

DB37

山 东 省 地 方 标 准

DB 37/T 3406—2018

水产品中三嗪类、酰胺类、二硝基苯胺类 除草剂残留量的测定 气相色谱-质谱法

Determination of triazine, amide, dinitroaniline herbicide residues in fishery products

by gas chromatography mass spectrometry

2018 - 08 - 17 发布

2018 - 09 - 17 实施

山东省质量技术监督局 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由山东省海洋与渔业厅提出。

本标准由山东省渔业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：山东省海洋资源与环境研究院、山东省水产品质量检验中心。

本标准主要起草人：徐英江、张华威、宫向红、张秀珍、田秀慧、韩典峰、刘小静、黄会、任传博。

水产品中三嗪类、酰胺类、二硝基苯胺类 除草剂残留量的测定 气相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了水产品中三嗪类（扑草净、阿特拉津、特丁津、西玛津、环草津、敌草净、扑草净、莠灭净、西草净、草净津）、酰胺类（乙草胺、甲草胺、异丙甲草胺、丁草胺、丙草胺）、二硝基苯胺类（二甲戊乐灵）等16种三嗪类、酰胺类、二硝基苯胺类除草剂残留量检测的试剂与材料制备、仪器和设备、样品的制备、测定步骤、结果计算和表述、检测方法的灵敏度、准确度和精密度等技术内容。

本标准适用于鱼、虾、蟹、贝、海参、龟鳖类、藻类等水产品可食部分中三嗪类、酰胺类、二硝基苯胺类除草剂残留量的测定。

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，仅所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试验方法

3 原理

试样用乙酸乙酯-二氯甲烷混合溶液提取，凝胶渗透色谱与HLB固相萃取柱净化，气相色谱-质谱法测定，外标法定量。

4 试剂和材料

以下所用试剂除另有指定外，均为分析纯，实验用水应符合GB/T 6682中一级水标准：

- a) 乙酸乙酯：色谱纯；
- b) 二氯甲烷：色谱纯；
- c) 环己烷：色谱纯；
- d) 甲醇：色谱纯；
- e) 正己烷：色谱纯；
- f) 丙酮：色谱纯；
- g) 乙酸乙酯-二氯甲烷溶液：乙酸乙酯+二氯甲烷=3+2（V/V）；
- h) 乙酸乙酯-环己烷溶液：乙酸乙酯与环己烷等体积混合；
- i) 正己烷-丙酮溶液：正己烷与丙酮等体积混合；
- j) 标准品：扑灭津（CAS：139-40-2）、阿特拉津（CAS：1912-24-9）、特丁津（CAS：5915-41-3）、西玛津（CAS：122-34-9）、乙草胺（CAS：34256-82-1）、甲草胺（CAS：15972-60-8）、环草津（CAS：22936-86-3）、敌草净（CAS：1014-69-3）、扑草净（CAS：7287-19-6）、莠灭净（CAS：834-12-8）、异丙甲草胺（CAS：87392-12-9）、西草净（CAS：1014-70-6）、二甲

戊乐灵（CAS：40487-42-1）、丁草胺（CAS：23184-66-9）、草净津（CAS：21725-46-2）、丙草胺（CAS：51218-49-6），纯度均 $\geq 98.0\%$ ；

- k) 标准贮备液：准确称取扑灭津、阿特拉津、特丁津、西玛津、乙草胺、甲草胺、环草津、敌草净、扑草净、莠灭净、异丙甲草胺、西草净、二甲戊乐灵、丁草胺、草净津、丙草胺各 10 mg，用乙酸乙酯溶解，分别定容至 10 mL，配制成 1.0 mg/mL 标准贮备液，于 4 ℃ 下避光保存，有效使用期为 6 个月；
- l) 混合标准使用液：分别准确移取适量扑灭津等 16 种除草剂单标贮备液，用乙酸乙酯稀释成混合标准使用液，使其中扑灭津、阿特拉津、特丁津、西玛津、敌草净、扑草净、莠灭净、异丙甲草胺的浓度均为 1.0 $\mu\text{g/mL}$ ，环草津、西草净、甲草胺、乙草胺、丙草胺、丁草胺的浓度均为 1.5 $\mu\text{g/mL}$ ，草净津、二甲戊乐灵的浓度均为 2.0 $\mu\text{g/mL}$ ，于 4 ℃ 下避光保存，有效使用期为 1 个月。

