



中华人民共和国国家标准

GB 31658.2—2021

食品安全国家标准 动物性食品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 residues in animal derived food by
liquid chromatography-tandem mass spectrometric method

2021-09-16 发布

2022-02-01 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委员会 发布
国家市场监督管理总局

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。

本文件系首次发布。

食品安全国家标准

动物性食品中氯霉素残留量的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了猪、鸡肌肉、肝脏和鱼、虾可食性组织中氯霉素残留检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于猪、鸡肌肉、肝脏和鱼、虾可食组织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

试料中残留的氯霉素，采用间位氯霉素或氘代氯霉素作内标，依次用乙腈、4%氯化钠去蛋白，正己烷脱脂，乙酸乙酯提取，固相萃取柱净化，氮气吹干，液相色谱-串联质谱法测定，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(CH_3CN):色谱纯。

5.1.2 甲醇(CH_3OH):色谱纯。

5.1.3 正己烷(C_6H_{14})。

5.1.4 乙酸乙酯($\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$)。

5.1.5 氯化钠(NaCl)。

5.2 标准品

5.2.1 氯霉素(CAP, Chloramphenicol, $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_5$, CAS号:56-75-7),含量 $\geq 98.0\%$ 。

5.2.2 内标:间位氯霉素(m-CAP)或氘代氯霉素(CAP- D_5 , Chloramphenicol D_5 , $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{D}_5\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_5$, CAS号:202480-68-0),含量 $\geq 98.0\%$ 。

5.3 溶液配制

5.3.1 4%氯化钠溶液:取氯化钠 4g,用水溶解并稀释至 100 mL,临用前配制。

5.3.2 水饱和乙酸乙酯溶液:取乙酸乙酯 400 mL,于 500 mL 棕色试剂瓶中,加水 50 mL,加盖、振摇、静置,使用时取上层溶液。

5.4 标准溶液制备

5.4.1 氯霉素标准储备液:取氯霉素约 10 mg,精密称定,用甲醇适量超声使溶解并稀释定容至 100 mL 容量瓶,制成浓度为 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备液。 -18°C 保存,有效期 1 年。

5.4.2 内标储备液:取内标 10 mg,精密称定,用甲醇适量超声使溶解并稀释至 100 mL 容量瓶,制成浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的内标储备液。 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期 1 年。

5.4.3 氯霉素标准工作液:精密量取氯霉素标准储备液适量,用流动相稀释成浓度为 10 ng/mL 和 50 ng/mL 的标准工作液。 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期 3 个月。

5.4.4 内标工作液:精密量取内标储备液适量,用流动相稀释成浓度为 20 ng/mL 的内标工作液。 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期 3 个月。

5.5 材料

C_{18} 固相萃取柱:500 mg/3 mL,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 0.000 01 g 和 0.01 g。

6.3 涡旋混合器。

6.4 组织匀浆器。

6.5 低温离心机。

6.6 样品浓缩仪。

6.7 固相萃取装置。

7 试料的制备与保存

7.1 试料的制备

取适量新鲜或解冻的空白或供试组织,绞碎,并使均质。

a) 取均质的供试样品,作为供试试料;

b) 取均质的空白样品,作为空白试料;

c) 取均质的空白样品,添加适宜浓度的标准工作液,作为空白添加试料。

7.2 试料的保存

$-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

取试料 5 g(准确至 $\pm 0.02\text{ g}$),加内标工作液 250 μL 、乙腈 5 mL、4%氯化钠溶液 5 mL,涡旋振荡 2 min,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液,残渣重复提取 1 次,合并上清液。加正己烷 5 mL,涡旋振荡 1 min,2 000 r/min 离心 10 min,弃去上层液,正己烷重复处理 1 次。加水饱和的乙酸乙酯溶液 5 mL,涡旋振荡 1 min,2 000 r/min 离心 10 min,上层液转移到 15 mL 离心管中,重复提取 1 次,合并提取液,氮气吹干,加水-乙腈(95:5)3 mL 使溶解,备用。

