

中华人民共和国国家标准

GB/T 23818—2009

大豆中咪唑啉酮类除草剂残留量的测定

Determination of imidazolinone herbicide residues in soybean

2009-05-25 发布

2009-09-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准的附录 A、附录 B 均为资料性附录。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中国检验检疫科学研究院、中华人民共和国江西出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：李晓娟、祁彦、张新忠、占春瑞、陈冬东、代汉慧、彭涛、贾然、李建忠、杨强、李淑娟、储晓刚。

大豆中咪唑啉酮类除草剂残留量的测定

1 范围

本标准规定了大豆籽粒中咪唑烟酸、甲基咪草烟、咪草酸甲酯、咪唑乙烟酸、咪唑啉酸残留量的高效液相色谱和液相色谱-质谱/质谱测定方法。

本标准适用于大豆籽粒中咪唑烟酸、甲基咪草烟、咪草酸甲酯、咪唑乙烟酸、咪唑啉酸残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—2008,ISO 3696:1987,MOD)

3 原理

试样用二氯甲烷提取,凝胶渗透色谱法和液液分配法净化,高效液相色谱法和液相色谱-质谱/质谱法测定,外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有说明,所有试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 乙腈:色谱纯。

4.2 正己烷:色谱纯。

4.3 二氯甲烷。

4.4 磷酸。

4.5 滤膜:0.22 μm ,有机相。

4.6 标准物质

4.6.1 咪唑烟酸(imazapyr,CAS No. 81334-34-1):纯度大于等于 99%。

4.6.2 甲基咪草烟(imazapic,CAS No. 104098-48-8):纯度大于等于 99%。

4.6.3 咪草酸甲酯(imazamethabenz-methyl,CAS No. 81405-85-8):纯度大于等于 99.5%。

4.6.4 咪唑乙烟酸(imazethapyr,CAS No. 81335-77-5):纯度大于等于 99%。

4.6.5 咪唑啉酸(imazaquin,CAS No. 81335-37-7):纯度大于等于 99.5%。

4.7 标准储备溶液:分别准确称取各标准物质 10 mg(精确至 0.1 mg),用乙腈溶解并定容至 100 mL,配制成浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备溶液,各标准储备溶液于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪:配有紫外检测器。

5.2 液相色谱-质谱/质谱仪:配有电喷雾电离源。

5.3 粉碎机。

5.4 样品筛:筛孔尺寸 0.425 mm。

5.5 分析天平:感量为 0.1 mg 和 1 mg。

5.6 涡旋混合器。

5.7 振荡器。

5.8 旋转蒸发器。

5.9 离心机。

5.10 具塞离心管。

5.11 凝胶渗透色谱仪:填料 Biobeads S-X3, 40 g;玻璃柱 700 mm×25 mm;流动相二氯甲烷;流动相流速 5.0 mL/min;进样量 5.0 mL;检测波长 250 nm。

6 试样制备与保存

6.1 试样制备

取代表性试样 500 g,用粉碎机粉碎并使其全部通过 0.425 mm 的样品筛,混和均匀,装入洁净的容器内,密封并标识。

6.2 试样保存

试样于 0℃~4℃ 避光保存。取样、制样及保存过程中应防止试样受到污染或者残留农药含量发生变化。

7 分析步骤

7.1 提取

准确称取 5 g 试样(精确至 0.01 g)于 50 mL 具塞离心管中,向离心管中加入 35 mL 二氯甲烷,涡旋混合 2 min 后置于振荡器上振荡提取 20 min,以 4 000 r/min 速度离心 5 min,取上层清液并经二氯甲烷润湿的滤纸过滤后,收集于 100 mL 梨形瓶中。再向残余试样中加入 35 mL 二氯甲烷,重复上述操作。再用 10 mL 二氯甲烷分 3 次~5 次洗涤离心管和滤纸,合并洗涤液于梨形瓶中,于 40℃ 水浴中减压浓缩至约 3 mL。将浓缩液用二氯甲烷定容至 10 mL,以 4 000 r/min 速度离心 5 min,再将上层清液转移至 GPC 进样瓶中,待净化。

