

ICS 67.060
X 11
备案号: 38347-2013

DB22

吉 林 省 地 方 标 准

DB 22/T 1847—2013

人参中辛硫磷农药残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

Determination of Phoxim residues in ginseng— LC-MS/MS Method

2013 - 07 - 22 发布

2013 - 09 - 01 实施

吉林省质量技术监督局 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009和GB/T 20001.4-2001给出的规则起草。

本标准由吉林省农业委员会提出并归口。

本标准起草单位：吉林农业科技学院。

本标准主要起草人：张忠宝、薛晓丽、刘丽华、赵权、姚运生、武晓琳、杜立财。

人参中辛硫磷农药残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本标准规定了人参中辛硫磷农药残留量的液相色谱-质谱/质谱测定方法。
本标准适用于鲜人参、生晒参中辛硫磷农药残留量的液相色谱-质谱/质谱测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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 原理

试样中残留的辛硫磷农药用丙酮超声提取，经氟罗里硅土固相萃取柱净化，供液相色谱-质谱/质谱仪测定和确证，外标法定量。

4 试剂与材料

除另有规定外，所用试剂均为分析纯，水为符合GB/T 6682规定的一级水。

- 4.1 丙酮 ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$)：色谱纯。
- 4.2 正己烷 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$)：色谱纯。
- 4.3 二氯甲烷 (CH_2Cl_2)：色谱纯。
- 4.4 甲醇 (CH_3OH)：色谱纯。
- 4.5 甲酸 (HCOOH)：色谱纯。
- 4.6 0.05%甲酸水溶液：量取 0.5 mL 甲酸加入 1000 mL 容量瓶中，用超纯水定容至刻度。
- 4.7 氯化钠 (NaCl)：分析纯，140 °C 烘干 4h，置干燥器中保存。
- 4.8 无水硫酸钠 (Na_2SO_4)：分析纯，650 °C 烘干 4h，置干燥器中保存。
- 4.9 中性氧化铝 (Al_2O_3)：层析用，650 °C 烘干 4h，置干燥器中保存。使用前加 5% 一级水活化。
- 4.10 正己烷+二氯甲烷 (1+1, V+V)：量取 100 mL 正己烷和 100 mL 二氯甲烷，混匀。
- 4.11 辛硫磷 (Phoxim, CAS NO. 14816-18-3) 农药标准品：纯度大于等于 98.0%。

4.12 辛硫磷农药标准溶液

- 4.12.1 辛硫磷农药标准储备溶液：准确称取 10 mg 辛硫磷标准品 (精确至 0.1 mg)，置于 10 mL 棕色容量瓶中，用甲醇定容至刻度。该溶液在 0 °C~4 °C 下避光保存，可使用 6 个月。
- 4.12.2 辛硫磷农药标准工作溶液：用移液管准确移取标准储备溶液，根据需要用甲醇稀释、定容，配制标准工作溶液，现用现配，并注意避光。

5 仪器设备

- 5.1 液相色谱-质谱/质谱仪：配有电喷雾离子源（ESI）。
- 5.2 电子天平：感量为 0.01 g 和 0.1 mg。
- 5.3 组织捣碎机：4000 r/min~25000 r/min。
- 5.4 涡旋混合器。
- 5.5 氮吹仪。
- 5.6 固相萃取柱：Florisil, 500 mg, 6 mL 或相当者。
- 5.7 有机相微孔滤膜：0.22 μm 。

6 试样制备

- 6.1 鲜人参：取不少于 200 g 样品，置于组织捣碎机中捣碎、混匀，装入洁净容器，密封，于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。
- 6.2 生晒参：取适量样品，用粉碎机粉碎，过 0.25 mm 筛，混匀，装入洁净容器，密封，于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

注：在抽样及制样的操作过程中，应防止样品受到污染或发生残留物含量的变化。

7 分析步骤

7.1 提取

7.1.1 鲜人参

称取鲜人参试料10 g（6.1）（精确至0.01g）于100 mL具塞量筒中，加入30 mL丙酮（4.1），密封，涡旋2 min。超声提取15 min。将提取液抽滤于100 mL 具塞量筒中，残渣再用20 mL丙酮（4.1）冲洗一次，合并滤液并记录其体积，加入7 g氯化钠（4.7）和7 g无水硫酸钠（4.8），振摇3 min，静置15 min。取记录体积1/10量的上清液于15 mL试管中，于46 $^{\circ}\text{C}$ 下用氮气吹至近干，加入2 mL二氯甲烷（4.3）溶解，待净化。

7.1.2 生晒参

称取生晒参试料1 g（6.2）（精确至0.001 g）于25 mL具塞量筒中，加入10 mL丙酮（4.1），密封，涡旋2 min。超声提取15 min。将提取液抽滤于25 mL 试管中，残渣再用5 mL丙酮（4.1）冲洗一次，合并滤液，于46 $^{\circ}\text{C}$ 下用氮气吹至近干，加入2 mL二氯甲烷（4.3）溶解，待净化。

