

# 气相色谱-负化学源质谱法测定蜂蜜和奶粉中氯霉素残留量

王建华<sup>1</sup> 刘心同<sup>1</sup> 王修林<sup>2</sup> 曹哲<sup>3</sup> 胡永明<sup>1</sup> 林黎明<sup>1</sup>, 孙肖洁<sup>1</sup>

(1. 青岛出入境检验检疫局, 青岛 266002; 2. 中国海洋大学, 青岛 266003; 3. 安捷伦中国科技有限公司, 北京 100022)

**摘要** 研究了蜂蜜和奶粉中氯霉素残留量的气相色谱-质谱分析方法。将样品溶于水, 其中的氯霉素残留物用乙酸乙酯提取, 提取物用 C<sub>18</sub> 固相萃取柱净化, 净化液再用乙酸乙酯反提取, 经 N, O-双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(BSTFA) + 1% 三甲基氯硅烷(TMCS) 衍生后, 用配有负化学源质谱检测器的气相色谱仪测定。当添加水平为 0.1 ~ 10 μg/kg 时, 回收率为 80.4% ~ 95.3%, 相对标准偏差为 9.3% ~ 18.1%。

**关键词** 氯霉素 气相色谱-质谱法 奶粉 蜂蜜

氯霉素(chloramphenicol, CAP)是一种广谱抗生素, 由于它对人体有严重毒副作用, 因此许多国家(包括中国)禁止在供人类食用的动物身上使用氯霉素。测定鸡肉、肠衣、水产品中氯霉素残留的分析方法较多<sup>[1-3]</sup>, 而测定基质复杂的奶粉和蜂蜜中氯霉素残留量的方法较少<sup>[4-6]</sup>, 这些方法中液相色谱法灵敏度低, 并且容易出现假阳性; 液相色谱-质谱法则费用太高。笔者经过反复试验, 建立了用气相色谱仪-负化学源质谱联用仪测定奶粉和蜂蜜中氯霉素残留的方法, 该法避免使用卤代烃、甲苯等毒性较大的溶剂, 可以在 0.1 μg/kg 水平上同时定性和定量。在 2003 年国家质检总局组织的蜂蜜盲样比对实验中, 本方法的测试结果令人满意。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与试剂

气相色谱仪: Agilent 6890II 型, 配有负化学源的 5973N 质谱检测器, 7683 型 100 位盘自动进样器, 安捷伦有限公司;

快速旋涡混匀器: 广州 IKA 公司;

多功能微量化处理仪: 长沙中迅电子工程研究所;

乙酸乙酯、甲醇、正己烷和环己烷: 均为残留分析级试剂;

衍生化试剂: SylonBFT { N, O-双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺 [BSTFA] - 三甲基氯硅烷 [TMCS] (体积比 99:1) }, 美国 Supelco 公司。

C<sub>18</sub> 固相萃取柱: Supelclean LC - 18, 500 mg, 3 mL, 美国 Supelco 公司;

氯霉素标准储备溶液: 1.00 g/L。称取氯霉素标准品 0.0500 g (纯度 99%, Sigma 公司), 用甲醇溶解, 定容至 50 mL, 贮于 4℃ 以下, 可稳定 6 个月, 工

作液根据需要稀释;

蜂蜜和奶粉样品为日常检测的样品;

实验用水: Millipore 净化水。

### 1.2 气相色谱-质谱条件

石英毛细管色谱柱: DB - 5MS 型 30 m × 0.25 mm i. d., 0.25 μm; 柱温: 70℃ (1.0 min)  $\xrightarrow{25^\circ\text{C}/\text{min}}$  280℃ (4.0 min)  $\xrightarrow{60^\circ\text{C}/\text{min}}$  310℃ (2.0 min); 进样口温度: 250℃; 载气: 氦气, 恒压模式, 柱头压为 82.74 kPa; 进样量: 1 μL; 传输线温度: 280℃; 溶剂延迟: 5 min; 离子源温度: 150℃; 四极杆温度: 100℃; 反应气: 甲烷, 流量为 2 mL/min; 选择离子: 定量离子为 m/z 466, 定性离子为 m/z 376, m/z 468, m/z 470。

