

分散固相萃取净化/液相色谱-串联质谱法同时测定蜂王浆中双甲脒、单甲脒及其代谢物

侯建波^{1,2*}, 谢文^{1,2}, 钱艳³, 史颖珠³, 姚滨滨³, 汪鹏³, 盛涛³

(1. 浙江省检验检疫科学技术研究院, 浙江 杭州 310016; 2. 浙江出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 浙江 杭州 310016; 3. 浙江立德产品技术有限公司, 浙江 杭州 310016)

摘要: 建立了分散固相萃取净化/液相色谱-串联质谱(dSPE/LC-MS/MS)测定蜂王浆中双甲脒、单甲脒(DMPF)及其代谢物2,4-二甲基苯基甲酰胺(DMF)和2,4-二甲基苯胺(DMA)残留量的方法。样品经缓冲溶液(pH 9.0)稀释,乙腈和氯化钠进行蛋白沉淀、盐析提取后,通过N-丙基乙二胺(PSA)、C₁₈和无水硫酸镁进行分散固相萃取净化。净化液过0.22 μm滤膜后,采用Agilent Eclipse XDB-C₁₈柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm)分离,以0.15%甲酸溶液-乙腈为流动相进行梯度洗脱,采用电喷雾离子源正离子方式扫描,多反应监测模式进行检测,同位素内标法定量。结果表明,双甲脒、DMPF、DMF和DMA的线性范围为0~100 μg/kg,相关系数(*r*)大于0.996,方法定量下限(*S/N*=10)分别为0.10、0.25、5.0、2.5 μg/kg。对空白蜂王浆进行5、10、20 μg/kg浓度水平的加标实验,回收率为77.0%~107%,相对标准偏差为2.0%~11%。该方法简便、快捷,适用于蜂王浆中双甲脒、DMPF及其代谢物残留量的同时测定。

关键词: 蜂王浆; 双甲脒; 单甲脒; 代谢物; 液相色谱-串联质谱法; 分散固相萃取

中图分类号: O657.7; O657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2019)04-0455-06

Simultaneous Determination of Amitraz, Semiamitraz and Their Metabolites in Royal Jelly by Dispersive Solid-phase Extraction/Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

HOU Jian-bo^{1,2*}, XIE Wen^{1,2}, QIAN Yan³, SHI Ying-zhu³, YAO Bin-bin³,
WANG Peng³, SHENG Tao³

(1. Zhejiang Academy of Science and Technology for Inspection and Quarantine, Hangzhou 310016, China; 2. The Technique Center of Zhejiang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Hangzhou 310016, China; 3. Zhejiang Lead Product Technic Co. Ltd., Hangzhou 310016, China)

Abstract: An analytical method based on dispersive solid-phase extraction/liquid chromatography-tandem mass spectrometry (dSPE/LC-MS/MS) was developed for the determination of amitraz, semiamitraz (DMPF) and their metabolites N-(2,4-dimethylphenyl) formamide (DMF) and 2,4-dimethylaniline (DMA) residues in royal jelly. The royal jelly samples were diluted with a buffer solution (pH 9.0), and the protein in royal jelly was precipitated with acetonitrile and NaCl. The acetonitrile supernatant was cleaned up with primary secondary amine (PSA), C₁₈ and anhydrous MgSO₄ by dSPE method, then the supernatant solution was filtered through a nylon membrane (0.22 μm) into a glass LC vial for LC-MS/MS analysis. The solution was separated on an Agilent Eclipse XDB-C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) with acetonitrile-0.15% formic acid solution as mobile phases by gradient elution, then determined by LC-MS/MS with electrospray ionization (ESI) in positive ion scanning mode under multiple reaction monitoring (MRM) mode, and finally quantified by isotope internal standard method. Results showed that there were good linear relationships for amitraz, DMPF, DMF and DMA in the concentration range of 0-100 μg/kg with their correlation coefficients (*r*) more than 0.996. The limits of quantitation (*S/N*=10) for the analytes were 0.10, 0.25, 5.0

收稿日期: 2018-12-24; 修回日期: 2019-01-18

基金项目: 浙江省科技计划项目(2017C37011); 浙江出入境检验检疫局科技计划项目(ZK201710X)

* 通讯作者: 侯建波, 博士, 高级工程师, 研究方向: 食品中药物残留检测, E-mail: xmuhjb@163.com

and 2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The spiked recoveries at three levels of 5, 10 and 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ were in the range of 77.0% – 107% with relative standard deviations (RSD) of 2.0% – 11%. This method was rapid and convenient, and was suitable for the simultaneous determination of amitraz, DMPF and their metabolites residues in royal jelly samples.

