



中华人民共和国国家标准

GB 29700—2013

食品安全国家标准 牛奶中氯羟吡啶残留量的测定 气相色谱-质谱法

Determination of Clopidol residues in milk by

Gas Chromatography-mass Spectrometric method

(电子版仅供参考，以标准正式出版物为准)

2013-09-16 发布

2014-01-01 实施

中华人民共和国农业部 发布
中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会

目 次

目 次	I
前 言	II
牛奶中氯羟吡啶残留量的测定 气相色谱法-质谱法.....	1
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 原理	1
4 试剂与材料	1
5 仪器与设备	2
6 试料的制备与保存	2
6.1 试料的制备	2
6.2 试料的保存.....	2
7 测定步骤	3
7.1 基质匹配标准曲线的制备	3
7.2 提取.....	3
7.3 净化.....	3
7.4 衍生.....	3
7.5 测定.....	3
7.6 空白试验.....	4
8 结果计算与表述	4
9 检测方法灵敏度、准确度和精密度	5
9.1 灵敏度.....	5
9.2 准确度.....	5
9.3 精密度.....	5
附录 A	6

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准系国内首次发布的国家标准。

牛奶中氯羟吡啶残留量的测定

气相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了牛奶中氯羟吡啶残留量检测的制样和气相色谱-质谱的测定方法。

本标准适用于牛奶中氯羟吡啶残留量的检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 1.1-2000 标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写规则

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试料中残留的氯羟吡啶，用乙腈提取，碱性氧化铝柱净化，N,O-双三甲基硅基三氟乙酰胺与三甲基氯硅烷衍生，气相色谱-质谱测定，外标法定量。

4 试剂与材料

以下所用试剂，除特殊注明外均为分析纯试剂，水为符合GB/T 6682规定的一级水。

4.1 氯羟吡啶对照品：含量 $\geq 99\%$ 。

4.2 无水硫酸钠：使用前在马弗炉内 500℃煅烧 5 h，冷却后，过 100 目筛，备用。

4.3 碱性氧化铝：使用前在马弗炉内 300℃煅烧 3 h，冷却后按每 100 g 加水 5 mL，混匀，干燥器中过夜，备用。

4.4 N,O-双三甲基硅基三氟乙酰胺

4.5 三甲基氯硅烷

4.6 乙腈

4.7 甲苯：色谱纯。

4.8 氦气：纯度 $\geq 99.999\%$ 。

- 4.9 衍生剂：取 N,O-双三甲基硅基三氟乙酰胺 99 mL，加三甲基氯硅烷 1 mL，混匀。
- 4.10 氧化铝层析柱：氧化铝柱用30 mm × 15 mm 具塞玻璃层析柱，下配G₃砂芯板，先装入适量的乙腈，然后装填1 cm高的无水硫酸钠，中间装4 cm高的碱性氧化铝，顶端再装1 cm高的硫酸钠，轻轻敲实填匀，备用。
- 4.11 100 μg/mL氯羟吡啶标准贮备液：精密称取氯羟吡啶对照品适量，于100 mL量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，配制成浓度为100 μg/mL的氯羟吡啶标准贮备液。-20℃以下保存，有效期6个月。
- 4.12 1 μg/mL氯羟吡啶标准工作液：精密量取100 μg/mL氯羟吡啶标准贮备液1.0 mL，于100 mL量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配制成浓度为1 μg/mL的氯羟吡啶标准工作液，2~8℃保存，有效期1周。

5 仪器与设备

- 5.1 气相色谱-质谱联用仪：配电子轰击离子源（EI）。
- 5.2 分析天平：感量0.000 01 g。
- 5.3 天平：感量 0.01 g。
- 5.4 高速冷冻离心机
- 5.5 旋转蒸发仪
- 5.6 摇床
- 5.7 聚丙烯离心管：50 mL。

6 试料的制备与保存

6.1 试料的制备

取适量新鲜或冷藏的空白或供试牛奶，混合均匀。

——取均质后的供试样品，作为供试试料。

——取均质后的空白样品，作为空白试料。

——取均质后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试料。

6.2 试料的保存

-20℃以下保存。

7 测定步骤

7.1 基质匹配标准曲线的制备

精密量取 1 $\mu\text{g/mL}$ 氯羟吡啶标准工作液适量，分别添加至经提取、净化步骤处理的 6 份空白试料洗脱液中，经衍生处理，制得浓度分别为 5、10、20、100、250 和 500 $\mu\text{g/L}$ 的系列基质匹配标准溶液，供气相色谱法-质谱测定。以测得峰面积为纵坐标，对应的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。

