

## 附件 3

### 消毒产品中氯霉素（chloromycetin）测定-

### 液相色谱-串联质谱法

### Method for determination of chloromycetin

### in disinfection product-

### LC-MS-MS method

## 1 范围

本方法规定了膏霜类消毒产品中氯霉素残留量液相色谱-串联质谱测定方法。

本方法适用于膏霜类消毒产品中氯霉素残留量的测定。

取样量为 0.2g 时，本方法氯霉素的检出限 0.03mg/kg。

## 2 规范性引用文件

## 3 原理

试样中氯霉素用甲醇提取，提取液经 0.45 $\mu$ m 滤膜过滤，用 C<sub>8</sub> 柱分离后，用液相色谱-串联质谱仪测定，负离子扫描，离子对定性，峰面积定量。

## 4 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，水为不含有机物的纯水，纯水中干扰物的浓度需低于方法中待测物的检出限。

4.1 甲醇：农药残留级。

4.2 标准品：氯霉素标准品购自北京利科生化科贸有限公司，纯度 $\geq 99\%$ 。

4.3 标准溶液：准确称取适量的氯霉素标准品，用甲醇（4.1）配制成 10.0mg/mL 标准贮备溶液。准确量取上述标准贮备溶液适量，用甲醇稀释配制成浓度为 500 $\mu$ g/mL 的标准中间溶液，将标准中间溶液转移到安瓿瓶中于 4 $^{\circ}$ C 保存。临用前，再根据需要用甲醇配制成不同浓度的标准使用溶液。

4.3 0.45  $\mu$  m 滤膜。

## 5 仪器

5.1 液相色谱-串联质谱联用仪: HP1100 高效液相色谱仪(Agilent) - API 4000 质谱仪(Applied Biosystems) , 电喷雾离子化源(ESIMS, NI/PI 模式)。

5.2 分析天平: 感量 0.1mg 和 0.001g。

5.3 实验室纯水机: Barnstead 纯水机。

5.4 涡旋振荡器: Scientific Industries 涡流振荡器。

5.5 具塞试管: 10mL。

## 6 试样的制备与保存

### 6.1 试样的制备

取有代表性样品 5g, 搅拌均匀, 制成实验室样品。

### 6.2 试样保存

制备好的试样置于室温保存。

## 7 测定步骤

### 7.1 样品前处理

称取 0.1~0.2g 样品 (精确到 0.001 g) , 置于 10mL 试管中, 加入 3.00mL 甲醇溶液, 涡旋振摇使样品分散后, 超声振荡 10min。静置, 吸取上清液经滤膜 (4.3) 过滤后, 供液相色谱-串联质谱测定。

### 7.4 测定

#### 7.4.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱: ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>8</sub>, 5 μ m, 150×4.2mm;
- b) 柱温: 25℃;
- c) 流动相: 甲醇+水 (60+40), 等度淋洗 10min;
- d) 流速: 300 μ L /min;
- e) 进样量: 10μL。

#### 7.4.2 质谱条件

- a) 离子化方式：热喷雾电离(TSI);
- b) 扫描方式：负离子扫描;
- G) 检测方式：多反应监测 (MRM);
- d) 碰撞气(CAD): 11.0 psi;
- e) 气帘气(CUR): 14.0 psi;
- f) 雾化气(GS1): 35.0 psi;
- g) 加热气(GS2): 25.0 psi;
- h) 喷雾电压(IS): -4500V;
- i) 去溶剂温度(TEM): 350°C;
- j) 碰撞室射出电压 (CXP): -16V;
- k) 定性离子对、定量离子对、扫描时间、碰撞气能量和去簇电压，见表 1。

表 1 氯霉素的定性离子对、定量离子对、扫描时间、碰撞气能量和去簇电压

| 化合物 | 定性离子对<br>(m/z) | 定量离子对<br>(m/z) | 扫描时间<br>Dwell time (ms) | 碰撞气能量<br>CE (eV) | 去簇电压<br>DP (V) |
|-----|----------------|----------------|-------------------------|------------------|----------------|
| 氯霉素 | 321.0/151.0    | 321.0/151.0    | 100                     | -18              | -40            |
|     | 321.0/255.2    |                | 100                     | -18              | -40            |

### 7.4.3 液相色谱-串联质谱测定

#### 7.4.3.1 定性测定

用氯霉素的定性离子对 (m/z 321.0/151.0 和 321.0/255.2) 进行定性。

#### 7.4.3.2 定量测定

将标准中间溶液用甲醇稀释配制成 0-500ng/mL 的标准使用溶液，在仪器最佳工作条件下，标准使用溶液分别进样，以标准使用溶液浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线。采用外标法进行定量测定。样品溶液中氯霉素的响应值应在标准曲线线性范围内。在上述色谱条件和质谱条件下，氯霉素标准物质液相色谱-串联质谱的多反应监测 (MRM) 色谱图参见图 A.1。