### 1.3 实验步骤

#### (1) 提取

称取 5 g (精确至 0.01 g) 奶粉或蜂蜜于 50 mL 离心管中。加入 10 mL 水, 混匀溶解, 加入 25 mL 乙酸乙酯, 用混匀器混匀提取 2 min, 在 1℃ 下以 7000 r/min 离心 5 min。将乙酸乙酯层移入 100 mL 梨形瓶中, 在试样中再加入 10 mL 乙酸乙酯, 用涡流混匀器混匀 1 min, 合并乙酸乙酯提取液, 于 40℃ 旋转蒸发至近干, 用氮气吹干。加入 3 mL 水溶解残渣。

#### (2) 净化

将 C<sub>18</sub> 柱预先用 5 mL 甲醇和 5 mL 水淋洗活化, 将(1)中所得提取液过柱。再用 10 mL 水和 5 mL 水-乙腈溶液(7+1)洗涤梨形瓶并转移到 C<sub>18</sub> 柱中。残余液以真空抽干, 用 5 mL 水-乙腈(7+3)溶液洗脱, 收集洗脱液于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 乙酸乙酯, 用涡流混匀器混合 2 min, 以 7000 r/

min 离心 3 min。吸取乙酸乙酯层于另一个 100 mL 梨形瓶中,于 40 °C 旋转蒸发至约 1 mL,得浓缩液。

### (3) 衍生化

将浓缩液移入 5 mL 离心管中,用 1 mL 乙酸乙酯洗涤鸡心瓶,合并乙酸乙酯,于 40 °C 吹氮气蒸发至干。加入 100  $\mu$ L 正己烷和 100  $\mu$ L 硅烷化试剂,于 70 °C 下加热 30 min。吹氮气蒸发至干,加入 0.50 mL 正己烷与环己烷混合液(体积比 6:4),混匀溶解,供气相色谱-质谱测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 提取和净化条件

采用文献方法<sup>[2-4]</sup>测定,用乙酸乙酯提取,正己烷的液-液分配净化效果不好,最终测定液为深黄色,杂峰较多,重复性差,并且奶粉出现黄色油滴。欧盟测定禽肉中氯霉素的方法是用水-乙腈溶液(7+3)洗脱后直接浓缩,时间太长,回收率低。本法采用乙酸乙酯反提洗脱液后,再浓缩,速度快,且可除去水溶性杂质。在不更换衬管和石英棉的情况下,用本法进样 50 次进行测定,峰形和柱效无显著变化,说明本法适合于全脂、脱脂奶粉和蜂蜜中氯霉素的检测。

### 2.2 气相色谱-质谱定性

根据欧盟指令 EU 657/2002 要求,先对硅烷化的氯霉素做质谱全扫描,确定 4 个特征离子: $m/z$  376,  $m/z$  466(基峰,分子离子峰),  $m/z$  468,  $m/z$  470,它们的丰度比为 20:100:76:18。用本法进行样品测定时,如果检出的色谱峰保留时间与标准溶液一致,并且在扣除背景的样品质谱图中,选择的 4 个监测离子都出现,同时相对偏离范围为: $m/z$  376,  $\pm 25%$ ;  $m/z$  466,  $\pm 20%$ ;  $m/z$  468,  $\pm 30%$ 。则可判断样品中存在氯霉素。图 1、图 2 分别为蜂蜜添加标准样品后的色谱图和选择离子质谱图。

### 2.3 方法的回收率和精密度

分别量取 0.05  $\mu$ g/mL 标准溶液 10、20、50、100  $\mu$ L 和 0.5  $\mu$ g/mL 标准溶液 20、50、100  $\mu$ L(相当于样品含量 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10  $\mu$ g/kg)按衍生化步骤进行测定,CAP 的含量( $Y$ )与峰高( $X$ )呈线性关系,线性方程  $Y = 1600X + 156$ ,相关系数为 0.9990,线性范围为 0.1 ~ 10  $\mu$ g/kg。在空白蜂蜜和奶粉样品中添加氯霉素标准溶液,分别平行测定 6 次,回收率和相对标准偏差结果见表 1。该方法的检出限为 0.1  $\mu$ g/kg。

