

ICS 67.050
CCS C 53

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 5731—2025

出口香辛料中曲托嗒酚的测定
液相色谱—质谱/质谱法

Determination of eugenol, isoeugenol, methyl eugenol, methyl isoeugenol in
aquatic products for export —
GC-MS method

2025-12-01 发布

2026-07-01 实施

中华人民共和国海关总署 发布

以正式出版文本为准

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。

本文件由中华人民共和国海关总署提出并归口。

本文件起草单位：中华人民共和国石家庄海关、中华人民共和国武汉海关。

本文件主要起草人：张海超、贾海涛、艾连峰、王晗、田浩、李玮。

以正式出版文本为准

以正式出版文本为准

出口香辛料中曲托啶酚的测定

液相色谱—质谱/质谱法

1 范围

本文件规定了出口香辛料中曲托啶酚的液相色谱—质谱/质谱测定方法。

本文件适用于辣椒、花椒、大料、桂皮、黑胡椒、白胡椒、孜然、良姜、大蒜粉、洋葱粉、香叶、小茴香、陈皮、十三香粉、五香粉、咖喱粉、意大利风味香料、七味唐辛子等香辛料中曲托啶酚的测定。

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 方法提要

试样中曲托啶酚采用酸性乙醇提取，混合型阳离子交换固相萃取柱净化，液相色谱—质谱/质谱仪测定，内标法定量。

5 试剂和材料

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 甲醇：色谱级。

5.1.2 乙醇：色谱级。

5.1.3 甲酸：色谱级。

5.1.4 氨水：含量为25%~28%。

5.2 溶液配制

5.2.1 5%氨水甲醇溶液：量取5 mL氨水（5.1.4），用甲醇（5.1.1）定容至100 mL，混匀。

5.2.2 0.5%甲酸乙醇溶液：量取5 mL甲酸（5.1.3），用乙醇（5.1.2）定容至1000 mL，混匀。

5.2.3 0.1%甲酸水溶液：量取1 mL甲酸（5.1.3）用水定容至1000 mL，混匀。

SN/T 5731—2025

5.2.4 0.1%甲酸-甲醇溶液(8+2, 体积比): 量取800 mL 0.1%甲酸水溶液(5.2.3)和200 mL甲醇(5.1.1), 混匀。

5.3 标准品

5.3.1 曲托啶酚标准物质($C_{19}H_{23}NO_5$, CAS号: 21650-42-0): 纯度大于或等于99%。

5.3.2 曲托啶酚-D₉标准物质($C_{19}H_{14}D_9NO_5$): 100 μg/mL, -18 °C以下避光保存。

5.4 标准溶液配制

5.4.1 曲托啶酚标准储备液(100 μg/mL): 准确称取曲托啶酚标准物质(5.3.1) 10 mg(精确至0.0001g)用甲醇(5.1.1)溶解, 配制成浓度为100 μg/mL的标准储备液, -18 °C下避光保存, 有效期6个月。

5.4.2 曲托啶酚标准中间溶液(1 μg/mL): 根据需要准确移取适量曲托啶酚标准储备液(5.4.1), 用甲醇(5.1.1)稀释, 配制成浓度为1 μg/mL标准中间溶液, 4 °C下避光保存, 有效期3个月。

5.4.3 曲托啶酚-D₉内标储备液(1 μg/mL): 准确量取曲托啶酚-D₉标准物质(5.3.2) 1 mL于100 mL容量瓶中, 用甲醇(5.1.1)稀释并定容至刻度, 配制成浓度为1 μg/mL的标准储备液, 4 °C下避光保存, 有效期3个月。

5.5 材料

5.5.1 固相萃取柱: 混合型阳离子交换固相萃取柱(3 mL, 60 mg)或性能相当者, 使用前分别采用3 mL甲醇和3 mL 0.5%甲酸乙醇活化。

5.5.2 微孔滤膜: 0.22 μm, 有机系。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-质谱/质谱仪: 配有电喷雾离子源(ESI)。

