

BJS

食品补充检验方法

BJS 202207

葡萄酒中 9 种卤代苯甲醚和 卤代苯酚的测定

2022-09-10 发布

国家市场监督管理总局 发布

葡萄酒中 9 种卤代苯甲醚和 卤代苯酚的测定

1 范围

本方法规定了葡萄酒中 2,4,6-三氯苯甲醚(TCA)、2,4,6-三氯苯酚(TCP)、2,3,4,6-四氯苯酚(2,3,4,6-TeCP)、2,3,4,6-四氯苯甲醚(2,3,4,6-TeCA)、2,3,4,5-四氯苯甲醚(2,3,4,5-TeCA)、五氯苯甲醚(PeCA)、五氯苯酚(PeCP)、2,4,6-三溴苯甲醚(TBA)和 2,4,6-三溴苯酚(TBP)9 种卤代苯甲醚和卤代苯酚的顶空固相微萃取-气相色谱-串联质谱测定方法。

本方法适用于葡萄酒中 2,4,6-三氯苯甲醚(TCA)、2,4,6-三氯苯酚(TCP)、2,3,4,6-四氯苯酚(2,3,4,6-TeCP)、2,3,4,6-四氯苯甲醚(2,3,4,6-TeCA)、2,3,4,5-四氯苯甲醚(2,3,4,5-TeCA)、五氯苯甲醚(PeCA)、五氯苯酚(PeCP)、2,4,6-三溴苯甲醚(TBA)和 2,4,6-三溴苯酚(TBP)9 种卤代苯甲醚和卤代苯酚的测定。

2 原理

葡萄酒中卤代苯酚(先经乙酰化生成相应的酯类)和卤代苯甲醚,经顶空固相微萃取(HS-SPME)法萃取富集后,用气相色谱-串联质谱仪检测,外标法定量。

3 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

3.1.1 甲醇(CH_3OH),色谱纯。

3.1.2 乙酸酐($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$)。

3.1.3 氯化钠(NaCl)。

3.1.4 碳酸钾(K_2CO_3)。

3.1.5 无水乙醇($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)。

3.2 试剂配制

3.2.1 碳酸钾溶液(0.100 mol/L):称取 1.38 g 碳酸钾(3.1.4),加水溶解至 100 mL。

3.2.2 12%乙醇溶液(模拟酒):量取 24 mL 新开启的无水乙醇(3.1.5),加水至 200 mL。

3.3 标准品

3.3.1 2,4,6-三氯苯甲醚(TCA)、2,4,6-三氯苯酚(TCP)、2,3,4,6-四氯苯酚(2,3,4,6-TeCP)、2,3,4,6-四氯苯甲醚(2,3,4,6-TeCA)、2,3,4,5-四氯苯甲醚(2,3,4,5-TeCA)、五氯苯甲醚(PeCA)、五氯苯酚(PeCP)、2,4,6-三溴苯甲醚(TBA)、2,4,6-三溴苯酚(TBP)等中文名称、英文名称、缩写、CAS 编号、分子式、相对分子质量、结构式等信息见附录 A,纯度 $\geq 98\%$ 。

3.3.2 同位素质控化合物 2,4,6-三氯氘代苯甲醚(TCA-D5)的中文名称、英文名称、缩写、CAS 编号、

分子式、相对分子质量、结构式等信息见附录 A,纯度 $\geq 98\%$ 。

3.4 标准溶液的配制

3.4.1 标准储备液(1 000 mg/L):分别准确称取 10.00 mg 标准品(3.3.1),用甲醇(3.1.1)溶解,定容在 10 mL 容量瓶中,配制质量浓度为 1 000 mg/L 的标准储备液。-18 °C 避光保存,有效期 1 年。

