

DB22

吉 林 省 地 方 标 准

DB 22/T 2207—2014

人参中精甲霜灵、己唑醇和肟菌酯残留量的 测定 高效液相色谱-质谱/质谱法

Determination of residues of metalaxyl-M, hexaconazole and trifloxystrobin in
ginseng High performance liquid chromatography -tandem mass spectrometry

2014 - 12 - 11 发布

2014 - 12 - 30 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：吉林农业大学、吉林省参茸办公室、吉林出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：高洁、许允成、冯家、白庆荣、倪淑凤、李爱军、王春伟、杨丽娜、陈长卿、王雪、王燕、刘丽萍、张凯新、张燕超、刘畅、姜云、闫嘉琦、吕彦斌、王睿。

人参中精甲霜灵、己唑醇和肟菌酯残留量的测定 高效液相色谱-质谱/质谱法

警告——使用本标准的人员应有正规实验室工作的实践经验。本标准并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的的安全和健康措施，并保证符合国家有关法规规定的条件。

1 范围

本标准规定了人参中精甲霜灵、己唑醇和肟菌酯残留量的高效液相色谱-质谱/质谱测定方法。
本标准适用于鲜人参根、茎、叶和干人参根中精甲霜灵、己唑醇和肟菌酯残留量的测定。

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 6379 测试方法与结果的准确度（准确度与精密度）

GB/T 6682 分析实验室用水规格和实验方法

GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定

3 原理

试样中的精甲霜灵和肟菌酯用丙酮提取，己唑醇用乙腈提取，经PSA固相萃取小柱净化，用乙腈-甲苯混合溶液（3+1）洗脱，用高效液相色谱-质谱/质谱仪检测，外标法定量。

4 试剂与材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

4.1 乙腈（CH₃CN）：色谱纯。

4.2 甲苯（C₇H₈）：色谱纯。

4.3 丙酮（C₃H₆O）：色谱纯。

4.4 甲酸（HCOOH）：色谱纯。

4.5 乙腈-甲苯混合溶液（3+1）：量取3份乙腈和1份甲苯，混匀。

4.6 0.1%甲酸水溶液：1份甲酸+999份水。

4.7 乙腈-0.1%甲酸（3+1）：量取3份乙腈和1份0.1%甲酸水，混匀。

4.8 有机相微孔滤膜：0.22 μm。

4.9 PSA（N-丙基乙二胺）固相萃取柱：500 mg/6 mL或相当者；使用前，用10 mL乙腈-甲苯（4.5）活化。

4.10 农药标准品

4.10.1 精甲霜灵（C₁₅H₂₁N₃O₄，纯度为99.5%，CAS No. 70630-17-0）。

4.10.2 肱菌酯($C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$, 纯度为 99.0%, CAS No. 141517-21-7)。

4.10.3 己唑醇($C_6H_{12}N_2S_4$, 纯度为 99.0%, CAS No. 79983-71-4)。

4.11 标准储备液: 分别称取精甲霜灵和肱菌酯标准品 10.0 mg (精确至 0.1 mg), 分别置于 100 mL 棕色容量瓶中, 用丙酮溶解, 并定容配制成浓度 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液; 称取己唑醇标准品 10.0 mg (精确至 0.1 mg), 分别置于 100 mL 棕色容量瓶中, 用乙腈溶解, 并定容配制成浓度 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液, 4℃以下保存。

4.12 标准工作液的制备: 准确移取标准储备溶液, 精甲霜灵和肱菌酯用丙酮, 己唑醇用乙腈稀释、定容, 配制成需要的工作标准溶液, 现用现配。

5 仪器

5.1 高效液相色谱三重四级杆串联质谱仪。

5.2 天平: 感量为 0.001 g 和 0.0001 g。

5.3 高速离心机: 10000 r/min。

5.4 涡旋混合器。

5.5 旋转蒸发仪。

5.6 组织捣碎机。

5.7 高速粉碎机。

6 试样制备

6.1 鲜人参根、茎和叶: 分别取不少于 200 g 试样, 置于组织捣碎机中捣碎、混匀, 装入聚乙烯塑料袋中, 密封, 于-20℃保存。

6.2 人参干品制备: 取不少于 200 g 人参试样, 80℃烘干, 并粉碎过 $180\pm 7.6\ \mu\text{m}$ 筛, 装入洁净容器中, 密封保存。

