

土壤中 12 种有机磷农药及代谢物残留量的 测定液相色谱-质谱/质谱法

Determination of 12 organophosphorous pesticides and metabolites residues in soil
Liquid chromatography - mass spectrometry

地方标准信息服务平台

2018 - 12 - 29 发布

2019 - 01 - 29 实施

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由山东省农业农村厅提出并监督实施。

本标准由山东省农业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：山东省农药检定所。

本标准主要起草人：周力、韩帅兵、张耀中、李向阳、姜士聚、吴亚玉、迟归兵、鞠易明、杨扬、林得平、于淼。

地方标准信息服务平台

土壤中 12 种有机磷农药及代谢物残留量的测定液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

本标准规定了土壤中12种有机磷农药及代谢物残留量的液相色谱-质谱/质谱检测方法。

本标准适用于土壤中甲胺磷、乙酰甲胺磷、氧乐果、噻唑磷、甲拌磷、甲拌磷砒、甲拌磷亚砒、三唑磷、二嗪磷、辛硫磷、丙溴磷、毒死蜱残留量的测定。

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

土壤样品中残留的有机磷农药及代谢物经乙腈提取，盐析离心，分散固相萃取净化，用液相色谱-质谱/质谱仪检测，外标法定量。

4 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中规定的一级水。

4.1 试剂

- 4.1.1 甲醇（ CH_3OH ，65-56-1）：色谱纯。
- 4.1.2 乙腈（ CH_3CN ，75-05-8）：色谱纯。
- 4.1.3 甲酸（ HCOOH ，64-18-6）：色谱纯。
- 4.1.4 乙酸铵（ $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ，631-61-8）：色谱纯。
- 4.1.5 氯化钠（ NaCl ，7647-14-5）。

4.2 溶液配制

0.02 %甲酸水溶液（含5 mmol/L乙酸铵）：准确移取0.2 mL甲酸和称取0.385 g乙酸铵于1000 mL容量瓶中，用水定容至刻度，现配现用。

4.3 标准品

12种有机磷农药及代谢物标准物质，纯度 $\geq 95\%$ 。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 标准储备溶液

分别准确称取适量（精确至0.1 mg）12种有机磷农药及代谢物标准品于10 mL容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，配制成浓度约为100 mg/L的标准储备溶液，0~4 °C保存，保存期为6个月。

4.4.2 中间标准溶液

准确吸取适量标准储备溶液（4.4.1），用甲醇稀释配制成10 mg/L的中间标准溶液，0~4 °C保存，保存期为1个月。

4.4.3 混合标准工作溶液

准确吸取适量中间标准溶液（4.4.2），用甲醇稀释配制成所需浓度的混合标准工作溶液，现配现用。

4.5 材料

4.5.1 有机滤膜：0.22 μm。

4.5.2 分散固相萃取净化管（Dispersive SPE 15 mL, Rruits and Veg, EN¹⁾）。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-质谱/质谱仪：配有电喷雾离子源（ESI）。

5.2 分析天平：精度0.01 g和0.0001 g。

5.3 回旋式振荡器。

5.4 离心机：最大转速为6000 r/min。

5.5 旋转蒸发仪。

5.6 旋涡混合器。

5.7 真空泵。

5.8 具塞离心管：100 mL。

5.9 量筒：50 mL。

5.10 鸡心瓶：25 mL。

5.11 刻度离心管：10 mL。

6 试样制备

取土壤样品约500 g，除去土壤中的碎石、杂草和植物根茎等杂物后，过1 mm试验筛，均分成三份作为试样，分装至洁净的容器内，密封并做好标识，于-18 °C以下冷冻保存。在试样制备过程中，应防止样品污染或发生残留物含量的变化。

7 分析步骤

7.1 提取

1) Dispersive SPE 15 mL, Fruits and Veg, EN净化管为Agilent公司产品的商品名称，给出这一信息是为了方便本标准的使用者，并不是表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果，则可使用这些等效产品。

称取10 g试样（精确至0.01 g），置于100 mL离心管中，加入5 mL水，再准确加入20.0 mL乙腈，在回旋式振荡器上震荡30 min。加入3 g~5 g NaCl，再剧烈震荡30 s，在离心机中以4500 r/min离心5 min，待净化。

