

团体标准

T/ NAIA×××-××××

水稻中噁唑酰草胺及其代谢物残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法

Determination of metamifop and its metabolites residues in rice

Liquid chromatography-mass spectrometry

2023-××-××发布

2023-××-××实施

宁夏化学分析测试协会 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。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：宁夏农产品质量标准与检测技术研究所、宁夏食品检测研究院、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：杨静、牛艳、吴燕、王晓菁、苟春林、刘霞、赵子丹、张锋锋、陈翔、开建荣、王彩艳、马小龙、季莉、张学玲、张小飞。

本文件为首次发布。

水稻中噁唑酰草胺及其代谢物残留量的测定

液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本文件规定了水稻中噁唑酰草胺及其代谢物残留量的液相色谱-质谱/质谱测定方法。

本文件适用于水稻中噁唑酰草胺及其代谢物的液相色谱-质谱/质谱法测定。

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

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

噁唑酰草胺及其代谢物 metamifop and its metabolites

噁唑酰草胺是一种芳氧苯氧丙酸酯类除草剂，有三种代谢产物，分别为N-(2-氟苯基)-2-(4-羟基苯氧基)-N-甲基丙胺（HPFMPA）、N-(2-氟苯基)-2-羟基-N-甲基丙胺（HFMPA）和4-(6-氯并恶唑-2-丙氧基)苯酚（6-CBO）。

4 原理

试样用乙腈提取，用十八烷基键合硅胶（C18）和 N-丙基乙二胺（PSA）固相萃取分散净化，用液相色谱-质谱/质谱仪检测和确证，外标法定量。

5 试剂与材料

除非另有规定外，所有试剂均为分析纯，水符合GB/T 6682中规定的一级水。

5.1 乙腈（CH₃CN）：色谱纯。

5.2 氯化钠（NaCl）：分析纯。

5.3 N-丙基-乙二胺吸附剂（PSA）：40 μm~63 μm。

5.4 十八烷基键合硅胶（C18）：40 μm~63 μm。

5.5 农药标准品：噁唑酰草胺（CAS 号 256412-89-2，纯度 95.0%）、HPFMPA（CAS 号

256412-88-1, 纯度 99.9%)、HFMPA (CAS 号 1257227-64-7, 纯度 99.7%)、6-CBO (CAS 号 19932-84-4, 纯度 98.5%)。

5.8 标准溶液配制

5.8.1 噁唑酰草胺及其代谢物标准储备溶液：分别准确称取适量的噁唑酰草胺及其代谢物标准品（精确至 0.01 mg），用乙腈溶解，分别配制成 1000 mg/L 的标准储备溶液，-18 °C 下保存。

5.8.2 噁唑酰草胺及其代谢物混合标准中间溶液：根据需要分别取适量噁唑酰草胺及其代谢物的标准储备液，用乙腈稀释成 10 mg/L 标准中间溶液，-18 °C 下保存。

6 仪器与设备

6.1 高效液相色谱-质谱/质谱仪：配有电喷雾离子源（ESI）。

6.2 分析天平：感量 0.01 g 和 0.0001 g。

6.3 组织捣碎机。

6.4 高速万能粉碎机：10000 r/min。

6.5 振荡器。

6.6 离心机：4000 r/min。

6.7 涡旋混合器。

6.8 离心管：50 mL，塑料。

6.9 滤膜：0.22 μm，有机相。

7 分析步骤

7.1 试样的制备

糙米和稻壳样品：将田间稻穗样本脱粒后，用出糙机或人工出糙脱壳（如样本较湿，可先摊开晾干再脱粒）。将糙米和稻壳分别混匀后，分取糙米 200g 和足够量稻壳，分别装入样品瓶中，贴好标签后立即放入-18°C冰箱中冷冻备用。

秸秆样品（即植株样品）：将水稻植株样本剪成 1cm 以下的小段，用高速万能粉碎机（可加少量的液氮）粉碎（30 g 样品粉碎时间为 30 s），充分混匀后用四分法缩分，取 200g 样品装入样品瓶中，贴好标签后立即放入-18°C冰箱中冷冻备用。

7.2 样品提取与净化

7.2.1 糙米和稻壳

称取试样 5.00 g（精确至 0.01 g）于 50.0mL 离心管，加水 10.0 mL 复溶 30 min，加入 20.0 mL 乙腈，在振荡器上震荡 40 min，加入 5.0 g 氯化钠，盖上盖子，振摇约 1 min，放入离心机，4000 r/min 离心 5 min，吸取 1.00mL 上清液于 15.0 mL 离心管中（提前称好 100 mgPSA 和 50 mgC18）涡旋净化后过 0.22 μm 滤膜，用液相色谱-质谱/质谱测定。

