ICS 01.040.65
CCS B 04

TB

团 体 标 准

T/ NAIA×××-××××

枸杞中呋虫胺及其代谢物残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

Determination of dinotefuran and its metabolites residues in wolfberry

Liquid chromatography-mass spectrometry

2021-××-××发布 2021-××-××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》的规定起草。

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：宁夏农产品质量标准与检测技术研究所，宁夏农林科学院农业生物技术研究中心，宁夏回族自治区药品检验研究院。

本文件主要起草人：赵子丹、刘霞、石磊、牛艳、吴燕、王晓静、王晓菁、张艳、杨静、陈翔、杨春霞、张锋锋、开建荣、王彩艳、马铃。

本文件为首次发布。

枸杞中呋虫胺及其代谢物残留量的测定

液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本文件规定了枸杞中呋虫胺及其代谢物残留量的液相色谱-质谱/质谱测定方法。

本文件适用于枸杞中呋虫胺及其代谢物的液相色谱-质谱/质谱法测定。

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

下列术语和定义适用于本文件。

呋虫胺及其代谢物 spinosyn and its metabolites

呋虫胺是一种新型烟碱类杀虫剂，它的代谢物主要有两种，分别是1-甲基-3-[(3-四氢呋喃)甲基]二氢胍盐（即DN）和1-甲基-3-[(3-四氢呋喃)甲基]脲（即UF）。

4 原理

试样用酸化甲醇提取，用十八烷基键合硅胶吸附剂（C_{18}）和 N-丙基乙二胺固相萃取（PSA）分散净化，用液相色谱-质谱/质谱仪测定，外标法定量。

5 试剂与材料

除非另有规定外，所有试剂均为分析纯，水符合GB/T 6682中规定的一级水。

5.1 乙腈（CH_3CN）：色谱纯。

5.2 甲醇（CH_4O）：色谱纯。

5.3 2%乙酸甲醇溶液：取 2 mL 乙酸加入 100 mL 甲醇中混匀。

5.4 N-丙基-乙二胺吸附剂（PSA）：40 μm～63 μm。

5.5 十八烷基键合硅胶吸附剂（C_{18}）：40 μm～63 μm。

5.6 农药标准品：呋虫胺标准品（CAS 号 165252-70-0，纯度 99.4%）、呋虫胺代谢物 UF 标准品（CAS 号 457614-34-5，纯度 93.2%）、呋虫胺代谢物 DN 标准品（CAS 号 457614-32-3，纯度 98.5%）。

5.7　标准溶液配制

5.7.1　呋虫胺及其代谢物标准储备溶液：分别准确称取适量的呋虫胺及其代谢物标准品（精确至 0.01 mg），用乙腈溶解，分别配制成 1000 μg/mL 的标准储备溶液，-18 ℃下保存。

5.7.2　呋虫胺及其代谢物混合标准中间溶液：根据需要分别取适量呋虫胺及其代谢物的标准储备液，用乙腈稀释成 10 μg/mL 标准中间溶液，-18 ℃下保存。

6　仪器与设备

6.1　高效液相色谱-质谱/质谱仪：配有电喷雾离子源（ESI）。

6.2　分析天平：感量 0.01 g 和 0.00001 g。

6.3　组织捣碎机。

6.4　高速万能粉碎机：10000 r/min。

6.5　高速分散机。

6.6　离心机：4000 r/min。

6.7　涡旋混合器。

6.8　离心管：50 mL，塑料。

6.9　滤膜：0.22 μm，有机相。

7　分析步骤

7.1　试样的制备

鲜、干枸杞样品于-18℃冷冻冰箱中保存。试验时将鲜、干枸杞样品取出，鲜样用高速组织捣碎机打浆，干样用高速万能粉碎机（可加少量的液氮）粉碎，分别置于样品袋中，-18 ℃冷冻备用。

7.2　样品提取与净化

7.2.1　鲜果

称取枸杞鲜果 10.00 g（精确至 0.01 g）于 50 mL 离心管，加入 20 mL2%乙酸甲醇，经高速分散机匀浆 2 min 后，4000 r/min 离心 5 min，吸取 2 mL 上清液于 15 mL 离心管中（提前称好 100mg PSA 和 100mg C18）涡旋净化后过 0.22 μm 滤膜，用液相色谱-质谱/质谱测定。

7.2.2　干果

称取枸杞干果 5.00 g（精确至 0.01 g）于 50 mL 离心管，加水 10 mL 复溶 30 min，加入 20 mL2%乙酸甲醇，经高速分散机匀浆 2 min 后，4000 r/min 离心 5 min，吸取 2 mL 上清液于 15 mL 离心管中（提前称好 100mg PSA 和 100mg C18）涡旋净化后过 0.22 μm 滤膜，用液相色谱-质谱/质谱测定。

7.3　测定

7.3.1 液相色谱参考条件

a）色谱柱： C18 柱，100 mm×2.1 mm（i.d），3.5 μm，或性能相当者。

b）柱温：40 ℃。

c）流速：0.3 mL/min。

d）进样量：2.0μL。

e）流动相 A：0.1%甲酸水溶液；

流动相 B：甲醇。

f）梯度洗脱条件见表 1。

表 1 梯度洗脱条件

时间 (min)	流 速 (mL/ min)	0.1%甲酸水溶液 (%)	甲醇 (%)
0.00	0.3	80	20
0.5	0.3	80	20
3.00	0.3	10	90
4.00	0.3	10	90
5.00	0.3	80	20

