ICS 67.050
B20

团 体 标 准

T/ NAIA XXX—2024

葡萄和葡萄酒中 15 种杀虫剂的测定 高效液相色谱-串联质谱法

Determination of Fifteen Insecticide Residues in Grape and Wine by HPLC-MS/MS

2024-XX-XX 发布 2024-XX-XX 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》规定编写。

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：宁夏回族自治区食品检测研究院（国家市场监管总局重点实验室（枸杞和葡萄酒质量安全））、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：

本文件于 2024 年 XX 月 XX 日首次发布。

葡萄和葡萄酒中 15 种杀虫剂的测定 高效液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了葡萄和葡萄酒中 15 种杀虫剂（吡虫啉、敌百虫、敌敌畏、苯线磷、除虫脲、丙溴磷、吡丙醚、阿维菌素、啶虫脒、毒死蜱、对硫磷、氟胺氰菊酯、氟虫脲、环虫酰肼、甲拌磷）的高效液相色谱-串联质谱检测方法。

本文件适用于葡萄和葡萄酒中 15 种杀虫剂的测定和确证。

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实验方法

DB 22/T 2635-2017《人参中毒死蜱等 9 种杀虫剂残留量的测定 气相色谱法》农业部 781 号公告-11-2006《牛奶中青霉素类药物残留的检测方法 高效液相色谱法》

DB37/T 4663-2023《海水中拟除虫菊酯类杀虫剂的测定 气相色谱法》

T/ZNZ 016-2020《茶叶中吡虫啉等 4 种新烟碱类杀虫剂残留的快速检测 金标免疫试纸法》

DB37/T 4477-2021《水中双酰胺类杀虫剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》

GB 31658.10-2021《动物性食品中氨基甲酸酯类杀虫剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样经乙腈超声提取，QuEChERS 法净化后，经反相色谱柱分离，以保留时间定性，供高效液相色谱-串联质谱仪测定和确证，外标法定量。

5 试剂和材料

本方法所用的试剂，除另有规定外，均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 乙腈：色谱纯。

5.1.2 甲醇：色谱纯。

5.1.3 甲酸：优级纯。

5.1.4 氯化钠（NaCl）：优级纯。

5.1.5 无水硫酸镁（$MgSO_4$）：优级纯。

5.1.6 无水硫酸镁（$MgSO_4$）：粒径 50μm。

5.1.7 石墨化碳黑（GCB）：粒径 100μm。
5.1.8 甲酸铵：色谱纯。
5.1.9 0.02%甲酸的水溶液：取 0.2mL 甲酸用水定容到 1000mL，摇匀。
5.1.10 2mmol/L 甲酸铵-0.02%甲酸水溶液：称取 0.126g 甲酸铵，用 0.02%甲酸的水溶液溶解定容至 1000mL，摇匀。

5.2 标准品

5.2.1 标准品：吡虫啉（纯度：99.2%，CAS：105827-78-9）、敌百虫（纯度：98.4%，CAS：52-68-6）、敌敌畏（纯度：99.0%，CAS：62-73-7）、苯线磷（纯度：98.9%，CAS：22224-92-6）、除虫脲（纯度：99.1%，CAS：35367-38-5）、丙溴磷（纯度：99.5%，CAS：41198-08-7）、吡丙醚（纯度：98.3%，CAS：95737-68-1）、阿维菌素（纯度：98.8%，CAS：71751-41-2）、啶虫脒（纯度：99.8%，CAS：160430-64-8）、毒死蜱（纯度：99.4%，CAS：2921-88-2）、对硫磷（纯度：99.0%，CAS：56-38-2）、氟胺氰菊酯（纯度：99.6%，CAS：102851-06-9）、氟虫脲（纯度：99.9%，CAS：101463-69-8）、环虫酰肼（纯度：99.3%，CAS：143807-66-3）、甲拌磷（纯度：98.7%，CAS：298-02-2），浓度均为 1000 mg/L。
5.2.2 标准储备液：分别准确吸取 1 000.0 mg/L 的 15 种杀虫剂标准溶液各 100 μL，用乙腈溶解并定容至 10.0mL，配制成 10.0mg/L 的混合标准储备液，于-18℃避光保存，有效期 3 个月。
5.2.3 15 种杀虫剂混合标准工作溶液：准确吸取不同体积的标准储备液，用空白基质配制成质量浓度分别为 2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL、50.0 ng/mL、100.0 ng/mL、200.0 ng/mL、300.0 ng/mL、500.0 ng/mL 的系列标准工作液，临用现配。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：配备电喷雾离子源。
6.2 天平：感量 0.1mg 和 0.01g。
6.3 涡旋混合器。
6.4 高速冷冻离心机：最大转速 10000r/min。
6.5 超声波发生器。
6.6 色谱柱： C18，2.1mm×150mm，粒径 3.5μm 或性能相当。