7 分析步骤

7.1 试料称量

7.1.1 鲜样称量

在常温下解冻并均匀混合后, 称取约 20.0 g, 精确到 1.0 mg, 于 200 mL 离心管中。

7.1.2 干样称量

称取约 10.0 g, 精确到 1.0 mg, 于 200 mL 离心管中。

7.2 试料测定

7.2.1 提取

7.2.1.1 精甲霜灵和肱菌酯: 取称量好的试料, 加入丙酮 80 mL, 以适当方式(涡旋、震荡、超声等)提取(涡旋 5 min 为宜)后, 以 5000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 移至浓缩瓶中, 再加入 80 mL 丙酮, 重复提取一次, 合并上清液, 于 35℃下旋转浓缩至近干, 加入乙腈-甲苯(4.5) 5 mL 溶解, 待净化。

7.2.1.2 己唑醇：取称量好的试料，加入乙腈 80 mL，以适当方式（涡旋、震荡、超声等）提取（涡旋 5 min 为宜）后，以 5000 r/min 离心 5 min，取上清液，移至浓缩瓶中，再加入 80 mL 乙腈，重复提取一次，合并上清液，于 35 ℃下旋转浓缩至近干，加入乙腈-甲苯（4.5）5 mL 溶解，待净化。

7.2.2 净化

用10 mL乙腈-甲苯（4.5）预淋洗固相萃取柱(4.9)，淋洗液弃去。将5 mL提取液（7.2.1）倾入固相萃取柱中，用20 mL乙腈-甲苯（4.5）进行洗脱。收集全部洗脱液于250 mL浓缩瓶中，于35 ℃水浴中旋转浓缩至近干。准确加入2.0 mL乙腈，加盖充分溶解，经 0.22 μm 滤膜过滤后于1.5 mL进样瓶中，供液相色谱-质谱/质谱测定。

7.2.3 测定

色谱参考条件：

- a) 色谱柱：C₁₈（φ 2.1 mm×150 mm，粒径 5 μm）或相当者；
- b) 流动相及流速见表 1；
- c) 色谱柱温度：40 ℃；
- d) 进样量：10 μL；

表1 流动相及流速选择

步骤	总时间/（min）	流速/（μL/min）	0.1%甲酸水溶液/（%）	乙腈/（%）
1	0.0	250	50	50
2	8.0	250	10	90
3	12.0	250	10	90
4	12.1	250	50	50
5	18.0	250	50	50

质谱参考条件：

- a) 扫描方式：正离子扫描，多反应监测 MRM；
- b) 离子源：电喷雾离子源（ESI）；
- c) 离子源温度（TEM）：725 ℃；
- d) 电离方式：电喷雾电离源（ESI）；
- e) 电喷雾电压：± 5.0 kV；
- f) 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 2。

表2 选择监测离子(m/z)、碰撞气能量及去簇电压等参数

农药名称	保留时间/（min）	定量离子对/（m/z）	定性离子对/（m/z）	去簇电压/（V）	碰撞气能量/（eV）
精甲霜灵	3.68	280.1>192.1	280.1>192.1	100	15
			280.1>220.0		10
己唑醇	8.43	314.1>70.1	314.1>70.1	34	45
			314.1>159.1		45
肟菌酯	12.49	409.3>186.1	409.3>186.1	120	15
			409.3>206.2		10

注：由于测试结果取决于所使用仪器，因此暂不给出液相色谱-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B给出的参数证明是可行的。

7.2.4 最低检出限和检出浓度

在上述条件下，精甲霜灵的最低检出量为0.02 ng，己唑醇的最低检出量为0.05 ng，肟菌酯的最低检出量为0.05 ng；精甲霜灵实际添加的最低检出浓度为0.002 mg/L，己唑醇实际添加的最低检出浓度为0.005 mg/L，肟菌酯实际添加的最低检出浓度为0.005 mg/L。

7.2.4.1 标准曲线线性关系

在本方法所确定的LC-MS/MS检测条件下，分别对人参中精甲霜灵、己唑醇和肟菌酯制备5个不同浓度水平的标准溶液进行测定，以浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标进行线性回归分析。精甲霜灵、己唑醇和肟菌酯线性方程和相关系数见表3。

表3 精甲霜灵、己唑醇和肟菌酯线性方程和相关系数

农药名称	线性方程	相关系数/ (r)
精甲霜灵	$y=4.25 \times 10^7 x + 2.38 \times 10^6$	0.9992
己唑醇	$y=3.0 \times 10^7 x + 111944$	0.9998
肟菌酯	$y=2.0 \times 10^8 x - 4.0 \times 10^6$	0.9994