8.2 净化

取固相萃取柱,依次用甲醇、水各 10 mL 预洗。取备用液过柱,加水洗柱 2 次,每次 3 mL,加流动相 4 mL,以 1 mL/min 速度洗脱,收集洗脱液。加水饱和乙酸乙酯溶液 4 mL,涡旋振荡 1 min,2 000 r/min 离心 5 min,取上层液,重复处理 1 次,合并上层溶液,氮气吹干。加流动相 1.0 mL 溶解,滤过,供液相色谱-串联质谱测定。

8.3 标准曲线的制备

按表 1 精密量取氯霉素标准工作液和内标工作液适量,用流动相稀释成氯霉素浓度分别为 0.5 ng/mL 、1.0 ng/mL 、2.0 ng/mL 、5.0 ng/mL 、10 ng/mL 、内标浓度为 5.0 ng/mL 的标准溶液,供液相色谱法-串联质谱法测定。以测得特征离子质量色谱峰外标和内标峰面积比为纵坐标、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。

表 1 标准溶液配制方法

项目	0.5 ng/mL	1.0 ng/mL	2.0 ng/mL	5.0 ng/mL	10.0 ng/mL
10 ng/mL CAP	50 μ L	100 μ L	—	—	—
50 ng/mL CAP	—	—	40 μ L	100 μ L	200 μ L
20 ng/mL CAP-D ₅	250 μ L	250 μ L	250 μ L	250 μ L	250 μ L

8.4 测定

8.4.1 液相色谱条件

- 色谱柱: C₁₈ (150 mm×3.2 mm, 5 μ m);
- 流动相: 甲醇-水(50 : 50);
- 流速: 0.4 mL/min;
- 柱温: 30 $^{\circ}$ C;
- 进样量: 20 μ L;
- 运行时间: 10 min。

8.4.2 质谱条件

- 离子源: 电喷雾离子源;
- 扫描方式: 负离子扫描;
- 检测方式: 多反应监测;
- 电离电压: 2.8 kV;
- 源温: 120 $^{\circ}$ C;
- 碰撞气: 氩气 3.0×10^{-3} mbar;
- 脱溶剂气速: 500 L/h;
- 锥孔气速: 20 L/h;
- 数据采集窗口: 10 min;
- 驻留时间: 0.6 s;
- 测试药物定性离子对、定量离子对及对应的锥孔电压和碰撞能量见表 2。

表 2 氯霉素定性离子对、定量离子对及对应的锥孔电压和碰撞能量

目标化合物	母离子 m/z	子离子 m/z	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
氯霉素(CAP)	320.60	152.20 ^a	28	18
	320.60	256.90	28	11
	320.60	194.15	28	13
间位氯霉素 m-CAP	320.60	207.25	28	18
氘代氯霉素(CAP-D ₅)	326.30	157.20	28	18
注: 准确质荷比在每次实验前进行确认, 内标可任选一种。				
^a 为定量离子。				

8.4.3 测定法

取试料溶液和相应的标准溶液, 作单点或多点校准, 按内标法以色谱峰面积定量。氯霉素特征离子质谱图见图 A. 1, 标准溶液中各特征离子的质量色谱图分别见图 A. 2。

8.5 空白试验

取空白试料, 除不加标准溶液外, 采用相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算

试料中待测物残留量按标准曲线或公式(1)计算。

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

式中:

- X —— 试样中氯霉素残留量的数值,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);
- A_s —— 对照溶液中氯霉素的峰面积;
- A'_{is} —— 对照溶液中内标的峰面积;
- C_s —— 对照溶液氯霉素标准品浓度的数值,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- C'_{is} —— 对照溶液中氯霉素内标浓度的数值,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- C_{is} —— 供试溶液中氯霉素内标浓度的数值,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- A —— 供试溶液中氯霉素的峰面积;
- A_{is} —— 试样溶液氯霉素内标的峰面积;
- V —— 溶解残余物所用溶液体积的数值,单位为毫升(mL);
- m —— 试样质量的数值,单位为克(g)。

