

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 4351—2023

大蒜及其制品中水溶性有机硫化合物的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of water-soluble organosulfur compounds in garlic and its products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

2023-04-11 发布

中华人民共和国农业农村部 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》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。

本文件由农业农村部农产品质量安全监管司提出。

本文件由农业农村部农产品营养标准专家委员会归口。

本文件起草单位：中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、山东省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、江苏徐淮地区徐州农业科学研究所、全国蔬菜感官与营养品质研发中心、山东寿光检测集团有限公司、山东寿光蔬菜种子检测有限公司、江苏福多美生物科技有限公司。

本文件主要起草人：翁瑞、钱永忠、刘平香、杨峰、樊继德、王仁杰、孙明、吴文广、程琳、张黎明、张燕、魏美甜。



大蒜及其制品中水溶性有机硫化合物的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了大蒜及其制品中水溶性有机硫化合物含量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于大蒜、蒜片及蒜粉中蒜氨酸、甲基蒜氨酸、 γ -L-谷氨酰-S-甲基-L-半胱氨酸(GSMC)、 γ -谷氨酰-S-烯丙基半胱氨酸(GSAC)、S-甲基-L-半胱氨酸(SMC)、S-烯丙基-L-半胱氨酸(SAC)、S-(反-1-丙烯基)-L-半胱氨酸(SPC)含量的测定。

2 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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

大蒜及其制品中的水溶性有机硫化合物经 0.1% 甲酸水溶液提取,液相色谱—串联质谱法测定,外标法定量。

5 试剂和材料

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

5.2 乙腈(C_2H_5N):色谱纯。

5.3 甲醇(CH_4O):色谱纯。

5.4 甲酸(CH_2O_2):色谱纯。

5.5 0.1% 甲酸水溶液:准确移取 1 mL 甲酸(5.3)至 1 000 mL 容量瓶中,用水定容至刻度。

5.6 0.1% 甲酸乙腈溶液:准确移取 1 mL 甲酸(5.3)至 1 000 mL 容量瓶中,用乙腈(5.1)定容至刻度。

5.7 标准物质

5.7.1 蒜氨酸(Alliin, $C_6H_{11}NO_3S$, CAS 号:556—27—4),纯度 $\geq 98\%$ 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.7.2 甲基蒜氨酸(Methiin, $C_4H_9NO_3S$, CAS 号:32726—14—0),纯度 $\geq 98\%$ 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.7.3 γ -L-谷氨酰-S-甲基-L-半胱氨酸(γ -Glutamyl-S-methylcysteine, GSMC, $C_9H_{16}N_2O_5S$, CAS 号:19046-22-1),纯度 $\geq 98\%$ 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.7.4 γ -谷氨酰-S-烯丙基半胱氨酸(γ -Glutamyl-S-allylcysteine, GSAC, $C_{11}H_{18}N_2O_5S$, CAS 号:91216-95-4),纯度 $\geq 98\%$ 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.7.5 S-甲基-L-半胱氨酸(S-Methyl-L-cysteine, SMC, $C_4H_9NO_2S$, CAS 号:1187-84-4),纯度 $\geq 98\%$ 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.7.6 S-烯丙基-L-半胱氨酸(S-Allyl-L-cysteine, SAC, $C_6H_{11}NO_2S$, CAS 号:21593-77-1),纯度 $\geq 98\%$ 或

经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.7.7 S-(反-1-丙烯基)-L-半胱氨酸(S-trans-1-Propenyl-L-cysteine, SPC, $C_6H_{11}NO_2S$, CAS 号: 52438-09-2), 纯度 $\geq 98\%$ 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.8 标准储备溶液: 分别称取 5 mg(精确至 0.01 mg)水溶性有机硫化合物标准物质(5.6)于 5 mL 容量瓶, 用甲醇(5.3)溶解并定容至刻度, 配制成浓度为 1 g/L 的标准储备溶液。

5.9 标准工作溶液: 移取适量标准储备液(5.8), 用 0.1% 甲酸水溶液(5.5)稀释成浓度为 20 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、200 $\mu\text{g/L}$ 、500 $\mu\text{g/L}$ 、1 000 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准工作溶液, 现用现配。

5.10 微孔滤膜: 0.22 μm 水相滤膜。

6 仪器设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪: 配有电喷雾离子源。

6.2 真空冷冻干燥机。

6.1 试验筛: 孔径 0.18 mm。

6.1 研磨仪。

6.1 分析天平: 感量 0.01 g、0.001 g、0.000 1 g 和 0.01 mg。

6.1 超声波仪。

6.1 离心机: 转速不低于 10 000 r/min。

7 分析步骤

7.1 试样的制备

7.1.1 鲜蒜: 取无损伤的大蒜可食部分, 混匀缩分至约 50 g(精确至 0.001 g), 在 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下真空冷冻干燥。称取冻干后试样的质量(精确至 0.001 g)后, 用研磨仪将其粉碎, 过 0.18 mm 试验筛, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存待测。

