

SPE 固相萃取-液相色谱串联质谱法测定动物源食品中的氯霉素

前言

氯霉素曾广泛用于治疗各种敏感菌感染，后因对造血系统有严重不良反应，故对其临床应用现已做出严格控制。氯霉素可用于有特效作用的伤寒、副伤寒和立克次体病等及敏感菌所致的严重感染。氯霉素在脑脊液中浓度较高，也常用于治疗其他药物疗效较差的脑膜炎患者。由于氯霉素可引起严重的毒副作用，所以建立一种高效、快速的定量流程及检测方法尤为重要。本文使用 SPE1000 全自动固相萃取系统对牛肉中的氯霉素进行固相萃取富集，用高效液相色谱质谱仪进行检测。

本文参考“农业部 781 号公告-2-2006 动物源食品中氯霉素残留量的测定 液相色谱—串联质谱法”采用 SPE1000 全自动固相萃取系统，测定氯霉素的回收效果，实验证明，氯霉素回收率在 90.2%~99.5%之间，重现性 RSD 为 3.5%，回收率和重现性良好，说明 SPE1000 全自动固相萃取系统可靠、稳定，适用于动物源食品中的氯霉素样品前处理。

关键词：氯霉素，SPE1000 全自动固相萃取系统，液相色谱串联质谱，



1 实验过程

1.1 仪器与试剂

SPE1000 全自动固相萃取系统（莱伯泰科公司）；

SCIEX 4500 液相色谱串联质谱（SCIEX）；

氯霉素，100 mg/L，坛墨质检；

氯霉素 D5，100 mg/L，坛墨质检；

氯化钠（分析纯）；

正己烷（色谱纯）；

乙酸乙酯（色谱纯）；

乙腈（色谱纯）；

C18 固相萃取柱，（1000 mg/6 mL 莱伯泰科）；

实验用水：超纯水。

北京莱伯泰科仪器有限公司

地址：北京空港工业区

电话：010-80486450(总部)/64973119(市场)

传真：010-80486354(总部)/64974268(市场)

1.2 标准工作液的配制

取 1 mL 氯霉素标品于 10 mL 容量瓶中，甲醇定容，配置成浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备液。

取 100 μL 的氯霉素标准储备液，用甲醇定容到 10 mL，配制成 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准工作液。

取 1 mL 氯霉素 D5 标品于 10 mL 容量瓶中，甲醇定容，配置成浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备液。

取 100 μL 的氯霉素 D5 标准储备液，用甲醇定容到 10 mL，配制成 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准工作液。

1.3 试验方法

1.3.1 样品准备

取均质后的样品 5g 置于 50mL 离心管中，加入内标 200 μL ，氯霉素标液 200 μL ，加入乙腈 5mL，4%氯化钠 5mL，涡旋 2min，4000rad/min 离心 10min，取上清液至另一个 50mL 离心管中，重复提取一次，合并提取液。提取液中加入正己烷 5mL，涡旋 2min，2000rad/min 离心 10min，弃去上层清液，重复一次，加入水饱和乙酸乙酯 5mL，涡旋 1min，2000rad/min 离心 10min，将上层液转移到 15mL 离心管中，重复提取一次，合并提取液氮吹至干，用水：乙腈（95:5）5mL 溶解，备用。

同时做样品空白，加入内标 200 μL ，剩下同样品处理。

1.3.2 固相萃取及浓缩

按照图 1 所示的方法进行 SPE1000 方法编辑，并加载方法到相应通道，进行样品的固相萃取。收集洗脱液到收集瓶中，氮吹浓缩至干，用 1 mL 流动相定容。



图1 氯霉素的 SPE 富集方法

1.3.3 UPLC-MS 测定牛肉中氯霉素

液相条件:

色谱柱: C18, 5 μ m, 4.6 mm*100mm;

流 速: 0.2 mL/min ;

进样量: 5 μ L;

流动相: 乙腈: 水=40:60;

MS 条件:

气帘气~40 CAD~9 TEM~150 GS1~40 喷雾电压-4500V

表1 氯霉素母离子/子离子(定量例子 152.0)

