|  |  |
| --- | --- |
| ICS |  |
| CCS | 点击此处添加CCS号 |

|  |
| --- |
| 43/T |

湖南省地方标准

DB 43/T XXXX—2025

渔业水体中草铵膦和草甘膦及其代谢物的测定 液相色谱-串联质谱法

**Determination of** **glufosinate, glyphosate and their metabolites in fishery waters—Liquid chromatography-tandem mass spectrometry**

2025 - XX - XX发布

2025 - XX - XX实施

湖南省市场监督管理局  发布

目次

[前言 II](#_Toc187764103)

[1 范围 1](#_Toc187764104)

[2 规范性引用文件 1](#_Toc187764105)

[3 术语和定义 1](#_Toc187764106)

[4 方法原理 1](#_Toc187764107)

[5 试剂与材料 1](#_Toc187764108)

[6 仪器与设备 2](#_Toc187764109)

[7 样品 2](#_Toc187764110)

[8 测定步骤 2](#_Toc187764111)

[9 结果计算和表述 4](#_Toc187764112)

[10 检测方法的灵敏度、准确度和精密度 5](#_Toc187764113)

[附录A（资料性） 草铵膦和草甘膦及其代谢物的中英文通用名称、化学分子式和CAS号 6](#_Toc187764114)

[附录B（资料性） 标准溶液特征离子质量色谱图 7](#_Toc187764115)

1. 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。

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专利的责任。

本文件由湖南省农业农村厅提出。

本文件由湖南省农业标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：湖南省水产科学研究所、农业农村部渔业产品质量检验测试中心（长沙）、澧县农产品质量安全检测中心。

本文件主要起草人：万译文，杨霄、李小玲、索纹纹、曾春芳、崔先锋、雷琴、刘伶俐、陈湘艺、谢玉昆、何咏、尹升福、黄华伟、洪波。

渔业水体中草铵膦和草甘膦及其代谢物的测定 液相色谱-串联质谱法

* 1. 范围

本文件描述了渔业水体中草铵膦和草甘膦及其代谢物的液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于渔业水体中草铵膦、草甘膦、3-甲基磷酸亚基丙酸、氨甲基膦酸、N-乙酰氨甲基膦酸的测定。

* 1. 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

SC/T 9102.3 渔业生态环境监测规范 第3部分：淡水

* 1. 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

* 1. 方法原理

水试样中的草铵膦和草甘膦及其代谢物经通过式反相混合型亲水亲脂固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱仪测定，外标法定量。

* 1. 试剂与材料
     1. 试剂

水：GB/T 6682规定的一级水。

碳酸氢铵（NH4HCO3）：分析纯。

氨水（NH3 ▪ H2O）：分析纯，浓度为25%～28%。

* + 1. 溶液配制

200 mmol/L 碳酸氢铵-0.05%氨水水溶液：称取15.8 g碳酸氢铵，用水溶解，加入 0.5 mL 氨水，用水稀释至1000 mL，混匀。

* + 1. 标准品

草铵膦和草甘膦及其代谢物：草铵膦、草甘膦、3-甲基磷酸亚基丙酸、氨甲基膦酸、N-乙酰氨甲基膦酸，纯度均大于等于95.0%，具体内容见附录A。

* + 1. 标准溶液配制

混合标准储备液（1000 μg/mL）：取草铵膦、草甘膦及其代谢物标准品标准品各约50 mg，精密称定，用水溶解并定容于50 mL聚丙烯容量瓶，配制成浓度为1000 μg/mL的混合标准储备液。4 ℃以下避光保存，有效期6个月。

混合标准中间液（10.0 μg/mL）：准确移取1 mL混合标准储备液，于100 mL聚丙烯容量瓶中，用水稀释并定容，配制成浓度为10.0 μg/mL的混合标准中间液。4 ℃以下避光保存，有效期2个月。

混合标准工作液（1.0 μg/mL、0.1 μg/mL）：准确移取5 mL、0.5 mL混合标准中间液，于各自的50 mL聚丙烯容量瓶中，用水稀释并定容，分别配制成浓度为1.0 μg/mL和0.1 μg/mL的混合标准工作液。4 ℃以下避光保存，有效期1个月。

* + 1. 材料

通过式反相混合型亲水亲脂固相萃取柱：60 mg/3 mL，或相当者。

聚醚砜滤膜：0.22 μm。

容量瓶：100 mL，聚丙烯材质。

样品瓶：500 mL，聚丙烯材质。

离心管：10 mL，聚丙烯材质。

进样瓶：2 mL，聚丙烯材质。

* 1. 仪器与设备

液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源。

分析天平：感量0.01g和0.00001 g。

高速离心机：转速不低于10000 r/min。

固相萃取装置。

* 1. 样品
     1. 样品采集

水样按照SC/T 9102.3规定的方法进行采集。

* + 1. 试样制备

水样采样量应不少于500 mL，置于样品瓶中，0 ℃～4 ℃避光保存，一周内完成分析。

* + 1. 空白试样制备

选取不含草铵膦和草甘膦及其代谢物的同类样品，按照7.2进行制备。

* 1. 测定步骤
     1. 试样前处理

移取8 mL试样（精确至0.1 mL）于10 mL离心管中，10000 r/min离心5 min，取1 mL上清液润洗固相萃取柱，弃去流出液，再取2 mL上清液过柱，控制流速不超过1 mL/min，收集流出液，过0.22 μm聚醚砜滤膜，滤液装入聚丙烯进样瓶，供液相色谱-串联质谱仪测定。

* + 1. 标准曲线的制备

精密量取混合标准工作液适量，用水配制成质量浓度为2.0 μg/L、4.0 μg/L、10.0 μg/L、50.0 μg/L、100.0 μg/L和200.0 μg/L 的系列混合标准工作液，供液相色谱-串联质谱仪测定。以待测物特征离子质量色谱峰峰面积为纵坐标，对应的待测物标准溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线，计算回归方程和相关系数。