7.3.2 质谱参考条件

a）电离方式：ESI+；

b）检测方式：多反应监测；

c）离子源温度：500℃；

d）离子化电压：5500v；

e）喷雾气流速：50L/h；

f）气帘气流速：50L/h；

g）碰撞气流速：约200~600L/h。

表2 呋虫胺及其代谢物的多反应离子监测分析参数

名称	保留时间/min	定性离子对/m/z	定量离子对/m/z	去簇电压/V	碰撞能量/eV
呋虫胺	1.79	203.3/87.1 203.3/129	203.3/87.1	54 54	22 16
呋虫胺代谢物 UF	1.47	159.1/102 159.1/67.1	159.1/102	70 70	20 29
呋虫胺代谢物 DN	0.78	158.0/102.1 158.0/57.0	158.0/102.1	65 65	20 30

7.3.3 色谱测定与确证

根据试样中被测物的含量情况，选取响应值适宜的标准工作液进行色谱分析。标准工作

液和待测样液中农药的响应值均应在仪器线性响应范围内。在上述仪器条件下，呋虫胺及其代谢物的保留时间分别约为 1.79、1.47、0.78 min，多反应离子监测色谱图参见附录 A。按照上述条件进行样品测定，若检测样品的色谱峰保留时间与标准品一致，且与浓度相当标准工作溶液的相对丰度一致，相对丰度允许偏差不超过表 1 规定的范围，则可判断样品中存在对应的被测物。

表 1 定性确证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%

7.4 空白试验

除不加试样外，均按上述操作步骤进行。

8 结果计算和表达

用色谱数据处理或按式（1）计算试样中各农药的含量，计算结果需将空白值扣除。

$$X = \frac{A \times C_S \times V}{A_S \times m} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots（1）$$

式中：

X—— 试样中农药的含量，单位为微克每千克（μg /kg）；

A—— 试样中农药的峰面积；

V—— 试样中加入的提取溶液体积，单位为毫升（mL）；

C_S—— 标准工作液中农药的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

A_S—— 标准工作液中农药的峰面积；

m—— 试样的质量，单位为克（g）。

注：测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留两位有效数字。

9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值与其算术平均值的比值（百分率），应符合附录 B 的要求。

10 定量限和回收率

10.1 定量限

本方法的定量限呋虫胺为 0.02 mg/kg，呋虫胺代谢物 UF 为 0.02 mg/kg，呋虫胺代谢物 DN 为 0.02 mg/kg。

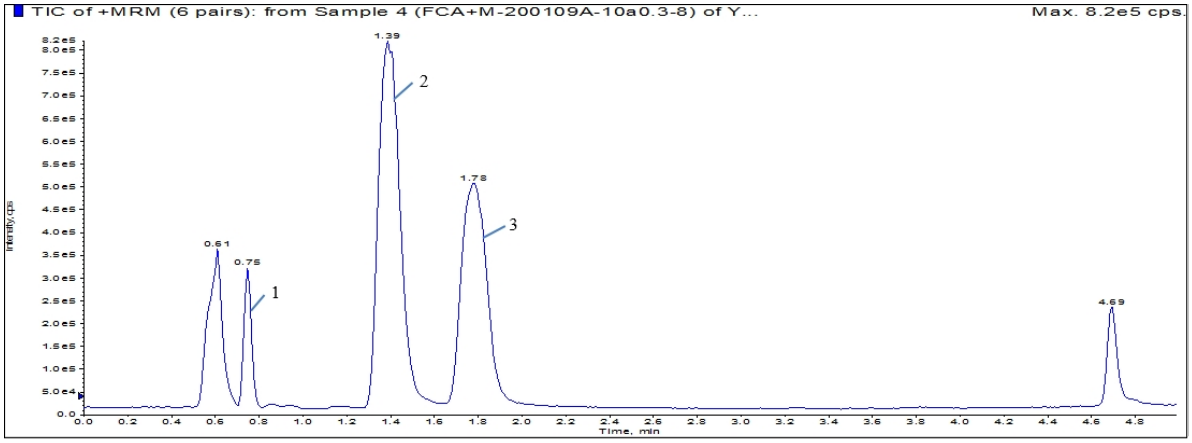
10.2 回收率

本方法的添加浓度和回收率范围见附录 C。

附录 A

（资料性）

呋虫胺及其代谢物标准溶液LC-MS/MS的多反应监测（MRM）色谱图



1—呋虫胺代谢物DN；　2—呋虫胺代谢物UF；　3—呋虫胺

图A.1 呋虫胺及其代谢物标准溶液LC-MS/MS的多反应监测（MRM）色谱图（0.3 μg/mL）

附录 B

（规范性）

实验室内重复性要求

表 B.1 实验室内重复性要求

被测组分含量 mg/kg	精密度 %
≤0.001	33
>0.001≤0.01	27
>0.01≤0.1	16
>0.1≤1	15
>1	15

附录 C

（资料性）

呋虫胺及其代谢物回收率范围

表C.1 呋虫胺及其代谢物在枸杞鲜、干果中的添加浓度及回收率范围（%）

名称	添加浓度（mg/kg）	枸杞鲜果 回收率范围（%）	枸杞干果 回收率范围（%）
呋虫胺	0.02	91.9～97.0	92.2～96.6
	0.2	81.5～88.3	91.0～93.5
	1.0	77.0～80.2	88.4～93.7
UF	0.02	78.2～81.2	92.3～97.7
	0.2	82.1～89.5	89.6～93.4
	1.0	79.3～83.6	85.0～91.0
DN	0.02	81.3～86.6	75.6～84.0
	0.2	86.9～91.9	76.1～81.9
	1.0	77.1～84.1	81.0～85.8