注：在整个提取过程中，注意避免阳光直射。

7.2 净化

在固相萃取柱（5.6）中加入1 g中性氧化铝（4.9），依次用3 mL正己烷（4.2）和3 mL二氯甲烷（4.3）预淋洗，流出液弃去。当液面到达中性氧化铝顶部时，迅速将待净化液（7.1.1和7.1.2）转移至固相萃取柱（5.6）中，并用6 mL正己烷+二氯甲烷（4.10）分3次洗涤试管，将洗涤液倾入固相萃取柱（5.6）洗脱，收集全部洗脱液至15 mL 试管中，于46 $^{\circ}\text{C}$ 下氮气吹干，用甲醇（4.5）溶解残渣并定容至1.0 mL，经0.22 μm 有机微孔滤膜（5.7）过滤后，供液相色谱-质谱/质谱测定。

注：在整个净化过程中，注意避免阳光直射。

7.3 测定

7.3.1 测定条件

7.3.1.1 色谱参考条件

- a) 色谱柱：C18 色谱柱，46mm ×50 mm (i.d)，粒径 1.8μm 或相当者；
- b) 流动相及流速：见表 1；
- c) 柱温：40℃。

表1 流动相及流速

步骤	时间 (min)	流速 (μl/min)	甲醇 (%)	0.05%甲酸水 (%)
1	0.01	200	30.0	70.0
2	1.0	200	30.0	70.0
3	1.01	200	95.0	5.0
4	15.0	200	95.0	5.0
5	20.0	200	30.0	70.0
6	30.0	200	30.0	70.0

7.3.1.2 质谱参考条件

参见附录 A。

注：由于测试结果取决于所使用仪器，因此不可能给出液相色谱-质谱/质谱分析的通用参数。设定的参数应保证色谱测定时被测组分与其它组分能够得到有效的分离，表 1 和附录 A 给出的参数证明是可行的。

7.3.2 定性测定

按照液相色谱-质谱/质谱条件测定样品和标准工作溶液，样品的质量色谱峰保留时间与标准品中对应的保留时间偏差在±2.5%之内；且样品中各组分定性离子的相对丰度与接近浓度的标准工作溶液中相应的定性离子的相对丰度进行比较，偏差不超过表2 规定的范围，则可判定样品中存在对应的被测物。

对混合标准溶液及样液按上述规定的条件进行测定时，如果样液与混合标准溶液的选择离子图中，在相同保留时间有峰出现，则根据定性选择离子的种类及其丰度比对其进行阳性确证。

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

7.3.3 定量测定

根据试样中被测样液中目标物的含量情况，选取响应值相近的标准工作液进行分析，对于高浓度样品须适当进行系列稀释。标准工作液和样液中待测物的响应值均应在仪器线性响应范围内，外标法定量。标准溶液的色谱图参见附录D。

7.4 空白试验

除不称取试料外，均按上述步骤同步进行。

8 结果计算和表述

用色谱数据处理机或按式(1)计算试样中农药残留量:

$$X = \frac{A \times C \times V}{A_s \times m} \times \frac{1000}{1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中: X——试样中辛硫磷农药的残留量, 单位为微克每克 (μg/g);
A——样液中辛硫磷农药峰面积 (或峰高);
As——标准工作液中辛硫磷农药的峰面积 (或峰高);
C——标准工作液中辛硫磷农药的浓度, 单位为微克每毫升 (μg/mL);
V——样液最终定容体积, 单位为毫升 (mL);
m——最终样液所代表的试样质量, 单位为克 (g)。

注: 计算结果表述至小数点后2位, 计算结果应扣除空白值。

9 线性范围、方法定量限和回收率

9.1 线性范围

见附录B中表B. 1。

9.2 方法定量限和回收率:

见附录C中表C. 1。

附 录 A
(资料性附录)
液相色谱-质谱/质谱条件

A.1 液相色谱-质谱/质谱条件

- A.1.1 扫描方式：正离子扫描，多反应监测MRM；
- A.1.2 离子源温度 (TEM)：450℃；
- A.1.3 电离方式：电喷雾 ESI；
- A.1.4 离子源喷雾电压：5000.00 V；
- A.1.5 雾化气压力 (GS1)：0.2068 MPa；
- A.1.6 气帘气压力 (CUR)：0.3448 MPa；
- A.1.7 辅助加热气 (GS2)：55.00 L/min；
- A.1.8 碰撞气(CAD)压力：0.0344 MPa；
- A.1.9 定性离子对、定量离子对、去簇电压、碰撞能量、碰撞室出口电压见表A.1

表A.1 选择监测离子(m/z)、碰撞气能量及去簇电压参数

农药中文名	农药英文名	保留时间	定量离子	定性离子	去簇电压 DP	碰撞气能量 CE
辛硫磷	Phoxim	17.74	299.1/129.1	299.1/97.0	20.0	18.0; 35.0

附 录 B
(资料性附录)

