

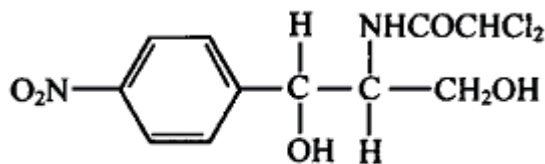
# 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定氯霉素

## LCMSMS-003

**摘要：**氯霉素(chloramphenicol, CAP)是一种广谱抗生素，由于其存在抑制造血功能的毒副作用，许多国家禁止其在动物源性食品中使用。因此，本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A和三重四极杆质谱仪LCMS-8030联用测定氯霉素的快速灵敏的方法。氯霉素在0.05 ~ 50 μg/L浓度范围内线性良好，标准曲线的相关系数在0.9999以上；精密度实验结果显示，连续6次进样保留时间的相对标准偏差为0.14 ~ 0.35%，峰面积比值的相对标准偏差为2.96 ~ 4.16%，系统精密度良好；灵敏度高，定量限为0.005 ng/mL。

**关键词：**氯霉素 三重四极杆质谱 超高效液相色谱

氯霉素(chloramphenicol, CAP)又称氯胺苯醇，是一种广谱抗生素，在水产、禽类等养殖生产上常被用于细菌性传染病。化学结构式如下，



**Chloramphenicol(CAP)**

由于氯霉素存在抑制造血功能的毒副作用，许多国家禁止其在动物源性食品中使用，规定在所有食品动物可食性组织中最高残留限量(MRL)为零。我国农业部(2002年农业部第227号公告)也有同样规定，并列入《食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂品种名单(第五批)》中。

因此，建立针对氯霉素的简单、便捷、灵敏的检测方法非常必要。超高效液相色谱(UHPLC)采用粒径1.6 μm的填料技术，全面提升了分离效率、峰容量和灵敏度，结合岛津LCMS-8030三重四极杆质谱检测器，我们建立了快速、灵敏的分析方法，样品分析在1.5 min内完成，氯霉素的最低定量检测限(LOQ)达到0.05 ng/mL，可满足违禁兽药残留分析的要求。

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A与三重四极杆质谱仪LCMS-8030联用系统。具体配置为LC-30AD×2输液泵，DGU-20A5在线脱气机，SIL-30AC自动进样器，CTO-30AC柱温箱，CBM-20A系统控制器，LCMS-8030三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.41色谱工作站。

### 1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III 2.0 mm I.D.× 50 mm L.,

1.6 μm

流动相：A相，水；B相，乙腈。

梯度洗脱方法：

时间	B 相
0 min	30%
0.35-0.75 min	90%
0.76-1.5 min	30%

流速：0.4 mL/min

柱温：40℃

进样量：20 μL

质谱条件

离子化模式: ESI(-)

离子喷雾电压: 4.5 KV

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 15 L/min

碰撞气: 氩气

DL温度: 250°C

加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测(MRM)

驻留时间: 30 ms

延迟时间: 3 ms

MRM参数: 见表1

表1 MRM参数列表

名称	前体离子	产物离子	作用	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
氯霉素	321.20	152.20	定量分析	12.0	20.0	29.0
氘代氯霉素	326.20	157.20	内标物质定量	12.0	15.0	29.0

### 1.3 标准品溶液的配制

用甲醇配制1 mg/mL的标准储备液。然后用水稀释成浓度为0.05、0.1、0.5、1、5、10和50 ng/mL的标准工作液, 每份标准溶液中加入氘代氯霉素作为内标物质, 使其浓度为1 ng/mL。

## 结果与讨论

### 2.1 标准工作液的MRM质谱图和色谱图

1 ng/mL氯霉素和1 ng/mL氘代氯霉素的标准工作液的质谱图如图1所示, 色谱图如图2和图3所示。本实验中以m/z 152.20的碎片离子的峰面积做氯霉素的定量分析, 以m/z 157.20的碎片离子的峰面积做氘代氯霉素的定量分析。

