



中华人民共和国国家标准

GB/T 21165—2007

肠衣中氯霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of chloramphenicol residues in casing—
LC-MS/MS method

2007-10-31 发布

2008-04-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国江苏出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：徐锦忠、吴斌、李丽花、沈崇钰、赵增运、丁涛、陈惠兰、张扬、蒋原、蔡宝亮、陶宏锦。

肠衣中氯霉素残留量的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了肠衣中氯霉素残留量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于肠衣中氯霉素残留量的测定。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—1992, neq ISO 3696:1987)

3 方法提要

试样加入内标后用乙酸乙酯提取,蒸干提取溶液,利用液相色谱-串联质谱仪测定,梯度洗脱去除基质干扰,内标法定量。

4 试剂和材料

4.1 水:应符合 GB/T 6682 规定的一级水。

4.2 甲醇:HPLC 级。

4.3 乙酸乙酯:分析纯。

4.4 氘代氯霉素内标:纯度 $\geq 99\%$ 。

4.5 氯霉素标准物质:纯度 $\geq 99\%$ 。

4.6 氯霉素标准储备溶液:0.1 mg/mL。准确称取适量的氯霉素标准物质(4.5),用甲醇配成 0.1 mg/mL 的标准储备液。储备液贮存在 4℃ 冰箱中,可使用 2 个月。

4.7 氘代氯霉素内标储备溶液:0.1 mg/mL。准确称取适量的氘代氯霉素标准物质(4.4),用甲醇配成 0.1 mg/mL 的标准储备液。储备液贮存在 4℃ 冰箱中。

4.8 氘代氯霉素内标工作溶液:取适量内标储备液稀释成 50.0 ng/mL 工作溶液,内标工作溶液在 4℃ 保存。

4.9 氯霉素标准工作溶液:用空白样品提取液分别配成氯霉素浓度为 0.2 ng/mL、0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL 标准工作溶液,标准工作溶液中内标物浓度均为 5.0 ng/mL。标准工作溶液在 4℃ 保存,可使用一周。

5 仪器

5.1 液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源。

5.2 分析天平:感量 0.1 mg 和 0.01 g 各一台。

5.3 旋转蒸发器。

5.4 旋涡混匀器。

5.5 离心机。

5.6 移液器:10 mL和200 μ L。

5.7 离心管:50 mL,具塞。

5.8 浓缩瓶:50 mL。

6 试样的制备与保存

6.1 试样制备

将实验室样品绞碎均匀,分出0.5 kg作为试样。制备好的试样置于样品瓶中,密封,并做上标记。

6.2 试样保存

将试样于 -18°C 下保存。

7 测定步骤

7.1 样品处理

称取5 g试样,精确到0.01 g。置于50 mL具塞离心管中,加入0.100 mL 50.0 ng/mL的内标物(4.8),加入10 mL乙酸乙酯,于旋涡混匀器上快速混合2 min,以2 000 r/min离心5 min,收集上层清液于干净浓缩瓶中,再次加入6 mL乙酸乙酯,于旋涡混匀器上快速混合2 min,以2 000 r/min离心5 min,合并上清液,于 40°C 水浴中旋转蒸发至干,用甲醇+水(30+70)定容至1.0 mL,溶液过 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜到进样瓶中,供液相色谱-串联质谱仪测定。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱条件

- 色谱柱:ODS C_{18} , $5\ \mu\text{m}$, $150\ \text{mm}\times 2.1\ \text{mm}$ (内径),或相当者;
- 流动相:甲醇(A)+水(B),0 min~3.0 min 30%~90% A, 3.0 min~6.0 min 90% A, 6.0 min~6.1 min 30% A, 6.1 min~8.0 min 30% A;
- 流速:0.2 mL/min;
- 柱温: 30°C ;
- 进样量:25 μL 。

7.2.2 串联质谱条件

- 离子源:电喷雾离子源(ESI),正离子监测;
- 扫描方式:选择离子检测(SRM);
- 雾化气、鞘气为高纯氮气,碰撞气为高纯氦气;
- 电喷雾电压、碰撞电压等自动优化至最佳值;
- 定性离子对、定量离子对和碰撞气能量见表1。

表1 定性离子对、定量离子对和碰撞气能量

定性离子对(m/z)	定量离子对(m/z)	碰撞气能量/eV
321/176	321/152	-17
321/152		-19
321/194		-16
326/157(内标)	326/157(内标)	-19

7.3 液相色谱-质谱测定

氯霉素标准工作溶液(4.9)在液相色谱-串联质谱设定条件下分别进样,以标准与内标物峰面积比值为纵坐标,工作溶液浓度(ng/mL)为横坐标,绘制6点标准工作曲线,用标准工作曲线对样品进行定量,样品溶液中氯霉素的响应值均应在仪器测定的线性范围内。在上述色谱条件下,氯霉素参考保留时间为 $3.60\ \text{min}\pm 0.2\ \text{min}$ 。氯霉素标准物质色谱图和质谱图参见图A.1。