10 检测方法的灵敏度、准确度和精密度

10.1 灵敏度

本方法氯霉素的检测限为 $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 $0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

10.2 准确度

本方法在 $0.1 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度的回收率为 $70\% \sim 120\%$ 。

10.3 精密度

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



附录 A
(资料性)
氯霉素特征离子质谱图

氯霉素特征离子质谱图见图 A.1, 标准溶液中氯霉素及内标特征离子质量色谱图见图 A.2。

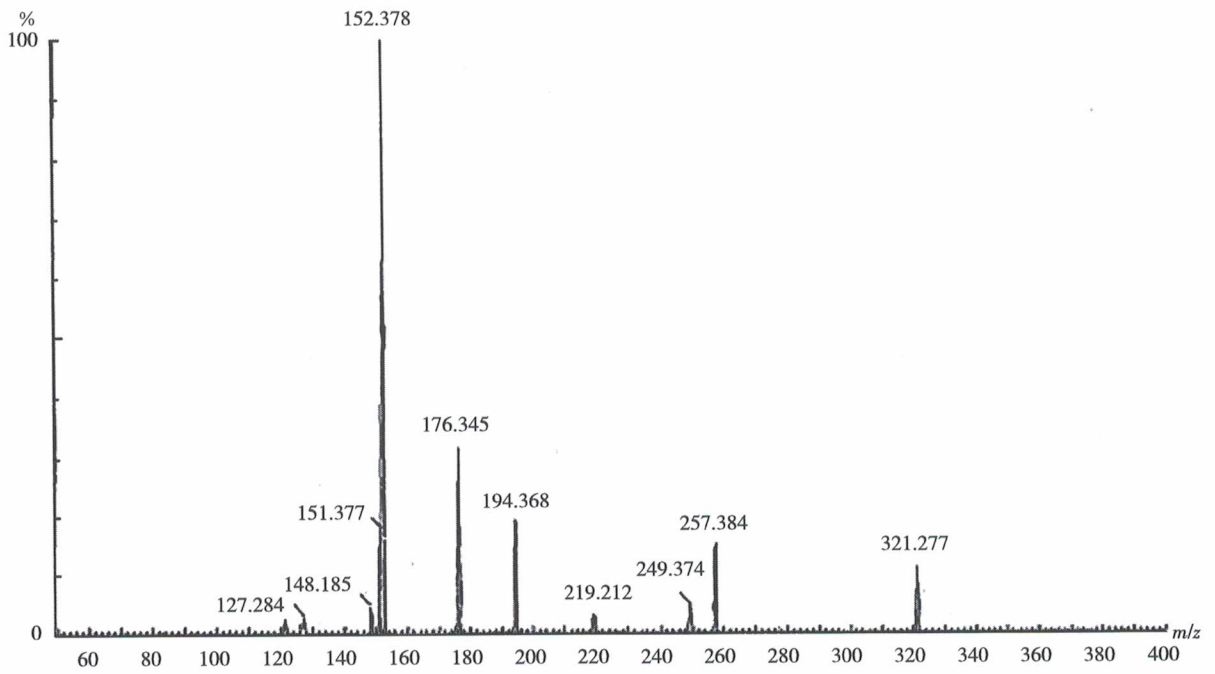
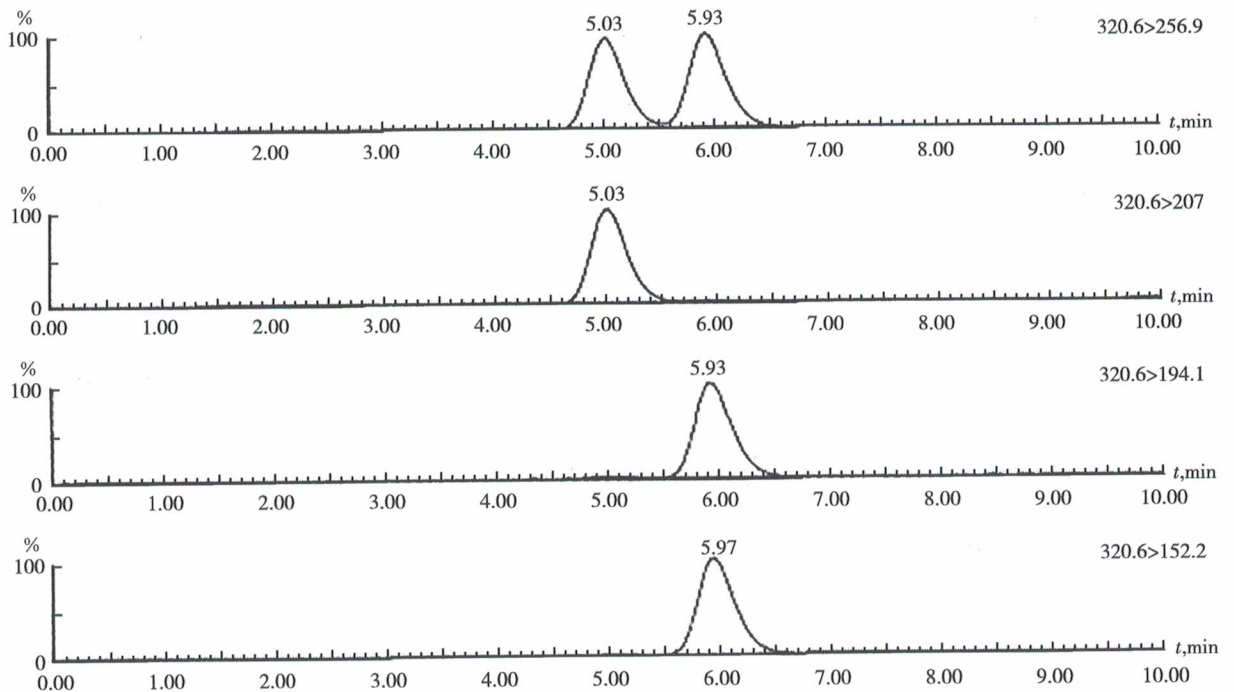


