



中华人民共和国国家标准

GB 31656.8—2021

食品安全国家标准 水产品中有机磷类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

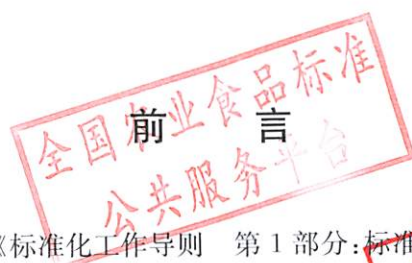
National food safety standard—
Determination of organophosphorus pesticide residues in fishery
products by liquid chromatography–tandem mass spectrometry

2021-09-16 发布

2022-02-01 实施



中华人民共和国农业农村部
中华人民共和国国家卫生健康委员会 发布
国家市场监督管理总局



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。

本文件系首次发布。

食品安全国家标准

水产品中有机磷类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了水产品中辛硫磷、巴胺磷、倍硫磷、马拉硫磷、二嗪农、敌百虫、敌敌畏、甲基吡啶磷、蝇毒磷残留量检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于鱼、海参、蟹和虾等水产品可食部分中辛硫磷、巴胺磷、倍硫磷、马拉硫磷、二嗪农、敌百虫、敌敌畏、甲基吡啶磷和蝇毒磷残留量的检测。

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于本文件；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

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中有机磷类药物的残留经酸化乙腈提取，经 PSA 吸附剂净化，液相色谱-串联质谱法测定，内标法定量。

5 试剂与材料

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 乙腈(CH_3CN):色谱纯。

5.1.2 乙酸(CH_3COOH):优级纯。

5.1.3 甲酸(HCOOH):色谱纯。

5.1.4 无水乙酸钠(CH_3COONa):优级纯。

5.2 溶液配制

5.2.1 定容液:取乙腈 150 mL,加水 350 mL、甲酸 0.5 mL,混匀。

5.2.2 1%乙酸乙腈:取乙腈 990 mL,加乙酸 10 mL,混匀。

5.3 标准品

5.3.1 辛硫磷、巴胺磷、倍硫磷、马拉硫磷、二嗪农、敌百虫、敌敌畏、甲基吡啶磷和蝇毒磷:含量均 $\geq 98.0\%$,具体见附录 A。

5.3.2 倍硫磷- D_6 、马拉硫磷- D_{10} 、二嗪农- D_{10} 、敌敌畏- D_6 、甲基吡啶磷- D_6 和蝇毒磷- D_{10} :浓度均为 100 mg/L,具体见附录 A。

5.4 标准溶液的制备

5.4.1 标准储备液:在避光条件下,取有机磷类药物标准各适量(相当于各待测组分 10 mg),精密称定,分别于 10 mL 棕色量瓶中,加乙腈(5.1.1)适量使溶解并稀释至刻度。分别配成浓度为 1 mg/mL 的标准储备溶液。 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下保存,有效期 6 个月。

5.4.2 混合标准中间液:分别量取标准储备液(5.4.1)适量,用乙腈(5.1.1)稀释,配成浓度分别为:巴胺磷 10 mg/L、马拉硫磷 10 mg/L、二嗪农 10 mg/L、敌百虫 10 mg/L、敌敌畏 10 mg/L、甲基吡啶磷 10 mg/L;辛硫磷 20 mg/L、倍硫磷 20 mg/L 和蝇毒磷 20 mg/L 的混合标准中间液。0℃~4℃避光保存,有效期 1 个月。

5.4.3 混合标准工作液:准确量取混合标准中间液(5.4.2)适量,用乙腈(5.1.1)稀释,配成浓度分别为:巴胺磷 1 mg/L、马拉硫磷 1 mg/L、二嗪农 1 mg/L、敌百虫 1 mg/L、敌敌畏 1 mg/L、甲基吡啶磷 1 mg/L;辛硫磷 2 mg/L、倍硫磷 2 mg/L 和蝇毒磷 2 mg/L 的混合标准工作液。0℃~4℃避光保存,有效期 1 周。

