



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 21108—2025

代替 GB/T 21108—2007, GB/T 8381.9—2005

## 饲料中氯霉素、甲矾霉素和氟苯尼考的测定 高效液相色谱-串联质谱法

Determination of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol in feeds—  
High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

2025-08-01 发布

2026-02-01 实施

国家市场监督管理总局  
国家标准化管理委员会 发布

## 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。

本文件代替 GB/T 21108—2007《饲料中氯霉素的测定 高效液相色谱串联质谱法》和 GB/T 8381.9—2005《饲料中氯霉素的测定 气相色谱法》，本文件以 GB/T 21108—2007 为主，整合了 GB/T 8381.9—2005 的内容。本文件与 GB/T 21108—2007 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 更改了适用范围、检出限和定量限(见第 1 章,GB/T 21108—2007 的第 1 章)；
- b) 更改了原理(见第 4 章,GB/T 21108—2007 的第 3 章)；
- c) 更改了试验步骤(见第 8 章,GB/T 21108—2007 的第 7 章)。

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。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)提出并归口。

本文件起草单位：广东省农业科学院农业质量标准与监测技术研究所、广东农科监测科技有限公司、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、海南威尔检测技术有限公司、广电计量检测集团股份有限公司。

本文件主要起草人：王威利、王旭、林雪贤、邓诣群、万凯、樊霞、吴学贵、季天荣、索德成、刘晓露、丁晨红、刘振妮、陈惠婷、陈智慧、王一晨、蓝梦哲、崔泽锋、李丽珍、林奕云、刘香香。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- GB/T 8381.9—2005,2005 年首次发布；
- GB/T 21108—2007,2007 年首次发布；
- 本次为第一次修订。

# 饲料中氯霉素、甲矾霉素和氟苯尼考的测定

## 高效液相色谱-串联质谱法

### 1 范围

本文件描述了饲料中氯霉素、甲矾霉素和氟苯尼考的高效液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料、动物源性饲料原料和混合型饲料添加剂中氯霉素、甲矾霉素和氟苯尼考的测定。

本文件氯霉素的检出限为 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，甲矾霉素和氟苯尼考的检出限为 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 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 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

### 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

### 4 原理

试样中的氯霉素、甲矾霉素和氟苯尼考在碱性条件下用乙酸乙酯提取，氮气吹干，用水复溶、正己烷脱脂，液相色谱-串联质谱仪测定，内标法定量。

### 5 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

5.1 水：GB/T 6682，一级。

5.2 甲醇：色谱纯。

5.3 氨水。

5.4 乙酸乙酯。

5.5 正己烷。

5.6 标准储备溶液（1 mg/mL）：称取氯霉素（CAS 号：56-75-7，纯度不低于 98%）、甲矾霉素（CAS 号：15318-45-3，纯度不低于 98%）和氟苯尼考（CAS 号：73231-34-2，纯度不低于 98%）标准品各 10 mg（精确至 0.01 mg），分别置于 10 mL 容量瓶中，用甲醇（5.2）溶解、定容，混匀。-18  $^{\circ}\text{C}$  以下保存，有效期 6 个月。或购买标准溶液。

5.7 混合标准中间溶液:分别准确移取氯霉素标准储备溶液(5.6)0.2 mL,甲砒霉素和氟苯尼考标准储备溶液(5.6)各1 mL于100 mL容量瓶中,用甲醇(5.2)稀释制成氯霉素质量浓度为2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、甲砒霉素和氟苯尼考质量浓度为10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准中间溶液。-18  $^{\circ}\text{C}$ 以下保存,有效期3个月。

5.8 混合标准工作溶液:准确移取1 mL混合标准中间溶液(5.7)于10 mL容量瓶中,用甲醇(5.2)稀释、定容,混匀。2  $^{\circ}\text{C}$ ~8  $^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期1个月。

5.9 内标标准储备溶液(1 mg/mL):称取氘代氯霉素( $\text{d}_5$ -氯霉素)(CAS号:202480-68-0,纯度不低于98%)、氘代甲砒霉素( $\text{d}_3$ -甲砒霉素)(CAS号:1217723-41-5,纯度不低于98%)和氘代氟苯尼考( $\text{d}_3$ -氟苯尼考)(CAS号:1217619-10-7,纯度不低于98%)标准品各10 mg(精确至0.01 mg),分别置于10 mL容量瓶中,用甲醇(5.2)溶解、定容,混匀。-18  $^{\circ}\text{C}$ 以下保存,有效期6个月。或购买标准溶液。

5.10 内标中间溶液(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ):分别准确移取1 mL内标标准储备溶液(5.9)于10 mL容量瓶中,用甲醇(5.2)稀释、定容,混匀。-18  $^{\circ}\text{C}$ 以下保存,有效期3个月。

5.11 内标工作溶液(5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ):准确移取0.5 mL内标中间溶液(5.10)于10 mL容量瓶中,用甲醇(5.2)稀释、定容,混匀,-18  $^{\circ}\text{C}$ 以下保存,有效期3个月。

