

离子阱时间串联质谱测定食品中的氯霉素

张 辉

(美国瓦里安技术中国有限公司,上海 200021)

摘 要:本文采用离子阱时间串联质谱法测定食品中氯霉素残留。样品经混合溶剂提取, C_{18} 小柱结合硅胶柱净化后,用双三甲基硅基三氟乙酰胺(BSTFA)衍生后,用GC/MS/MS测定。本法准确、稳定,检测灵敏度可达 $0.1 \mu\text{g/kg}$ 。

关键词:氯霉素;离子阱质谱;食品

中图分类号:O658

文献标识号:A

文章编号:1671-8798(2003)S0-0046-02

氯霉素(CAP)是一种广谱抗生素,对需氧、厌氧菌以及衣原体、支原体、立克次体等均有效。由于价格便宜且效果显著,常被用于家畜的疾病治疗和预防。但氯霉素易造成再生障碍性贫血和灰婴综合症,一些国家禁止在蛋鸡和奶牛上使用氯霉素,并规定其在肉制品中的MRL为 $0.2-10 \mu\text{g/kg}$ 。自我国加入WTO后,对药物残留的检测越发重要,我国出口荷兰、法国等欧盟国家的乳制品等已多次被销毁或退回,加强对药物残留检测方法研究十分重要。

用于检测氯霉素的方法必须灵敏、可靠。目前所报道的方法主要有气相色谱法(ECD)、液相色谱法(HPLC)、酶联免疫吸附试验法(ELISA)及GC/MS法等。GC-ECD法虽灵敏,但其阳性结果需进一步确证;HPLC法简单但灵敏度不高;ELISA法简单、快速、处理量大且灵敏度高,但易产生假阳性,一般只用于进行筛选。用GC/MS法最为理想。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

乙酸乙酯、甲醇、正己烷、三氯甲烷、乙腈、氯化钠(均为分析纯);氯霉素标准品;双三甲基硅基三氟乙酰胺(BSTFA)+三甲基氯硅烷(99+1)衍生化试剂; C_{18} 小柱(3 mL, 500 mg);硅胶小柱(3 mL, 500 mg)。

离心机、涡旋混合器、恒温培养箱、旋转蒸发仪、均质器、固相萃取真空系统、气-质联用仪(Varian-Saturn2200)

1.2 实验步骤

1.2.1 提取:称取10 g样品于50 mL离心管中,加入10 g无水硫酸钠,分别加入15, 5 mL乙酸乙酯提取,用均质器均质2 min,于4 000 rpm离心10 min。合并有机相于另一离心管中,旋转蒸发至干,加入1 mL甲醇、25 mL 4%氯化钠溶液、10 mL正己烷,充分混合,于1 000 rpm离心3 min,弃去上清液,并重复一次。水相加入10 mL乙酸乙酯,充分混合,于1 200 rpm离心5 min,吸取上层清液,再重复一次。合并有机相,旋转蒸发至干,加入3 mL乙腈/水(5:95, V/V)溶解残渣。

1.2.2 C_{18} 小柱净化:用5 mL甲醇、5 mL三氯甲烷、5 mL甲醇和10 mL水顺序淋洗后,加入样品提取液,用5 mL乙腈/水(5:95, V/V)淋洗。再用3 mL乙腈/水(50:50, V/V)洗脱并收集氯霉素,用2×5 mL乙酸乙酯提取

收稿日期:2003-10-31

作者简介:张 辉(1975—),男,上海人,主要从事色谱分析方法研究。

洗脱液中的氯霉素。

1.2.3 硅胶小柱净化:先用 5 mL 乙腈/水(20:80, V/V)和 5 mL 二氯甲烷淋洗,待减压抽干后,用 5 mL 二氯甲烷溶解上述残渣入柱,用 5 mL 二氯甲烷淋洗容器并入小柱中。减压抽干小柱中的二氯甲烷,再用 15 mL 乙腈/水(20:80)洗脱并收集氯霉素,合并收集液,用 2×1 mL 乙酸乙酯提取。

1.2.4 衍生化:将乙酸乙酯液用氮气吹干,加入 100 μ L BSTFA + TMCS(99 + 1),密闭后于 70℃ 加热 30 min。放置冷却后用氮气吹干,加 100 μ L 正己烷溶解,供 GC/MS 测定。同时进行氯霉素标准的衍生化。

1.3 仪器条件

色谱柱:DB-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μ m);载气:氮气;进样口温度:260℃;柱温:初始温度为 150℃,保持 1 min,20℃/min 升至 270℃,保持 5 min;不分流进样;进样量:1 μ L;离子源温度:200℃;传输线温度:220℃;监测离子:225,242,361,451;MS/MS 方式的母离子:225;子离子:208,178。