7.1.2 蒜片: 用研磨仪粉碎, 过 0.18 mm 试验筛, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存待测。

7.1.3 蒜粉: 过 0.18 mm 试验筛, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存待测。

7.2 试样的提取

称取 0.1 g(精确至 0.000 1 g)试样于 50 mL 塑料离心管中, 加入 20 mL 0.1% 甲酸水溶液(5.5), 涡旋 1 min 后, 在室温下超声提取 10 min, 10 000 r/min 离心 5 min, 取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜(5.10)过滤至样品瓶中, 进行液相色谱-串联质谱仪(6.1)测定。根据试样中水溶性有机硫化合物含量和液相色谱-串联质谱仪(6.1)灵敏度, 必要时可使用 0.1% 甲酸水溶液(5.5)适当稀释后进行测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱: C_{18} 色谱柱, 2.1 mm \times 150 mm, 粒径 3.5 μm , 或性能相当者;
- b) 流动相: A 相为 0.1% 甲酸水溶液(5.5), B 相为 0.1% 甲酸乙腈溶液(5.6);
- c) 流速: 0.25 mL/min;
- d) 进样量: 5 μL ;
- e) 柱温: $40\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- f) 流动相梯度洗脱程序见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间, min	流动相 A, %	流动相 B, %
0	98	2
2	98	2

表 1（续）

时间,min	流动相 A,%	流动相 B,%
5	50	50
6	0	100
10	0	100
10.1	98	2
15	98	2

7.3.2 质谱参考条件

- a) 电离源:电喷雾离子源;
- b) 电离源极性:正离子模式;
- c) 质谱扫描方式:多离子反应监测(MRM);
- d) 电喷雾电压:3.6 kV;
- e) 雾化温度:320 ℃;
- f) 离子传输管温度:325 ℃;
- g) 水溶性有机硫化合物的质谱分析参考参数见表 2。

表 2 水溶性有机硫化合物的质谱分析参考参数

化合物	保留时间,min	定量离子对,m/z	定性离子对,m/z	聚焦透镜电压,V	碰撞能量,eV
甲基蒜氨酸	1.39	152.0→88.0	152.0→42.5	58	10/17
SMC	1.52	136.0→119.0	136.0→73.3	48	10/13
蒜氨酸	1.60	178.1→88.1	178.1→74.3	65	10/20
GSMC	2.03	265.1→119.0	265.1→77.1	60	23/65
SAC	2.28	162.1→145.0	162.1→73.0	60	10/10
SPC	2.92	162.1→145.1	162.1→115.9	60	10/16
GSAC	7.41	291.1→145.0	291.1→73.0	60	21/35

7.3.3 定性测定

通过试样中各组分的保留时间和特征离子与相应标准物质的保留时间和特征离子对照进行定性。在相同测试条件下,目标化合物在试样中的保留时间与标准物质的保留时间偏差不超过±2.5%,且相对离子丰度与标准物质的离子丰度偏差不超过表 3 的规定范围,可判定试样中存在目标化合物。

表 3 定性测定中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
允许相对偏差,%	±20	±25	±30	±50

7.3.4 定量测定

将试样溶液和标准工作溶液在相同的液相色谱—串联质谱条件下进行测定,以标准工作溶液浓度为横坐标,以水溶性有机硫化合物定量离子峰面积为纵坐标作单点或多点校准。试样溶液中水溶性有机硫化合物的响应值应在仪器测定的线性范围内。水溶性有机硫化合物的 MRM 色谱图见附录 A 的图 A.1。

8 结果计算

8.1 鲜蒜

试样中某种水溶性有机硫化合物含量按公式(1)计算。

$$\omega_i = \frac{1000 \times \rho_i \times V \times F \times m_2}{m_1 \times m_3} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

ω_i ——试样中水溶性有机硫化合物含量的数值,单位为毫克每千克(mg/kg);

ρ_i ——从标准工作曲线得到的试样溶液中各目标物质量浓度的数值,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

V ——提取溶剂体积的数值,单位为毫升(mL);

F ——稀释倍数;

m_1 ——鲜蒜质量的数值,单位为克(g);

m_2 ——鲜蒜冻干后质量的数值,单位为克(g);

m_3 ——试样称样质量的数值,单位为克(g)。

计算结果以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留三位有效数字。

8.2 蒜片和蒜粉

试样中某种水溶性有机硫化合物含量按公式(2)计算。

$$\omega_i = \frac{1000 \times \rho_i \times V \times F}{m} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

ω_i ——试样中水溶性有机硫化合物含量的数值,单位为毫克每千克(mg/kg);

ρ_i ——从标准工作曲线得到的试样溶液中各目标物质量浓度的数值,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

V ——提取溶剂体积的数值,单位为毫升(mL);

