



团 体 标 准

T/JSYX 19—2025

水产品中地西泮、甲硝唑、地美硝唑 和氯丙嗪残留量的测定 超高效液相色谱-串联质谱法

Determination of diazepam, metronidazole, dimetridazole and chlorpromazine
residues in aquatic products by UPLC-MS/MS method

2025-11-28 发布

2025-12-28 实施

江苏省渔业协会 发 布

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》的规则起草。

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。

本文件由南京市农产品质量检测院提出。

本文件由江苏省渔业协会归口。

本文件起草单位：南京市农产品质量检测院。

本文件主要起草人：陈桂芳、丁春晖、张聪、陈琳琳、倪建秀、李文杰。

水产品中地西泮、甲硝唑、地美硝唑和氯丙嗪残留量的测定

超高效液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了水产品中地西泮、甲硝唑、地美硝唑和氯丙嗪残留量检测的制样和超高效液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于淡水鱼、淡水虾中地西泮、甲硝唑、地美硝唑和氯丙嗪残留量的测定。

2 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

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中残留的药物用 90%乙腈溶液提取，经混合型阳离子固相萃取柱富集、净化，超高效液相色谱-串联质谱仪测定，内标法定量。

5 试剂和材料

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 甲醇（CH₃OH）：色谱纯。

5.1.2 甲酸（HCOOH）：色谱纯。

5.1.3 乙腈（CH₃CN）：色谱纯。

5.1.4 盐酸（HCL）。

5.1.5 氨水（NH₃·H₂O）。

5.2 溶液的配制

5.2.1 90%乙腈溶液：量取 900 mL 乙腈（5.1.3），用水稀释至 1000 mL，混匀。

5.2.2 0.1mol/L 盐酸溶液：量取 8.3 mL 盐酸（5.1.4），用水稀释至 1000 mL，混匀。

5.2.3 氨化甲醇溶液：量取 5 mL 氨水（5.1.5），用甲醇稀释至 100 mL，混匀。

5.2.4 0.1%甲酸溶液：量取 1 mL 甲酸（5.1.2），用水稀释至 1000 mL，混匀。

5.2.5 0.1%甲酸甲醇溶液：量取 1 mL 甲酸（5.1.2），用甲醇（5.1.1）稀释至 1000 mL，混匀。

5.2.6 0.1%甲酸溶液+0.1%甲酸甲醇溶液（80+20，V/V）：量取 80 mL 0.1%甲酸溶液（5.2.4）和 20 mL 0.1%甲酸甲醇溶液（5.2.5），混匀。

5.3 标准品

5.3.1 地西洋、甲硝唑、地美硝唑、氯丙嗪含量均 $\geq 98\%$ ，详见附录 A。

5.3.2 地西洋-D₅、甲硝唑-D₄、地美硝唑-D₃、盐酸氯丙嗪-D₆含量均 $\geq 98\%$ ，详见附录 A。

5.4 标准溶液的制备

5.4.1 标准储备液：取地西洋、地美硝唑、甲硝唑和氯丙嗪标准品各 10 mg，精密称定，分别加甲醇(5.1.1)适量使溶解并稀释定容至 100 mL 棕色容量瓶，混匀，配制成浓度均为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液。或经国家认证并授予标准物质证书的标准溶液。-18℃以下避光保存，有效期 6 个月。

5.4.2 内标储备液：取地西洋-D₅、地美硝唑-D₃、甲硝唑-D₄和盐酸氯丙嗪-D₆标准品各 10 mg，精密称定，分别加甲醇(5.1.1)适量使溶解并稀释至 100 mL 棕色容量瓶，混匀，配制成浓度均为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的内标储备液。或经国家认证并授予标准物质证书的标准溶液。-18℃以下避光保存，有效期 6 个月。

5.4.3 混合标准中间液：分别准确量取标准储备液(5.4.1)各 0.1 mL，于 10 mL 棕色容量瓶，用甲醇(5.1.1)稀释至刻度，配制成浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准中间液。-18℃以下避光保存，有效期 3 个月。

