ICS 67.050
B 50

中华人民共和国国家标准

农业部958号公告—14—2007

水产品中氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素残留量的测定　气相色谱—质谱法

Determination of chloramphenicol,thiamphenicol and florfenicol in fishery products by GC-MS

2007-12-18 发布　　　　2008-03-01 实施

中华人民共和国农业部　发布

前　言

本标准附录A为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部渔业局提出。

本标准由全国水产标准化技术委员会水产品加工分技术委员会归口。

本标准起草单位：国家水产品质量监督检验中心。

本标准主要起草人：冷凯良、孙伟红、王志杰、王联珠、翟毓秀。

水产品中氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素残留量的测定 气相色谱—质谱法

1 范围

本标准规定了水产品中氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素残留量的气相色谱—质谱测定方法。

本标准适用于水产品可食部分中氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素残留量的测定。

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

3 原理

试样中残留的氯霉素、甲砜霉素和氟甲砜霉素以乙酸乙酯超声波提取，正己烷液-液萃取去脂，固相萃取柱净化，硅烷化衍生后用气相色谱—质谱仪测定，内标法定量。

4 试剂

除另有说明外，试验用水为GB/T 6682规定的一级水。

4.1 乙酸乙酯：色谱纯。

4.2 正己烷：优级纯。

4.3 甲醇：色谱纯。

4.4 乙腈：色谱纯。

4.5 无水硫酸钠：分析纯，650℃灼烧4 h，冷却后贮于密闭容器中备用。

4.6 氯化钠：分析纯。

4.7 4%氯化钠溶液：称取氯化钠20 g，加水溶解，稀释到500 mL。

4.8 衍生化试剂：N,O-双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(BSTFA)/三甲基氯硅烷(TMCS)体积比99∶1。

4.9 氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素标准品：纯度均≥99%。

4.10 氘代氯霉素内标标准溶液：100 μg/mL。

4.11 氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素标准储备溶液：分别准确称取氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素标准品0.01 g(准确到0.000 1 g)，用甲醇溶解并定容于50 mL容量瓶中，分别配成浓度为200 μg/mL的标准储备溶液，置−18℃冰箱中保存，可使用12个月。

4.12 氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素混和标准储备溶液：分别准确移取适量氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素标准储备溶液，用甲醇稀释配成浓度为1 μg/mL的混合标准储备溶液，置−18℃冰箱中保存，可使用6个月。

4.13 氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素混和标准使用溶液：准确移取适量氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素混合标准储备溶液，用甲醇稀释配成浓度为0.1 μg/mL的混合标准使用溶液，置4℃冰箱中保存，可使

用3个月。

4.14 氘代氯霉素内标标准储备溶液：准确移取适量氘代氯霉素标准溶液(4.10)，用甲醇稀释配成浓度为1 μg/mL的内标标准储备溶液，置−18℃冰箱中保存，可使用6个月。

4.15 氘代氯霉素内标标准使用溶液：准确移取适量氘代氯霉素内标标准储备溶液，用甲醇稀释配成浓度为0.1 μg/mL的内标标准使用溶液，置4℃冰箱中保存，可使用3个月。

5 仪器与设备

5.1 气相色谱—质谱仪：配有化学源。

5.2 电子天平：感量0.000 1 g和0.01 g各一台。

5.3 离心机。

5.4 涡旋混合器。

5.5 超声波清洗器。

5.6 旋转蒸发器。

5.7 烘箱。

5.8 梨形瓶：50 mL、100 mL，细口。

5.9 离心管：50 mL，具塞。

5.10 刻度离心管：5 mL，具塞。

5.11 氮吹仪。

5.12 C_{18}固相萃取柱，填料300 mg。

5.13 固相萃取装置。

5.14 无水硫酸钠柱：砂芯玻璃层析柱中装无水硫酸钠5 g。

5.15 高速组织捣碎机：转速不低于20 000 r/min。

6 测定步骤

6.1 试样的制备

鱼，去鳞，沿脊背取肌肉和皮；虾，去头、去壳、去附肢，取可食肌肉部分；贝类，去壳，取可食部分；蟹、甲鱼等，取可食肌肉部分。样品切为不大于0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm的小块后混匀，高速组织捣碎机(5.15)充分匀浆，密封，标明标记。−18℃以下冷冻保存。

