DB43

湖南省市场监督管理局 发布

2023-××-××实施

2023-××-××发布

茶叶中百菌清和克菌丹残留量的测定 气相色谱-质谱/质谱法

Determination of chlorothalonil and captan residues in tea—gas chromatography-mass spectroscopy

（征求意见稿）

DB43/T ××××—202x

湖南省地方标准

ICS

1. 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构与起草规则》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。

本文件由湖南省农业厅提出。

本文件由湖南省农业标准化技术委员会归口。

本文件主要起草单位：长沙海关技术中心。

本文件主要起草人：焦艳娜、刘仲华、付善良、陆静、吴景、陈诚、周利、罗宗秀、刘蕙萍、刘宏伟

**茶叶中百菌清和克菌丹残留量的测定 气相色谱-质谱/质谱法**

1 范围

本标准规定了茶叶中百菌清和克菌丹残留量的气相色谱-质谱/质谱检测方法。

本标准适用于茶叶中百菌清和克菌丹残留量的测定。

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 分析实验室用水规格和试验方法

3 方法原理

试样经酸化后，用丙酮-正己烷混合溶剂涡旋提取，固相萃取柱净化后，注入气相色谱-质谱/质谱联用仪测定，外标法定量。

4 试剂

除另有规定外，所有实验用试剂均为分析纯，实验用水符合 GB/T 6682 中一级水的要求。

4.1 丙酮：色谱纯。

4.2 正己烷：色谱纯。

4.3 磷酸。

4.4 无水硫酸钠：于550 ℃马弗炉内烘4 h，取出置于干燥器内，冷却后装瓶备用。

4.5 甲苯：色谱纯。

4.6 正己烷-甲苯溶液（3+1，体积比）：量取600 mL正己烷和200 mL甲苯至1000 mL试剂瓶中，混匀。

4.7 标准物质：百菌清（Chlorothalonil，CAS号：1897-45-6，分子式：C8Cl4N2），纯度≥95.0%。克菌丹（Captan，CAS号：133-06-2，分子式：C9H8Cl3NO2S），纯度≥99.0%。

4.8 标准储备溶液（1 mg/mL）：分别准确称取适量百菌清和克菌丹标准品，用丙酮配制成浓度约为1 mg/mL的标准储备溶液，于0℃～4℃冰箱中避光保存。

4.9 混合标准中间溶液（10.0 μg/mL）：各移取上述的标准储备液适量至100 mL容量瓶中，用丙酮稀释至刻度，配制成浓度各为10.0 μg/mL的混合标准中间溶液，0℃～4℃冰箱中避光保存。

4.10 混合标准工作溶液：根据需要将混合标准中间溶液用正己烷稀释成适当浓度的标准工作液，现用现配。

4.11 活性碳小柱：ENVI Carb：3 mL，250 mg，或相当者。

5 仪器与设备

5.1 气相色谱-三重四极杆串联质谱仪：配有电子轰击离子源（EI）。

5.2 分析天平：感量0.1 mg和0.01 g。

5.2 涡旋混匀器。

5.3 氮吹仪。

5.4 离心机：转速不低于3 000 r/min。

5.5 固相萃取装置。

6 试样的制备与保存

6.1 试样的制备

茶叶样品经粉碎机粉碎，过筛（孔径为2.0 mm），混匀，密封，作为试样，标明标记。

6.2 试样的保存

试样于常温下保存。

7 测定步骤

7.1 提取

称取0.5 g试样（精确至0.01 g）于15 mL离心试管中，加入1.5 mL水，0.1 mL磷酸，涡旋混匀30 s，放置20 min。加入1 mL丙酮，2 mL正己烷，涡旋混匀3 min。将离心试管在3 000 r/min下离心2 min。上清液转移至另一15 mL离心试管中。样品再每次加入2 mL正己烷重复提取2次。合并上清液，40 ℃下氮吹浓缩至近干。用2 mL正己烷-甲苯溶液（4.6）溶解残渣。

7.2 净化

在活性碳小柱（4.11）上加约0.5 cm高无水硫酸钠。用6 mL正己烷-甲苯溶液（4.6）活化，弃去流出液。将上述溶解液转移至小柱中，收集流出液。用2 mL正己烷-甲苯溶液（4.6）分3次洗涤样液管内壁，将洗涤液并入小柱。再用6 mL正己烷-甲苯溶液（4.6）洗脱（在整个活化、上样和洗脱过程中应避免SPE柱干涸）。合并流出液，40 ℃下氮吹浓缩至近干。定量加入1 mL正己烷，涡旋混匀，供气相色谱-三重四极杆串联质谱检测。

7.3 测定

7.3.1 仪器参考条件

a）色谱柱：DB-35石英毛细管柱，30 m×0.25 mm（内径）×0.25 μm（膜厚）；或相当者；

b）色谱柱温度：60 ℃保持1 min，以35 ℃/min程序升温至300 ℃,保持5 min；

c）载气：氦气，纯度≥99.999 %，流速2.0 mL/min；

d）进样口温度：230 ℃；

e）进样量：1.0 μL；

f）进样方式：脉冲不分流，脉冲压力50 psi，时间1.5 min；

g）传输线温度：280 ℃；

h）电子轰击源：70 eV；

i）离子源温度：230℃；

j）监测方式：多反应离子监测（MRM），MRM条件见表1。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 化合物名称 | 保留时间  （min） | 定量离子对  （碰撞能，eV） | 定性离子对1  （碰撞能，eV） | 定性离子对2  （碰撞能，eV） |
| 百菌清 | 7.25 | 266/133（40） | 266/168（25） | 266/231（20） |
| 克菌丹 | 8.09 | 149/70（25） | 119/84（28） | 117/82（20） |