7.2.4.2 定性测定

按照液相色谱-质谱/质谱条件测定试料和标准工作溶液，试料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；且试料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4规定的范围，则可判定试料中存在对应的被测物。

表4 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%	>10%至20%	≤10%
允许的相对偏差	±20%	±30%	±50%

7.2.4.3 定量测定

根据试料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，对于高浓度试料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。保留时间的总离子流图，定性离子对，定量离子对谱图见附录C。

7.3 平行试验

按以上步骤对同一试样进行平行试验。

7.4 空白试验

称取空白试料，采用完全相同的步骤进行平行操作。

8 结果计算

按式（1）计算试料中每种农药残留含量：

$$X_i = \frac{A_i \times c_{is} \times V}{A_{is} \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中： X_i ——试料中农药*i*残留量，单位为微克每克（μg/g）；
 A_i ——样液中农药*i*的峰面积；
 A_{is} ——标准工作液中农药*i*的峰面积；
 C_{is} ——标准工作液中农药*i*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 ——试料的质量，单位为克（g）。

注：计算结果保留小数点后2位有效数字，计算结果应扣除空白值。数值约修与极限数值的表示和判定依照GB/T 8170数值修约规则与极限数值的表示和判定进行。测试方法与结果的准确度参照GB/T 6379.2进行。

9 精密度

9.1 重复性

实验室内平行测定间的相对偏差不大于15%。对人参的根、茎、叶和干人参添加3个不同的浓度，回收率和相对偏差见附录A。

9.2 再现性

实验室间平行测定间的相对偏差不大于25%。5家检测单位对人参的根、茎、叶和干人参添加3个不同的浓度，回收率和相对偏差见附录B。

附 录 A
(资料性附录)

精甲霜灵、己唑醇和肟菌酯添加浓度范围、回收率及相对偏差

表A.1 精甲霜灵、己唑醇和肟菌酯添加浓度范围、回收率及重复性限

农药种类	试料	添加水平 (mg/kg)	平均回收率 (%)	相对偏差/ (%)	农药种类	试料	添加水平 (mg/kg)	平均回收率 (%)	相对偏差/ (%)
精甲霜灵	人参根	0.002	81.5	13.27	肟菌酯	人参根	0.005	86.6	8.71
		0.01	83.7	9.31			0.01	87.0	7.69
		0.10	78.0	10.47			0.10	87.5	11.24
	人参茎	0.002	80.5	10.33		人参茎	0.005	86.4	13.13
		0.01	82.4	7.70			0.01	86.9	6.94
		0.10	82.2	6.72			0.10	89.7	10.54
	人参叶	0.002	82.0	9.18		人参叶	0.005	87.8	10.60
		0.01	80.7	5.63			0.01	84.8	6.85
		0.10	89.1	6.97			0.10	91.6	7.08
	干人参	0.002	81.0	15.62		干人参	0.005	86.0	9.43
		0.01	82.0	6.35			0.01	84.7	4.92
		0.10	89.1	8.17			0.10	88.8	8.25
己唑醇	人参根	0.005	82.6	8.71					
		0.01	84.2	7.69					
		0.10	85.2	11.24					
	人参茎	0.005	83.0	13.13					
		0.01	83.4	6.94					
		0.10	92.2	10.54					
	人参叶	0.005	83.0	10.60					
		0.01	83.7	6.85					
		0.10	89.5	7.08					
	干人参	0.005	83.0	6.25					
		0.01	83.4	4.27					
		0.10	90.3	5.12					

附 录 B
(资料性附录)

