

ICS 65.020

B 20

团体标准

T/AFFI XXX-2022

水果制品中赤霉素和氯吡脞残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

20XX-XX-XX 发布

20XX-XX-XX 实施

阿拉尔果业行业联合会 发布

目 录

前言	1
1 范围	2
2 规范性引用文件	2
3 术语和定义	2
4 原理	2
5 试剂与材料	2
6 仪器和设备	3
7 分析步骤	3
8 结果计算	5
9 精密度	5
10 其他	5
附录 A（资料性）	6

前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020 《标准化工作导则 第一部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由新疆兵团第一师阿拉尔市果业行业联合协会提出。

本文件由新疆兵团第一师阿拉尔市果业行业联合协会归口。

本文件起草单位：新疆维吾尔自治区产品质量监督检验研究院、新疆艾旗斯德检测科技有限公司、新疆兵团第一师阿拉尔市果业行业联合协会

本文件主要起草人：韩璿烜、孙蕾、赵丽萍、宋敏、赵建勇、丁春瑞、严娅、李明、高凤婷、丁煜玮、陈晨、何军

本文件实施应用中的疑问，请咨询新疆维吾尔自治区产品质量监督检验研究院（乌鲁木齐市河北东路 188 号）。

新疆维吾尔自治区产品质量监督检验研究院：联系电话：0991-3191180；邮编：830011

本文件为首次发布。

水果制品中赤霉素和氯吡脞残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件适用于新疆地区葡萄干、红枣等水果制品。

本文件规定了葡萄干、红枣等水果制品中植物生长调节剂---赤霉素与氯吡脞的检验方法。

2 规范性引用文件

本文件中引用的文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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 术语和定义

3.1 水果制品 fruit products

以水果为原料，经自然风干或烘烤干燥等各种加工工艺和方法制成的产品。

3.2 植物生长调节剂 plant growth regulators

人工合成的（或从微生物中提取的天然的），具有和天然植物激素相似生长发育调节作用的有机化合物。本文件中主要指赤霉素（Gibberellins, GA3）和氯吡脞（Forchlorfenuron, 4-CPPU）。

4 原理

试样用1%甲酸-乙腈溶液提取，提取液经分散固相萃取净化，液相色谱-三重四级杆质谱仪测定，外标法定量。

5 试剂与材料

除非另有说明，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和GB/T 6682中规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 乙腈（色谱纯）；

5.1.2 氯化钠（分析纯）；

5.1.3 无水硫酸镁（分析纯）；

- 5.1.4 甲酸（色谱纯）；
- 5.1.5 柠檬酸钠二水合物（分析纯）；
- 5.1.6 柠檬酸二钠盐倍半水合物（分析纯）；
- 5.1.7 1%甲酸-乙腈溶液：量取10mL甲酸用乙腈定容至1000mL容量瓶中，混匀；
- 5.1.8 0.1%甲酸-水溶液：量取1mL甲酸用纯水定容至1000mL容量瓶中，混匀。

5.2 标准品

- 5.2.1 赤霉素（CAS号：77-06-5），纯度大于99 %；
- 5.2.2 氯吡脞（CAS号：68157-60-8），纯度大于99 %。

5.3 标准溶液配制

- 5.3.1 混合标准储备液的配制（1 mg/mL）：分别准确称取赤霉素与氯吡脞标准品各10 mg用甲醇定容至10 mL，-18 °C 冷冻避光保存，有效期12个月。
- 5.3.2 混合标准中间液的配制（10 µg/mL）：准确吸取混合标准储备液1.0 mL用甲醇定容至100 mL，-18 °C 冷冻避光保存，有效期6个月。

5.4 材料

- 5.4.1 乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶（PSA）：粒径：40~60 µm；
- 5.4.2 十八烷基硅烷键合硅胶（C18）：粒径：50 µm；
- 5.4.3 石墨化炭黑（GCB）：粒径40~120 µm；
- 5.4.4 陶瓷均质子：2 cm（长）×1 cm（外径），或相当者；
- 5.4.5 微孔滤膜：13 mm×0.22 µm，或相当者。

6 仪器和设备

- 6.1 液相色谱-三重四级杆质谱联用仪：配有电喷雾电离源（Electrospray ionization, ESI）；
- 6.2 电子天平：感量0.01g和0.01 mg；
- 6.3 离心机：转速不低于5000 rpm；
- 6.4 超声清洗仪；
- 6.5 组织捣碎机。
- 6.6 涡旋混合器。