Key words: royal jelly; amitraz; semiamitraz; metabolites; liquid chromatography – tandem mass spectrometry; dispersive solid-phase extraction

蜂王浆是蜂巢中培育幼虫的青年工蜂咽头腺的分泌物,也是蜜蜂生长和繁衍过程中的食物。研究发现,蜂王浆极具营养价值和免疫功能,其富含蛋白质、脂质、碳水化合物、维生素和矿物元素,具有辅助控制血管扩张,降低血糖、血脂、血压,护肝,提高免疫力以及抗衰老等功效^[1-2]。随着蜂王浆的消费需求不断增长,对其质量的要求也越来越高,其中药物残留是衡量蜂王浆产品质量的重要指标。

双甲脒(Amitraz),又称N,N-双(2,4-二甲苯亚氨基甲基)甲胺,属于一种常见的有机氮杀虫、杀螨剂,广泛用于蔬菜、茶叶、棉花等作物以防治害螨、蚜虫、棉铃虫等^[3]。由于其可以有效防治狄瓦氏螨引起的蜂病且对蜜蜂低毒,因此广泛用于蜂巢除螨^[4-5]。单甲脒(Semiamitraz),又称N'-(2,4-二甲基苯基)-N-甲基亚胺甲酰胺(DMPF),其既是双甲脒的代谢产物,也是杀螨剂,且对蜜蜂比较安全,可作为农药单独使用^[6]。双甲脒和单甲脒可代谢分解形成2,4-二甲基苯基甲酰胺(DMF)和2,4-二甲基苯胺(DMA)。其中DMA是合成单甲脒和双甲脒的化工原料,其具有毒副作用和致突变性,对肝脏的损伤较大^[7]。因此各国纷纷制定双甲脒在农产品及蜂产品中的最低限量,欧盟、日本和美国规定蜂产品中双甲脒的最低限量为0.2 mg/kg,并要求同时检测其代谢物^[8-11]。

目前,蜂产品中双甲脒的测定通常是在酸、碱环境下高温水解生成最终代谢产物DMA,通过气相色谱法(GC)^[12-17]和气相色谱-质谱法(GC-MS)^[18-22]进行检测,再转化成双甲脒的含量。随着色谱分离手段的提高和质谱检测器的使用,研究人员采用气相色谱法^[23-24]、气相色谱-质谱法^[25]、高效液相色谱法(HPLC)^[26-29]和液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)^[30-34]对蜂产品中的双甲脒及其代谢物进行直接测定。然而同时测定双甲脒、DMPF及其代谢物DMF和DMA的相关研究较少^[35-37]。本研究采用缓冲溶液、乙腈、氯化钠沉淀蜂王浆中的蛋白质和提取目标化合物,以N-丙基乙二胺(PSA)、C₁₈和无水硫酸镁进行分散固相萃取净化(dSPE),建立了同时检测蜂王浆中双甲脒、DMPF、DMF和DMA残留的液相色谱-串联质谱法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

1260-6495型液相色谱-串联质谱仪(美国Agilent公司,配有电喷雾离子源),台式离心机(美国Thermo公司); Milli-Q超纯水器(美国Millipore公司); IKA MS3 Basic型涡旋器(德国IKA公司)。

双甲脒、DMPF、DMF和DMA标准品(纯度 $\geq 99\%$, Dr. Ehrenstorfer公司),双甲脒-D₆标准品(纯度 $\geq 98\%$, TRC公司),DMA-D₆标准品(纯度 $\geq 98\%$, C/D/N Isotopes公司)。用乙腈将各标准品溶解并定容得10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备液,根据需要用乙腈将其稀释至所需浓度。