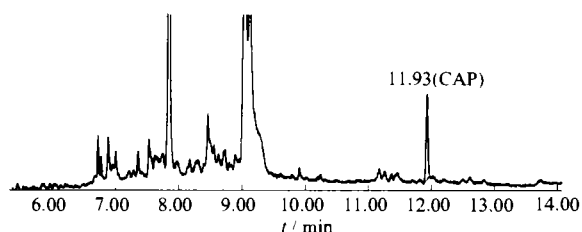


图 1 蜂蜜添加氯霉素标准样品后的色谱图

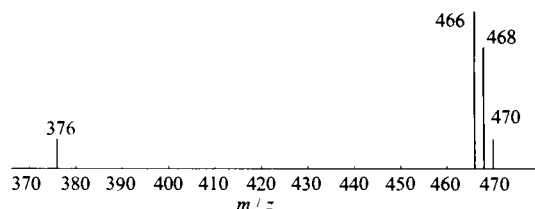


图 2 蜂蜜添加氯霉素标准样品后的选择离子质谱图

表 1 加标回收试验和精密度试验结果( $n=6$ )

空白样品	加入量/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	测得量/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	平均回收 率/%	RSD/%
蜂蜜	0.5	0.46	92.0	18.1
	1.0	0.89	89.2	9.3
	10	9.53	95.3	10.5
奶粉	0.5	0.45	91.0	12.1
	1.0	0.80	80.4	10.4
	10	9.45	94.5	16.7

### 2.4 比对实验

2003 年国家质检总局组织的蜂蜜中氯霉素盲样比对实验两个样品的中位值分别为 1.25  $\mu$ g/kg 和 5.50  $\mu$ g/kg,采用本方法测定的结果分别为 1.35  $\mu$ g/kg 和 6.07  $\mu$ g/kg,  $Z < 2$ ,两种样品测定的相对标准偏差分别为 10% 和 11% ( $n=6$ )。

### 参考文献

- 王建华,陈世山.同时测定鱼肉中氯霉素和甲砒霉素残留量的毛细管气相色谱法.分析测试学报,2001,20(3):89
- 王建华,梁成珠,刘兴敏,等:多种动物源性食品中氯霉素残留量检验方法——气相色谱双电子俘获检测.分析测试学报,2003,22(5):105
- DB 37/T 0357-2003 水产品和畜、禽产品中氯霉素残留气相色谱测定法.
- Pfenning A P, Madson M R, Roybal J E, et al. Simultaneous determination of chloramphenicol, florfenicol, and thiamphenicol residues in milk by gas chromatography with electron capture detection. J AOAC Int.1998,81(4):714
- 蒋定国,扬大进,方从容,等.高效液相色谱法测定牛奶中氯霉素残留量的研究.中国食品卫生杂志,2003,15(1):36
- Hormazabal V, Yndestad M. Simultaneous determination of chloramphenicol and ketoprofen in meat and milk and chloramphenicol in egg, honey and urine using liquid chromatography - mass spectrometry. Journal Liquid Chromatography and Related Technologies,2001,24(16):2477

ent with that of the sample. The influence of matrix effect can be decreased. The linear range of determination is 0.30% ~ 2.50% for Fe, 0.10% ~ 1.20% for Ni, 0.02% ~ 0.20% for Cu and 0.05% ~ 0.30% for V. The determination result of the method is basically consistent with that of AAS and the relative standard deviation is less than 2%.

**KEYWORDS** X ray fluorescence spectrometry, catalyst, Fe, Ni, Cu, V, determination

(上接第 27 页)

## DETERMINATION OF CHLORAMPHENICOL RESIDUE IN MILK POWDER AND HONEY BY GC-NEGATIVE CHEMICAL IONIZATION MASS SPECTROMETRY

Wang Jianhua<sup>1</sup>, Liu Xintong<sup>1</sup>, Wang Xiulin<sup>2</sup>, Cao Zhe<sup>3</sup>, Hu Yongming<sup>1</sup>, Lin Liming<sup>1</sup>, Sun Xiaojie

<sup>1</sup>. Qingdao Exit & Entry Inspection and Quarantine Bureau, Qingdao 266002, China; <sup>2</sup>. China Ocean University, Qingdao 266003, China; <sup>3</sup>. Agilent China Technologies Ltd., Beijing 100022, China)

**ABSTRACT** The method for the determination of chloramphenicol residue in milk powder and honey by gas chromatography - negative chemical ionization mass spectrometry was studied. The residue was determined after being extracted with ethylacetate, cleaned up by C<sub>18</sub> SPE column and derivatized with BSTFA + TMCS (99 + 1). When the additive level is 0.1 ~ 10 µg/kg, the recovery is 80.4% ~ 95.3%, and the RSD is 9.3% ~ 18.1%.

