

中华人民共和国国家标准

农业部 781 号公告 — 1 — 2006

动物源食品中氯霉素残留量的测定 气相色谱—质谱法

The determination of chloramphenicol in animal tissues
by GC-MS method

2006-12-16 发布

2006-12-16 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准起草单位：农业部畜禽产品质量监督检验测试中心。

本标准主要起草人：薛毅、单吉浩、王海、刘素英、吴银良、刘勇军、蔡英华、尤华。

动物源食品中氯霉素残留量的测定 气相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了动物源产品中氯霉素残留量检测的制样和气相色谱-质谱的测定方法。

本标准适用于鸡肌肉、鸡肝中氯霉素的残留量检测。

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文本。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—2001 标准化工作导则第 1 部分:标准的结构和编写规则(ISO, IEC Directives, Part 3, 1997, Rules for structure and drafting of international standard, NEQ)。

GB/T 6682—1992 分析实验室用水规则和实验方法。

3 制样

3.1 样品的制备

取适量新鲜或冷冻的空白或供试组织,绞碎并使均匀。

3.2 样品的保存

—20℃ 以下冰箱中贮存备用。

4 测定方法

4.1 方法提要或原理

乙腈-4%氯化钠水溶液(1+1)溶液、乙酸乙酯重复提取,正己烷除去脂肪杂质,C₁₈固相萃取柱进一步净化,N₂气吹干后用 BSTFA-TMCS 衍生化反应,定容后用气相色谱-质谱测定。

4.2 试剂和材料

以下所用的试剂,除特别注明外,均为分析纯试剂;水为符合 GB/T 6682 规定的二级水。

4.2.1 氯霉素 含氯霉素(C₁₁H₁₀C₁₂N₂O₅)不得少于 98%。

4.2.2 乙腈 色谱纯。

4.2.3 甲苯 色谱纯。

4.2.4 十水合四硼酸钠。

4.2.5 乙酸乙酯 色谱纯,用前用水饱和后取上层有机相。

4.2.6 甲醇 色谱纯。

4.2.7 三氯甲烷 色谱纯。

4.2.8 氯化钠

4.2.9 4%氯化钠溶液 取氯化钠 4 g,加水稀释并定容至 100 mL。

4.2.10 乙腈-4%氯化钠(1+1)水溶液 乙腈-4%氯化钠水溶液(1+1,体积比)。

4.2.11 5%乙腈-水溶液 取乙腈 5 mL,加入水 95 mL 混合均匀。

4.2.12 50%乙腈-水溶液 取乙腈 50 mL,加入水 50 mL 混合均匀。

4.2.13 衍生化试剂 BSTFA-TMCS (99+1)

4.2.14 氯霉素标准储备液 精确称取适量的氯霉素标准品,加乙腈使溶解并稀释至浓度约为 1.0 mg/mL 的储备液,置 2℃~8℃冰箱中保存,有效期 3 个月。

4.2.15 氯霉素标准工作液 准确量取适量氯霉素标准储备液,用乙腈稀释成适宜浓度的氯霉素标准工作液。

4.3 仪器和设备

4.3.1 气相色谱仪(配质谱检测器)。

4.3.2 分析天平 感量 0.000 01 g。

4.3.3 天平 感量 0.01 g。

4.3.4 涡旋振荡混合器。

4.3.5 组织匀浆机。

4.3.6 离心管 50 mL。

4.3.7 固相萃取装置。

4.3.8 离心机。

4.3.9 C₁₈固相萃取小柱 3 mL,500 mg。

4.3.10 氮气吹干装置。

4.3.11 旋转蒸发仪。

4.3.12 恒温箱。

4.4 测定步骤

4.4.1 试料的制备

试料的制备包括:

——取绞碎后的供试样品,作为供试材料。

——取绞碎后的空白样品,作为空白材料。

——取绞碎后的空白样品,添加适宜浓度的标准溶液作为空白添加试料。

4.4.2 提取

称取(5±0.05) g 试料,置 30 mL 匀浆杯中,加乙腈-4%氯化钠(1+1)水溶液 10 mL,10 000 r/min 匀浆 0.5 min,匀浆液转入 50 mL 离心管中,混合振荡 5 min,4 000 r/min 离心 10 min,上清液转入 50 mL 分液漏斗中;用乙腈-4%氯化钠(1+1)水溶液 10 mL 洗匀浆机刀头及匀浆杯,转入 50 mL 离心管中洗残渣,混合振荡 5 min,4 000 r/min 离心 5 min。合并上清液于 50 mL 分液漏斗中,加正己烷 20 mL,振荡后静止分层,取下层溶液于 50 mL 离心管中,加乙酸乙酯 10 mL,涡旋混合,4 000 r/min 离心 5 min,转移上层有机相于梨形瓶中;在下层溶液加乙酸乙酯 10 mL,涡旋混合,4 000 r/min 离心 5 min,合并上层有机相于同一梨形瓶中,50℃水浴中旋转蒸发至干,加 5%乙腈-水溶液 3 mL 溶解残留物,作为备用液。

4.4.3 净化

取 C₁₈固相萃取小柱依次用甲醇 5 mL、三氯甲烷 5 mL 和水 10 mL 润洗,上述备用液过柱,5%乙腈-水溶液 5 mL 淋洗,真空抽干,加 50%乙腈-水溶液 3 mL 洗脱,真空抽干,收集洗脱液,加 3 mL 乙酸乙酯,涡旋混合,4 000 r/min 离心,转移上层有机相;下层溶液加乙酸乙酯 3 mL,涡旋混合,4 000 r/min 离心,合并上层有机相于一具塞玻璃试管中,40℃下氮气吹干。

在样液过柱和洗脱过程中流速控制在 1 mL/min 左右。

4.4.4 衍生化及检测

将上述盛有残渣的具塞玻璃试管放入 50℃烘箱中加热片刻,保证试管中没有水分后,加入甲苯 100 μL 和双三甲基硅基三氟乙酰胺 BSTFA+TMCS (99:1)100 μL,涡旋振荡 20 s,密封玻璃塞,置于 80℃恒

温烘箱中加热 1 h, 冷却后加入 300 μL 甲苯, 作为试样溶液, 供气相色谱-质谱分析。

4.4.5 标准曲线的制备

准确量取适量氯霉素标准储备液, 用乙腈稀释成 0.005、0.01、0.05、0.10、0.40 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作液, 分别准确吸取 0.50 mL, 氮气吹干, 用相同办法衍生, 供气相色谱-质谱分析。

4.4.6 测定

4.4.6.1 色谱及质谱条件

气相色谱-质谱(负离子化学源 CI^-)。

色谱柱: HP-5 MS 5% 苯基甲基聚硅氧烷, 30 m $\times$ 0.25 mm(i.d.), 0.25 μm 。

进样口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$ 。

进样方式: 不分流。进样体积: 1 μL 。

柱温: 150 $^{\circ}\text{C}$ ~ 320 $^{\circ}\text{C}$, 150 $^{\circ}\text{C}$ 保持 5 min, 然后以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 320 $^{\circ}\text{C}$ 。

进样口: 250 $^{\circ}\text{C}$; 四极杆温度: 106 $^{\circ}\text{C}$; 源温度: 150 $^{\circ}\text{C}$ 。

载气: 高纯氮气(>99.999%); 流速: 0.8 mL/min。

选择离子(M/Z): 376, 466, 468, 470。

溶剂延迟: 8 min。

4.4.6.2 测定法

取适量试样溶液和相应的标准工作溶液, 作单点或多点校准, 以 466 碎片离子色谱峰面积积分值定量。标准工作液及试样液中的氯霉素响应值均应在仪器检测的线性范围之内。样品溶液的 4 个选择离子丰度须与标准溶液的 4 个选择离子丰度一致或在一定范围之内可判断为样品中含有氯霉素; 标准溶液和试样溶液的总离子色谱图(TIC)和选择离子色谱图(SIM)见附录。

4.4.7 空白实验

除不加试料外, 采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

4.5 结果计算和表述

按下式(1)计算试料中氯霉素的残留量($\mu\text{g/kg}$):

$$X = \frac{AC_s V}{A_s M} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X —— 试料中氯霉素的残留量($\mu\text{g/kg}$);

A —— 试样溶液中氯霉素定量离子的峰面积;

A_s —— 标准工作液中氯霉素定量离子的峰面积;

C_s —— 标准工作液中氯霉素的浓度(ng/mL);

V —— 试样溶液体积(mL);