F ——稀释倍数;

m ——试样称样质量的数值,单位为克(g)。

计算结果以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值表示,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 次独立测试结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%,在再现性条件下获得的 2 次独立测试结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15%。

10 其他

本方法测定 GSAC 和 SMC 的检出限为 0.1 mg/kg (以干重计),定量限为 0.2 mg/kg (以干重计);SAC 的检出限为 0.2 mg/kg (以干重计),定量限为 0.4 mg/kg (以干重计);蒜氨酸、甲基蒜氨酸和 SPC 的检出限为 0.4 mg/kg (以干重计),定量限为 1.0 mg/kg (以干重计);GSMC 的检出限为 1.0 mg/kg (以干重计),定量限为 2.0 mg/kg (以干重计)。

附录 A
(资料性)

水溶性有机硫化合物标准溶液的 MRM 色谱图

水溶性有机硫化合物的 MRM 色谱图见图 A. 1。

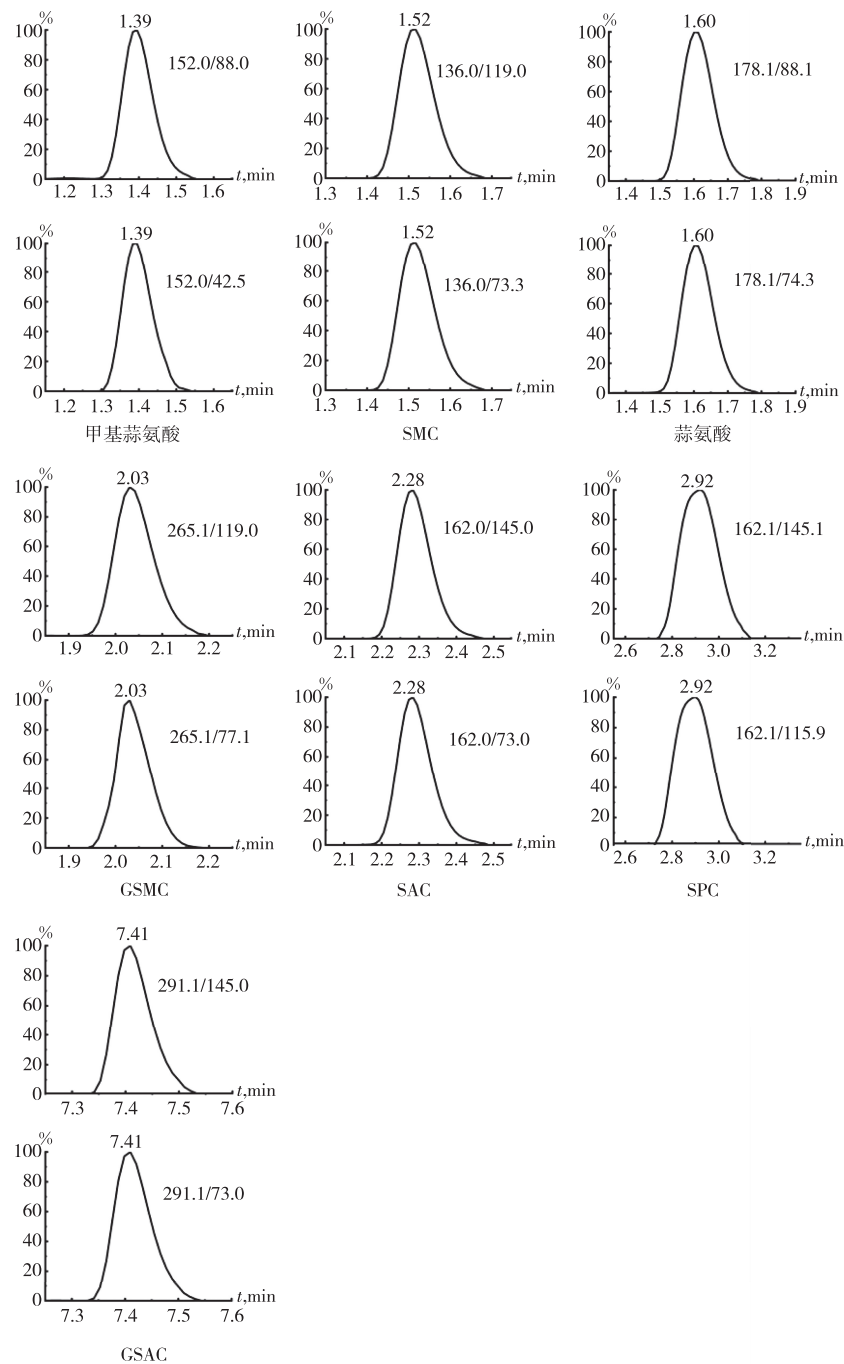


图 A. 1 水溶性有机硫化合物标准溶液的 MRM 色谱图(10 µg/L)