液相色谱-质谱/质谱法测定的验证试验结果

表B.1 液相色谱-质谱/质谱法测定的验证试验结果

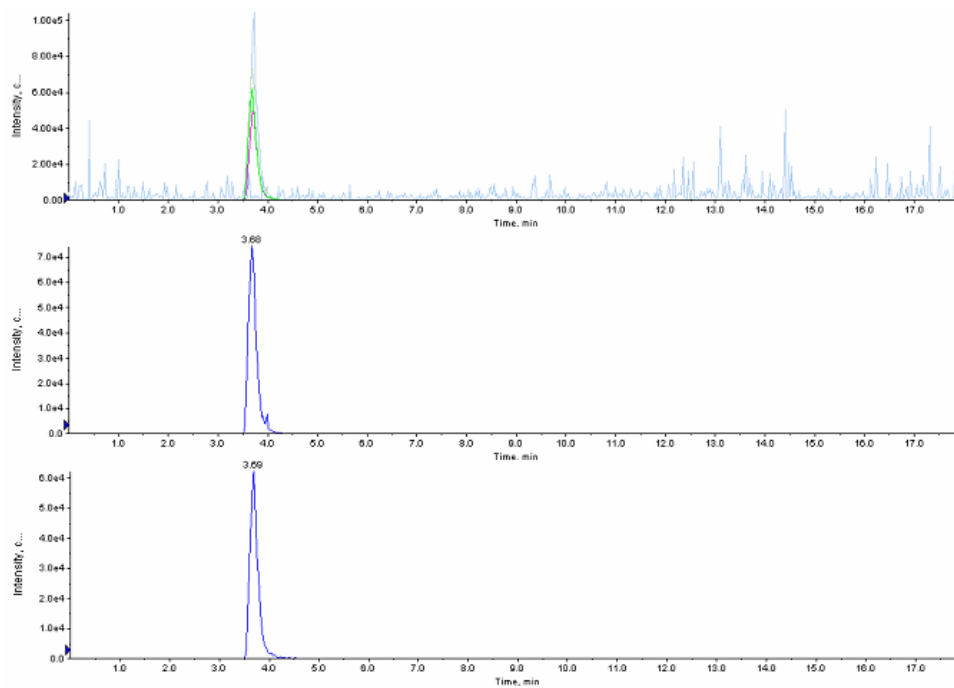
农药 种类	试料	添加水平 / (mg/kg)	沈阳出入境检验检疫局		黑龙江出入境检验检疫局		中国检验检疫科学研究院综合检查中心		吉林省疾病预防控制中心		吉林省产品质量监督检验院		平均回收率/(%)	平均值	相对偏差 CV/(%)
			平均值/ (mg/kg)	回收率/ (%)	平均值/ (mg/kg)	回收率/ (%)	平均值/ (mg/kg)	回收率/ (%)	平均值/ (mg/kg)	回收率/ (%)	平均值/ (mg/kg)	回收率/ (%)			
精甲 霜灵	人 参 根	0.002	0.0018	91.5	0.0018	89.5	0.0019	94.5	0.0015	75.0	0.0021	105.0	91.10	0.0018	11.86
		0.01	0.0083	83.0	0.0101	101.0	0.0084	84.3	0.0094	94.1	0.0081	81.0	88.68	0.0089	9.63
		0.10	0.0941	94.1	0.1051	105.1	0.0824	82.4	0.0859	85.9	0.0989	98.9	93.28	0.0933	9.96
	叶	0.002	0.0014	70.0	0.0019	94.5	0.0016	81.0	0.0016	81.5	0.0015	76.5	80.70	0.0016	11.14
		0.01	0.0085	85.2	0.0082	81.6	0.0086	86.0	0.0098	98.1	0.0081	81.0	86.38	0.0086	7.99
		0.10	0.0781	78.1	0.0891	89.1	0.0889	88.9	0.0821	82.1	0.0821	82.1	84.06	0.0841	5.71
	茎	0.002	0.0014	70.0	0.0019	94.5	0.0015	74.5	0.0018	91.0	0.0018	91.0	84.20	0.0017	13.20
		0.01	0.0082	82.0	0.0081	81.0	0.0093	93.0	0.0083	83.0	0.0086	86.0	85.00	0.0085	5.70
		0.10	0.0881	88.1	0.0791	79.1	0.0783	78.3	0.0889	88.9	0.0889	88.9	84.66	0.0847	6.45
	干 人 参	0.002	0.0015	75.0	0.0019	94.8	0.0016	81.0	0.0017	86.0	0.0017	86.0	84.55	0.0017	8.62
		0.01	0.0087	87.0	0.0089	89.0	0.0097	97.0	0.0085	85.0	0.0079	79.0	87.40	0.0087	7.49
		0.10	0.0892	89.2	0.0781	78.1	0.0835	83.5	0.0813	81.3	0.0834	83.4	83.10	0.0831	4.88
己唑 醇	人 参 根	0.005	0.0042	84.0	0.0041	82.0	0.0044	88.0	0.0047	94.0	0.0039	78.0	85.20	0.0043	7.16
		0.01	0.0086	86.0	0.0072	72.0	0.0091	91.0	0.0095	95.0	0.0085	85.0	85.80	0.0086	10.14
		0.10	0.0889	88.9	0.0985	98.5	0.085	85.0	0.0815	81.5	0.085	85.0	87.78	0.0878	7.45
	叶	0.005	0.0049	98.0	0.0048	96.0	0.0039	78.0	0.0047	94.0	0.0047	94.0	92.00	0.0046	8.70
		0.01	0.0081	81.0	0.0092	92.0	0.0091	91.0	0.0091	91.0	0.0085	85.0	88.00	0.0088	5.45
		0.10	0.0819	81.9	0.0912	91.2	0.087	87.0	0.0815	81.5	0.0955	95.5	87.42	0.0874	6.89
	茎	0.005	0.0046	92.0	0.0043	86.0	0.0049	98.0	0.0047	94.0	0.0039	78.0	89.60	0.0045	8.70
		0.01	0.0086	86.0	0.0092	92.0	0.0097	97.0	0.0085	85.0	0.0082	82.0	88.40	0.0088	6.82
		0.10	0.0823	82.3	0.0932	93.2	0.0815	81.5	0.0875	87.5	0.0855	85.5	86.00	0.0860	5.46
	干 人 参	0.005	0.0041	82.0	0.0053	106.0	0.0042	84.0	0.0043	86.0	0.0037	74.0	86.40	0.0043	13.73
		0.01	0.0089	89.0	0.0082	82.0	0.0087	87.0	0.0099	99.0	0.0081	81.0	87.60	0.0088	8.22
		0.10	0.0815	81.5	0.0832	83.2	0.0925	92.5	0.0805	80.5	0.0894	89.4	85.42	0.0854	6.15

