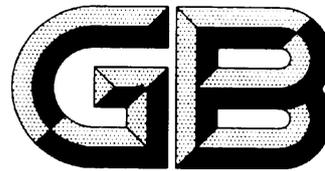


ICS XX.XXX.XX
B XX



中华人民共和国国家标准

GB XXXXX.X—20XX

食品安全国家标准 水产品中邻苯二甲酸酯类物质的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard-

Determination of Phthalic acid esters in aquatic products by liquid
chromatography-tandem mass spectrometry method

(征求意见稿)

20XX-XX-XX 发布

20XX-XX-XX 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

前 言

本文件系首次发布。

本文件按照GB/T 1.1-2020给出的规则起草。

请注意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这些专利的责任。

本文件由中华人民共和国农业农村部提出。

本文件有全国兽药残留委员会归口。

本文件起草单位：浙江省海洋水产研究所。

本文件主要起草人：张小军、方益、何鹏飞、严忠雍、陈思、祝银。

征求意见稿

食品安全国家标准

水产品中邻苯二甲酸酯类物质的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了水产品中21种邻苯二甲酸酯（PAEs）含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、虾、蟹、贝等水产品可食组织中邻苯二甲酸二甲酯、邻苯二甲酸二乙酯、邻苯二甲酸二烯丙酯、邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯、邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯、邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯、邻苯二甲酸二戊酯、邻苯二甲酸二己酯、邻苯二甲酸丁基苄基酯、邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯、邻苯二甲酸二环己酯、邻苯二甲酸二苯酯、邻苯二甲酸二正辛酯、邻苯二甲酸二丙酯、邻苯二甲酸二异丙酯、邻苯二甲酸二异戊酯、邻苯二甲酸二庚酯、邻苯二甲酸二壬酯、邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯、邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸二异丁酯含量的检测。

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

GB/T 30891 水产品抽样规范

3 原理

水产品中的邻苯二甲酸酯经乙腈提取，分散固相萃取净化，反相液相色谱柱分离，以甲醇和0.1%甲酸水溶液为流动相进行洗脱，应用高效液相色谱-串联质谱法测定和确证，基质匹配外标法定量。

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规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1 甲醇（CH₃OH）：色谱纯。

4.1.2 乙腈（CH₃CN）：色谱纯。

4.1.3 甲酸（HCOOH）：色谱纯。

4.1.4 氯化钠（NaCl）。

4.1.5 无水硫酸钠（Na₂SO₄）：经600℃灼烧5 h，置于干燥器中备用。

4.2 溶液配制

0.1%甲酸溶液：量取水500 mL，加入甲酸0.5 mL，混匀。

4.3 标准品

邻苯二甲酸二甲酯（DMP）、邻苯二甲酸二乙酯（DEP）、邻苯二甲酸二烯丙酯（DAP）、邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯（DMEP）、邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯（BMPP）、邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯（DEEP）、邻苯二甲酸二戊酯（DPP）、邻苯二甲酸二己酯（DHXP）、邻苯二甲酸丁基苄基酯（BBP）、邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯（DBEP）、邻苯二甲酸二环己酯

(DCHP)、邻苯二甲酸二苯酯 (DPhP)、邻苯二甲酸二正辛酯 (DNOP)、邻苯二甲酸二丙酯 (DPPrP)、邻苯二甲酸二异丙酯 (DIPrP)、邻苯二甲酸二异戊酯 (DIPP)、邻苯二甲酸二庚酯 (DHP)、邻苯二甲酸二壬酯 (DNP)、邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯 (DEHP)、邻苯二甲酸二丁酯 (DBP)、邻苯二甲酸二异丁酯 (DIBP), 纯度均 $\geq 97.0\%$ 。表A.1给出了标准品中英文名称、分子式、缩写、CAS号、分子量等信息。