2 结果与讨论

图 1 和图 2 分别为氯霉素衍生物全谱扫描的色谱图和质谱图、NIST 标准质谱图及两者的差异。由图可见,氯霉素衍生物的特征离子为 m/z 225,242,361,451,其质谱图与标准质谱图具有良好的匹配性(因本实验从 m/z 100 开始扫描,故无 m/z 73),但由于受本底影响,低浓度时难于达到较低检测限。

为在检测前排除本底干扰以提高灵敏度,采用 MS/MS 法。通常选择质量数高且丰度高的为母离子,本实验选择 m/z 225 为母离子。经对大量生物样品的检测证明,此法能有效排除本底干扰,具有很高的信噪比,在进样量为 2 pg 时,信噪比 > 10,检测限可以达到 0.1 μ g/kg,甚至更低。

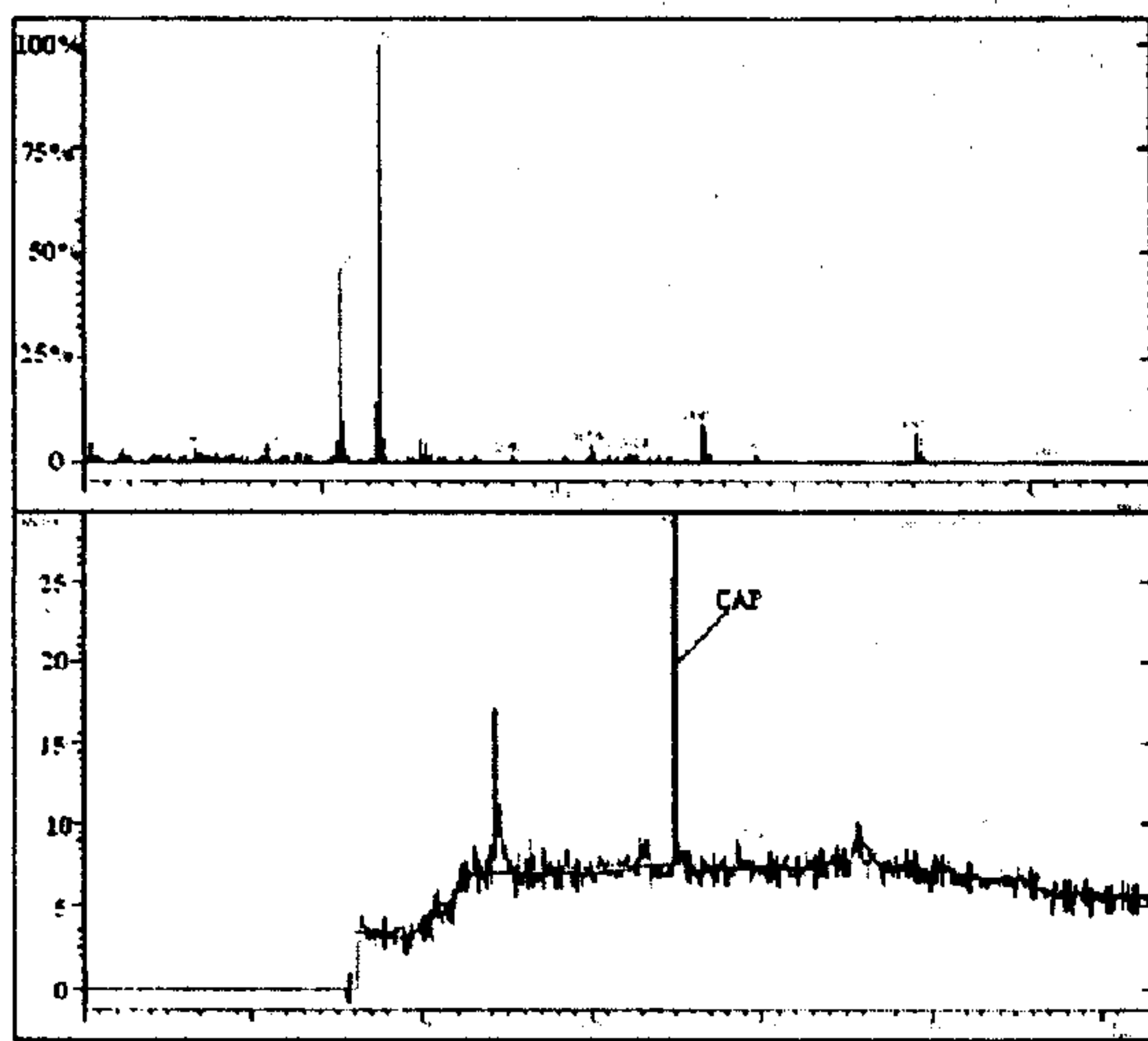


图 1 氯霉素衍生物全谱扫描的色谱图

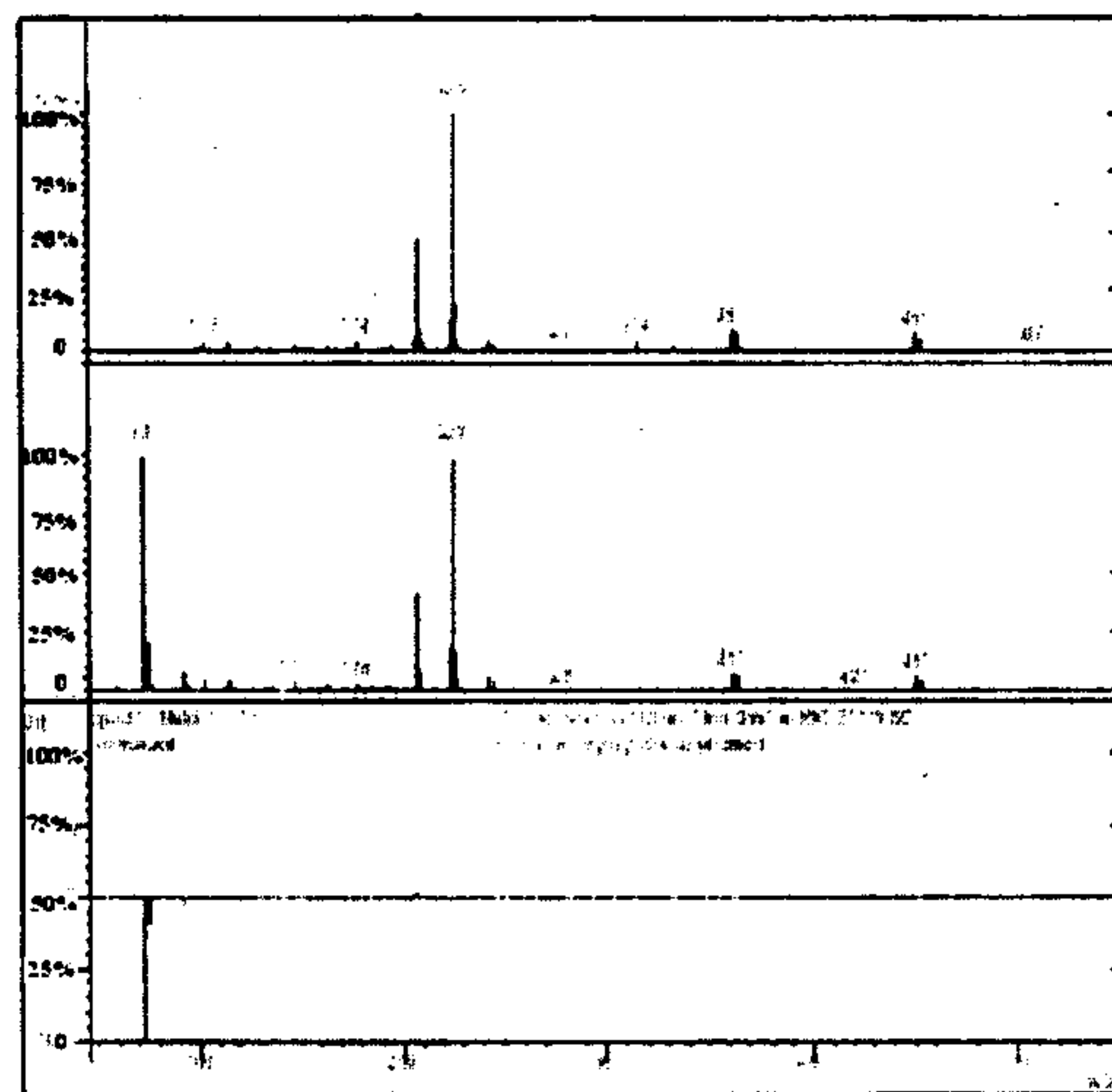


图 2 氯霉素衍生物全扫描质谱图、NIST 标准质谱图及两者的差异

3 总结

与传统气相色谱检测器相比,台式 GC/MS 因灵敏度较低,其使用有所限制,而 GC/MS/MS 可在更高的灵敏度下进行定性定量分析。因为 MS/MS 在对离子检测前就排除了干扰,对复杂样品亦可达到很高灵敏度,具有与大质谱相当的功能,且可将样品中共流物产生的干扰离子从阱中排除,比选择性检测器有更强的可信性,且母离子产生子离子的条件容易控制,故具有很好的再现性与较高的转化率,不需要特殊的操作技巧。

本文介绍的 Varian 离子阱 GC/MS/MS 法测定氯霉素适用于测定各种样品中的低浓度残留物质的定量和确证,并已经用于实际样品的测定,完全符合现有的美国 EPA 及欧盟限量标准,并具有超前性,即可满足更高的要求。Saturn 串联质谱作为发展出来的更新、更简单且价廉的技术设备,由于具有去除背景离子的能力,使仪器达到最佳的监测灵敏度,并可减去去除基质等前处理步骤,简化工作,故将大幅降低操作成本,且易于广泛建立技术与实验室,以便提高我国的整体检测水平。

(下转第 25 页)