氯化钠(纯度 $\geq 99.5\%$)、PSA、C₁₈和石墨化碳黑(GCB)粉末(上海安谱实验科技股份有限公司);无水硫酸镁(MgSO₄)粉末(纯度 $\geq 98.0\%$,西陇科学股份有限公司);乙腈、甲醇和甲酸(色谱纯,德国Merck公司);实验用水为Milli-Q高纯水(由Milli-Q超纯水器制备);pH 4.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10、11的缓冲溶液(爱尔兰Reagecon公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品提取 称取2 g蜂王浆样品(精确至0.01 g)于50 mL具塞离心管中,加入100 μL 400 ng/mL的同位素内标溶液和pH 9.0的缓冲溶液至10 mL,2 000 r/min涡旋混合1 min,静置5 min,加入10 mL乙腈和2 g氯化钠,2 000 r/min涡旋混匀1 min,静置5 min,8 500 r/min离心5 min,移取上层乙腈相至另一50 mL具塞离心管,水相再加入10 mL乙腈,2 000 r/min涡旋混匀,静置5 min,8 500 r/min离心5 min,合并乙腈提取液,定容至20 mL,混匀待净化。

1.2.2 样品净化 将 1.0 mL 提取液转移至含有 25 mg PSA、10 mg C₁₈和 30 mg 无水 MgSO₄ 的 15 mL 具塞离心管中, 2 000 r/min 涡旋混匀 30 s, 8 500 r/min 离心 5 min, 转移全部上清液, 加水定容至 2.0 mL, 涡旋混匀, 过 0.22 μm 滤膜后, 待测定。

1.2.3 色谱条件 色谱柱: Agilent Eclipse XDB - C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: A 为 0.15% 甲酸溶液, B 为乙腈。梯度洗脱程序: 0~8.0 min, 40%~65% B; 8.0~9.0 min, 65%~95% B; 9.0~14.0 min, 95% B; 14.0~15.0 min, 95%~40% B; 15.0~16.0 min, 40% B, 16.0~19.0 min, 保持 40% B 进行系统平衡。流速变化程序: 0~8.0 min, 保持 0.4 mL/min; 8.0~9.0 min, 0.4~0.7 mL/min; 9.0~15.0 min, 保持 0.7 mL/min; 15.0~16.0 min, 0.7~0.4 mL/min; 16.0~19.0 min, 保持 0.4 mL/min 进行系统平衡。进样量为 10 μL; 柱温为 25 °C。

1.2.4 质谱条件 离子源: 电喷雾离子源 (ESI); 扫描模式: 正离子扫描; 检测方式: 多反应监测 (MRM); 毛细管电压: 2 500 V; 离子源温度: 130 °C; 干燥气流量: 16 L/min; 鞘气温度: 250 °C, 鞘气流量: 11 L/min。其它质谱条件见表 1。

表 1 双甲脒、DMPF 及其代谢物的质谱参数
Table 1 MS parameters of amitraz, DMPF and their metabolites

Analyte	MRM transition (<i>m/z</i>)	Collision energy (V)	Retention time (min)	Internal standard
Amitraz	294.2/163.2*, 294.2/122.2	14, 33	14.73	Amitraz - D ₆
DMPF	163.2/122.2*, 163.2/107.2	17, 30	3.54	DMA - D ₆
DMF	150.1/107.1*, 150.1/132.1	24, 14	7.64	DMA - D ₆
DMA	122.1/107.1*, 122.1/79.1	17, 34	3.77	DMA - D ₆
Amitraz - D ₆	300.2/166.1	15	14.64	-
DMA - D ₆	128.1/110.0	19	3.73	-

* quantitative ion pair

2 结果与讨论

2.1 提取条件的选择

已有研究表明, 酸性环境下双甲脒易发生分解^[34,38]。考察了蜂王浆基质中加入不同 pH 值缓冲溶液 (pH 4.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10、11) 对目标物提取效果的影响。结果表明, 蜂王浆提取溶液在 pH 7.0~8.0 下的提取效果最佳。其中双甲脒和 DMPF 易受到 pH 值的影响, 在酸性环境下, 双甲脒的回收率明显降低; 当 pH > 8.0 时 DMPF 的回收率开始下降, 当 pH > 10 时, 其回收率小于 60%。由于蜂王浆溶液偏弱酸性, 实验最终选择加入 pH 9.0 的缓冲溶液, 此时蜂王浆提取溶液 pH 为 7.0~8.0, 可达到最佳提取效果。

