

团体标准
《水产品中 13 种邻苯二甲酸酯单酯的液相
色谱-质谱/质谱检测方法》
编制说明

2024 年 3 月
标准编制小组

《水产品中 13 种邻苯二甲酸酯单酯的液相色谱-质谱/质谱 检测方法》编制说明

一、制定标准的必要性

邻苯二甲酸酯主要是人工合成的增塑剂，由其构成的塑料产品被广泛用于畜禽、水产养殖行业，据报道近年来使用量呈现逐年上升趋势，在水产养殖环境中被频繁检出。邻苯二甲酸酯性质差异较大，可对环境造成直接污染；此外，邻苯二甲酸酯还可通过食物链蓄积作用进入人体，对人体器官产生蓄积毒性，危害人体健康，并且极易发生转化降解产生初级代谢产物由此造成的二次污染也不容忽视。因此对养殖生物中邻苯二甲酸酯单酯进行控制非常重要。

近年来，增塑剂滥用造成的环境残留与生态效应引起了国家政府机构和学者的广泛关注，尤其是增塑剂中邻苯二甲酸酯与其代谢物长期存在对环境生态系统和人体健康都构成极大威胁。控制养殖生物中邻苯二甲酸酯单酯含量，首先要有科学有效的检测方法。针对养殖生物体中邻苯二甲酸酯单酯的国家标准及行业标准尚未出台。为规范统一检测方法，使检测数据更具有比较和分析意义，建立一套科学有效的检测养殖生物中邻苯二甲酸酯单酯含量的标准方法显得尤为迫切。通过本标准方法的建立，可以极大的压缩检测成本，缩短检测时间，也更便于相关部门对所辖区域内养殖生物体内邻苯二甲酸酯单酯含量情况有客观准确了解，并在此基础上，采取有效措施，合理监管，确保环境安全，生态健康。

二、标准编制原则及依据

1、按照 GB/T 20001.5 - 2017《标准编写规范第5部分：规范标准》要求进行编写。

2、参照相关法律、法规和规定，在编制过程中着重考虑了科学性、适用性和可操作性。

三、项目背景及工作情况

（一）任务来源

根据《中国国际科技促进会标准化工作委员会团体标准管理办法》的有关规定，经中国国际科技促进会标准化工作委员会及相关专家技术审核，批准《水产

品中 13 种邻苯二甲酸酯单酯的液相色谱-质谱/质谱检测方法》团体标准制定计划，计划编号为：CI2023430。本标准由宁波大学提出，中国国际科技促进会归口。

（二）标准起草单位

本标准的主要起草单位是宁波大学、浙江万里学院、宁波市农业科学院、浙江省农业科学院、南京农业大学等单位参与起草，负责标准中重要技术点的研究和建议，并参与标准内容的讨论。

（三）标准研制过程及相关工作计划

1、前期准备工作

项目立项前，项目承担单位宁波大学于 2022 年 6 月中旬成立标准编制小组。编制组成员查阅、研读相关国内外文献，广泛搜集用的相关的材料。同时，多次开展与专业技术人员进行调研、交流，广泛征求标准制定方面的意见和建议。

2、标准起草过程

2022 年 8 月 17 日，由宁波大学在浙江省宁波市宁波大学宁大宾馆多功能会议厅线下组织了第一次起草会议，谈论了标准的组织构架，确定了分工和编制工作的各项任务完成时间节点。

2023 年 10 月 18 日组织了第二次起草会议，确定下了标准内容的草案。

团体标准立项通知公示后，标准编制小组首先组织了标注制定工作会议，各编写人员根据工作计划分工和编写要求开展了相关工作。在标准起草期间，编制小组主编单位及参编单位组织了数次内部研讨会和专家咨询会，经过多次修改，于 2024 年 3 月完成了标准初稿及编制说明的撰写工作。

3、征求意见情况

标准编制小组先后通过现场会议、电话、微信等多种形式征集行业专家相关意见和建议。针对征集的意见，标准编制小组召开了研讨会，将收集到的意见进行汇总处理分析，在充分吸纳合理意见的基础上，先后修改和完成标准内容，于 2024 年 3 月根据在各单位反馈意见基础上，形成了标准征求意见稿并由中国国际科技促进会提交全国标准信息平台公示。

（四）主要试验（或验证）情况分析

1、方法原理

水产品中的邻苯二甲酸单酯经固相萃取柱富集、净化后，采用高效液相色谱

-串联质谱法测定。根据化合物的保留时间和特征离子峰定性，内标法定量。

2、适用范围

本文件规定了测定水产品中邻苯二甲酸单酯的高效液相色谱-串联质谱法。

本文件适用于水产品中邻苯二甲酸单甲酯（MMP）、邻苯二甲酸单乙酯（MEP）、邻苯二甲酸单异丁酯（MiBP）、邻苯二甲酸单正丁酯（MnBP）、邻苯二甲酸单环己酯（MCHP）、邻苯二甲酸单苄基酯（MBZP）、邻苯二甲酸单辛酯（MOP）、邻苯二甲酸单异壬酯（MiNP）、邻苯二甲酸单（2-乙基己基）酯、邻苯二甲酸单（3-羧基丙基）酯（MCPP）、邻苯二甲酸单（2-乙基-5-酮基己基）酯（MEOHP）、邻苯二甲酸单（2-乙基-5-羟基己基）酯（MEHHP）、邻苯二甲酸单（2-乙基-5-羧基戊基）酯（MECCP）等 13 种邻苯二甲酸单酯的测定。

3、样品前处理方法

精确称量 2.50 g（湿重，ww）水产品样品，并转移至 50 mL PTFE 离心管中。将 2 mL 1 M 乙酸铵缓冲液（AA，pH 6.5）、80 μ L β -葡萄糖醛酸酶和内标（200.0 μ g/L）加入管中，将混合物涡旋 3 min，在 37 °C 和 300 r/min 的黑暗条件下孵育 90 min。此过程结束后立即加入 10 mL ACN：甲醇（MeOH）（5:5，v/v），然后超声萃取 20 min，并在 9.0×10^3 g 离心力的条件下离心 4 min，收集上清液，重复上述步骤两次，合并上清液。将其与 5 mL ACN 饱和正己烷混合，并将样品管快速摇晃，涡旋 3 min 以除去上清液中的脂肪并再次以相同离心力离心 6 min。然后吸取 20 mL 下层溶液至试管中，并于 45 °C 下，氮吹至近干，然后用 5 mL 水：（ACN:MeOH）（95:5，v/v）复溶。Poly Sery MAX SPE 小柱（500 mg，6 mL）依次用 10 mL MeOH 和 5 mL 超纯水活化，然后将 5 mL 复溶液（pH，10.5）上样，通过加入氢氧化钠（NaOH）（10 M）来调节复溶液的 pH，上样完成后，再用 5 mL 超纯水淋洗并用真空泵泵吸以除去水分。用 10 mL MeOH：乙酸乙酯（EA）（2% FA，5:5，v/v）洗脱小柱，并于 45 °C 下，使用氮气浓缩至近干。最后用 1.0 mL MeOH 复溶，并用 0.22 μ m PTFE 膜过滤，转移至棕色进样小瓶中，储存在 -20 °C，待 UHPLC-MS/MS 分析。

