|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 点击此处添加ICS号 |
| CCS | |  | | --- | | D:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T.pngD:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T后面的反斜杠.pngPCA |   点击此处添加CCS号 |

普洱咖啡协会团体标准

T/PCA XXXX—XXXX

咖啡中7种农药残留及相关化学品残留物的测定 气相色谱-质谱联用法

点击此处添加标准名称的英文译名

XXXX-XX-XX发布

XXXX-XX-XX实施

普洱咖啡协会  发布

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专利的责任。

本文件由普洱市质量技术监督综合检测中心（国家市场监管技术创新中心（咖啡质量技术与产业服务）提出。

本文件由普洱市咖啡协会归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

咖啡中7种农药残留及相关化学品残留物的测定 气相色谱-质谱联用法

* 1. 范围

本文件规定了咖啡中草枯醚、二溴磷、氟吡甲禾灵、氟除草醚、格螨酯、烯虫炔酯、烯虫乙酯农药残留量的测定 气相色谱-质谱联用法。

本文件适用于生咖啡豆、焙炒咖啡豆、焙炒咖啡粉中草枯醚、二溴磷、氟吡甲禾灵、氟除草醚、格螨酯、烯虫炔酯、烯虫乙酯农药残留量残留量的测定。

* 1. 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 食品中最大农药残留限量

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

* 1. 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

* 1. 方法原理

试样用乙腈提取，提取液经固相萃取或分散固相萃取净化，气相色谱-质谱联用仪检测，内标法定量。

* 1. 材料和试剂

除非另有说明，在分析中仅使用分析纯的试剂，所有试验用水均为 GB/T 6682 规定的一级水。

* + 1. 试剂
       1. 丙酮：色谱纯
       2. 正己烷：色谱纯
       3. 乙腈：分析纯
    2. 标准品
       1. 草枯醚（chlornitrofen，C12H6Cl3NO3，CAS号：1836-77-7）；纯度≥99.0%，或经国家认证并授 予标准物质证书的标准品。
       2. 二溴磷（naled，C4H7Br2Cl2O4P，CAS号：300-76-5）；纯度≥99.0%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。
       3. 氟吡甲禾灵（Haloxyfop-methyl，C16H13ClF3NO4，CAS号：69806-40-2）；纯度≥99.0%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。
       4. 氟除草醚（fluoronitrofen，C12H6Cl2FNO3，CAS号：13738-63-1）；纯度≥99.0%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。
       5. 格螨酯（2,4-dichlorophenyl benzenesulfonate，C12H8CL2O3S，CAS号：97-16-5）；纯度≥99.0%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。
       6. 烯虫炔酯（kinoprene，C18H28O2，CAS号：42588-37-4）；纯度≥99.0%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。
       7. 烯虫乙酯（hydroprene，C17H30O2，CAS号：65733-18-8）；纯度≥99.0%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。
    3. 标准溶液配制
       1. 标准储备液 (100.0μg/mL)：准确称取适量上述7种标准品，置于容量瓶中，用丙酮定容至，混匀。将标准溶液转移至棕色玻璃容器内，-18℃避光保存，保存期6个月。
       2. 标准使用液(1.0μg/mL)：准确吸取0.1mL标准溶液至10mL容量瓶中，用正己烷定容、摇匀。将标准溶液转移至棕色玻璃容器内，-18℃避光保存，保存期3个月。
       3. 校准曲线工作溶液：准确移取25μL、50μL、250μL、500μL、2500μL的5.3.2中1.0μg/mL的标准使用液至5mL容量瓶中，用正己烷定容、摇匀，得浓度为0.005µg/mL、0.01µg/mL、0.05µg/mL、0.1µg/mL、0.5µg/mL的标准曲线工作溶液。
    4. 材料
       1. EMR-GPD with Carbon S净化小柱
  1. 仪器
     1. 气相色谱-三重四极杆质谱联用仪：配有电子轰击源（EI）。
     2. 电子天平：感量0.1mg 和0.01g。
     3. 高速匀浆机：转速不低于 15 000 r/min。
     4. 离心机：转速不低于 4 200 r/min。
     5. 氮吹仪：30℃-60℃范围内可控温。
     6. 涡旋混合器。
     7. 超声波仪。
  2. 试样制备及保存

取代表性的试样约200 g，经粉碎机粉碎后完全通过孔径为2.0 mm的筛，装入洁净的容器中，密封并做好标识。试样于-18℃冷冻保存，备用。

* 1. 分析步骤
     1. 试样前处理
        1. 试样提取

称取5g试样（精确至0.01 g）于100 mL塑料离心管中，加10 mL水涡旋混匀，静置30 min。加入20 mL（乙腈+乙酸：99+1），用高速匀浆机15000r/min匀浆2 min，加入5g～7g 氯化钠剧烈振荡数次，4200r/min离心5min，待净化。

* + - 1. 试样净化

把5.4.1的固相萃取小柱放到架子上，下接10mL装有0.3g无水硫酸钠的试管，吸取7mL8.1.1提取液至10mL试管中，加入700 µL水混匀，再吸取混匀溶液3mL至小柱中，让其在重力的作用下自然下落到试管中，最后用洗耳球吹干小柱。旋涡混匀收集试管，准确吸取2mL上清液至10mL干净的试管中，40℃水浴中氮吹至近干。加入20μL（环氧七氯B：5μg/mL)内标溶液，加入1mL正己烷复溶，过微孔滤膜，上机测定。

