

ICS 67.050
B20

团 体 标 准

T/ NAIA XXX—2024

葡萄和葡萄酒中 13 种杀菌剂的测定 高 效液相色谱-串联质谱法

Determination of Thirteen Fungicide Residues in Grape and Wine by
HPLC-MS/MS

2024-XX-XX 发布

2024-XX-XX 实施

宁夏化学分析测试协会 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》规定编写。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：宁夏回族自治区食品检测研究院（国家市场监管重点实验室（枸杞和葡萄酒质量安全））、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：

本文件于 2024 年 XX 月 XX 日首次发布。

葡萄和葡萄酒中 13 种杀菌剂的测定 高效液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了葡萄和葡萄酒中 13 种杀菌剂（多菌灵、稻瘟灵、苯霜灵、吡噻菌胺、苯酰菌胺、吡唑醚菌酯、氟硅唑、氟吗啉、吡唑萘菌胺、氟环唑、氟吡菌酰胺、氟吡菌胺、恶霜灵）的高效液相色谱-串联质谱检测方法。

本文件适用葡萄和葡萄酒中 13 种杀菌剂的测定和确证。

2 规范性引用文件

下列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实验方法

DB 22/T 2817-2017 《人参中苯醚甲环唑等 9 种杀菌剂残留量的测定 气相色谱串联质谱法》

DB 34/T 2822-2017 《植物源产品中 22 种三唑类杀菌剂残留量的测定 液相色谱串联质谱法》

SN/T 3699-2013 《出口植物源食品中 4 种噻唑类杀菌剂残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》

T/ZNX 031-2023 《水和鱼类中 23 种三唑类杀菌剂残留量的测定 液相色谱法-串联质谱法》

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样经乙腈超声提取，QuEChERS 法净化后，经反相色谱柱分离，以保留时间定性，供高效液相色谱-串联质谱仪测定和确证，外标法定量。

5 试剂和材料

本方法所用的试剂，除另有规定外，均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 乙腈：色谱纯。

5.1.2 甲醇：色谱纯。

5.1.3 乙酸铵：色谱纯。

5.1.4 甲酸：优级纯。

5.1.5 氯化钠（NaCl）：优级纯。

5.1.6 无水硫酸镁（MgSO₄）粉末：粒径 50 μm。

5.1.7 N-丙基乙二胺（PSA）粉末：粒径 50 μm。

5.1.8 0.02%甲酸的水溶液：取 0.2mL 甲酸用水定容到 1000mL，摇匀。

5.1.9 乙酸铵-甲酸水溶液（5mmol/L）：称取 0.385g 乙酸铵，用 0.02%甲酸的水溶液溶解定容至 1000mL，摇匀。

5.2 标准品

5.2.1 标准品：多菌灵（纯度：99.1%，CAS：10605-21-7）、稻瘟灵（纯度：98.7%，CAS：50512-35-1）、苯霜灵（纯度：99.3%，CAS：71626-11-4）、吡噻菌胺（纯度：99.0%，CAS：183675-82-3）、苯酰菌胺（纯度：98.7%，CAS：136052-68-5）、吡唑醚菌酯（纯度：99.2%，CAS：175013-18-0）、氟硅唑（纯度：98.5%，CAS：85509-19-9）、氟吗啉（纯度：98.3%，CAS：211867-47-9）、吡唑萘菌胺（纯度：99.0%，CAS：881685-58-1）、氟环唑（纯度：98.8%，CAS：133855-98-8）、氟吡菌酰胺（纯度：99.9%，CAS：658066-35-4）、氟吡菌胺（纯度：99.0%，CAS：239110-13-7）、恶霜灵（纯度：99.3%，CAS：77732-09-3），浓度均为 1000 mg/L。

5.2.2 标准储备液：分别准确吸取 1 000.0 mg/L 的 13 种杀菌剂标准溶液各 100 μ L，用乙腈溶解并定容至 10.0mL，配制成 10.0mg/L 的混合标准储备液，于-18℃避光保存，有效期 3 个月。

5.2.3 13 种杀菌剂混合标准工作溶液：准确吸取不同体积的标准储备液，用空白基质配制成质量浓度分别为 1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL、50.0 ng/mL、100.0 ng/mL、200.0 ng/mL、300.0 ng/mL 的系列标准工作液，临用现配。