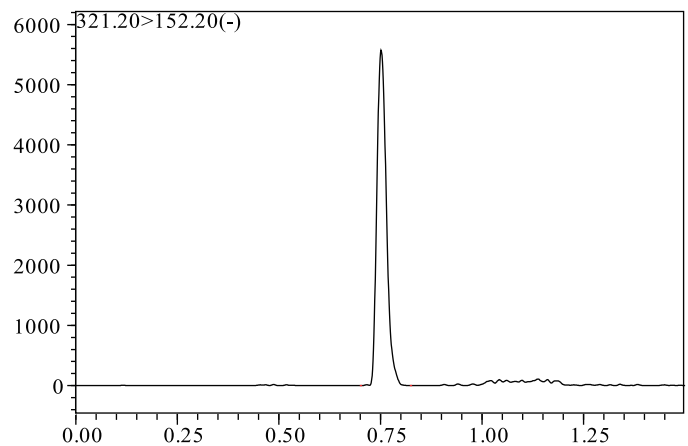


图2 1 ng/mL的氯霉素色谱图(321.20&gt;152.20)

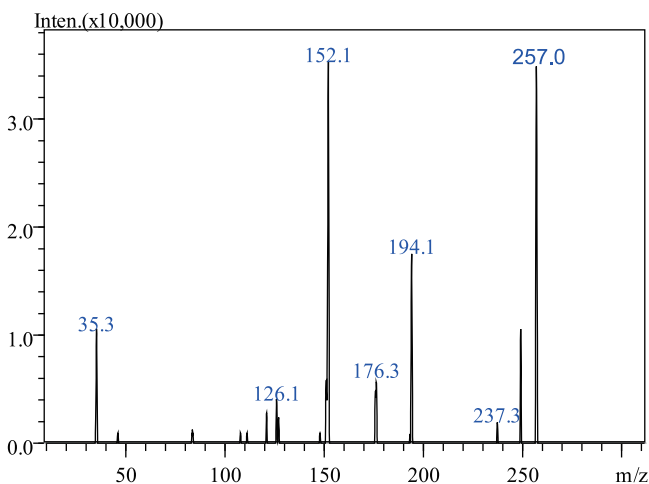


图1 1 ng/mL氯霉素产物离子扫描质谱图

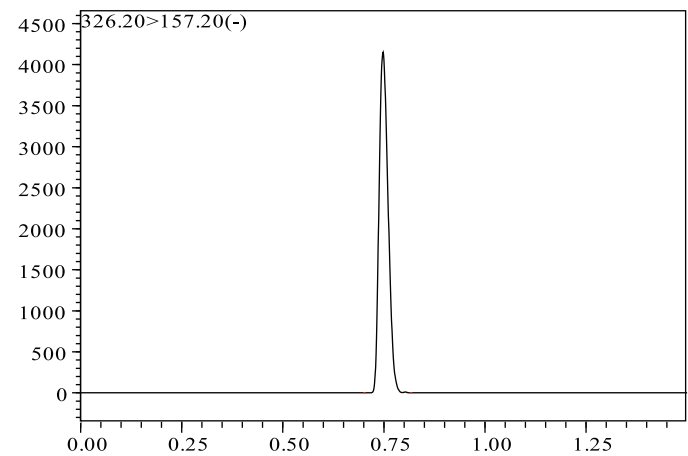


图3 1 ng/mL的氘代氯霉素色谱图(326.20&gt;157.20)

## 2.2 线性范围

将浓度为0.05、0.1、0.5、1、5、10和50 ng/mL的混合标准工作液按1.2中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积比为纵坐标，绘制校准曲线。所得校准曲线线性关系良好，标准曲线方程 $Y=(1.19739)X+(0.195016)$ ，线性相关系数 $r=0.99996$ 。