5 仪器和设备

- 5.1 气相色谱质谱-联用仪：配电子轰击离子源（EI 源）。
- 5.2 分析天平：感量 0.0001 g。
- 5.3 天平：感量 0.01 g。
- 5.4 超声波清洗器。
- 5.5 离心机：转速不低于 4000 r/min。
- 5.6 旋转蒸发器。
- 5.7 凝胶色谱仪。
- 5.8 固相萃取装置。
- 5.9 氮吹仪。
- 5.10 旋涡混合器。
- 5.11 固相萃取柱：HLB，60 mg/3 mL，或相当者。
- 5.12 凝胶色谱柱：长 30 cm，内径 2.3 cm~2.5 cm；填料：Bio Beads（S-X3），200~400 目，25 g；或相当者。

6 样品的制备

鱼，去鳞、去皮，沿脊背取肌肉，将鳞、皮单独收集；虾，去头、去壳、去肠腺，取肌肉部分；蟹、贝、海参、龟鳖类、海带等取可食部分，样品充分搅碎、混匀。如不能及时检测，-18 ℃ 以下冷冻保存备用。

7 测定步骤

7.1 提取

称取试料 5.00 g (± 0.05 g)，置于 50 mL 离心管中，加入乙酸乙酯-二氯甲烷溶液 25 mL，3 000 r/min 旋涡 1 min，超声提取 20 min，4000 r/min 离心 10 min。上层清液转移至 150 mL 鸡心瓶中，残渣加乙酸乙酯-二氯甲烷溶液 20 mL 重复提取一次，合并上清液。40 ℃ 旋蒸浓缩至近干，用乙酸乙酯-环己烷溶液溶解残渣并定容至 10 mL，待净化。

7.2 净化

7.2.1 凝胶色谱净化

凝胶色谱仪器流动相为乙酸乙酯-环己烷溶液，流速4.7 mL/min，收集时间8 min~23 min。收集流出液，于40 °C旋蒸浓缩至近干，用甲醇1 mL复溶并加入水9 mL混匀，待净化。

7.2.2 固相萃取净化

依次用甲醇3 mL、水3 mL活化固相萃取小柱，取待净化液过柱，控制流速不超过2 mL/min，用水3 mL淋洗小柱，抽干5 min，加正己烷-丙酮溶液6 mL洗脱。收集洗脱液，40 °C氮吹至近干，用乙酸乙酯定容至0.5 mL，供气相色谱-质谱联用仪分析。

7.3 标准曲线的绘制

准确移取适量的混合标准使用液，用乙酸乙酯稀释成一系列的混合标准工作液，使其中扑灭津、阿特拉津、特丁津、西玛津、敌草净、扑草净、莠灭净、异丙甲草胺浓度分别为5.00 µg/L、10.0 µg/L、20.0 µg/L、50.0 µg/L、100 µg/L，环草津、西草净、甲草胺、乙草胺、丙草胺、丁草胺浓度分别为7.50 µg/L、15.0 µg/L、30.0 µg/L、75.0 µg/L、150 µg/L，草净津、二甲戊乐灵浓度分别为10.0 µg/L、20.0 µg/L、40.0 µg/L、100 µg/L、200 µg/L，临用时配制。以定量离子峰面积为纵坐标，对应的浓度为横坐标，绘制标准工作曲线。

7.4 测定

7.4.1 气相色谱参考条件：

- 色谱柱：DB-17ms 毛细管柱，30 m×0.25 mm×0.25 µm，或相当者；
- 载气：高纯氦气，纯度≥99.999 %，流速 1.0 mL/min；
- 进样方式：无分流进样；
- 进样量：1 µL；
- 进样口温度：260 °C；
- 柱温：起始温度 50 °C，保持 1 min；以 20 °C/min 升温至 200 °C，保持 10 min，以 10 °C/min 升温至 240 °C，以 30 °C/min 升温至 300 °C，保持 3 min。

7.4.2 质谱参考条件

- 离子源：EI 源；
- 接口温度：280 °C；
- 离子源温度：230 °C；
- 四级杆温度：150 °C；
- 溶剂延迟：4.0 min；
- 测定方式：选择离子（SIM）监测模式，定量离子和定性离子见表 1。

