ICS 65.100
CCS X 4

T/FQIA

团 体 标 准

T/FQIA 018—2023

茶青中草铵膦、草甘膦残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of Glyphosate and Glyphosate Residues in Tea Leaves - Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry Method

（征求意见稿）

（本草案完成时间：）

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。

2023－12－XX 发布 2023－12－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　试样的制备与保存 2
8　分析步骤 2
8.1　前处理 2
8.2　测定 3
8.3　试样溶液的测定 4
8.4　平行试验 4
8.5　空白试验 4
9　结果计算和表述 4
10　灵敏度、准确度和精密度 4
10.1　灵敏度 4
10.2　准确度 5
10.3　精密度 5
附录A（资料性）　草甘膦、草铵膦、氨甲基膦酸衍生物的英文中文名称对照索引 6
附录B（资料性）　草甘膦、草铵膦、氨甲基膦酸衍生物的保留时间、母离子、子离子及离子对质谱参数 7
附录C（资料性）　草甘膦、草铵膦、氨甲基膦酸衍生物的多反应监测（MRM）色谱图（20.0 μg/L） 8

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。

本文件由福州海关技术中心提出。

本文件由福建省质量检验协会归口。

本文件起草单位：福州海关技术中心

本文件主要起草人：刘正才

本文件为首次发布。

茶青中草铵膦、草甘膦残留量的测定
液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了茶青中草铵膦、草甘膦以及氨甲基膦酸残留量的液相色谱-串联质谱测定方法。
本文件适用于茶青中草铵膦、草甘膦以及氨甲基膦酸残留量的测定。

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
NY/T 2102-2011 茶叶抽样技术规范

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样用水提取，经C18与GCB双层固相萃取小柱净化，与9-芴基甲基三氯甲烷[9-Fluorenylmethylchloro-formatd(FMOC-CL)]衍生化反应后，用液相色谱-串联质谱仪测定，内标法定量。

5 试剂和材料

5.1 试剂

5.1.1 乙腈（CH_3CN，CAS 号：75-05-8）：色谱纯。
5.1.2 丙酮（CH_3COCH_3，CAS 号：67-64-1）。
5.1.3 甲酸（HCOOH，CAS 号：64-18-6）：色谱纯。
5.1.4 乙酸铵（CH_3COONH_4，CAS 号：631-61-8）：色谱纯。
5.1.5 甲醇(CH_3OH，CAS 号：67-56-1）：色谱纯。
5.1.6 盐酸(HCl)。
5.1.7 氢氧化钾(KOH)。
5.1.8 硼酸钠（$Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$）。
5.1.9 氯甲酸-9-芴基甲酯（$C_{15}H_{11}ClO_2$，CAS 号：28920-43-6）：纯度 99%，0℃~4℃保存
5.1.10 除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 中规定的一级水。

5.2 溶液配制

5.2.1 5% 硼酸钠溶液：称取 5 g 硼酸钠，溶解于 100 mL 水中摇匀即得。
5.2.2 3 mol/L 盐酸溶液、0.3 mol/L 盐酸溶液：量取 270 mL 盐酸，加适量水并稀释至 1000 mL，此溶液浓度为 3 mol/L；再用水稀释 10 倍即为 0.3 mol/L。
5.2.3 氢氧化钾溶液（20%）：称取 20 g 氢氧化钾溶于适量水，并用水稀释定容至 100 mL。
5.2.4 酸度调节剂：称取 16 g 磷酸二氢钾溶于 160 mL 水中，加入 13.4 mL 盐酸和 40 mL 甲醇，混匀。

5.2.5 FMOC-CL 衍生化试剂（1.0 g/L）：称取 0.10 g FMOC-CL，用丙酮溶解并定容至 100 mL。

5.3 标准品

5.3.1 草甘膦（PMG）标准物质（Glyphosate，CAS号：1071-83-6，分子式：C3H8NO5P）。
5.3.2 草铵膦（AMG）标准品（Glufosinate ammonium CAS号：77182-82-2，分子式：C5H15N2O4P）：纯度≥98%。
5.3.3 氨甲基膦酸（AMPA）标准物质（Aminomethylphosphonic acid，CAS号：1066-51-9，分子式：CH6NO3P）：纯度不低于98.0%）。
5.3.4 草甘膦同位素内标：草甘膦-C13N15，纯度为100 mg/L水溶液。

