

关键词

全自动固相萃取；高效液相色谱-串联质谱；地塞米松

介绍

地塞米松是一种长效肾上腺糖皮质激素，具有调节糖代谢，促进蛋白质转化为糖，提升血糖浓度，调节水盐代谢等作用。由于地塞米松具有抗炎、抗过敏、抗毒素等广泛的药理作用，因而常用于畜牧养殖中。然而动物生长过程中过量使用这种激素则会导致其在动物源性食品中的残留，影响人类健康。从体外大量摄入糖皮质激素会造成体内激素的比例失调、糖代谢和无机盐代谢紊乱，可能会引起肥胖、高血压、骨质疏松、胎儿畸形等不良症状。因此，许多国家对动物源性食品中糖皮质激素的最大残留量都做了规定。

本方法参考《GB/T 22978-2008牛奶和奶粉中地塞米松残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》采用睿科MPE-16真空平行浓缩仪对提取液进行浓缩，Fotector Plus全自动固相萃取仪净化，EVA 80对洗脱液进行浓缩，高效液相色谱-串联质谱仪测定，外标法定量。在3个不同添加浓度下，加标回收率为70%~90%之间，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，可以满足牛奶和奶粉中地塞米松残留量的检测需要。

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

高效液相色谱 (HPLC) Agilent 1290 带质谱检测器 (MS) Agilent 6470

C₁₈ 固相萃取柱 (RayCure, 500mg/6mL, 货号: RC-204-16004)

乙腈 (色谱纯), 超纯水

20%乙腈水溶液: 将 20mL 乙腈与 80mL 水混合

2. 样品制备

称取牛奶试样 10g (奶粉样品称 2g, 加入 10mL 水涡旋混匀 30 秒) 于 50mL 离心管中, 加入 20mL 乙腈, 涡旋混匀 1 分钟, 以 8000r/min 冷冻离心 10 min。移取上清液至浓缩杯中, 用睿科 MPE 真空平行浓缩仪于 45°C 条件下浓缩至小于 5mL, 转移至上样管中, 待净化。

3. 净化

先用 5mL 乙腈和 5mL 水活化 C₁₈ 小柱, 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 3mL 超纯水淋洗柱子。将柱子推干后, 用 5mL 乙腈洗脱, 收集洗脱液。用睿科 EVA 80 全自动平行浓缩仪在 45°C 条件下浓缩至干, 用 1mL 20%乙腈水溶液定容, 涡旋混匀, 过滤膜上机检测。

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 (RayCure, 500mg/6mL) |
| 淋洗 | 乙腈, 水 |
| 洗脱 | 乙腈 |

| 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 | 乙腈 | | | | 1.5 |
| 2 | 活化 | 乙腈 | 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 | 3 | 1.4 |
| 7 | 气推 | | 废水 | 80 | 30 | 2.2 |
| 8 | 清洗注射泵 | 乙腈 | | 60 | 3 | 0.4 |
| 9 | 洗脱 | 乙腈 | 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 牛奶和奶粉中的地塞米松固相萃取净化方法

4. 液质检测条件

4.1 液相色谱条件

液相色谱柱: Eclipse SB C₁₈, 1.8 μm × 50mm × 2.1mm (内径)

流动相及洗脱条件见表 2

表-2 流动相及梯度洗脱条件

| 时间 (min) | 流动相 A (甲醇) | 流动相 B (0.1%甲酸水溶液) |
|----------|------------|-------------------|
| 0.00 | 40% | 60% |
| 5.00 | 40% | 60% |
| 5.50 | 50% | 50% |
| 7.00 | 50% | 50% |
| 7.10 | 60% | 40% |
| 8.00 | 60% | 40% |
| 8.50 | 75% | 25% |
| 9.00 | 100% | 0% |
| 10.00 | 100% | 0% |

平衡时间: 5min

流动相流速: 0.4mL/min

色谱柱温度: 40℃

进样体积: 5μL

4.2 质谱仪器参数

| | |
|-----------|--------------|
| 离子源 | 电喷雾源 |
| 电离模式 | 多离子反应监测（负）模式 |
| 喷雾针压力 | 45 psi |
| 喷雾加热区电压 | 1500V |
| 干燥气（氮气）温度 | 325 °C |
| 干燥气流速 | 5L/min |
| 鞘气温度 | 350°C |
| 鞘气流速 | 10L/min |
| 毛细管电压 | 4000V |
| 增益电压 | 600V |

4.3 MRM 参数

| No. 序号 | Compound Name 化合物名称 | Precursor Ion 母离子 | Product Ion 子离子 | Dwell 离子监测时间 | Fragmentor 裂解电压 | Collision Energy 碰撞能量 |
|-----------|------------------------|----------------------|--------------------|-----------------|--------------------|--------------------------|
| 1 | 地塞米松 | 437.3 | 361.3 * | 50 | 110 | 10 |
| | | | 307.3 | 50 | 110 | 31 |

带*的为定量离子对

5. 结果与讨论

为了验证该方法的回收率，本实验向空白奶粉和牛奶试样中加入地塞米松标准品进行加标回收验证 (n=3)。数据如表-2 所示，加标回收率均在 70%–90%之间，RSD 值控制在 10%以内。说明该方法能够很好地用于牛奶和奶粉样品中地塞米松的检测。

表-3 牛奶和奶粉加标回收率及 RSD 值 (n=3)

| 样品基质 | 添加浓度 /μg.kg ⁻¹ | 平均回收率/% | RSD/% |
|------|------------------------------|---------|-------|
| 牛奶 | 0.4 | 75.3 | 7.8 |
| | 1.0 | 81.8 | 5.3 |
| | 5.0 | 87.4 | 3.9 |
| 奶粉 | 4.0 | 70.5 | 6.6 |
| | 10.0 | 76.8 | 5.3 |
| | 20.0 | 89.3 | 4.2 |

6. 总结

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。

睿科 Fotector Plus 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。



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