

关键词

高效液相色谱/串联质谱；全自动固相萃取；氯霉素；牛奶

介绍

氯霉素是第一个可以人工合成的抗生素，常用于家禽疾病的预防和治疗。由于氯霉素对人体有严重的毒副作用，而动物源性食品中的氯霉素残留会通过肉、蛋、奶等食物传递给人类。目前美国、日本、韩国和欧盟等国家和地区均已禁止在食用性动物中使用氯霉素，并规定在动物源性食品中不得检出。本实验参考《GB 29688-2013食品安全国家标准 牛奶中氯霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》采用睿科 Fotector Plus全自动固相萃取仪进行净化，睿科Auto EVA 80全自动平行浓缩仪进行浓缩，高效液相色谱-串联质谱测定，内标法定量。在添加浓度为0.1~5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内，回收率为78%~89%，相对标准偏差小于10%，准确度和精密度均符合残留分析要求，可以满足牛奶中氯霉素残留量的检测需要。

1. 仪器与耗材

仪器和耗材

睿科 Fotector Plus 高通量全自动固相萃取仪

睿科 MPE 真空平行浓缩仪

睿科 Auto EVA 80 全自动平行浓缩仪

液相色谱-质谱联用仪：安捷伦 Agilent1260+Agilent 6410

C₁₈ 固相萃取小柱 (RayCure, 500mg/6ml, 货号: RC-204-16004)

试剂

甲醇（色谱纯），乙酸乙酯（色谱纯），氯化钠（分析纯），超纯水

4%氯化钠溶液：取 4g 氯化钠，用超纯水溶解并定容至 100mL

2. 样品制备及前处理

2.1 提取

称取 10g(±0.05) 牛奶试样于 50mL 离心管中，加入氘代氯霉素内标工作液，再加入 20mL 乙酸乙酯，涡旋震荡 15min，6000r/min 离心 10min，取乙酸乙酯层于浓缩杯中。再用 20mL 乙酸乙酯提取一次，合并 2 次提取液，用睿科 MPE 高通量真空平行浓缩仪于 45℃ 条件下浓缩至干。加入 4%氯化钠溶液 5mL，涡旋复溶，再加入 5mL 正己烷，震荡混合 1min，静置分层，弃去正己烷层。再加入 5mL 正己烷重复除脂，取下层清液至上样管中，待净化。

2.2 固相萃取净化条件

表-1 固相萃取净化条件

全自动固相萃取仪	睿科 Fotector Plus
固相萃取柱	C18 柱 (RayCure, 500mg/6ml)
活化	甲醇，超纯水
洗脱	甲醇

2.3 固相萃取净化

C₁₈ 固相萃取小柱先用 5mL 甲醇和 5mL 水活化，然后以 1mL/min 的速度上样，用 2mL 超纯水清洗样品瓶，一并过柱，接着用 5mL 超纯水淋洗柱子。将柱子推干后，用 5mL 甲醇洗脱，收集洗脱液。用睿科 EVA 80 全自动平行浓缩仪在 50℃ 条件下浓缩至干，用 1mL 30% 甲醇水溶液定容，涡旋混匀，过滤膜上机检测。具体方法如下图-1 所示。

序号	命令	溶剂	排出	流速 (mL/min)	体积 (mL)	时间 (min)
1	清洗样品通道	甲醇				1.5
2	活化	甲醇	有机废液	3	5	2.1
3	活化	水	废水	3	5	2.1
4	上样		废水	2	5	3.1
5	清洗样品瓶	水	废水	60	2	1.7
6	淋洗	水	废水	3	5	2.1
7	气推		废水	80	30	2.2
8	清洗注射泵	甲醇		60	3	0.4
9	洗脱	甲醇	收集	2	5	2.9
10	气推		收集	2	2	1.4
11	气推		收集	20	10	1.3
12	结束					

图-1 Fotector Plus 氯霉素固相萃取净化方法

3. 检测条件

3.1 色谱柱条件

柱子	Waters XBridge BEH HILIC 2.5 μ m \times 21 mm \times 50mm
流速	0.200 mL/min
流动相	A:水 B: 甲醇
柱温	30 $^{\circ}$ C
进样体积	10 μ L
检测器	Agilent 6410
离子模式	ESI ⁻
吹扫气	11 L/min
氮气温度	350 $^{\circ}$ C
簇电压	4000
雾化压力	35 psi
梯度洗脱	0-1.5 min, 5%流动相 B; 2 min-3.5 70% 流动相 B, 5.0-6.0 5% 流动相 B