分别采用乙腈和甲醇对蜂王浆基质进行沉淀蛋白、目标物提取和净化试验。结果表明: 甲醇沉淀蛋白质的效果略好于乙腈, 但乙腈的净化回收率比甲醇高 10% 左右, 且回收率更稳定。结合流动相体系, 最终选用乙腈作为蛋白沉淀剂和目标物提取剂, 同时加入氯化钠有助于乙腈和水相分层, 提高提取效率。

2.2 净化条件的选择

分别考察了 PSA、C₁₈、GCB 和无水 MgSO₄ 对目标化合物的吸附情况, 结果显示单独使用 15、30、100 mg 的 GCB 时对双甲脒的吸附均达到 90% 以上, 导致双甲脒的回收率小于 10%。而单独使用 PSA、C₁₈ 或无水 MgSO₄ 时 4 种目标化合物的回收率均大于 75%。因此进一步考察了 PSA、C₁₈ 和无水 MgSO₄ 不同用量组合时的净化效果, 结果表明随着吸附剂用量的增加, 各目标物的回收率均降低, 其中 DMPF 的回收率降低最明显 (图 1)。

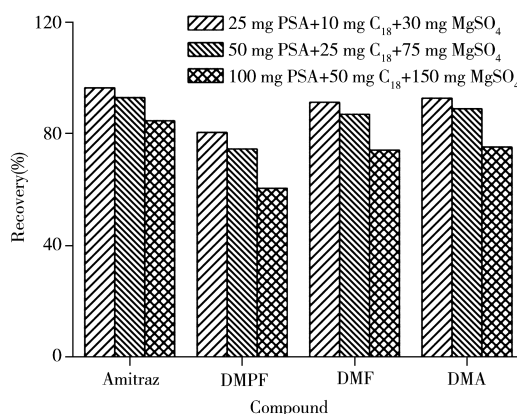


图 1 不同用量 PSA、C₁₈ 和无水 MgSO₄ 对净化结果的影响 (n = 3)

Fig. 1 Effect of different dosage of PSA, C₁₈ and MgSO₄ on purification result (n = 3)

实验最终采用 25 mg PSA + 10 mg C₁₈ + 30 mg 无水 MgSO₄ 对蜂王浆提取液进行净化, 此时 4 种目标化合物的回收率最大。

2.3 液相色谱条件的选择

参考文献方法^[35], 本实验选择 C₁₈ 色谱柱对目标化合物进行分离, 以乙腈 - 0.15% 甲酸溶液为流动相进行梯度洗脱, 并在 9.0 min 时将流速提升至 0.7 mL/min, 从而缩短双甲脒的保留时间。考虑到双甲脒的酸不稳定性, 并结合前处理净化条件, 最终采用乙腈 - 水(体积比 1 : 1) 定容, 对目标化合物的色谱峰形基本无影响。优化的色谱条件如“1.2.3”所示。

2.4 质谱条件的选择

在正离子模式下, 采用直接进样方式对 1.0 μg/mL 待测化合物的单标准溶液进行母离子全扫描, 确定分子离子峰, 再以分子离子为母离子, 对其子离子进行全扫描。按照欧盟 EC/657 指令, 串联质谱法定量确证须满足 4 个识别点的要求(母离子 1 点, 特征子离子 1.5 点/个), 本实验选择 2 个特征子离子进行测定, 其中以信噪比高、峰形好、干扰小的离子对作为定量离子对, 另一个离子对作为定性离子对。以 MRM 正离子模式优化各质谱参数, 发现双甲脒和单甲脒易发生源内裂解, 将离子源毛细管电压设为 2 500 V, 离子源温度和鞘气温度分别设为 130 °C 和 250 °C, 可以有效保证离子化效率并降低源内裂解。最佳质谱条件见表 1。

2.5 基质效应

采用本方法分别测定混合溶剂标准溶液和空白基质加标溶液, 通过计算离子抑制率来考察基质效应情况^[39-40]。其中, 离子抑制率(%) = (混合溶剂标准溶液中响应强度 - 空白基质加标溶液中响应强度) × 100% / 混合溶剂标准溶液中响应强度。结果显示, 双甲脒和 DMA 的离子抑制率相对较大, 分别为 32.0% 和 24.4%, 存在基质抑制效应。本实验最终采用空白基质加标溶液配制线性工作曲线, 同时结合同位素内标法定量以降低基质效应。