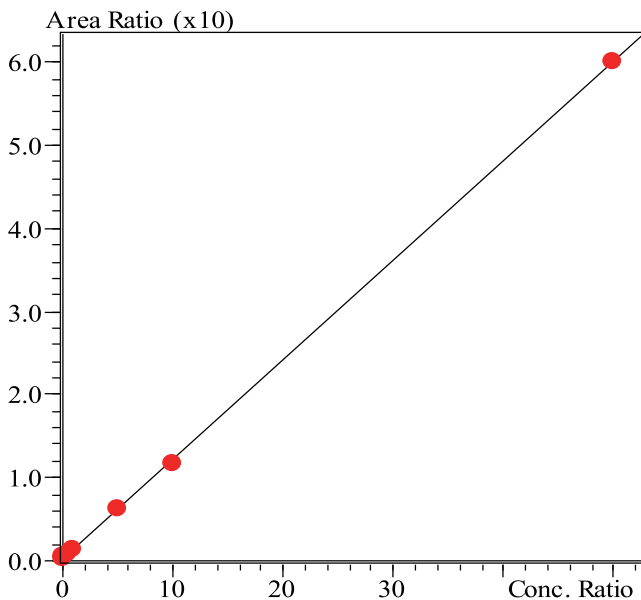


图4 氯霉素的校准曲线

## 2.3 精密度实验

对标准工作液连续测定6次，考察方法的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表2所示，重复性良好。

表2 氯霉素重复性数据(n=6)

Conc. (ng/mL)	RSD% (RT)	RSD% (Area Ratio)
0.05	0.35%	3.64%
0.1	0.18%	2.96%
0.5	0.33%	3.80%
1	0.23%	3.14%
5	0.20%	4.16%
10	0.29%	3.73%
50	0.14%	4.14%

## 2.4 灵敏度实验

0.05 ng/mL氯霉素的标准工作液的色谱图如图4所示。其信噪比结果如表3所示以10倍信噪比计算定量限为0.005 ng/mL。

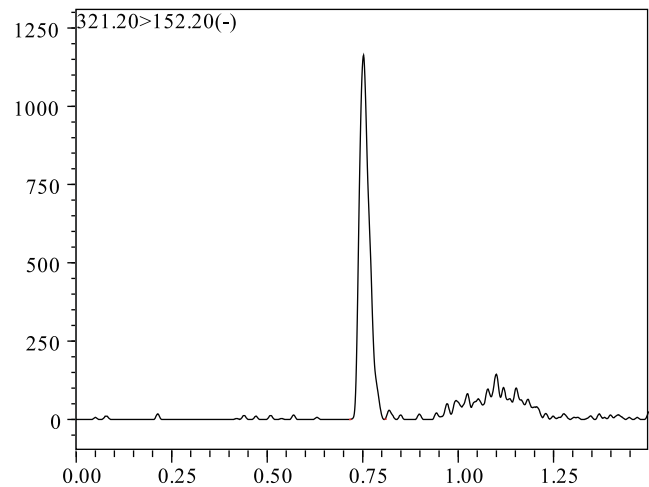


图5 0.05 ng/mL的氯霉素色谱图(321.20>152.20)

表3 氯霉素 (321.20>152.20)信噪比数据

N	信噪比
1	90.4
2	79.1
3	137.6
4	141.2
5	89.7
6	101.4
平均值	106.5

## 结论

建立了使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A和三重四极杆质谱仪LCMS-8030联用测定氯霉素的方法。该方法分析速度快，精密度高，连续6次进样保留时间的相对标准偏差为0.14~0.35%，峰面积比值的相对标准偏差为2.96~4.16%；线性范围宽(0.05~50 ng/mL)，校准曲线的相关系数在0.9999以上；灵敏度高，定量限为0.005 ng/mL。利用岛津LCMS-8030可以对氯霉素进行高灵敏度的定量分析。