5.4.4 混合内标中间液:准确吸取内标标准物质溶液(5.3.2),用乙腈(5.1.1)稀释配制成马拉硫磷-D₁₀、二嗪农-D₁₀、敌敌畏-D₆和甲基吡啶磷-D₆均为 5 mg/L,倍硫磷-D₆和蝇毒磷-D₁₀均为 10 mg/L 的混合内标中间液,0℃~4℃避光保存,有效期 1 个月。

5.4.5 混合内标工作液:准确吸取内标中间液(5.4.4),用乙腈(5.1.1)稀释配成马拉硫磷-D₁₀、二嗪农-D₁₀、敌敌畏-D₆和甲基吡啶磷-D₆ 0.5 mg/L,倍硫磷-D₆和蝇毒磷-D₁₀ 1 mg/L 的混合内标工作液,0℃~4℃避光保存,有效期 2 周~3 周。

5.5 材料

5.5.1 PSA(N-丙基乙二胺)吸附剂:颗粒直径为 40 μm~60 μm。

5.5.2 PVDF(聚偏氟乙烯)滤膜:孔径为 0.22 μm。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱串联质谱仪:带电喷雾离子源。

6.2 电子天平:感量 0.000 01 g 和 0.01 g。

6.3 均质机。

6.4 离心机:转速不低于 8 000 r/min。

6.5 超声波清洗器。

6.6 涡旋混合器。

6.7 氮吹仪。

7 试料的制备与保存

7.1 试料的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试组织,绞碎,并使均质。

a) 取均质后的供试样品,作为供试试料;

b) 取均质后的空白样品,作为空白试料;

c) 取均质后的空白样品,添加适宜浓度的标准工作液,作为空白添加试料。

7.2 试料的保存

-18℃以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

取试样 5 g(准确至±0.02 g),加混合内标工作液 100 μL(5.4.5)、1%乙酸乙腈(5.2.2)25.0 mL、无水乙酸钠 1 g(5.1.4),涡旋混合 2 min,超声 30 min,8 000 r/min 离心 10 min;取上清液,备用。

8.2 净化

备用液加 PSA 吸附剂 500 mg,涡旋振荡 1 min,8 000 r/min 离心 10 min;取上清液 5.0 mL,45℃下氮气吹干,准确量取定容液 1.0 mL(5.2.1)溶解残渣,加 PSA 吸附剂 200 mg,涡旋 1 min,5 000 r/min 离心 10 min,取上清液过膜后,供液相色谱-串联质谱测定。实验过程需要注意避免阳光直射,样品前处理完

成后应及时上机检测。

8.3 标准曲线的制备

准确量取适量混合标准工作液(5.4.3)及混合内标工作液 20 μL (5.4.5),用定容液(5.2.1)稀释成巴胺磷、马拉硫磷、二嗪农、敌百虫、敌敌畏和甲基吡啶磷浓度分别为 10 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、200 $\mu\text{g/L}$ 、500 $\mu\text{g/L}$,辛硫磷、倍硫磷和蝇毒磷浓度分别为 20 $\mu\text{g/L}$ 、40 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、200 $\mu\text{g/L}$ 、400 $\mu\text{g/L}$ 、1 000 $\mu\text{g/L}$ 系列标准溶液,供液相色谱-串联质谱测定。以各标准峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标,以各标准溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线。

8.4 测定

8.4.1 色谱参考条件

- a) 色谱柱:ACQUITY™ UPLC BEH C₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm,1.7 μm);或相当者;
- b) 柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;
- c) 进样量:10 μL ;
- d) 流动相:A 为乙腈,B 为 0.1%甲酸溶液,梯度洗脱程序见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间 min	流速 mL/min	A 体积分数 %	B 体积分数 %
0.00	0.25	5	95
1.00	0.25	5	95
2.00	0.25	95	5
4.00	0.25	95	5
4.50	0.25	5	95
5.00	0.25	5	95

8.4.2 质谱参考条件

- a) 离子化模式:大气压电喷雾离子源(ESI),正离子模式;
- b) 电离电压:2.50 kV;
- c) 锥孔电压:30 V;
- d) 离子源温度:140 $^{\circ}\text{C}$;
- e) 脱溶剂气温度:400 $^{\circ}\text{C}$;
- f) 脱溶剂气流速:900 L/h;
- g) 锥孔反吹气流速:50 L/h;
- h) 氦气流速:0.12 mL/min;其他参数见表 2。