**KEYWORDS** chloramphenicol, gas chromatography - mass spectrometry, milk powder, honey

## 请 订 阅 分 析 和 计 量 专 业 书 籍

您可通过邮局或银行汇款向《化学分析计量》杂志社订阅下表内所列分析和计量专业书籍(定价中均已含书价 10% 的挂号邮寄费), 汇款时请注明订阅书籍代号、名称、册数、金额、收件人、邮编及详细地址。如需发票, 请来信或电话告知。

### 邮局汇款:

收款单位: 山东济南市 108 信箱杂志社  
 邮政编码: 250031  
 电话: (0531) 5816706 - 803, 805 5947355 (传真)

### 银行汇款:

户 名: 中国兵器工业第五三研究所  
 开户银行: 济南市工商银行八一分理处  
 帐 号: 1602001209014424079

代号	书 名	出版时间	订价/元	订购册数
Z2	现代分析技术—在高聚合物中的应用		6	
A27	溶剂萃取手册	2001	198	
A115	化学分析手册(七)核磁共振波谱分析	2002	138	
A5	分析仪器手册	1997	154	
A39	分析化学手册(第二版)(三)光谱分析	1998	149	
A6	化验员实用手册	1999	132	
C1	计量测试技术手册(第十三册)·化学	1997	121	
A40	分析化学手册(第二版)(十)化学计量学	2001	121	
A26	现代化学试剂手册(六)·仪器分析试剂	1998	108	
C11	常用测量不确定度评定方法及应用实例	2001	108	
A38	分析化学手册(第二版)(二)化学分析	2001	99	
A7	化工辞典(第四版)	2000	95	
A76	大气污染监测方法(第二版)	2001	88	
C12	国家计量技术规范汇编术语	2001	86	
C2	标准物质手册	1998	83	
A28	医药原料产供销大全(第三版)	2000	65	
A77	农药残留量实用检测方法手册(二卷)	2001	64	
C13	质量认证咨询手册	1999	64	
A78	环境污染物分析监测	2001	62	
A79	环境水质监测质量保证手册(第二版)	2001	61	
C9	法定计量检定机构考核规范实施指南	2000	61	
A80	痕量有机污染物的监测	2001	55	
C3	质量 标准化 计量基础理论	2000	55	

代号	书 名	出版时间	订价/元	订购册数
A18	化验员读本(化学分析、仪器分析)	2001	55	
A32	食品检验(现代分析测试技术丛书)	2001	55	
A19	塑料添加剂	2000	54	
C14	全国职业培训推荐教材: 化学检验	2001	50	
C4	测量不确定度评定与表示指南	2000	44	
C8	中华人民共和国标准物质目录	2000	44	
A29	复杂样品的综合分析—分析科学现代方法丛书	2000	42	
A30	科技文献检索手册	2001	39	
A31	食品添加剂	2001	39	
C5	测量不确定度手册	1997	33	
A33	气相色谱检测方法	2000	30	
A34	液相色谱检测方法	2000	28	
A81	离子色谱方法及应用	2000	28	
C15	ISO9000:2000 标准丛书四: 质量检验试验与统计技术	2001	28	
A82	色谱柱技术	2001	28	
A35	色谱定性与定量	2000	26	
A36	色谱仪器维护与故障排除	2001	26	
C10	最新产品质量法解析与适用	2000	26	
C16	通用计量术语及定义解释	2001	26	
A70	色谱分析样品处理(色谱技术丛书)	2000	26	
A37	色谱联用技术	2001	24	
C6	计量工作者常用手册	2000	22	
C17	计量基础知识(计量检定人员考核培训参考书)	2001	20	