6.2 提取

将试样解冻，称取试样5 g(精确到0.01 g)，置于50 mL具塞离心管中，加入氘代氯霉素内标标准使用溶液(4.15)200 μL，再加入乙酸乙酯20 mL，涡旋混合1 min，超声20 min提取氯霉素、甲砜霉素和氟甲砜霉素，4 000 r/min离心5 min，将乙酸乙酯层转移到100 mL梨形瓶中。离心管中再加入乙酸乙酯15mL，涡旋混合均匀，超声波提取5 min，4 000 r/min离心5 min，合并乙酸乙酯提取液于100 mL梨形瓶中。在梨形瓶中加入5 mL4%NaCl溶液，于50℃～55℃水浴中旋转蒸发至溶液体积小于5 mL，蒸除乙酸乙酯。

6.3 脱脂

向梨形瓶中加入15 mL正己烷和20 mL4%氯化钠溶液，盖塞振荡混合1min，充分混合提取脂肪，转移到另一50 mL离心管中，4 000 r/min离心2 min，除去上层正己烷相。再加入10mL正己烷，重复提取一遍，弃去正己烷相。

水相中加入15 mL乙酸乙酯，旋涡混合2 min，4 000 r/min离心3 min，吸取乙酸乙酯层，经过无水硫酸钠柱(5.14)脱水过滤于50 mL梨形瓶中；再向水相中加入5 mL乙酸乙酯，重复上述操作；用5 mL

乙酸乙酯淋洗无水硫酸钠柱，合并提取液于 50 mL 梨形瓶中，在 45℃水浴中旋转蒸发至近干。加入 2 mL 乙酸乙酯溶解提取物并转移于 5 mL 具塞刻度离心管(5.10)中，用 1 mL 乙酸乙酯洗涤梨形瓶，合并乙酸乙酯于刻度离心管中；于 50℃～55℃的砂浴中吹氮蒸发至近干，再用 1 mL 乙酸乙酯洗涤刻度离心管壁并吹干，待衍生化。

6.4 C_{18}柱净化

通常情况下，经 6.3 步骤净化的样品，离心管内应无明显残留物。但是，部分油脂含量高、不易净化的样品，离心管内可能存有明显残留物，可经 C_{18}柱进一步净化。

给每个试样准备一根 C_{18}柱，依次用 5 mL 甲醇和 10 mL 水淋洗活化 C_{18}柱，弃掉洗涤液。用 5 mL5%(*V*/*V*)的乙腈水溶液溶解 6.3 中的提取物，移入 C_{18}柱过柱，流速保持每秒一滴，用 2 mL 水分两次洗涤梨形瓶并过柱；5 mL 水淋洗 C_{18}柱，弃去全部淋洗液；微氮吹干或负压抽干 C_{18}柱；用 3 mL 乙腈分 2 次洗脱 C_{18}柱，合并洗脱液于 5 mL 具塞刻度离心管中。于 50℃～55℃的砂浴中吹氮蒸发至近干，再用 1 mL 乙腈洗涤离心管壁并吹干，待衍生化。

6.5 衍生化

在吹干的提取物中加入 100 μL 衍生化试剂(4.8)，盖塞并涡旋混合 10 s，在 70℃烘箱中反应 30 min；取出冷却至室温，氮气吹干，准确加入 0.5 mL 正己烷，涡旋混匀，供气相色谱—质谱分析。

6.6 基质混合标准工作溶液

根据每种标准的灵敏度和仪器线性范围，移取一定量的混合标准使用溶液(4.13)加入 5 g 空白试样中，以下按本方法 6.2、6.3、6.4 和 6.5 步骤操作。