表 B.1 (续) 液相色谱-质谱/质谱法测定的验证试验结果

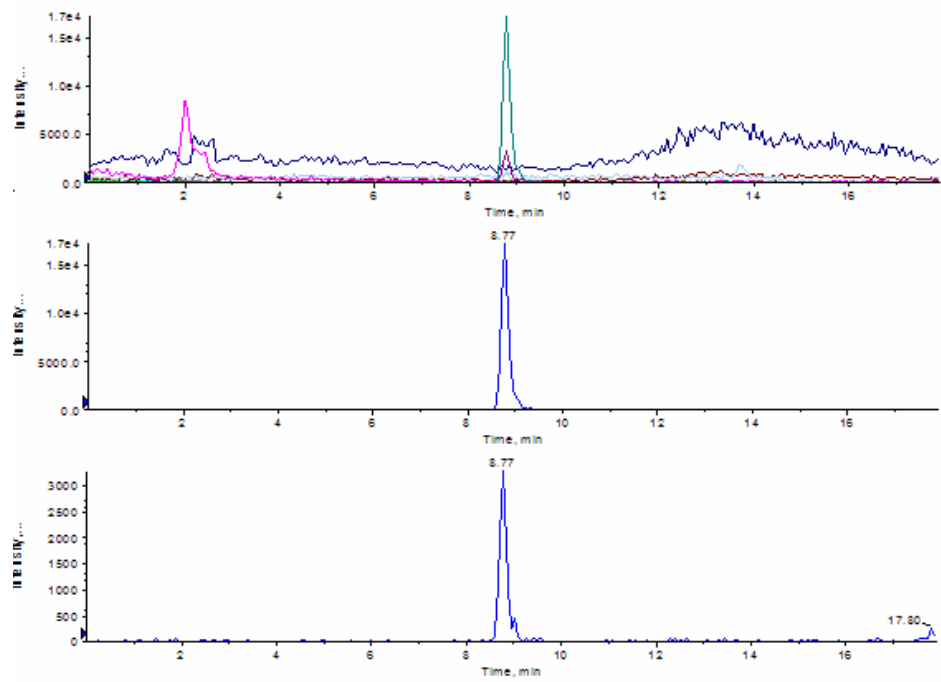
农药 种类	试料	添加水平 / (mg/kg)	沈阳出入境检验检疫局		黑龙江出入境检验检疫局		中国检验检疫科学研究院综合检查中心		吉林省疾病预防控制中心		吉林省产品质量监督检验院		平均回收率/(%)	平均值	相对偏差 CV/(%)
			平均值/ (mg/kg)	回收率/ (%)	平均值/ (mg/kg)	回收率/ (%)	平均值/ (mg/kg)	回收率/ (%)	平均值/ (mg/kg)	回收率/ (%)	平均值/ (mg/kg)	回收率/ (%)			
脞菌酯	人 参	0.005	0.0043	86.0	0.0046	92.0	0.0049	98.0	0.0047	94.0	0.0039	78.0	89.60	0.0045	8.70
		0.01	0.0086	86.0	0.0082	82.0	0.0081	81.0	0.0091	91.0	0.0082	82.0	84.40	0.0084	4.93
		0.10	0.0819	81.9	0.0925	92.5	0.0845	84.5	0.0855	85.5	0.0789	78.9	84.66	0.0847	5.99
	叶	0.005	0.0049	98.0	0.0051	102.0	0.0036	72.0	0.0048	96.0	0.0049	98.0	93.20	0.0047	12.93
		0.01	0.0082	82.0	0.0076	76.0	0.0092	92.0	0.0081	81.0	0.0095	95.0	85.20	0.0085	9.37
		0.10	0.0882	88.2	0.0923	92.3	0.0875	87.5	0.0815	81.5	0.095	95.0	88.90	0.0889	5.79
	茎	0.005	0.0042	84.0	0.0041	82.0	0.0044	88.0	0.0048	96.0	0.0039	78.0	85.60	0.0043	7.99
		0.01	0.0086	86.0	0.0092	92.0	0.0082	82.0	0.0085	85.0	0.0085	85.0	86.00	0.0086	4.27
		0.10	0.0889	88.9	0.0885	88.5	0.085	85.0	0.0815	81.5	0.089	89.0	86.58	0.0866	3.80
	干 人 参	0.005	0.0038	76.0	0.0047	94.0	0.0049	98.0	0.0051	102.0	0.0044	88.0	91.60	0.0046	11.07
		0.01	0.0081	81.0	0.0097	97.0	0.0083	83.0	0.0081	81.0	0.0095	95.0	87.40	0.0087	9.07
		0.10	0.0821	82.1	0.0805	80.5	0.095	95.0	0.0897	89.7	0.081	81.0	85.66	0.0857	7.49