在水产品前处理优化实验中，主要考察水产品样品中邻苯二甲酸单酯去葡萄糖醛酸化孵育条件、不同提取溶剂、不同提取用量、不同提取时间、不同的固相萃取柱、固相萃取柱的活化、洗脱试剂以及定容试剂对回收率的影响。

PAEs 在生物体中可迅速降解为相应的单酯，然后通过 P450 酶转化为亲水性葡萄糖醛酸缀合物，这给 MPAEs 的直接提取带来很大困难。通过加入 β -葡萄糖醛酸酶进行去葡萄糖醛酸化将 MPAEs 从亲水性葡萄糖醛酸缀合物中分离出来，可实现对该问题的有效解决。实验过程中观察到去葡萄糖醛酸化缓冲溶液的过程的时间和 pH 对酶活性有一定影响。为了最大化去葡萄糖醛酸化效率，进一步对时间和 pH 等相关参数进行优化。当乙酸铵缓冲液的 pH 为 6.5 且酶解时间为 90 min 时，所有目标物的回收率范围在 85%~104%（如图 2.1 和 2.2 所示）。后续的提取实验基于这些优化参数进行。

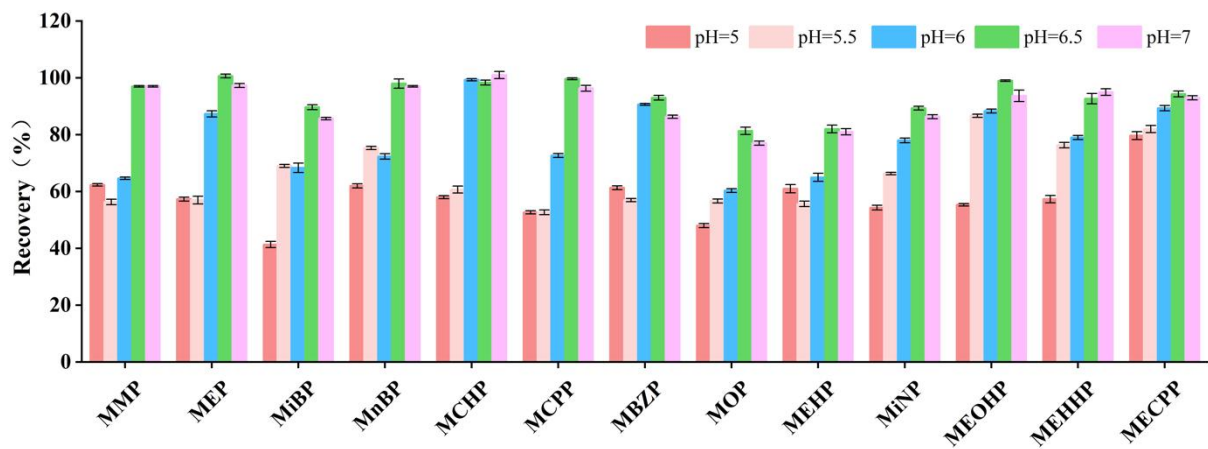


图 2.1 乙酸铵缓冲液的 pH 对去葡萄糖醛酸化效率的影响

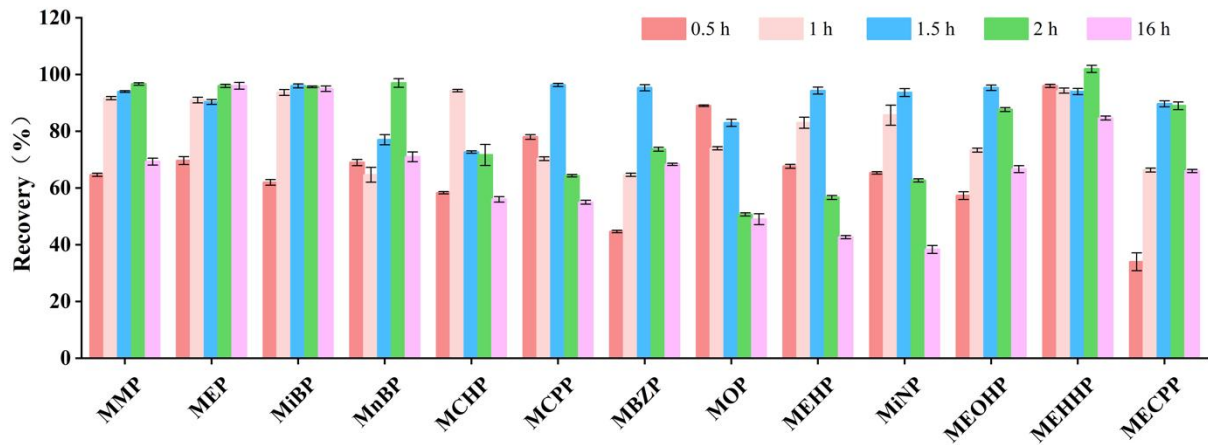


图 2.2 去葡萄糖醛酸化时间对提取效率的影响

目标物提取效率与目标物极性和提取溶剂密切相关。MPAEs 的结构及其较高的 $\lg K_{ow}$ 性质决定了其易溶于极性有机溶剂。根据相似互溶性原理，采用极性较高的 ACN 和 MeOH 作为萃取溶剂。通过比较提取后化合物的响应与外部标准校准曲线中化合物的响应，评估表观回收率（ R_{app} ）以选择最佳提取溶剂。结

果显示大多数目标分析物可以用 ACN 提取，Rapp 范围为 81%~101%，但 MMP 和 MEP 的提取效率明显较差，Rapp 分别仅为 20%和 36%（图 2.3）。而使用极性较小提取溶剂，如 EA 和二氯甲烷（DCM）对目标物提取效果明显较差，同时这也说明 MPAEs 极性相对偏高。为提高 MMP 和 MEP 的提取效率，本标准用 ACN 和 MeOH 混合萃取以期取得较好的效果。因此，通过进一步优化两种溶剂的比例（3:7，4:6，5:5，6:4，7:3，v/v），以找到最佳提取溶剂比例。如图 2.4 所示，乙腈：甲醇（5:5，v/v）显著提高了萃取效率。MMP 和 MEP 的 Rapp 分别达到 95%和 90%。因此，ACN:MeOH（5:5，v/v）被选为最优提取溶剂。同时 ACN 不仅可以去除生物样品中的蛋白质，还可在质谱检测时减少部分电离抑制。

