

附件 3

茶叶中氯噻啉的测定

BJS 201914

1 范围

本方法规定了茶叶中氯噻啉残留量的高效液相色谱-串联质谱测定方法。

本方法适用于茶叶中氯噻啉残留量的测定。

2 原理

试样中的氯噻啉经乙腈均质提取后，经浓缩、净化，采用液相色谱-串联质谱仪检测和确证，外标法定量。

3 试剂和材料

除另行规定外，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

3.1.1 乙腈 (CH_3CN): 色谱纯。

3.1.2 甲酸 (CH_2O_2): 色谱纯。

3.1.3 二氯甲烷 (CH_2Cl_2): 色谱纯。

3.1.4 氯化钠 (NaCl): 分析纯。

3.1.5 无水硫酸钠 (Na_2SO_4): 分析纯。

3.2 溶液配制

3.2.1 乙腈-二氯甲烷 (3+1, 体积比) 溶液: 取乙腈 (3.1.1) 600 mL, 取二氯甲烷 (3.1.3) 200 mL, 混合均匀, 备用。

3.2.2 0.1%甲酸水溶液：准确吸取 1.0 mL 甲酸（3.1.2），用超纯水定容至 1.0 L，混匀。

3.2.3 0.1%甲酸乙腈溶液：准确吸取 1.0 mL 甲酸（3.1.2），用乙腈定容至 1.0 L，混匀。

3.3 标准物质

标准物质名称等如表 1 所示，纯度不小于 95.0%。

表 1 标准物质中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子质量

化合物名称	英文名	CAS 登录号	分子式	相对分子质量
氯噻啉	Imidaclothiz	105843-36-5	C ₇ H ₈ ClN ₅ O ₂ S	261.01

3.4 标准溶液配制

称取氯噻啉标准品（3.3）10 mg（精确至 0.01 mg），用乙腈（3.1.1）溶解定容至 100 mL，配制成浓度为 100 mg/L 的标准储备液，于 0 °C~4 °C 以下避光保存，有效期 12 个月。

3.5 氨基硅胶酰胺化聚合物/石墨化碳柱

规格 1000 mg，6 mL，或等效 SPE 柱。

4 仪器和设备

4.1 液相色谱-串联质谱仪（LC-MS/MS）：配有电喷雾离子源（ESI）。

4.2 分析天平：感量分别为 0.01g 和 0.01mg。

4.3 涡旋振荡器。

4.4 高速组织捣碎机：转速不低于 15000 r/min。

4.5 离心机：转速不低于 4000 r/min。

4.6 旋转蒸发仪。

5 试样制备和保存

将茶叶粉碎后置于干燥状态下保存。

6 分析步骤

6.1 提取

称取 2 g 样品（精确至 0.01 g），置 50 mL 离心管中，加入 15 mL 乙腈，涡旋振荡 0.5 min，在高速组织捣碎机上以 15000 r/min 均质 1 min 后 4000 r/min 离心 5 min，将上清液移入梨形烧瓶中。残渣再用 15 mL 乙腈重复上述提取一次，合并提取液，在 40 °C 水浴中减压旋转浓缩至 2~3 mL。

6.2 净化

在固相萃取柱（3.5）上预先加入约 1 cm 高的无水硫酸钠（3.1.5），先用 5 mL 乙腈-二氯甲烷（体积比 3+1）溶液（3.2.1）预洗固相萃取柱，弃去流出液，将提取浓缩液（6.1）转移到固相萃取柱上，用 5 mL 乙腈-二氯甲烷（体积比 3+1）溶液（3.2.1）分 3 次洗涤梨形烧瓶并转移至固相萃取柱上，同时用梨形烧瓶收集全部流出液，再用 20 mL 乙腈-二氯甲烷（体积比 3+1）溶液（3.2.1）淋洗固相萃取柱，合并全部流出液，在 40 °C 水浴中减压旋转浓缩至近干，氮气吹干。准确加入 2.0 mL 乙腈溶解残渣，经微孔滤膜（0.22 μm，有机相）过滤后，供 LC-MS/MS 测定。

6.3 仪器参考条件

6.3.1 色谱条件

- a) 色谱柱：Eclipse Plus C18（2.1×50 mm，1.8 μm），或相当者；
- b) 流动相：A 为 0.1% 甲酸水溶液，B 为乙腈，洗脱梯度见表 2；
- c) 流速：0.3 mL/min；
- d) 柱温：35 °C；
- e) 进样体积 1 μL。

表 2 梯度洗脱条件

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0.00	85	15
3.00	85	15
6.00	25	75
8.00	25	75

8.10	85	15
10.00	85	15

6.3.2 质谱条件

- a) 离子源类型：电喷雾离子源（ESI）；
- b) 扫描方式：正离子扫描；
- c) 毛细管电压：4 kV；
- d) 毛细管温度：300 °C；
- e) 雾化气：氮气，3 L/min；
- f) 碰撞气：氩气；
- g) 检测方式：多反应监测（MRM）；
- h) 定性离子对、定量离子对参见表 3

表 3 氯噻啉主要质谱参数

组分	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	Q1 Pre Bias (V)	碰撞能量 (eV)	Q3 Pre Bias (V)
氯噻啉	262.00	*181.05	10	15	30
	262.00	122.10	10	27	23