表 1 待测物定量离子和定性离子

化合物名称	定量离子 m/z	定性离子 1 m/z	定性离子 2 m/z
扑灭津	214	229	172
阿特拉津	200	215	173
特丁津	214	173	229
西玛津	201	186	173

表 1 (续)

化合物名称	定量离子 m/z	定性离子 1 m/z	定性离子 2 m/z
乙草胺	162	223	174
甲草胺	160	188	217
环草津	212	227	170
敌草净	213	198	171
扑草净	241	184	226
莠灭净	227	170	185
异丙甲草胺	162	238	146
西草净	213	170	185
二甲戊乐灵	252	281	162
丁草胺	176	160	188
草净津	225	198	240
丙草胺	162	238	176

7.4.3 测定方法

7.4.3.1 定性方法

在同样测试条件下，试样液中待测物的保留时间与标准工作液中待测物的保留时间偏差在 ± 0.10 min以内，在扣除背景后的样品质谱图中，所选择的特征离子均应出现，且检测到的离子的相对丰度，应与浓度相当的校正标准溶液相对丰度一致。其允许偏差应符合表2要求。

表 2 定性确证时相对离子丰度的允许偏差

相对离子丰度 %	允许偏差 %
>50	± 10
>20~50	± 15
>10~20	± 20
≤ 10	± 50

7.4.3.2 定量方法

按7.4.1和7.4.2设定仪器条件，待仪器稳定后，根据表1中的定量离子分别对16种除草剂进行测定，记录保留时间和峰面积，以峰面积按外标法进行单点或多点校准定量，标准工作液和试样液中待测物的响应值均应在仪器检测线性范围内。标准溶液、空白样品及加标样品的选择离子流图参见附录B。

7.4.3.3 空白试验

除不加试料外，均按上述测定条件和步骤进行平行操作。

8 结果计算和表述

按式（1）分别计算试样中16种除草剂的残留量（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ），计算结果需扣除空白值，测定结果用两次平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

$$x = \frac{c_i \times V}{m} \times 2 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

x ——试样中被测组分的残留量，单位为 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；

c_i ——试样溶液中对应的被测组分浓度，单位为 $\mu\text{g}/\text{L}$ ；

V ——试样溶液定容体积，单位为 mL ；

m ——供试试样的质量，单位为 g ；

2——稀释倍数。

9 检测方法的灵敏度、准确度和精密度

9.1 检出限

扑灭津、阿特拉津、特丁津、西玛津、敌草净、扑草净、莠灭净、异丙甲草胺分别为 $0.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ ；环草津、西草净、甲草胺、乙草胺、丙草胺、丁草胺分别为 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ；草净津、二甲戊乐灵分别为 $0.8 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 定量限

扑灭津、阿特拉津、特丁津、西玛津、敌草净、扑草净、莠灭净、异丙甲草胺分别为 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ ；环草津、西草净、甲草胺、乙草胺、丙草胺、丁草胺分别为 $1.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ；草净津、二甲戊乐灵分别为 $2.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.3 准确度

扑灭津、阿特拉津、特丁津、西玛津、敌草净、扑草净、莠灭净、异丙甲草胺在添加浓度 $1 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时，回收率均为 $70\% \sim 120\%$ ；环草津、西草净、甲草胺、乙草胺、丙草胺、丁草胺在添加浓度 $1.5 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 15 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时，回收率均为 $70\% \sim 120\%$ ；草净津、二甲戊乐灵在添加浓度 $2 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 20 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时，回收率均为 $70\% \sim 120\%$ 。

9.4 精密度

本方法的批内相对标准偏差小于 15% ，批间相对标准偏差小于 15% 。

附 录 A
(资料性附录)
16 种除草剂中、英文名称及分子量

表 A.1 16 种除草剂中、英文名称及分子量

中文名称	英文名称	分子量
扑灭津	Propazine	229
阿特拉津	Atrazine	215
特丁津	Terbuthylazine	229
西玛津	Simazine	201
乙草胺	Acetochlor	269
甲草胺	Alachlor	269
环草津	Cyprazine	227
敌草净	Desmetryn	213
扑草净	Prometryn	241
莠灭净	Ametryn	227
异丙甲草胺	Metolachlor	283
西草净	Simetryn	213
二甲戊乐灵	Pendimethalin	281
丁草胺	Butachlor	311
草净津	Cyanazine	240
丙草胺	Pretilachlor	311

