

鸡肉组织中氯羟吡啶的残留测定 -气相色谱质谱法

Determination clopidol residue in chicken tissue
- Gas chromatography mass spectrometry method

2011 - 03 - 16 发布

2011 - 04 - 16 实施

前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

本标准由安徽省畜牧兽医局提出。

本标准由安徽省农业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：安徽省兽药饲料监察所(安徽省畜产品质量安全检测中心)。

本标准主要起草人：吴蕾、张莉、刘红云、明文庆、蔡一杰、丁作坤、陶小平、钱志平、吴昊。

鸡肉组织中氯羟吡啶的残留测定—气相色谱质谱法

1 范围

本标准规定了用气相色谱—质谱法测定鸡肉组织中氯羟吡啶残留测定方法。
本标准适用于鸡肉组织中氯羟吡啶的残留测定。

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 试样制备

取有代表性鸡肉样品切成小块，制成糜状后，装入洁净容器中、密封、并标明标记，于 -18°C 以下冷冻保存。

4 原理

试样中残留的氯羟吡啶用乙腈提取，经碱性氧化铝柱层析柱净化分离，再用N, O-双三甲基硅基三氟乙酰胺（BSTFA）+1%三甲基氯硅烷（TMCS）衍生化，气相色谱-质谱分析进行定性和定量分析。

5 试剂和溶液

5.1 除非另有说明，本法所用试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 二级水的规定。

5.2 氯羟吡啶对照品：含氯羟吡啶 $\geq 98.0\%$ 。

5.3 标准储备液：精密称定氯羟吡啶对照品适量，用甲醇配制成 $100\ \mu\text{g/mL}$ 标准储备液， 4°C 冰箱中保存，有效期 6 个月。

5.4 标准工作液：精密量取适量氯羟吡啶储备液，用甲醇稀释为 10、20、50、100、200、500 ng/mL 的标准工作液， 4°C 冰箱中保存，备用，有效期 7 天。

5.5 乙腈：色谱纯。

5.6 甲醇：色谱纯。

5.7 甲苯。

5.8 异丙醇。

5.9 硫酸钠：使用前需在马弗炉内 550°C 条件下煅烧 4 h，于干燥器中冷却，过 100 目筛后备用。

5.10 碱性氧化铝：（碱性氧化铝层析柱的制备：采用具塞的玻璃柱（300 mm×15 mm），下端带 G3 砂芯板；先于柱中加适量乙腈，再加入约 1 cm 高的硫酸钠，中间填充 4 cm 高的碱性氧化铝层，然后在柱上端填充 1 cm 高的硫酸钠）。

5.11 衍生化试剂：N, O-双三甲基硅基三氟乙酰胺-三甲基氯硅烷，体积比为 99:1。

6 仪器设备

- 6.1 气相色谱质谱仪。
- 6.2 旋转蒸发器。
- 6.3 氮吹仪。
- 6.4 冷冻离心机。
- 6.5 振荡器。
- 6.6 涡旋混合器。
- 6.7 分析天平：感量 0.0001 g, 0.001 g。
- 6.8 鸡心瓶：50 mL。
- 6.9 离心管：50 mL。
- 6.10 超纯水器。

7 测定步骤

7.1 试样提取

称取搅碎的鸡肉糜 5 g(精确到 0.001 g)置于 50 mL 聚丙烯离心管中，加入 10 mL 乙腈，均质 1 min，振荡 30 min。在 4℃ 条件下以 6000 r/min 离心 10 min，倾出上清液，沉淀物用 10 mL 乙腈再提取 1 次。合并上清液，加入 5 mL 异丙醇，于旋转蒸发器上 50℃ 水浴蒸至近干，用 5 mL 乙腈溶解。