3.4.2 同位素质控储备液(1 000 mg/L):准确称取 10.00 mg TCA-D5 标准品(3.3.2),用甲醇(3.1.1)溶解,定容在 10 mL 容量瓶中,配制质量浓度为 1 000 mg/L 的同位素质控储备液,-18 °C 避光保存,有效期 1 年。

3.4.3 混合标准储备液(10.00 mg/L):分别吸取 100 μ L 标准储备液(3.4.1),置于 10 mL 容量瓶中,用甲醇(3.1.1)定容,配制 9 种目标物质量浓度均为 10.00 mg/L 的混合标准储备液,-18 °C 避光保存,有效期 1 年。

3.4.4 系列混合标准工作液:吸取 100 μ L 混合标准储备液(3.4.3),用甲醇(3.1.1)稀释定容在 1 mL 容量瓶中,配制成 1 000 μ g/L 的混合标准工作液。同样依次用甲醇(3.1.1)稀释配制 100.0 μ g/L、10.00 μ g/L、1.000 μ g/L 的混合标准工作液。临用现配。

3.4.5 同位素质控中间液(10.00 mg/L):吸取 10.0 μ L 同位素质控储备液(3.4.2),用甲醇(3.1.1)稀释定容到 1 mL 容量瓶中,配制质量浓度为 10.00 mg/L 的同位素质控中间液。临用现配。

3.4.6 同位素质控工作液(100 μ g/L):吸取 50.0 μ L 同位素质控中间液(3.4.5),用甲醇(3.1.1)稀释定容到 5 mL 容量瓶中,配制成质量浓度为 100 μ g/L 的同位素质控工作液。临用现配。

3.4.7 标准工作曲线溶液:按表 1 在 5.00 mL 模拟酒中添加同位素质控工作液(3.4.6)和系列混合标准工作液(3.4.4),临用现配。

表 1 标准工作曲线溶液配制表

加标后目标物质量浓度/ (μ g/L)	同位素质控工作液(3.4.6)体积/ μ L	系列混合标准工作液(3.4.4)	
		质量浓度/(μ g/L)	体积/ μ L
0.010 0	100	1.000	50.0
0.030 0	100	1.000	150
0.100	100	10.00	50.0
0.300	100	10.00	150
1.00	100	100.0	50.0
3.00	100	100.0	150
10.0	100	1 000	50.0

3.5 材料

3.5.1 SPME 手柄。

3.5.2 SPME 纤维:1 cm 50/30 μ m 二乙烯基苯/Carboxen/聚二甲基硅氧烷(DVB/CAR/PDMS),或相当者。

3.5.3 圆柱形磁力搅拌子。

3.5.4 20 mL 顶空瓶[带聚四氟乙烯(PTFE)隔垫]。

4 仪器和设备

- 4.1 气相色谱-串联质谱仪(电子轰击离子源)。
- 4.2 电子天平:感量分别为 0.01 mg 和 0.01 g。
- 4.3 自动 SPME 装置或转速可达 800 r/min 的控温磁力搅拌器(二选一)。
- 4.4 涡旋振荡器。
- 4.5 超声波清洗器。

5 分析步骤

5.1 试样制备与保存

未开封的葡萄酒样品室温避光保存。已开封的葡萄酒于 4 °C 冰箱中密封保存。起泡酒,取 100 mL 样品置于 250 mL 及以上的玻璃容器中,室温超声(5 min),再取样检测。

5.2 前处理步骤

5.2.1 衍生化

移取 5.00 mL 试样于 20 mL 顶空瓶(3.5.4)中,依次加入圆柱形磁力搅拌子(3.5.3)、1.0 g 氯化钠(3.1.3)、100 μ L 同位素质控工作液(3.4.6)、1.0 mL 碳酸钾溶液(3.2.1)和 100 μ L 乙酸酐(3.1.2),用带 PTFE 隔垫的瓶盖封口。