表 2 待测物的监测离子

化合物	母离子 m/z	子离子 m/z	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
辛硫磷	299	129	22	13
		153 ^a	22	22
倍硫磷	279.1	169.1	36	16
		247.1 ^a	36	13
倍硫磷-D ₆	284.9	169 ^a	16	16
巴胺磷	282	138	17	20
		156 ^a	17	12
马拉硫磷	331	127 ^a	20	12
		99	20	24
马拉硫磷-D ₁₀	341	132 ^a	14	10

表 2 (续)

化合物	母离子 m/z	子离子 m/z	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
二嗪农	305.1	169 ^a	31	22
		96.9	31	35
二嗪农-D ₁₀	315	170 ^a	30	20
敌百虫	257	109.0 ^a	28	18
		79	28	30
敌敌畏	221	109.0 ^a	34	22
		79	34	34
敌敌畏-D ₆	229	115 ^a	36	16
甲基吡啶磷	325	119	31	35
		138.9 ^a	31	24
甲基吡啶磷-D ₆	331	112 ^a	14	35
蝇毒磷	363	307.0 ^a	32	16
		289	32	24
蝇毒磷-D ₁₀	373	228 ^a	62	28
^a 为定量离子。				

8.4.3 测定法

a) 定性测定

在同样测试条件下,阳性样品的保留时间与标准工作液中待测物的保留时间偏差在±2.5%以内,且检测到的相对离子丰度,应当与浓度相当的校正标准溶液相对离子丰度一致。基峰与次强碎片离子丰度比应符合表3的要求。

表 3 定性确证时相对离子丰度的允许偏差

单位为百分号

相对离子丰度	允许偏差
>50	±20
>20~50	±25
>10~20	±30
≤10	±50

b) 定量测定

取试样溶液和相应的标准溶液等体积进样测定,按内标法以标准曲线对样品进行定量。其中辛硫磷、倍硫磷以倍硫磷-D₆为内标;巴胺磷、马拉硫磷以马拉硫磷-D₁₀为内标;二嗪农以二嗪农-D₁₀为内标;敌百虫、敌敌畏以敌敌畏-D₆为内标;甲基吡啶磷以甲基吡啶磷-D₆为内标;蝇毒磷以蝇毒磷-D₁₀为内标。标准溶液、空白样品及加标样品的总离子流图参见附录A。

8.5 空白试验

除不加试料外,均按上述测定步骤进行。

9 结果计算和表述

试样中有机磷类药物残留量按公式(1)计算。

$$X = \frac{A \times A'_{is} \times C_s \times C_{is} \times V_1 \times V_3}{A_{is} \times A_s \times C'_{is} \times V_2 \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

C_{is} ——试样溶液中内标浓度的数值,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

- C_s ——标准溶液中待测药物浓度的数值,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);
 C'_{is} ——标准溶液中内标浓度的数值,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);
 A_i ——试样溶液中待测药物的峰面积;
 A_{is} ——试样溶液中内标的峰面积;
 A_s ——标准溶液中待测药物的峰面积;
 A'_{is} ——标准溶液中内标的峰面积;
 V_1 ——提取液体积的数值,单位为毫升(mL);
 V_2 ——净化的上清液体积的数值,单位为毫升(mL);
 V_3 ——溶解残渣体积的数值,单位为毫升(mL)。

10 方法的检测限、定量限、准确度和精密度

10.1 检测限和定量限

本方法的检测限:巴胺磷、马拉硫磷、二嗪农、敌百虫、敌敌畏、甲基吡啶磷均为 $5\ \mu\text{g/kg}$,辛硫磷、倍硫磷和蝇毒磷均为 $10\ \mu\text{g/kg}$ 。定量限:巴胺磷、马拉硫磷、二嗪农、敌百虫、敌敌畏、甲基吡啶磷均为 $10\ \mu\text{g/kg}$,辛硫磷、倍硫磷和蝇毒磷均为 $20\ \mu\text{g/kg}$ 。