7.2 净化

样品提取液首先采用凝胶渗透色谱法净化,在 5.11 的仪器条件下,收集第 13.80 min~22.8 min 的馏分共 45 mL,于 40℃ 水浴中减压浓缩至近干,再用氮气吹干。用 2 mL 乙腈溶解残渣,再加入 2 mL 乙腈饱和的正己烷,涡旋振荡 2 min,静置分层后弃去正己烷层,乙腈层用氮气吹干。再用乙腈定容至 1.0 mL,供 HPLC 和 LC-MS/MS 测定。

7.3 高效液相色谱和液相色谱-质谱/质谱测定

7.3.1 高效液相色谱法参考条件

- 色谱柱: C₁₈ 柱, 250 mm×4.6 mm(内径), 5 μm, 或相当者;
- 柱温: 30℃;
- 流动相及梯度洗脱程序参见附录 A;
- 流速: 1.0 mL/min;
- 进样量: 10 μL;
- 检测波长: 250 nm。

7.3.2 液相色谱-质谱/质谱法参考条件

- 色谱柱: C₁₈ 柱, 150 mm×2.1 mm(内径), 3.5 μm, 或相当者;
- 柱温: 30℃;
- 流动相及梯度洗脱程序参见附录 A;
- 流速: 0.2 mL/min;
- 进样量: 10 μL;

f) 质谱/质谱参考条件参见附录 A。

7.3.3 定量测定

7.3.3.1 HPLC法:根据样液中咪唑啉酮类除草剂的含量,选取浓度相近的标准工作溶液,待测样液中咪唑啉酮类除草剂的响应值应在仪器检测的线性范围内。对标准工作溶液及样液等体积交替进样测定。在7.3.1的仪器条件下,保留时间约为咪唑烟酸 8.60 min,甲基咪草烟 11.50 min,咪草酸甲酯 13.73 min,咪唑乙烟酸 15.98 min,咪唑啉酸 20.38 min,色谱图参见附录 B 中图 B.1。

7.3.3.2 LC-MS/MS法:根据样液中咪唑啉酮类除草剂的含量,选取浓度相近的标准工作溶液,待测样液中咪唑啉酮类除草剂的响应值应在仪器检测的线性范围内。对标准工作溶液及样液等体积交替进样测定。在7.3.2的仪器条件下,保留时间约为咪唑烟酸 5.21 min,甲基咪草烟 6.63 min,咪草酸甲酯 7.03 min,咪唑乙烟酸 7.29 min,咪唑啉酸 7.78 min,多反应监测质量色谱图参见附录 B 中图 B.2。

7.3.4 定性测定

按照上述条件测定试样和标准溶液,如果试样中化合物质量色谱峰的保留时间与标准溶液相比在±2.5%的允许偏差之内;样品中待测组分的两个子离子的相对丰度与浓度相当的标准溶液相比,相对丰度偏差不超过表1的规定,则可判断试样中存在相应的目标化合物。

表 1 定性离子相对丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的最大偏差/%	±20	±25	±30	±50

7.4 空白试验

除不称取试样外,均按上述条件和步骤进行。

8 结果计算与表达

试样中待测化合物的残留量可采用数据处理软件或按式(1)计算:

$$X_i = \frac{C_i \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X_i ——试样中待测化合物的残留量,单位为毫克每千克(mg/kg);

C_i ——从标准曲线中得到的待测化合物的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

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)。

9 测定低限和回收率

9.1 测定低限

本标准液相色谱法对各待测物的测定低限为 0.05 mg/kg;液相色谱-质谱/质谱法对各待测物的测定低限为 0.02 mg/kg。

9.2 回收率

本标准高效液相色谱法在添加浓度 0.05 mg/kg~1.00 mg/kg 范围内,回收率在 88.2%~105.9% 之间;

本标准液相色谱-质谱/质谱法在添加浓度 0.02 mg/kg~1.00 mg/kg 范围内,回收率在 81.8%~103.9% 之间。

附 录 A
(资料性附录)

高效液相色谱法和液相色谱-质谱/质谱法测定参数¹⁾

表 A.1 HPLC 流动相梯度洗脱条件

洗脱时间/min	磷酸水溶液(pH 2.5)/%	乙腈/%
0.00	90	10
1.75	80	20
14.00	68	32
20.00	62	38
23.00	54	46
23.01	10	90
28.00	0	100
28.01	90	10
35.00	90	10

