

DB32

江苏省地方标准

DB32/T 4468—2023

人体血清中 11 种农药残留量测定 气相色谱-三重四级杆质谱

Determination of 11 pesticides residues in human serum—
Gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry

2023-03-23 发布

2023-04-23 实施

江苏省市场监督管理局 发布
中国标准出版社 出版

前 言

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。

本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由江苏省卫生标准化技术委员会提出并归口。

本文件起草单位：南京医科大学、江苏省疾病预防控制中心、无锡市疾病预防控制中心。

本文件主要起草人：夏彦恺、朱宝立、陈敏健、管权权、丁新良、孙宏。

人体血清中 11 种农药残留量测定 气相色谱-三重四级杆质谱

1 范围

本文件规定了人体血清中氯苯胺灵、五氯苯甲醚、野麦畏、乙烯菌核利、杀螟硫磷、粉锈宁、二甲戊灵、毒虫畏、丁草胺、腈菌唑和莎稗磷 11 种农药残留量气相色谱-三重四级杆质谱测定方法。

本文件适用于人体血清中氯苯胺灵、五氯苯甲醚、野麦畏、乙烯菌核利、杀螟硫磷、粉锈宁、二甲戊灵、毒虫畏、丁草胺、腈菌唑和莎稗磷 11 种农药残留量的测定。

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

GB/T 16126 生物监测质量保证规范

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样经饱和硫酸铵沉淀蛋白，提取上清液经固相萃取柱净化，富集浓缩后，用气相色谱-三重四级杆质谱仪测定，外标法定量。

5 试剂和材料

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 甲醇(CH_3OH)。

5.1.2 二氯甲烷(CH_2Cl_2)。

5.1.3 正己烷(C_6H_{14})。

5.1.4 甲苯(C_7H_8)。

5.1.5 二氯甲烷-甲醇混合溶液：用二氯甲烷和甲醇按 4 : 1 体积比混合。

5.1.6 无水硫酸铵 $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ 。

5.1.7 饱和硫酸铵溶液：称取过量无水硫酸铵，用 100 mL 水溶解至有晶体析出。

5.1.8 胎牛血清。

5.2 标准品

农药标准物质:纯度大于或等于 95%或有证标准物质,11 种检测农药中文名称及方法定量限见附录 A。

5.3 标准溶液配制

5.3.1 标准储备溶液

标准储备溶液(0.5 mg/mL):分别准确称取 12.5 mg(精确至 0.1 mg)各标准品,用甲苯溶解并转移至 25 mL 容量瓶中,定容至刻度,配制成浓度为 0.5 mg/mL 的各农药标准储备溶液,于-18℃避光保存,可稳定 3 个月。

5.3.2 标准使用溶液

标准使用溶液(25 μg/mL):分别移取 250 μL 各农药标准储备溶液于 5 mL 容量瓶中,用甲苯定容至刻度,配制成浓度为 25 μg/mL 的标准使用溶液。临用现配。

5.3.3 标准工作曲线

准确吸取适量的标准使用溶液于空白基质(胎牛血清)中,配制成目标农药参考浓度分别为 0 μg/L、0.5 μg/L、1.0 μg/L、5.0 μg/L、10.0 μg/L 和 100.0 μg/L 的系列标准,采用与待测样本相同的前处理方法(见第 8 章),最后形成浓度水平为 0 μg/L、12.5 μg/L、25.0 μg/L、125.0 μg/L、250.0 μg/L 和 2 500.0 μg/L 基质匹配标准序列。临用现配。

5.4 材料

5.4.1 十八烷基硅烷键合固相萃取柱:3 mL,200 mg 或相当者。

5.4.2 非抗凝管。

5.4.3 聚丙烯离心管:1.5 mL。

6 仪器和设备

6.1 气相色谱-三重四级杆质谱仪:配有电子轰击源(EI)。

6.2 电子天平:感量 0.000 1 g。

6.3 固相萃取装置。

6.4 氮吹浓缩装置。

6.5 高速离心机:转速可达 12 000 r/min。

6.6 涡旋振荡器。

7 试样采集

使用非抗凝管采集不少于 2 mL 外周静脉血,室温静置 30 min,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液转移至 1.5 mL 离心管中备用。试样采集耗材、环境和人员应符合 GB/T 16126 的要求。

8 测定步骤

8.1 提取

准确移取 0.5 mL 血清于 1.5 mL 离心管中,加入 500 μ L 饱和硫酸铵溶液,涡旋振荡 30 s,12 000 r/min 离心 15 min,吸取上清液至另一离心管中。

