

# 动物源性食品中3种氯霉素类的LC-MS/MS定量分析检测

## Simultaneous Determination of three kind of Chloramphenicols by LC-MS /MS

刘青<sup>1</sup>, 吕晓丽<sup>2</sup>, 杨总<sup>1</sup>, 刘冰洁<sup>1</sup>, 郭立海<sup>1</sup>

Liu Qing<sup>1</sup>, Lvxiaoli<sup>2</sup>, Yang Zong<sup>1</sup>, Liu Bingjie<sup>1</sup>, Guo Lihai<sup>1</sup>

SCIEX, China<sup>1</sup>

Food inspection and testing of Jiangxi province<sup>2</sup>

**关键词:** Florfenicol, Florfenicol amide

### 引言

氯霉素 (chloramphenicol, CAP) 是一种广谱抗生素, 曾广泛应用于畜禽和水产养殖。许多研究表明其毒副作用很强, 能够导致再生障碍性贫血和致命的“灰婴综合症”。我国和欧盟等国家都禁止在食用的动物源性产品中使用氯霉素。氟苯尼考 (florfenicol, FF) 作为甲砜霉素的衍生物, 现已成为畜禽和水产养殖病害治疗和预防的常用药, 但仍然对动物胚胎有影响, 氟苯尼考限量规定以氟苯尼考与氟苯尼考代谢物氟苯尼考胺 (florfenicol amine, FFA) 之和计。目前检测氯霉素类药物残留的方法主要有高效液相色谱法、气相色谱法、气相色谱-质谱联用法、液相色谱-质谱联用法、超高效液相色谱法、超高效液相色谱-质谱联用法和酶联免疫法等。

本文采用高效液相色谱串联质谱建立了快速检测鸡肉、猪肉等样品中的氯霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺的方法, 该方法的优势和特点:

- 1、方法快速高效:** 正负同时采集模式, 省时省力, 提高工作效率, 前处理简单易操作;
- 2、灵敏度高:** 鸡肉、猪肉基质中氯霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺定量限为远低于目前标准中氯霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺定量限的要求;
- 3、方法稳定好:** 线性相关系数 $R > 0.999$ , 加标回收率在80% ~ 120%, 所有化合峰面积RSD < 2%;

### 1 实验方法

#### 1.1 样品前处理

称取约5.0 g试样, 精确至0.1 g, 置于50 mL聚丙烯具塞离心管中, 加入中间浓度内标溶液, 加入15 mL乙酸乙酯+0.45 mL氨水, 涡旋混匀30 s, 均质1 min, 于4000 r/min离心5 min, 上清液转移至50 mL比色管中, 残渣再用15 mL乙酸乙酯 + 0.45 mL氨水提取一次, 合并提取液, 用乙酸乙酯定容至50 mL, 摇匀后移取10 mL乙酸乙酯与25 mL离心管中, 45°C氮吹干。

#### 1.2 净化

残渣用3 mL水溶解, 超声5 min, 加入3 mL正己烷我选混合30 s, 静置分层, 弃掉上层的正己烷, 移取1 mL水相于1.5 mL的聚丙烯离心管中, 以13000 r/min离心5 min。过0.2 mL滤膜后, 供液相色谱-串联质谱测定。

#### 1.3 液相色谱条件

- 色谱柱: 反相C18 (2.1  $\mu\text{m}$   $\times$  100 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ) 或与之相当
- 柱温: 40 °C;
- 流速: 0.3 mL/min;
- 流动相: A相: 水 (5 mM甲酸铵+0.1%甲酸) B相: 乙腈
- 液相梯度洗脱 (表1)

表1. 液相梯度洗脱

时间(min)	A%	%B
0.01	97	3
1	97	3
1.5	70	30
3	20	80
4	10	90
5	10	90
5.5	97	3
7	97	3

#### 1.4 质谱条件

- 离子源：电喷雾电离 (electrospray ionization, ESI)；
- 扫描模式：正负同时扫描；多反应监测 (MRM)；
- 离子源参数：正模式喷雾电压 (IS) 5500 V，负模式喷雾电压 (IS)：-4500 V；气帘气 CUR: 35 psi；碰撞气 CAD: Medium；喷雾气GS1: 55 psi；辅助加热气GS2: 55 psi；源温度 TEM: 550°C；
- 离子对信息 (表2)

表2. 离子对信息

母离子 (m/z, Da)	子离子 (m/z, Da)	保留时间 (min)	离子名称	去簇电压 (V)	碰撞能量 (eV)
320.9	152	4.54	氯霉素1	-70	-24
320.9	257	4.54	氯霉素2	-70	-17
356	185	4.35	氟苯尼考1	-70	-30
356	336.1	4.35	氟苯尼考2	-70	-15
248.2	230.1	2.13	氟苯尼考胺1	50	20
248.2	130.1	2.13	氟苯尼考胺2	50	30
325.9	157	4.54	氯霉素-D5	-70	-24

## 2 实验结果

**2.1 方法灵敏度：**本方法氯霉素定量限、氟苯尼考和氟苯尼考胺的定量限远低于《2020年国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册》同时远低于GB/T 20756-2006可食动物肌肉、肝脏和水产品中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考残留量的测定和SN/T 1865-2016出口动物源食品中甲砒霉素、氟甲砒霉素和氟苯尼考胺残留量的测定中氯霉素定量限0.1 µg/kg，氟苯尼考、氟苯尼考胺的定量限1 µg/kg的要求。