6.7 测定

6.7.1 气相色谱—质谱测定条件

色谱柱：DB-5 ms 石英毛细管柱，30 m×0.25 mm×0.25 μm，或性能相当者。

载气：氦气，纯度≥99.999%，流速 1.0 mL/min。

进样口温度：220℃。

柱温：初始柱温 50℃，保持 1 min，25℃/min 升至 280℃，保持 5 min。

进样方式：无分流进样。

进样量：1 μL。

接口温度：250℃。

离子源：负化学源。

离子源温度：120℃。

反应气：甲烷，纯度≥99.99%。

反应气流量：35%。

溶剂延迟：10 min。

测定方式：选择离子检测(SIM)。

监测离子：氘代氯霉素硅烷化衍生物 *m*/*z*381、383、471、473；氯霉素硅烷化衍生物 *m*/*z*376、378、466、468；甲砜霉素硅烷化衍生物 *m*/*z*409、411、499、501；氟甲砜霉素硅烷化衍生物 *m*/*z*339、341、429、431。

6.7.2 定性测定

分别注入 1 μL 适当浓度的氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素混合标准衍生化工作液及试样衍生化溶液于气相色谱—质谱仪中，在同一条件下进行分析，如试样检出色谱峰的保留时间与标准品相一致，并且在扣除背景后的试样质谱图中，所选择的特征离子均出现，而且所选择离子的相对丰度与浓度相近的标准品衍生物相应选择离子的相对丰度相一致，且偏差不超过表 1 规定的范围，则可判断试样中存在被测化合物。

表1 试样相对离子丰度与标准物质相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 (%)	最大允许偏差 (%)
>50	±20
>20～50	±25
>10～20	±30
≤10	±50

6.7.3 定量测定

分别以 m/z 471、466、409、429 为氘代氯霉素、氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素的定量离子，以峰面积按内标法进行单点或多点校准定量，标准工作液和试样液中药物响应值均应在仪器检测线性范围内。为减少基质的影响，定量用标准应采用空白基质加标混合标准工作溶液。

6.8 空白实验

除不加试样外，均按上述测定步骤进行。

7 计算

试样中氯霉素、甲砜霉素和氟甲砜霉素的残留量按公式(1)分别计算。

$$X = \frac{C \times C_i \times A \times A_{si} \times V \times 1\,000}{C_{si} \times A_i \times A_s \times m} \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：

X——试样中待测组分残留量，单位为微克每千克(μg/kg)；

C——基质标准工作溶液中被测物的浓度，单位为微克每毫升(μg/mL)；

C_{si}——基质标准工作溶液中内标物的浓度，单位为微克每毫升(μg/mL)；

C_i——试样溶液中内标物的浓度，单位为微克每毫升(μg/mL)；

A——试样溶液中被测组分的峰面积；

A_s——基质标准工作溶液中被测物的峰面积；

A_{si}——基质标准工作溶液中内标物的峰面积；

A_i——试样溶液中内标物的峰面积；

V——试样溶液最终定容体积，单位为毫升(mL)；

m——试样称样量，单位为克(g)。

注：计算结果应扣除空白值，结果保留两位小数。

8 精密度

本方法的批内变异系数 CV≤15%，批间变异系数 CV≤20%。

9 灵敏度

方法检出限：氯霉素为 0.3 μg/kg，甲砜霉素和氟甲砜霉素均为 1.0 μg/kg。

10 线性范围

氯霉素 0.002 μg/mL～0.2 μg/mL，甲砜霉素和氟甲砜霉素 0.005 μg/mL～0.2 μg/mL。

11 准确度

氯霉素在添加浓度为 0.3 μg/kg～10.0 μg/kg，甲砜霉素和氟甲砜霉素在添加浓度为 1.0 μg/kg～10.0 μg/kg 时，回收率均为 70%～120%。

附 录 A
（资料性附录）
标准物质衍生物选择离子流图和质谱图

A.1 氘代氯霉素、氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素标准品衍生物选择离子流图，见图 A.1。