7 分析步骤

7.1 试样制备

随机取葡萄干或红枣等水果制品样品500 g，粉碎机粉碎后备用。

7.2 试样提取

准确称取2 g粉碎样品（精确至0.01g）于50 mL离心管中，加入10 mL 1 %甲酸-乙腈提取液、1粒陶瓷均质子，涡旋混匀30 s，加入5g~7g氯化钠、1g柠檬酸钠二水合物、0.5g柠檬酸二钠盐倍半水合物，涡旋混匀30 s，超声提取20 min，5000 rpm下离心5 min，吸取2 mL上清液至含有150 mg无水硫酸镁、50 mg PSA、50 mg C18的塑料离心管内，对于颜色较深的样品，离心管内另加入50 mg GCB，涡旋混匀30 s，静置沉降1 min，取上清液过滤膜（5.4.5），待测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件

色谱柱：Hypersil GOLD C18色谱柱（2.1 mm×100 mm，粒度1.9 μm），或同等性能的色谱柱；

流动相：A：0.1 %甲酸-水；B：甲醇，梯度洗脱程序见表1；

流速：0.2 mL/min；

柱温40 ℃；

进样量：1 μL。

表1 梯度洗脱程序

时间/min	V_A	V_B
0.0	90	10
2.0	90	10
5.0	10	90
7.0	10	90
7.5	90	10
10.0	90	10

7.3.2 质谱参考条件

离子源类型：电喷雾电离源；

扫描方式：多反应监测模式（Multiple Reaction Monitoring, MRM），正离子扫描（ES+），两种物质母离子、子离子质谱信息见表2；

电喷雾电压：3500 V；

离子源温度：350 ℃；

雾化气：40 Arb；

辅助气：10 Arb。

表2 赤霉素与氯吡脞母离子、子离子质谱信息

化合物名称	母离子	子离子	碰撞能（V）	去簇电压（V）
赤霉素	345.15	239.19*/143.14	16.29/31.71	82
氯吡脞	248.22	129.07*/93.12	14.06/28.17	115

注：*表示定量离子

7.3.3 基质标准曲线的绘制

选择与待测样品性质相同或者相似的空白样品按照7.1、7.2的方法进行处理，得到空白基质溶液。精密量取一定量的混合标准中间液，用空白基质溶液逐级稀释成质量浓度为0.005 μg/mL、0.010 μg/mL、0.020 μg/mL、0.050 μg/mL、0.100 μg/mL、0.200 μg/mL的基质匹配标准系列工作液。根据仪器性能和检测需要选择不少于5个浓度点，供液相色谱-三重四级杆质谱联用仪分析。分别以赤霉素、氯吡脞定量离子的色谱图峰面积作纵坐标，以相应基质匹配标准系列工作液浓度作横坐标，绘制标准曲线。

7.3.4 定性与定量

7.3.4.1 保留时间

被测组分色谱峰的保留时间应与相应标准品色谱峰保留时间接近，相对误差应当在±2.5 %之内。

7.3.4.2 离子丰度比

在相同实验条件下,如果检出样品中被测组分色谱峰的保留时间与相应标准品色谱峰保留时间符合7.3.3.1的要求，并且在扣除背景后的样品质谱图中，被测化合物所选定的两个子离子均出现，且在同一检测批次，同一化合物中，样品中被测化合物的子离子丰度比与质量浓度相当的基质标准溶液子离子丰度相比，其允许偏差不超过表3规定的范围，则可判定样品中存在被测化合物。

表 3 定性时离子丰度比的最大允许偏差

离子丰度比	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许偏差	±20	±25	±30	±50

7.3.4.3 定量

定量采用外标法定量。

7.4 空白实验

除不加试样外，均按上述测定条件和步骤进行。

8 结果计算

试样中赤霉素、氯吡脞残留量按公式（1）计算。

$$X = \frac{c \times V}{m \times 1000} \tag{1}$$

式中：

X-试样中待测组分的含量，mg/kg；

c-从标准曲线上测得试液中待测组分的质量浓度，ng/mL；

m-试样质量，g；

V-试样提取液总体积，mL；

1000-单位换算系数；

注：计算结果保留三位有效数字。

9 精密度

在重复性条件下获得的2次独立测定结果的绝对差值不大于算数平均值的10%。

10 其他

赤霉素、氯吡脞标准溶液离子色谱图见附录A。

附录 A（资料性）

赤霉素、氯吡脲标准溶液离子色谱图 (200 ng/mL)