7.2 净化

移取约7 mL上层提取液至分散固相萃取净化管（4.5.2）中，在旋涡混合器上涡旋1 min，在离心机中以4500 r/min离心3 min。准确移取4.00 mL上层清液至鸡心瓶中，于40 °C水浴减压浓缩至干，用甲醇定容到1.0 mL，经0.22 μm滤膜过滤，供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱-质谱/质谱参考条件

7.3.1.1 色谱柱：Shim-pack XR-ODS III 2.0 mm (i.d) ×75 mm, 1.6 μm, 或相当者。

7.3.1.2 流动相及梯度洗脱条件见表1。

表1 流动相及梯度洗脱条件

时间/min	流速/(mL/min)	流动相 A (甲醇) /%	流动相 B (0.02 %甲酸+5 mmol/L 乙酸铵水溶液) /%
0.00	0.35	10	90
0.50	0.35	10	90
2.00	0.35	60	40
5.00	0.35	60	40
9.00	0.35	95	5
11.50	0.35	95	5
12.00	0.35	10	90

7.3.1.3 柱温：40 °C。

7.3.1.4 进样量：0.5 μL。

7.3.1.5 质谱仪参数：参见附录 A。

7.3.1.6 监测离子对、碰撞电压：参见附录 B。

7.3.2 定性测定

在相同实验条件下，试样中被测物的色谱峰保留时间与标准工作液相同，并且在扣除背景后的试样谱图中，所选择的离子对均出现，各定性离子的相对丰度与标准品离子的相对丰度相比，偏差不超过表2规定的范围，则可判断样品中存在对应的被测物。

表2 定性测定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 %

7.3.3 定量测定

本标准中液相色谱-质谱/质谱采用外标法定量测定。为减少基质对定量测定的影响，本方法采用空白样品溶液配制基质混合标准工作溶液，并且应保证所测样品中农药及代谢物的响应值均在仪器的线性范围以内。对混合基质标准溶液和样液等体积参插进样测定。12种有机磷农药及代谢物多反应监测

(MRM) 色谱图参见附录 C。

7.4 平行试验

按以上步骤对同一试样进行平行试验。

7.5 空白试验

除不称取试样外，均按上述步骤进行。

8 结果计算

液相色谱-质谱/质谱测定结果可由计算机按外标法自动计算，也可按式(1)计算：

$$\omega = \frac{V_1 \times A_x \times V_3 \times V_5}{V_2 \times A_s \times V_4 \times m} \times \rho_s \dots\dots\dots (1)$$

式中：

ω ——试样中每种被测组分残留量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

ρ_s ——标准溶液质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

V_1 ——提取溶液总体积，单位为毫升（mL）；

V_2 ——净化后吸取出用于浓缩的提取溶液体积，单位为毫升（mL）；

V_3 ——样品定容体积，单位为毫升（mL）；

V_4 ——待测液进样体积，单位为微升（ μ L）；

V_5 ——标准溶液进样体积，单位为微升（ μ L）；

A_s ——标准溶液的峰面积；

A_x ——待测液的峰面积；

m ——试样质量，单位为克（g）；

注：计算结果应扣除空白值，测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留两位有效数字。

9 精密度

9.1 在重复性条件下，两次独立测定结果的绝对差不大于重复性限（r），重复性限（r）的数据按照附录 D。

9.2 在再现性条件下，两次独立测定结果的绝对差不大于再现性限（R），再现性限（R）的数据按照附录 E。

10 定量限和回收率

10.1 定量限

本方法中12种有机磷农药及代谢物在土壤中定量限均为0.001 mg/kg。

10.2 回收率

本方法的添加水平和回收率范围见附录F。

附 录 A
(资料性附录)
质谱仪参数²⁾

液相色谱-质谱/质谱仪的质谱仪参数:

- a) 扫描方式: 正离子扫描;
- b) 检测方式: 多反应监测;
- c) 离子源: 电喷雾离子源 (ESI);
- d) 电离电压: 4.0 kV;
- e) 加热块温度: 400 °C;
- f) DL 管温度: 250 °C;
- g) 检测器电压: 1.74 kV;
- h) 碰撞气: 氩气;
- i) 碰撞气压力: 0.23 Mpa;
- j) 雾化气流速: 3.0 L/min;
- k) 干燥气流速: 10.0 L/min;
- l) 加热的流速: 10.0 L/min。