5.4 标准溶液配制

5.4.1 标准储备溶液（1000 mg/L）：分别准确称取 0.0125 g（精确到 0.1 mg）草铵膦、草甘膦以及氨甲基膦酸于 25 mL 容量瓶，分别加入适量水以及 2 滴盐酸。充分摇匀确保其全部溶剂，加水定容至刻度，装于塑料瓶中，置于 0 ℃~ 4 ℃冰箱避光保存，有效期 1 年。

5.4.2 同位素内标工作液（2.0 mg/L）：用水稀释成 2.0 mg/L，置于 0 ℃~ 4 ℃冰箱避光保存，有效期为 6 个月。

5.4.3 混合标准溶液：据每种储备液的浓度，移取一定量的单个储备液于 25 mL 容量瓶中，用水定容至刻度。混合标准溶液避光 0 ℃~ 4 ℃保存，保存期为一个月。

5.5 材料

5.5.1 固相萃取小柱：C18 与 GCB 双层固相萃取小柱（ 6 mL，500 mg）或相当者。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-质谱联用仪：配有电喷雾离子源（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 4000 r/min。
6.4 高速离心机：转速不低于 10000 r/min。
6.5 容量瓶：10 mL 到 100 mL。
6.6 涡旋混合器。
6.7 带螺盖的离心试管：50 mL 和 15 mL。
6.8 氮吹仪。

7 试样的制备与保存

按NY/T 2102-2011抽取茶青样品，将样品粉碎，混匀，密封，作为试样；在抽样和制样的操作过程中，应防止样品受到污染或发生残留物含量的变化；将试样于-18 ℃及以下冷冻保存。

8 分析步骤

8.1 前处理

8.1.1 提取

称取约2 g（精确至 0.01 g）均匀试样，置于50 mL塑料离心管中，加入200 μL同位素内标工作溶液（5.4.2），加入20 mL 水，涡旋振荡5 min，超声提取30 min，以5000 r/min 离心10 min，取上清液，待净化。

8.1.2 净化

分别用3 mL甲醇和3 mL水预淋洗固相萃取柱，弃去流出液。将 5 mL待净化的上清液加入活化后的固相萃取柱中，依自然重力过柱，收集中间部分洗脱液 2 mL，待衍生化。

8.1.3 衍生化

取0.40 mL收集液（8.1.2）于15 mL 离心管中加入0.40 mL 5 %四硼酸钠溶液，混匀，再加入0.5 mL 1 g/L衍生化试剂（5.2.5），涡旋混匀，室温静置衍生化反应2 h后，于4 ℃~ 8 ℃冰箱中放置过夜。取衍生后的样液放置至室温，以4000 r/min离心2 min，上清液过0.22 μm 孔径滤膜，供液相色谱质谱联用仪测试。另取0.40 mL标准工作液体（5.4.2），与试液同步进行衍生。

8.2 测定

8.2.1 液相色谱参考条件

a） 色谱柱：Shim-pack GISS-HP C18 3 μm，2.1×150 mm 或者相当者；
b） 流动相：A 为 5 mmol/L 乙酸铵+ 0.2%甲酸水溶液， B 为乙腈，梯度洗脱程序见表 1；
c） 流速：0.30 mL/min；
d） 柱温：室温；
e） 进样量：5 μL；

表 1 流动相及其梯度条件

步骤	总时间/min	流动相 A /%	流动相 B /%
0	0.0	85	15
1	1.0	85	15
2	3.0	10	90
3	4.5	10	90
4	6.5	85	15
5	8.0	85	15

8.2.2 质谱参考条件

a） 离子源类型：电喷雾离子源 ESI；
b） 扫描方式：正离子扫描；
c） 雾化气、气帘气、辅助加热气、碰撞气均为高纯氮气或其他合适气体；使用前应调节各气体流量以使质谱灵敏度达到检测要求；
d） 气帘气压力（CUR）：35；
e） 雾化器压力(GS1)：55 Psi（氮气）；
f） 加热辅助气(GS2)：55 Psi（氮气）；
g） 雾化温度：450℃；
h） 离子源喷雾电压 IS：4500
i） 草铵膦、草甘膦、氨甲基膦酸：离子对、锥孔电压和碰撞能量参见附录 B。
j） 检测方式：多反应监测：每种农药分别选择一对定量离子、一对定性离子。每组所有需要检测离子对按照出峰顺序，分时段分别检测。每种农药的保留时间、定量离子对、定性离子对和离子对质谱参数，参见附录 B。