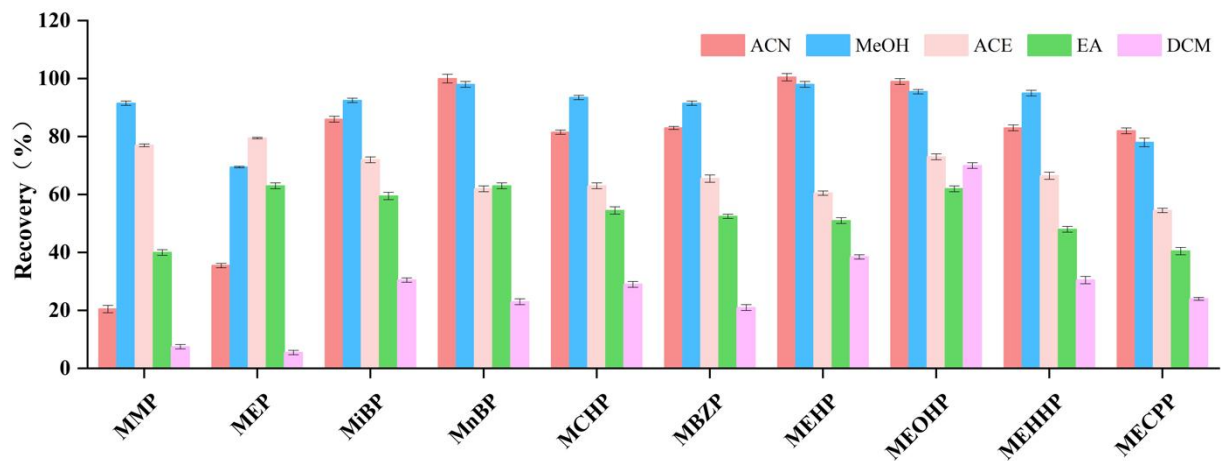


图 2.3 提取溶液种类的优化

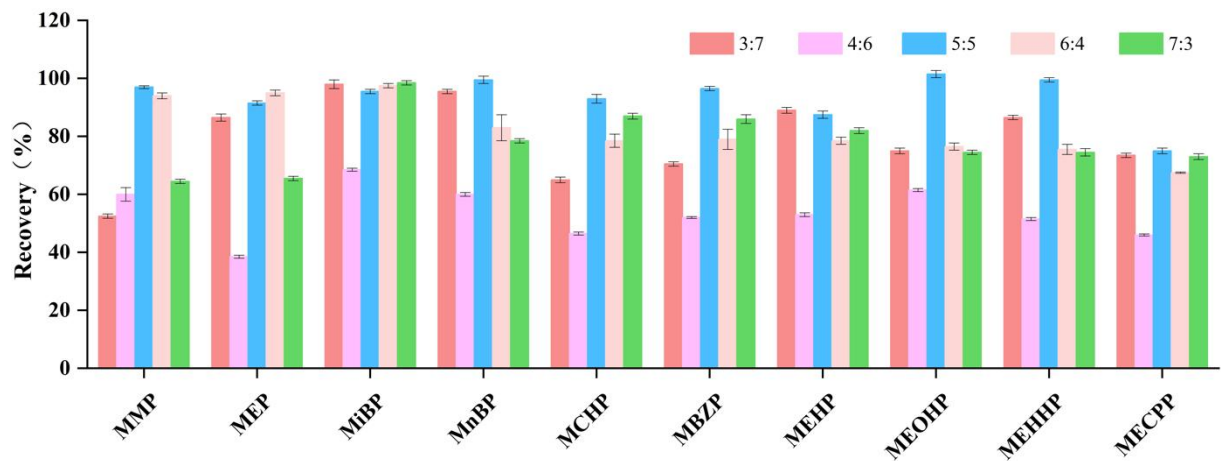


图 2.4 ACN 和 MeOH 混合提取溶液的比例优化

此外，为进一步提高该方法的提取效率和重现性，本实验还对混合提取液体积和超声提取时间进行了优化。结果显示，当混合提取溶剂的体积达到 10 mL 时，整体目标物的提取效率相对较高，Rapp 为 72.6%~99.6%；且相对大体积溶

剂，10 mL 时，既满足了提取效率要求，又避免了试剂浪费（如图 2.5 所示）。同理，以 10、15、20、30 和 60 min 梯度对超声提取时间进行优化（如图 2.6 所示）。结果表明，对于大多数化合物，萃取效率在 10~20 min 内显著提高，萃取平衡在 20 min 内达到。重复上述步骤两次，Rapp 达到 88.3%~101%。将平衡时间进一步延长至 60 min 未能提高萃取效率，甚至一些化合物 Rapp 略有下降，这可能导致溶剂损失增加。考虑到更多溶剂损失和耗时的影响，分别选择 10 mL 和 20 min 作为最佳生物样品的提取溶剂体积和提取时间。