8.2 净化

8.2.1 固相萃取柱依次用甲醇、水各 3 mL 活化。取上清液过柱,待样品自然流尽后加入 1 mL 水淋洗,淋洗液流尽后负压抽干 15 min。

8.2.2 依次用 4 mL 二氯甲烷-甲醇混合溶液、3 mL 正己烷洗脱,收集洗脱液,于 40 $^{\circ}$ C 氮吹至干。加入 200 μ L 二氯甲烷,涡旋振荡 1 min 后,转移至 250 μ L 内衬管中,自然挥干,加入 20 μ L 甲苯复溶,涡旋振荡 1 min 后用于气相色谱-三重四级杆质谱测定。

8.3 测定

8.3.1 气相色谱-三重四级杆质谱参考条件

8.3.1.1 色谱条件

色谱条件包括:

- a) 载气:高纯氦气,流速 1 mL/min。
- b) 色谱柱:苯基亚芳基聚合物色谱柱,30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m;或性能相当者。
- c) 进样方式:不分流进样。
- d) 进样体积:2 μ L。
- e) 进样口温度:270 $^{\circ}$ C。
- f) 柱温:初始温度 100 $^{\circ}$ C,持续 1 min;30 $^{\circ}$ C/min 升温至 200 $^{\circ}$ C 保持 1 min;5 $^{\circ}$ C/min 升温至 210 $^{\circ}$ C 保持 2 min;10 $^{\circ}$ C/min 升温至 260 $^{\circ}$ C;20 $^{\circ}$ C/min,升温至 300 $^{\circ}$ C,保持 5 min。

8.3.1.2 三重四级杆质谱条件

三重四级杆质谱条件包括:

- a) 碰撞气:高纯氩气,流速 1 mL/min;
- b) 离子源温度:300 $^{\circ}$ C;
- c) 传输线温度:300 $^{\circ}$ C;
- d) 扫描模式:SRM;
- e) 电离电压:70 eV;
- f) 发射电流:50 μ A;
- g) 扫描宽度:3.0 s;
- h) 扫描时间:0.043 s;
- i) 电离方式:EI;
- j) 选择离子监测:每种化合物分别选择一个定量离子对,一个定性离子对。所有需要检测的离子依据出峰顺序,分时段分别检测。每种化合物的保留时间、定量离子对及定性离子对见附录 B,化合物的选择离子流色谱图见附录 C。

8.3.2 定性测定

被测试样中目标农药色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较,相对误差应在±2.5%之内。在相同实验条件下进行样品测定时,如果检出的色谱峰的保留时间与标准样品相一致,并且在扣除背景后的样品质谱图中,目标化合物的质谱定量和定性离子均出现,而且同一检测批次,对同一化合物,样品中目标化合物的定性离子和定量离子的相对丰度比与质量浓度相当的标准工作溶液相比,其允许偏差不得超过表1规定的范围,则可判断样品中存在目标农药。如果不能确证,应重新进样,以扫描方式(有足够灵敏度)或采用增加其他确证离子的方式或用其他灵敏度更高的分析仪器来确证。

表1 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	20~50(含)	10~20(含)	≤10
允许相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

8.3.3 定量测定

本方法通过工作曲线法进行定量测定,标准曲线的上机浓度范围为:12.5 μg/L~2 500.0 μg/L,样品经过提取与净化后进行测定,根据得到的目标物定量离子的峰面积,采用工作曲线法进行定量,计算样本中11种农药的含量。

8.4 平行试验

按步骤8.1~8.3的规定对同一试样进行平行试验测定。

8.5 空白试验

除不加试样外,其他操作步骤均按步骤8.1~8.3的规定进行。

9 结果计算

样本中各农药的含量按照公式(1)计算,计算结果需扣除空白值。

$$C_s = \frac{C \times V}{V_s} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- C_s ——样本中各农药浓度,单位为微克每升(μg/L);
- C ——从工作曲线得对应的各农药的浓度,单位为微克每升(μg/L);
- V ——样本检测定容体积,单位为微升(μL);
- V_s ——样本取样体积,单位为微升(μL)。

10 方法的定量限和准确度

10.1 定量限

血清取样量为0.5 mL,定容体积为20 μL时,11种农药的定量限见附录A。

10.2 准确度

胎牛血清中11种农药添加浓度均为1 μg/L时,回收率为76.5%~133%;添加浓度均为10 μg/L时,回收率为81.4%~123%。1.0 μg/L、10.0 μg/L添加浓度下各农药相对标准偏差为17%~35%。

附 录 A

(规范性)

11 种检测农药中文名称及方法定量限

11 种检测农药中文名称及方法定量限见表 A.1。

表 A.1 11 种检测农药中文名称及方法定量限

序号	中文名称	定量限/($\mu\text{g/L}$)
1	氯苯胺灵	0.5
2	五氯苯甲醚	0.5
3	野麦畏	0.5
4	乙烯菌核利	0.5
5	杀螟硫磷	0.5
6	粉锈宁	0.5
7	二甲戊灵	0.5
8	毒虫畏	0.5
9	丁草胺	0.5
10	腈菌唑	0.5
11	莎稗磷	0.5

附 录 B
(资料性)