7.2 提取

称取试料 (2 ± 0.02) g，于 50 mL 聚丙烯离心管中，加乙腈 5 mL 振荡 30 min。于 4 $^{\circ}\text{C}$ 6000 r/min 离心 10 min，取上清液，残渣中加乙腈 5 mL，重复提取一次。合并两次上清液，加异丙醇 2 mL，于 50 $^{\circ}\text{C}$ 旋转蒸发至近干，用乙腈 5 mL 溶解残余物，备用。

7.3 净化

碱性氧化铝柱用乙腈 15 mL 活化，取备用液过柱，自然流干，加乙腈 10 mL 洗脱，收集洗脱液，于 50 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干。

7.4 衍生

用甲苯 100 μL 溶解残余物，加衍生剂 100 μL ，密封，80 $^{\circ}\text{C}$ 衍生反应 1 h。冷却，加甲苯 800 μL ，供气相色谱-质谱测定。

7.5 测定

7.5.1 气相色谱条件

色谱柱：苯基甲基聚硅氧烷弹性石英毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm)，或相当者；

流量：0.7 mL/min；

程序升温：90 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1 min，以 30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至 200 $^{\circ}\text{C}$ ，再以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 205 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 1 min，然后以 30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 280 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 1 min；

接口温度：280 $^{\circ}\text{C}$ ；

进样口温度：210 $^{\circ}\text{C}$ ；

进样方式：不分流进样；

进样量：1 μL。

7.5.2 质谱条件

电离方式：电子轰击电离（EI）；

离子源温度：230℃；

扫描方式：选择离子监测，定性离子 m/z 212、214、248 和 263，定量离子 m/z 248。

7.5.3 测定法

7.5.3.1 定性测定

样品与标准品峰保留时间差不大于 2 s；

至少检测 4 个特征离子，即 212，214，248 和 263，其中：

选择离子 248 是基峰；

选择离子 214, 263 的相对强度（与基峰的比例）不超过标准相应选择离子相对强度平均值的 30%；

选择离子 212 的相对强度（与基峰的比例）不超过标准相应选择离子相对强度平均值的 25%；

氯羟吡啶三甲基硅醚衍生物质谱图和提取离子流色谱图，牛奶添加氯羟吡啶及牛奶空白提取离子流色谱图见附录 A。

7.5.3.2 定量测定

取试料溶液和空白基质标准溶液等体积参插进样测定，以基峰（ m/z 248）的峰面积（峰高）作单点或多点校准，外标法定量。试料溶液及空白基质标准溶液中氯羟吡啶的响应值应在仪器检测的线性范围内。

7.6 空白试验

除不加试料外，采用完全相同的步骤进行平行操作。

8 结果计算与表述

试料中氯羟吡啶的残留量（μg/kg）：按下式计算

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

式中：

X ——供试试料中氯羟吡啶的含量，μg/kg；

A ——试样溶液中氯羟吡啶的峰面积；

A_s ——空白基质标准工作液中氯羟吡啶的峰面积；

C_s ——空白基质标准工作液中氯羟吡啶的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

V ——最终试样体积， mL ；

m ——供试试料质量， 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，保留三位有效数字。

9 检测方法灵敏度、准确度和精密度

9.1 灵敏度

本方法的检测限为 $2\ \mu\text{g/kg}$ ，定量限为 $5\ \mu\text{g/kg}$ 。

9.2 准确度

本方法在 $5\sim 100\ \mu\text{g/kg}$ 添加浓度水平上的回收率为 $60\%\sim 110\%$ 。

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)