6.2 组织捣碎机。

6.3 均质器: 转速不低于10 000 r/min。

6.4 涡旋混匀器。

6.5 电子分析天平: 感量为0.0001 g和0.01 g。

6.6 离心机: 转速不低于8000 r/min。

6.7 氮气吹干仪。

6.8 离心管: 聚乙烯, 具塞, 50 mL。

7 试样制备与保存

取代表性样品约500 g需用组织捣碎机均质, 充分混匀, 均分为2份, 密封并标明标记, 于常温下避光保存。

8 测定步骤

8.1 提取

准确称取2 g样品(精确至0.01g)于50 mL离心管中并加入100 μL的曲托啶酚-D₉内标储备液(5.4.3)。准确加入20 mL 0.5%甲酸乙醇溶液(5.2.2), 以10000 r/min均质1 min。以8000 r/min离心5 min, 上清液净化。

8.2 净化

准确将上述2 mL上清液置于已活化固相萃取柱内，待样液流出，采用3 mL 0.5% 甲酸乙醇溶液（5.2.2）和3 mL 甲醇（5.1.1）淋洗，弃去淋洗液，真空抽干，最后用3 mL 5% 氨水甲醇溶液（5.2.1）洗脱，接收洗脱液于40 °C下氮吹至干，用1.00 mL 0.1% 甲酸-甲醇溶液（5.2.4）涡旋溶解残渣，0.22 μm 微孔滤膜（5.5.2）过滤，供液相色谱-质谱/质谱测定。

8.3 标准曲线的制备

精密量取标准中间液（5.4.2）、内标储备液（5.4.3）适量，用0.1% 甲酸-甲醇溶液（5.2.4）配成浓度为0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL、50.0 ng/mL的标准工作液，其中曲托唑酚-D₉内标浓度为10 ng/mL。以测得特征离子质量色谱峰外标和内标峰面积比值为纵坐标，对应的标准溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线，求回归方程和相关系数。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱条件

液相色谱条件参考如下：

- a) 色谱柱：C₁₈ 色谱柱，100 mm × 2.1 mm（内径），1.7 μm，或性能相当者；
- b) 柱温：30 °C；
- c) 流动相：A相，含0.1% 甲酸水溶液；B相，甲醇。流动相及梯度洗脱程序见表1；
- d) 流速：0.4 mL/min；
- e) 进样量：5 μL。

表1 流动相及梯度洗脱程序

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	90	10
0.50	90	10
3.50	10	90
5.00	10	90
5.10	90	10
7.00	90	10

8.4.2 质谱条件

质谱参考条件如下：

- a) 离子源：电喷雾离子源；
- b) 扫描模式：正离子扫描；
- c) 监测模式：多反应监测（MRM）；
- d) 其他信息见附录A。

8.4.3 液相色谱-质谱/质谱测定

8.4.3.1 定性测定

按照上述液相色谱-质谱/质谱条件测定样品和标准工作溶液，如果检测的质量色谱峰保留时间

与标准工作溶液保留时间相差不超过 $\pm 5\%$ ，定性离子对的相对丰度与浓度相当的标准工作溶液的相对丰度一致，相对丰度允许偏差均不超过表2规定的范围，则可判断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 ~ 50	>10 ~ 20	≤ 10
允许的相对偏差 /%	± 20	± 25	± 30	± 50

8.4.3.2 定量测定

取试样溶液和相应的标准溶液，作单点或多点校准，以色谱峰面积定量，按内标法计算。标准工作液和样液中曲托啶酚的响应值应在仪器线性响应范围内。在上述仪器条件下，曲托啶酚的保留时间为3.60 min，曲托啶酚的标准溶液的多反应监测（MRM）色谱图见附录B。