4.4 标准溶液制备

4.4.1 邻苯二甲酸酯 (PAEs) 标准储备液 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)：称取适量的DMP、DEP、DAP、DMEP、BMPP、DEEP、DPP、DHXP、BBP、DBEP、DCHP、DPhP、DNOP、DPPrP、DIPrP、DIPP、DHP、DNP、DEHP、DBP和DIBP，分别用甲醇溶解定容成100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备液， -18°C 避光保存，有效期为12个月。

4.4.2 混合标准工作液 (1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)：分别准确移取适量邻苯二甲酸酯标准储备液，用甲醇稀释，配制成1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准工作液， -18°C 避光保存，有效期为6个月。

4.5 材料

4.5.1 乙二胺-N-丙基 (PSA) 粉：粒径为40 μm 或120 μm ，孔径为60 \AA 。

4.5.2 C_{18} 粉：粒径为40 μm 或120 μm ，孔径为60 \AA 。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-串联质谱仪：配电喷雾离子源 (ESI)。

5.2 分析天平：感量0.1 mg。

5.3 天平：感量0.01 g。

5.4 高速离心机：转速为10000 r/min以上。

5.5 旋涡混合器。

5.6 超声波清洗器。

5.7 组织捣碎机。

6 试样的制备与保存

6.1 试样的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试组织，绞碎并使均质。试样取样部位按GB/T 30891附录B执行。试样分为以下三种：

- a) 取均质后的供试样品，作为供试试样；
- b) 取均质后的空白样品，作为空白试样；
- c) 取均质后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试样。

6.2 试样的保存

-18°C 以下保存。

7 测定步骤

7.1 提取

称取试样2 g (精确至0.01 g) 于50 mL离心管中，准确加入水3 mL和乙腈10 mL，旋涡混匀1 min，超声提取5 min，6000 r/min离心5 min，上清液转移至另一50 mL离心管中；残渣用乙腈10 mL重复提取1次，10000 r/min离心5 min后，合并上清液，加入NaCl 1 g和 Na_2SO_4 4 g，旋涡1 min，6000 r/min离心5 min，取上层溶液，备用。

7.2 净化

准确移取备用液8 mL于15 mL离心管中，加入C₁₈ 100 mg和PSA 50 mg，旋涡1 min，6000 r/min离心5 min后，精密量取净化液1 mL，用水定容至2 mL，旋涡混匀1 min，10000 r/min离心5 min，将上清液转入色谱进样瓶，供液相色谱-串联质谱仪测定。

7.3 基质匹配标准曲线制备

精密量取适量混合标准工作液，用空白样品提取液溶解稀释，配制成浓度为0.5 ng/mL、1 ng/mL、2 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL和50 ng/mL的系列基质匹配标准工作液并上机测定。以特征离子质量色谱峰面积为纵坐标，标准溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线。求回归方程和相关系数。

7.4 测定

7.4.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：C₁₈色谱柱，柱长100 mm，内径2.1 mm，粒径1.7 μm，或性能相当者；
- b) 捕集柱：PFC isolator，柱长50 mm，内径2.1 mm，或性能相当者；
- c) 捕集柱的安装：安装在混合阀与六通阀之间；
- d) 流速：0.20 mL/min；
- e) 进样量：5 μL；
- f) 柱温：40 °C；
- g) 流动相：A为0.1%甲酸水溶液，B为甲醇，洗脱程序见表1。

表1 梯度洗脱程序

时间, min	0.1%甲酸水溶液, %	甲醇, %
0.00	60	40
9.00	15	85
19.00	10	90
22.00	7	93
22.10	0	100
24.00	0	100
24.20	60	40
27.00	60	40

7.4.2 质谱参考条件

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI）；
- b) 扫描方式：正离子模式；
- c) 检测方式：多反应监测（MRM）；
- d) 喷雾电压：3.0 kv；
- e) 离子源温度：150 °C；
- f) 雾化温度：450 °C；
- g) 锥孔气流速：150 L/h；
- h) 雾化气流速：800 L/h；
- i) 定性离子对、定量离子对和碰撞能量见表2。

