

# 团 体 标 准

T/SATA 089—2025

## 蛋及蛋制品中酰胺醇类抗生素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of amide alcohol antibiotics in eggs and egg products—Liquid chromatography-tandem mass spectrometry

2025 - 06 - 20 发布

2025 - 07 - 20 实施

深圳市分析测试协会 发布



## 目 次

前言 .....	II
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 原理 .....	1
5 试剂和材料 .....	1
6 仪器设备 .....	2
7 试样制备与贮存 .....	2
8 测定步骤 .....	2
9 结果计算和表述 .....	4
10 方法灵敏度、准确度和精密度 .....	5
附录 A（资料性） 酰胺醇类药物及其代谢物和内标物质中英文通用名称、化学分子式和 CAS 号 .....	6
附录 B（资料性） 酰胺醇类药物及其代谢物和内标物质特征离子质量色谱图 .....	7

## 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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由深圳市分析测试协会归口。

本文件起草单位：深圳市农产品质量安全检验检测中心，深圳市莱博生物科技有限公司，深圳中检联检测有限公司，谱尼测试集团深圳有限公司，深圳市绿诗源生物技术有限公司，深圳华研农业科技有限公司。

本文件主要起草人：钟名琴、陈科、何玉榆、吴雯娟、林润昌、罗燕、全志学、梅婷、陈炜光、林杨、徐丽、李湘媛、许太基、李南。

# 蛋及蛋制品中酰胺醇类抗生素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法

## 1 范围

本文件规定了蛋及蛋制品中酰胺醇类药物及其代谢物残留量的液相色谱-串联质谱检测方法。

本文件适用于禽蛋及卤蛋、皮蛋、咸蛋等蛋制品中氯霉素、甲矾霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺残留量的测定。

## 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 分析实验室用水规则和试验方法

## 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 原理

试样经乙酸乙酯、氨水提取后，正己烷除脂，液相色谱-串联质谱仪测定，内标法定量。

## 5 试剂和材料

除另有规定外，所有试剂均为分析纯，水均符合 GB/T 6682 规定的一级水。

### 5.1 试剂

- 5.1.1 甲醇（ $\text{CH}_3\text{OH}$ ）：色谱纯。
- 5.1.2 乙腈（ $\text{CH}_3\text{CN}$ ）：色谱纯。
- 5.1.3 乙酸乙酯（ $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ ）：色谱纯。
- 5.1.4 正己烷（ $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ）：色谱纯。
- 5.1.5 氨水（ $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ ）。
- 5.1.6 无水硫酸钠（ $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ）。

### 5.2 溶液配制

0.02% 氨水溶液：准确量取氨水（5.1.5）0.200 mL，用水稀释并定容至 1000 mL。

### 5.3 标准品

氯霉素、甲矾霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺，均为有证物质，纯度均 $\geq 98\%$ ，氯霉素-D<sub>5</sub>内标，纯度均 $\geq 95\%$ ，具体见附录 A。

### 5.4 标准溶液制备

- 5.4.1 标准储备液：精密称取氯霉素、甲矾霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺各标准品适量(相当于各活性成分约 10.0 mg)于 100 mL 容量瓶，加甲醇溶解并定容至刻度，分别配制成浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准储备液。-18 $^{\circ}\text{C}$  以下保存，有效期 12 个月。
- 5.4.2 氯霉素氘代内标（氯霉素-D<sub>5</sub>）储备液：精密称取氯霉素-D<sub>5</sub> 适量(相当于各活性成分约 1.0 mg)

于 10.0 ml 容量瓶，加甲醇溶解并定容至刻度，配制成浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准储备液。 $-18^{\circ}\text{C}$  以下保存，有效期 12 个月。

5.4.3 混合标准中间液：分别精密量取氯霉素标准储备液（5.4.1）0.100 mL，甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺标准储备液（5.4.1）各 1.00 ml 于 10 mL 容量瓶，用甲醇定容至刻度，配制成氯霉素浓度为 1.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺浓度为 10.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  混合标准中间液。 $-18^{\circ}\text{C}$  以下保存，有效期 6 个月。