7.2.2 秸秆

称取试样 2.00 g（精确至 0.01 g）于 50.0 mL 离心管，加水 10.0 mL 复溶 30 min，加入 20.0 mL 乙腈，在振荡器上震荡 40 min，加入 5.0 g 氯化钠，盖上盖子，振摇约 1 min，放入离心机，4000 r/min 离心 5 min，吸取 2.00 mL 上清液于 15 mL 离心管中（提前称好 100 mgPSA 和 50 mgC18）涡旋净化后过 0.22 μm 滤膜，用液相色谱-质谱/质谱测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：C18 柱，150 mm×2.1 mm (i.d)，3.5 μm，或性能相当者。
- b) 柱温：45 °C。
- c) 流速：0.4 mL/min。
- d) 流动相：A 相为水，B 相为乙腈，梯度洗脱条件见表 1。
- e) 进样量：2.0μL。

表 1 流动相及其梯度条件（V_A+V_B）

时间 (min)	流 速 (mL/ min)	V _A (%)	V _B (%)
0.00	0.4	70	30
0.50	0.4	70	30
2.00	0.4	10	90
4.00	0.4	10	90
4.10	0.4	70	30
7.00	0.4	70	30

7.3.2 质谱参考条件

- a) 离子源类型：电喷雾离子源；
- b) 扫描方式：选择离子监测模式；
- c) 电喷雾电压：3.5kV；
- d) 毛细管传输温度：300 °C；
- e) 碰撞压力：1.5 mTorr；
- f) 鞘气：30 arb；
- g) 辅气：10 arb。

表2 噁唑酰草胺及其代谢物的多反应离子监测分析参数

名称	保留时间/min	定性离子对/m/z	定量离子对/m/z	滞留时间 /s	碰撞能量 /eV
噁唑酰草胺 Metamifop	3.70	441.2/180.0	441.2/180.0	0.1	25
		441.0/288.0		0.1	24
HPFMPA	2.46	290.0/109.0	290.0/109.0	0.1	33
		290.0/137.0		0.1	14
HFMPA	1.48	198.0/126.3	198.0/126.3	0.1	12

		198.0/180.1		0.1	11
6-CBO	2.36	168.0/76.3	168.0/76.3	0.1	28
		168.0/132.0		0.1	21

7.3.3 色谱测定与确证

根据试样中被测物的含量情况，选取响应值适宜的标准工作液进行色谱分析。标准工作液和试样中被测物的响应值均应在仪器线性响应范围内。在上述仪器条件下，噁唑酰草胺、HPFMPA、HFMPA、6-CBO 的保留时间分别约为 3.70、2.46、1.48、2.36min，选择离子监测色谱图参见附录 A。按照上述条件进行样品测定，若检测样品的色谱峰保留时间与标准品一致，且与浓度相当标准工作溶液的相对丰度一致，相对丰度允许偏差不超过表 3 规定的范围，则可判断样品中存在对应的被测物。

表 3 定性确证相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	>50%	20%至 50%	10%至 20%	≤10%
允许的相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

7.4 空白试验

除不加试样外，均按上述操作步骤进行。

8 结果计算和表达

用色谱数据处理或按式（1）计算试样中各农药的含量，计算结果需将空白值扣除。

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

式中：

X —— 试样中被测物残留量的数值，单位为毫克每千克（mg/kg）；

A —— 试样溶液中被测物的质量色谱图峰面积；

V —— 试样中加入的提取溶液体积，单位为毫升（mL）；

C_s —— 标准工作液中被测物的质量浓度的数值，单位为毫克每升（mg/L）；

A_s —— 标准工作液中被测物的质量色谱图峰面积；

m —— 试样质量的数值，单位为克（g）。

注：测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留两位有效数字。

9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值与其算术平均值的比值（百分率），应符合附录 B 的要求。