名称	母离子/子离子	CE	DP	CXP
氯霉素	321.0/152.0	-23	-70	-8
	321.0/256.7	-16	-70	-8
氯霉素 D5	326.1/156.9	-23	-70	-30

2 试验结果

2.1 牛肉中氯霉素色谱图

2.1.1 牛肉中氯霉素标品色谱图

图2 为取 200 μ L 的氯霉素标准工作液和 200 μ L 氯霉素内标工作液, 用流动相定容到 1.0 mL 检测, 氯霉素标品出峰色谱图, 出峰时间为 1.50min。

北京莱伯泰科仪器有限公司

地 址: 北京空港工业区

电 话: 010-80486450(总部)/64973119(市场)

传 真: 010-80486354(总部)/64974268(市场)

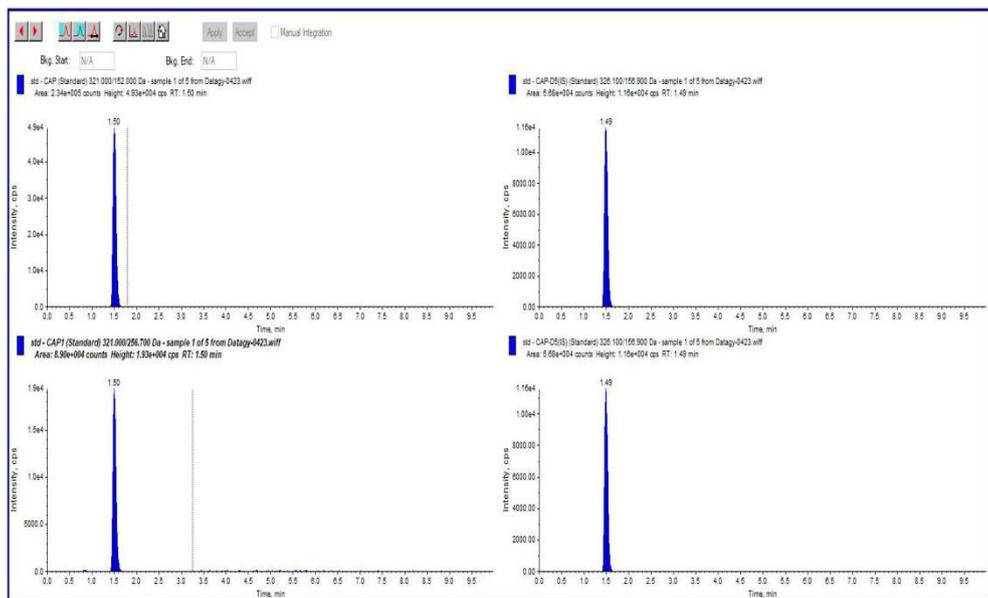


图 2 氯霉素标品出峰色谱图

2.1.2 牛肉中氯霉素样品色谱图

图 3 氯霉素加标样品出峰色谱图，出峰时间为 1.50min，图 4 为空白样品色谱图。

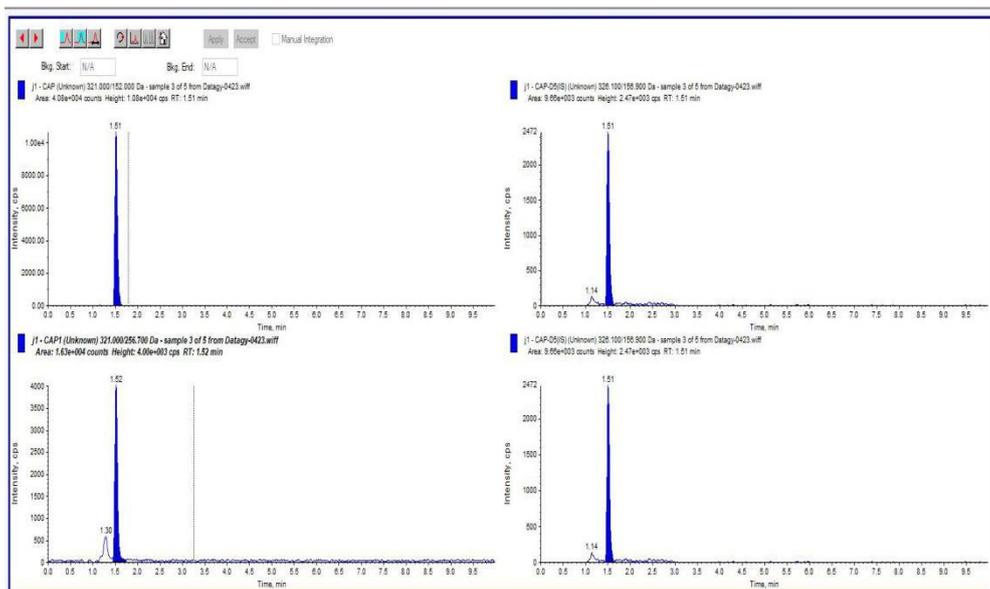


图 3 氯霉素加标样品出峰色谱图