6 仪器和设备

- 6.1 液相色谱-串联质谱仪：配备电喷雾离子源(AJS-ESI)。
- 6.2 分析天平：感量 0.1mg 和 0.01g。
- 6.3 涡旋混合器。
- 6.4 高速冷冻离心机：最大转速 10000r/min。
- 6.5 色谱柱： C18，2.1mm×100mm，粒径 3.5 μ m 或性能相当。

7 测定步骤

准确称取 10.0g 样品（精确至 0.01mg）于 50.0 mL 具塞离心管中，精密加入 20mL 乙腈、5g 氯化钠，涡旋震荡 5min，8000r/min 离心 5min。移取上清液至装有 600mg 无水 MgSO₄ 和 100 mgPSA 的高速离心管中，涡旋混合 2min，8000 r/min 离心 5 min，吸取上清液过 0.22μm 有机滤膜，将滤液进行 HPLC-MS/MS 分析。

7.2 仪器参考条件

7.2.1 液相色谱参考条件

- 7.2.1.1 柱温：30℃。
- 7.2.1.2 流动相：A：5mmol/L 乙酸铵-0.02%甲酸水溶液，B：甲醇；梯度洗脱见表 1。
- 7.2.1.3 流速：0.3mL/min。
- 7.2.1.4 进样量：2μL。

表 1 流动相及梯度洗脱条件

时间/min	流速/（mL/min）	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	0.3	96	4

3.00	0.3	96	4
3.01	0.3	50	50
13.00	0.3	30	70
23.01	0.3	96	4
25.00	0.3	96	4

7.2.2 质谱参考条件

- 7.2.2.1 离子源：电喷雾离子源（ESI）。
- 7.2.2.2 扫描方式：正离子扫描。
- 7.2.2.3 检测方式：多反应监测（MRM）。
- 7.2.2.4 鞘气温度：325℃。
- 7.2.2.5 鞘气流速：10.0L/min。
- 7.2.2.6 雾化器压力：40 psi。
- 7.2.2.7 喷嘴电压：500V。
- 7.2.2.8 毛细管电压：3500V。
- 7.2.2.7 定性离子对、定量离子对、碎裂电压、碰撞能量等参数参见附录 A。

7.3 定量测定

根据试液中被测物含量情况，选定浓度相近的基质标准混合使用液，基质标准混合使用液和待测试液中被测物的响应值均应在仪器检测的线性范围内。基质标准混合使用液与试液等体积进样测定。标准溶液及试液均按 7.2.1 和 7.2.2 规定的条件进行测定，如果试液中与标准溶液相同的保留时间有峰出现，则对其进行确证。13 种杀菌剂标准品的多反应监测（MRM）色谱图参见附录 B，采用基质溶液校准曲线外标法定量。

7.4 定性测定

经确证分析被测物质色谱峰保留时间与标准物质相一致，并且在扣除背景后的样品谱图中，所选择的离子均出现。同时所选择离子的丰度比与标准溶液中相关离子的相对丰度一致，相似度在允许偏差之内（见表 2），则可判定样品中存在对应的被测物。

表 2 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%至 50%	> 10%至 20%	≤10%
允许的相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

7.5 空白试验

除不加试样外，均按上述步骤进行。

8 分析结果的表述

试样中 13 种杀菌剂的含量按式（1）进行计算：

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

(1)

式中：

X ——试样中各种化合物含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g/kg}$ ）；

c ——由标准曲线计算出的试样溶液浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V ——试样的最后定容体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，单位为克（g）。

注：测定结果用平行测定的算数平均值表示，保留两位有效数字。

9 精密度

在重复性测定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%。

10 其他

当称样量为 10.0g, 定容体积为 20mL 时，多菌灵、稻瘟灵、苯霜灵、吡噻菌胺、苯酰菌胺、吡唑醚菌酯、氟硅唑、氟吗啉、吡唑萘菌胺、氟环唑、氟吡菌酰胺、氟吡菌胺、恶霜灵的检出限为 1.0 μ g/kg，定量限为 3.0 μ g/kg。