5.4.4 混合标准工作液：准确量取 1 mL 混合标准中间液(5.4.3)，于 10 mL 棕色容量瓶，用甲醇(5.1.1)稀释，配制成 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准工作液，现配现用。

5.4.5 混合内标工作液：分别准确量取内标储备液(5.4.2)各 0.1 mL，于 10 mL 棕色容量瓶，用甲醇(5.1.1)稀释，配制成浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$ 的混合内标工作液。-18℃以下避光保存，有效期 3 个月。

5.5 材料

5.5.1 混合型阳离子固相萃取柱：150 mg/6 mL，或相当者。

亲水 PTFE 针式过滤器：滤膜孔径为 0.22 μm ，或相当者。

6 仪器和设备

6.1 超高效液相色谱-串联质谱仪：配电喷雾离子源。

6.2 电子天平：感量 0.01 g 和 0.00001 g。

6.3 涡旋混合器。

6.4 氮吹仪。

6.5 固相萃取装置。

6.6 具塞聚丙烯塑料离心管：15 mL、50 mL。

6.7 离心机：8000 r/min 或以上。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

鱼类，至少取 3 尾鱼清洗后，去头、骨、内脏，取肌肉、鱼皮等可食部分绞碎混合均匀后备用；虾类，至少取 10 尾清洗后，去虾头、虾皮、肠腺，得到整条虾肉绞碎混合均匀后备用；试样量为 400 g，分为两份，其中一份用于检验，另一份作为留样。

a) 取均质后的供试样品，作为供试试样；

b) 取均质后的空白样品，作为空白试样；

c) 取均质后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试样。

7.2 试样的保存

-18℃以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

称取试料(5±0.05)g 于 50 mL 离心管中, 加入 1 µg/mL 混合内标工作液 10 µL (5.4.5), 充分混匀。加 90%乙腈溶液 (5.2.1) 15 mL, 充分混匀, 8000 r/min 离心 10 min。将 10 mL 上清液转移至 15 mL 离心管中, 于 40 °C 水浴用氮气吹至近干, 用 0.1 mol/L 盐酸溶液(5.2.2)5 mL 复溶待净化。

8.2 净化

取固相萃取柱, 依次使用 5 mL 甲醇和 5 mL 水活化, 将复溶液以每秒 1 滴的流速通过固相萃取柱 (5.5.1)。过柱后依次用 5 mL 水和 5 mL 甲醇淋洗, 负压抽干。最后用 6 mL 氨化甲醇溶液 (5.2.3) 洗脱。洗脱液于 40 °C 水浴用氮气吹至近干, 加入 1.0 mL 0.1% 甲酸溶液+0.1% 甲酸甲醇溶液(80+20)(5.2.6) 复溶, 涡旋混匀 1 min, 过 0.22 µm 针式过滤器 (5.5.2), 供超高效液相色谱-串联质谱仪测定。

8.3 标准曲线的制备

精确量取适量混合标准工作液(5.4.4)和适量混合内标工作液 (5.4.5), 用 0.1% 甲酸溶液+0.1% 甲酸甲醇溶液 (80+20) (5.2.6) 配制成同位素内标浓度为 10.0 µg/L 以及各组分浓度为 2.0 µg/L、5.0 µg/L、10.0 µg/L、20.0 µg/L 和 50.0 µg/L 系列标准溶液。以被测组分和相应内标的峰面积比值为纵坐标, 浓度比值为横坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程和相关系数。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱: C₁₈ 柱, 150 mm×3.0mm, 1.8 µm, 或性能相当者;
- b) 流动相: A 为 0.1% 甲酸溶液 (5.2.4), B 为 0.1% 甲酸甲醇溶液 (5.2.5); 梯度洗脱程序见表 1;
- c) 柱温: 40 °C;
- d) 流速: 0.25 mL/min;
- e) 进样量: 20 µL。

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间 min	A %	B %
0.00	80	20
1.00	80	20
3.00	30	70
9.00	10	90
11.00	10	90
11.01	80	20