8.5 空白试验

除不称取试样外，均按上述步骤进行。

9 结果计算和表述

试样中被测物含量按标准曲线法或公式（1）计算，计算结果需扣除空白值。

$$X = \frac{A_i \times A'_{is} \times C_s \times C'_{is} \times V}{A_{is} \times A_s \times C'_{is} \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X —— 试样中曲托啶酚的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；
- C_{is} —— 试样溶液中内标物的浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；
- C_s —— 标准工作溶液中被测物的质量浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；
- C'_{is} —— 标准工作溶液中内标物的浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；
- A_i —— 试样溶液中被测物的色谱峰面积；
- A_{is} —— 试样溶液中内标物的色谱峰面积；
- A_s —— 标准工作溶液中被测物的色谱峰面积；
- A'_{is} —— 标准工作溶液中内标物的色谱峰面积；
- V —— 试样溶液最终体积，单位为毫升（ mL ）；
- m —— 试样溶液所代表的试样质量，单位为克（ g ）。

注：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，且保留3位有效数字。

10 检出限、定量限、回收率和精密度

10.1 检出限和定量限

本方法的检出限（LOD）为3.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限（LOQ）为10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 回收率

本方法在不同基质不同添加水平的回收率范围见附录C。

10.3 精密度

在重复性条件下，本文件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15%。

附 录 A
(资料性)
参考质谱条件¹⁾

参考质谱条件如下:

- a) 扫描模式: ESI正离子模式;
- b) 检测方式: 多反应监测 (MRM);
- c) 离子源温度: 400 °C;
- d) 毛细管温度: 240 °C;
- e) 加热模块温度: 350 °C;
- f) 氮气流速: 3.0 L/min;
- g) 干燥气流速: 10.0 L/min;
- h) 加热器流速: 10.0 L/min;
- i) 其他质谱参数见表A.1。

表 A.1 曲托啶酚的参考保留时间、监测离子对和其他质谱参数

名称	保留时间/min	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	Q1 电压/V	碰撞能量/CE/eV	Q3 电压/V
曲托啶酚	3.60	346.3	164.2 ^a	15	19	15
			137.0	15	45	25
曲托啶酚-D9	3.60	355.2	164.1	16	22	25
^a 为定量离子。						

1) 非商业性声明: 附录A所列参数是在岛津 8050质谱仪完成的, 此处列出试验用仪器型号仅是为了提供参考, 并不涉及商业目的, 鼓励标准使用者尝试不同厂家和型号仪器。

附录 B
(资料性)
标准溶液多反应监测 (MRM) 色谱图

标准溶液多反应监测 (MRM) 色谱图见图 B.1 和图 B.2。

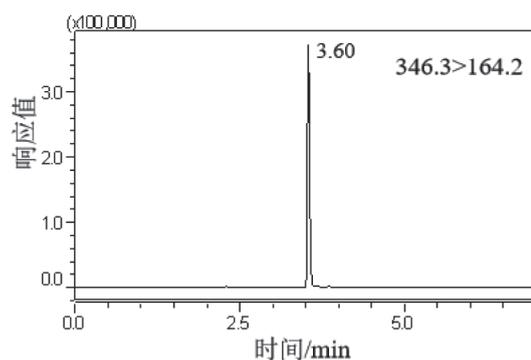


图 B.1 曲托喹酚标准溶液多反应监测色谱图 (2 ng/mL)

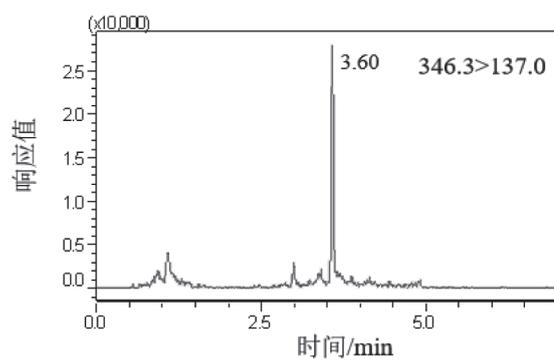
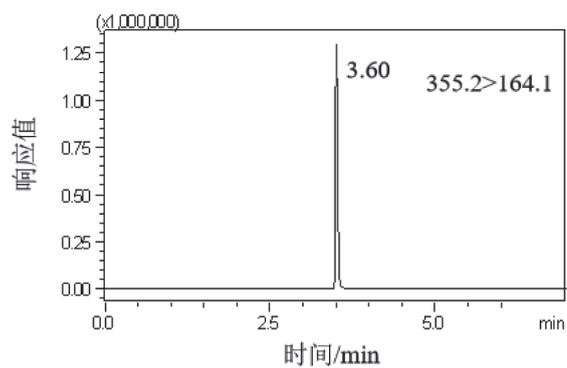