2.6 方法线性关系与定量下限

采用本方法测定质量浓度为 0、5、10、20、50、100 μg/kg 的混合标准溶液, 以目标物与同位素内标物的峰面积比值(Y)为纵坐标, 以待测物的质量浓度(X, μg/kg)为横坐标绘制标准曲线。由表 2 可知, 各化合物在 0~100 μg/kg 范围内呈良好线性关系, 相关系数(r)大于 0.996。以 10 倍信噪比(S/N = 10)计算方法定量下限, 双甲脒、DMPF、DMF 和 DMA 的定量下限分别为 0.10、0.25、5.0、2.5 μg/kg。空白蜂王浆样品加标 5 μg/kg 的提取离子流图见图 2。

2.7 方法回收率与相对标准偏差

在空白蜂王浆中进行 5、10、20 μg/kg 3 个浓度水平的加标回收实验, 每个浓度做 6 个平行样品。结果显示, 4 种目标物的回收率为 77.0% ~ 107%, 相对标准偏差(RSD)为 2.0% ~ 11%。

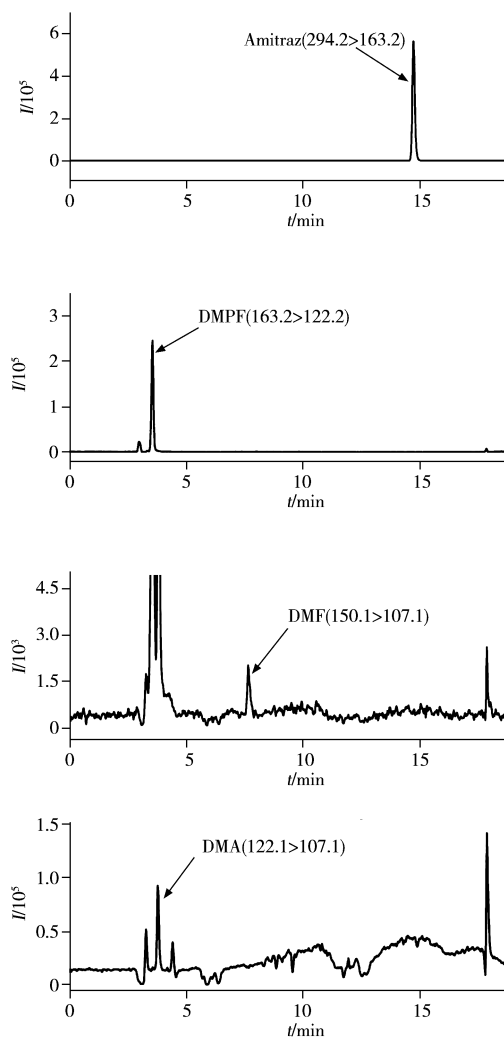


图 2 空白蜂王浆基质溶液加标(5 μg/kg)的提取离子流图
Fig. 2 The extracted ion chromatograms of spiked solution on royal jelly matrix(5 μg/kg)

表2 双甲脒、DMPF及其代谢物的线性关系、回收率及相对标准偏差($n=6$)Table 2 Linear relationships, recoveries and relative standard deviations of amitraz, DMPF and their metabolites($n=6$)

Analyte	Regression equation	Correlation coefficients(r)	Spiked ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Recovery (%)	RSD (%)
Amitraz	$Y=0.0138X-1.67\times 10^{-7}$	0.9988	5, 10, 20	90.9~99.7, 89.0~104, 101~106	3.9, 5.9, 2.0
DMPF	$Y=0.203X-1.96\times 10^{-6}$	0.9990	5, 10, 20	77.0~106, 88.8~104, 83.2~107	11, 5.8, 8.7
DMF	$Y=0.00181X-1.96\times 10^{-8}$	0.9969	5, 10, 20	90.6~106, 92.9~103, 89.5~105	7.1, 4.2, 6.5
DMA	$Y=0.0709X-8.00\times 10^{-7}$	0.9993	5, 10, 20	87.4~104, 84.0~101, 90.0~104	7.6, 6.5, 5.7

2.8 实际样品分析

应用本方法对市场采购的15批次不同品牌蜂王浆样品进行测定,其中1个样品检出双甲脒,含量为 $37.2\mu\text{g}/\text{kg}$,该结果与GB 23200.103-2016^[17]的检测结果一致。