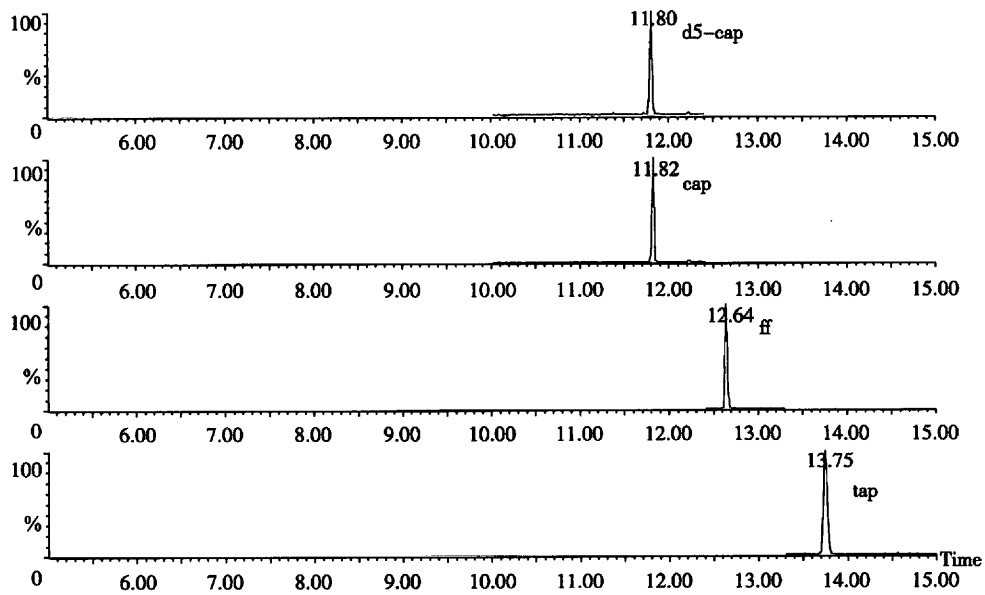


图 A.1

A.2 氘代氯霉素、氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素空白加标样品衍生物选择离子流图，见图 A.2。

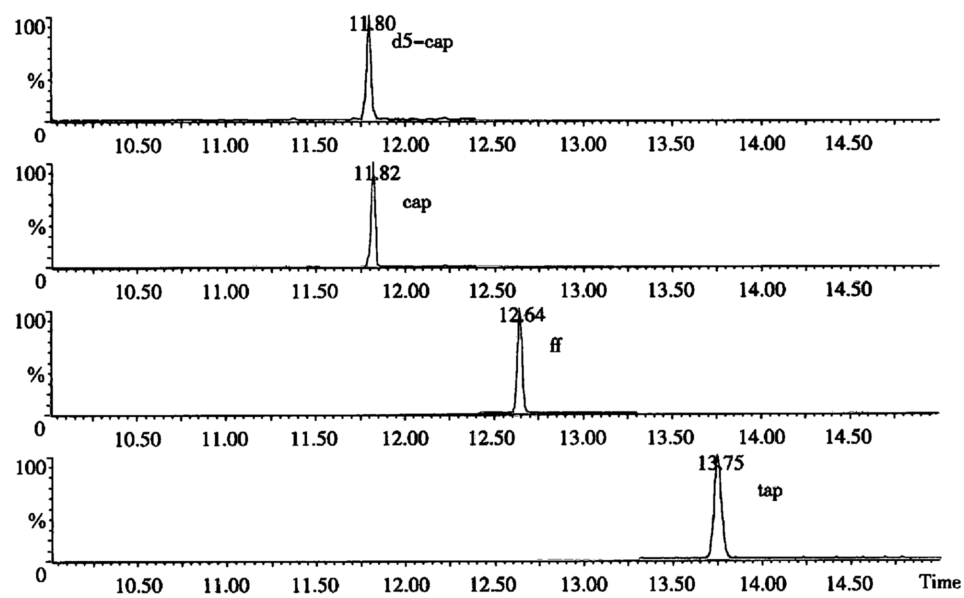
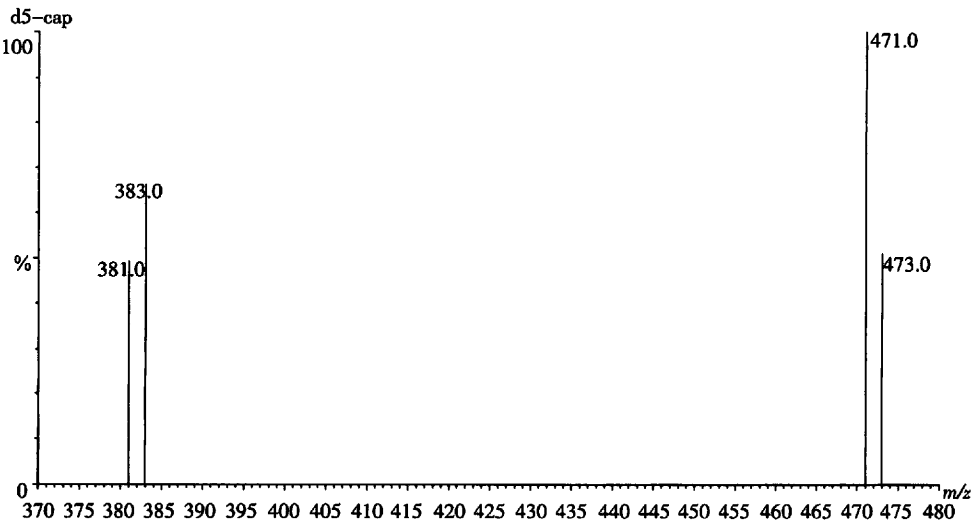