5.2.2 SPME

按照实验室实际情况选择 a)中手动 SPME 或 b)中自动 SPME 进行。使用同一支萃取纤维完成标准曲线的建立、试样和空白的检测。

- a) 手动 SPME:将已封口的顶空瓶(5.2.1)置于恒温 60 °C 水浴中,用磁力搅拌器(4.3)搅拌,转速调至 800 r/min,平衡 5 min,将装有 SPME 纤维(3.5.2)的 SPME 手柄(3.5.1)穿入顶空瓶中,探出纤维,萃取 45 min 后取出,于气相色谱进样口解析 5 min 后检测。
- b) 自动 SPME:将已封口的顶空瓶(5.2.1)置于自动 SPME 装置(4.3)中,将 SPME 纤维(3.5.2)固定在自动 SPME 装置上,设定萃取温度 60 °C,平衡时间 5 min,萃取时间 45 min,解析 5 min 后进样检测。

5.3 色谱参考条件

参考条件如下:

- a) 色谱柱:含 5% 苯基的甲基聚硅氧烷色谱柱(30.0 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m);
- b) 载气为氦气(纯度 99.999%),不分流进样,流速为 1.18 mL/min;
- c) 进样口温度:270 °C;
- d) 升温程序:起始温度为 50 °C,保持 1 min,以 10 °C/min 的速率升至 200 °C,保持 0 min,再以 40 °C/min 的速率升至 280 °C,保持 2 min。

5.4 质谱参考条件

参考条件如下:

- a) 离子化模式:电子轰击离子源;

- b) 扫描方式:多反应监测(MRM);
- c) 离子源温度:230 ℃;
- d) 四级杆温度:150 ℃;
- e) 传输线温度:270 ℃;
- f) 溶剂延迟:8 min;
- g) 9种卤代苯甲醚、乙酰化卤代苯酚和同位素质控化合物的主要质谱参数见附录 B。

5.5 定性要求

在上述色谱条件(5.3)和质谱条件(5.4)下,试样的检出色谱图与各目标物标准品和同位素质控化合物标准品色谱图保留时间的允许偏差为±0.5%,对应定性离子相对丰度与标准工作曲线上浓度相当的标样中定性离子相对丰度允许偏差不得超过表 2 的规定。

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	>20~50	>10~20	≤10
最大允许偏差/%	±20	±25	±30	±50

5.6 标准曲线的制作

取 5.00 mL 模拟酒(3.2.2),按表 1 配制不同浓度的 9 种卤代苯甲醚和卤代苯酚的加标溶液,按上述条件和步骤(5.2~5.4)进行测定,以浓度为横坐标、峰面积为纵坐标,分别绘制标准工作曲线。同位素质控化合物及 9 种卤代苯甲醚和乙酰化的卤代苯酚在模拟酒中加标经 5.2~5.4 检测后 MRM 提取色谱图见附录 C。

5.7 试样测定

按照 5.2~5.4 进行测定,外标法定量。

5.8 空白试验

以模拟酒(3.2.2)替代试样,按照 5.2~5.4 进行测定,外标法定量。

6 结果计算

试样中各目标化合物的含量按式(1)分别计算:

$$X_i = \rho_i - \rho_i^0 \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X_i ——试样中化合物 i 的含量,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);
 - ρ_i ——由化合物 i 的标准曲线得到样品中化合物 i 的检测浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);
 - ρ_i^0 ——由化合物 i 的标准曲线得到空白中化合物 i 的检测浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$)。
- 计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,保留三位有效数字。

7 精密度

重复性测定条件下,两次独立测定结果绝对差值不超过其算术平均值的 20%。

8 其他

本方法的检出限:2,4,6-三氯苯甲醚(TCA)、2,3,4,6-四氯苯甲醚(2,3,4,6-TeCA)、2,3,4,5-四氯苯甲醚(2,3,4,5-TeCA)、2,4,6-三溴苯甲醚(TBA)、五氯苯甲醚(PeCA)为 3.00 ng/L;2,4,6-三氯苯酚(TCP)、2,3,4,6-四氯苯酚(2,3,4,6-TeCP)为 10.0 ng/L;2,4,6-三溴苯酚(TBP)、五氯苯酚(PeCP)为 30.0 ng/L。

