ICS 65.100
CCS X 04

FQIA

福建省质量检验协会团体标准

T/FQIA 004—2022

茶叶中茅草枯、草芽畏残留量的测定 液相色谱-质谱联用法

Determination of Dalapon, 2,3,6-TBA residues in tea by liquid chromatography - mass spectrometry method

（征求意见稿）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上

2022-0X-XX 发布 **2022-0X-XX 实施**

福建省质量检验协会 发布

目 次

前 言 II
1 范围 1
2 规范性引用文件 1
3 术语和定义 1
4 原理 1
5 试剂和材料 1
5.1 试剂 1
5.2 溶液配制 1
5.3 标准品 2
5.4 标准溶液配制 2
5.5 材料 2
6 仪器和设备 2
7 试样制备和储存 2
7.1 试样制备 3
7.2 试样保存 3
8 分析步骤 3
8.1 前处理 3
8.2 测定 3
8.3 试样溶液的测定 5
8.4 平行试验 5
8.5 空白试验 5
9 结果计算 5
10 精密度 5
11 其他 5
附 录 A （资料性）茅草枯、草芽畏的多反应监测（MRM）色谱图 6
附 录 B **（资料性）**精密度要求 7

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。

本文件由福建恒正检测技术有限公司提出。

本文件由福建省质量检验协会归口。

本文件起草单位：XXX。

本文件起草人：XXX。

本文件为首次发布。

茶叶中茅草枯、草芽畏残留量的测定 液相色谱-质谱联用法

1 范围

本文件规定了茶叶中茅草枯、草芽畏残留量的液相色谱-质谱测定方法。

本文件适用于茶叶中茅草枯、草芽畏残留量的测定。

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

GB/T 8303 茶 磨碎试样的制备及其干物质含量测定

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

茶叶样品用水提取，提取液经固相萃取净化后，以液相色谱-质谱联用仪检测，外标法定量。

5 试剂和材料

除另有说明，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 乙腈（CH_3CN，CAS号：75-05-8）：色谱纯。

5.1.2 甲醇（CH_3OH，CAS 号： 67-56-1）：色谱纯。

5.1.3 甲酸（HCOOH，CAS 号：64-18-6）：色谱纯。

5.1.4 乙酸（CH_3COOH，CAS 号：64-19-7）。

5.1.5 氨水（$NH_3 \cdot H_2O$，CAS号：1336-21-6）：色谱纯。

5.1.5 乙酸铵（CH_3COONH_4，CAS号：631-61-8）：色谱纯。

5.2 溶液配制

5.2.1 3%乙酸溶液：移取3 mL乙酸，用水定容至100 mL，摇匀，静置。

5.2.2 洗脱液：移取1 mL氨水、19 mL甲醇和80 mL乙腈，摇匀，静置。

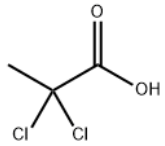
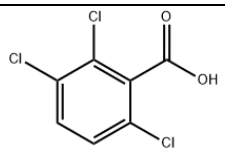
5.2.3 80%乙腈水溶液：移取80 mL乙腈和20 mL水，摇匀，静置。

5.2.4 流动相A：称取0.1927 g乙酸铵，加入0.5 mL甲酸，用水定容至500 mL，摇匀，静置。

5.3 标准品

5.3.1 茅草枯标准物质，纯度≥98%，或使用标准溶液。
5.3.2 草芽畏标准物质，纯度≥98%，或使用标准溶液。
5.3.3 茅草枯、草芽畏标准物质基本信息见表1

表1 标准物质基本信息

中文名称	英文名称	CAS号	分子式	分子量	结构式
茅草枯	Dalapon	127-20-8	$C_3H_4Cl_2O_2$	225.45	
草芽畏	2, 3, 6-TBA	50-31-7	$C_7H_3Cl_3O_2$	142.97	