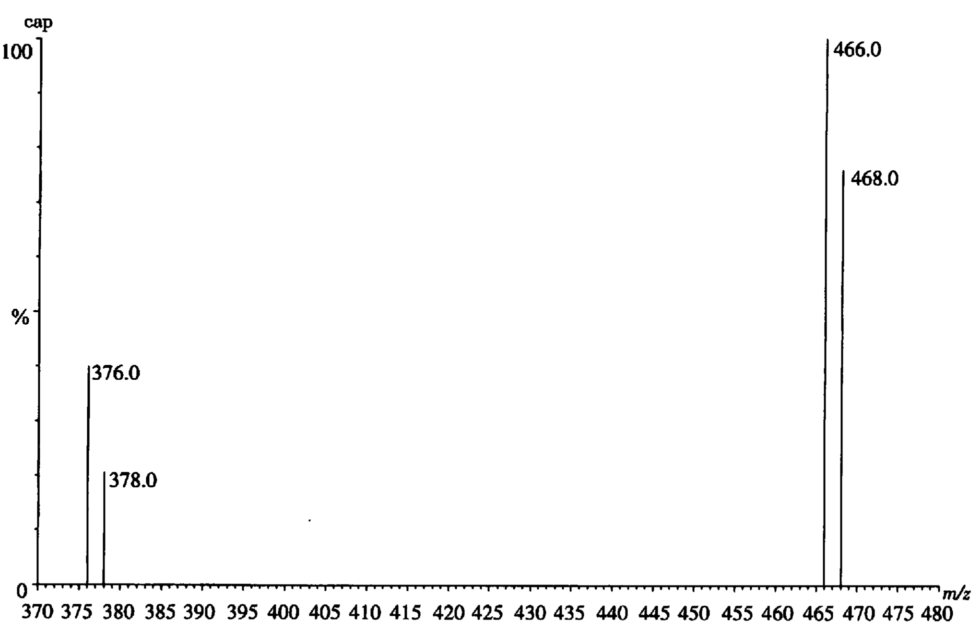
图 A.2

A.3 氘代氯霉素标准品衍生物选择离子质谱图，见图A.3。



图A.3

A.4 氯霉素标准品衍生物选择离子质谱图，见图A.4。



图A.4

A.5 甲砜霉素标准品衍生物选择离子质谱图，见图A.5。

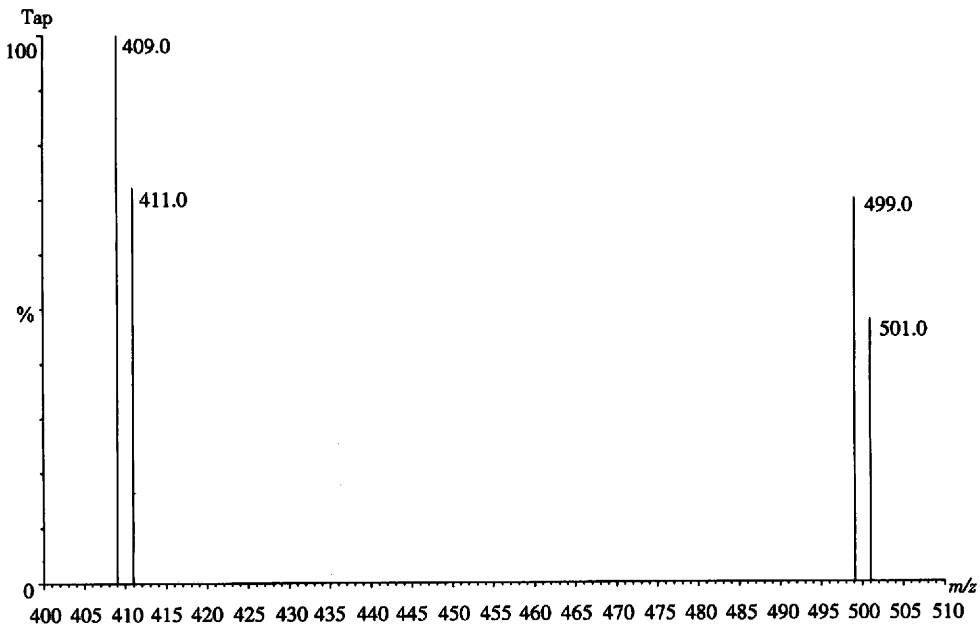


图 A.5

A.6 氟甲砜霉素标准品衍生物选择离子质谱图，见图 A.6。

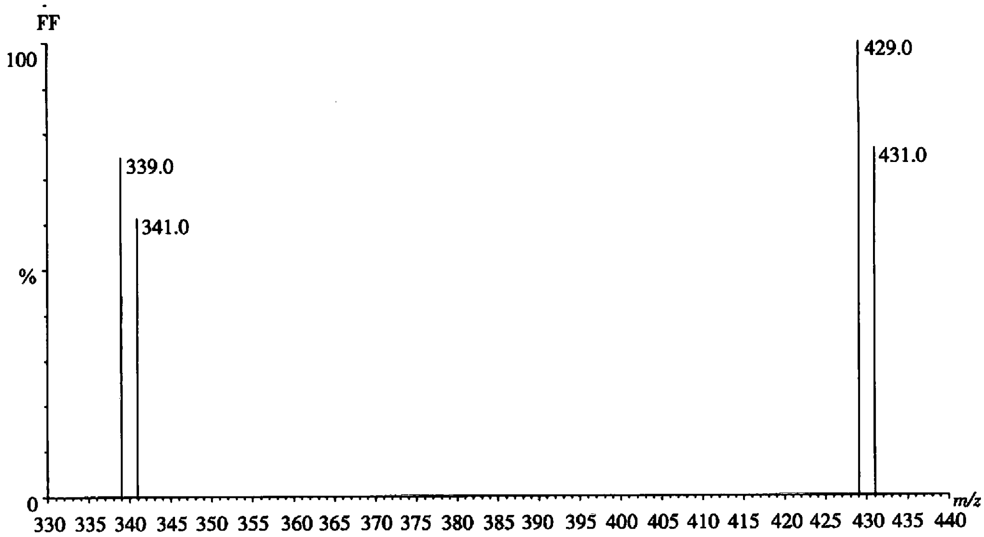


图 A.6

农业部 958 号公告—14—2007

中华人民共和国

国家标准

水产品中氯霉素、甲砜霉素、氟甲砜霉素

残留量的测定　气相色谱—质谱法

农业部 958 号公告—14—2007

*　　*　　*

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：100026　　网址：www. ccap. com. cn）

中国农业出版社印刷厂印刷

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 7 千字

2008 年 3 月第 1 版　　2008 年 3 月北京第 1 次印刷

书号：16109・1455　　印数：1～500 册

定价：10.00 元

农业部958号公告-14—2007