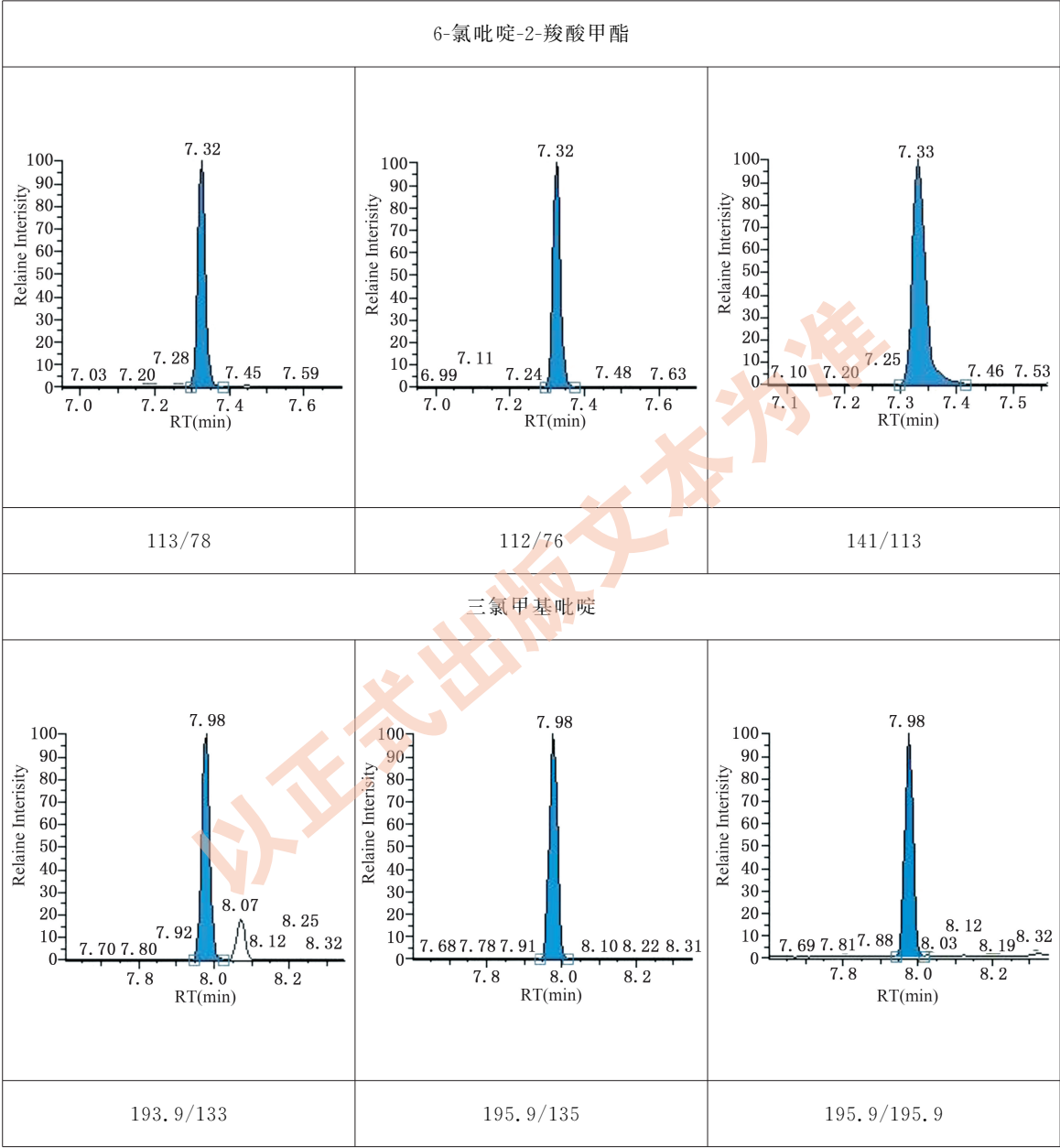


图 B.1 三氯甲基吡啶及衍生物 6-氯吡啶-2-羧酸甲酯标准物质
多反应监测(MRM)色谱图(0.05 mg/L)

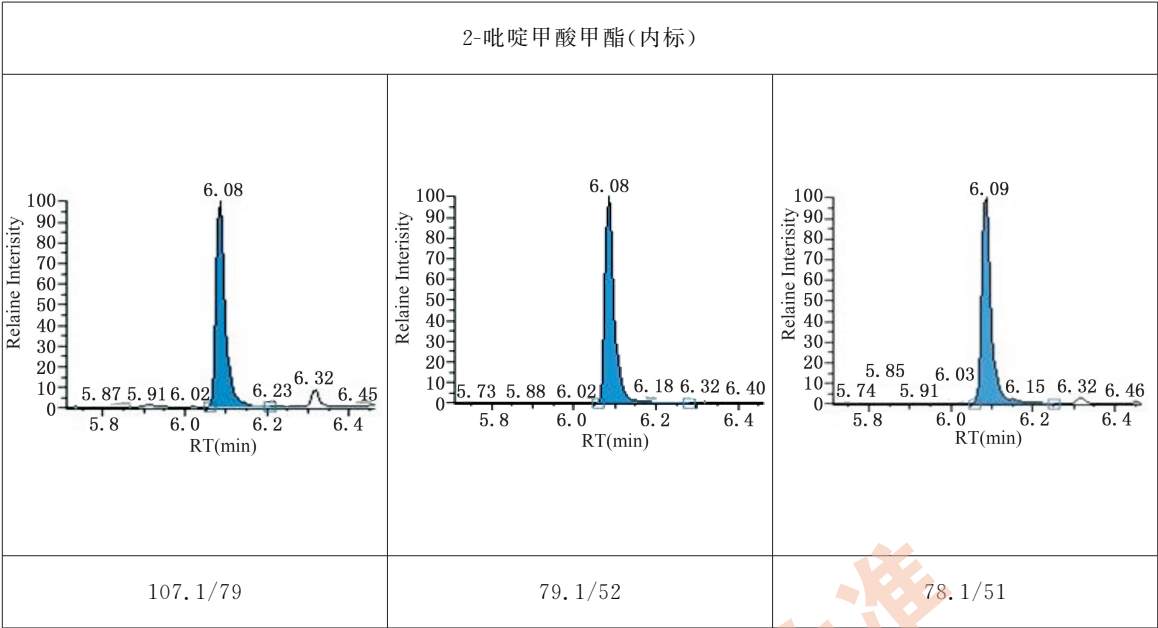


图 B.1 三氯甲基吡啶及衍生物 6-氯吡啶-2-羧酸甲酯标准物质
多反应监测(MRM)色谱图(0.05 mg/L)(续)

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
出口植物源性食品中三氯甲基吡啶及其
代谢物的测定 气相色谱-质谱/质谱法
SN/T 5448—2022

*

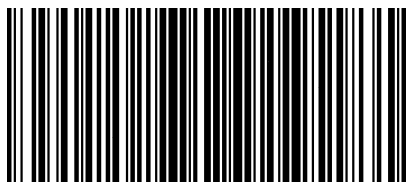
中国海关出版社有限公司出版发行
北京市朝阳区东四环南路甲1号(100023)
编辑部:(010)65194242-7530
网址 www.customskb.com/book
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

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: 155175·841 定价 18.00 元



SN/T 5448-2022