5.4.4 氯霉素氘代内标（氯霉素- $\text{D}_5$ ）中间液：分别精密量取氯霉素- $\text{D}_5$  内标储备液（5.4.2）0.100 mL 于 10.0 ml 容量瓶，用甲醇定容至刻度，配制成浓度为 1.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  内标中间液。 $-18^{\circ}\text{C}$  以下保存，有效期 6 个月。

5.4.5 氯霉素氘代内标（氯霉素- $\text{D}_5$ ）工作液：精密量取内标中间液（5.4.4）适量，用甲醇溶液稀释成浓度为 10.0  $\text{ng}/\text{mL}$  内标工作液，现配现用。

## 5.5 材料

微孔滤膜：0.22  $\mu\text{m}$ ，水溶性PTFE。

## 6 仪器设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：带电喷雾离子源（ESI）。

6.2 分析天平：感量 0.00001 g 和 0.01 g。

6.3 涡旋振荡器。

6.4 高速冷冻离心机：转速可达 9000 r/min。

6.5 氮吹仪。

6.6 均质机。

## 7 试样制备与贮存

### 7.1 试样制备

#### 7.1.1 禽蛋

取适量新鲜或冷藏的空白或供试禽蛋，去壳，并均质。

a) 取均质后的供试样品，作为供试试样；

b) 取均质后的空白样品，作为空白试样；

c) 取均质后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试样。

#### 7.1.2 蛋制品

取适量新鲜或解冻的空白或供试蛋制品，绞碎，并均质。

a) 取均质后的供试样品，作为供试试样；

b) 取均质后的空白样品，作为空白试样；

c) 取均质后的空白样品，添加适宜浓度的标准工作液，作为空白添加试样。

### 7.2 试样贮存

将试样置于  $-18^{\circ}\text{C}$  及以下条件冷冻避光保存。

## 8 测定步骤

### 8.1 提取净化

准确称取均质后的试样 5 g（精确到 0.01 g）于 50 mL 离心管中，加入氯霉素氘代内标（氯霉素- $\text{D}_5$ ）中间液（5.4.4）100  $\mu\text{L}$ 。再加入乙酸乙酯 20 mL（5.1.3），手摇充分震荡，加入氨水（5.1.5）0.6 mL，

再加入无水硫酸钠 (5.1.6) 5 g, 涡旋 5 min 后, 9000 r/min 离心 5 min, 移取 5.0 mL 上清液, 40°C 水浴下氮吹至近干。在残留液中加入水 1 mL 和正己烷 (5.1.4) 2 mL, 涡旋混匀 1 min, 9000 r/min 离心 5 min, 取下层液过微孔滤膜后, 供液相色谱-串联质谱仪测定。

## 8.2 基质匹配标准曲线的制备

精密量取混合标准工作液适量, 分别加入5份空白样品中, 按照8.1的步骤提取和净化, 配制成氯霉素浓度为 0.125 µg/L、0.625 µg/L、2.50 µg/L、6.25 µg/L、12.5 µg/L、25 µg/L, 甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺为 1.25 µg/L、6.25 µg/L、25.0 µg/L、62.5 µg/L、125 µg/L、250 µg/L 的基质匹配系列混合标准溶液, 供液相色谱-串联质谱联用仪测定。以基质匹配标准溶液被测组分浓度与氯霉素-D<sub>5</sub> 浓度的比值为横坐标, 以被测组分峰面积与氯霉素-D<sub>5</sub> 峰面积的比值为纵坐标, 绘制标准曲线, 求回归方程和相关系数。

## 8.3 测定

### 8.3.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱: C<sub>18</sub>, 1.7 µm, 100 mm×3.0 mm (内径), 或性能相当者;
- 柱温: 40°C;
- 进样量: 5.0 µL;
- 流速: 0.3 mL/min;
- 流动相: A 相: 0.02% 氨水溶液; B 相: 乙腈;  
梯度洗脱条件见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱条件

时间/min	A (%)	B (%)
0.00	95	5
0.50	95	5
4.00	70	30
5.00	40	40
6.00	5	95
8.00	5	95
8.10	95	5
9.00	95	5

### 8.3.2 质谱参考条件

- 离子源: 电喷雾离子源;
- 检测方式: 多反应监测 (MRM);
- 质谱仪器参数见表 2;
- 保留时间、定性离子对、定量离子对及锥孔电压、碰撞能量见表 3。