地方标准信息服务平台

2) 非商业性声明: 所列参数是在岛津 LCMS-8050 液相色谱串联质谱仪上完成的, 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。

附 录 B
(资料性附录)

12 种有机磷农药及其代谢物中英文名称、监测离子对、碰撞电压和保留时间

序号	中文名	英文名	保留时间 /min	定量离子对	碰撞电压 /V	定性离子对	碰撞电压 /V
1	甲胺磷	Methamidophos	1.19	142.10>94.00	-14	142.10>125.10	-18
2	乙酰甲胺磷	Acephate	1.73	184.00>143.00	-10	184.00>125.00	-17
3	氧乐果	Omethoate	1.96	214.10>155.00	-15	214.10>183.00	-11
4	噻唑磷	Fosthiazate	3.99	283.80>104.00	-23	283.80>227.95	-11
5	甲拌磷亚砷	Phorat-sulfoxide	4.07	277.00>96.90	-31	277.00>198.90	-10
6	甲拌磷砷	Phorat-sulfone	4.21	293.00>171.05	-9	293.00>115.00	-24
7	三唑磷	Triazophos	6.91	314.05>162.15	-19	314.05>119.15	-35
8	二嗪磷	Diazinon	8.05	305.00>169.10	-19	305.00>153.10	-20
9	辛硫磷	Phoxim	8.19	299.10>77.10	-52	299.10>129.10	-11
10	甲拌磷	Phorate	8.25	261.00>75.00	-11	261.00>143.00	-17
11	丙溴磷	Profenofos	8.87	372.90>302.80	-19	372.90>345.00	-12
12	毒死蜱	Chlorpyrifos	9.28	351.90>199.90	-18	351.90>96.95	-33

地方标准信息服务平台

附录 C
(资料性附录)