* + 1. 测定
       1. 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

1. 色谱柱：填料为季铵化聚乙烯醇的阴离子分析柱，柱长150 mm，内径4.0 mm，粒径5 μm，或性能相当者；
2. 流动相：A为水，B为200 mmol/L碳酸氢铵-0.05%氨水水溶液，梯度洗脱条件见表1；
3. 进样量：10 μL；
4. 流速：0.6 mL/min；
5. 柱温：40 ℃。
6. 流动相梯度洗脱条件

| 时间  min | A  % | B  % |
| --- | --- | --- |
| 0.0 | 90 | 10 |
| 0.5 | 90 | 10 |
| 1.0 | 60 | 40 |
| 4.0 | 20 | 80 |
| 5.0 | 17.5 | 82.5 |
| 6.0 | 5 | 95 |
| 12.0 | 5 | 95 |
| 12.1 | 90 | 10 |
| 15.0 | 90 | 10 |

* + - 1. 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

1. 离子源：电喷雾离子源；
2. 扫描方式：负离子扫描；
3. 检测方式：多反应监测（MRM）；
4. 喷雾电压：-4.5 kV；
5. 离子源温度：550 ℃；
6. 气帘气压力：0.24 MPa；
7. 碰撞气压力：0.06 MPa；
8. 喷雾气压力：0.38 MPa；
9. 辅助加热气压力：0.38 MPa；
10. 多反应监测母离子、子离子、去簇电压和碰撞能量见表2。
11. 多反应监测母离子、子离子、去簇电压和碰撞能量

| 化合物名称 | 母离子  m/z | 子离子  m/z | 去簇电压  V | 碰撞能量  eV |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 草铵膦 | 180.0 | 63.0\* | -60 | -68 |
| 85.0 | -27 |
| 草甘膦 | 168.0 | 63.0\* | -40 | -37 |
| 79.0 | -60 |
| 3-甲基磷酸亚基丙酸 | 151.0 | 63.0\* | -50 | -50 |
| 133.0 | -19 |
| 氨甲基膦酸 | 110.0 | 63.0\* | -60 | -26 |
| 79.0 | -34 |
| N-乙酰氨甲基膦酸 | 152.0 | 63.0\* | -50 | -42 |
| 110.0 | -20 |
| 注：带\*的子离子为定量离子。 | | | | |

* + - 1. 定性测定

在相同测试条件下，试样溶液中待测物的保留时间与标准溶液中待测物的保留时间一致，偏差在±2.5%以内，且试样溶液中待测物定性离子的相对丰度与浓度相当的标准溶液对应的定性离子的相对丰度一致。其允许偏差应符合表3的要求。

1. 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 | ＞50 | ＞20～50 | ＞10～20 | ≤10 |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 允许偏差 | ± 20 | ± 25 | ± 30 | ± 50 |

* + - 1. 定量测定

按8.3.1和8.3.2设定仪器条件，取标准工作溶液、试样溶液、空白试样溶液等体积进样测定，外标法定量。标准工作溶液和试样溶液中待测物的响应值均应在仪器检测线性范围内。草铵膦和草甘膦及其代谢物标准溶液特征离子质量色谱图参见附录B。

* + 1. 空白实验

按照8.1～8.3相同的测定步骤进行空白试样（见7.3）的测定。

* 1. 结果计算和表述

水样中待测物含量按式（1）计算。计算结果应扣除空白值，保留3位有效数字。

()

式中：

*X*1 ——试样中待测物的含量，单位为微克每升（μg/L）；

*C*i ——从标准工作曲线得到的待测物溶液浓度，单位为微克每升（μg/L）

* 1. 检测方法的灵敏度、准确度和精密度
     1. 灵敏度

本方法检出限均为1.00 μg/L，定量限均为2.00 μg/L。

* + 1. 准确度

本方法在2 μg/L～20 μg/L添加浓度水平上的回收率为70%～120%。

* + 1. 精密度

本方法的批内相对标准偏差小于等于15%，批间相对标准偏差小于等于15%。

2. （资料性）  
   草铵膦和草甘膦及其代谢物的中英文通用名称、化学分子式和CAS号

草铵膦和草甘膦及其代谢物中英文通用名称、化学分子式和CAS号见表A.1。

* 1. 草铵膦和草甘膦及其代谢物中英文通用名称、化学分子式和CAS号

| 中文通用名称 | 英文通用名称 | 化学分子式 | CAS号 |
| --- | --- | --- | --- |
| 草铵膦 | Glufosinate | C5H15N2O4P | 77182-82-2 |
| 草甘膦 | Glyphosate | C3H8NO5P | 1071-83-6 |
| 3-甲基磷酸亚基丙酸 | 3-Methylphosphinicopropionic acid | C4H9O4P | 15090-23-0 |
| 氨甲基膦酸 | Aminomethyl phosphonicacid | CH6NO3P | 1066-51-9 |
| N-乙酰氨甲基膦酸 | N-acetyl aminomethyl phosphonicacid | C3H8NO4P | 57637-97-5 |

1. （资料性）  
   标准溶液特征离子质量色谱图

标准溶液特征离子质量色谱图见图B.1。

色谱图-地标-1

a）草铵膦定量离子色谱图 b）草甘膦定量离子色谱图 c）3-甲基磷酸亚基丙酸定量离子色谱图

色谱图-地标-2

d）氨甲基膦酸定量离子色谱图 e）N-乙酰氨甲基膦酸定量离子色谱图

图B.1草铵膦和草甘膦及其代谢物标准溶液特征离子质量色谱图（20.0 μg/L ）