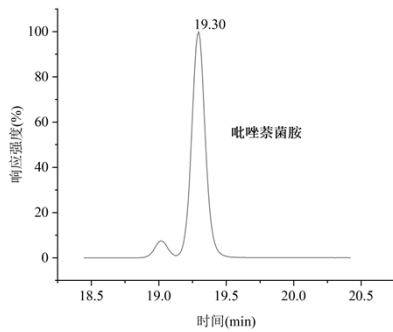
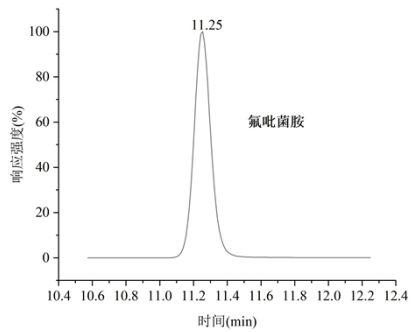
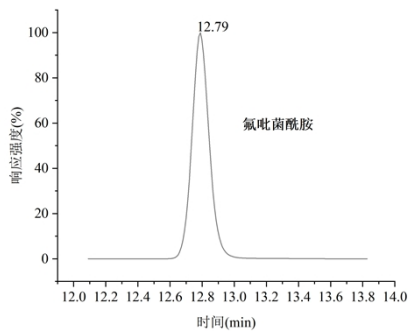
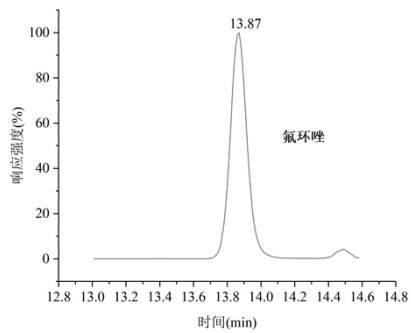
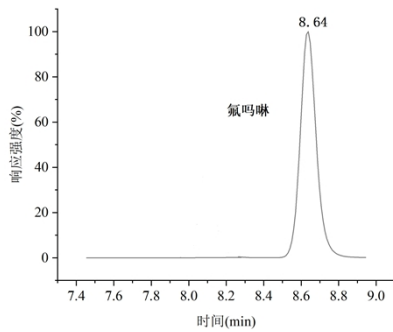
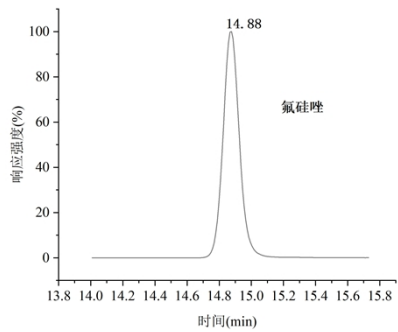
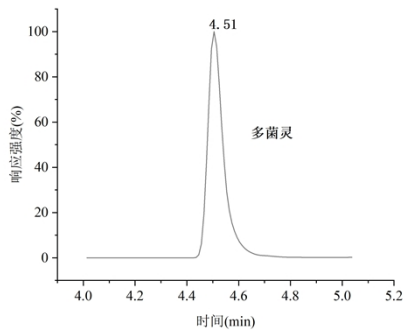
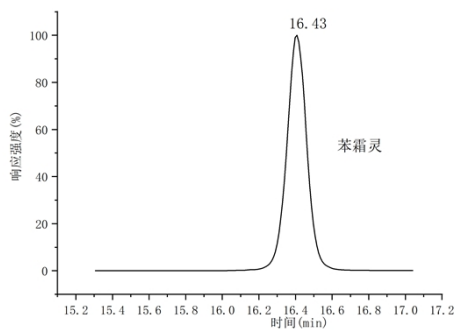
附录 A
(资料性附录)