3 结论

本文建立了分散固相萃取净化/液相色谱-串联质谱(dSPE/LC-MS/MS)测定蜂王浆中双甲脒、单甲脒及其代谢物残留量的方法。采用pH 9.0的缓冲溶液稀释蜂王浆样品,通过乙腈和氯化钠进行蛋白沉淀、盐析提取,N-丙基乙二胺、 C_{18} 和无水硫酸镁进行分散固相萃取净化,LC-MS/MS法进行分离测定,同位素内标法进行定量分析。该方法前处理过程环境友好,简便快捷,检测成本低,定量下限满足目前国内外相关化合物最大残留限量的要求,可以实现对蜂王浆中双甲脒、DMPF及其代谢物残留情况的有效监控。

参考文献:

- [1] Liu X S, Li C Y, Jin L. *Apicul. China*(刘喜生,李春雁,靳黎.中国蜂业), **2015**, 66(5): 48-49.
- [2] Wu L M, Chen L Z, Selvaraj J N, Wei Y, Wang Y, Li Y, Zhao J, Xue X F. *Food Chem.*, **2015**, 173: 1111-1118.
- [3] Wang S C, Jiang Y Z. *Pestic. Sci. Manage.*(王少成,姜元振.农药科学与管理), **1992**, 2: 6-7.
- [4] Dai P L, Wang Q, Sun J H, Zhou T, Liu F, Wang X. *Agrochemicals*(代平礼,王强,孙继虎,周婷,刘锋,王星.农药), **2007**, 46(8): 546-547.
- [5] Gerardo P S, Gabriel O C, David M S, Martha E R G, Remy V. *Florida Entomol.*, **2000**, 83(4): 468-476.
- [6] Chen R, Dai Z K, Cai D J. *Ecol. Sci.*(陈锐,戴珍科,蔡道基.生态科学), **1992**, 2: 100-103.
- [7] Osanoa O, Admiraala W, Klamerc H J C, Pastorc D, Bleekera E A J. *Environ. Pollut.*, **2002**, 119(2): 195-202.
- [8] Rial-Otero R, Gaspar E M, Moura I, Capelo J L. *Talanta*, **2007**, 71(2): 503-514.
- [9] No. 2377/90/EEC/1990. Laying Down a Community Procedure for the Establishment of Maximum Residue Limits of Veterinary Medicinal Products in Foodstuffs of Animal Origin. The European Union. Council Regulation(EU), **1990**.
- [10] Japan. Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods[2018-12-18]. <http://www.mhlw.go.jp/english/topics/foodsafety/positivelist060228/>.
- [11] 40 CFR Part 180,180.287. Tolerances and Exemptions for Pesticide Chemical Residues in Food(Amitraz; Tolerances for Residues). The United States of America. Code of Federal Regulations, **2006**.
- [12] Jimenez J J, Nozal M J, Bernal J L, Santos M, Mayorga A L. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2002**, 374: 300-304.
- [13] Lenicek J, Sekyra M, Novotna A R, Vasova E, Titera D, Vesely V. *Anal. Chim. Acta*, **2006**, 571: 40-44.
- [14] Shamsipur M, Hassan J, Salar-Amoli J, Yamini Y. *J. Food Compos. Anal.*, **2008**, 21: 264-270.
- [15] Salar-Amoli J, Hassan J, Hejazy M. *Am. J. Food Technol.*, **2009**, 4(1): 56-59.
- [16] Jimenez J J, Bernal J L, Del-Nozal M J, Alonso C. *Anal. Chim. Acta*, **2004**, 524: 271-278.
- [17] GB 23200.103-2016. Determination of Amitraz and Its Metabolites Residues in Royal-jelly GC-MS. National Standards of the People's Republic of China(食品安全国家标准 蜂王浆中双甲脒及其代谢产物残留量的测定 气相色谱-质谱法. 中华人民共和国国家标准).
- [18] Li A D, Wang J, Cui Z Y, Cao Y Z, Liu Y M. *J. Yanshan Univ.*(李阿丹,王晶,崔宗岩,曹彦忠,刘永明.燕山大学学报), **2016**, 40(3): 236-240.
- [19] Hong J Y, Jung O S, Ryoo J J, Hong J. *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2009**, 30(1): 61-65.
- [20] Zhou Z Q, Ding H Y, Wu J, Jiang X Y. *Agrochem. Res. Appl.*(周召千,丁慧琪,吴娟,蒋晓英.农药研究与应用), **2009**, 13(4): 23-26.
- [21] Caldow M, Fussell R J, Smith F, Sharman M. *Food Addit. Contam.*, **2007**, 24(3): 280-284.
- [22] Xue X F, Zhao J, Qiu J, Zhou Z Q. *Mod. Sci. Instrum.*(薛晓锋,赵静,邱静,周志强.现代科学仪器), **2005**, 1: 65-67.
- [23] Yamini Y, Faraji M, Ghambarian M. *Food Anal. Methods*, **2015**, 8(3): 758-766.
- [24] Bashiri-Juybaril M, Mehdinia A, Jabbari A, Yamini Y. *Am. J. Anal. Chem.*, **2011**, 2(5): 632-637.

