

ICS 75.160.10

CCS D20/29

团 体 标 准

P/CIQA-142-2023

茶叶中丁醚脲及其降解产物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of diafenthiuron and its metabolites residue in tea - LC-MS/MS

(征求意见稿)

2024-XX-XX 发布

2024-XX-XX 实施

中国出入境检验检疫协会 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。

本文件由中国出入境检验检疫协会综合质量服务标准化技术委员会(CIQA/TC12)归口。

本文件起草单位：中检溯源华南技术服务（深圳）有限公司、中国检验认证集团湖南有限公司、中检溯源江苏技术服务有限公司、中国检验认证集团广西有限公司；中检集团中原农食产品检测（河南）有限公司、湖北省阿克瑞德检验检测有限公司、福建中检华日食品安全检测有限公司。

本文件主要起草人：陈坤、彭磊、陈丹华、王美玲、郭予昕、郁腾、汤姣、方胜、苏建峰、梁任佳、宋琪、张娟、黄多、徐淑海文、苏建峰、刘向荣、刘伟、杨五、徐婉琪。

茶叶中丁醚脲及其降解产物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了茶叶中丁醚脲及其降解产物残留量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于茶叶中丁醚脲及其降解产物残留量的测定。

本文件方法的检出限和定量限：丁醚脲、丁醚脲-甲酰胺和丁醚脲-脲的检出限分别为 0.005 mg/kg、0.002 mg/kg、0.002 mg/kg；丁醚脲、丁醚脲-甲酰胺和丁醚脲-脲的定量限分别为 0.01 mg/kg、0.005 mg/kg、0.005 mg/kg。

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 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

GB/T 6682-2008 分析实验室用水规则和试验方法

GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中丁醚脲及其降解产物用乙腈提取，提取液经过分散固相萃取法（QuEChERS）净化后，液相色谱-串联质谱仪检测，外标法定量。

5 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，水符合GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 乙腈：色谱纯。

5.2 甲醇：色谱纯。

5.3 甲酸：色谱纯。

5.4 乙酸铵：色谱纯。

5.5 无水硫酸镁。

5.6 氯化钠。

5.7 乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶(PSA)：40 μm~60 μm。

5.8 石墨化碳黑(GCB)：40 μm~120 μm。

5.9 0.1 % 甲酸-2 mmol/L 乙酸铵水溶液：准确称取 0.1542 g 乙酸铵(5.4)，用 0.1 % 甲酸水溶液溶解并稀释至 1000 mL，摇匀。

5.10 丁醚脲标准品（CAS号80060-09-9）：纯度大于等于 98 %。

5.11 丁醚脲-甲酰胺标准品（CAS号169337-81-9）：纯度大于等于 98 %。

5.12 丁醚脲-脲标准品（CAS号136337-67-2）：纯度大于等于 98 %。

5.13 空白茶叶样品基质溶液: 不含目标物的茶叶样品按照8.1-8.2规定的前处理方法操作制备得到空白茶叶样品基质溶液。

5.14 标准储备溶液: 准备称取适量上述标准品, 分别用甲醇(5.1)配制成浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液, $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱避光保存, 有效期为 6 个月。

5.15 标准中间溶液: 准备吸取适量上述标准储备液(5.14), 分别用乙腈(5.1)配制成浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准中间溶液, $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱避光保存, 有效期1个月。

5.16 混合标准工作液: 分别吸取适量的上述标准中间溶液(5.15), 用乙腈(5.1)配制成浓度丁醚脲为 1 $\mu\text{g/mL}$ 、丁醚脲-脲、丁醚脲-甲酰胺为0.5 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准工作液, $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存, 有效期1周。

5.17 基质加标标准工作曲线: 吸取混合标准工作液(5.16)适量, 用空白基质溶液(5.13)将丁醚脲稀释为 1 ng/mL 、5 ng/mL 、10 ng/mL 、20 ng/mL 、50 ng/mL 标准系列工作溶液, 将丁醚脲-脲、丁醚脲-甲酰胺稀释为 0.5 ng/mL 、2.5 ng/mL 、5 ng/mL 、10 ng/mL 、25 ng/mL 标准系列工作溶液临用时配制。

5.18 微孔尼龙滤膜: 0.22 μm 。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪: 配有电喷雾离子源。

6.2 电子天平: 感量 0.1 mg 和 0.01 g。

6.3 高速冷冻离心机

6.4 涡旋振荡器

7 试样的制备与保存

取有代表性茶叶样品约 500 g经粉碎机粉碎, 过20目筛, 混匀, $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱密封避光保存。