5.12 混合标准系列溶液:准确移取适量混合标准工作溶液(5.8)和内标工作溶液(5.11),用水(5.1)稀释配制成氯霉素质量浓度分别为0.2 ng/mL、0.5 ng/mL、1 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL,甲砒霉素和氟苯尼考质量浓度分别为1 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、25 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL,内标质量浓度为50 ng/mL的混合标准系列溶液。临用现配。

5.13 微孔滤膜:0.22  $\mu\text{m}$ ,水系。

## 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:精度0.01 g和0.01 mg。

6.3 涡旋混合器。

6.4 离心机:转速不低于13 000 r/min。

6.5 氮吹仪。

6.6 往复式振荡器。

## 7 样品



按GB/T 20195规定制备试样,至少200 g,粉碎使其全部过0.425 mm试验筛,混合均匀,装入密闭容器中,备用。

## 8 试验步骤

### 8.1 提取

平行做两份试验。称取试样2 g(精确至0.01 g),置于50 mL离心管中,准确加入100  $\mu\text{L}$ 内标工作溶液(5.11)、10 mL水(5.1)、0.5 mL氨水(5.3)、20 mL( $V_1$ )乙酸乙酯(5.4),涡旋混合2 min,200 r/min振荡提取30 min,于10 000 r/min离心5 min,备用。

### 8.2 净化

准确移取5 mL( $V_2$ )备用液(8.1),于另一50 mL离心管中,50  $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干,准确加入5 mL( $V_3$ )水

(5.1)和 10 mL 正己烷(5.5),缓慢摇动脱脂,静置分层,取下层溶液约 2 mL,13 000 r/min 离心 5 min,微孔滤膜(5.13)过滤,待测。

### 8.3 测定

#### 8.3.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:  $C_{18}$  柱,柱长 100 mm,内径 2.1 mm,粒径 2.6  $\mu\text{m}$ ,或性能相当者;
- b) 柱温: 35  $^{\circ}\text{C}$ ;
- c) 流速: 0.3 mL/min;
- d) 进样量: 5  $\mu\text{L}$ ;
- e) 流动相: A 相为水(5.1), B 相为甲醇(5.2),梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A 相(体积分数)/%	B 相(体积分数)/%
0.0	80	20
1.0	80	20
3.0	25	75
5.0	25	75
5.1	80	20
8.0	80	20

#### 8.3.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下:

- a) 电离方式: 电喷雾电离,负离子模式( $\text{ESI}^-$ );
- b) 检测方式: 多反应监测(MRM);
- c) 毛细管电压: 4.5 kV;
- d) 离子源温度: 400  $^{\circ}\text{C}$ ;
- e) 脱溶剂气温度: 300  $^{\circ}\text{C}$ ;
- f) 脱溶剂气流速: 10 L/min。

多反应监测(MRM)定性离子对、定量离子对及碰撞能量见表 2。

表 2 多反应监测(MRM)定性离子对、定量离子对及碰撞能量

待测物名称	定性离子对 $m/z$	定量离子对 $m/z$	碰撞能量 eV
氯霉素	321>152	321>152	20
	321>257		12
甲砒霉素	354>185	354>185	21
	354>290		13

表 2 多反应监测(MRM)定性离子对、定量离子对及碰撞能量(续)

待测物名称	定性离子对 <i>m/z</i>	定量离子对 <i>m/z</i>	碰撞能量 eV
氟苯尼考	356>336	356>336	11
	356>185		20
氘代氯霉素(d <sub>5</sub> -氯霉素)	326>157	326>157	19
氘代甲砒霉素(d <sub>3</sub> -甲砒霉素)	357>293	357>293	12
氘代氟苯尼考(d <sub>3</sub> -氟苯尼考)	359>339	359>339	10

8.3.3 混合标准系列溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下,分别取混合标准系列溶液(5.12)和试样溶液(8.2)上机测定。混合标准溶液中氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考和相应内标的定量离子色谱图见附录 A。

8.3.4 定性

在相同试验条件下,试样溶液中待测物的保留时间应与标准系列溶液(质量浓度相当)中待测物的保留时间一致,其相对偏差在±2.5%之内。根据表 2 选择的定性离子对,比较试样谱图中待测物定性离子对的相对离子丰度与质量浓度接近的标准系列溶液中对应的定性离子对的相对离子丰度,若偏差



表 3 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

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

8.3.5 定量

以标准溶液中待测物的峰面积和相应内标峰面积的比值为纵坐标,以标准溶液中待测物的质量浓度和内标质量浓度的比值为横坐标,绘制标准曲线,其相关系数应不低于 0.99。试样溶液与标准溶液中待测物的响应值均应在仪器检测的线性范围内,如超出线性范围,应重新测定。单点校准定量时,试样溶液中待测物质量浓度与标准溶液质量浓度相差不超过 30%。