附录 B
(资料性附录)
色谱图

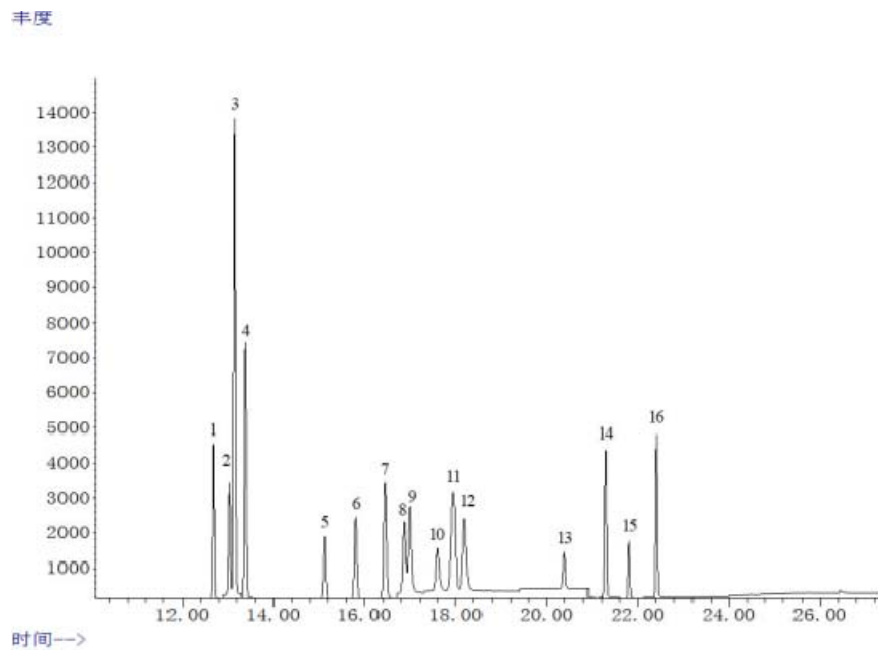


图 B.1 16 种除草剂标准溶液总离子流图 (10 ng/mL)

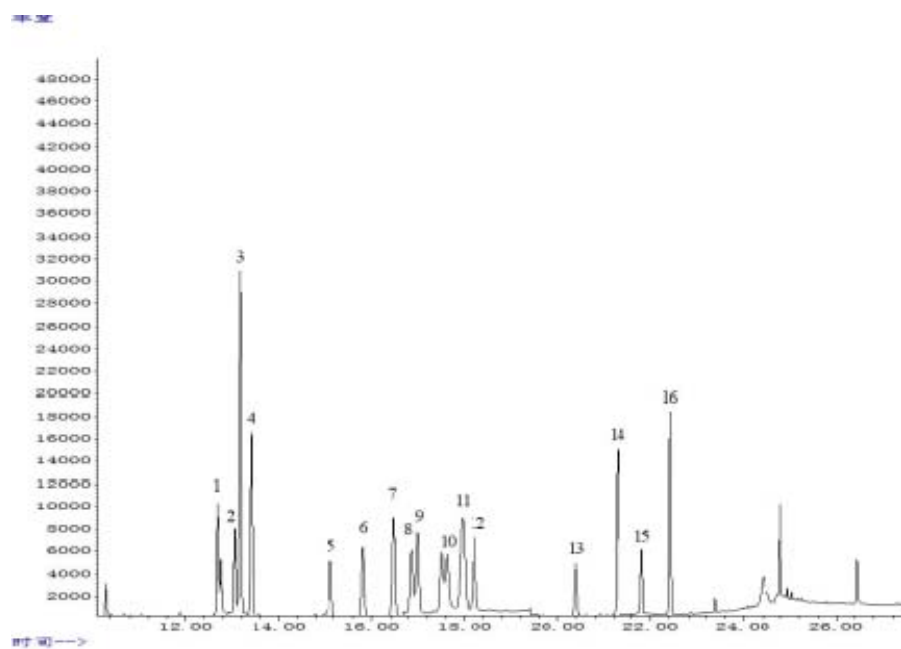


图 B.2 草鱼加标样品总离子流图 (10 µg/kg)