表2 定性离子对、定量离子对和碰撞能量

分析物	母离子 m/z	子离子 m/z	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
邻苯二甲酸二甲酯 DMP	195.1	163.1*	2	8
		77.1		26
邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯 DMEP	283.2	207.1*	4	5
		59.2		13
邻苯二甲酸二乙酯 DEP	223.2	177.1*	2	5
		149.1		12
邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯 DEEP	311.3	221.1*	4	5
		73.1		10
邻苯二甲酸二烯丙酯 DAP	247.1	41.2*	4	6
		149		12
邻苯二甲酸二异丙酯 DIPrP	251.1	148.9*	4	16
		191.0		6
邻苯二甲酸二丙酯 DPrP	251.2	149.1	4	10
		191.2*		3
邻苯二甲酸二苯酯 DPhP	319.2	225.2*	4	12
		77.3		30
邻苯二甲酸丁基苄基酯 BBP	313.0	91.0*	20	22
		149.0		10
邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯 DBEP	367.0	249.0*	20	3
		101.0		8
邻苯二甲酸二异戊酯 DIPP	307.2	219.1*	26	6
		149.0		12
邻苯二甲酸二戊酯 DPP	307	149.0*	15	10
		219.0		4
邻苯二甲酸二环己酯 DCHP	331.0	149.0*	20	22
		249.0		5
邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯 BMPP	335.0	149.0*	20	25
		251.0		8
邻苯二甲酸二己酯 DHXP	335.0	149.1*	20	12
		233.0		6
邻苯二甲酸二庚酯 DHP	363.2	149.1*	4	14
		247.1		6
邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯 DEHP	391.4	149.1*	2	15
		167.1		14
邻苯二甲酸二正辛酯 DNOP	391.5	148.9*	2	15
		261.2		7
邻苯二甲酸二壬酯 DNP	419	149*	20	10
		275		5

分析物	母离子 m/z	子离子 m/z	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
邻苯二甲酸二丁酯 DBP	279	149*	20	11
		205		5
邻苯二甲酸二异丁酯 DIBP	279	149.1*	20	14
		205.1		5
*为定量离子				

7.5 测定法

7.5.1 定性测定

待测物质选择 1 个母离子和 2 个特征离子, 在相同实验条件下, 试样中待测物质的保留时间与混合标准工作液中对应的保留时间偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内, 且试样中各组分两个子离子的相对丰度与浓度接近的混合标准工作液中对应的两个子离子的相对丰度进行比较, 偏差不超过表 3 规定的范围, 则可判定为试样中存在对应的待测物质。

表 3 定性确证时相对离子丰度的最大允许误差

相对离子丰度 %	>50	20~50	10~20	≤ 10
允许的最大偏差 %	± 20	± 25	± 30	± 50

7.5.2 定量测定

取试样溶液和混合标准工作液上机分析, 得到色谱峰面积响应值, 用外标法定量。试样溶液中待测物质的响应值应在仪器测定的线性范围内。混合标准工作液特征离子色谱图参见附录B。

7.6 试剂空白试验

除不加试样外, 采用完全相同的步骤进行平行操作。

8 结果计算和表述

试样中待测药物的残留量按式 (1) 计算:

$$X = \frac{C_s \times A \times V_1 \times V_2}{A_s \times V_3 \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X ——试样中待测物质的含量, 单位为微克每千克 ($\mu\text{g}/\text{kg}$);

C_s ——标准工作液中待测物质的浓度, 单位为纳克每毫升 (ng/mL);

A ——试样溶液中待测物质的峰面积;

A_s ——标准工作液中待测物质的峰面积;

V_1 ——乙腈加入的总体积, 单位为毫升 (mL);

V_2 ——定容体积, 单位为毫升 (mL);