7 测定步骤

准确称取 10.0g（精确至 0.01mg）均匀制备的样品于 50.0mL 具塞离心管中，加入 15 mL 乙腈、3g $MgSO_4$ 和 2g 氯化钠，高速涡旋 1min，超声提取 10min，8000r/min 离心 5 min。移取上清液至装有 500 mg 无水 $MgSO_4$ 和 50mg GCB 的高速离心管中，涡旋混合 5min，8000 r/min 离心 5min，吸取上清液过 0.22μm 有机滤膜，将滤液进行 HPLC-MS/MS 分析。

7.2 仪器参考条件

7.2.1 液相色谱参考条件

7.2.1.1 柱温：30℃。
7.2.1.2 流动相：A：2mmol/L 甲酸铵-0.02%甲酸水溶液，B：甲醇；梯度洗脱见表 1。
7.2.1.3 流速：0.3mL/min。
7.2.1.4 进样量：2μL。

表 1　流动相及梯度洗脱条件

时间/min	流速/（mL/min）	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	0.3	95	5
3.00	0.3	95	5
3.01	0.3	50	50
10.00	0.3	50	50
16.00	0.3	30	70
24.00	0.3	5	95
24.01	0.3	95	5
26.00	0.3	95	5

7.2.2 质谱参考条件

7.2.2.1 离子源：电喷雾离子源（ESI）。
7.2.2.2 扫描方式：正离子扫描。
7.2.2.3 检测方式：多反应监测（MRM）。
7.2.2.4 鞘气温度：350℃。
7.2.2.5 鞘气流速：11.0L/min。
7.2.2.6 雾化器压力：45 psi
7.2.2.7 喷嘴电压：500V。
7.2.2.8 毛细管电压：3000V。
7.2.2.7 定性离子对、定量离子对、碎裂电压、碰撞能量等参数参见附录 A。

7.3 定量测定

根据试液中被测物含量情况，选定浓度相近的基质标准混合使用液，基质标准混合使用液和待测试液中被测物的响应值均应在仪器检测的线性范围内。基质标准混合使用液与试液等体积进样测定。标准溶液及试液均按 7.2.1 和 7.2.2 规定的条件进行测定，如果试液中与标准溶液相同的保留时间有峰出现，则对其进行确证。9 种青霉素标准品的多反应监测（MRM）色谱图参见附录 B，采用基质溶液校准曲线外标法定量。

7.4 定性测定

经确证分析被测物质色谱峰保留时间与标准物质相一致，并且在扣除背景后的样品谱图中，所选择的离子均出现。同时所选择离子的丰度比与标准溶液中相关离子的相对丰度一致，相似度在允许偏差之内（见表 2），则可判定样品中存在对应的被测物。

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

7.5 空白试验

除不加试样外，均按上述步骤进行。

8 分析结果的表述

试样中 15 种杀虫剂的含量按式（1）进行计算：

$$X = \frac{c \times V \times 1000}{m \times 1000} \quad (1)$$

式中：

X ——试样中各种化合物含量，单位为微克每千克（μg/kg）；

c ——由标准曲线计算出的试样溶液浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V ——试样的最后定容体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，单位为克（g）。

注：测定结果用平行测定的算数平均值表示，保留两位有效数字。

9 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

10 其他

当称样量为 10. 0g, 定容体积为 15mL 时，吡虫啉、敌百虫、敌敌畏、苯线磷、除虫脲、丙溴磷、吡丙醚、阿维菌素、啶虫脒、毒死蜱、对硫磷、氟胺氰菊酯、氟虫脲、环虫酰肼、甲拌磷的检出限为 1.0μg/kg，定量限为 3.0μg/kg。

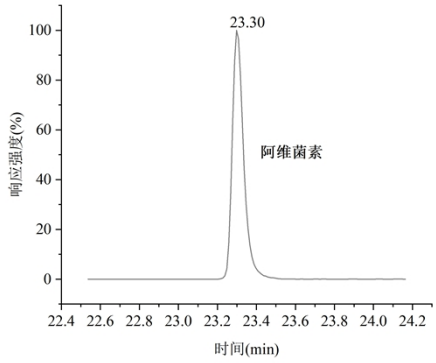
附录 A
(资料性附录)