表 A.1 8 种杀虫剂的质谱参数

序号	被测物名称	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碎裂电压(v)	碰撞能量(ev)
1	多菌灵	192.1	160.1*,132.1	120,120	17,33
2	稻瘟灵	291.1	231*,189	100,100	5,20
3	苯霜灵	326	294*,148	120,120	5,10
4	吡噻菌胺	360.1	275.9*,255.9	110,110	12,20
5	苯酰菌胺	336.1	187*,139	110,110	17,40
6	吡唑醚菌酯	388.1	194*,163	120,120	10,20
7	氟硅唑	316	247*,165	120,120	13,20
8	氟吗啉	372.2	285*,165	120,120	20,40
9	吡唑萘菌胺	360	320*,244.1	110,110	20,20
10	氟环唑	330	141*,121	120,120	20,20
11	氟吡菌酰胺	397.1	208*,173.1	107,107	17,29
12	氟吡菌胺	382.9	172.9*,144.9	110,110	32,42
13	恶霜灵	279.1	219*,102	80,80	10,10

注：*为定量离子

附录 B
(资料性附录)



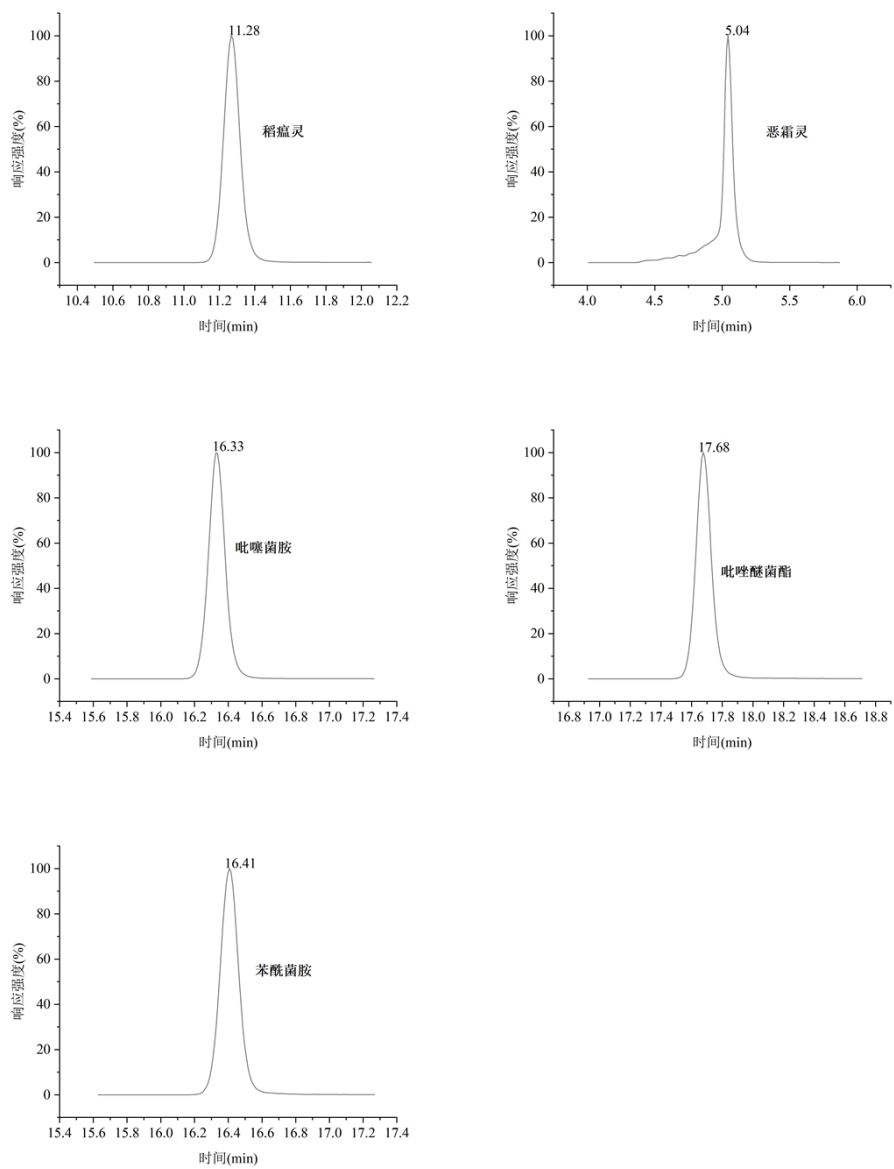


图 B 13 种杀菌剂的多反应监测（MRM）典型色谱图