定量限:2,4,6-三氯苯甲醚(TCA)、2,3,4,6-四氯苯甲醚(2,3,4,6-TeCA)、2,3,4,5-四氯苯甲醚(2,3,4,5-TeCA)、2,4,6-三溴苯甲醚(TBA)、五氯苯甲醚(PeCA)为 10.0 ng/L;2,4,6-三氯苯酚(TCP)、2,3,4,6-四氯苯酚(2,3,4,6-TeCP)为 30.0 ng/L;2,4,6-三溴苯酚(TBP)、五氯苯酚(PeCP)为 100 ng/L。

连续两次测定的同位素质控化合物响应值绝对差值不超过其算术平均值的 20%,同一测定批同位素质控化合物响应值的相对标准偏差应不超过 32%。

附录 A

(资料性)

9 种卤代苯甲醚、卤代苯酚及同位素质控化合物的中文名称、英文名称、缩写、CAS 编号、分子式、相对分子质量和结构式

9 种卤代苯甲醚、卤代苯酚及同位素质控化合物的中文名称、英文名称、缩写、CAS 编号、分子式、相对分子质量和结构式见表 A.1。

表 A.1 9 种卤代苯甲醚、卤代苯酚及同位素质控化合物的中文名称、英文名称、缩写、CAS 编号、分子式、相对分子质量和结构式

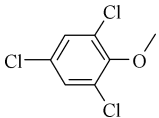
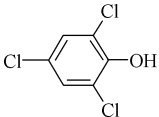
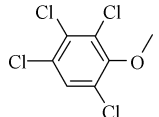
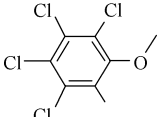
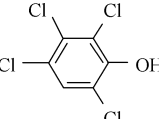
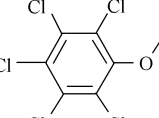
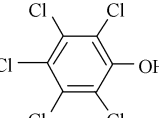
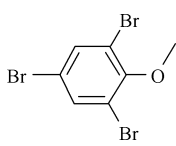
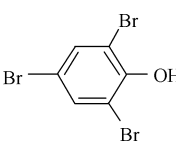
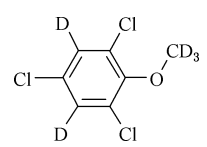
序号	中文名称	英文名称	缩写	CAS 编号	分子式	相对分子质量	结构式
1	2,4,6-三氯苯甲醚	2,4,6-trichloro anisole	TCA	87-40-1	$C_7H_5Cl_3O$	211.47	
2	2,4,6-三氯苯酚	2,4,6-trichloro phenol	TCP	88-06-2	$C_6H_3Cl_3O$	197.45	
3	2,3,4,6-四氯苯甲醚	2,3,4,6-tetrachloro anisole	2,3,4,6-TeCA	938-22-7	$C_7H_1Cl_4O$	245.92	
4	2,3,4,5-四氯苯甲醚	2,3,4,5-tetrachloro anisole	2,3,4,5-TeCA	938-86-3	$C_7H_1Cl_4O$	245.92	
5	2,3,4,6-四氯苯酚	2,3,4,6-tetrachloro phenol	2,3,4,6-TeCP	58-90-2	$C_6H_2Cl_4O$	231.89	
6	五氯苯甲醚	pentachloro anisole	PeCA	1825-21-4	$C_7H_3Cl_5O$	280.36	
7	五氯苯酚	pentachloro phenol	PeCP	87-86-5	C_6HCl_5O	266.34	

表 A.1 9 种卤代苯甲醚、卤代苯酚及同位素质控化合物的中文名称、英文名称、缩写、CAS 编号、分子式、相对分子质量和结构式 (续)