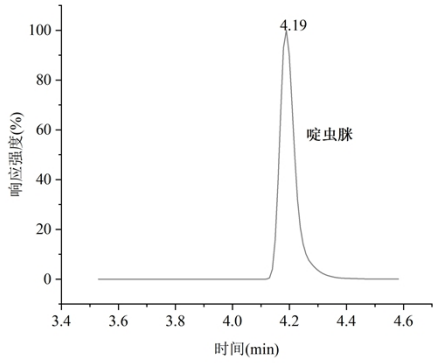
表 A.1　15 种杀虫剂的质谱参数

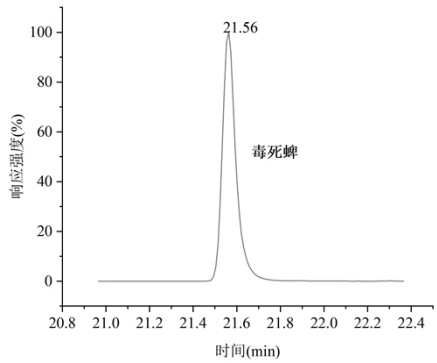
序号	被测物名称	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碎裂电压(v)	碰撞能量(ev)
1	吡虫啉	256.1	209*,175	80,80	10,10
2	敌百虫	257	221*,109	120,120	10,25
3	敌敌畏	221	145*,127	120,120	10,25
4	苯线磷	304.15	217*,202	140,140	20,36
5	除虫脲	311	158*,141	80,80	10,15
6	丙溴磷	373	303*,128	80,80	15,53
7	吡丙醚	322.05	227*,96	120,120	10,15
8	阿维菌素	895.5	751.3*,449.2	200,200	45,50
9	啶虫脒	223	126*,56	80,80	15,15
10	毒死蜱	350	198*,97	100,100	15,35
11	对硫磷	292	264*,236	120,120	10,15
12	氟胺氰菊酯	503	208*,181	130,130	10,28
13	氟虫脲	489	158*,141	80,80	10,15
14	环虫酰肼	395.05	339*,175	90,90	2,8
15	甲拌磷	261.1	199*,75	70,70	5,10

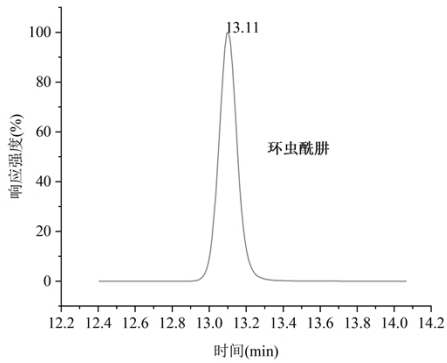
注：*为定量离子

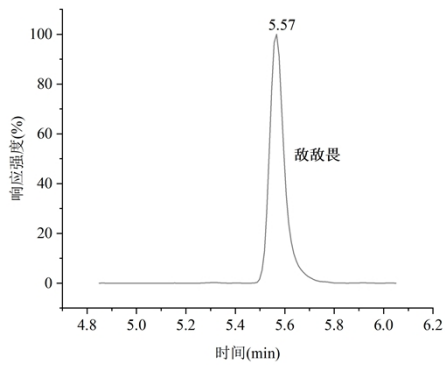
附录 B
(资料性附录)

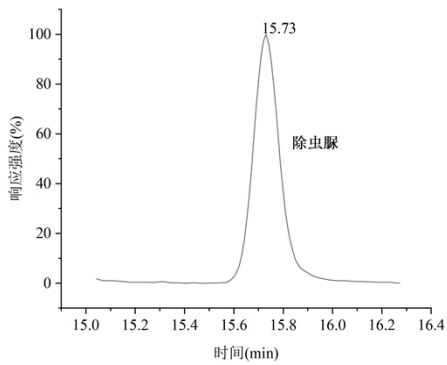

23.30
阿维菌素
响应强度(%)
时间(min)

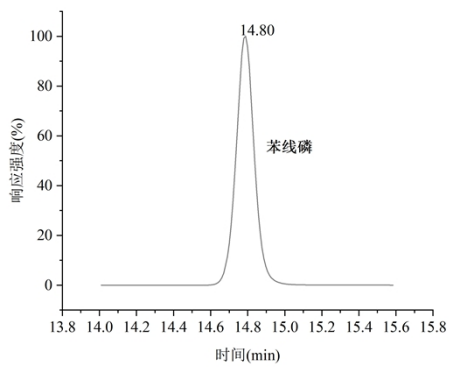

4.19
啶虫脒
响应强度(%)
时间(min)