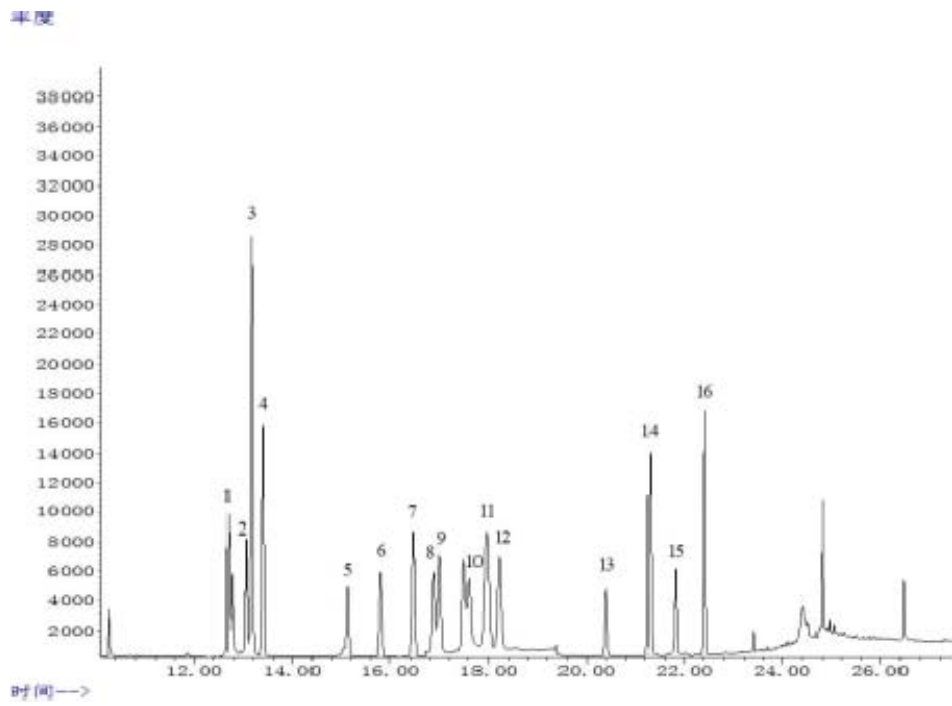


图 B.3 对虾加标样品总离子流图 (10 µg/kg)

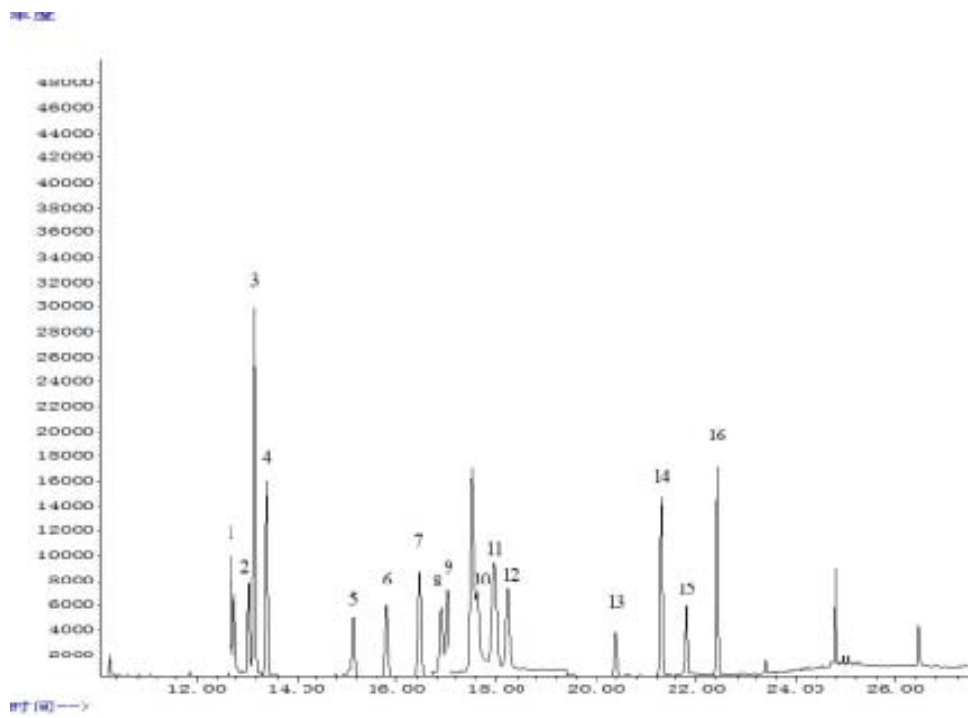


图 B.4 中华绒螯蟹加标样品总离子流图 (10 µg/kg)