7.2 试样净化

用 15 mL 乙腈活化碱性氧化铝层析柱后加入 7.1 项下样品液，待其自然流干后用 10 mL 乙腈洗脱，收集洗脱液。

7.3 衍生化

用氮气吹干 7.2 项下的洗脱液，加入 100 μL 甲苯溶解残渣，再加入 100 μL 衍生剂，密封后于 80℃ 衍生 60 min。冷却后加 800 μL 甲苯，混匀，上机分析。同时分别取 5.3 项下标准工作液系列各 1 ml 用氮气吹干，加入甲苯和衍生剂各 100 μL，按试样同法操作。

7.4 气相条件

色谱柱：DB-5MS柱，柱长 30 m，内径 0.25 mm，膜厚 0.25 μm 或性能相当的色谱柱。

进样口温度：220℃。

升温程序：起始柱温 100℃(保持 1 min)，以 30℃/min 的速率升至 200℃，再以 5℃/min 的速率升至 205℃(保持 1 min)，然后以 25℃/min 的速率升至 280℃(保持 3 min)。

载气：氮气纯度 99.999%。

流量：0.8 mL/min。

进样方式：不分流进样。

进样体积：1.0 μL。

7.5 质谱条件

样品离子源：EI源。

传输线温度：280℃。

四极杆温度：170℃。

离子源温度：230℃。

选择离子收集模式，收集 212，214，248 和 263 m/z 的 4 个碎片离子。

8 定性定量方法

定性方法：样品待测物质与标准品衍生物保留时间的相对标准偏差不大于 0.5%。特征离子基峰丰度与标准品相差不大于 20%。

定量方法：以 212，214，248 和 263 峰面积之和进行校正定量。

9 结果计算和表述

$$X = \frac{A \times C_s \times V_1 \times V_3 \times 1000}{A_s \times M \times V_2 \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X —— 组织中氯羟吡啶的残留量（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

A —— 样品溶液中氯羟吡啶的峰面积；

A_s —— 标准工作液中氯羟吡啶的峰面积；

C_s —— 标准工作液中氯羟吡啶的浓度（ ng/mL ）；

V_1 —— 溶解残留物的乙腈体积（ mL ）；

V_2 —— 过碱性氧化铝层析柱乙腈溶液体积（ mL ）；

V_3 —— 溶解残留物的甲苯体积（ mL ）；

M —— 组织样品质量（ g ）。

测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留 3 位有效数字。

10 检测方法灵敏度、准确度、精密度

10.1 灵敏度

本方法在鸡肉组织中的检出限为 $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 准确度

本方法在添加浓度为 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时，回收率为 70%~120%。

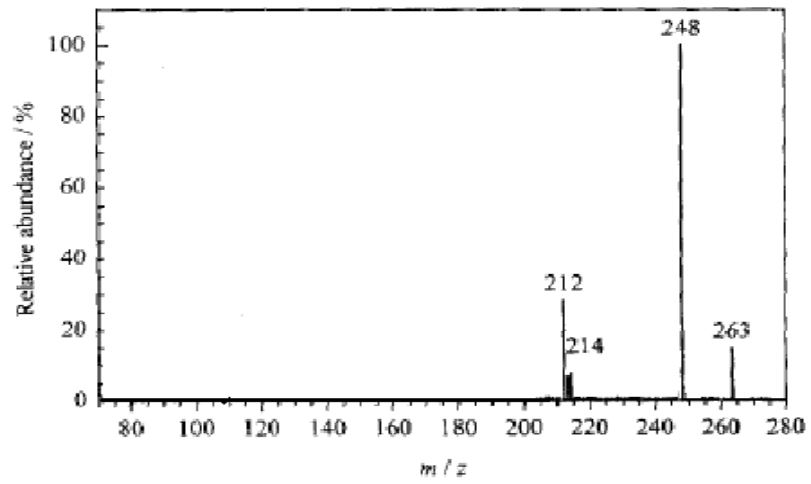
10.3 精密度

本方法的批内变异系数 $CV \leq 15\%$ ，批间变异系数 $CV \leq 20\%$ 。

附录 A

(资料性附录)

氯羟吡啶标准品衍生物的选择性离子质谱图



图A.1 氯羟吡啶的气相质谱监测的离子图