M —— 组织样品的质量(g)。

注: 计算结果扣除空白值, 测定结果用平行测定的算术平均值表示, 保留至小数点后 2 位。

5 检测方法灵敏度、准确度、精密度

5.1 灵敏度

本方法在鸡肌肉、鸡肝中的检出限为 0.1 $\mu\text{g/kg}$, 定量限为 0.5 $\mu\text{g/kg}$ 。

5.2 准确度

本方法在 0.5 $\mu\text{g/kg}$ ~ 5 $\mu\text{g/kg}$ 添加浓度的回收率为: 60% ~ 110%。

5.3 精密度

本方法的批内变异系数 $\text{CV} \leq 10\%$, 批间变异系数 $\text{CV} \leq 15\%$ 。

附 录
(资料性附录)

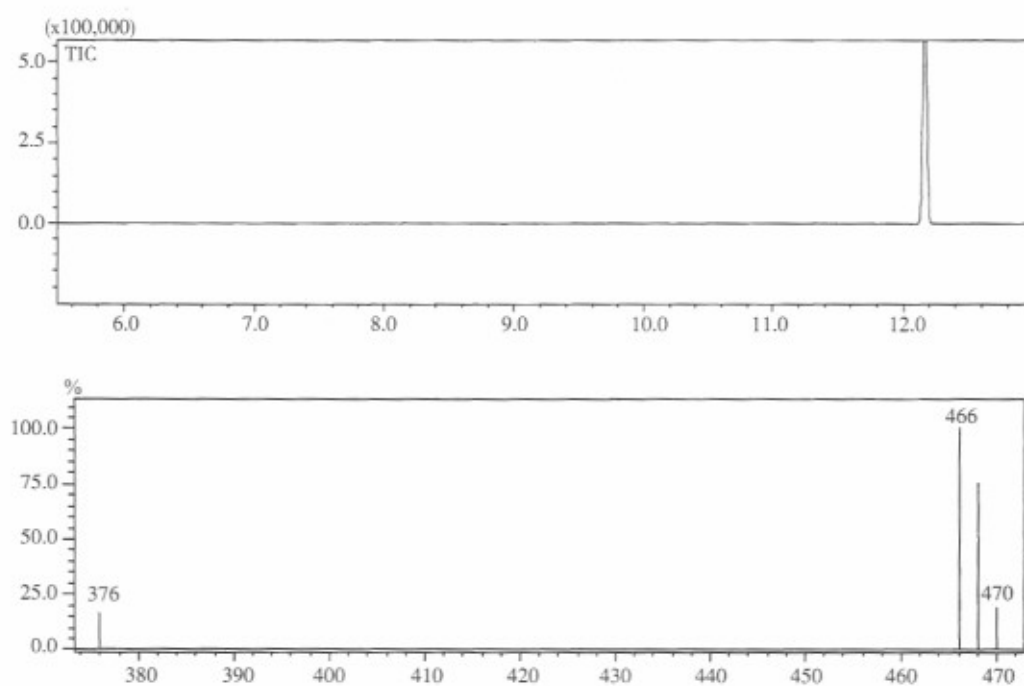


图 1 氯霉素标准溶液衍生物 GC-MS 的总离子流图(TIC)及选择离子质谱图(SIM)

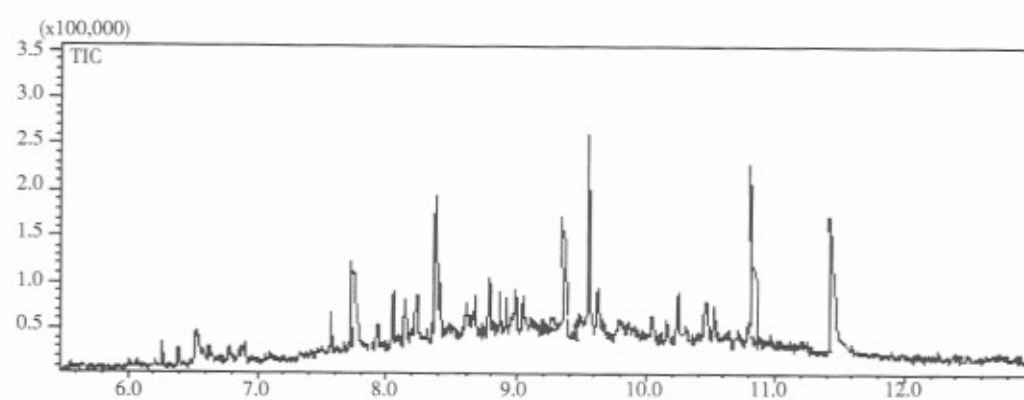


图 2 空白鸡肉的总离子流图(TIC)