V_3 ——定容液中净化液加入的体积, 单位为毫升 (mL);

m ——试样质量, 单位为克 (g)。

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。

9 方法灵敏度、准确度和精密度

9.1 灵敏度

本文件的方法检出限均为10.0 µg/kg，定量限均为20.0 µg/kg。

9.2 准确度

待测组分在添加浓度为20~500 µg/kg的范围内，回收率均为70~120%。

9.3 精密度

本文件的方法批内相对标准偏差≤15%，批间相对标准偏差≤15%。

10 注意事项

鉴于 PAEs 在环境中普遍存在，需采用以下措施来降低背景本底干扰影响：

- a) 分析前需提前考察前处理所使用的试剂、耗材等的 PAEs 含量，操作过程中应选用低本底的试剂、耗材，或通过有机溶剂清洗、高温烘烤等措施降低本底含量；
- b) 色谱柱平衡后应先加3~5针溶剂空白用于清洗。

附 录A
(资料性附录)

邻苯二甲酸酯类标准物质中英文名称、分子式、分子量 和CAS号

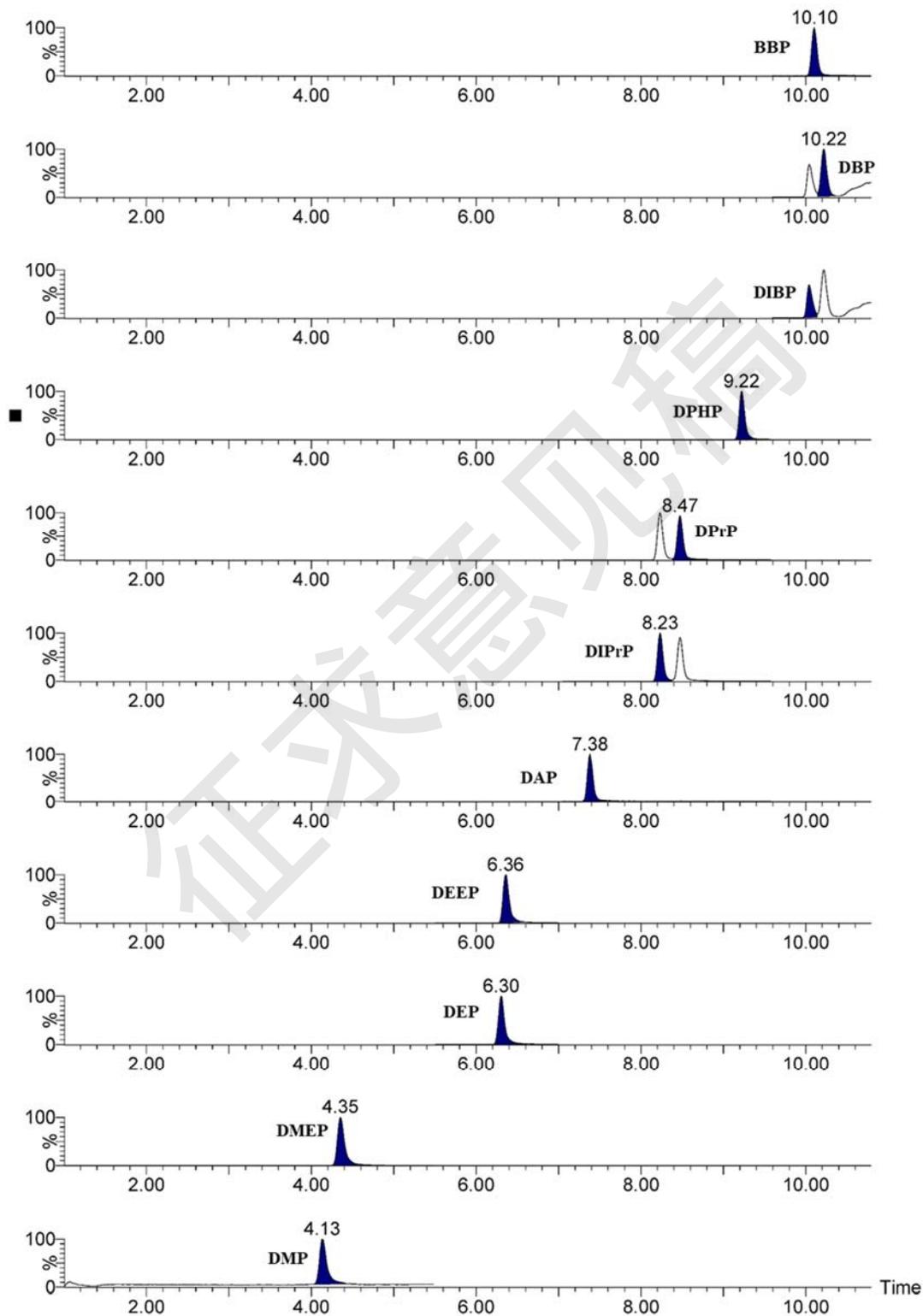
表 A.1 邻苯二甲酸酯类标准物质中英文名称、缩写、分子式、分子量和 CAS 号