12 种有机磷农药及代谢物多反应监测 (MRM) 色谱图及质谱图

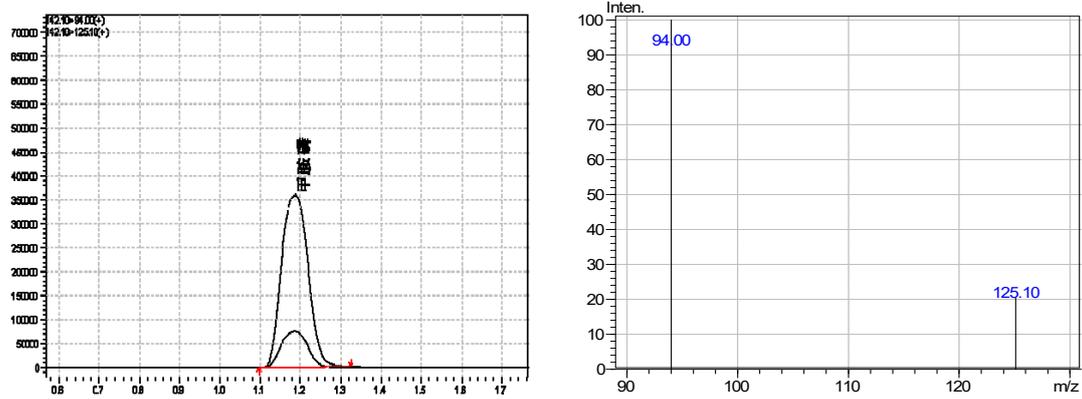


图 C.1 甲胺磷

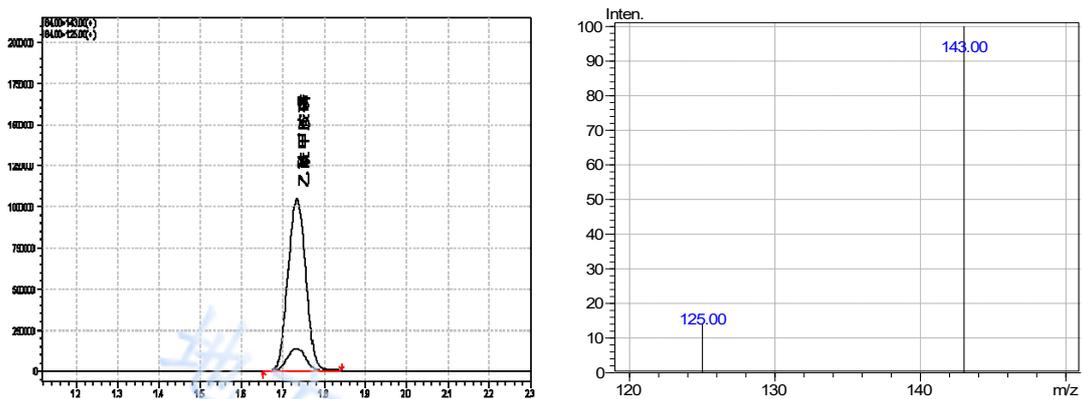


图 C.2 乙酰甲胺磷

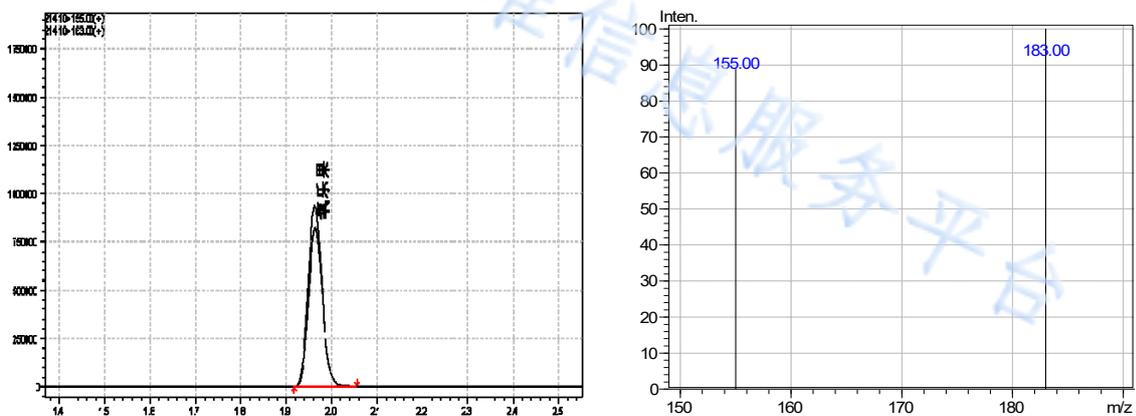


图 C.3 氧乐果

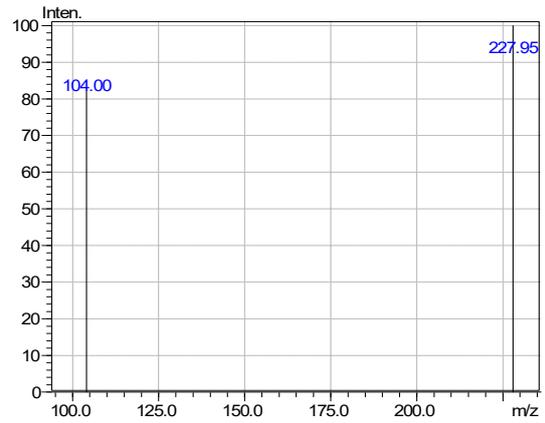
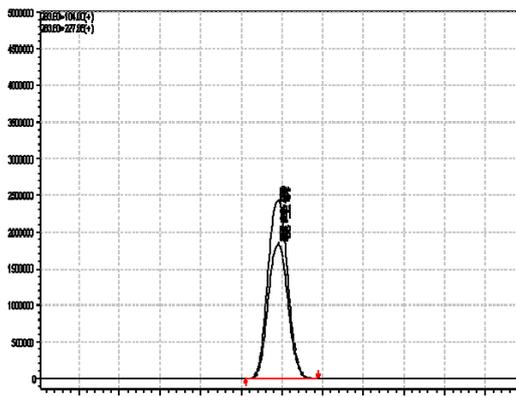