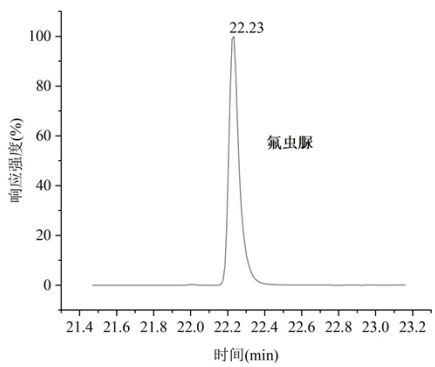

21.56
毒死蜱
响应强度(%)
时间(min)


13.11
环虫酰肼
响应强度(%)
时间(min)


5.57
敌敌畏
响应强度(%)
时间(min)


15.73
除虫脲
响应强度(%)
时间(min)


14.80
苯线磷
响应强度(%)
时间(min)


22.23
氟虫脲
响应强度(%)
时间(min)

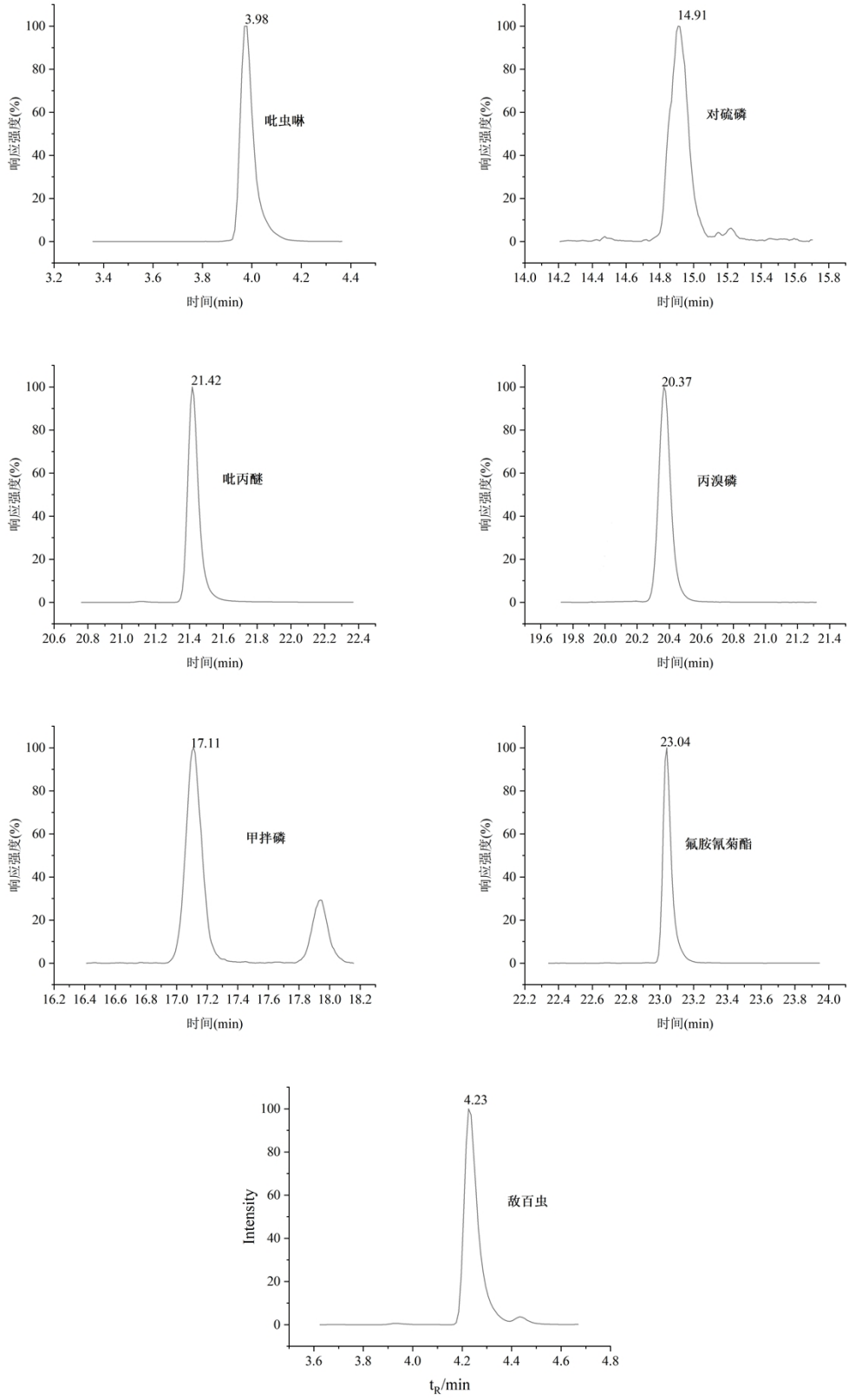


图 B　15 种杀虫剂的多反应监测（MRM）典型色谱图