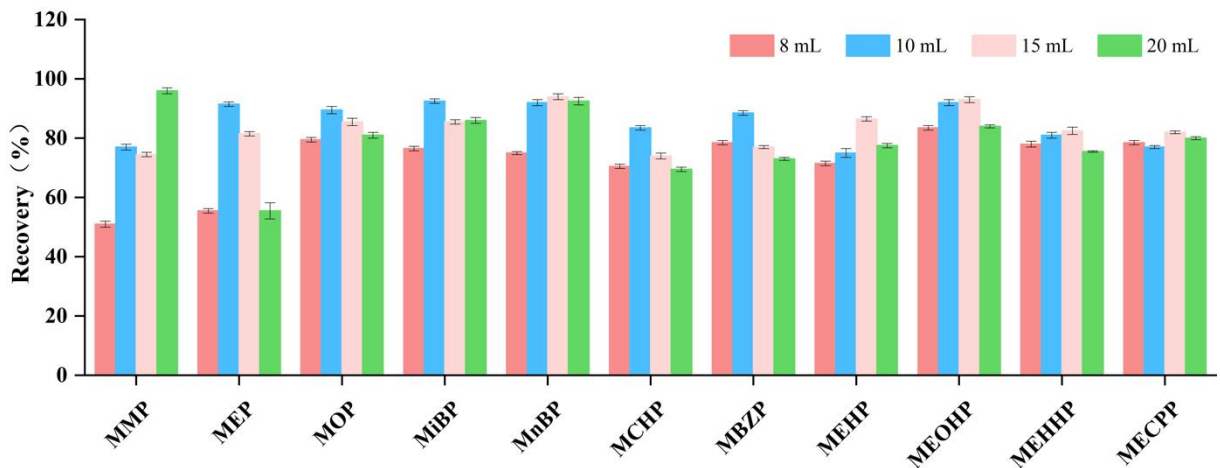


图 2.5 提取溶液体积对提取效率的影响

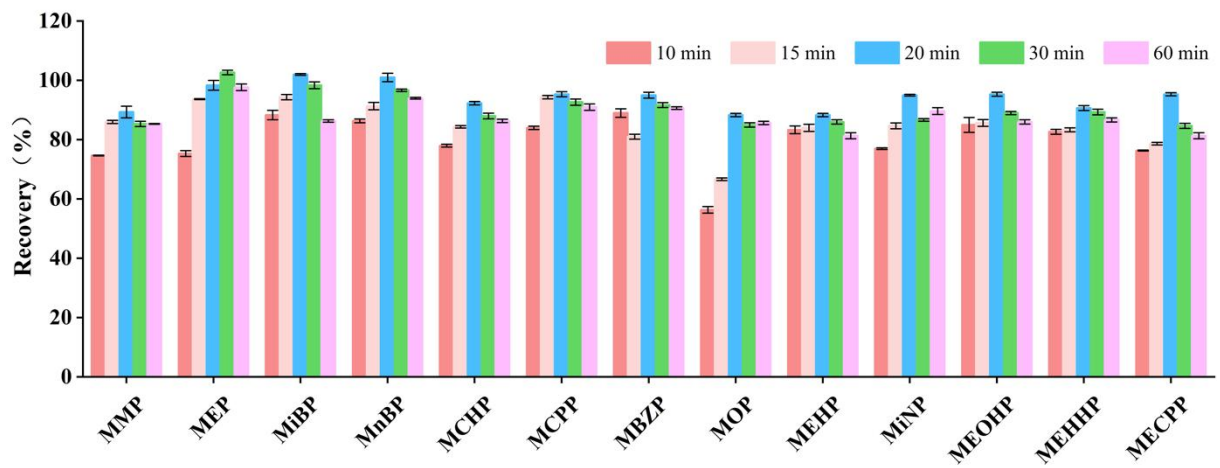


图 2.6 提取时间对提取效率的影响

由于基质的异质性，生物样品的分析极为复杂，包括色素、维生素、有机酸、脂肪和蛋白质等多种干扰成分。海水样品中含有盐分、重金属和其他可能干扰分析实验灵敏度和准确性的物质。实验过程中，生物样品前处理过程中观察到浓缩提取物呈淡黄色，这可能是由共存的色素、脂肪和蛋白质导致的。因此有必要对生物和海水样品进行净化，以确保有效消除干扰物质，并确保尽可能保留待测试

的目标成分。SPE 是一种简单、快速、高效的纯化方法，适用于多种样品的预处理。由于其具有回收率高、重现性好、操作灵活、富集系数高、提取干净、选择性去除干扰和基质成分等优点，被广泛应用于不同基质中痕量污染物的提取净化。MAX SPE 柱是一种混合强阴离子交换柱，有利于弱酸性化合物的富集和样品中干扰杂质的去除。相比之下，HLB SPE 柱是一种通用的吸附柱，可广泛去除杂质，已用于复杂样品中早期的杂质去除。本实验针对生物和海水样品测试不同的 SPE 柱，结果表明，Poly Sery MAX SPE 柱和 Oasis® PRiME HLB SPE 柱可分别适用于生物样品和海水样品中 MPAEs 目标化合物的富集和纯化。Poly Sery MAX SPE 柱需要将目标化合物溶解在强极性溶剂中，并将该复溶液的 pH 调节至高于目标物的 pKa，以使目标化合物完全电离，然后将其加载至 Poly-Sery MAX SPE 柱。本实验通过加标实验优化了生物样品复溶液的 pH。结果表明，复溶液 pH 为 9 时，目标物可从随 Poly Sery MAX SPE 柱流出液中流出，但当复溶液的 pH 值达到 10.5 时（图 2.7），流出液中未检测到目标物，这意味着此时所有目标物可能已完全电离，并且目标物与离子交换吸附剂化学结合。

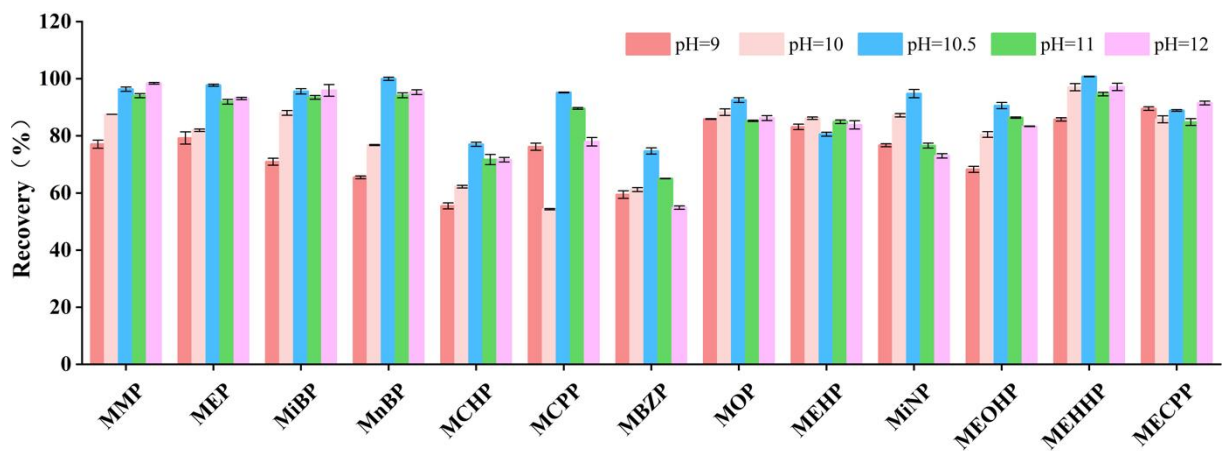


图 2.7 复溶液 pH 对提取效率的影响

为进一步提高 SPE 小柱的萃取性能，本研究对不同洗脱剂（如 2% FA ACN、2% FA MeOH 和 2% FA MeOH:EA (5:5, v/v)）的洗脱效果进行实验优化（图 2.8）。