5.4 标准溶液配制

5.4.1 茅草枯标准储备溶液（1000 μg/mL）：称取10 mg（精确至0.1 mg）茅草枯标准品，用乙腈溶解并定容至10 mL，0～4 ºC避光保存，有效期6个月。
5.4.2 草芽畏标准储备溶液（1000 μg/mL）：称取10 mg（精确至0.1 mg）草芽畏标准品，用乙腈溶解并定容至10 mL，0～4 ºC避光保存，有效期6个月。
5.4.3 混合标准中间溶液 (10 μg/mL)：移取100 μL茅草枯、100 μL草芽畏标准储备溶液，用乙腈定容至10 mL，0～4 ºC避光保存，有效期1个月。
5.4.4 混合标准使用溶液 (500 ng/mL)：移取500 μL混合准标准中间溶液，用乙腈定容至10 mL，0～4 ºC避光保存，有效期1个月。

5.5 材料

5.5.1 WAX固相萃取柱（部分厂商型号为PWAX）：60 mg，3 mL，或相当者。
5.5.2 微孔滤膜（有机相）：13 mm×0.22 μm，或相当者。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-质谱联用仪（LC-MS/MS，三重四极杆质谱），配电喷雾离子源（ESI）。
6.2 分析天平：感量0.1 mg和感量0.01 g。
6.3 离心机：转速不低于10000 r/min。
6.4 氮吹浓缩仪。
6.5 涡旋混合器。
6.6 组织捣碎机。

7 试样制备和储存

7.1 试样制备

茶叶样品约500 g，按GB/T 8303方法粉碎后充分混匀，放入聚乙烯瓶或袋中。

7.2 试样保存

将试样密封并贴好标识，避光存放。

8 分析步骤

8.1 前处理

称取2 g试样（精确至0.01 g）于50 mL塑料离心管中，加入20 mL水，涡旋10 min，然后以5000 r/min离心10 min。吸取10 mL上清液转移至另一塑料离心管中，加入5 mL 3%乙酸（4.2.1），摇匀。

所有液体移入已用3 mL甲醇、3 mL水活化的WAX柱中，再依次用 4 mL 3%乙酸（4.2.1）、4 mL甲醇淋洗，弃去淋洗液，然后用 2 mL洗脱液（4.2.2）洗脱，收集洗脱液，氮气吹至近干，用80 %乙腈水溶液（4.2.3）定容至 1.00 mL，过微孔滤膜，供液相色谱-质谱联用仪测定。

8.2 测定

8.2.1 液相色谱参考条件

a）色谱柱：Shin-pack Velox HILIC（2.1 mm * 100 mm，2.7 μm），或相当者；
b）流动相：流动相A（5.2.4），流动相B（乙腈）；
c）柱温：40 ºC；
d）进样量：5 μL；
e）流动相及梯度洗脱条件：见表2。

表2 流动相及梯度洗脱条件

步骤	时间（min）	流速（mL/min）	流动相 A（%）	流动相 B（%）
1	0	0.4	15	85
2	0.50	0.4	15	85
3	1.00	0.4	15	85
4	2.00	0.4	50	50
5	3.50	0.4	50	50
6	3.60	0.4	15	85
7	5.00	0.4	15	85

8.2.2 质谱参考条件

a）离子源类型：电喷雾离子源（ESI）；
b）离子源模式：负离子模式；
c）雾化气：氮气；
d）雾化气流速：40 μL/min；

e）喷雾电压：–4500 V；
f）离子源温度：550 ºC；
g）干燥气温度：550 ºC；
h）干燥气流速：40 μL/min；
i）气帘气流速：30 μL/min；
j）扫描模式：多反应监测模式（MRM）；
k）监测离子及相关参数：见表3。

表3 监测离子及相关参数

目标物	保留时间/min	母离子	子离子	去簇电压/V	碰撞能/V
茅草枯	0.63	149.9	104.9*	-20	-10.1
		149.9	96.9		-11
草芽畏	0.62	178.9	35.0*	-55	-24
		224.9	180.9		-10
		222.9	178.9		-10
*为定量离子，其余为定性离子。					