7.4 空白试验

除不加入试样外,均按上述步骤进行。

8 结果计算

结果用色谱数据处理机或按式(1)计算,计算结果需扣除空白值:

$$c_x = \frac{R_x \cdot m_s}{R_s \cdot m} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

c_x ——样品中氯霉素的浓度,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

R_x ——样品中氯霉素的峰面积与相应内标峰面积比值;

m_s ——氯霉素标准品的质量,单位为纳克(ng);

R_s ——标准品中氯霉素的峰面积与相应内标峰面积比值;

m ——样品质量,单位为克(g)。

9 检测低限和回收率

9.1 检测低限

本方法对肠衣中氯霉素残留量的检测低限为 $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 回收率

肠衣中氯霉素添加浓度及平均回收率(内标校正)的试验数据:

在 $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时,回收率范围为 $74.0\% \sim 130.0\%$;

在 $0.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时,回收率范围为 $91.8\% \sim 136.0\%$;

在 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时,回收率范围为 $93.7\% \sim 134.1\%$ 。

附录 A
(资料性附录)
标准物质色谱-质谱图

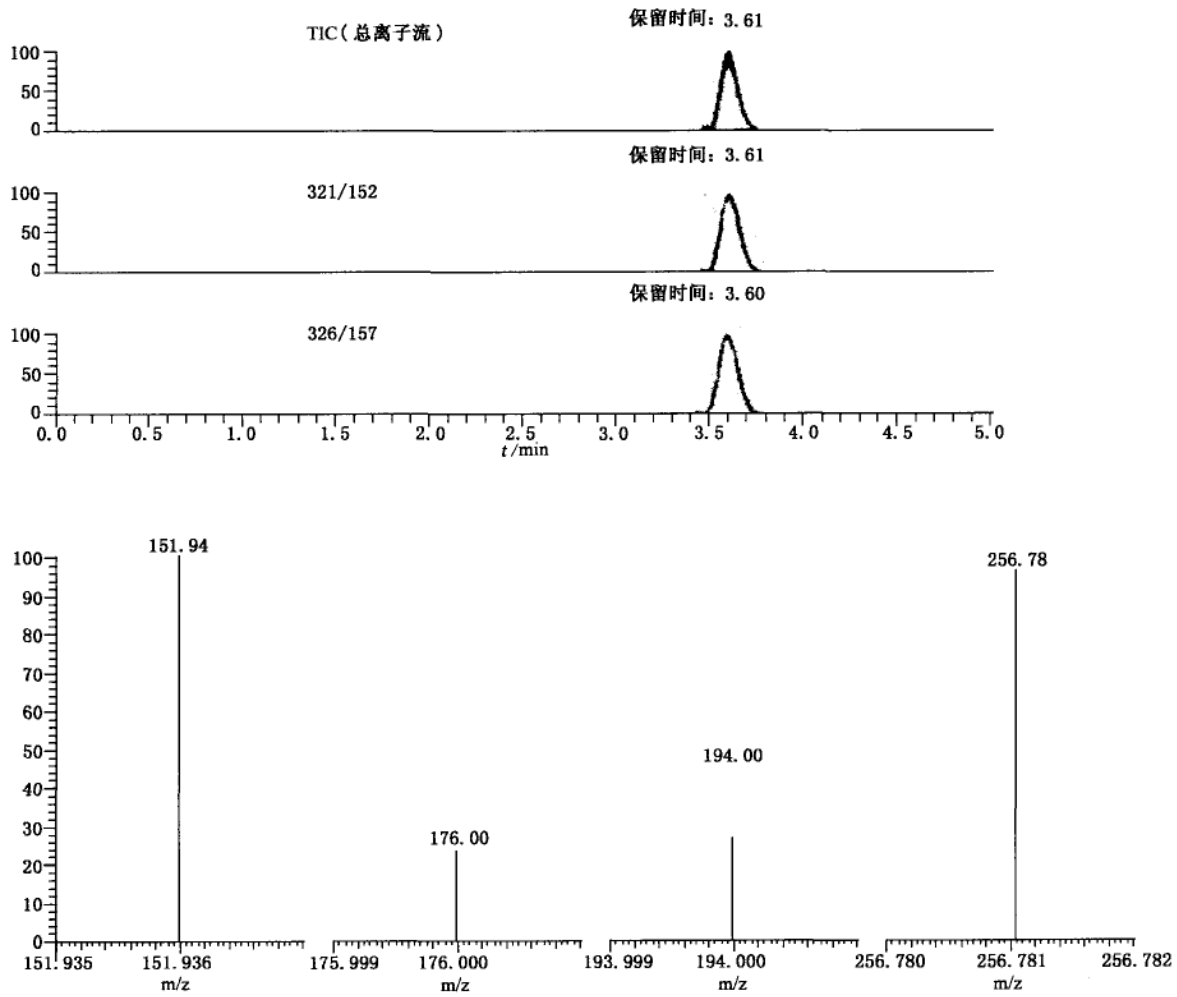


图 A.1 氯霉素标准溶液的液相色谱-串联质谱的总离子流和氯霉素与氯霉素内标的选择离子色谱图及选择离子棒状图