8.2.3 基质匹配标准工作曲线

选择与被测样品性质相同或相似的空白样品8.1部分进行前处理，得到空白基质溶液。精确吸取一定量混合标准溶液，用空白基质溶液稀释成质量浓度为0.025 mg/L、0.050 mg/L、0.10 mg/L、0.25 mg/L、0.50 mg/L的基质匹配标准工作溶液，根据仪器性能和检测需要选择不少于5个浓度点，供液相色谱-质谱联用仪测定。以农药定量离子的质量色谱图峰面积为纵坐标，相对应的基质匹配工作溶液质量浓度为横坐标，绘制基质匹配标准工作标准曲线。基质匹配标准工作溶液应现用现配。

8.2.4 定性及定量

8.2.4.1 保留时间

被测试样中目标农药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，目标化合物的质谱定量和定性离子均出现，而且同一检测批次，对同一化合物，样品中目标化合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2规定的范围，则可判断样品中存在目标农药。

表 2 定性时离子丰度比的最大允许偏差

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C。

8.2.4.3 定量

内标法定量。

8.3 试样溶液的测定

将基质混合标准工作溶液和试样溶液依次注入液相色谱-质谱联用仪中，保留时间和定性离子定性，测得定量离子峰面积，待测样液中农药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的规定对同一试样进行平行试验测定。

8.5 空白试验

除不加试样外，按8.1～8.3的规定进行平行操作。

9 结果计算和表述

试样中各农药残留量以质量分数X计，单位为毫克每千克（mg/kg），按式（1）计算。

$$X = \frac{C \times C_i \times A \times As_i \times V}{C_{si} \times A_i \times A_s \times m} \times \frac{1}{1000} \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：X ——样品中除草剂农药残留量，单位为微克每千克（mg/kg）；

C ——标准工作溶液中除草剂的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

Ci ——样液中内标物的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

A ——样液中利除草剂农药的峰面积；

A_{si} ——标准工作溶液中内标物的峰面积；

V ——样品溶液最终定容体积，单位为毫升（mL）；

C_{si} ——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 ——样液中内标物的峰面积；

A_s ——标准工作溶液中利巴韦林的峰面积；

m ——最终样液代表的试样质量，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，保留2位有效数字。当结果大于1 mg/kg时，保留3位有效数字。

10 灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法各项目定量限为0.05 mg/kg。

10.2 准确度

本方法在0.050 mg/kg~0.500 mg/kg添加浓度的回收率为60% ~120%。

10.3 精密度

在重复性条件下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的15%。

附 录 A
（资料性）
草甘膦、草铵膦、氨甲基膦酸衍生物的英文中文名称对照索引

草甘膦、草铵膦、氨甲基膦酸衍生物的英文中文名称对照索引见表A.1。

表 A.1 草甘膦、草铵膦、氨甲基膦酸衍生物的英文中文名称对照索引表

序号	农药中文名	农药英文名	CAS号	分子式
1	草甘膦	Glyphosate	1071-83-6	$C_3H_8NO_5P$
2	草铵膦	Glufosinate-ammonium	77182-82-2	$C_5H_{18}N_3O_4P$
	氨甲基膦酸	(Aminomethyl)phosphonic acid	1066-51-9	CH_6NO_3P

附 录 B
（资料性）
草甘膦、草铵膦、氨甲基膦酸衍生物的保留时间、母离子、子离子及离子对质谱参数

草甘膦、草铵膦、氨甲基膦酸衍生物的保留时间、母离子、子离子及离子对质谱参数见表B.1

表 B.1 草甘膦、草铵膦、氨甲基膦酸衍生物的保留时间、母离子、子离子及离子对质谱参数表

组分名称	保留时间/min	定量离子对 m/z	定性离子对 m/z	去簇电压（DP）/V	入口电压（EP）/V	碰撞能量（CE）/eV	碰撞池出口电压（CXP）/V
草甘膦-FMOC	3.18	392.2/88.1	392.2/88.1	60	10	30	15
			392.2/214.1	60	10	15	15
氨甲基膦酸-FMOC	3.24	334.1/179.2	334.1/179.2	55	10	28	15
			334.1/112.1	55	10	17	15
草铵膦-FMOC	3.33	404.2/136.2	404.2/136.2	70	10	29	15
			404.2/179.2	70	10	22	15
PMG-13C2,15N-FMOC	3.20	395.2/91.1	395.2/91.1	70	10	30	15