11 种检测农药参考保留时间、定量离子对和定性离子对

11 种检测农药参考保留时间、定量离子对和定性离子对见表 B.1。

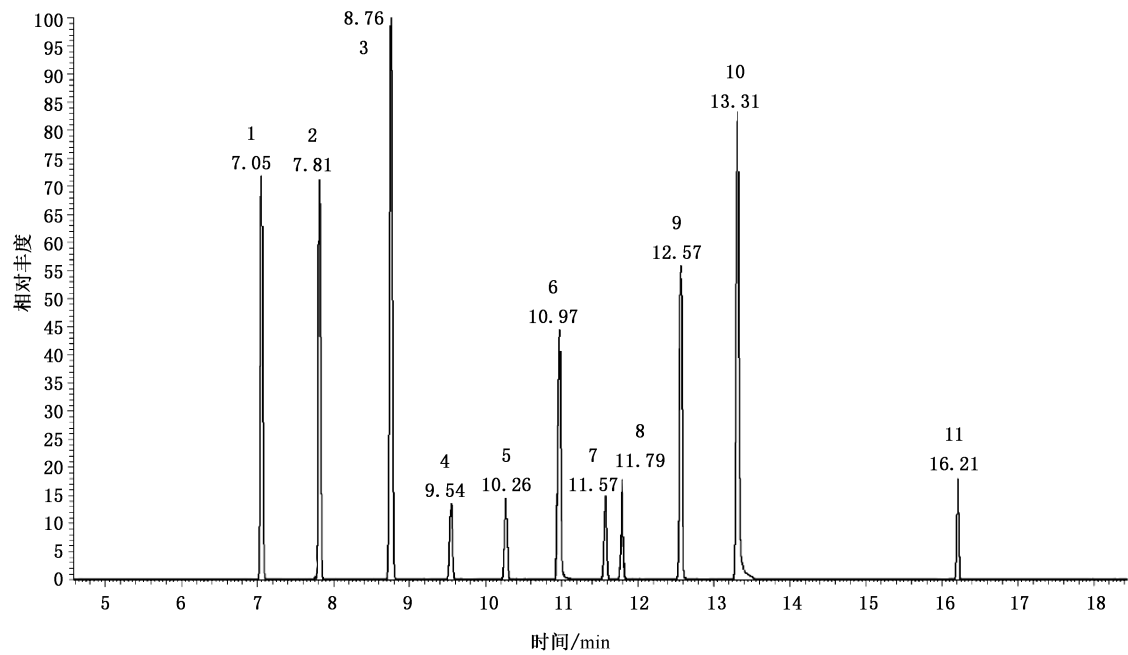
表 B.1 11 种检测农药参考保留时间、定量离子对和定性离子对

序号	CAS 号	中文名称	英文名	参考保留 时间/min	定量离子对		定性离子对	
					质核比 <i>m/z</i>	碰撞能量/ eV	质核比 <i>m/z</i>	碰撞能量/ eV
1	101-21-3	氯苯胺灵	Chlorpropham	7.05	213.1/127.1	12	127.0/65.1	20
2	1825-21-4	五氯苯甲醚	Pentachloroanisole	7.81	279.9/236.9	20	264.8/236.9	8
3	2303-17-5	野麦畏	Triallate	8.75	270.0/185.9	16	268.0/183.9	6
4	50471-44-8	乙烯菌核利	Vinclozolin	9.54	212.0/145.0	20	178.1/115.1	18
5	122-14-5	杀螟硫磷	Fenitrothion	10.26	277.0/109.0	12	125.0/79.0	6
6	43121-43-3	粉锈宁	Triadimefon	10.96	208.0/111.0	20	181.0/127.1	6
7	40487-42-1	二甲戊灵	Pendimethalin	11.57	252.1/162.1	14	162.1/161.1	10
8	470-90-6	毒虫畏	Chlorfenvinphos	11.78	269.0/161.0	14	267.0/159.0	12
9	23184-66-9	丁草胺	Butachlor	12.56	176.1/147.1	12	160.1/130.1	26
10	88671-89-0	腈菌唑	Myclobutanil	13.31	179.0/90.0	30	150.0/123.0	16
11	64249-01-0	莎稗磷	Anilofos	16.20	226.1/157.1	12	125.0/79.0	8

附 录 C
(资料性)

11 种检测农药标准物质选择离子色谱图

11 种检测农药标准物质选择离子色谱图如图 C.1 所示。



标引序号说明：

- | | |
|-----------|----------|
| 1——氯苯胺灵； | 7——二甲戊灵； |
| 2——五氯苯甲醚； | 8——毒虫畏； |
| 3——野麦畏； | 9——丁草胺； |
| 4——乙烯菌核利； | 10——腈菌唑； |
| 5——杀螟硫磷； | 11——莎稗磷。 |
| 6——粉锈宁； | |

图 C.1 11 种检测农药标准物质选择离子色谱图