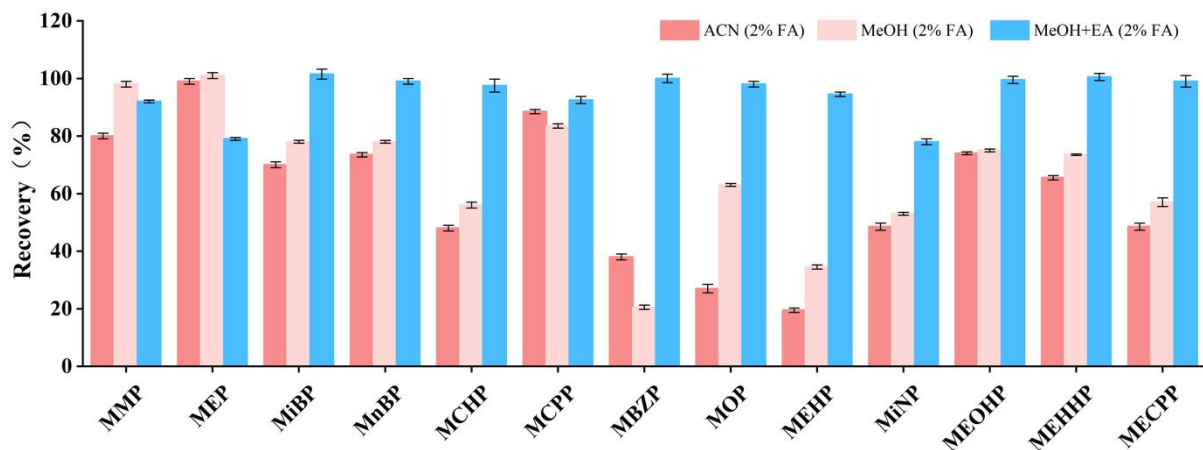


图 2.8 洗脱溶剂对提取效率的影响

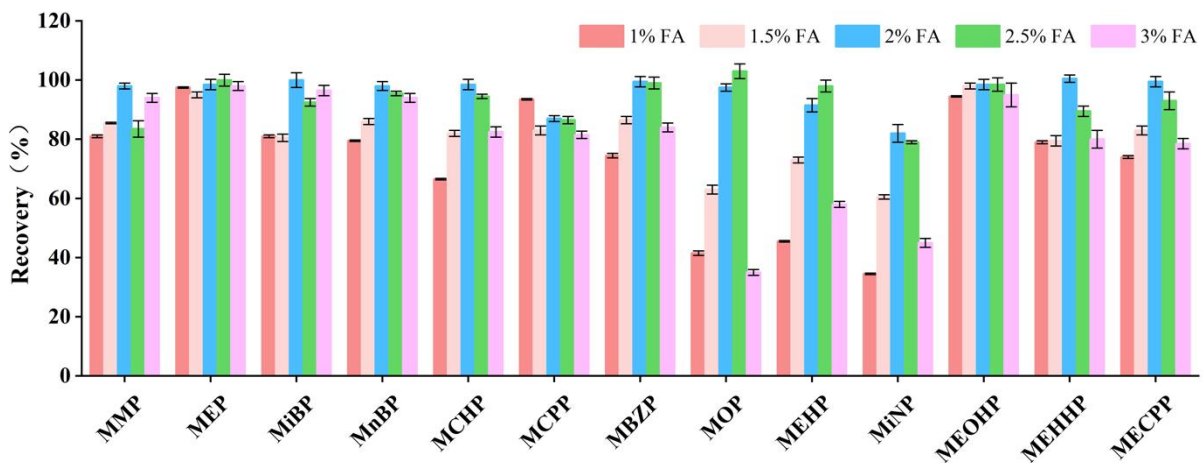


图 2.9 洗脱液的酸度对提取效率的影响

结果显示,当使用 5 mL 2% FA ACN 和 2% FA MeOH 作为洗脱剂时,MBZP、MEHP、MOP 和 MiNP 的效果不理想。这可能是由于 MPAEs 的极性差异或洗脱液的量不足引起的。因此,进一步采用 2% FA MeOH:EA (5:5, v/v) 作为洗脱剂,并对洗脱剂的体积进行了优化。当使用 10 mL 2% FA MeOH:EA (5:5, v/v) 时,13 MPAEs 和 IS 的回收率良好(图 2.9)。因此,它被选为 Poly-Sery MAX SPE 小柱的洗脱剂。当 MAX SPE 小柱洗脱体积分别达 10 mL 时,目标化合物的 Rapp 最高。因此选择 10 mL 作为最终的洗脱体积。

4、色谱条件

流动相: 流动相 A 为 0.1%甲酸, 流动相 B 为 0.1%甲酸乙腈。

柱温: 40°C。

流速: 0.35 mL/min。

进样体积: 10 µL。

色谱柱：Waters ACQUITY UPLC®BEH Phenyl (2.1 id×100 mm, 1.7 μm)。

在优化色谱条件时，主要考察流动相配比、不同改性剂的含量、流动相梯度洗脱程序、流速以及不同色谱柱，获得最佳的色谱分离条件。

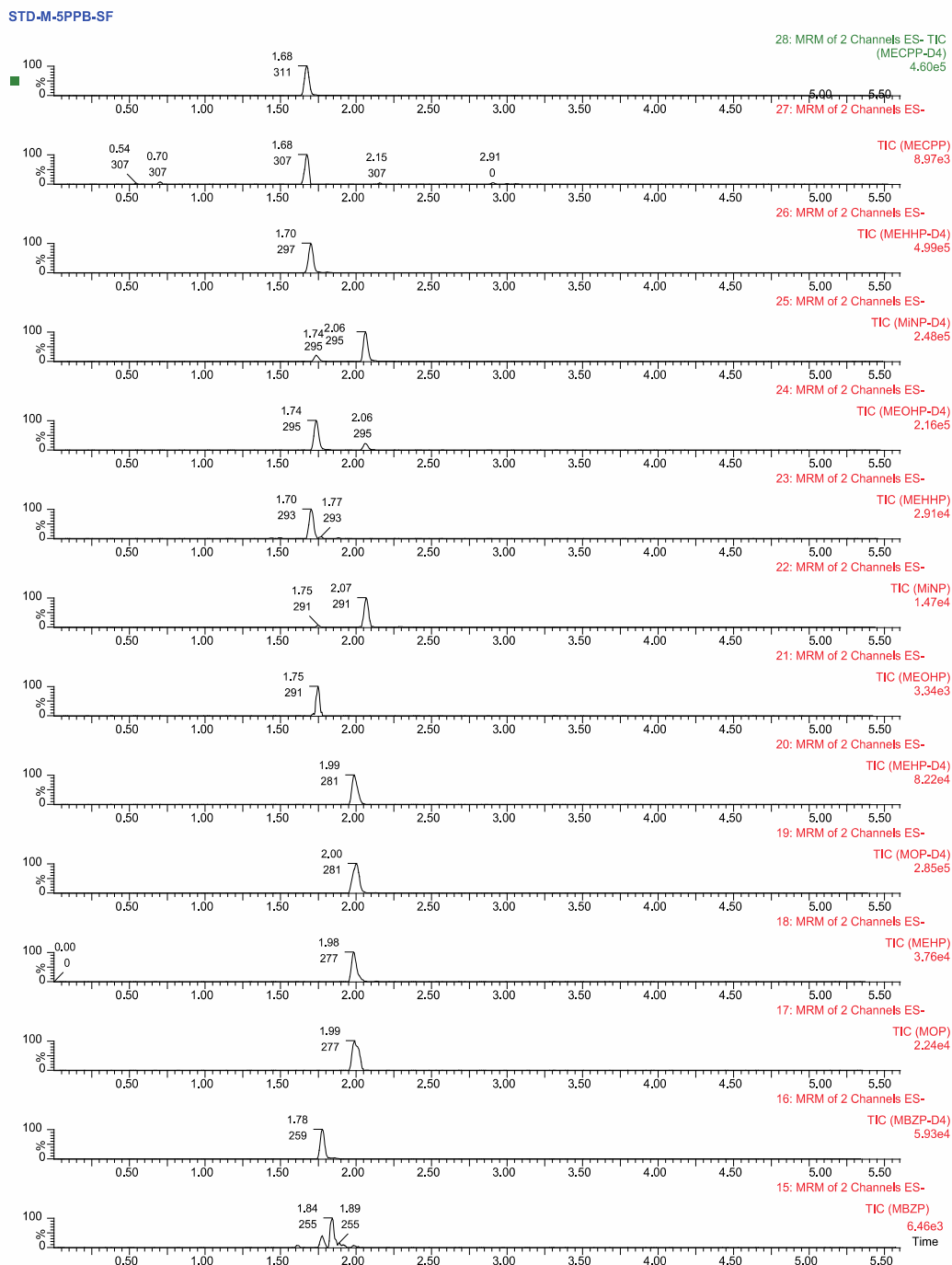
色谱分离过程中，流动相和流动相改性剂的选择对目标化合物的分离、保留时间和灵敏度至关重要。本标准考察了流动相的组成，以选择最佳条件。测试了不同的溶剂和添加剂，测试结果表明，H₂O+0.1% FA（流动相 A）和 ACN+0.1% FA（流动相 B）的组成是分析和分离 MPAEs 的理想组合。流动相筛选过程中，使用 ACN 和 MeOH 作为流动相时，灵敏度几乎没有明显差异。MeOH 与 ACN 相比可能会导致更高的系统压力^[133]，因此选择 ACN 作为流动相。测试初始流动相 A 和流动相 B 的不同比例（90:10、80:20、70:30 和 60:40，v/v），由于 13 种 MPAEs 结构和极性存在差异，利用梯度洗脱来实现最佳分离，并在梯度比例运行后，流动相 A 和流动相 B 在 90:10 时获得了较好的分离效率。然而，MMP、MEP 和 MCPP 的灵敏度较低，因此进一步对流动相改性剂的类型和含量进行优化以提高化合物的灵敏度。甲酸铵和甲酸作为首选改性剂，结果表明化合物在甲酸条件下有着较高的灵敏度，可能是 pH 可以改变化合物的电离效率，并且偏酸性的流动相更易提高 ESI 模式下目标化合物的响应。为确定目标物达到最大响应时甲酸的浓度，设计梯度实验（0.1%、0.15%和 0.2%，v/v）来验证。当甲酸浓度为 0.1%（v/v）时，所有化合物的灵敏度最高。液相色谱梯度洗脱程序见表 1。此外，实验过程中对梯度洗脱程序最终调节时间（至少 1.5 min）进行优化，可提高目标检测化合物保留时间的再现性。