### 7.5 平行试验

按以上步骤，对同一试样进行平行试验测定，平行测定相对偏差应小于 10%。

## 7.6 空白试验

除不称取试样外，均按上述步骤同时完成空白试验。

## 8 结果计算

样品中氯霉素的质量分数可按式（1-1）计算：

$$\varphi = \frac{\rho_1 \times V_1}{1000 \times m} \dots\dots\dots (1-1)$$

式中， $\varphi$  —— 消毒产品中氯霉素的质量分数，mg/kg；

$\rho_1$  —— 从回归方程中查出测试溶液中氯霉素的质量浓度，ng/mL；

$V_1$  —— 提取溶液体积，mL；

$m$  —— 称样量，g。

## 9 精密度和准确度

同一实验室对实际样品和加标样品重复测定，相对标准偏差为 4.0% (数据参见附录 B)。低浓度平均回收率为 77.2%，相对标准偏差为 8.4%；高浓度平均回收率为 109%，相对标准偏差为 9.5% (本方法的添加回收率数据参见附录 C)。

附录 A  
(资料性附录)  
氯霉素标准物质多反应监测(MRM)色谱图

氯霉素标准物质多反应监测(MRM)色谱图, 见图 A. 1。

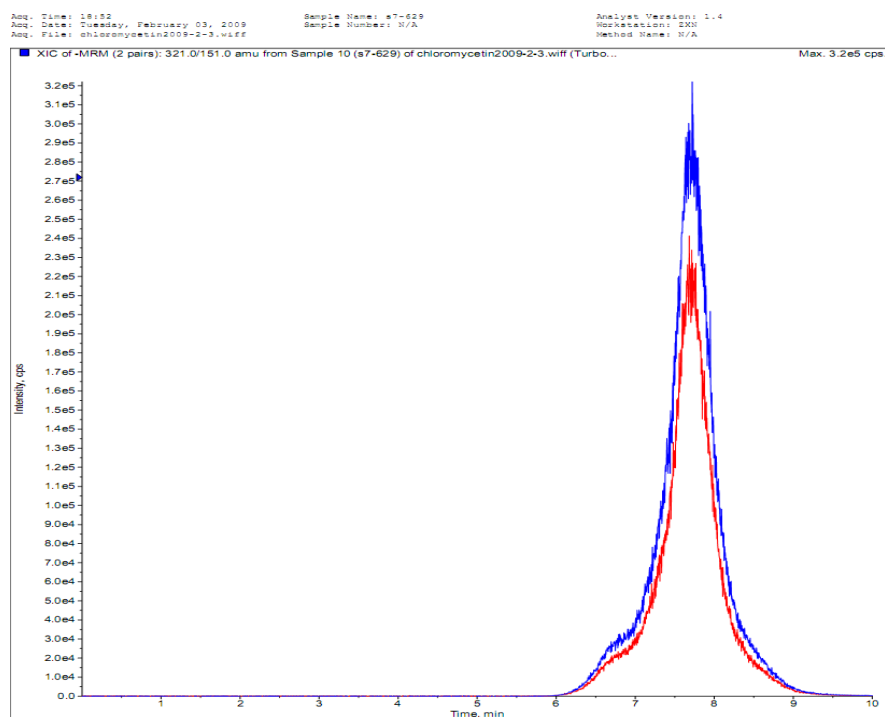


图 A. 1 氯霉素标准物质多反应监测(MRM)色谱图

附录 B  
(资料性附录)  
精密度

消毒产品中氯霉素精密度试验数据，见表 B. 1。

表 B. 1 消毒产品中氯霉素精密度试验数据

| 含量(mg/kg)                    | 平均值(mg/kg) | 标准差(mg/kg) | 相对标准差(%) |
|------------------------------|------------|------------|----------|
| 136, 152, 138, 142, 142, 138 | 141        | 5.7        | 4.0      |

附录 C  
(资料性附录)  
回收率

消毒产品中氯霉素添加浓度及其平均回收率的试验数据，见表 C.1 和 C.2。

表 C.1 消毒产品中氯霉素添加浓度及其平均回收率的试验数据(低浓度)

| 本底值 (ng) | 添加量 (ng) | 测得量 (ng) | 回收率 (%) |
|----------|----------|----------|---------|
| 0        | 688      | 556      | 80.8    |
| 0        | 688      | 597      | 86.7    |
| 0        | 688      | 546      | 79.3    |
| 0        | 688      | 522      | 75.9    |
| 0        | 688      | 474      | 68.9    |
| 0        | 688      | 492      | 71.6    |

平均回收率 (%): 77.2

标准差 (%): 6.5

CV (%): 8.4

表 C.2 消毒产品中氯霉素添加浓度及其平均回收率的试验数据(高浓度)

| 本底值 (ng) | 添加量 (ng) | 测得量 (ng) | 回收率 (%) |
|----------|----------|----------|---------|
| 585      | 688      | 1207     | 90.4    |
| 434      | 688      | 1207     | 112     |
| 541      | 688      | 1265     | 105     |
| 434      | 688      | 1254     | 119     |
| 442      | 688      | 1242     | 116     |
| 518      | 688      | 1289     | 112     |

平均回收率 (%): 109

标准差 (%): 10.4

CV (%): 9.5