3.2 MRM 参数

名称	分子量 MW	子离子 m/z	母离子 m/z	碎裂电 压/V	碰撞电 压/eV	驻留时 间/ms
氯霉素	323	257.1	321.1	120	20	40
		152.0*		120	30	40

氯霉素-D5	328	157.1	326.1	130	15	30
--------	-----	-------	-------	-----	----	----

3.3 标准品质谱图

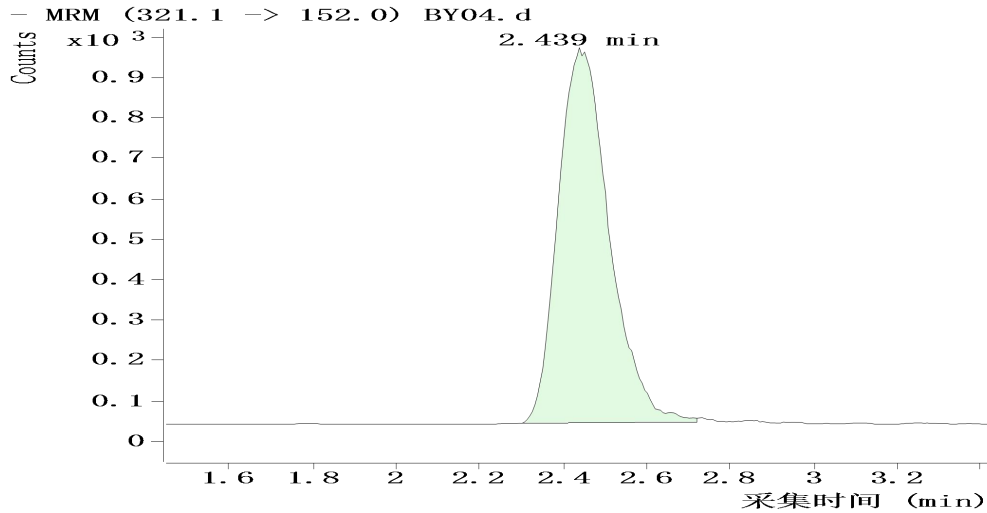


图-2.氯霉素质谱图(5 µg/L)

4. 方法可行性验证

在 10g 空白牛奶样品中分别添加 0.1、1.0 和 5.0µg/kg 氯霉素标液，按照上述方法进行前处理，回收率及精密度见表-2。从表中可以看出，3 个加标浓度的回收率在 78%-89%之间，相对标准偏差小于 10 %，符合痕量残留检测的要求。

表-2 牛奶加标回收率及 RSD 值 (n=3)

名称	添加浓度 /µg.kg ⁻¹	平均回收 率/%	RSD/%
氯霉素	0.1	78.30	5.6
	1.0	85.18	4.3
	5.0	88.34	3.2

5. 总结

睿科 Fotector Plus 全自动固相萃取仪采用全自动操作，可以排除人员操作带来的误差，从活化到上样、洗脱一步到位，六通道同时进行；同时 Fotector Plus 能够实现高通量处理，最多一天能够处理 180 个样品，省时省力，真正为批量检测提供帮助。

睿科 MPE 真空平行浓缩仪适合于大体积提取液的批量浓缩，浓缩效率是单台旋蒸的 10 倍以上。独特的尾管设计方便用户观察剩余体积和定容。

睿科 EVA 80 全自动平行浓缩仪通过独特的氮吹针自动追随液面技术可以极大地减少氮气使用量，同

时避免手动氮吹需要经常去调节氮吹针高度带来的麻烦。



真空平行浓缩仪
浓缩



全自动固相萃取仪
净化



全自动平行浓缩仪
浓缩



睿科集团股份有限公司
RayKol Group Corp., Ltd.

智能化、自动化实验室整体解决方案

网址: www.raykol.com

电话: 400-885-1816

邮箱: info@raykol.com



本文中的信息、说明和技术指标如有变更,恕不另行通知

© 睿科集团股份有限公司

2021年10月版