8.2.3 基质标准曲线

取空白试样，按7.1处理至收集洗脱液，移取适量的混合标准使用溶液并加入，稀释成质量浓度为2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL的基质标准溶液，供液相色谱-质谱联用仪测定。

8.2.4 定性及定量

8.2.4.1 保留时间

被测试样中目标物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，相对误差应在±2.5%之内。

8.2.4.2 离子丰度比

在相同实验条件下进行样品测定时，如果检出的色谱峰的保留时间与标准样品相一致，并且在扣除背景后的样品质谱图中，所选择的离子均出现，而且对于同一检测批次，样品中目标物的定性离子和定量离子的相对丰度比与质量浓度相当的基质标准溶液相比，其允许偏差不超过表4规定的范围，则可判断样品中存在目标物。

表4 定性测定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%
允许相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

本方法的标准物质多反应监测LC-MS/MS图参见附录A。

8.2.4.3 定量

外标法定量，以目标物基质标准溶液质量浓度为横坐标、定量离子峰面积为纵坐标，建立基质标准曲线。

8.3 试样溶液的测定

将基质标准溶液和试样溶液依次注入液相色谱-质谱联用仪中，以保留时间和定性离子定性，测得定量离子峰面积，试样溶液中目标物的响应值应在仪器检测的定量测定线性范围之内，超过线性范围时应根据测定浓度进行适当倍数稀释后再进行分析。

8.4 平行试验

按8.1 ~ 8.3的步骤对同一试样进行平行测定。

8.5 空白试验

除不称取试样外，均按8.1 ~ 8.3的步骤进行空白测定。

9 结果计算

液相色谱-质谱测定采用标准曲线法定量，标准曲线法定量结果按式（1）计算：

$$X_i = \frac{c_i \times f \times V \times D}{m \times 1000} \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：

X_i —— 试样中被测组分残留量，mg/kg；

c_i —— 从标准曲线上得到的被测组分浓度，ng/mL；

f —— 超过线性范围时的稀释倍数；

V —— 试样溶液定容体积，mL，V = 1；

D —— 修正系数，D = 20/10；

m —— 试样溶液所代表试样的质量，g。

计算结果应扣除空白值，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，保留2位有效数字。含量超过1 mg/kg时，保留3位有效数字。