10.2 准确度

巴胺磷、马拉硫磷、二嗪农、敌百虫、敌敌畏、甲基吡啶磷在 $10\ \mu\text{g/kg}\sim 500\ \mu\text{g/kg}$ 添加浓度范围内,回收率为 $70\%\sim 110\%$;辛硫磷、倍硫磷和蝇毒磷在 $20\ \mu\text{g/kg}\sim 1\ 000\ \mu\text{g/kg}$ 添加浓度范围内,回收率为 $70\%\sim 110\%$ 。

10.3 精密度

本方法的批内相对标准偏差 $\leq 15\%$,批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

附 录 A
(资料性)

药物中英文通用名称、化学分子式和 CAS 号

药物中英文通用名称、化学分子式和 CAS 号见表 A.1。

表 A.1 药物中英文通用名称、化学分子式和 CAS 号

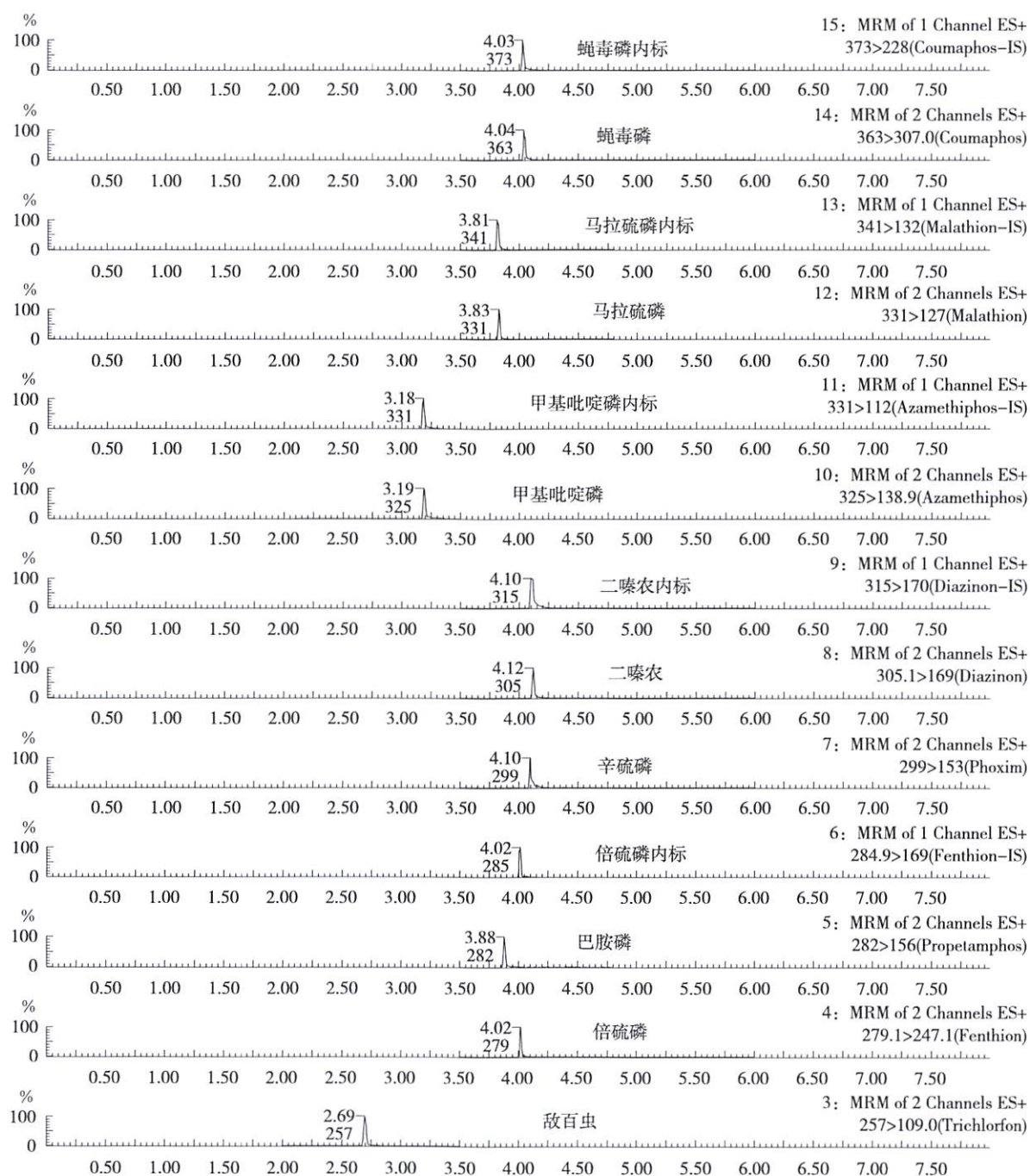
中文通用名称	英文名称	化学分子式	CAS 号
辛硫磷	Phoxim	$C_{12}H_{15}N_2O_3PS$	14816-18-3
巴胺磷	Propetamphos	$C_{10}H_{19}NO_3PS$	31218-83-4
倍硫磷	Fenthion	$C_{10}H_{15}O_3PS_2$	55-38-9
