



中华人民共和国国家标准

GB XXXX—XXXX



食品安全国家标准 禽蛋中氯霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

National food safety standard—

Determination of chloramphenicol residue in poultry eggs by liquid
chromatography-tandem mass spectrometry

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

中华人民共和国农业农村部
中华人民共和国国家卫生健康
国家市场监督管理总局

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》的规定起草。

征求意见稿

食品安全国家标准

禽蛋中氯霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了禽蛋中氯霉素残留量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于鸡蛋、鸭蛋、鹅蛋、鹌鹑蛋等禽蛋中氯霉素残留量的测定。

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

试样中残留的氯霉素经乙腈提取，乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶（PSA）和十八烷基硅烷键合硅胶（C₁₈）分散固相萃取净化，液相色谱-串联质谱仪测定，内标法定量。

5 试剂与材料

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 乙腈 (CH₃CN)：色谱纯。

5.1.2 甲醇 (CH₃OH)：色谱纯。

5.1.3 甲酸 (HCOOH)：色谱纯。

5.1.4 氯化钠 (NaCl)：优级纯。

5.2 溶液配制

5.2.1 50%乙腈溶液：取乙腈50 mL，加水稀释至100 mL。

5.3 标准品

5.3.1 氯霉素 (Chloramphenicol, C₁₁H₁₂Cl₂N₂O₅, CAS: 56-75-7), 纯度≥99.0%，或经国家认证并授予标准物质证书的相当者。

5.3.2 氯霉素-D₅ (Chloramphenicol-D₅, C₁₁H₇D₅Cl₂N₂O₅, CAS: 202480-68-0), 纯度≥98.0%。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 氯霉素标准储备液：取氯霉素标准品适量（相当于活性成分约10 mg），精密称定，用甲醇适量使溶解并稀释定容至10 mL容量瓶中，配制成浓度为1 mg/mL标准储备液，-18 ℃以下避光保存，有效期12个月。

5.4.2 内标储备液：取氯霉素-D₅标准品约1 mg，精密称定，用甲醇适量使溶解并稀释定容至10 mL容量瓶中，配制成浓度为100 μg/mL内标储备液，-18 ℃以下避光保存，有效期12个月。

5.4.3 氯霉素标准中间液：精密量取氯霉素标准储备液1 mL，于100 mL容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配制成浓度为10 μg/mL标准中间液，-18 ℃以下避光保存，有效期6个月。

5.4.4 内标中间液：精密量取内标储备液1 mL，于100 mL容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配制成浓度为1 μg/mL内标中间液，-18 ℃以下避光保存，有效期6个月。

5.4.5 氯霉素标准工作液：精密量取氯霉素标准中间液100 μL，于10 mL量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配制成浓度为100 ng/mL的标准工作液，0 ℃~4 ℃避光保存，有效期7天。

5.4.6 内标工作液：精密量取内标中间液200 μL，于10 mL量瓶中，用甲醇稀释定容至刻度，配制成浓度为20 ng/mL的内标工作液，0 ℃~4 ℃避光保存，有效期7天。

5.5 材料

5.5.1 乙二胺-N-丙基硅烷化硅胶 (PSA)：粒径 40 μm。

5.5.2 十八烷基硅烷键合硅胶 (C₁₈)：粒径 40 μm。

5.5.3 尼龙微孔滤膜：0.22 μm，或相当者。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：带电喷雾离子源。

6.2 分析天平：感量分别为0.000 01 g和0.01 g。

6.3 氮气吹干仪。

6.4 涡旋混合器。

6.5 快速振荡器。

6.6 匀浆机。

6.7 离心机：离心力不小于7100 ×g（或转速不低于8000 r/min）。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

取适量新鲜的空白或供试禽蛋，去壳，于匀浆机充分均匀。

a) 取混匀后的供试样品，作为供试试样。

b) 取混匀后的空白样品，作为空白试样。

c) 取混匀后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作溶液，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

称取试样 10 ± 0.05 g, 于50 mL 离心管中, 加入100 μ L 20 ng/mL 内标工作溶液、16 mL 乙腈、5.0 g 氯化钠, 漩涡混匀1 min, 剧烈振荡10 min, $7100 \times g$ 离心10 min, 取乙腈层备用。

