ICS
CCS

团　体　标　准

T/GDNB XXXX—2023

豇豆中灭蝇胺的快速分析
液相色谱-质谱联用法

Fast analysis of cyromazine in cowpea—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。

XXXX－XX－XX 发布　　XXXX－XX－XX 实施

广东省农业标准化协会　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。

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。

本文件由广东省农业标准化协会提出并归口。

本文件起草单位：广东省农业科学院农业质量标准与监测技术研究所，广东农科监测科技有限公司，梅州市农产品质量监督检验测试中心，茂名市农产品质量监督检验测试中心，佛山市农产品质量安全监督检测中心，佛山市顺德区农业综合技术中心，广东省农业标准化协会。

本文件主要起草人：黄健祥，梁健梅，黄聪灵，钟海强，唐雪妹，谢书越，刘怀韬，李平，马合勤，陈炎，王旭，万凯。

豇豆中灭蝇胺的快速分析 液相色谱-质谱联用法

1 范围

本文件规定了豇豆中灭蝇胺的快速分析 液相色谱-质谱联用法。

本文件适用于豇豆中灭蝇胺残留量的高效液相色谱-质谱法的测定。

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 2763—2021 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试样用乙腈（含15%乙酸，v%）提取，提取液经分散固相萃取净化，液相色谱-质谱联用仪检测，外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有说明，在分析中仅使用分析纯的试剂，水为GB/T 6682规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1 乙腈（CH_3CN，CAS号：75-05-8）：色谱纯。

4.1.2 甲醇（CH_3OH，CAS号：67-56-1）：色谱纯。

4.1.3 甲酸（HCOOH，CAS号：64-18-6）：色谱纯。

4.1.4 乙酸（CH_3COOH，CAS号：64-19-7）。

4.1.5 甲酸铵（NH_4HCO_2，CAS号：540-69-2）：色谱纯。

4.1.6 氯化钠（NaCl，CAS号：7647-14-5）。

4.1.7 无水硫酸镁（$MgSO_4$，CAS号：7487-88-9）。

4.2 溶液配置

4.2.1 乙腈-乙酸溶液（85+15，体积比）：量取150 mL乙酸，加入850 mL乙腈中，混匀。

4.2.2 甲酸水溶液（999+1，体积比）：量取1 mL甲酸，加入999 mL水中，混匀。

4.3 标准品

1000 mg/L灭蝇胺标准溶液（纯度≥95%）。

4.4 标准溶液配置

4.4.1 标准储备溶液（100 mg/L）：吸取一定量的1000 mg/L灭蝇胺标准溶液于容量瓶中用乙腈（4.1.1）定容至刻度，避光-18℃及以下条件保存，有效期6个月。

4.4.2 标准工作溶液（10 mg/L）：吸取一定量的100 mg/L灭蝇胺标准溶液（4.4.1）于容量瓶中用乙腈（4.1.1）定容至刻度，避光-18℃及以下条件保存，有效期为3个月。

4.5 材料

4.5.1 乙二胺-*N*-丙基硅烷吸附剂（PSA）：粒径40 μm～60 μm。
4.5.2 石墨化炭黑（GCB）：粒径 40 μm～120 μm。
4.5.3 陶瓷均质子：4 mm（直径），或相当者。
4.5.4 微孔滤膜（有机相）：13 mm×0.22 μm，或相当者。

5 仪器

5.1 高效液相色谱-串联三重四级杆质谱仪，配备电喷雾离子源（ESI）。
5.2 分析天平：感量0.1 mg和0.01 g。
5.3 涡旋混合器。
5.4 离心机。
5.5 组织捣碎机。

6 试样制备与储存

样品测定部位按照GB 2763—2021中附录A的规定执行。豇豆随机取样1.5 kg。取后的样品将其切碎，充分混匀，用四分法取一部分或全部用组织捣碎机粉碎后，放入聚乙烯瓶中。

将试样按照测试和备用分别存放，于-18℃及以下条件保存。

7 分析步骤

7.1 样品前处理

称取10 g试样（精确至0.01g）于50 mL塑料离心管中，加入10 mL乙腈（含15%乙酸，4.2.1）、1 g 氯化钠、4 g无水硫酸镁和5颗陶瓷均质子，剧烈振荡2 min后以4500 r/min离心5 min。吸取上清液5 mL于15 mL塑料离心管中，管中加入15 mg GCB、150 mg PSA和835 mg无水硫酸镁，涡旋振荡1 min后以4500 r/min离心5 min。取1 mL上清液过0.22 μm尼龙滤膜，待测定。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱参考条件

a）色谱柱：C_{18}，2.0 mm（内径）×50 mm, 粒径1.6 μm，或相当者；
b）流动相：A相为甲酸水溶液（4.2.2），B相为乙腈（4.1.1），流动相梯度条件见表1；
c）流速：0.4 mL/min；
d）柱温：40℃；
e）进样量：1 μL。