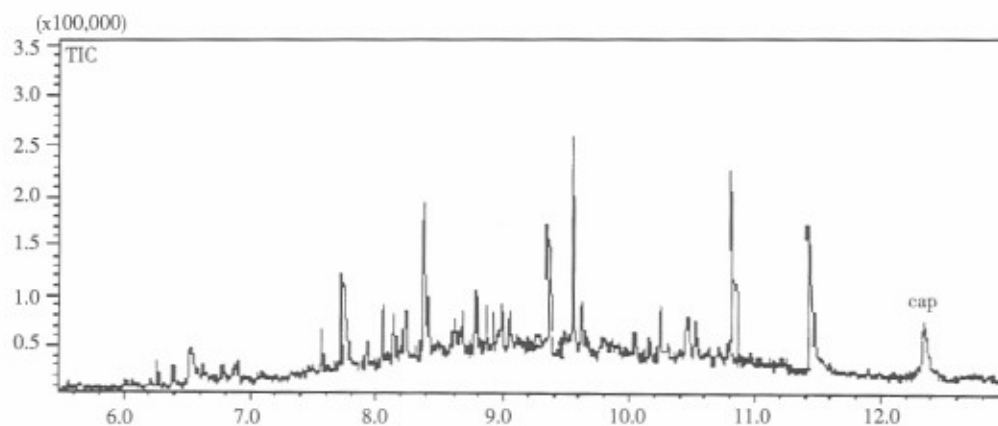


图 3 空白鸡肉中添加氯霉素标准溶液后(0.5 µg/kg)的总离子流图(TIC)

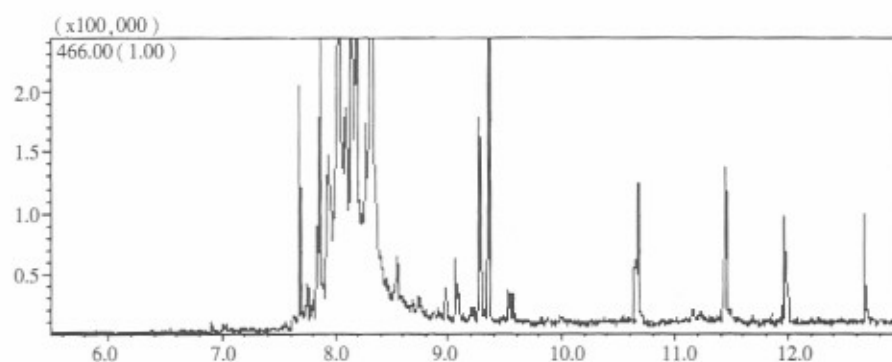


图 4 空白鸡肝的总离子流图(TIC)

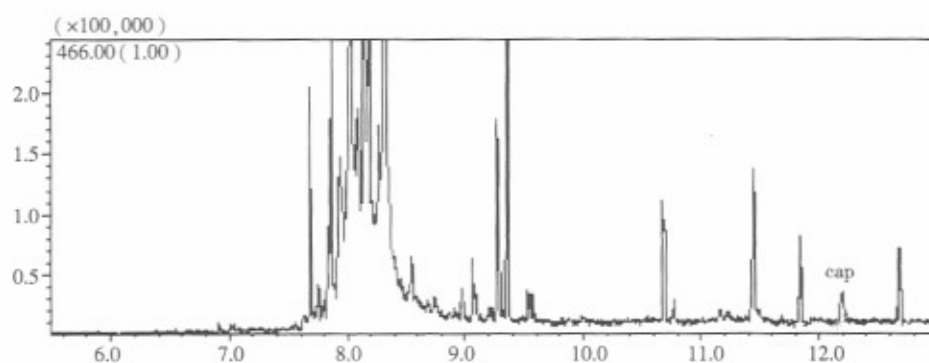


图 5 空白鸡肝中添加氯霉素标准溶液后(0.5 µg/kg)的总离子流图(TIC)