10 定量限和回收率

10.1 定量限

本方法的定量限 噁唑酰草胺、HPFMPA、HFMPA、6-CBO 均为 0.01 mg/kg。

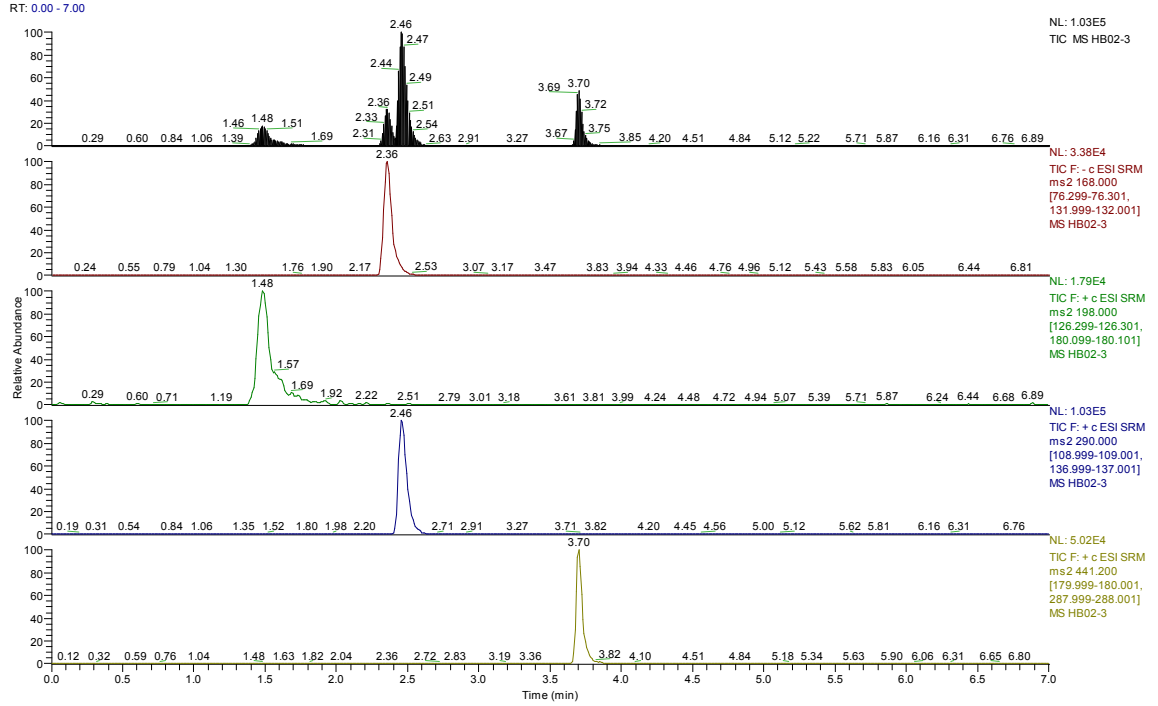
10.2 回收率

本方法的添加浓度和回收率范围见附录 C。

附录 A
(资料性)

噁唑酰草胺及其代谢物LC-MS/MS的选择离子监测 (SRM) 色谱图

噁唑酰草胺及其代谢物LC-MS/MS的选择离子监测 (SRM) 色谱图见图A.1。



图A.1 噁唑酰草胺及其代谢物LC-MS/MS的选择离子监测 (SRM) 色谱图

附录 B

(规范性)

实验室内重复性要求

实验室内重复性要求，见表B.1。

表 B.1 实验室内重复性要求

被测组分含量 mg/kg	精密度(RSD) %
$>0.01 \leq 0.1$	≤ 20
$>0.1 \leq 1$	≤ 15
>1	≤ 10

附录 C

(资料性)

噁唑酰草胺及其代谢物在水稻基质中的添加浓度和回收率范围

噁唑酰草胺及其代谢物在水稻基质中的平均回收率和相对标准偏差，见表C.1。

名称 Name	添加浓度 Fortified concentration/ (mg·kg ⁻¹)	糙米 Rice		稻壳 Rice hull		秸秆 Rice plant	
		平均回收率 Recovery/%	RSD/%	平均回收率 Recovery/%	RSD/%	平均回收率 Recovery/%	RSD/%
噁唑酰草胺 Metamifop	0.01	88.5	4.7	94.7	5.8	95.2	4.3
	0.05	99.7	2.8	101.5	5.5	103.9	5.1
	0.5	101.5	6.8	95.9	11.6	97.9	9.1
HFMPA	0.01	102.0	7.1	74.6	3.7	74.4	1.8
	0.05	83.6	8.5	70.1	1.8	80.0	4.4
	0.5	94.0	8.8	73.0	3.9	86.0	2.2
HPFMPA	0.01	108.8	3.9	73.8	4.3	73.7	4.7
	0.05	97.1	7.5	95.4	11.9	76.4	3.1
	0.5	91.8	10.3	86.0	6.7	96.1	6.3
6-CBO	0.01	75.3	4.9	90.0	2.0	74.2	3.9
	0.05	75.2	5.4	82.8	6.3	75.7	4.8
	0.5	84.5	4.4	75.8	1.9	73.4	3.5

表C. 1 噁唑酰草胺及其代谢物在水稻中的平均回收率及相对标准偏差