非商业性声明：表 B.1 所列参考质谱条件是在 API4000 UPLC/MS/MS 型液质联用仪上完成的，此处列出试验用仪器型号仅为提供参考，并不涉及商业目的，鼓励标准使用者尝试不同厂家或型号的仪器。

附　录　C
（资料性）

草甘膦、草铵膦、氨甲基膦酸衍生物的多反应监测（MRM）色谱图（20.0 μg/L）

草甘膦、草铵膦、氨甲基膦酸衍生物的多反应监测（MRM）色谱图见图C.1

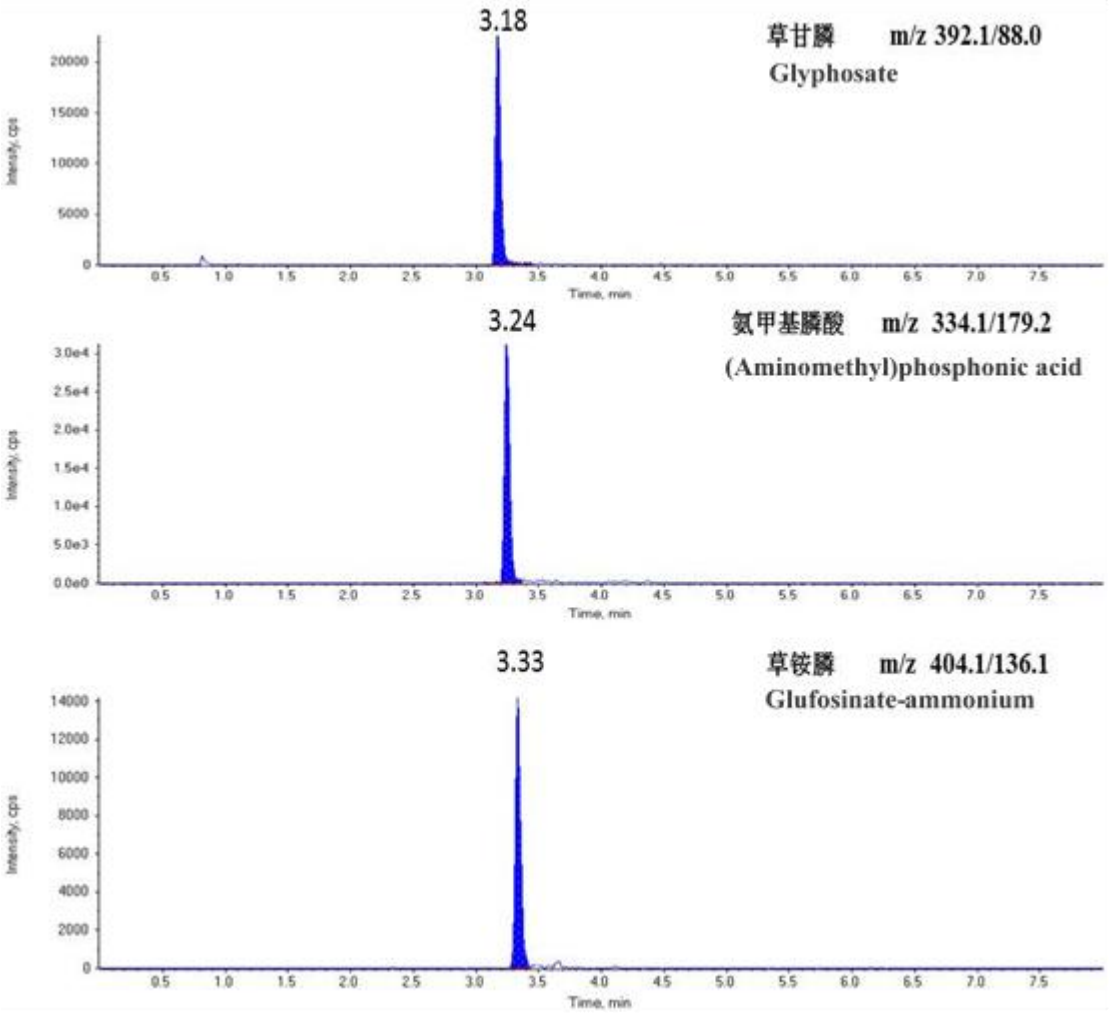

图 C.1 草甘膦、草铵膦、氨甲基膦酸衍生物的多反应监测（MRM）色谱图（20.0 μg/L）