表 A.2 LC-MS/MS 流动相梯度洗脱程序

洗脱时间/min	0.1%甲酸水溶液/%	乙腈/%
0.00	90	10
5.00	30	70
10.00	10	90
18.00	90	10

表 A.3 LC-MS/MS 质谱条件

电离方式	ESI ⁺
毛细管电压	3.0 kV
源温度	120 °C
去溶剂温度	350 °C
锥孔气流	氮气, 100 L/h
去溶剂气流	氮气, 600 L/h
碰撞气压	氩气, 2.50×10^{-5} Pa
监测模式	多反应监测 (MRM)

1) 非商业性声明: 附录 A 所列参数是在 Waters Quattro Ultima Pt 质谱仪上完成的, 此处列出试验用仪器型号仅是为了提供参考, 并不涉及商业目的, 鼓励标准使用者尝试采用不同厂家或型号的仪器。

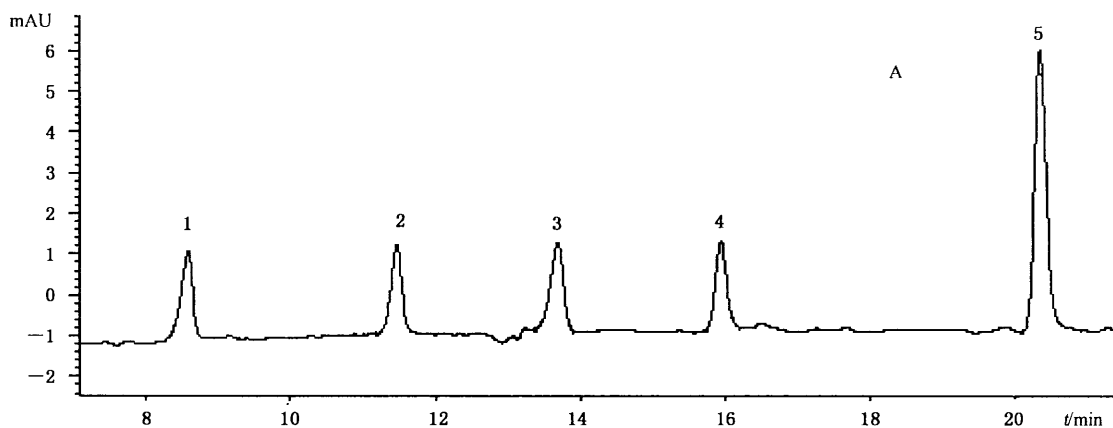
表 A.4 LC-MS/MS 多反应监测条件

农药名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	驻留时间/s	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
咪唑烟酸	262	217 ^a	0.2	40	17
		234	0.2		15
甲基咪草烟	276	234 ^a	0.2	40	18
		248	0.2		22
咪草酸甲酯	289	229 ^a	0.2	40	18
		257	0.2		23
咪唑乙烟酸	290	230 ^a	0.2	40	18
		247.8	0.2		23
咪唑喹啉酸	312	270 ^a	0.2	40	19
		252	0.2		26

^a 为定量离子。

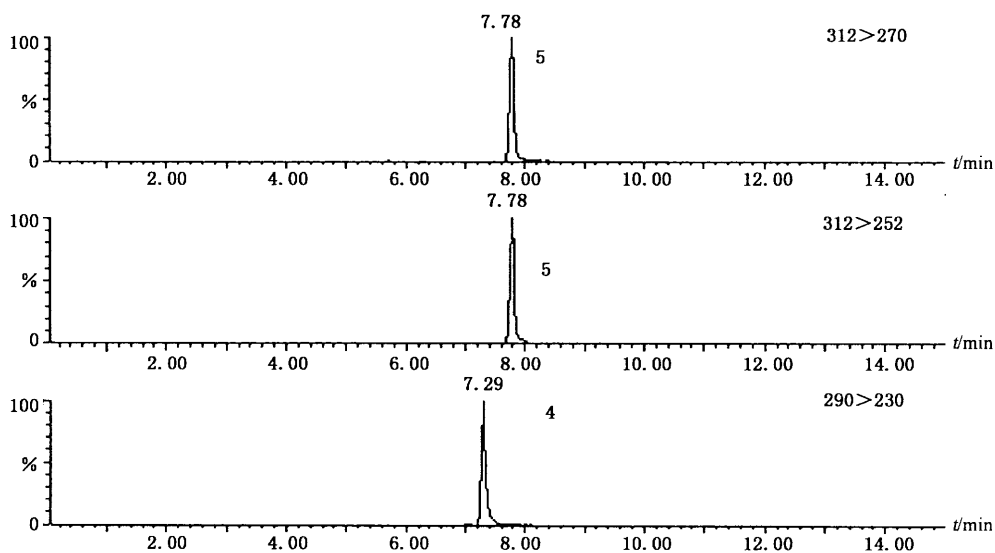
附录 B
(资料性附录)