8.4.2 质谱参考条件

- a) 离子源: 电喷雾离子源 (ESI);
- b) 扫描方式: 正离子扫描;
- c) 检测方式: 多反应监测;
- d) 毛细管电压: 4000 V;
- e) 干燥气温度: 340 °C;
- f) 雾化气压力: 45 psi;
- g) 干燥气流速: 11 L/min;
- h) 定性离子对、定量离子对、碎裂电压和碰撞能量参考值见表 2;

表 2 地西洋、甲硝唑、地美硝唑、氯丙嗪及内标物的母离子、子离子、碎裂电压和碰撞能量

组 分	母离子 <i>m/z</i>	子离子 <i>m/z</i>	碎裂电压 V	碰撞能量 eV
地西洋	285.0	193.0*	135	35
		154.1	135	30
甲硝唑	172.1	128.0*	80	10
		82.1	80	25
地美硝唑	141.9	96.0*	80	12
		81.1	80	28
氯丙嗪	318.9	86.0*	100	18
		58.1	100	46
地西洋-D ₅	290.1	198.1	135	35
甲硝唑-D ₄	176.1	128.1*	95	12
		82.1	95	25
地美硝唑-D ₃	145.1	99.1	95	15
氯丙嗪-D ₆	325.0	92.0*	100	18
		64.1	100	46

注：*表示定量离子

8.4.3 测定法

8.4.3.1 定性测定

在同样测试条件下,试料溶液中各组分与其内标的保留时间之比与标准溶液中各组分与其内标物的保留时间之比偏差在 1%以内;且检测到的相对离子丰度应与浓度相当的校正标准溶液相对离子丰度一致,其允许偏差为±40%。

8.4.4 定量测定

取试料溶液和标准工作溶液,作单点或多点校准,以色谱峰面积定量,按内标法计算,其中地西洋以地西洋-D₅为内标,甲硝唑以甲硝唑-D₄为内标,地美硝唑以地美硝唑-D₃为内标,氯丙嗪以盐酸氯丙嗪-D₆为内标。标准溶液及试料溶液中药物的响应值均应在仪器检测的线性范围内。在上述超高效液相色谱-质谱条件下,标准溶液和同位素标准溶液中特征离子质量色谱图见附录 B。

8.5 空白试验

取空白试样,除不加标准溶液外,采用相同的测定步骤进行平行操作。

8.6 平行试验

按上述测定条件和步骤对同一样品进行平行试验测定。

9 结果计算与表述

试料中药物残留量按公式(1)计算,计算结果需扣除空白值,结果保留三位有效数字。

$$X_i = \frac{\rho_i \times V \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X_i — 试样中组分含量，单位为微克每千克($\mu\text{g/kg}$)；

ρ_i — 试料溶液中组分的浓度，单位为纳克每毫升(ng/mL)；

V — 试料溶液最终体积，单位为毫升(mL)；

m — 试料质量，单位为克(g)。

10 检测方法灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法检出限为 $0.1 \mu\text{g/kg}$ ，定量限为 $0.5 \mu\text{g/kg}$ 。

10.2 准确度

本方法地西泮、甲硝唑、地美硝唑和氯丙嗪在 $0.5 \mu\text{g/kg} \sim 5 \mu\text{g/kg}$ 添加水平上的回收率为 $70.0\% \sim 110.0\%$ 。

10.3 精密度

本方法的批内相对标准偏差 $\leq 15\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 15\%$ 。

附 录 A
(资料性)