图 C.4 噻唑磷

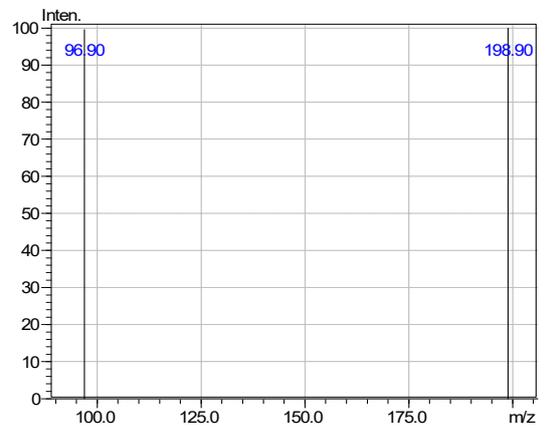
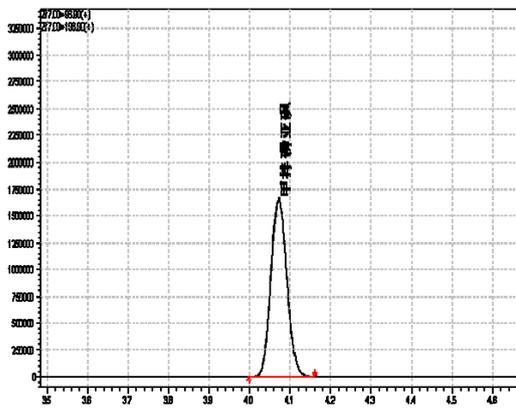


图 C.5 甲拌磷亚砷

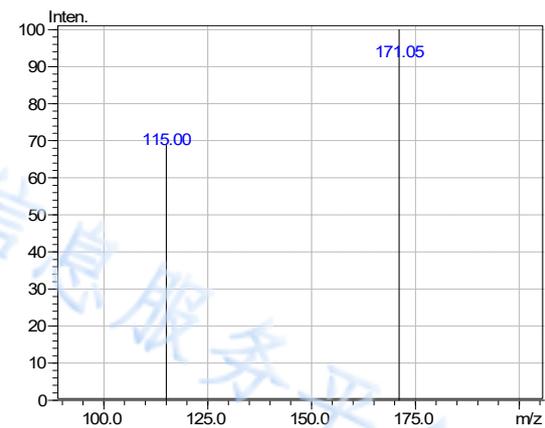
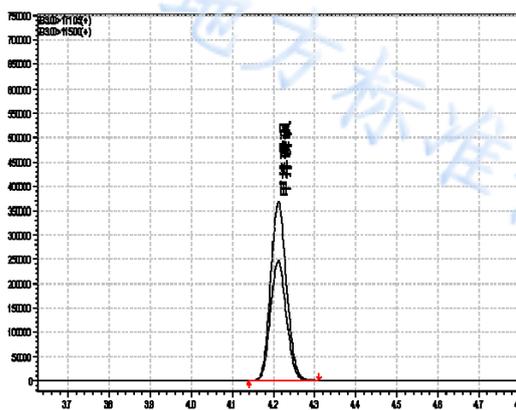