序号	中文名称	英文名称	缩写	CAS 编号	分子式	相对分子质量	结构式
8	2,4,6-三溴苯甲醚	2,4,6-tribromo anisole	TBA	607-99-8	$C_7H_5Br_3O$	344.83	
9	2,4,6-三溴苯酚	2,4,6-tribromo phenol	TBP	118-79-6	$C_6H_3Br_3O$	330.80	
10	2,4,6-三氯氘代苯甲醚	2,4,6-trichloro anisole D5	TCA-D5	352439-08-8	$C_7Cl_3D_5O$	216.50	

附 录 B

(资料性)

9 种卤代苯甲醚、乙酰化卤代苯酚和同位素质控化合物的主要质谱参数

9 种卤代苯甲醚、乙酰化卤代苯酚和同位素质控化合物的主要质谱参数见表 B.1。

表 B.1 9 种卤代苯甲醚、乙酰化卤代苯酚和同位素质控化合物的主要质谱参数

序号	名称	保留时间/ min	前级离子 (m/z)	碎片离子 (m/z)	碰撞能量/ eV
1	2,4,6-三氯代苯甲醚 (TCA-D5)	11.001	217.1	199.0	10
			217.1	171.0 ^a	22
2	2,4,6-三氯苯甲醚 (TCA)	11.041	212.0	197.0	10
			212.0	169.0 ^a	22
3	2,4,6-三氯苯酚(乙酰化) (TCP-A)	12.528	198.0	99.0	28
			198.0	97.0 ^a	28
4	2,3,4,6-四氯苯甲醚 (2,3,4,6-TeCA)	13.614	246.0	231.0	8
			231.0	203.0 ^a	8
5	2,4,6-三溴苯甲醚 (TBA)	14.683	343.9	328.8	8
			343.9	300.8 ^a	28
6	2,3,4,6-四氯苯酚(乙酰化) (2,3,4,6-TeCP-A)	14.824	232.0	168.0	16
			232.0	133.0 ^a	28
7	2,3,4,5-四氯苯甲醚 (2,3,4,5-TeCA)	15.188	244.0	200.9	18
			231.0	203.0 ^a	8
8	五氯苯甲醚 (PeCA)	15.894	280.0	264.9	8
			280.0	236.9 ^a	20
9	2,4,6-三溴苯酚(乙酰化) (TBP-A)	15.942	331.9	221.9	25
			331.9	142.9 ^a	40
10	五氯苯酚(乙酰化) (PeCP-A)	16.710	307.9	265.9	6
			265.9	201.9 ^a	16

^a 定量离子。

附录 C

(资料性)