表 1 液相色谱流动相线性梯度洗脱程序

时间 (min)	流速 (mL/min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	0.35	90	10
0.3	0.35	90	10
1	0.35	20	80
2	0.35	10	90
3.5	0.35	5	95
4	0.35	90	10
6	0.35	90	10

在色谱柱的选择方面，使用 XBridge C18 (2.1 id×150 mm, 3.5 μm) 和 UHPLC XB-phenyl (2.1 id×100 mm, 1.8 μm) 色谱柱，调节色谱条件，分离效果始终不

理想。选用 Waters ACQUITY UPLC® BEH Phenyl 色谱柱，调节色谱条件后，分离效果和峰形都很好。13 种邻苯二甲酸单酯及其内标标准工作溶液液相色谱-串联质谱色谱图见图 10。



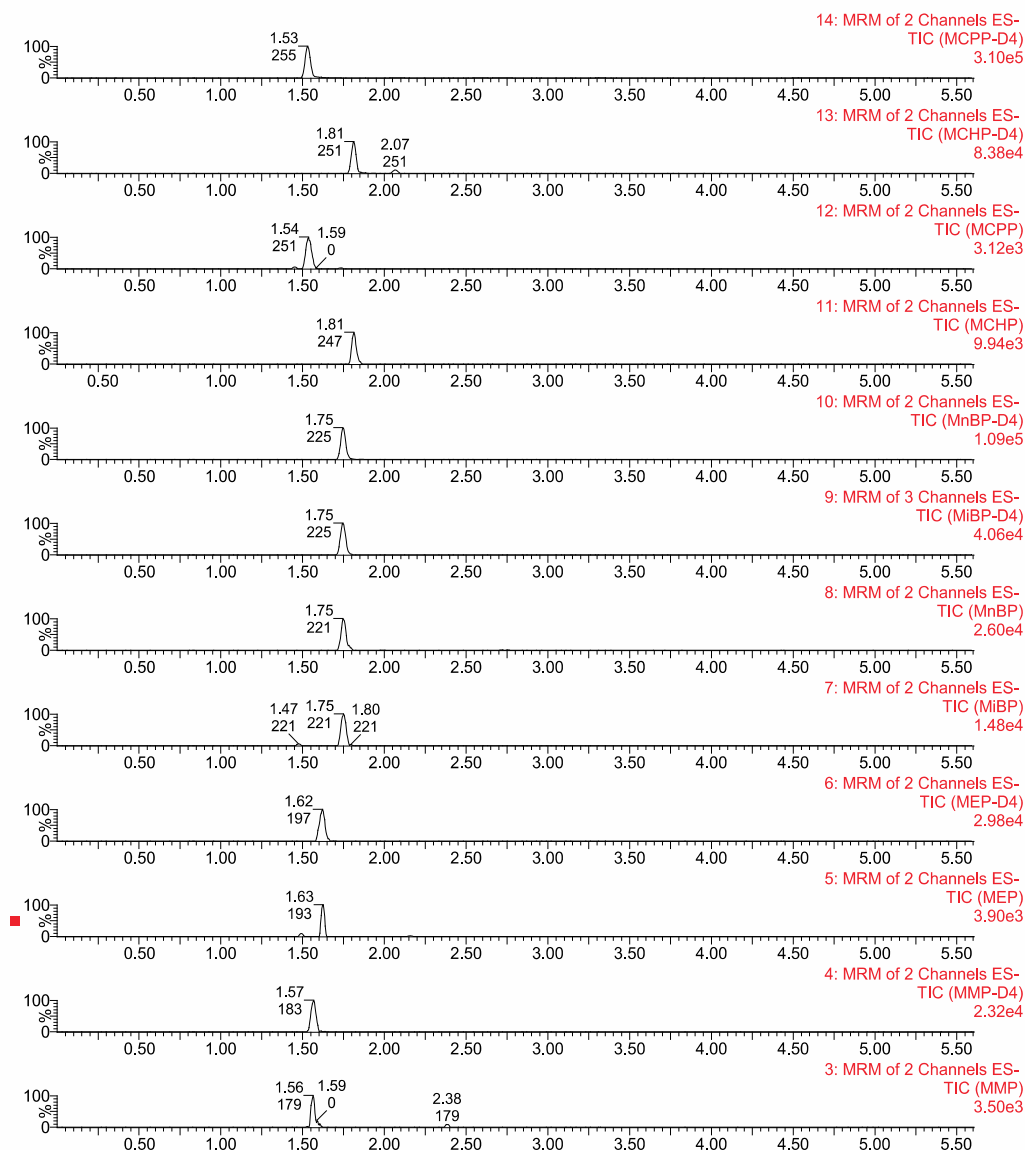


图 10 目标化合物标准工作溶液液相色谱-串联质谱色谱图

5、质谱条件

离子源：电喷雾离子源（ESI）。

扫描方式：负离子扫描。

离子喷雾电压：5500 V。

离子源温度：500℃。

多离子反应监测方式（MRM）。

在优化质谱条件时，首先选择合理的内标物质，在本文件中，氘代邻苯二甲酸单甲酯、邻苯二甲酸单乙酯、邻苯二甲酸单异丁酯、邻苯二甲酸单正丁酯、邻苯二甲酸单环己酯、邻苯二甲酸单苄基酯、邻苯二甲酸单辛酯、邻苯二甲酸单异

壬酯、邻苯二甲酸单（2-乙基己基）酯、邻苯二甲酸单（3-羧基丙基）酯、邻苯二甲酸单（2-乙基-5-酮基己基）酯、邻苯二甲酸单（2-乙基-5-羟基己基）酯、邻苯二甲酸单（2-乙基-5-羧基戊基）酯作为邻苯二甲酸单酯的内标物质。

此外，对目标化合物的母离子、子离子、碰撞能量等进行优化，确定最佳质谱条件。对 1.0 µg/mL 各邻苯二甲酸单酯及其内标物标准溶液以流动注射泵进样方式在正离子模式下进行母离子全扫描，确定每种化合物的准分子离子，然后分别以其准分子离子为母离子，对其子离子进行全扫描，在碎片离子中选择合适的定性离子和定量离子，各目标化合物最后采用多反应监测正离子模式，优化各种质谱参数，确定最佳监测条件。13 种邻苯二甲酸单酯及其内标物的多反应监测条件见表 3。

表 3 目标化合物的多反应监测条件

化合物	母离子 (m/z)	锥孔电压 (V)	子离子 (m/z)	碰撞电压(V)
MMP	179.1	10	77, 107*	27, 10
MMP-D4	183.1	42	81*, 111.1	16, 10
MEP	193.1	38	77.1*, 121.1	18, 14
MEP-D4	197.1	40	81.1*, 150.1	18, 12
MOP	277.1	2	77, 127.1*	18, 16
MOP-D4	281.1	46	81.1, 127.1*	20, 16
MiBP	221.1	40	77*, 134.1	20, 12
MiBP-D4	225.1	52	80.9*, 138.1	22, 18
MnBP	221.1	15	77*, 149.1	15, 10
MnBP-D4	225.1	46	71, 81*	12, 20
MiNP	291.2	48	77, 141.1*	20, 18
MiNP-D4	295.2	48	81.1, 141.1*	22, 16
MCPP	251.1	24	103*, 165	10, 14
MCPP-D4	255.1	14	102.9*, 168.9	8, 12
MCHP	247.1	44	77, 97*	18, 14
MCHP-D4	251.1	52	81, 97*	24, 18
MBZP	255.1	42	77*, 183.1	16, 12