8.2 净化

取备用液至混有 600 mg PSA 和 600 mg C18 的 50 mL 离心管中, 快速振荡 10 min, $7100 \times g$ 离心10 min。取上清液于40 $^{\circ}$ C氮气吹干, 加入2 mL 50 % 乙腈溶液, 涡旋30 s, 过0.22 μ m滤膜, 供液相色谱-串联质谱仪测定。

8.3 标准曲线的制备

精确量取氯霉素和氯霉素-D₅标准工作液适量, 用 50% 乙腈溶液稀释, 配制成氯霉素浓度为 0.5 μ g/L、1 μ g/L、2.5 μ g/L、5 μ g/L、10 μ g/L、25 μ g/L, 氯霉素-D₅浓度为1 μ g/L系列标准溶液, 临用现配, 供液相色谱-串联质谱测定。以氯霉素和氯霉素-D₅定量离子对的峰面积比为纵坐标, 氯霉素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。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱: C₁₈ 色谱柱 (100 mm \times 3.0 mm, 3.5 μ m), 或相当者;
- 柱温: 30 $^{\circ}$ C;
- 流速: 0.3 mL/min;
- 进样量: 10 μ L;
- 流动相: A为水, B为乙腈; 梯度洗脱条件见表1。

表 1 梯度洗脱条件

时间 (min)	水, %	乙腈, %
0.0	90	10
1.5	70	30
5.0	10	90
8.0	10	90
8.1	90	10
12.0	90	10

8.4.2 质谱参考条件

- 离子源: 电喷雾离子源 (ESI);
- 扫描方式: 负离子扫描;
- 检测方式: 多反应监测 (MRM);
- 喷雾电压: -4 500 V;
- 温度: 550 $^{\circ}$ C;
- 气帘气: 0.24 MPa;
- 雾化气: 0.21 MPa;
- 辅助加热气: 0.21 MPa;
- 氯霉素及氯霉素-D₅定性离子对、定量离子对、去簇电压和碰撞能量参考值见表2。

表 2 氯霉素及氯霉素-D₅定性离子对、定量离子对、去簇电压和碰撞能量参考值

化合物名称	定性离子对	定量离子对 m/z	去簇电压 V	碰撞能量 eV
氯霉素	321.0>152.0 321.0>257.0	321.0>152.0	70	24 17

氯霉素-D ₅	326.1>157.0	326.1>157.0	70	25
--------------------	-------------	-------------	----	----

8.4.3 测定法

8.4.3.1 定性测定

在相同测试条件下，试样溶液中氯霉素与其同位素内标(氯霉素-D₅)的保留时间之比与标准溶液中氯霉素与其同位素内标(氯霉素-D₅)的保留时间之比偏差在1%以内；且检测到的相对离子丰度，应当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%。

8.3.4.2 定量测定

取试样溶液和相应的标准溶液，作单点或多点校准，按内标法定量。试样溶液及标准溶液中氯霉素的响应值均应在仪器检测的线性范围之内。在上述色谱-质谱条件下，氯霉素和氯霉素-D₅标准溶液的特征离子对色谱图见附录A。

8.4 空白试验

称取空白试样，除不加药物外，采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算和表述

试样中氯霉素的残留量按标准曲线或公式(1)计算：

$$X = \frac{C_S \times C_{is} \times A_i \times A'_{is} \times V}{C'_{is} \times A_S \times A_{is} \times m} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

- X—试样中氯霉素的残留量，单位为微克每千克(μg/kg)；
- C_S—标准溶液中氯霉素的浓度，单位为微克每升(μg/L)；
- C_{is}—试样溶液中氯霉素-D₅的浓度，单位为微克每升(μg/L)；
- C'_{is}—标准溶液中氯霉素-D₅的浓度，单位为微克每升(μg/L)；
- A_S—标准溶液中氯霉素的峰面积；
- A_i—试样溶液中氯霉素的峰面积；
- A'_{is}—标准溶液中氯霉素-D₅的峰面积；
- V—定容体积，单位为毫升(mL)；
- m—供试试样的质量，单位为克(g)。

10 方法的灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法氯霉素检测限为0.1 μg/kg；定量限为0.2 μg/kg。