表 1 流动相及梯度条件（V_A+V_B）

时间 min	V_A	V_B
0	95	5
2.5	70	30
2.6	95	5
4.0	95	5

7.2.2 质谱参考条件

a）离子源类型：电喷雾离子源；
b）扫描方式：正离子扫描；
c）雾化气：3 L/min；
d）干燥气：10 L/min；
e）加热气：10 L/min；

f）离子源接口温度：300℃；
g）加热块温度：400℃；
h）脱溶剂温度：250℃；
i）多反应监测：灭蝇胺的保留时间、前体离子、产物离子及离子对质谱参数见表2。

表 2　灭蝇胺的质谱检测参数

农药	前体离子 (*m/z*)	产物离子 (*m/z*)	驻留时间 (ms)	Q1 Pre Bais (V)	碰撞能量 (eV)	Q3 Pre Bais (V)
灭蝇胺	167.10	68.00*	200	-15.0	30.0	-27.0
		60.00	200	-15.0	19.0	-23.0
注：*为定量离子						

7.2.3 基质匹配标准工作曲线

选择与被测豇豆样品性质相同或相似的空白样品按照7.1部分进行前处理，得到空白基质溶液。精确吸取一定量的灭蝇胺标准溶液，逐级用空白基质溶液稀释成质量浓度为0.005 mg/L、0.010 mg/L、0.050 mg/L、0.10 mg/L、0.50 mg/L和1.00 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。以农药定量用产物离子的质量色谱图峰面积为纵坐标，相对应的基质匹配标准工作溶液质量浓度为横坐标，绘制基质匹配标准工作曲线。

7.2.4 定性及定量

7.2.4.1 保留时间：被测试样中灭蝇胺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。

7.2.4.2 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，灭蝇胺选择的产物离子均出现，而且同一检测批次，样品中灭蝇胺的离子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 3 规定的范围，则可判断样品中存在灭蝇胺。

表 3　灭蝇胺定性时离子丰度比的最大允许偏差

离子丰度比/%	＞50	＞20~50	＞10~20	≤10
允许相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

7.2.4.3 定量：外标法定量。

7.3 试样溶液的测定

将基质匹配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，保留时间和离子丰度比定性，测得定量用产物离子的质量色谱图峰面积，待测样液中灭蝇胺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。

7.4 平行试验

按以上步骤对同一试样进行平行试验测定。

7.5 空白试验

除不加试样外，采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

8　结果计算

试样中灭蝇胺残留量以质量分数ω计，单位为毫克每千克（mg/kg），按公式（1）计算。计算结果保留 2 位有效数字；含量超过 1 mg/kg 时保留 3 位有效数字。

$$\omega = \frac{\rho \times V}{m} \times \frac{1000}{1000} \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：
ω ——试样中灭蝇胺残留量的数值（mg/kg）；
ρ ——从基质匹配标准工作曲线中得到的试样溶液中灭蝇胺质量浓度数值（mg/L）；
V ——提取液体积的数值（mL）；
m ——试样质量的数值（g）。

9 精密度

在重复性条件下，获得 2 次独立结果的绝对差值不超过重复性限（r），参见附录 A。
在再现性条件下，获得 2 次独立结果的绝对差值不超过重复性限（R），参见附录 A。

10 其它

本标准方法对灭蝇胺的定量限为 0.010 mg/kg。灭蝇胺标准溶液色谱图如图1所示。

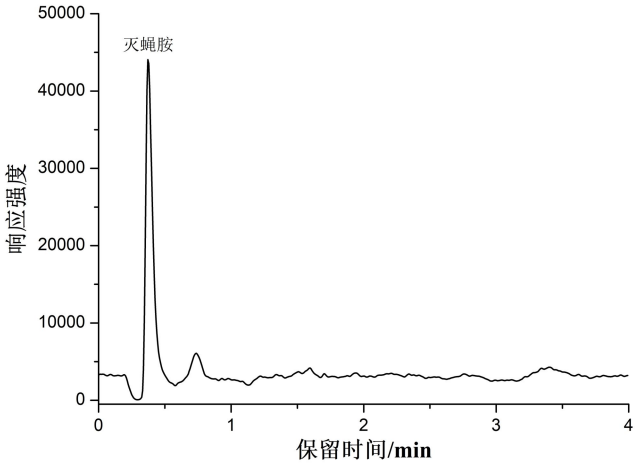

图 1　0.10 mg/L 灭蝇胺标准溶液色谱图

附　录　A
（资料性）
精密度的表示和计算

表 A.1　重复性限（*r*）

农药中文名	农药英文名	重复性限（*r*）			
		0.010 mg/kg	0.10 mg/kg	0.50 mg/kg	1.00 mg/kg
灭蝇胺	cyromazine	0.0011	0.0073	0.036	0.060

表 A.2　再现性限（*R*）

农药中文名	农药英文名	重复性限（*r*）			
		0.010 mg/kg	0.10 mg/kg	0.50 mg/kg	1.00 mg/kg
灭蝇胺	cyromazine	0.0019	0.020	0.084	0.080

参 考 文 献

[1] GB/T 1.1 标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则