岛津 SHIMADZU
Excellence in Science

气相色谱法测定水产品中氯霉素类药物残留量

GC-272

摘要： 本文使用岛津气相色谱仪 Nexis GC-2030（ECD 检测器），建立了水产品中 4 种氯霉素类药物残留的测定方法。样品在碱性条件下用乙酸乙酯提取，正己烷去脂、SPE 柱净化，经硅烷化试剂衍生化后上机测试。结果表明，氯霉素在 1.0~50.0 μg/L，甲砜霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺在 10~500 μg/L 的浓度范围内，相关系数 R 均大于 0.998。取浓度为 1.5、15 和 50 μg/L 标准溶液（以氯霉素计）重复进样 6 次，各组分峰面积相对标准偏差均小于 5%。对空白实际样品进行加标回收实验，平均回收率在 75.2%~92.4% 之间。该方法稳定可靠，可用于水产品中氯霉素类药物的测定。

关键词： 气相色谱仪　水产品　氯霉素类药物

技术特点：

❖ 相对普遍使用 LC-MS/MS 检测氯霉素类药物，气相色谱分析的成本更低。
❖ 使用 ECD 电子捕获检测器进行检测，灵敏度高。

氯霉素类抗生素属于广谱抗生素，对革兰氏阳性菌和阴性菌均有抑制作用，常见的该类药物主要包括氯霉素、甲砜霉素、氟苯尼考等。由于氯霉素会严重干扰动物造血功能，引起粒细胞及血小板生成减少，导致不可逆性再生障碍性贫血等，中华人民共和国农业农村部公告第 250 号已明确将其列入《食品动物中禁止使用的药品及其他化合物清单》。

甲砜霉素为氯霉素类衍生物，GB 31650-2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》规定了甲砜霉素在牛、羊和猪的肌肉、肝、肾等组织的最大残留限量（MRLs）为 50 μg/kg；而氟苯尼考是新一代氯霉素类抗生素，氟苯尼考胺是其主要代谢产物，《GB 31650-2019》规定残留标志物是氟苯尼考和和氟苯尼考胺之和，在猪不同组织中的 MRLs 为 300~2000 μg/kg。

为了保障人们的食品安全，农业农村部首次发布了 GB 31656.16-2022《食品安全国家标准 水产品中氯霉素、甲砜霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺残留量的测定 气相色谱法》，本文参考该标准，建立了水产品中氯霉素类抗生素残留的检测方法。

■ 实验部分

1.1 仪器

气相色谱仪：Nexis GC-2030（配 ECD 检测器）

1.2 分析条件

色谱柱：SH-Rxi-5MS，30 m×0.25 mm×0.25 μm
柱温程序：80℃ (1 min)_30℃ /min_280℃ (5 min)
进样口温度：230℃
载气：氮气
载气控制模式：恒线速度
柱流量：1 mL/min
进样方式：不分流进样
进样量：1.0 μL
检测器：ECD 检测器
检测器温度：310℃
电流：1 nA
尾吹气流量：15 mL/ min

样品前处理

样品的前处理请参照 GB 31656.16-2022《食品安全国家标准 水产品中氯霉素、甲砜霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺残留量的测定 气相色谱法》中 8.1 提取、8.2 净化以及 8.3 衍生化的步骤。