- [25] Korta E, Bakkali A, Berrueta L A, Gallo B, Vicente F, Bogdanov S. *Anal. Chim. Acta*, **2003**, 475: 97 – 103.
- [26] Ryoo J J, Kim S H, Jeong Y H, Do H S, Ryu J E, Kwon H Y, Jeong J Y, Park H J, Lee S H, Hong M K, Hong J. *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2008**, 29(5): 1043 – 1047.
- [27] Martel A C, Zeggane S. *J. Chromatogr. A*, **2002**, 954: 173 – 180.
- [28] Zhao Z Y, Wu B, Shen C Y, Chen H L, Ding T, Huang J, Liu Y. *Apicul. China*(赵增运, 吴斌, 沈崇钰, 陈惠兰, 丁涛, 黄娟, 刘艳. 中国养蜂), **2005**, 56(5): 4 – 6.
- [29] GB/T 21169 – 2007. Determination of Amitraz and Its Metabolites Residues in Honey—Liquid Chromatography. National Standards of the People's Republic of China(国家标准 蜂蜜中双甲脒及其代谢物残留量测定—液相色谱法. 中华人民共和国国家标准).
- [30] Zheng W J, Park J A, El – Aty A M A, Kim S K, Cho S H, Choi J M, Yi H, Cho S M, Ramadan A, Jeong J H, Shim J H, Shin H C. *J. Chromatogr. B*, **2018**, 1072: 60 – 69.
- [31] Fu Y, Yang T, Zhao J, Zhang L, Chen R X, Wu Y L. *Food Chem.*, **2017**, 218: 192 – 198.
- [32] Nakajima T, Tsuruoka Y, Kanda M, Hayashi H, Hashimoto T, Matsushima Y, Yoshikawa S, Nagano C, Okutomi Y, Takano I. *Food Addit. Contam. : Part A*, **2015**, 32(7): 1099 – 1104.
- [33] Tomasini D, Sampaio M R F, Caldas S S, Buffon J G, Duarte F A, Primel E G. *Talanta*, **2012**, 99: 380 – 386.
- [34] Xu J Z, Miao J J, Lin H, Ding T, Zhao Z Y, Wu B, Shen C Y, Jiang Y. *J. Sep. Sci.*, **2009**, 32(23/24): 4020 – 4024.
- [35] Hou J B, Xie W, Zeng G N, Zhang W H, Shi Y Z, Qian Y, Zhou Q L. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.* (侯建波, 谢文, 曾淦宁, 张文华, 史颖珠, 钱艳, 周期令. 质谱学报), **2017**, Doi: 10.7538/zpxb/2017.0176.
- [36] Gao X L, Tan Y L, Guo H. *J. Chromatogr. B*, **2017**, 1052: 27 – 33.
- [37] Guo H, Zhang P, Wang J W, Zheng J. *J. Chromatogr. B*, **2014**, 951/952: 89 – 95.
- [38] Korta E, Bakkali A, Berrueta L A, Gallo B, Vicente F, Kilchenmann V, Bogdanov S. *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, 49(12): 5835 – 5842.
- [39] Stahnke H, Kittlaus S, Kempe G, Alder L. *Anal. Chem.*, **2012**, 84(3): 1474 – 1482.
- [40] Ferrer C, Lozano A, Aguera A, Giron A J, Fernandez – Alba A R. *J. Chromatogr. A*, **2011**, 1218(42): 7634 – 7639.

(责任编辑: 丁 岩)