10 精密度

在重复性条件下，检测结果变异系数（CV%）应符合附录B的表B.1要求。

在再现性条件下，检测结果变异系数（CV%）应符合附录B的表B.2要求。

11 其他

本方法各项目回收率45% ~ 110%。

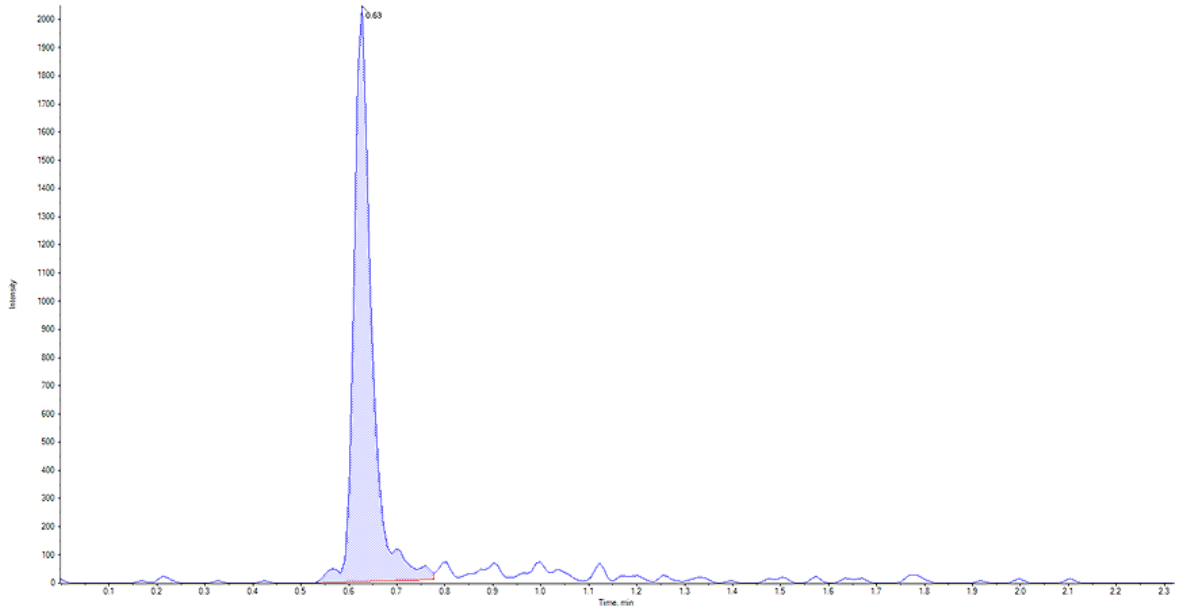
本方法各项目检出限为0.005 mg/kg。

本方法各项目定量限为0.015 mg/kg。

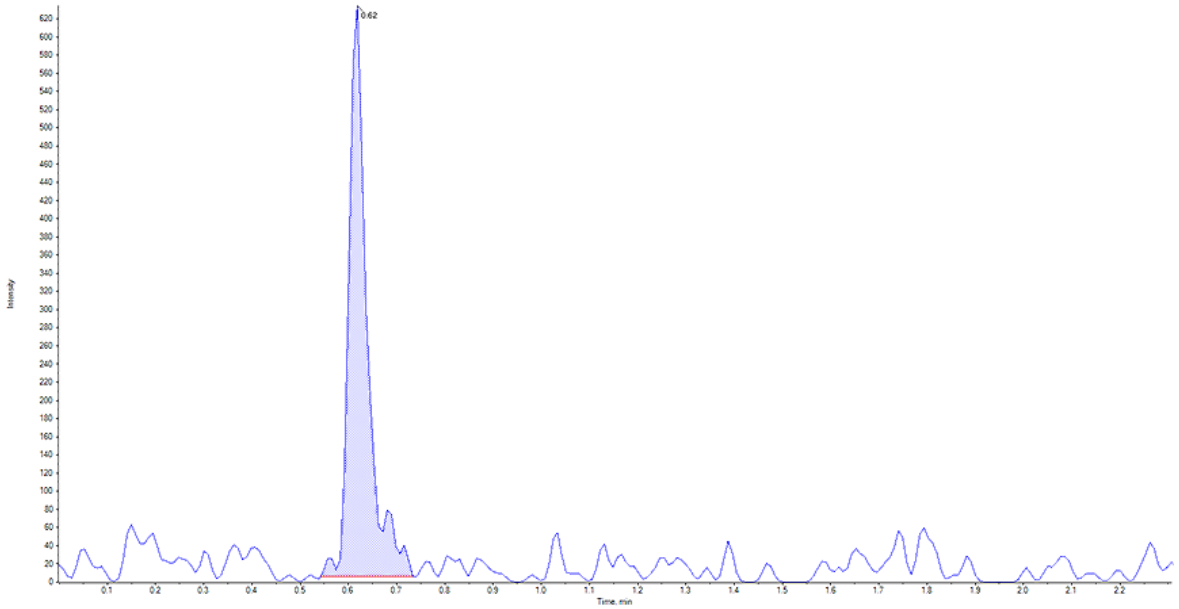
附 录 A

（资料性）

茅草枯、草芽畏的多反应监测（MRM）色谱图



图A.1 茅草枯MRM色谱图（140.9 –> 104.9，10 ng/mL）



图A.2 草芽畏MRM色谱图（178.9 –> 35.0，10 ng/mL）

附 录 B

（资料性）

精密度要求

表 B.1 实验室内重复性要求

被测组分含量， mg/kg	实验室内变异系数（CV）， %
≥ 0.01，≤ 0.1	21
＞ 0.1，≤ 1	15
＞ 1	11

表 B.2 实验室间再现性要求

被测组分含量， mg/kg	实验室间变异系数（CV）， %
≥ 0.01，≤ 0.1	34
＞ 0.1，≤ 1	25
＞ 1	19