10.2 准确度

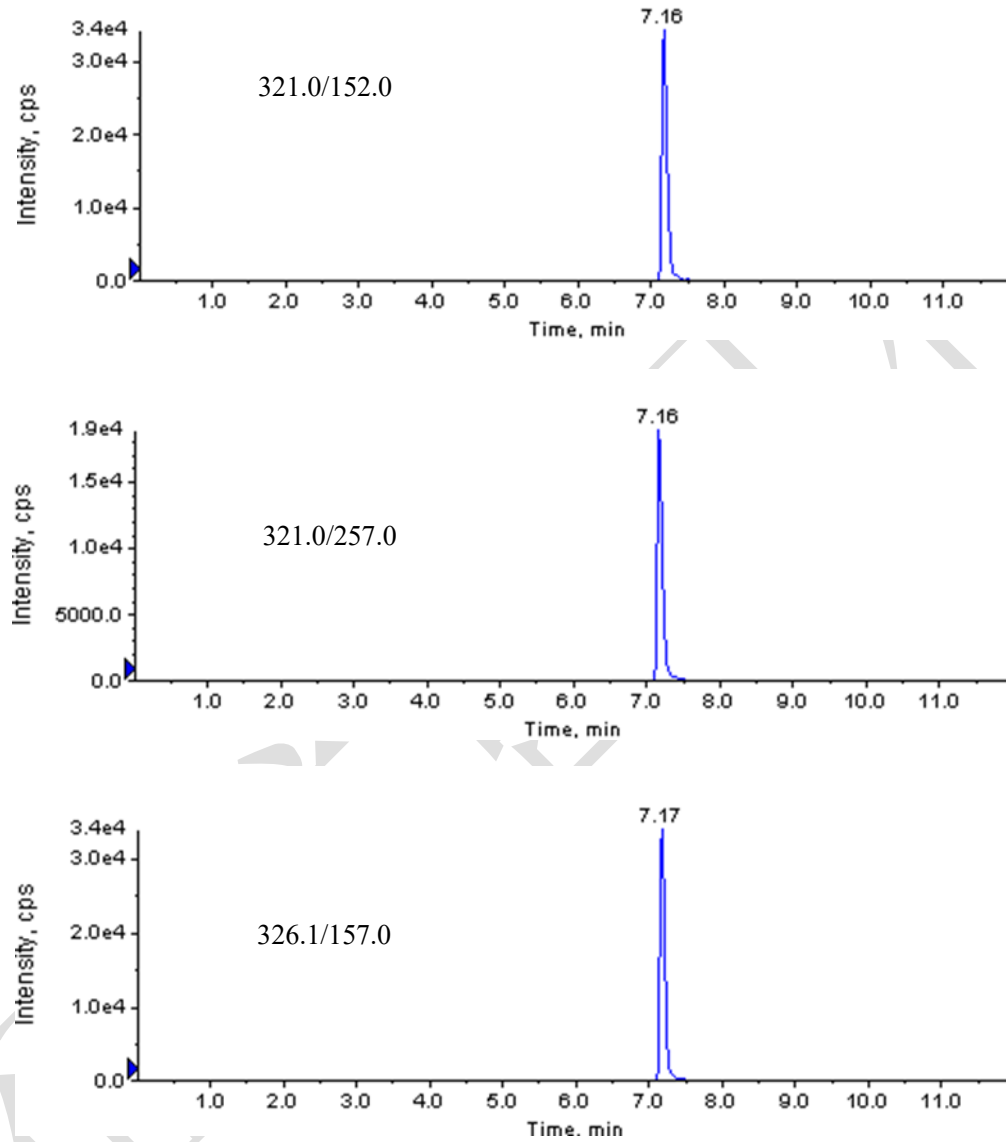
本方法在0.2 μg/kg~1.0 μg/kg的添加浓度水平时，氯霉素回收率为70%~120%。

10.3 精密度

本方法批内相对标准偏差≤15%，批间相对标准偏差≤15%。

附录A
(资料性)氯霉素及氯霉素-D₅标准溶液特征离子对色谱图

氯霉素及氯霉素-D₅标准工作溶液的特征离子对色谱图见图A.1。



标引序号说明：

- 1——氯霉素定量离子对色谱图（321.0/152.0）；
- 2——氯霉素定性离子对色谱图（321.0/257.0）；
- 3——氯霉素-D₅特征离子对色谱图（326.1/157.0）。

图A.1 标准工作溶液（氯霉素及氯霉素-D₅浓度均为1 μg/L）特征离子对色谱图