北京莱伯泰科仪器有限公司

地址：北京空港工业区

电话：010-80486450(总部)/64973119(市场)

传真：010-80486354(总部)/64974268(市场)

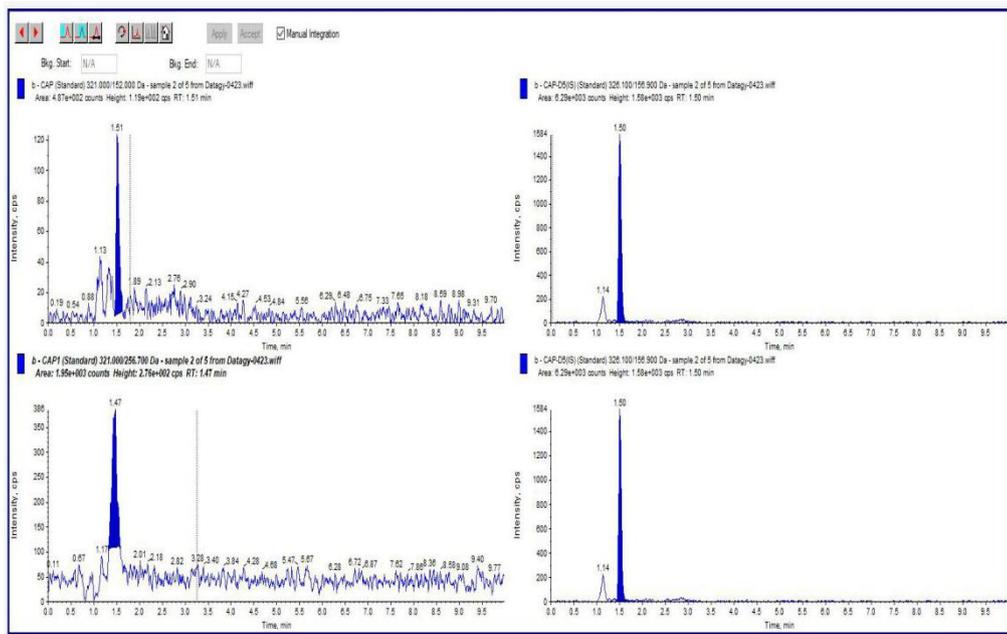


图 4 空白样品色谱图

2.2 UPLC-MS 测定牛肉中氯霉素回收率

液质测定牛肉中氯霉素回收率计算结果如下表，萃取富集后的回收率在之间 90.2%~99.5%，重现性 RSD 为 3.5%。

表 2 牛肉中氯霉素的加标回收率（加标量 4 ug/kg）

名称	回收率 (%)						平均值 (%)	RSD (%)
	1	2	3	4	5	6		
氯霉素	99.5	96.0	98.5	95.3	90.2	94.3	95.6	3.5

3 结果与讨论

SPE1000 全自动固相萃取系统净化的样品，其回收率在 90.2%~99.5%，重现性为 3.5%，准确度与平行性良好且自动化效率高，可应用于此类样品的前处理方法中。

参考文献

农业部 781 号公告-2-2006 动物源食品中氯霉素残留量的测定 液相色谱—串联质谱法