7.3.2 标准工作曲线

精确吸取一定量的混合标准溶液，用正己烷逐级稀释成质量浓度分别为0.025 μg/mL，0.050 μg/mL，0.10 μg/mL，0.20 μg/mL，0.50 μg/mL和1.0 μg/mL的标准工作溶液，供气相色谱-三重四极杆串联质谱测定。以农药的定量离子峰面积为纵坐标，农药标准溶液质量浓度为横坐标，绘制标准曲线。

7.3.3 定性与定量

7.3.3.1 保留时间

在相同实验条件下，试样中待测物质的保留时间与标准工作溶液中对应的保留时间偏差应在±2.5 %之内。

7.3.3.2 定量离子、定性离子及相对丰度比

在相同实验条件下进行样品测定时，如果检出的色谱峰的保留时间与标准品相一致，并且在扣除背景后的样品质谱图中，目标化合物的监测离子对均出现，而且同一检测批次，对同一化合物，样品中目标化合物的定性离子和定量离子的相对丰度比与质量浓度相当的标准溶液相比，其允许偏差不超过表2规定的范围，则可判断样品中存在目标农药。百菌清和克菌丹混合标准溶液的MRM色谱图参见附录A中图A.1。

表2 相对离子丰度的最大允许偏差

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 相对离子丰度 | >50 % | 20 %～50 %（包含） | 10 %～20 %（包含） | ≤10 % |
| 允许相对偏差 | ±20 % | ±25 % | ±30 % | ±50 % |

7.3.3.3 定量

外标法定量。

7.4 试样溶液的测定

将混合标准工作溶液和试样溶液依次注入气相色谱-质谱联用仪中，保留时间和定性离子定性，测得定量离子峰面积。待测样液中农药的响应值应在仪器检测的定量测定线性范围之内，超过线性范围时应根据测定浓度进行适当倍数稀释后再进行分析。

7.5 空白试验

除不加试样外，均按上述操作步骤进行。

8 结果计算和表述

用色谱数据处理机或按式（１）计算样品中农药残留量。计算结果需扣除空白值。

…………………………（1）

式中：

*X*—样品中待测组分残留量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

*A*—样液中农药残留的峰面积；

*c*—标准工作溶液中农药残留的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

*V*—样液最终定容体积，单位为毫升（mL）；

*As*—标准工作溶液中农药残留的峰面积；

*m*—最终样液所代表的试样量，单位为克（g）。

9 定量限与回收率

9.1 定量限

本方法对百菌清和克菌丹的定量限均为0.05mg/kg。

9.2 回收率

不同茶叶中添加不同浓度水平百菌清和克菌丹的回收率范围参见附录B中表B.1。

**附 录 A**

**（资料性附录）**

**标准溶液的气相色谱-质谱/质谱多反应监测色谱图**

百菌清、克菌丹混合标准溶液多反应监测色谱图见图A.1。



图A.1 百菌清、克菌丹混合标准溶液多反应监测色谱图（0.025 μg/mL）

**附 录B**

**（资料性附录）**

**不同茶叶中百菌清、克菌丹的添加浓度和回收率**

不同茶叶中百菌清和克菌丹的添加浓度及回收率见表B.1。

表 B.1 不同茶叶中百菌清和克菌丹的添加浓度及回收率

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 茶叶名称 | 百菌清 | | 克菌丹 | |
| 添加浓度（mg/kg） | 回收率（%） | 添加浓度（mg/kg） | 回收率（%） |
| 绿茶 | 0.05 | 94.0～103.6 | 0.05 | 80.8～101.6 |
| 0.1 | 87.2～102.4 | 0.1 | 72.6～82.8 |
| 1 | 85.8～89.6 | 1 | 82.4～89.4 |
| 10 | 95.8～102.9 | 10 | 86.2～95.8 |
| 红茶 | 0.05 | 82.4～108.8 | 0.05 | 70.8～101.6 |
| 0.1 | 96.4～108.2 | 0.1 | 79.8～94.0 |
| 1 | 87.2～97.5 | 1 | 90.3～99.1 |
| 10 | 93.7～105.4 | 10 | 86.2～102.0 |
| 普洱茶 | 0.05 | 94.4～110.0 | 0.05 | 87.2～104.8 |
| 0.1 | 99.6～111.2 | 0.1 | 83.0～102.8 |
| 1 | 87.5～97.3 | 1 | 90.6～97.4 |
| 10 | 93.3～108.2 | 10 | 89.3～100.3 |
| 乌龙茶 | 0.05 | 88.0～110.0 | 0.05 | 84.0～106.0 |
| 0.1 | 99.8～108.4 | 0.1 | 78.4～99.4 |
| 1 | 89.3～96.2 | 1 | 91.5～103.0 |
| 10 | 97.1～109.5 | 10 | 91.5～103.9 |