**2.2 回归曲线：**氯霉素 (0.02 ~ 8 ng/mL) 和氟苯尼考胺、氟苯尼考 (0.2 ~ 8 ng/mL) 的回归曲线 (图1,2,3)，线性关系良好 ( $r > 0.999$ )。

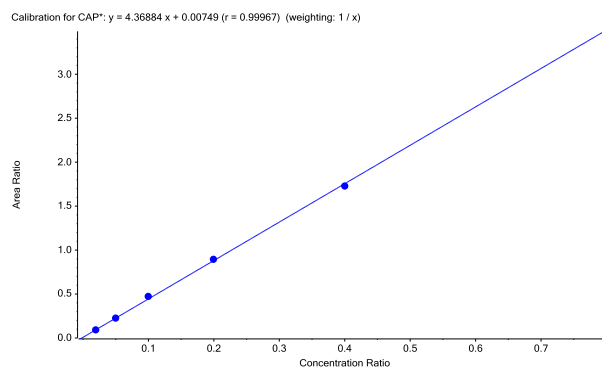


图1. 氯霉素回归曲线

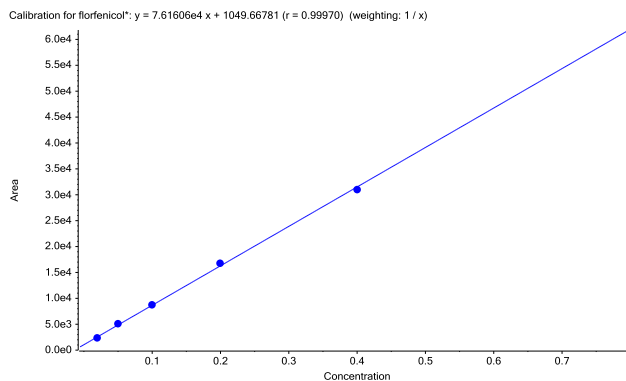


图2. 氟苯尼考回归曲线

图2. 氟苯尼考回归曲线

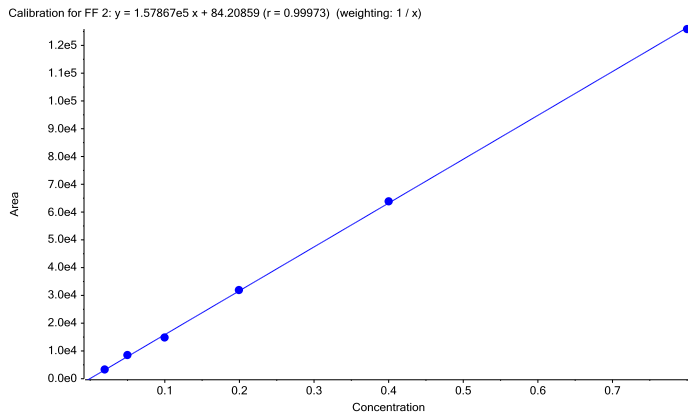


图3. 氟苯尼考胺回归曲线

**2.3 方法重复性考察:** 鸡肉样品基质加标氯霉素0.1 µg/kg, 鸡肉样品基质加标氟苯尼考和氟苯尼考胺0.5 µg/kg进行重复性实验, 连续进样6针, 所有化合峰面积RSD<2% (表3)。

表3. 氯霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺加标重复性

化合物名称	浓度 (µg/kg)	重复进样次数	相对标准偏差%
氯霉素	0.1	6	1.15
氟苯尼考	0.5	6	1.67
氟苯尼考胺	0.5	6	1.25

**2.4 提取回收率的考察:** 实验采用鸡肉、猪肉氯霉素分别按照0.1 µg/kg, 氟苯尼考和氟苯尼考胺0.5 µg/kg, 进行3个平行加标实验, 按照上述物质的前处理方案进行处理, 结果表明回收率在80%~120% (表4) 和平行回收率RSD<2% (表5)。

表4. 氯霉素回收结果

化合物名称	平均回收率%	平行加标样品	相对标准偏差%
鸡肉	96.9	3	1.86
猪肉	84.7	3	1.92

表5. 氟苯尼考和氟苯尼考胺回收结果

化合物名称	平均回收率%	平行加标样品	相对标准偏差%
鸡肉	89.9	3	1.94
猪肉	84.7	3	1.85

### 3 小结

本文采用高效液相色谱串联质谱建立了快速检测鸡肉、猪肉等样品中的氯霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺的方法。该方法采用乙酸乙酯提取, 经氮气吹干水溶解后利用正己烷除酯净化, 在鸡肉、猪肉氯霉素定量、氟苯尼考、氟苯尼考胺定量限完全满足《2020年国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册》、GB/T 20756-2006 和SN/T 1865-2016等标准中氯霉素定量限0.1 µg/kg、氟苯尼考、氟苯尼考胺定量限1 µg/kg的要求。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息, 请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标, 也包括相关的标识、标志的所有权, 归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-14055-ZH-A



#### SCIEX中国

北京分公司  
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话: 010-5808-1388  
传真: 010-5808-1390  
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话: 021-2419-7200  
传真: 021-2419-7333  
官网: [sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州分公司  
广州市天河区珠江西路15号  
珠江城1907室  
电话: 020-8510-0200  
传真: 020-3876-0835  
官方微信: SCIEX-China