* + 1. 测定条件
       1. 气相色谱仪测定参考条件如下：

1. 色谱柱：HP-5ms（30m×0.25mm×0.25μm）；
2. 进样口温度：280°C；
3. 流速：1.0mL/min；
4. 温度程序：40°C（保持1min），40°C/min，120°C (保持0min)，5°C/min，240°C(保持0min) ，12°C/min ，300°C (保持6min)；
5. 载气：He；
6. 进样模式：不分流；
7. 进样体积：1µL。
   * + 1. 质谱测定参考条件如下：
8. 采集模式：MRM mode；
9. 接口温度：280°C；
10. 离子源温度：300°C
11. 7种农药及其代谢物和内标化合物的保留时间、母离子、子离子及碰撞能见表1。
12. 7种农药及其代谢物和内标化合物的保留时间、母离子、子离子及碰撞能

| 序号 | 中文名称 | 英文名称 | 保留时间 min | 离子对  m/z | 碰撞能  eV | 离子对  m/z | 碰撞能  eV |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 二溴磷 | Naled | 13.964 | 146.9-108.9 | 15 | 184.9-93.0 | 15 |
| 2 | 烯虫乙酯 | hydroprene | 18.209 | 139.0-111.1 | 5 | 139.0-55.1 | 20 |
| 3 | 烯虫炔酯 | Kinoprene | 20.265 | 149.0-77.0 | 15 | 149.0-93.0 | 5 |
| 4 | 氟吡甲禾灵 | Haloxyfop-methyl | 22.832 | 316.0-91.0 | 20 | 375.0-316.0 | 10 |
| 5 | 格螨酯 | Genit | 23.115 | 141.0-76.9 | 5 | 141.0-51.0 | 35 |
| 6 | 氟除草醚 | Flµoronitrofen | 23.139 | 301.0-271.0 | 10 | 303.0-273.0 | 15 |
| 7 | 草枯醚 | Chlornitrofen | 26.244 | 235.9-172.9 | 25 | 316.6-286.6 | 15 |
| 8 | 环氧七氯B | Heptachlor-epoxide B | 21.590 | 352.8-262.9 | 15 | 354.8-264.9 | 15 |

* + 1. 基质标准工作溶液

选择与被测试样接近的空白基质，按照8.1完成试样前处理，得空白基质溶液。空白基质溶液氮气吹干，加入20 μL（环氧七氯B：5μg/mL)内标溶液，分别加入1 mL5.3.3的校准曲线工作溶液复溶，过0.22μm微孔滤膜配制成系列基质匹配标准工作溶液，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质量浓度的比值为横坐标，绘制基质匹配标准工作曲线。

* + 1. 定性和定量
       1. 保留时间定性

被测试样中目标农药色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，偏差应在±0.5min 之内。

* + - 1. 相对丰度比定性

在相同实验条件下进行试样测定时，如果检出的色谱峰的保留时间与标准试样相一致，并且目标化合物选择的定性离子、定量离子均出现，而且同一检测批次，对同一化合物，试样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基质标准溶液相比，其允许偏差不超过下表3规定的范围，则可判断试样中存在目标农药。

1. 定性时相对离子丰度的最大允许偏差

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

* + - 1. 定量

内标法定量。

* + 1. 试样测定

将基质混合标准工作溶液和试样溶液依次注入气相色谱-串联质谱仪中，以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。

* + 1. 平行试验

按以上步骤对同一试样进行平行试验测定。

* 1. 结果计算

试样中各农药残留量以质量分数ω计，数值以毫克每千克（mg/kg）表示，按以下公式计算：

()

式中：ω—试样中被测物残留量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

C—待测液中浓度，单位为微克每毫升（µg/mL）；

V1—提取溶剂总体积，单位为毫升（mL）；

V2——分取用于检测的提取液的体积，单位为毫升（mL）；

V3——试样定容体积，单位为毫升（mL）；

m——试样的质量，单位为克（g）。

在满足重复性条件下，取两次测定的算术平均值作为结果，结果保留到小数点后两位。

* 1. 精密度

在重复性条件下获得的两次独立特定结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。

* 1. 定量限

本方法的二溴磷、烯虫乙酯、烯虫炔酯、氟吡甲禾灵、格螨酯、氟除草醚、草枯醚的定量限为0.01 mg/kg。

2. （规范性）  
   7种农药及其代谢物和内标化合物多反应监测（MRM）质量色谱图
   1. 氟吡甲禾灵多反应监测（MRM）质量色谱图



* 1. 草枯醚多反应监测（MRM）质量色谱图



* 1. 二溴磷多反应监测（MRM）质量色谱图



* 1. 格螨酯多反应监测（MRM）质量色谱图



* 1. 烯虫乙酯多反应监测（MRM）质量色谱图



* 1. 烯虫炔酯多反应监测（MRM）质量色谱图



* 1. 氟除草醚多反应监测（MRM）质量色谱图



* 1. 环氧七氯B多反应监测（MRM）质量色谱图