注： *表示定量离子

6.4 标准工作曲线的制作

取粉碎的经质谱确认不含氯噻啉的空白试样，依据 6.1 和 6.2 步骤操作处理后得到与待测样品相同的空白基质。用该基质稀释标准储备液（3.4），配制浓度为 0.005 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.5 mg/L 的标准系列溶液，将混合标准系列工作液分别按仪器参考条件（6.3）进行测定，得到相应的标准溶液的色谱峰面积。以混合标准工作液的浓度为横坐标，以色谱峰的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

6.5 测定

6.5.1 定性测定

按照 6.3 的条件测定试样和标准工作液，如果试样谱图中出现的保留时间与标准工作液中氯噻啉峰保留时间偏差在±2.5%之内；且其定性离子的相对丰度与标准中氯噻啉工作溶液定性离子的相对丰度偏差不超过表 4 规定的范围时，则可确定为样品中存在氯噻啉。

表 4 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%
允许的相对偏差%	±20%	±25%	±30%	±50%

6.5.2 定量测定

待测样液中氯噻啉的响应值应在标准曲线线性范围内，超过线性范围则应用空白基质稀释后再进样分析。

6.6 空白试验

不加试样或仅加经质谱确认不含氯噻啉空白试样的空白试验应采用与试样测定完全相同的试剂、设备和步骤进行。

7 结果计算

试样中氯噻啉以质量分数 X 计，数值以毫克每千克（mg/kg）表示，按公式（1）计算。

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

式中：

X —— 试样中氯噻啉的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

C —— 从标准曲线上得到的氯噻啉浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

V —— 样品溶液定容体积，单位为毫升（mL）；

m —— 试样的质量，单位为克（g）；

计算结果保留两位有效数字，当结果大于 1 mg/kg 时保留 3 位有效数字。

8 精密度和准确度

8.1 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不得超过算术平均值的 10%。

8.2 准确度

本方法在 0.005-3 mg/kg 添加浓度范围内，回收率为 70%-120%。

9 检出限和定量限

本方法的定量限为 0.005 mg/kg，检出限为 0.0015 mg/kg。

附录 A

氯噻啉总离子流图和特征离子图

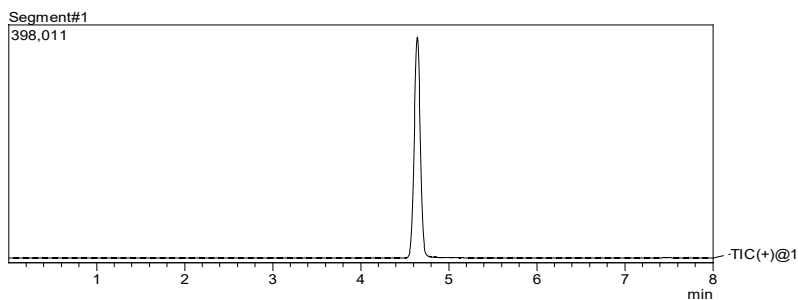


图 1 氯噻啉总离子流图 (100 µg/L)

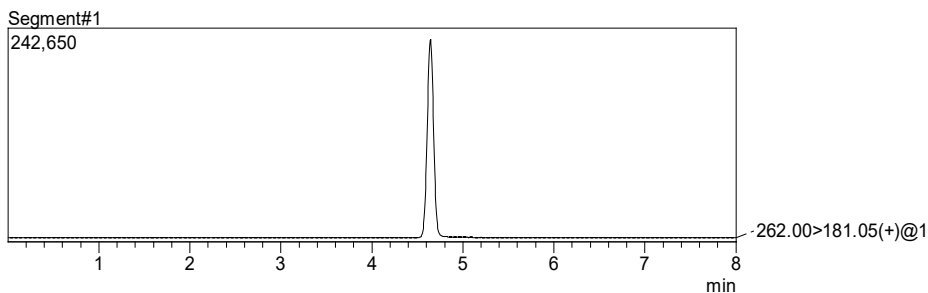


图 2 氯噻啉定量离子对提取色谱图 (262.0>181.05) (100 µg/L)

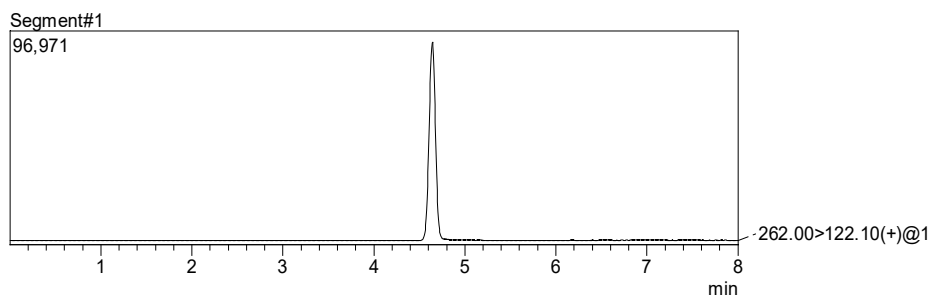


图 3 氯噻啉定性离子对提取色谱图 (262.0>122.10) (100 µg/L)

本方法负责起草单位：浙江省食品药品检验研究院。

验证单位：四川省食品药品检验检测院、上海市食品药品检验所、山西省食品药品检验所、杭州市疾病预防控制中心、杭州绿城农科检测技术有限公司。

主要起草人：罗金文、刘柱、徐潇颖、张泸文、陈煜、金铨