8 测定方法

8.1 提取

称取粉碎后的茶叶样品1 g(精确至 0.01 g)于50 mL 塑料离心管中(铝箔纸包裹), 加入 0.2 g 无水硫酸镁(5.5)、0.2 g 氯化钠(5.6)和 10 mL 乙腈(5.1), 涡旋混匀 3 min, 振荡提取 10 min, 于 6000 r/min 离心 3 min, 收集上清液, 待净化。

8.2 净化

取上清液1.0 mL于1.5 mL离心管中, 加入 0.15 g 无水硫酸镁(5.5)、0.05 g GCB 吸附剂(5.8)和 0.05 g PSA吸附剂(5.7), 旋涡振荡 1 min, 10000 r/min 离心 3 min。取净化液经 0.22 μm 有机微孔滤膜(5.18)过滤于棕色进样小瓶, 供液相色谱-串联质谱测定。

8.3 色谱测定

8.3.1 液相色谱参考条件

a) 色谱柱: ZORBAX Eclipse Plus C_{18} (2.1 \times 50 mm, 1.8 μm), 或相当者;

b) 流动相: A相: 0.1% 甲酸 -2 mmol/L 乙酸铵水溶液, B相: 乙腈, 梯度洗脱程序见表1;

c) 流速: 0.30 mL/min;

d) 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$;

e) 进样量: 2.0 μL 。

表1 梯度洗脱程序

时间, min	0.1%甲酸-2 mmol/L乙酸铵水溶液, %	乙腈, %
0	90	10
2	70	30
5	10	90
8	10	90
8.1	90	10
10	90	10

8.3.2 质谱参考条件

- a) 离子源: 电喷雾离子源 (ESI) ;
- b) 扫描方式: 正离子扫描 ;
- c) 检测方式: 多反应监测 (MRM) ;
- d) 毛细管电压: 3500 V ;
- e) 鞘气温度: 350 °C ;
- f) 鞘气流速: 12 L/min ;
- g) 干燥气温度: 350 °C ;
- h) 干燥气流速: 5 L/min ;
- i) 雾化器压力: 45 psi 。

化合物定性、定量离子对及锥孔电压、碰撞能量见表2:

表2: 定性、定量离子对及锥孔电压、碰撞能量

化合物	母离子 (Q1)	检测模式	子离子 (Q3)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)
丁醚脲 (C ₂₃ H ₃₂ N ₂ O ₅)	385.2	正模式	329*	130	14
			278.1	130	30
丁醚脲-脲 (C ₂₃ H ₃₂ N ₂ O ₂)	369.3	正模式	271.1	130	16
			229*	130	22
丁醚脲-甲酰胺 (C ₂₃ H ₃₂ N ₂ O)	353.4	正模式	297.1*	140	18
			280	140	22

注: 表中带*的离子为定量离子; 对于不同质谱仪器, 仪器参数可能存在差异, 测定前应将质谱参数优化到最佳。

8.4 液相色谱-串联质谱测定

8.4.1 定性测定

按照上述条件测定样品和混合基质标准溶液, 如果样品的质量色谱峰保留时间与混合基质标准溶液的保留时间偏差在±2.5%之内; 定性离子对的相对丰度与浓度相当的混合基质标准溶液的相对丰度一致,

相对丰度偏差不超过表3的规定，则可判断样品中存在相应的被测物。混合基质标准溶液的液相色谱-串联质谱色谱图见附录A。

表3：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

8.4.2 定量测定

选择与被测样品性质相同或相似的空白样品按照8.1-8.2部分进行前处理，得到空白基质溶液。根据试样中待测物的含量情况，用空白基质溶液配制响应值适宜的混合基质标准溶液进行液相色谱-质谱联用仪器分析，混合基质标准溶液应有5个浓度水平。混合基质标准溶液和待测液中丁醚脞、丁醚脞-脞、丁醚脞-甲酰胺的响应值应在仪器线性响应范围内。如果样品中待测物含量超过标准曲线的线性范围，用空白基质溶液稀释至合适浓度后分析。