MBZP-D4	259.1	46	77.1*, 107.1	20, 12
MEHP	277.1	38	127.1, 134.1*	18, 14
MEHP-D4	281.2	52	80.9, 138.1*	34, 20
MECPP	307.1	40	113.1, 159.1*	28, 12
MECPP-D4	311.1	30	113.1, 159.1	30, 12
MEHHP	293.1	15	121*, 145.1	18, 13
MEHHP-D4	297.2	4	125.1, 145.1*	18, 14
MEOHP	291.1	50	113.1, 143.1*	20, 14
MEOHP-D4	295.1	48	125.1, 143.1*	20, 14

注：带*的为定量离子

6、标准曲线范围

取一定量 13 种邻苯二甲酸单酯及其内标标准使用液于 2 mL 进样瓶中，制备至少 5 个点标准系列，邻苯二甲酸单酯在各点的质量浓度分别为 1.0 µg/L、5.0 µg/L、10.0 µg/L、50.0 µg/L、100.0 µg/L 和 200.0 µg/L（参考浓度），内标的质量浓度均为 80.0 µg/L。

由低浓度到高浓度依次对标准系列溶液进样，以标准系列溶液中目标组分的质量浓度为横坐标，其对应的峰面积（或峰高）与内标物峰面积（或峰面积）的比值乘以内标物浓度的乘积为纵坐标，绘制校准曲线。

7、结果计算与表示

（1）定性分析

按照表 3 中确定的母离子和子离子进行检测，在相同的实验条件下，样品中的邻苯二甲酸单酯保留时间与标准样品中邻苯二甲酸单酯的保留时间相对标准偏差小于 2.5%，且在样品中谱图中的定性离子的相对丰度（ K_{sam} ）与浓度相近的标准溶液谱图中对应的定性离子相对丰度（ K_{std} ）偏差不超过表 4 的范围，则可判定样品中存在邻苯二甲酸单酯。

$$K_{sam} = \frac{A_2}{A_1} \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

式中：

K_{sam} —样品中邻苯二甲酸单酯定性离子的相对丰度，%；

A_2 —样品中邻苯二甲酸单酯定性离子对的峰面积（或峰高）；

A_1 —样品中邻苯二甲酸单酯定量离子对的峰面积（或峰高）。

$$K_{std} = \frac{A_{std2}}{A_{std1}} \times 100\% \dots \dots \dots (2)$$

式中：

K_{std} —标准溶液中邻苯二甲酸单酯定性离子的相对丰度，%；

A_{std2} —标准溶液中邻苯二甲酸单酯定性离子对的峰面积（或峰高）；

A_{std1} —标准溶液中邻苯二甲酸单酯定量离子对的峰面积（或峰高）。

表 4 定性确认时相对离子丰度的最大允许偏差

K_{std}	$K_{std} > 50$	$20 < K_{std} \leq 50$	$10 < K_{std} \leq 20$	$K_{std} \leq 10$
-----------	----------------	------------------------	------------------------	-------------------

K_{sam} 相对于 K_{std} 的最大允许偏 差	±20%	±25%	±30%	±50%
--	------	------	------	------

(2) 定量分析

该方法中标准工作溶液和样液中邻苯二甲酸单酯的响应值均应在仪器的检测线性范围内。

按下列公式 (3) 计算出水产品中邻苯二甲酸单酯的含量：

$$X = \frac{C_i \times V}{V_0} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