药物中英文名称、化学分子式和 CAS 号

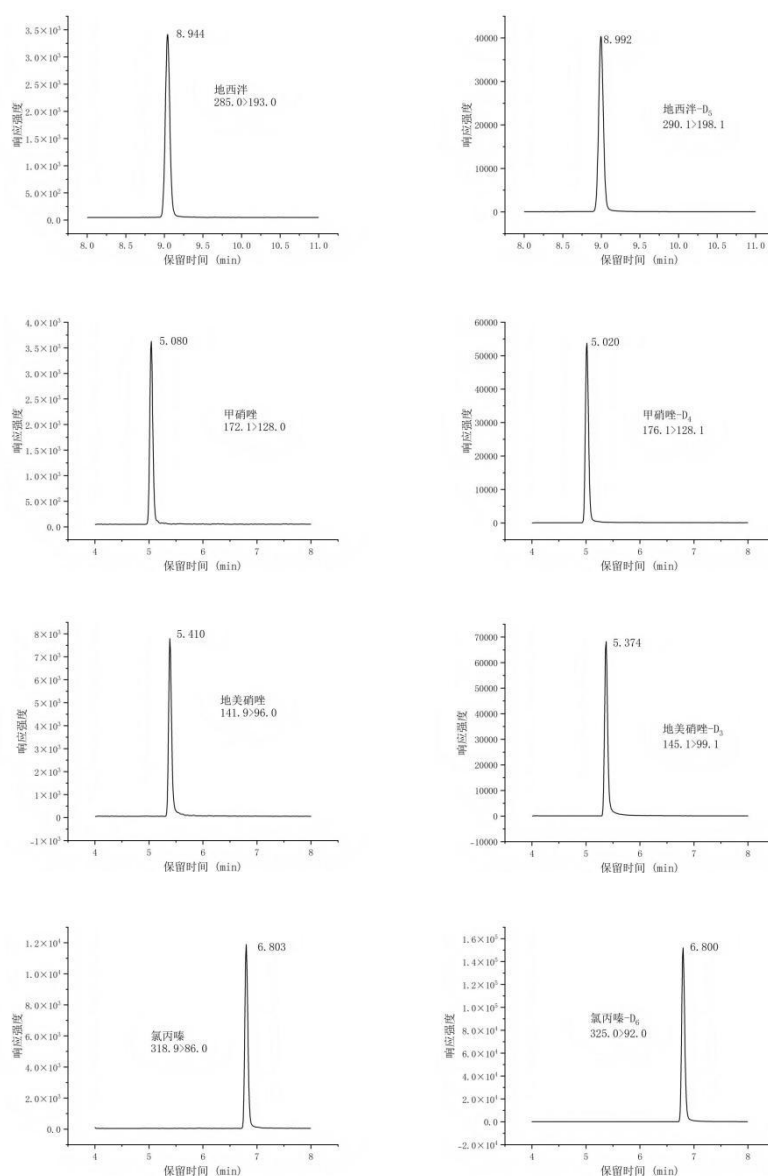
药物中英文名称、化学分子式和 CAS号见表 A. 1.

表 1 药物的中英文名称、化学分子式和 CAS 号

中文名称	英文名称	化学分子式	CAS号
地西洋	Diazepam	$C_{16}H_{13}ClN_2O$	439-14-5
甲硝唑	Metronidazole	$C_6H_9N_3O_3$	443-48-1
地美硝唑	Dimetridazole	$C_5H_7N_3O_2$	551-92-8
氯丙嗪	Chlorpromazine	$C_{17}H_{19}ClN_2S$	50-53-3
地西洋-D ₅	Diazepam-D ₅	$C_{16}H_8D_5ClN_2O$	65854-76-4
甲硝唑-D ₄	Metronidazole-D ₄	$C_6H_5D_4N_3O_3$	1261392-47-5
地美硝唑-D ₃	Dimetridazole-D ₃	$C_5H_4D_3N_3O_2$	64678-69-9
盐酸氯丙嗪-D ₆	Chlorpromazine-D ₆ Hydrochloride	$C_{17}H_{14}D_6ClN_2S \cdot HCl$	1228182-46-4

附录 B

(资料性)

地西洋、甲硝唑、地美硝唑、氯丙嗪和同位素标准溶液特征离子质量色谱图 (2.0 $\mu\text{g/L}$)地西洋、甲硝唑、地美硝唑、氯丙嗪和同位素标准溶液 (2.0 $\mu\text{g/L}$) 特征离子质量色谱图见图B.1。图B.1 地西洋、甲硝唑、地美硝唑、氯丙嗪和同位素标准溶液特征离子质量色谱图 (2.0 $\mu\text{g/L}$)