表 2 质谱仪器参数

仪器参数	扫描方式	
	正离子模式	负离子模式
电喷雾电压 (IS)	5500 V	-4500 V
气帘气压力 (CUR)	30 psi	30 psi
雾化器温度 (TEM)	600°C	600°C
雾化器压力 (GS1)	50 psi	50 psi
辅助器压力 (GS2)	60 psi	60 psi

表 3 保留时间、定性离子对、定量离子对及锥孔电压、碰撞能量

化合物名称	保留时间 min	离子对 m/z	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
氯霉素	6.63	321.0>152.0*	-50	-27
		321.0>257.0	-50	-17
甲砒霉素	5.28	354.0>185.0*	-50	-27
		354.0>290.0	-50	-18
氟苯尼考	6.47	356.0>336.0*	-50	-14
		356.0>185.0	-50	-26
氟苯尼考胺	4.38	248.0>130.2*	86	30
		248.0>104.1	75	37
氯霉素-D <sub>5</sub>	6.61	326.0>157.0	-50	-26

注：带\*为定量离子对。

### 8.3.3 定性测定

根据液相色谱-质谱条件测定样品和基质匹配标准溶液，如果检测的质量色谱峰保留时间与基质匹配标准溶液一致，允许偏差小于±2.5%；定性离子对的相对离子丰度与浓度相当基质匹配标准溶液的相对丰度一致，相对丰度允许偏差不超过表 4 规定的范围，则可判断样品中存在对应的被测物。

表 4 定性确证时相对离子丰度的允许偏差

相对丰度	允许偏差（%）
>50	±20
20~50	±25
10~20	±30
≤10	±50

### 8.3.4 定量测定

按8.3.1和8.3.2设定仪器条件，以基质匹配标准溶液被测组分浓度与氯霉素 -D<sub>5</sub> 浓度的比值为横坐标，以被测组分峰面积与氯霉素 -D<sub>5</sub> 峰面积的比值为纵坐标，绘制标准工作曲线，作单点或多点校准，以色谱峰面积定量，基质匹配标准溶液及试样溶液中的目标物响应值均应在仪器检测的线性范围内。标准溶液特征离子质量色谱图见附录 B。

### 8.4 空白试验

取空白试样，除不加标准溶液外，采取完全相同的测定条件和步骤进行。

## 9 结果计算和表述

试样中酰胺醇类药物及其代谢物的残留量按标准曲线或公式（1）计算。计算结果需扣除空白值，保留三位有效数字。

$$X = \frac{A \times C_s \times A_{Si} \times C_i \times V_1 \times V_3 \times 1000}{(A_s - A_b) \times A_i \times C_{Si} \times m \times V_2 \times 1000} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

- X —— 试样中各种药物残留量的数值，单位为微克每千克（μg/kg）；
- A —— 试样溶液中各种药物的色谱峰面积；
- A<sub>b</sub> —— 空白溶液中各种药物的色谱峰面积；
- A<sub>s</sub> —— 基质匹配标准溶液中各种药物的色谱峰面积；
- A<sub>i</sub> —— 试样溶液中内标物的色谱峰面积；

- $A_{si}$  ——基质匹配标准溶液中内标物的色谱峰面积；  
 $C_s$  ——基质匹配标准溶液中各种药物浓度的数值，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；  
 $C_i$  ——试样溶液中内标物浓度的数值，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；  
 $C_{si}$  ——基质匹配标准溶液中内标物浓度的数值，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；  
 $V_1$  ——试样提取体积的数值，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；  
 $V_2$  ——试样移取体积的数值，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；  
 $V_3$  ——试样最终定容体积的数值，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；  
 $m$  ——供试试样质量的数值，单位为克（ $\text{g}$ ）。

## 10 方法灵敏度、准确度和精密度

### 10.1 灵敏度

本方法氯霉素药物的方法检出限为  $0.1 \mu\text{g/kg}$ ，方法定量限为  $0.3 \mu\text{g/kg}$ ；甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺的方法检出限为  $1.0 \mu\text{g/kg}$ ，方法定量限为  $3.0 \mu\text{g/kg}$ 。