序号	中英文名称	分子式	缩写	CAS 号	分子量
1	邻苯二甲酸二甲酯 Dimethyl phthalate	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	DMP	131-11-3	194.19
2	邻苯二甲酸二甲氧乙酯 Bis(2-methoxyethyl) phthalate	C ₁₄ H ₁₈ O ₆	DMEP	117-82-8	282.29
3	邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯 Bis(2-ethoxyethyl) phthalate	C ₁₆ H ₂₂ O ₆	DEEP	605-54-9	310.34
4	苯二甲酸二乙酯 Diethyl phthalate	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	DEP	84-66-2	222.24
5	邻苯二甲酸二烯丙酯 Diallyl phthalate	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	DAP	131-17-9	246.26
6	邻苯二甲酸二异丙酯 Diisopropyl phthalate	C ₁₄ H ₁₈ O ₄	DIPrP	605-45-8	250.29
7	邻苯二甲酸二丙酯 Dipropyl phthalate	C ₁₄ H ₁₈ O ₄	DPrP	131-16-8	250.29
8	邻苯二甲酸二苯酯 Diphenyl phthalate	C ₂₀ H ₁₄ O ₄	DPhP	84-62-8	318.32
9	邻苯二甲酸丁苄酯 Butyl benzyl phthalate	C ₁₉ H ₂₀ O ₄	BBP	85-68-7	312.37
10	邻苯二甲酸二丁氧基乙酯 Bis(2-n-Butoxyethyl) phthalate	C ₂₀ H ₃₀ O ₆	DBEP	117-83-9	366.45
11	邻苯二甲酸二异戊酯 Di-isopentyl phthalate	C ₁₈ H ₂₆ O ₄	DIPP	605-50-5	306.4
12	邻苯二甲酸二戊酯 Di-n-pentyl phthalate	C ₁₈ H ₂₆ O ₄	DPP	131-18-0	306.4
13	邻苯二甲酸二环己酯 Dicyclohexyl phthalate	C ₂₀ H ₂₆ O ₄	DCHP	84-61-7	330.42
14	邻苯二甲酸二-4-甲基-2-戊基酯 Bis(4-Methyl-2-pentyl) Phthalate	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	BMPP	84-63-9	334.50
15	邻苯二甲酸二己酯 Dihexyl Phthalate	C ₂₀ H ₃₀ O ₄	DHXP	84-75-3	334.46
16	邻苯二甲酸二庚酯 Di-n-heptyl phthalate	C ₂₂ H ₃₄ O ₄	DHP	3648-21-3	362.51
17	邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯 Bis(2-ethylhexyl) phthalate	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	DEHP	117-81-7	390.56
18	邻苯二甲酸二正辛酯 Di-n-octyl Phthalate	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	DNOP	117-84-0	390.56