图 C.6 甲拌磷砷

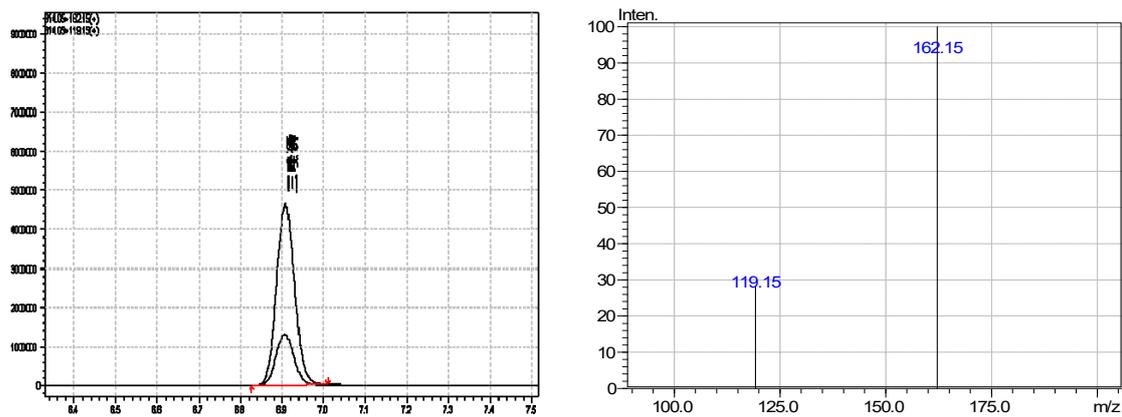


图 C.7 三唑磷

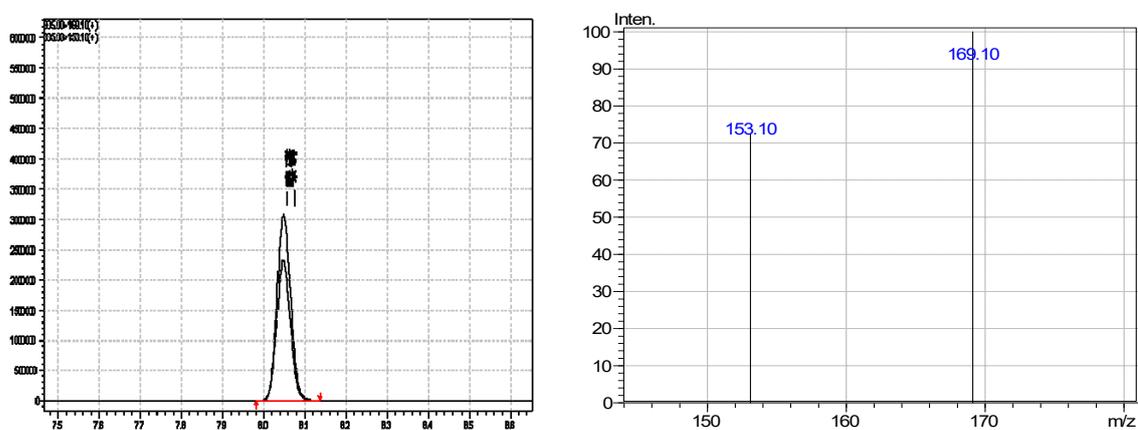


图 C.8 二嗪磷

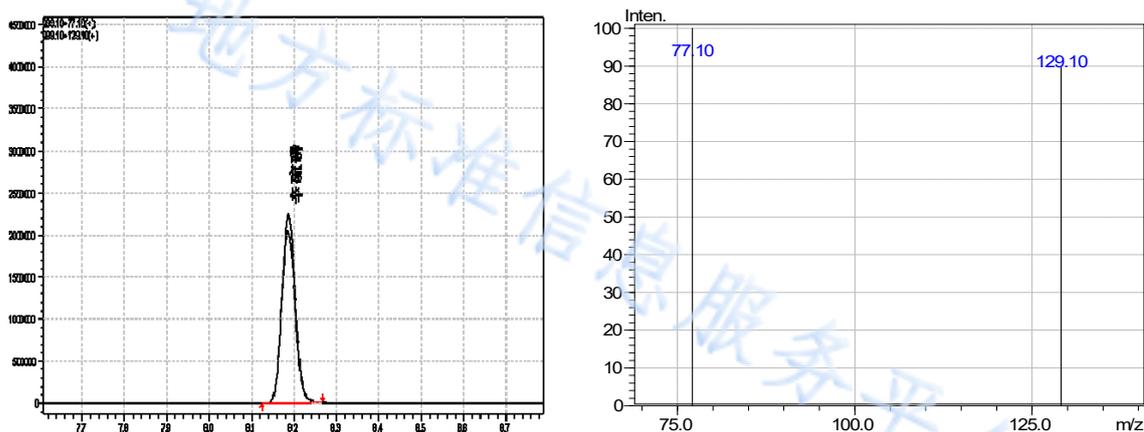


图 C.9 辛硫磷

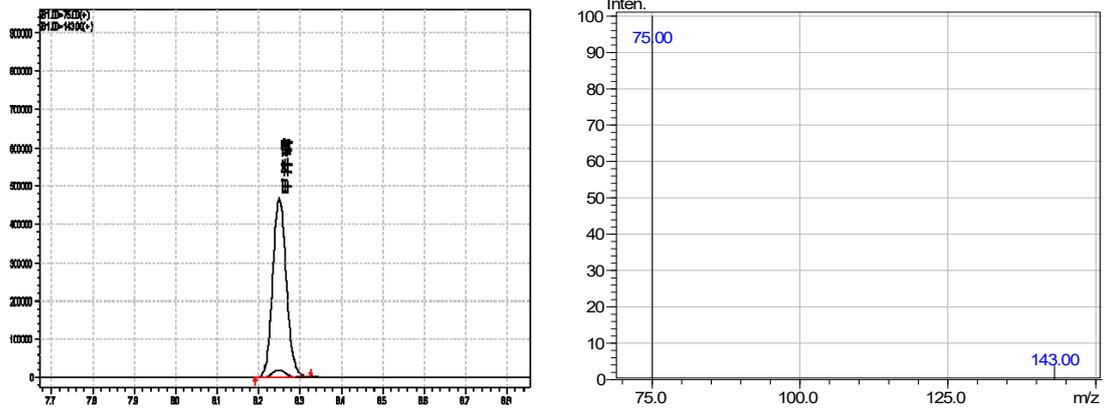


图 C.10 甲拌磷

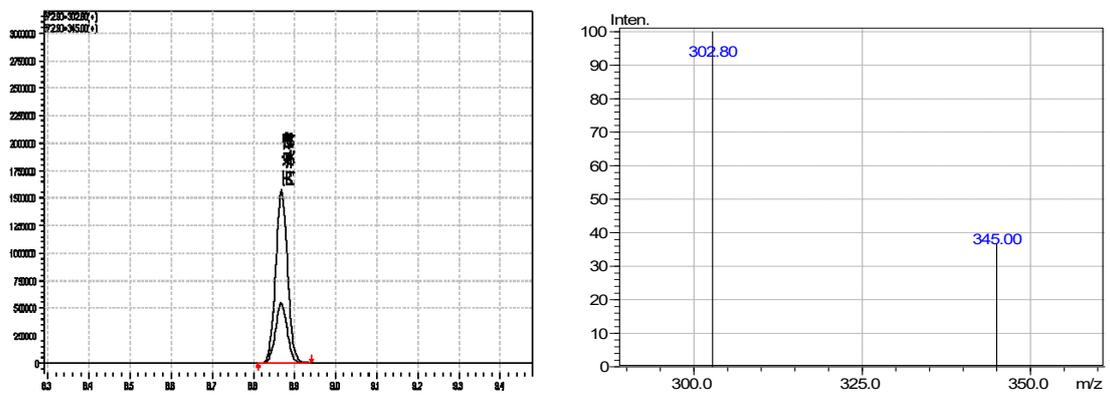


图 C.11 丙溴磷

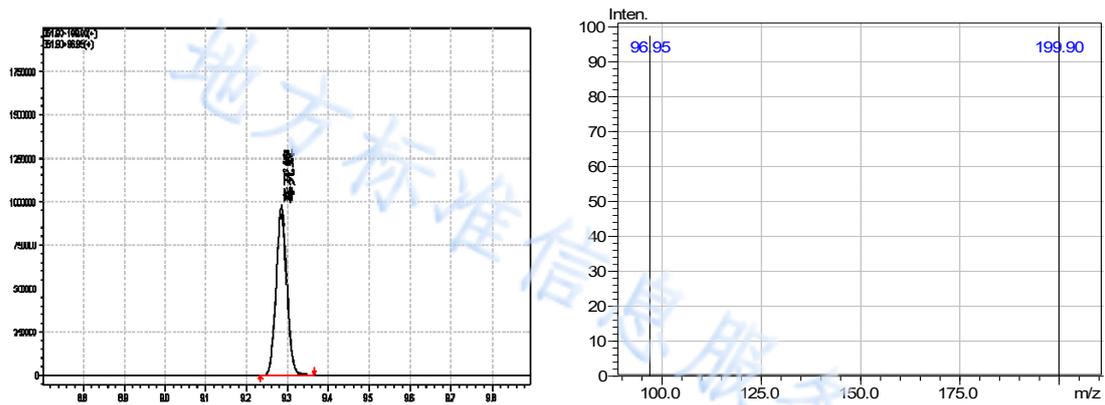


图 C.12 毒死蜱

附 录 D
(规范性附录)
实验室重复性限 (r) 数据表

序号	农药名称	含量 mg/kg	重复性限 r	含量 mg/kg	重复性限 r	含量 mg/kg	重复性限 r
1	甲胺磷	0.001	5.39×10^{-5}	0.01	5.74×10^{-4}	0.1	8.70×10^{-3}
2	乙酰甲胺磷	0.001	8.33×10^{-5}	0.01	6.56×10^{-4}	0.1	7.64×10^{-3}
3	氧乐果	0.001	8.01×10^{-5}	0.01	5.33×10^{-4}	0.1	1.06×10^{-2}
4	噻啉磷	0.001	9.40×10^{-5}	0.01	1.43×10^{-3}	0.1	1.50×10^{-2}
5	甲拌磷亚砷	0.001	1.44×10^{-4}	0.01	1.17×10^{-3}	0.1	1.47×10^{-2}
6	甲拌磷砷	0.001	1.90×10^{-4}	0.01	9.16×10^{-4}	0.1	1.47×10^{-2}
7	三唑磷	0.001	1.61×10^{-4}	0.01	1.07×10^{-3}	0.1	1.69×10^{-2}