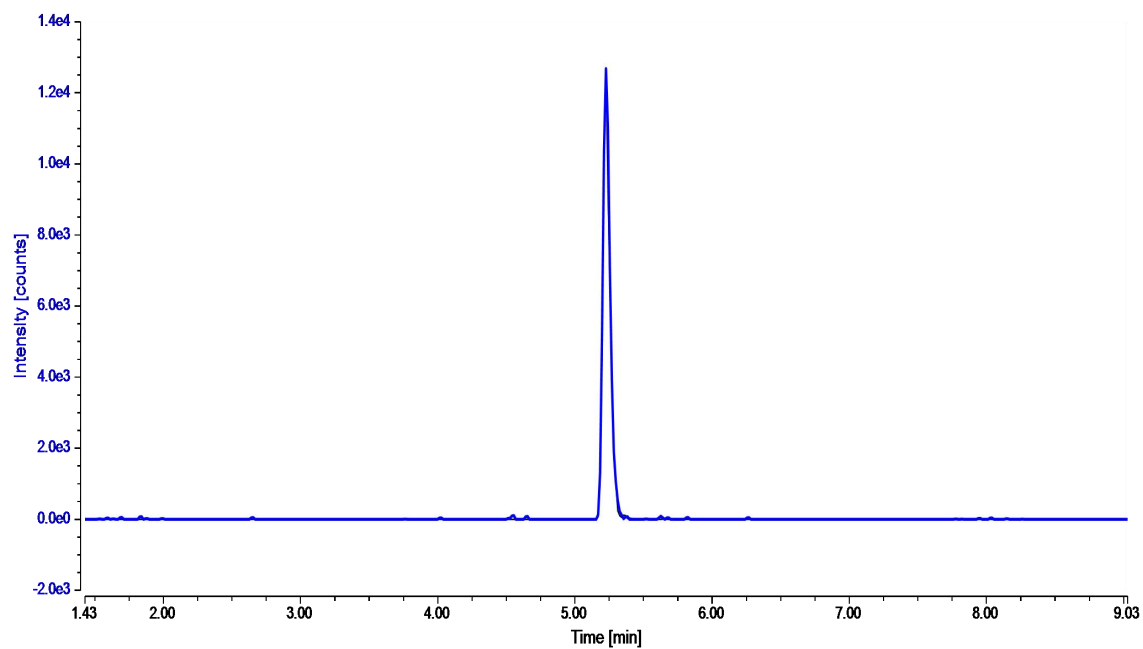


图 A.1 赤霉素定量离子 (345.15/239.19) 提取离子色谱图

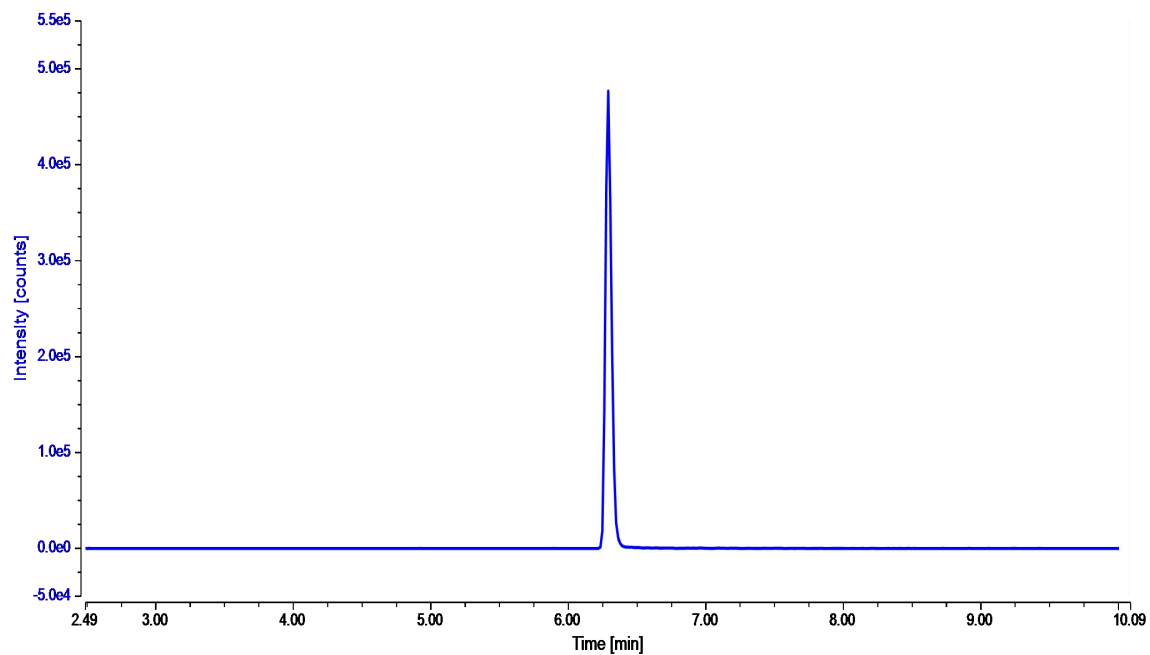


图 A.2 氯吡脲定量离子 (248.22/129.07) 提取离子色谱图