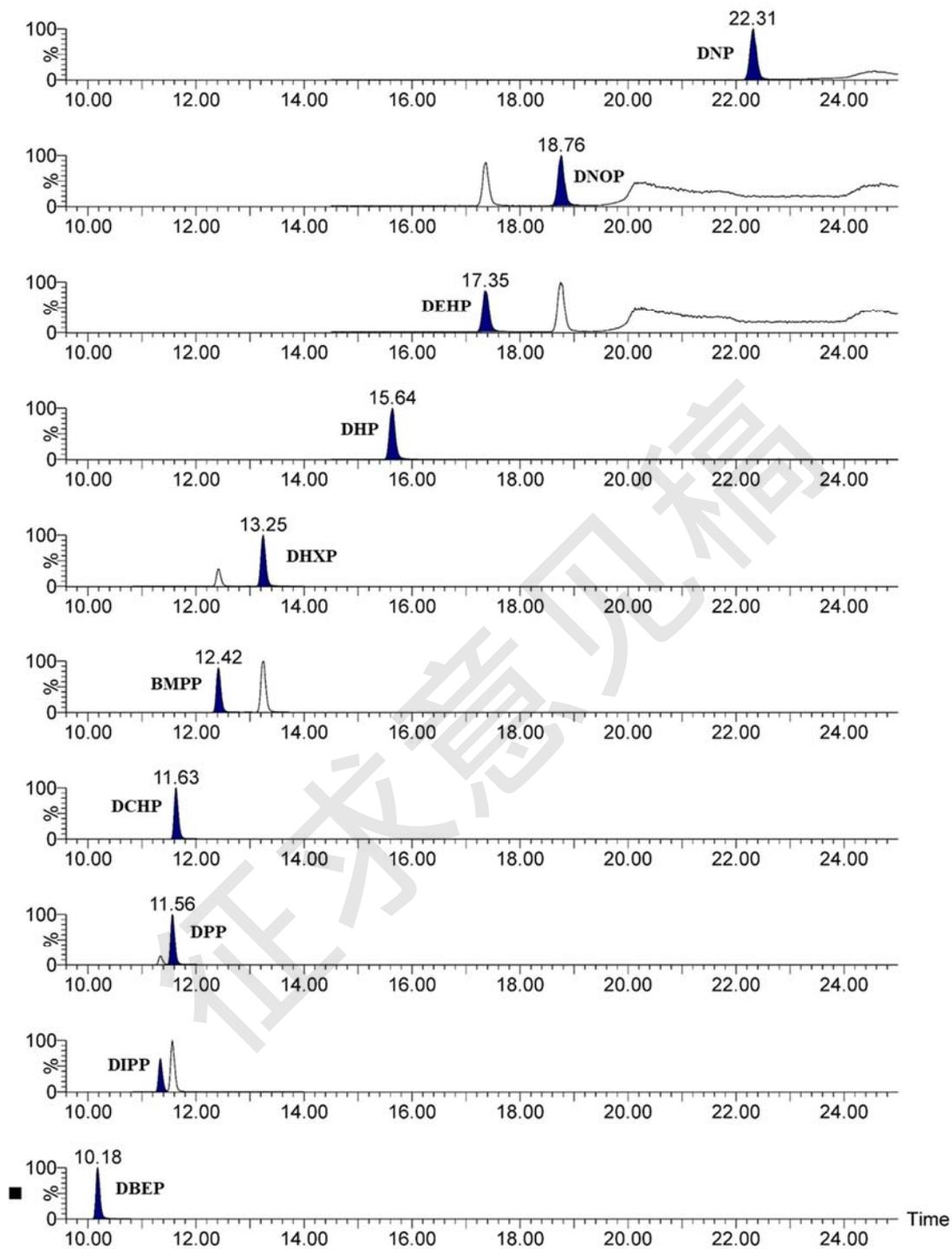
序号	中英文名称	分子式	缩写	CAS 号	分子量
19	邻苯二甲酸二壬酯 Dinonyl phthalate	C ₂₆ H ₄₂ O ₄	DNP	84-76-4	418.62
20	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	DBP	84-74-2	278.34
21	邻苯二甲酸二异丁酯 Diisobutyl phthalate	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	DIBP	84-69-5	278.34

