

DB4107

新 乡 市 地 方 标 准

DB 4107/T 433—2019

鸡肌肉组织中氯羟吡啶残留量的测定 液相色谱质谱法

Determination of copidol in muscle tissue of chicken

by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

2019 - 10 - 12 发布

2019 - 11 - 01 实施

新乡市市场监督管理局 发布

前 言

本标准依据GB/T 1.1给出的编写规则，根据新乡市生产实际而制定。

本标准附录A为资料性附录。

本标准由新乡市农业农村局、新乡市市场监督管理局提出。

本标准起草单位：新乡市畜产品质量监测检验中心、新乡市动物卫生监督所、封丘县农业农村局。

本标准主要起草人：关鹏、王双坡、王苗、李乐、王杰琼。

本标准于2019年10月12日首次发布。

鸡肌肉组织中氯羟吡啶残留量的测定液相色谱质谱法

1 范围

本标准规定了鸡肌肉组织中氯羟吡啶药物残留的制样、液相色谱质谱法的测定原理、试剂和溶液、仪器与设备、方法与步骤、仪器参数与测定、方法灵敏度和精密度。

本标准适用于鸡肌肉组织中氯羟吡啶药物残留量的检测。

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

农牧发（2003）1号 兽药残留试验技术规范（试行）

3 制样

3.1 样品的制备

取适量新鲜或冷冻的空白或供试样品，搅拌并使均匀。

3.2 样品的保存

-20℃以下冰箱中贮存备用。

4 原理

供试样品中残留的氯羟吡啶经乙腈提取后，用碱性氧化铝柱净化分离，浓缩后用甲醇溶解。所得溶液供液相色谱-串联质谱法测定，外标法定量测定。

5 试剂和溶液

除非另有规定，在分析中仅使用确认为分析纯的试剂盒符合GB/T 6682规定的一级用水。

5.1 氯羟吡啶标准品：含氯羟吡啶（ $C_7H_7ClN_2O$ ）不得少于99.0%。

5.2 甲醇：色谱纯。

5.3 乙腈：色谱纯。

5.4 磷酸氢二钠：分析纯。

5.5 磷酸二氢钾：分析纯。

- 5.6 碱性氧化铝固相萃取柱：规格 2 g，12 mL。
- 5.7 微孔滤头：孔径 0.22 μm 。
- 5.8 磷酸盐缓冲液 (pH7.0)：准确称取分析纯磷酸氢二钠 2.09 g、磷酸二氢钾 1.40 g，加水溶解并稀释至 500 mL，调节 pH 值至 7.0。
- 5.9 氯羟吡啶药物标准储备液：精密称氯羟吡啶标准品约 10 mg，置 10 mL 容量瓶中，用甲醇并稀释成浓度为 1 mg/mL 的标准储备液， -20°C 保存，有效期为一年。临用前，准确量取适量标准储备液，用甲醇稀释成浓度为适宜浓度的标准工作液。

6 仪器与设备

- 6.1 液相色谱—串联质谱仪：美国 Waters 公司 Waters Acquity UPLC-Xevo TQ-S。
- 6.2 天平：感量 0.01 g。
- 6.3 分析天平：感量 0.00001 g。
- 6.4 涡旋混合器。
- 6.5 振荡器。
- 6.6 低温离心机。
- 6.7 氮吹仪。
- 6.8 固相萃取装置。
- 6.9 组织匀浆机。

7 方法与步骤

7.1 试料的制备

试料的制备包括：取搅拌均匀后的供试样品，作为供试试料；取搅拌均匀后的空白样品，作为空白试料；取搅拌均匀后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试料。

7.2 提取

称取 (5 ± 0.05) g 匀质样品，置于 50 mL 离心管内，加入 25 mL 乙腈，涡旋混匀，中速振荡 10 min，10000 r/min 离心 5 min，转移上清液于另一 50 mL 离心管内。重复提取一次，合并提取液，混匀，10000 r/min 离心 10 min，取上清液 10 mL 待净化。