8.4.3 空白试验

除不加试样外，均按上述操作步骤进行。

9 结果计算和表达

采用标准工作曲线定量，试样中丁醚脞、丁醚脞-脞、丁醚脞-甲酰胺的含量由液相色谱-质谱/质谱仪的数据处理软件或按公式(1)计算，计算结果需扣除空白值：

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

式中：

X——试样中被测组分含量，单位为毫克每千克(mg/kg)；

C——从标准工作曲线得到的样液中被测组分溶液浓度，单位为微克每升(μg/L)；

V——加入的提取液体积，单位为毫升(mL)；

m——试样质量，单位为克(g)；

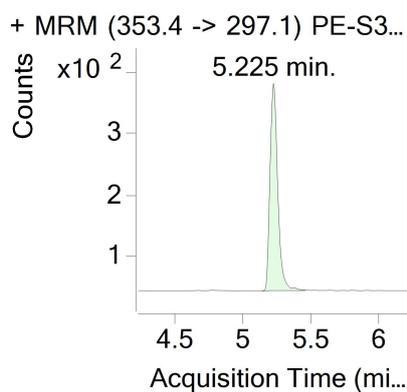
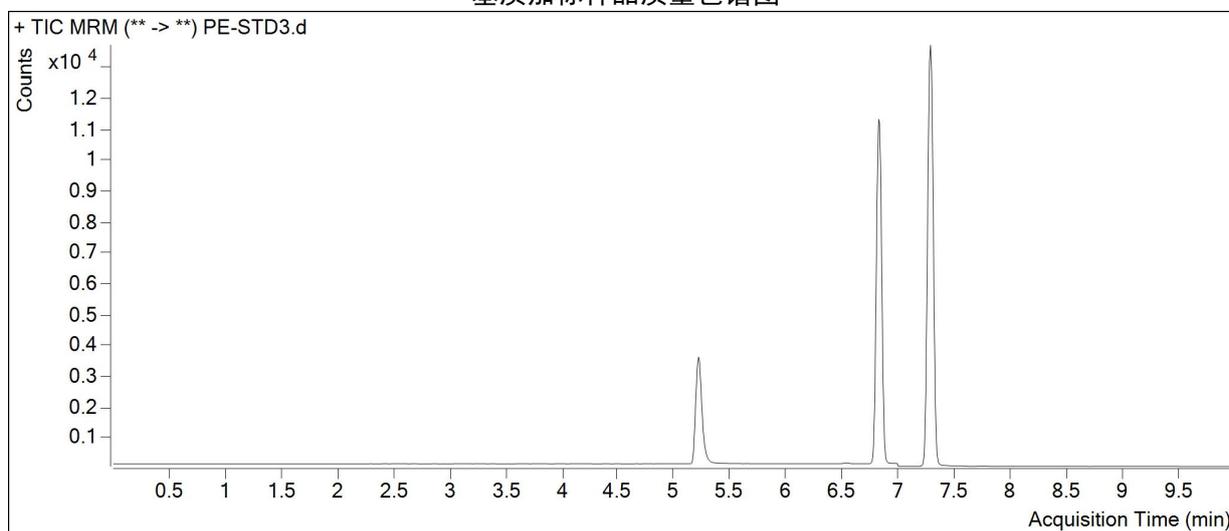
f——稀释倍数。

注：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3位有效数字。

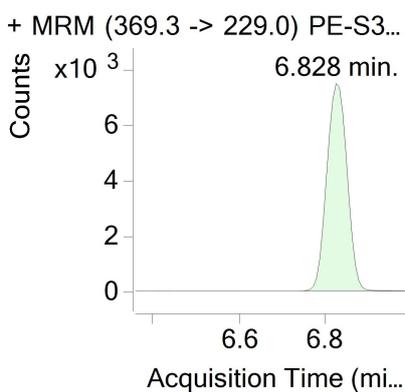
10 回收率和精密度

本方法在0.005 mg/kg ~ 0.10 mg/kg 添加浓度的范围内，其回收率范围为60% ~ 120%。本方法批内相对标准偏差 ≤ 15%，批间相对标准偏差 ≤ 15%。

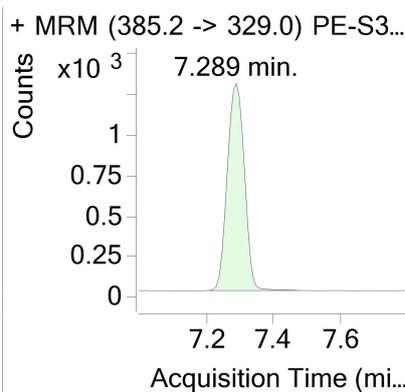
附录A
 (资料性附录)
 基质加标样品质量色谱图



丁醚脲-甲酰胺



丁醚脲-脲



丁醚脲