8	二嗪磷	0.001	1.39×10^{-4}	0.01	1.19×10^{-3}	0.1	1.49×10^{-2}
9	辛硫磷	0.001	1.69×10^{-4}	0.01	9.74×10^{-4}	0.1	1.40×10^{-2}
10	甲拌磷	0.001	1.69×10^{-4}	0.01	1.24×10^{-3}	0.1	1.51×10^{-2}
11	丙溴磷	0.001	1.22×10^{-4}	0.01	1.12×10^{-3}	0.1	1.30×10^{-2}
12	毒死蜱	0.001	2.64×10^{-4}	0.01	1.12×10^{-3}	0.1	1.55×10^{-2}

地方标准信息服务平台

附 录 E
(规范性附录)
实验室再现性限 (R) 数据表

序号	农药名称	含量 mg/kg	再现性限 R	含量 mg/kg	再现性限 R	含量 mg/kg	再现性限 R
1	甲胺磷	0.001	1.17×10^{-4}	0.01	1.02×10^{-3}	0.1	3.79×10^{-2}
2	乙酰甲胺磷	0.001	1.23×10^{-4}	0.01	7.45×10^{-4}	0.1	2.08×10^{-2}
3	氧乐果	0.001	1.36×10^{-4}	0.01	8.26×10^{-4}	0.1	1.01×10^{-2}
4	噻唑磷	0.001	1.67×10^{-4}	0.01	1.97×10^{-3}	0.1	2.02×10^{-2}
5	甲拌磷亚砷	0.001	2.07×10^{-4}	0.01	3.14×10^{-3}	0.1	2.23×10^{-2}
6	甲拌磷砷	0.001	2.95×10^{-4}	0.01	1.33×10^{-3}	0.1	1.91×10^{-2}
7	三唑磷	0.001	1.69×10^{-4}	0.01	1.92×10^{-3}	0.1	2.03×10^{-2}
8	二嗪磷	0.001	1.83×10^{-4}	0.01	1.57×10^{-3}	0.1	1.80×10^{-2}