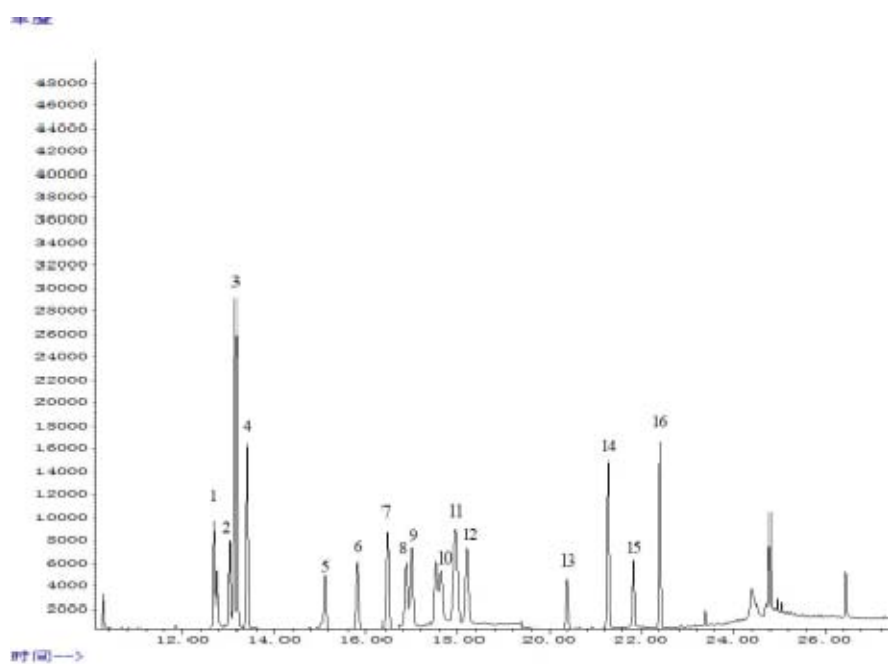


图 B.5 四角蛤加标样品总离子流图 (10 µg/kg)

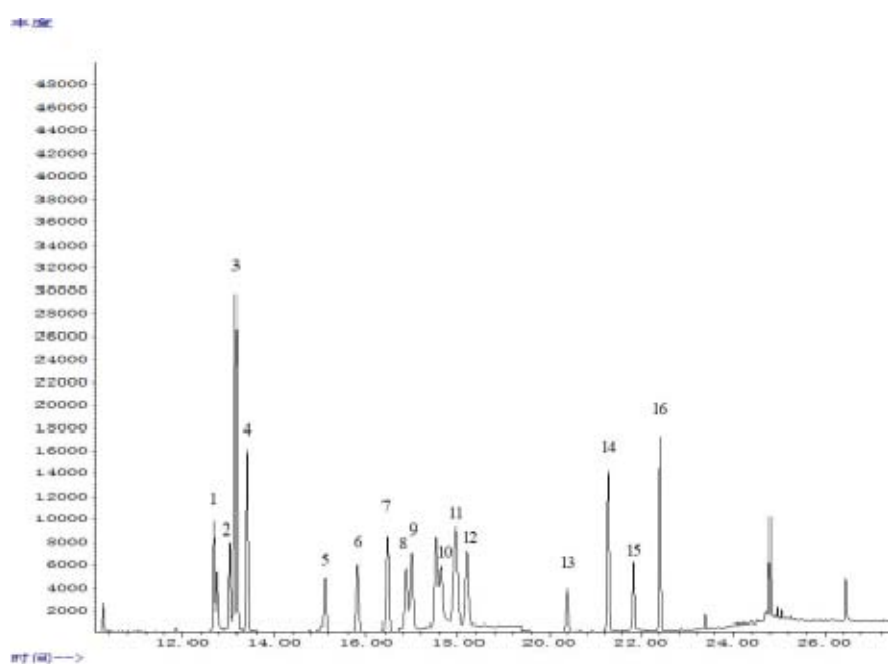


图 B.6 海参加标样品总离子流图 (10 µg/kg)