9 试验数据处理

试样中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考含量以质量分数  $w_i$  计,数值以微克每千克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )表示。多点校准按公式(1)计算;单点校准按公式(2)计算:

$$w_i = \frac{\rho_i \times V_1 \times V_3 \times 1\,000}{V_2 \times m \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- $\rho_i$  ——由标准曲线计算得到的试样溶液中待测物质量浓度,单位为纳克每毫升( $\text{ng}/\text{mL}$ );
- $V_1$  ——试样提取用乙酸乙酯体积,单位为毫升( $\text{mL}$ );
- $V_3$  ——复溶体积,单位为毫升( $\text{mL}$ );

- $V_2$  ——净化时分取试样提取溶液体积,单位为毫升(mL);  
 $m$  ——试样质量,单位为克(g);  
 1 000 ——换算系数。

$$\omega_i = \frac{A \times A_{si} \times \rho_s \times \rho_i \times V_1 \times V_3 \times 1\,000}{A_s \times A_i \times \rho_{si} \times V_2 \times m \times 1\,000} \dots\dots\dots(2)$$

式中:

- $A$  ——试样溶液中待测物色谱峰面积;  
 $A_{si}$  ——标准溶液中对应内标色谱峰面积;  
 $\rho_s$  ——标准溶液中待测物的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);  
 $\rho_i$  ——试样溶液中对应内标物的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);  
 $V_1$  ——试样提取用乙酸乙酯体积,单位为毫升(mL);  
 $V_3$  ——复溶体积,单位为毫升(mL);  
 $A_s$  ——标准溶液中待测物色谱峰面积;  
 $A_i$  ——试样溶液中对应内标物的色谱峰面积;  
 $\rho_{si}$  ——标准溶液中对应内标物的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);  
 $V_2$  ——净化时分取试样提取溶液体积,单位为毫升(mL);  
 $m$  ——试样质量,单位为克(g);  
 1 000 ——换算系数。

测定结果以平行测定的算术平均值表示,保留三位有效数字。

## 10 精密度

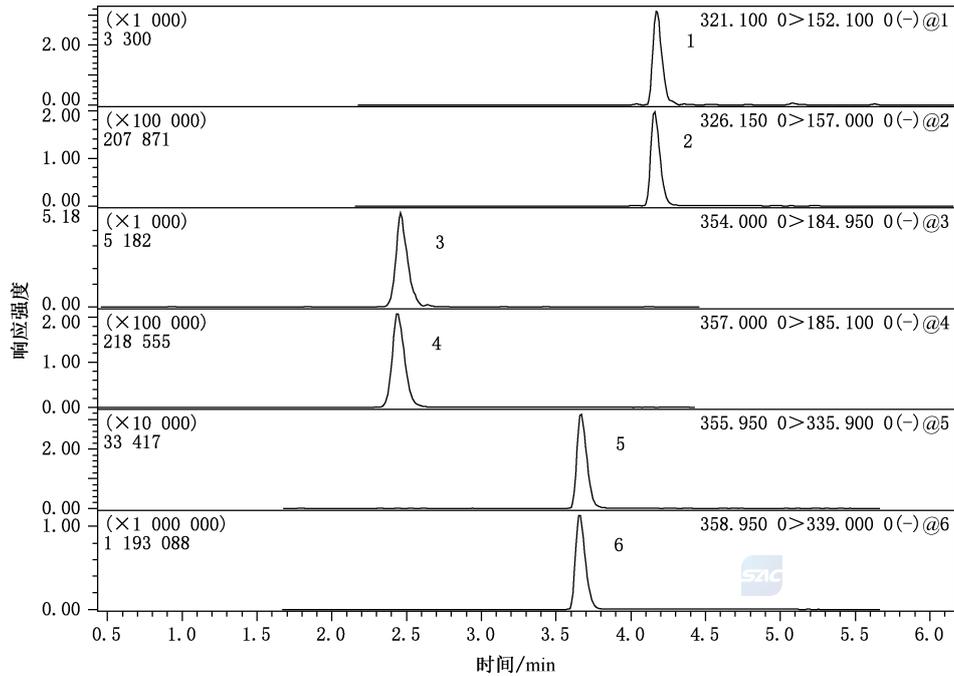
在重复性条件下,两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的10%。

附录 A

(资料性)

氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考和相应内标标准溶液定量离子色谱图

氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考和相应内标标准溶液定量离子色谱图见图 A.1。



标引序号说明：

- 1——氯霉素；
- 2——d<sub>5</sub>-氯霉素；
- 3——甲砒霉素；
- 4——d<sub>3</sub>-甲砒霉素；
- 5——氟苯尼考；
- 6——d<sub>3</sub>-氟苯尼考。

图 A.1 氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考和内标标准溶液定量离子色谱图(氯霉素质量浓度为 0.2 ng/mL, 甲砒霉素和氟苯尼考质量浓度为 1 ng/mL, 内标质量浓度为 50 ng/mL)