马拉硫磷	Malathion	$C_{10}H_{19}O_3PS_2$	121-75-5
二嗪农	Diazinon	$C_{12}H_{21}N_2O_3PS$	333-41-5
敌百虫	Trichlorfon	$C_3H_5Cl_3O_3P$	52-68-6
敌敌畏	Dichlorvos	$C_2H_3Cl_2O_3P$	62-73-7
甲基吡啶磷	Azamethiphos	$C_9H_{10}ClN_2O_3PS$	35575-96-3
蝇毒磷	Coumaphos	$C_{14}H_{15}ClO_3PS$	56-72-4
倍硫磷-D ₆	Fenthion-D ₆	$C_{10}H_5D_6O_3PS_2$	/
马拉硫磷-D ₁₀	Malathion-D ₁₀	$C_{10}D_{10}H_5O_3PS_2$	/
二嗪农-D ₁₀	Diazinon-D ₁₀	$C_{12}D_{10}H_{11}N_2O_3PS$	/
敌敌畏-D ₆	Dichlorvos-D ₆	$C_2HD_6Cl_2O_3P$	/
甲基吡啶磷-D ₆	Azamethiphos-D ₆	$C_9H_4D_6ClN_2O_3PS$	/
蝇毒磷-D ₁₀	Coumaphos-D ₁₀	$C_{14}H_5D_{10}ClO_3PS$	/

