

LC-MS/MS 测定蜂蜜中红霉素及其降解物残留量

LCMSMS-854

摘要：依据《食品安全国家标准 蜂蜜和蜂王浆中红霉素及其降解物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》征求意见稿，建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪检测蜂蜜中红霉素及其降解物脱水红霉素残留量的方法。在 0.5~50 µg/L 线性范围内，相关系数 R 均 > 0.999。加标量为 10~50 µg/kg 时，回收率在 82.9-109.0% 之间，RSD 在 3.27~8.36% 之间。该分析方法灵敏度高，重复性好，分析时间短，稳定可靠，可供相关行业检测人员参考使用。

关键词：三重四极杆液质联用仪 蜂蜜 红霉素 降解物

技术特点：

- ❖ 红霉素 A 及脱水红霉素 A 灵敏度高于标准要求。
- ❖ 使用 Shim-pack GIST C18-AQ HP 色谱柱，5.5 min 完成分析，优于标准方法。

红霉素是由链霉素所产生的一种碱性大环内酯类抗生素，在酸性条件下易降解产生多种副产物，如脱水红霉素、红霉素 A 烯醇醚和伪红霉素 A 烯醇醚等。在蜂业生产中，红霉素被用于防治意蜂的美洲幼虫腐臭病，特别是对土霉素有抗性的美洲幼虫腐臭病。红霉素的不合理使用导致红霉素及其降解物在蜂产品中

留，对蜂产品质量安全和人体健康带来潜在风险

本文使用岛津三重四极杆液质联用仪，参考《食品安全国家标准 蜂蜜和蜂王浆中红霉素及其降解物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》中的方法，建立了一种快速准确测定蜂产品中红霉素 A 及脱水红霉素 A 的方法。

实验部分

1.1 仪器

岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050，配置信息如下：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A 5R
输液泵：	LC-30AD×2	柱温箱：	CTO-30A
自动进样器：	SIL-30ACMP	色谱工作站：	Labsolutions Ver.5.118

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18-AQ HP (50 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 µm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N:227-30807-01)

流动相：A-0.1% 甲酸水溶液；B- 甲醇

进样体积：2 µL

柱温：40°C

流速：0.3 mL/min

洗针液：甲醇 / 水 = 1:1 (v:v)

洗脱方式：梯度洗脱，B 相起始浓度为 5%，时间程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
0.50	泵	B Conc	5
1.00	泵	B Conc	25
2.00	泵	B Conc	75
3.00	泵	B Conc	98
4.00	泵	B Conc	98
4.10	泵	B Conc	5
5.50	控制器	STOP	

质谱条件

离子化模式 : ESI+	雾化气流速 : 3.0 L/min
接口电压 : 4 kV	干燥气流速 : 10.0 L/min
接口温度 : 300°C	加热气流速 : 10.0 L/min
D L 温度 : 250°C	碰撞气 : 氦气
加热模块温度 : 400°C	扫描模式 : 多反应监测 (MRM)
MRM 参数 : 见表 2	

表 2 MRM 参数

序号	中文名称	英文名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	红霉素 A	Erythromycin A	114-07-8	734.55	158.15*	-22.0	-30.0	-16.0
					576.40	-22.0	-21.0	-30.0
2	脱水红霉素 A	Anhydroerythromycin A	23983-13-2	716.50	558.35*	-36.0	-17.0	-28.0
					158.10	-36.0	-29.0	-30.0

* 代表定量离子对。

■ 样品前处理

取蜂蜜 5 g 至于 50 mL 离心管中, 加入 5 mL 水, 涡旋 30 s, 再加入 10 mL 乙腈, 超声 10 min, 加入 4 g 无水 MgSO₄ 和 1 g NaCl, 涡旋 1 min, 9000 r 离心 10 min, 取 5 mL 上清液, 用 400 mg PSA 和 1200 mg 无水 Na₂SO₄ 净化, 涡旋 30 s, 8000 r 离心 5 min 后取上清液过 0.22 μm 滤膜到样品瓶中, 上机测定。

■ 结果与讨论

3.1 标准样品谱图

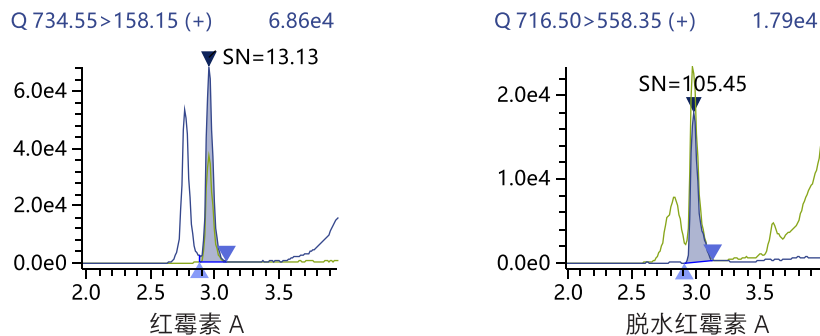


图 1 0.5 μg/L 蜂蜜基质匹配混合标准溶液的 MRM 色谱图

3.2 校准曲线和灵敏度

分别配制 0.5、2.5、5、25、50 ng/mL 的蜂蜜基质匹配混合标准溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线。根据 0.5 µg/L 标样数据，以 3 倍信噪比、10 倍信噪比计算检出限、定量限。各化合物线性方程、相关系数、检出限以及定量限如表 3 所示。

表 3 线性方程和灵敏度

序号	化合物	校准曲线	相关系数 R	准确度 (%)	检出限 (µg/L)	定量限 (µg/L)
1	红霉素 A	Y=568098X-17546	0.999	90.5~104	0.114	0.381
2	脱水红霉素 A	Y=175908X-11286	0.999	95.8~105	0.014	0.047

3.3 重复性实验

取 0.5、5 和 50 µg/L 蜂蜜基质匹配混合标准溶液，连续进样 6 次，考察仪器的重复性，测定结果见表 4。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

序号	化合物	RSD% (0.5 µg/L)		RSD% (5 µg/L)		RSD% (50 µg/L)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	红霉素 A	0.09	1.29	0.08	0.83	0.04	0.96
2	脱水红霉素 A	0.11	1.92	0.07	1.54	0.41	2.97

3.4 加标回收率

将空白蜂蜜样品进行 10、20、50 µg/kg 三个浓度水平加标，按照上述前处理方法处理后上机，每个水平重复测定 3 次。结果如表 5 所示：平均回收率在 82.9~109.0% 之间，RSD 在 3.27~8.36% 之间。

表 5 添加回收率结果 (n=3)

序号	化合物	低浓度 (10 µg/kg)		中浓度 (20 µg/kg)		高浓度 (50 µg/kg)	
		平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	红霉素 AA	97.1	6.62	82.9	6.33	88.6	8.36
2	脱水红霉素 AA	109.0	4.17	85.1	3.27	96.7	6.44

■ 结论

本文参考《食品安全国家标准 蜂蜜和蜂王浆中红霉素及其降解物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》征求意见稿，建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪检测蜂蜜中红霉素及其降解物脱水红霉素残留量的方法。在 0.5~50 µg/L 线性范围内，相关系数 R 均 > 0.999。在 0.5、5 和 50 µg/L 三个浓度下，连续 6 针进样，化合物的保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.04~0.41% 和 0.83~2.97% 之间，仪器精密度良好。加标量为 10~50 µg/kg 时，回收率在 82.9~109.0% 之间，RSD 在 3.27~8.36% 之间。该分析方法灵敏度高，重复性好，分析时间短，稳定可靠，可供相关行业检测人员参考使用。

岛津应用云