7.3 净化

碱性氧化铝固相萃取柱依次用甲醇 10 mL、乙腈 10 mL 润洗，加入提取的上清液 10 mL 过柱，弃去流出液。用 20 mL 甲醇洗脱，并收集， 55°C 下氮气吹干，加 1 mL 甲醇复溶、0.22 μm 滤膜过滤，待上机。

7.4 标准工作液的制备

准确吸取浓度为100 ng/mL的氯羟吡啶标准溶液0.1 mL，加入空白洗脱液中，同样品同步处理，即工作液。

8 仪器参数与测定

8.1 色谱条件

8.1.1 色谱柱：Waters Acquity BEH C18 (2.1 mm×50 mm, 1.7 μm)

8.1.2 柱温：30 °C

8.1.3 流动相：A：乙腈；B：0.1%甲酸水溶液，梯度洗脱（梯度洗脱程序见表1）

表1 色谱梯度洗脱程序

时间(min)	流速(mL/min)	A%	B%	曲线类型
/	0.3	10	90	/
4	0.3	20	80	6
5	0.3	10	90	1

注：1为即时变化，6为线性变化

8.1.4 进样量：2 μL

8.2 质谱条件

8.2.1 离子源：电喷雾 ESI

8.2.2 扫描方式：正离子扫描

8.2.3 采集模式：多反应监测 MRM；

8.2.4 毛细管电压：3.3kV；

8.2.5 锥孔电压：25.00V；

8.2.6 离子源温度：150°C；

8.2.7 雾化温度：500°C；

8.2.8 定性离子对 (m/z)：192.2 >174.2, 192.2 >101.0 。

8.2.9 定量离子对 (m/z)：192.2 >101.0 。

8.3 测定方法

8.3.1 进样顺序

- a) 试剂空白进 1 针；
- b) 标准工作液进 3 针，其 RSD<10%；

- c) 试剂空白进 1 针；
- d) 质控样品各进 2 针；
- e) 样品空白进 1 针；
- f) 样品 1-1 进 1 针；
- g) 样品 1-2 进 1 针……
- h) 样品 4-1 进 1 针；
- i) 样品 4-2 进 1 针；
- j) 标准工作液进 2 针……

8.3.2 定性需同时满足下列条件：

- a) 试剂空白和样品空白不能出现与阳性添加相同的离子峰；
- b) 所有离子色谱峰的信噪比(S/N)都在 3:1 以上，信噪比以峰对峰(PtP)计算；
- c) 试样色谱峰的相对保留时间，应与标准溶液的相对保留时间一致，容许偏差为±2.5%；
- d) 检测到的离子的相对丰度与标准溶液的相对丰度一致，容许偏差符合表 2 的要求。响应弱的离子与响应强的离子丰度比即为相对丰度。

表2 试样溶液中离子丰度比的允许偏差范围

相对丰度 (%)	允许偏差 (%)
>50	±20
>20~50	±25
>10~20	±30
≤10	±50

8.3.3 定量方法

采用单点校准，按外标法以峰面积比计算，即得。

8.4 结果计算

按下式计算供试组织中氯羟吡啶药物的残留量 (μg/kg)：

$$X = \frac{A \times C_s \times V \times 1000}{A_s \times m \times 1000}$$

式中：

X——试料中氯羟吡啶的残留量(μg/kg)；

A——试样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——样品定容体积(mL)；

m——供试试料的称样量(g)。

注：计算结果需扣除空白值，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。

9 方法灵敏度和精密度

9.1 灵敏度

氯羟吡啶在鸡肌肉组织中的检测限为5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 准确度

本方法回收率为60%~120%。

9.3 精密度

本方法的批内相对标准偏差 $\leq 20\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

附录 A
(资料性附录)
氯羟吡啶标准物质质谱图