X —样品中邻苯二甲酸单酯的含量 (μg/L)；

C_i —样品制备液中邻苯二甲酸单酯的含量 (μg/L)；

V —最终定容体积 (mL)；

V_0 —测定样品体积 (mL)。

(3) 结果表示

当测定结果小于 1.0 μg/L 时，保留至小数点后三位；当测定结果大于或等于 1.0 μg/L 时，保留三位有效数字。

8、精密度和准确度

(1) 精密度

使用邻苯二甲酸单酯对水产品样品进行统一加标，加标浓度分别为 0.04 μg/L、0.2 μg/L 和 0.4 μg/L，加标样进行 6 次重复测定，设置 3 个批次，实验结果见表 5。

表 5 方法的精密度和准确度

MPAEs	加标浓度 5 μg/kg		加标浓度 20 μg/kg		加标浓度 80 μg/kg	
	平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
MMP	98.9	7.5	101.2	3.5	92.9	5.3
MEP	95.8	10.4	98.6	1.4	91.8	5.7
MiBP	95.2	5.4	96.4	1.7	98.1	7.3
MnBP	97.1	3.3	96.0	2.6	91.0	7.8
MCHP	99.5	3.4	102.3	6.5	99.8	1.5
MCPP	99.8	5.9	95.0	9.7	97.8	7.2
MBZP	90.8	6.9	101.1	3.5	95.4	8.8
MOP	99.8	1.4	99.7	2.6	100.1	2.4
MEHP	99.3	3.1	98.9	6.6	94.8	5.2
MiNP	95.4	8.6	97.1	4.4	89.6	7.8
MEOHP	99.4	4.0	99.3	1.3	97.9	8.3

MEHHP	95.4	3.2	96.2	2.3	87.7	8.9
MECCP	97.7	7.8	99.8	2.1	95.2	6.2

本文件中各药物的批内变异系数 $\leq 15\%$ ，批间变异系数 $\leq 15\%$ 。

(2) 准确度

对水产养殖生物进行加标回收实验，加标浓度分别为 5 $\mu\text{g/kg}$ 、20 $\mu\text{g/kg}$ 和 80 $\mu\text{g/kg}$ ，实验结果见表 5。整体而言，本方法邻苯二甲酸单酯的回收率均能满足日常检测的需求。

9、灵敏度

将邻苯二甲酸单酯加入实际水产养殖生物样品中，经过前处理富集、净化后，经过 HPLC-MS/MS 检测，按信噪比为 $S/N=3$ 、 $S/N=10$ ，估算方法检出限和定量限，13 种邻苯二甲酸单酯见表 6。

表 6 方法的检出限和定量限

MAPEs	相关系数	基质效应	检出限 ($\mu\text{g/kg}$)	定量限 ($\mu\text{g/kg}$)
MMP	0.9979	0.99	0.88	2.93
MEP	0.9992	1.06	0.81	2.70
MOP	0.9997	0.93	0.23	0.78
MiBP	0.9990	1.03	0.12	0.41
MnBP	0.9994	0.99	0.31	1.04
MiNP	0.9998	1.07	0.21	0.69
M CPP	0.9995	1.02	0.53	1.77
MCHP	0.9995	1.00	0.18	0.62
MBZP	0.9970	0.93	0.51	1.70
MEHP	0.9996	0.99	0.17	0.58
MECCP	0.9987	1.04	0.07	0.24
MEHHP	0.9999	1.02	0.14	0.48
MEOHP	0.9999	1.04	0.08	0.27

综上，本文件中邻苯二甲酸单酯检出限为 0.07~0.88 $\mu\text{g/kg}$ （湿重，ww），定量限为 0.24~2.93 $\mu\text{g/kg}$ （ww）。

10、质量保证和质量控制

(1) 空白实验

每批样品（ ≤ 20 个/批）至少做一个空白实验，空白试样中目标化合物的浓度应低于方法检出限。

（2）校准

校准曲线的相关系数应 ≥ 0.990 ；每 20 个样品或每批次（少于 20 个样品/批）应分析测定 1 个曲线中间校准点，其测定结果与校准曲线相应点浓度的相对误差应在 $\pm 20\%$ 以内。

（3）精密度控制

每批样品应至少测定 10%的平行双样，样品数量少于 10 个时，应至少测定一个平行双样，平行双样测定结果的相对偏差应在 $\pm 20\%$ 以内。

（4）准确度控制

每批样品应至少测定 5%的基体加标样品，样品数量少于 20 个时，应至少测定一个基体加标样品，加标回收率应在 60%~130%之间。

11、废物处理

实验过程中产生的废液和废物应分类收集和保管，委托有资质的单位进行处理。

12、本方法对实际样品进行检测应用

采用本文件方法，对 40 份宁波市水产品市场所采集的样品进行检测。40 份样品中邻苯二甲酸单酯均有不同程度检出。综合，本文件方法对水产养殖生物中的邻苯二甲酸单酯具有较好的实用性。

四、标准制定的原则和依据

标准编制过程中，遵循了以下基本原则：

- 1) 标准需要具有行业特点，指标及其对应的分析方法要积极参照采用国家标准和行业标准。
- 2) 标准能够体现出产品的具有关键共性的技术要素。
- 3) 标准能够为产品的开发、改进指出明确的方向。
- 4) 标准需要具有科学性、先进性和可操作性。
- 5) 要能够结合行业实际情况和产品特点。
- 6) 与相关标准法规协调一致。
- 7) 促进行业健康发展与技术进步。

五、标准主要内容

本文件规定了测定水产品中邻苯二甲酸单酯的高效液相色谱-串联质谱法。

本文件适用于水产品中邻苯二甲酸单甲酯（MMP）、邻苯二甲酸单乙酯（MEP）、邻苯二甲酸单异丁酯（MiBP）、邻苯二甲酸单正丁酯（MnBP）、邻苯二甲酸单环己酯（MCHP）、邻苯二甲酸单苄基酯（MBZP）、邻苯二甲酸单辛酯（MOP）、邻苯二甲酸单异壬酯（MiNP）、邻苯二甲酸单（2-乙基己基）酯、邻苯二甲酸单（3-羧基丙基）酯（MCP）、邻苯二甲酸单（2-乙基-5-酮基己基）酯（MEOHP）、邻苯二甲酸单（2-乙基-5-羟基己基）酯（MEHHP）、邻苯二甲酸单（2-乙基-5-羧基戊基）酯（MECCP）等13种邻苯二甲酸单酯的测定。

六、分歧意见的处理和结果

本文件在编制过程中无重大分歧意见。

七、作为推荐性或强制性标准的建议及其理由

建议《水产品中 13 种邻苯二甲酸酯单酯的测定 液相色谱-质谱/质谱检测方法》作为推荐性标准发布实施。

八、贯彻标准的措施建议

本文件发布后，建议本市各级渔业主管部门、水产技术推广站及时进行宣讲贯彻，对本市各区渔业环境监测站、渔业环境检验检测人员进行培训，指导检测人员严格按照标准要求对水产养殖生物中邻苯二甲酸单酯进行检测，确保本市渔业生态和水产品质量安全。

2024 年 3 月

标准编制小组