

# 超高效液相色谱串联三重四极杆质谱法 测定饲料中氯霉素

## LCMSMS-082

**摘要：**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-8040 联用测定饲料中氯霉素的检测方法。样品磨碎后，经乙酸乙酯提取，45℃下氮气吹干，异辛烷和三氯甲烷溶解残渣后用 5% 乙腈液液萃取净化处理，使用乙腈 - 水 (50:50) 等度洗脱，电喷雾离子源负模式 (ESI-)，多反应离子监测 (MRM) 进行定量分析。基质加标配制工作曲线，氯霉素在 1 ~ 50 μg/L 浓度范围内线性良好，标准曲线的相关系数 r 为 0.9999。方法的检出限 (LOD) 为 1 μg/kg，定量下限 (LOQ) 为 5 μg/kg。在 5 ~ 20 μg/kg 范围内，三个水平的加标回收率为 82% ~ 87%，相对标准偏差 (RSDs, n=6) 均小于 10%。

**关键词：**氯霉素 饲料 三重四极杆质谱

氯霉素是一种广谱抗生素，在水产、禽类等养殖生产上常被用于细菌性传染病。氯霉素抑制人体骨髓造血功能，引起再生障碍性贫血，因此许多国家和地区已将其列为禁用兽药，规定在所有食品动物可食性组织中最高残留限量 (MRL) 为零。氯霉素兽残检测多以畜禽肉和水产品等动源性食物为主，以饲料为检测对象的较少。目前饲料中氯霉素检测标准有 GB/T 21108-2007，其前处理步骤繁琐，实验误差大。本方法简化了前处理步骤，回收率及精密度可以满足国标要求。饲料样品成分复杂，基质干扰物质多，岛津 LCMS-8040 三重四极杆质谱检测器采用多反应离子检测模式，可以有效的排除干扰，准确实现定量分析，样品分析在 1 min 内完成，氯霉素的定量下限 (LOQ) 达到 5 μg/kg，可满足动物用饲料中氯霉素的有效监控要求。

## 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-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A<sub>s</sub> 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-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions ver. 5.50 色谱工作站。

### 1.2 分析条件

#### 液相条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODSIII 2.0 mm I.D. × 75 mm L., 1.6 μm

流动相：水 / 乙腈 = 50:50 (v/v)

流速：0.4 mL/min

柱温：40℃

进样量：2 μL

#### 质谱条件

离子化模式：ESI 源，负离子

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℃

加热模块温度：400℃

扫描模式：多反应监测 (MRM)

驻留时间：20 ms

延迟时间：3 ms

碰撞能量：见表 1

### 1.3 标准品溶液的配制

用甲醇配制 1 mg/mL 的标准储备液。然后用流动相稀释成浓度为 1、5、10、20、50 ng/mL 的标准工作溶液。

### 1.4 实际样品的处理

称取 3.0 g 绞碎的饲料样品 (精确至 0.01 g)，加入 6mL 的乙酸乙酯，均质 1min。2000 r/min 离心分离 15 min，移取 2 mL 上层清液，45℃下氮气吹干，加入 1 mL 的异辛烷 + 三氯甲烷混合液 (混合比 40:60) 溶解残留物，漩涡振荡 1 min。加入 1 mL 乙腈溶液，漩涡振荡 2 min，静置分层后，取上清液过滤上机。

表 1 MRM 参数列表

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
氯霉素	321.00	152.10*	13.0	16.0	28.0
		257.10	13.0	11.0	27.0

\* 代表定量离子对

## 结果与讨论

### 2.1 标准工作液的色谱图

10 ng/mL 的标准工作液色谱图如图 1 和图 2 所示，本实验中以 321.00>152.10 作为定量离子对。

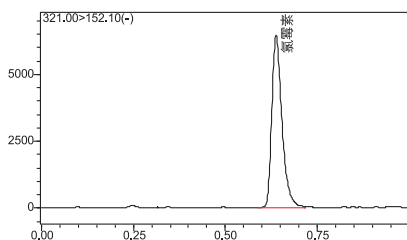


图 1 10 ng/mL 的氯霉素色谱图 (321.00>152.10)