辛硫磷农药线性方程、相关系数

B.1 辛硫磷农药线性方程、相关系数

表B.1 辛硫磷农药线性方程、相关系数

农药名称	定量离子 (m/z)	线性方程	相关系数 (r)
辛硫磷	299.1/129.1	$Y=1.474e+006X-1.2758e+004$	0.9999

附 录 C
(资料性附录)

方法定量限、添加浓度范围及回收率

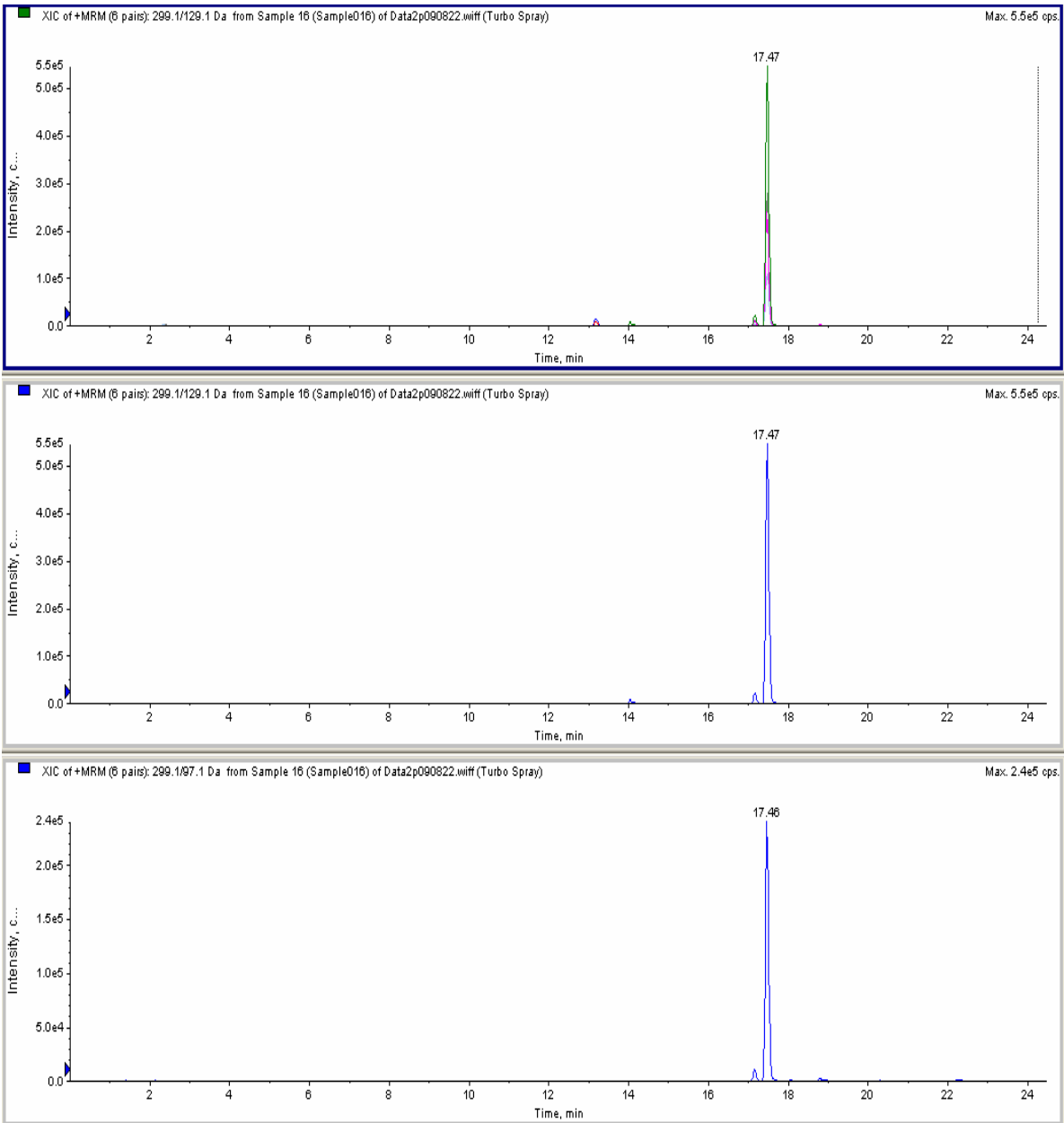
C.1 方法定量限、添加浓度范围及回收率

表C.1 方法定量限、添加浓度范围及回收率

农药种类	样品	添加水平 (mg/kg)	平均回收率 (%)	方法定量限 (mg/kg)
辛硫磷	鲜人参	0.01	80.10	0.010
		0.02	86.25	0.010
		0.20	90.40	0.010
	生晒参	0.01	81.65	0.010
		0.02	85.55	0.010
		0.20	89.07	0.010

附 录 D
(资料性附录)
辛硫磷液相色谱串联质谱多反应检测 (MRM) 色谱图

D.1 辛硫磷液相色谱串联质谱多反应检测 (MRM) 色谱图



图D.1 辛硫磷标准品 (0.01 mg/kg) 液相色谱串联质谱检测 (MRM) 色谱图