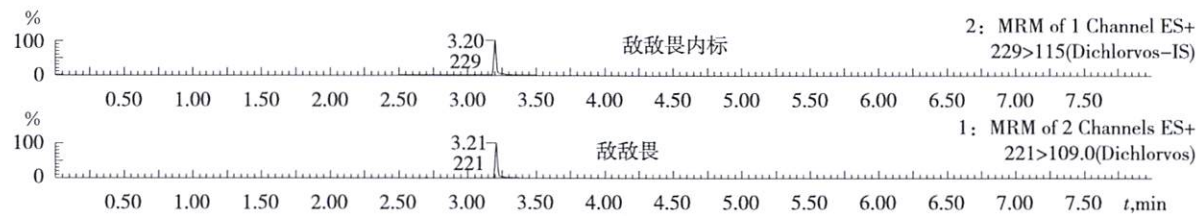
附录 B

(资料性)

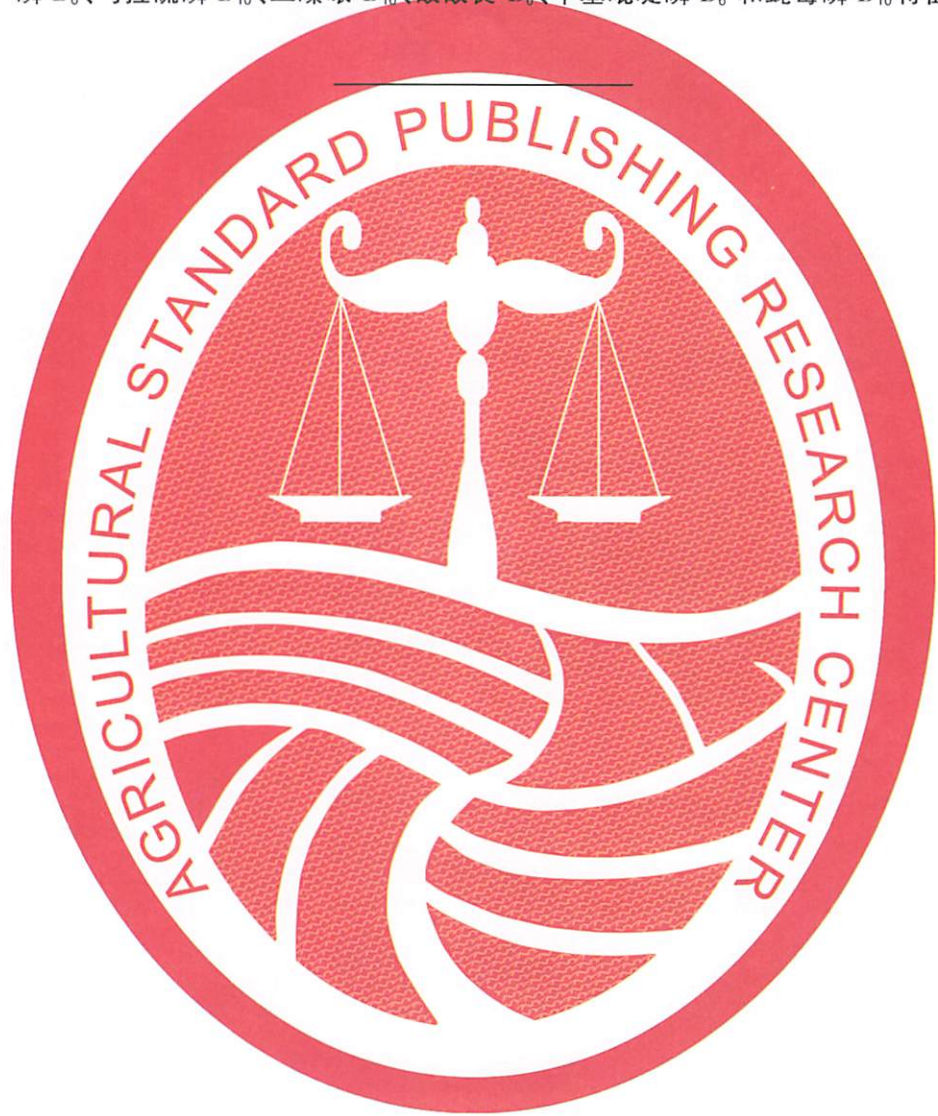
色谱图

辛硫磷、巴胺磷、倍硫磷、马拉硫磷、二嗪农、敌敌畏、甲基吡啶磷和蝇毒磷及内标倍硫磷-D₆、马拉硫磷-D₁₀、二嗪农-D₁₀、敌敌畏-D₆、甲基吡啶磷-D₆ 和蝇毒磷-D₁₀ 特征离子流图见图 B.1。





注：巴胺磷、马拉硫磷、二嗪农、敌百虫、敌敌畏、甲基吡啶磷分别为 10 $\mu\text{g/L}$ ，辛硫磷、倍硫磷和蝇毒磷分别为 20 $\mu\text{g/L}$ 。
图 B.1 辛硫磷、巴胺磷、倍硫磷、马拉硫磷、二嗪农、敌百虫、敌敌畏、甲基吡啶磷和蝇毒磷及内标倍硫磷- D_6 、马拉硫磷- D_{10} 、二嗪农- D_{10} 、敌敌畏- D_6 、甲基吡啶磷- D_6 和蝇毒磷- D_{10} 特征离子流图





中华人民共和国
国家标准

食品安全国家标准

水产品中有机磷类药物残留量的测定
液相色谱-串联质谱法

GB 31656.8—2021

* * *

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区麦子店街18号楼)

(邮政编码:100125 网址:www.ccap.com.cn)

北京印刷一厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

* * *

开本 880mm×1230mm 1/16 印张 1 字数 20 千字

2022年1月第1版 2022年1月北京第1次印刷

书号: 16109·8744

定价: 32.00 元



GB 31656.8—2021

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 59194261