附 录 C
(资料性附录)

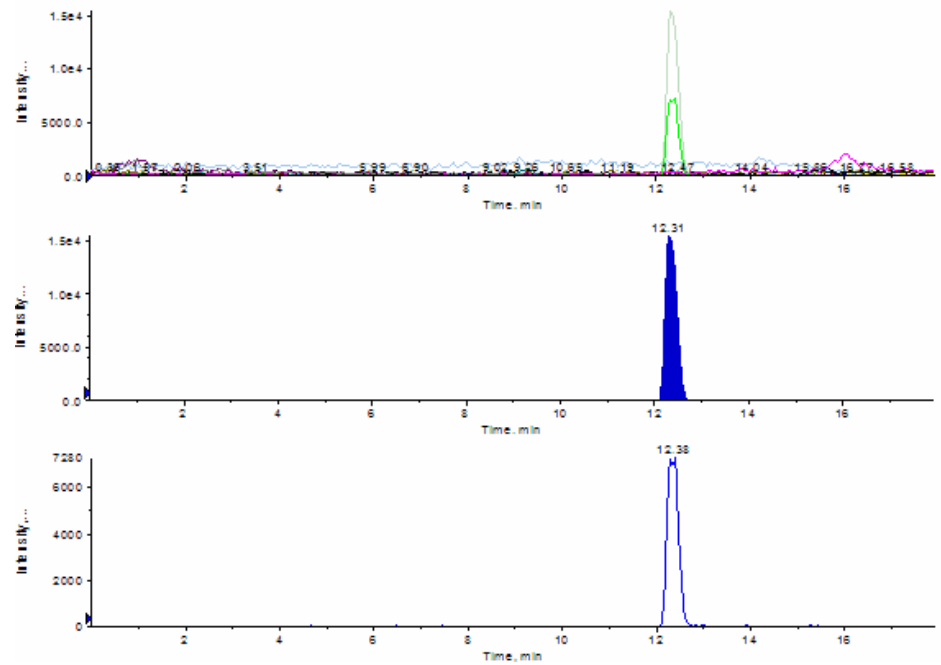
精甲霜灵、己唑醇和肟菌酯液相色谱-质谱/质谱多反应检测 (MRM) 色谱图



图C.1 精甲霜灵的标准品液相色谱-质谱/质谱多反应监测 (MRM) 谱图 (0.01 mg/L)



图C.2 己唑醇的标准品液相色谱-质谱/质谱多反应监测（MRM）谱图（0.01 mg/L）



图C.3 肟菌酯的标准品液相色谱-质谱/质谱多反应监测（MRM）谱图（0.01 mg/L）