结果与讨论

3.1 标准品色谱图

氯霉素类药物衍生物色谱图如图 1 所示。

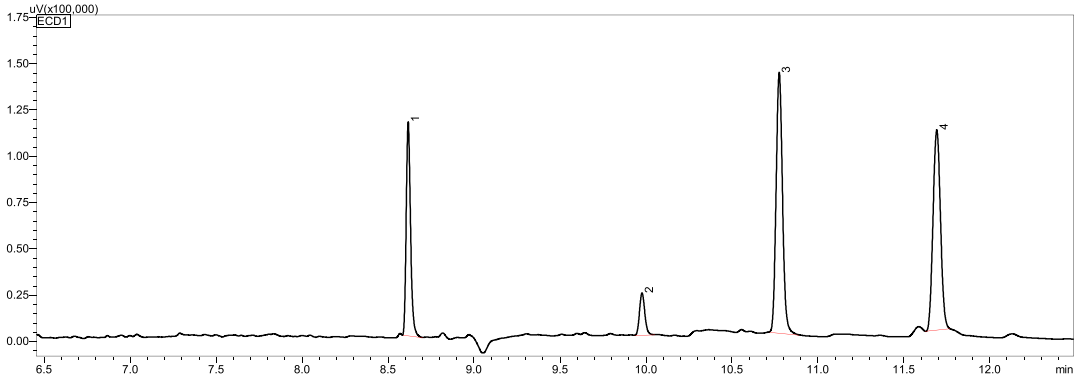


图 1　氯霉素类药物的色谱图

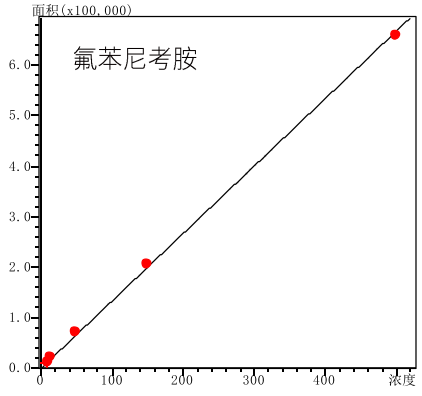
（氯霉素：浓度 5 μg/L；其余三个组分：浓度 50 μg/L）

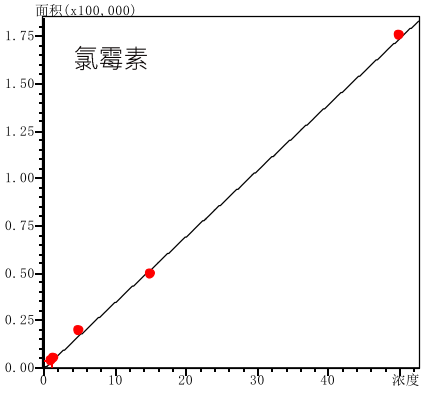
表 1　化合物信息

No.	化合物名称	英文名称	CAS 号	检测目标物	保留时间（min）
1	氟苯尼考胺	Florfenicol amine	76639-93-5	氟苯尼考胺衍生物	8.620
2	氯霉素	Chloramphenicol	56-75-7	氯霉素衍生物	9.980
3	氟苯尼考	Florfenicol	73231-34-2	氟苯尼考衍生物	10.777
4	甲砜霉素	Thiamphenicol	15318-45-3	甲砜霉素衍生物	11.693

3.2 校准曲线和检出限

分别精密量取氯霉素、甲砜霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺标准工作液适量，用乙腈稀释氯霉素浓度为 1.0、1.5、5.0、15 和 50 μg/L，甲砜霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺浓度均为 10、15、50、150 和 500 μg/L 的系列标准溶液，经衍生化后，供气相色谱测定。以测得峰面积为纵座标、对应的标准溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线。根据 1.0 μg/L 标样数据（以氯霉素计），以 3 倍信噪比计算氯霉素类药物的检出限，标准曲线及检出限结果如表 3 所示。





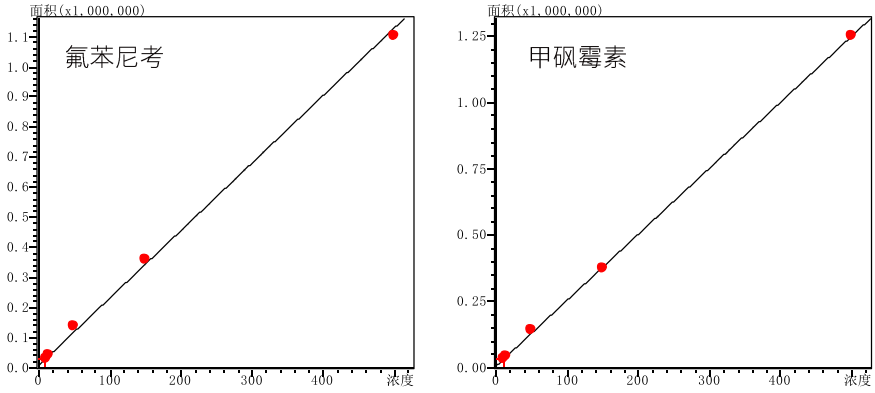


图 2　氯霉素类药物标准曲线

表 3　氯霉素类药物校准曲线及检出限

No.	化合物名称	相关系数 R	准确度（%）	检测限 (ng/mL)
1	氟苯尼考胺	0.9991	79.8~111.4	0.97
2	氯霉素	0.9989	88.7~111.4	0.23
3	氟苯尼考	0.9983	86.9~116.0	0.41
4	甲砜霉素	0.9998	96.6~106.6	0.37

3.3 重复性实验

取 1.5、15 和 50 μg/L（以氯霉素计）混合标准品溶液，衍生后，经连续进样 6 次，考察仪器的重复性，测定结果见表 4。

表 4　重复性结果 (n=6)

No.	化合物名称	RSD (%)（1.5 μg/L）		RSD (%)（15 μg/L）		RSD (%)（50 μg/L）	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	氟苯尼考胺	0.003	3.44	0.005	2.04	0.006	1.05
2	氯霉素	0.004	3.66	0.007	3.99	0.001	1.73
3	氟苯尼考	0.003	4.00	0.008	1.53	0.005	1.54
4	甲砜霉素	0.007	1.80	0.008	1.85	0.007	1.70

3.4 加标回收率

取空白虾肉 5 g，加入混标工作液，使加标浓度为 0.3、3.0 和 6.0 μg/kg（以氯霉素计），样品经提取及净化后，按照 1.2 中的分析条件测定 4 种氯霉素类药物的加标回收率，平行测定 3 次，其回收率在 75.2%~92.4% 之间，具体结果见表 5。

表 5　回收率结果 (n=3)

No.	化合物名称	样品含量（μg/L）	回收率 (%)		
			加标 0.3 μg/kg	加标 3.0 μg/kg	加标 6.0 μg/kg
1	氟苯尼考胺	N.D.	75.2	88.3	87.5
2	氯霉素	N.D.	82.4	85.7	89.9
3	氟苯尼考	N.D.	80.2	86.4	92.4
4	甲砜霉素	N.D.	79.4	82.5	88.0

结论

依据食品安全国家标准 GB 31656.16-2022《水产品中氯霉素、甲砜霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺残留量的测定 气相色谱法》，建立了使用 Nexis GC-2030 测定虾肉中氯霉素类药物残留的方法。4 种氯霉素类药物在 1.0~50 μg/L 浓度范围内（以氯霉素计）线性良好，相关系数 r 在 0.998 以上。加标浓度为 0.3~6.0 μg/kg（以氯霉素计）的样品，回收率在 75.2%~92.4% 之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于水产品中氯霉素类药物残留量的准确检测。

岛津企业管理（中国）有限公司 –分析中心
Shimadzu (China) Co., LTD. – Analytical Applications Center

Email: dr_jin@shimadzu.com.cn Tel: 86(21)34193983 http://www.shimadzu.com.cn