征求意见稿

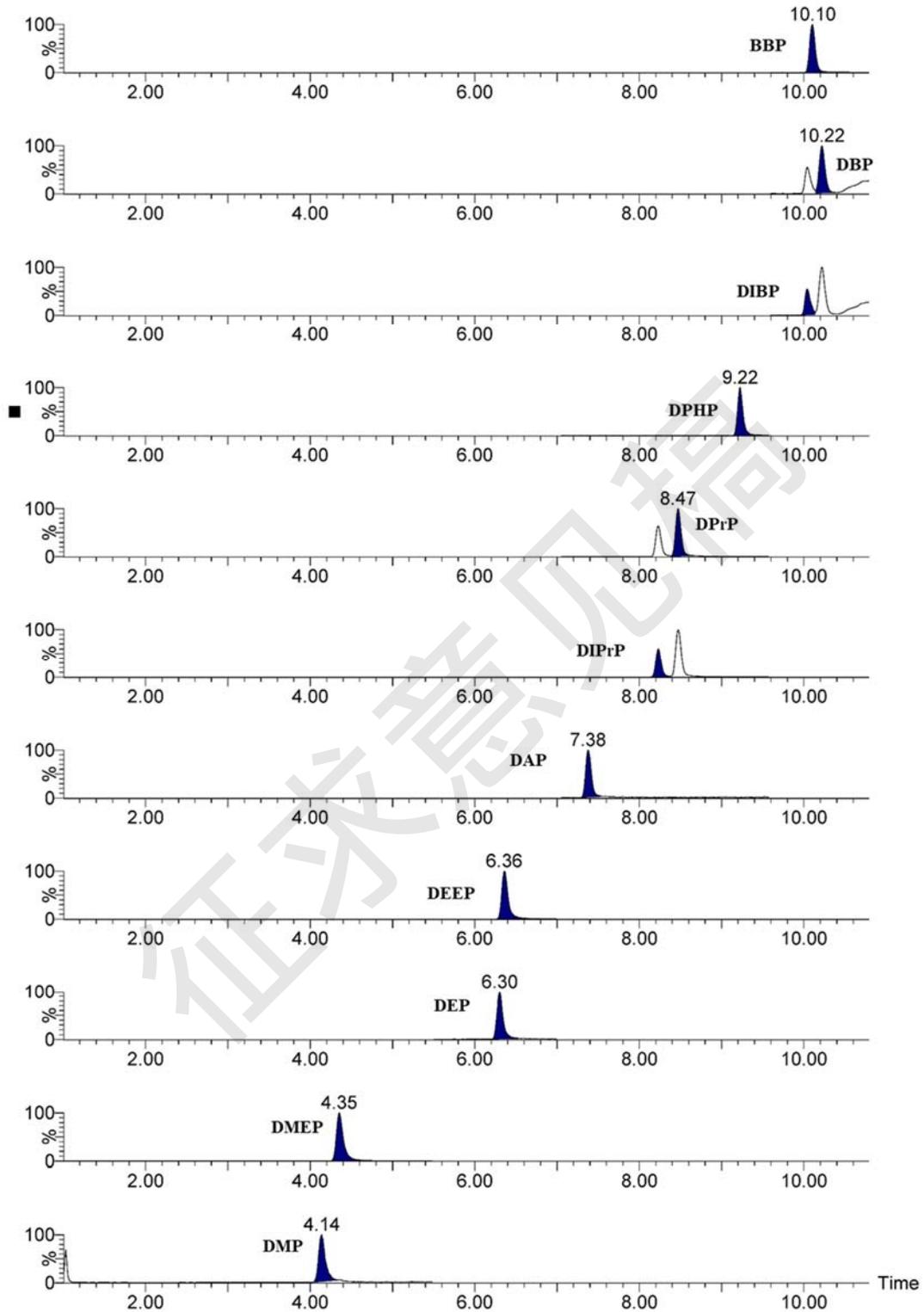
附录 B
(资料性附录)
邻苯二甲酸酯类化合物特征离子质量色谱图



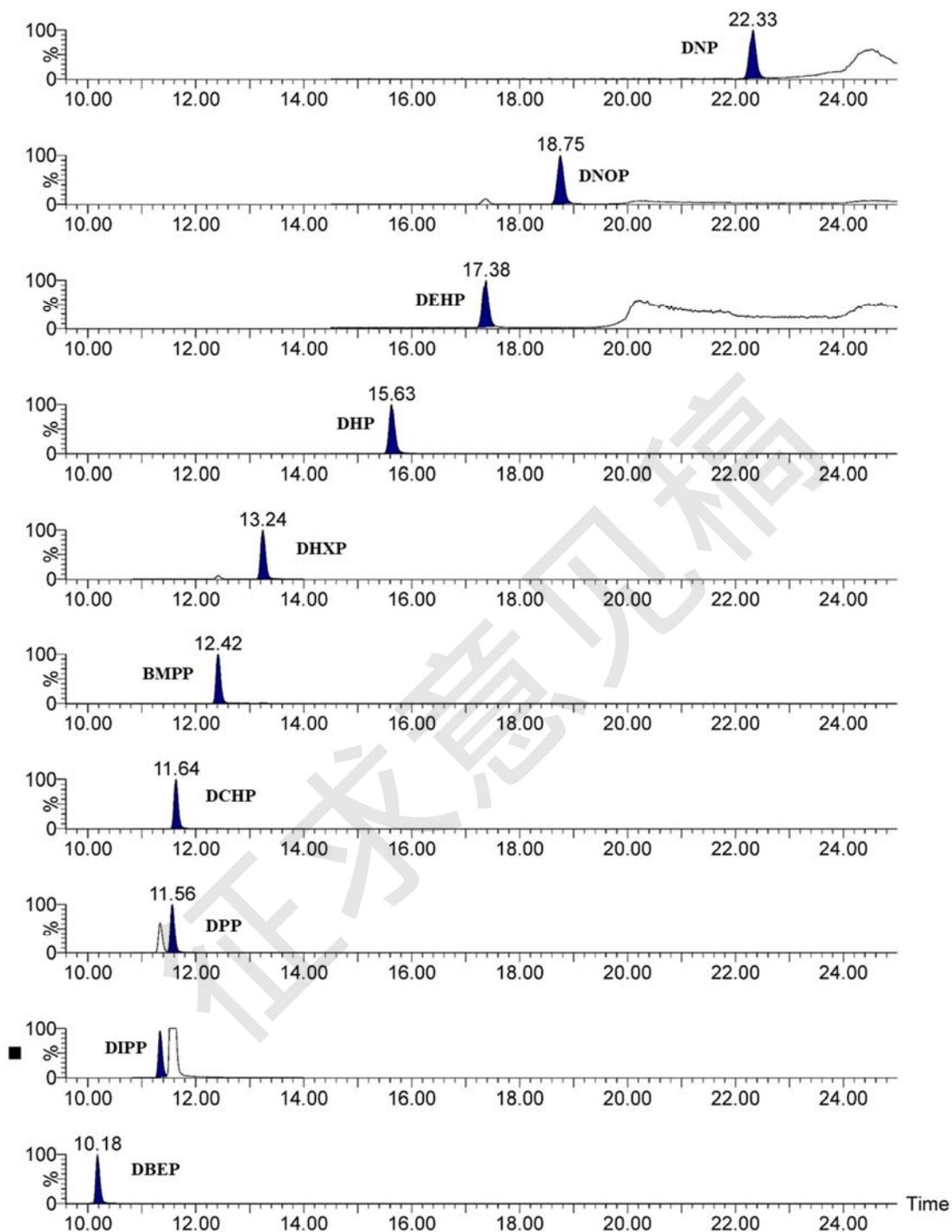
图B.1 标准溶液 (10 ng/mL) 定量特征离子质量色谱图



图B.1 标准溶液 (10 ng/mL) 定量特征离子质量色谱图 (续)



图B.2 标准溶液 (10 ng/mL) 定性特征离子质量色谱图



图B.2 标准溶液 (10 ng/mL) 定性特征离子质量色谱图 (续)