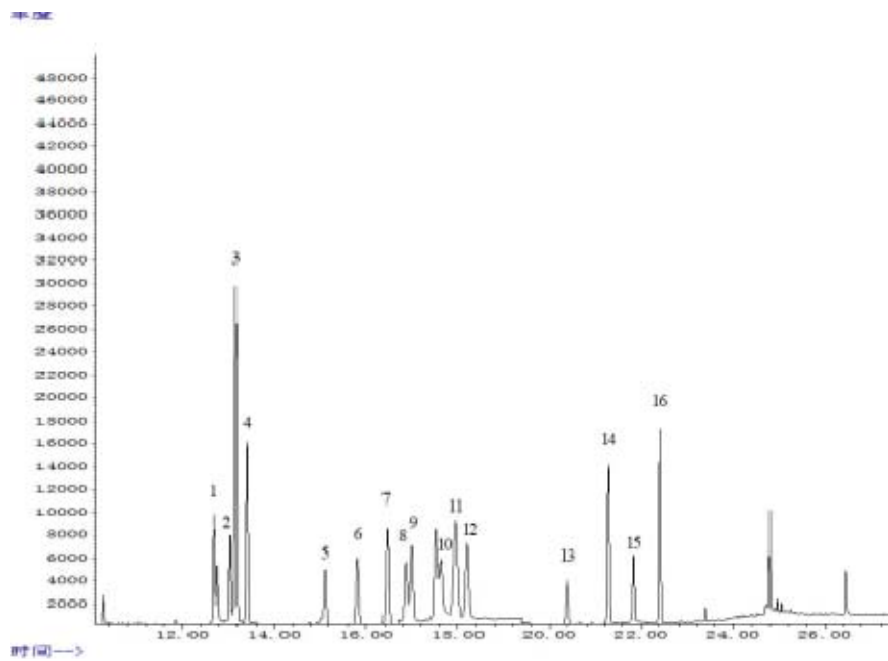


图 B.7 甲鱼加标样品总离子流图 (10 µg/kg)

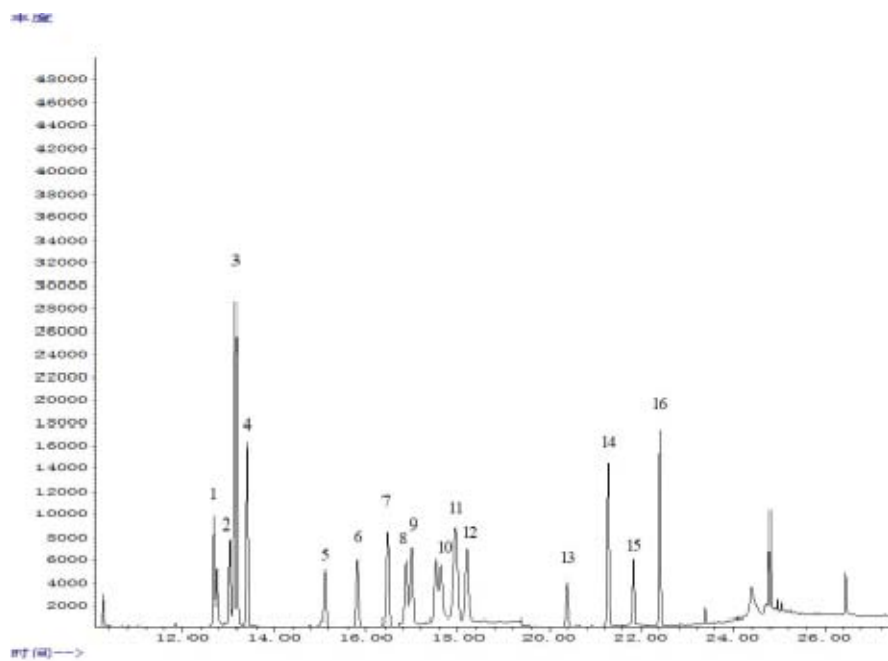


图 B.8 海带加标样品总离子流图 (10 µg/kg)

注：1. 扑灭津；2. 阿特拉津；3. 特丁津；4. 西玛津；5. 乙草胺；6. 甲草胺；7. 环草津；8. 敌草净；9. 扑草净；10. 莠灭净；11. 异丙甲草胺；12. 西草净；13. 二甲戊乐灵；14. 丁草胺；15. 草净津；16. 丙草胺。