图 A.1 氯霉素特征离子质谱图



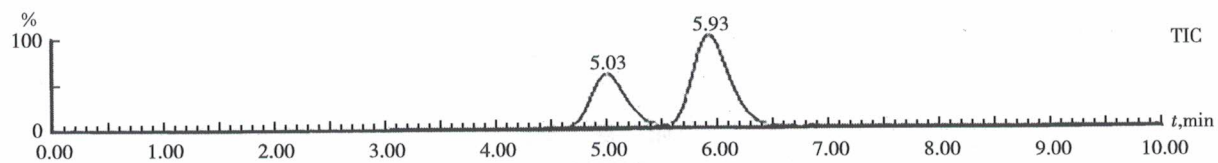


图 A.2 标准溶液中氯霉素及内标特征离子质量色谱图

中华人民共和国
国家标准
食品安全国家标准
动物性食品中氯霉素残留量的测定
液相色谱-串联质谱法

GB 31658.2—2021

* * *

中国农业出版社出版
(北京市朝阳区麦子店街18号楼)

(邮政编码:100125 网址:www.ccap.com.cn)

北京印刷一厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

* * *

开本 880mm×1230mm 1/16 印张 0.75 字数 15千字

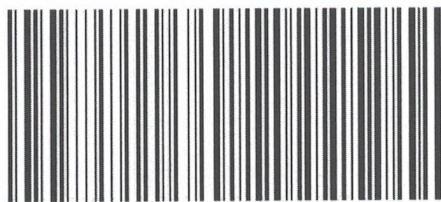
2022年1月第1版 2022年1月北京第1次印刷

书号: 16109·8753

定价: 24.00元

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 59194261



GB 31658.2—2021