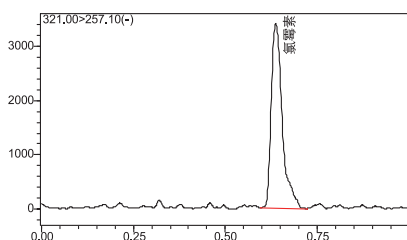


图 2 10 ng/mL 的氯霉素色谱图 (321.00>257.10)

### 2.2 线性关系

使用空白基质配制基质加标工作曲线，浓度为 1、5、10、20 和 50 ng/mL 的混合基质加标溶液按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线。所得校准曲线线性关系良好，标准曲线方程  $Y = (368.877)X + (69.1983)$ ，线性相关系数  $r=0.9999$ 。

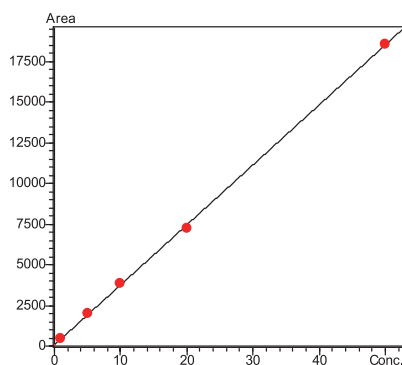


图 3 氯霉素的标准曲线

### 2.3 标样重复性实验

对标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的重复性，保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSDs, n=6) 分别在 0.15 ~ 0.77% 和 1.91 ~ 3.77% 之间，表明仪器具有良好的重复性。实验结果见表 2。

表 2 氯霉素重现性数据 (n=6)

Conc.(ng/mL)	RSD% (RT)	RSD% (Area)
1	0.77	3.77
5	0.51	3.41
20	0.24	1.91
50	0.15	2.21

### 2.4 回收率和精密度实验

对饲料样品分别在 5、10 和 20 μg/kg 三个加标浓度下重复 6 次平行试验考察方法的回收率和精密度，试验结果如表 3 所示。三个水平的加标回收率为 82% ~ 87%，相对标准偏差 (RSDs, n=6) 均小于 10%。本方法具有良好的回收率和精密度。

表 3 前处理回收率及精密度 (n=6)

加标量 (μg/kg)	回收率%	精密度%
5	86.58	5.46
10	82.34	6.11
20	85.82	3.70

### 2.5 灵敏度实验

为了考察方法的灵敏度，在饲料空白样品中添加 5 μg/kg 的氯霉素，得到色谱图如图 4 和图 5 所示。在相应的保留时间内，空白饲料对目标组分无任何干扰，本方法中氯霉素的定量限为 5 μg/kg。

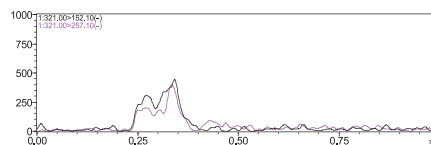


图 4 空白饲料色谱图

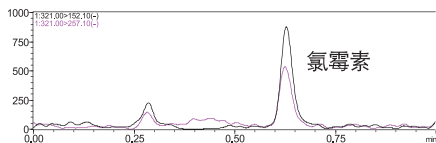


图 5 加标饲料色谱图 (氯霉素加标量 5 $\mu$ g/kg)

## ■ 结论

使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用建立了饲料中氯霉素的检测方法。该方法分析速度快,回收率高,精密度良好,校准曲线的相关系数为 0.9999。方法定量下限为 5 $\mu$ g/kg,满足 GB/T 21108-2007 中 10 $\mu$ g/kg 定量下限的要求。岛津超高效液相色谱串联质谱联用仪可以满足饲料中氯霉素的检测要求。