9	辛硫磷	0.001	1.67×10^{-4}	0.01	1.98×10^{-3}	0.1	1.53×10^{-2}
10	甲拌磷	0.001	3.52×10^{-4}	0.01	1.70×10^{-3}	0.1	1.90×10^{-2}
11	丙溴磷	0.001	2.95×10^{-4}	0.01	1.28×10^{-3}	0.1	1.34×10^{-2}
12	毒死蜱	0.001	2.53×10^{-4}	0.01	1.38×10^{-3}	0.1	1.47×10^{-2}

地方标准信息服务平台

附 录 F
(资料性附录)

12 种有机磷农药及代谢物加标回收率情况

添加水平 (mg/kg)	甲胺磷回收率 (%)	乙酰甲胺磷回 收率 (%)	氧乐果回收率 (%)	噻啉磷回收率 (%)	甲拌磷亚砷回 收率 (%)	甲拌磷砷回收 率 (%)
0.001	75.4~80.0	72.9~80.2	80.7~87.9	93.8~100.5	96.0~103.6	107.4~125.4
0.01	72.6~75.2	70.5~73.4	77.0~82.4	90.7~97.6	88.7~98.4	91.2~99.8
0.1	72.9~78.5	71.9~77.6	77.9~85.2	90.7~98.7	91.4~101.9	93.0~100.0
添加水平 (mg/kg)	三唑磷回收率 (%)	二嗪磷回收率 (%)	辛硫磷回收率 (%)	甲拌磷回收率 (%)	丙溴磷回收率 (%)	毒死蜱回收率 (%)
0.001	93.9~103.3	89.9~98.8	98.2~106.8	86.3~95.2	91.8~103.5	91.1~102.4
0.01	87.9~95.3	87.6~94.7	87.5~94.1	79.5~88.6	86.6~95.4	87.2~95.1
0.1	83.4~99.0	88.2~106.7	91.1~99.8	84.8~89.9	89.9~95.9	87.7~94.7

地方标准信息服务平台