### 10.2 准确度

本方法氯霉素在  $0.100 \mu\text{g/kg} \sim 10.0 \mu\text{g/kg}$  添加浓度水平，甲砒霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺在  $1.00 \mu\text{g/kg} \sim 100 \mu\text{g/kg}$  添加浓度水平上的回收率均为  $60\% \sim 120\%$ 。

### 10.3 精密度

本方法批内相对标准偏差 $\leq 15\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

## 附录 A

(资料性)

酰胺醇类药物及其代谢物和内标物质中英文通用名称、化学分子式和 CAS 号

酰胺醇类药物及其代谢物和内标物质中英文通用名称、化学分子式和 CAS 号见表 A.1。

表 A.1 酰胺醇类药物及其代谢物和内标物质中英文通用名称、化学分子式和 CAS 号

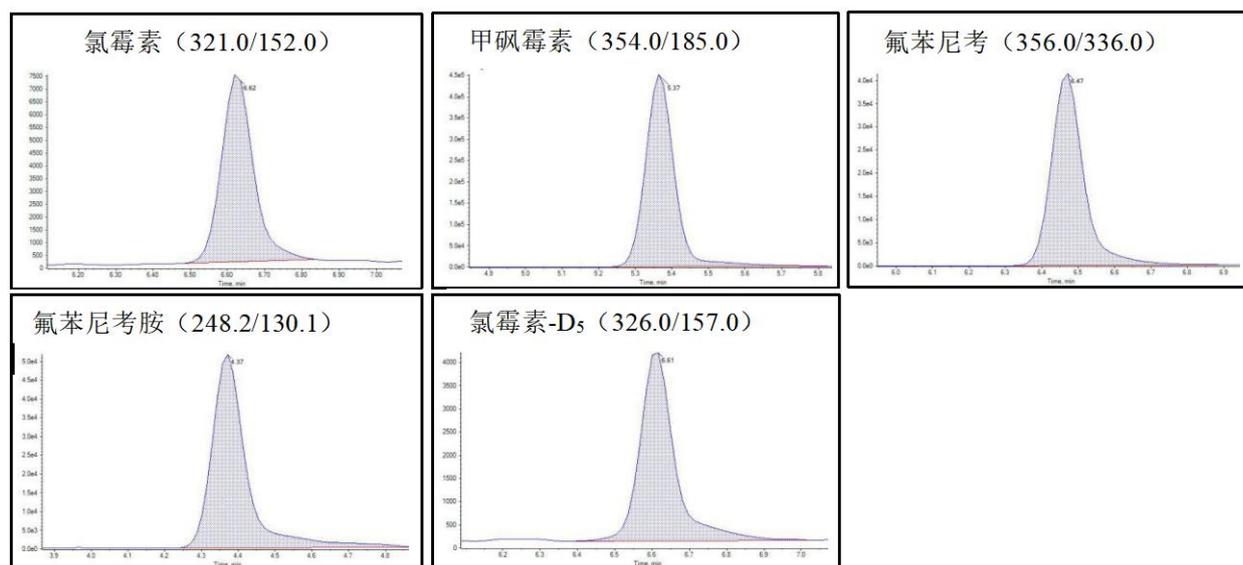
中文通用名称	英文通用名称	化学分子式	CAS号
氯霉素	Chloramphenicol	$C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$	56-75-7
甲砜霉素	Thiamphenicol	$C_{12}H_{15}Cl_2NO_5S$	15318-45-3
氟苯尼考	Florfenicol	$C_{12}H_{14}Cl_2FNO_4S$	73231-34-2
氟苯尼考胺	Florfenicol amine	$C_{10}H_{14}FNO_3S$	76639-93-5
氯霉素-D <sub>5</sub>	Chloramphenicol-D <sub>5</sub>	$C_{11}H_7D_5Cl_2N_2O_5$	202480-68-0

## 附录 B

(资料性)

## 酰胺醇类药物及其代谢物和内标物质特征离子质量色谱图

B.1 酰胺醇类药物及其代谢物和内标物质特征离子质量色谱图见图 B.1。



注：色谱图中各药物浓度为：（1）氯霉素药物浓度为 0.375 ng/mL；（2）氟苯尼考、氟苯尼考胺和甲砜霉素药物浓度为 3.75 ng/mL。

图 B.1 酰胺醇类药物及其代谢物和内标物质特征离子质量色谱图