咪唑啉酮类农药标准物质液相色谱图和多反应监测离子流色谱图



- 1——咪唑烟酸；
- 2——甲基咪草烟；
- 3——咪唑乙烟酸；
- 4——咪草酸甲酯；
- 5——咪唑啉酸。

图 B.1 标准物质液相色谱图



- 1——咪唑烟酸；
- 2——甲基咪草烟；
- 3——咪唑乙烟酸；
- 4——咪草酸甲酯；
- 5——咪唑啉酸。

图 B.2 标准物质多反应监测离子流色谱图

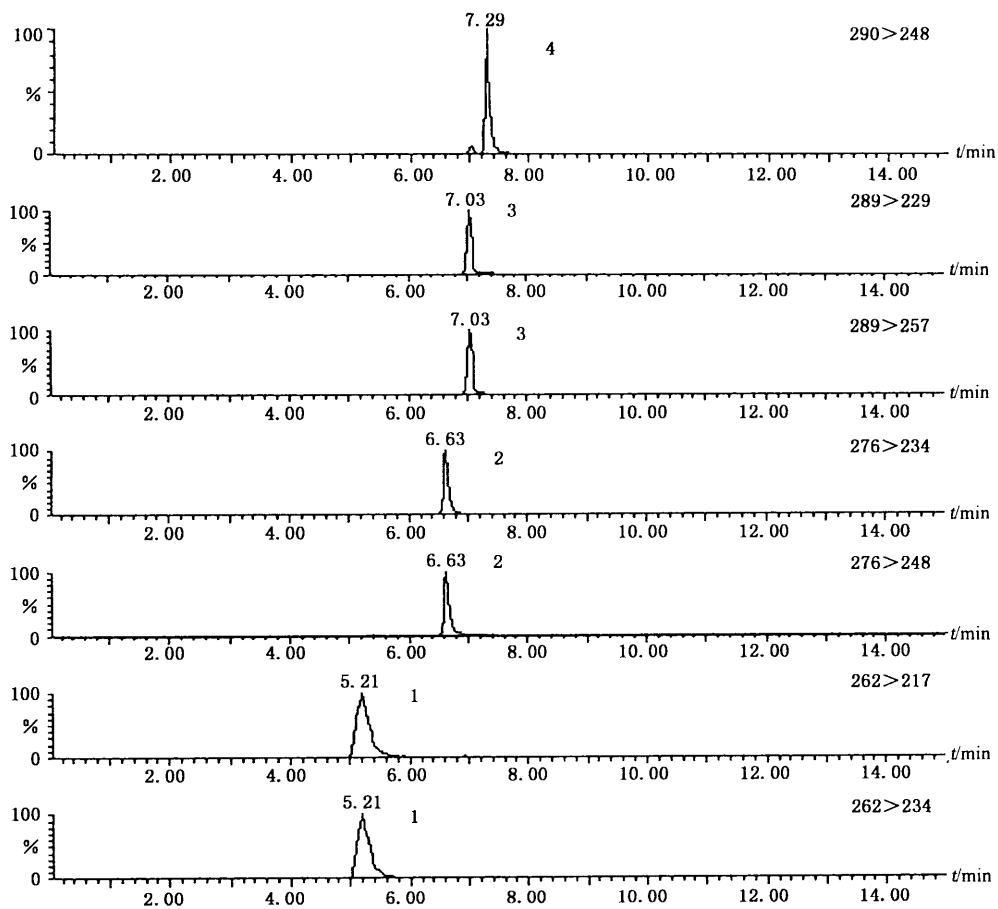


图 B.2 (续)