图 B.2 曲托喹酚-D9 标准溶液多反应监测色谱图 (10 ng/mL)



以正式出版文本为准

附录 C

(资料性)

曲托啶酚在 18 种样品基质中添加浓度、回收率及相对标准偏差

曲托啶酚在基质中添加浓度、回收率数据及相对标准偏差见表 C.1。

表 C.1 曲托啶酚在 18 种样品基质中添加浓度、回收率及相对标准偏差

样品	添加浓度 / ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 / %	RSD / %	样品	添加浓度 / ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 / %	RSD / %
辣椒	10.0	92.4 ~ 97.6	2.0	洋葱粉	10.0	86.3 ~ 96.6	3.9
	20.0	88.5 ~ 95.4	3.2		20.0	81.0 ~ 99.3	7.1
	100	94.4 ~ 99.7	1.9		100	89.4 ~ 97.2	3.7
花椒	10.0	90.1 ~ 93.7	1.8	香叶	10.0	90.6 ~ 95.7	1.9
	20.0	93.4 ~ 100	2.5		20.0	92.0 ~ 99.6	2.7
	100	93.1 ~ 98.4	2.2		100	89.6 ~ 99.4	3.8
大料	10.0	84.1 ~ 95.1	4.6	小茴香	10.0	80.1 ~ 98.0	7.8
	20.0	88.8 ~ 98.4	3.9		20.0	91.1 ~ 99.9	3.6
	100	91.8 ~ 98.7	2.4		100	87.2 ~ 97.1	4.0
桂皮	10.0	83.8 ~ 98.2	6.4	陈皮	10.0	90.1 ~ 103	4.6
	20.0	87.8 ~ 98.8	3.9		20.0	91.0 ~ 100	3.3
	100	90.8 ~ 95.6	2.0		100	90.7 ~ 104	5.1
黑胡椒	10.0	91.6 ~ 99.2	3.3	十三香粉	10.0	88.4 ~ 96.7	3.5
	20.0	87.6 ~ 95.8	3.2		20.0	87.5 ~ 96.8	3.9
	100	94.3 ~ 96.5	2.9		100	88.5 ~ 99.4	4.1
白胡椒	10.0	81.1 ~ 95.2	6.0	五香粉	10.0	90.6 ~ 99.0	3.0
	20.0	82.2 ~ 98.4	6.4		20.0	85.2 ~ 103	6.9
	100	86.9 ~ 95.4	3.6		100	92.8 ~ 106	5.0
孜然	10.0	86.6 ~ 98.0	4.5	咖喱粉	10.0	90.9 ~ 102	4.1
	20.0	92.4 ~ 97.4	1.9		20.0	93.4 ~ 102	3.9
	100	87.9 ~ 99.7	4.3		100	90.3 ~ 101	4.7
良姜	10.0	89.0 ~ 101	4.3	意大利风味 香辛料	10.0	89.0 ~ 98.9	4.3
	20.0	88.7 ~ 98.8	4.3		20.0	92.7 ~ 99.0	2.5
	100	83.7 ~ 97.2	5.0		100	87.6 ~ 96.8	3.9
大蒜粉	10.0	85.7 ~ 104	6.9	七味唐辛子	10.0	92.2 ~ 99.1	2.7
	20.0	91.6 ~ 96.1	1.7		20.0	89.0 ~ 95.6	2.8
	100	92.4 ~ 101	3.5		100	92.2 ~ 98.7	2.7