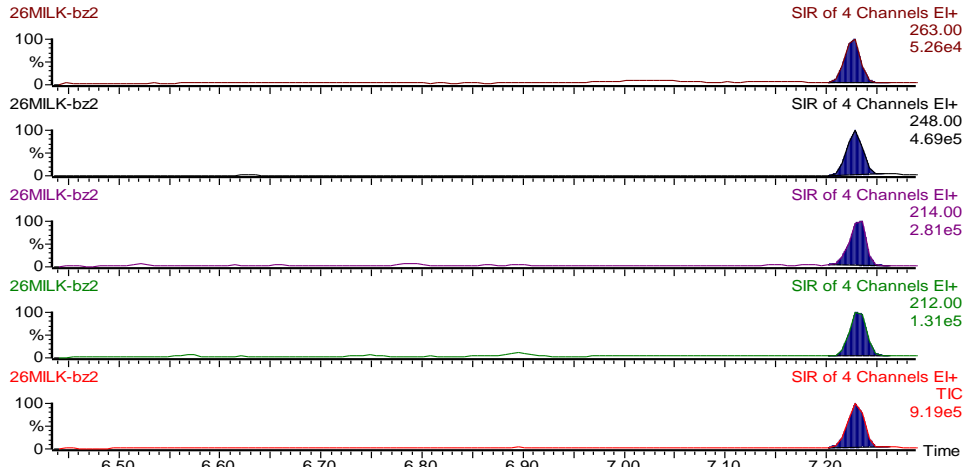


图 A1 氯羟吡啶标准溶液离子色谱图 (20 ng/mL)

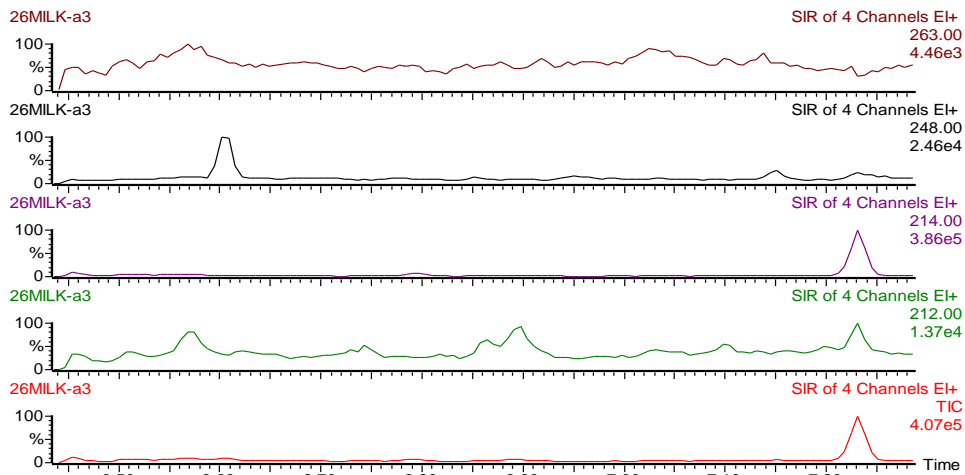


图 A2 牛奶空白试样离子色谱图

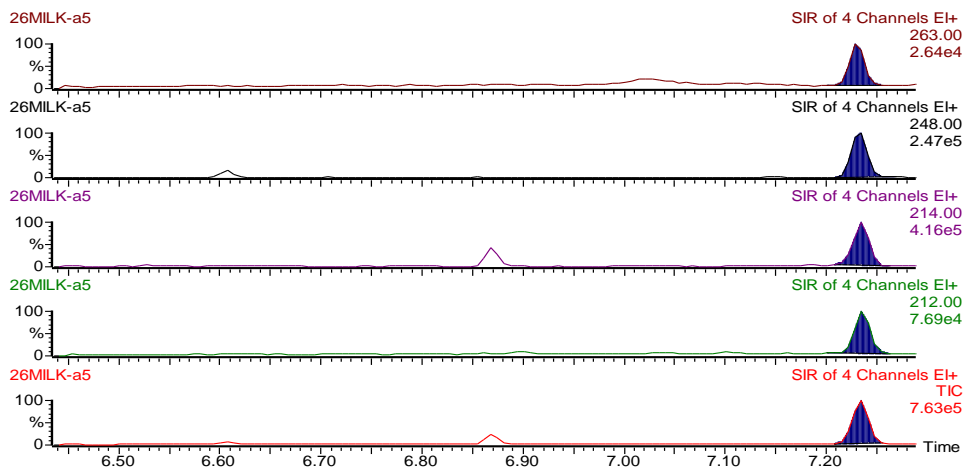


图 A3 牛奶空白添加氯羟吡啶试样离子色谱图 (10 µg/kg)