同位素质控化合物及 9 种卤代苯甲醚和乙酰化卤代苯酚在模拟酒中加标 MRM 提取色谱图

同位素质控化合物及 9 种卤代苯甲醚和乙酰化卤代苯酚在模拟酒中加标 MRM 提取色谱图见图 C.1。

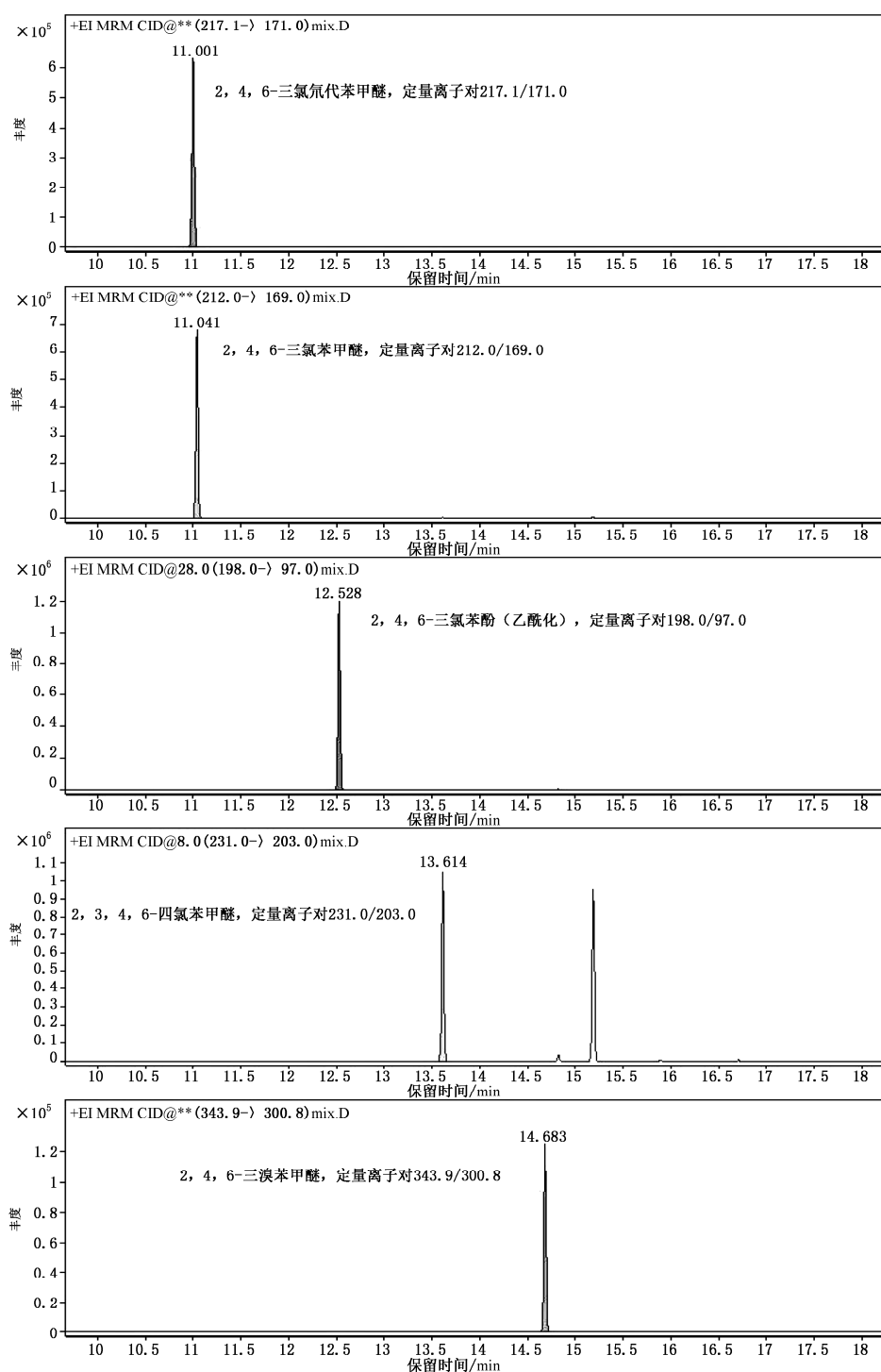


图 C.1 同位素质控化合物及 9 种卤代苯甲醚和乙酰化卤代苯酚在模拟酒中加标 MRM 提取色谱图

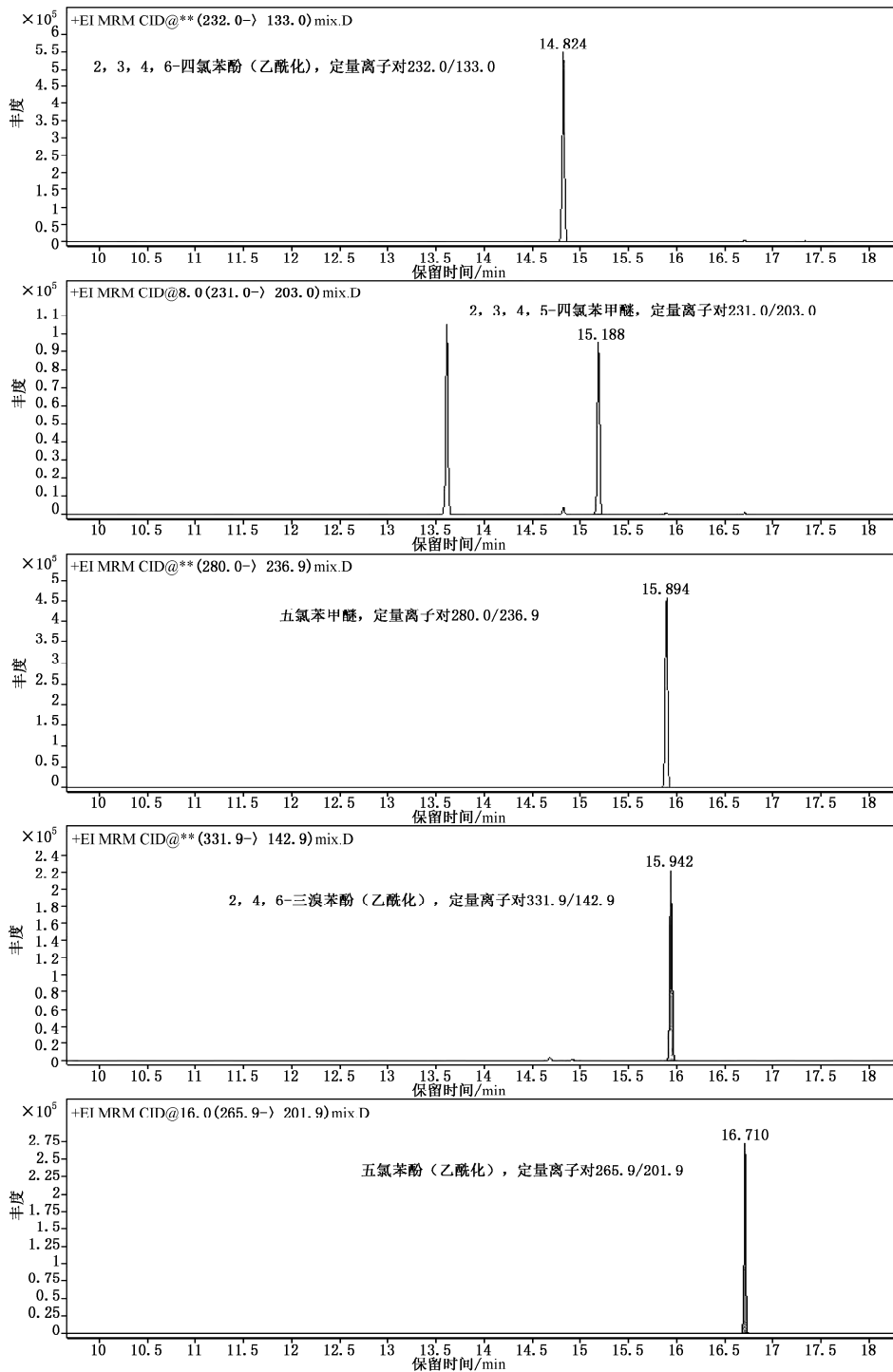


图 C.1 同位素质控化合物及 9 种卤代苯甲醚和乙酰化卤代苯酚在模拟酒中加标 MRM 提取色谱图 (续)

本方法负责起草单位:中国检验检疫科学研究院、秦皇岛海关技术中心。

本方法验证单位:农业农村部农产品及加工品质量监督检验测试中心、甘肃省食品检验研究院、青海省食品检验检测院、深圳海关食品检验检疫技术中心、合肥海关技术中心。

本方法主要起草人:范春林、张紫娟、张昂、张佳琳、崔宗岩、李响、张进杰、王圣仪。