

LCMS分析蜂蜜中的氯霉素

氯霉素是有效的广谱抗生素，但副作用大，因此，FAO/WHO出于保护健康的考量，禁止氯霉素在食品中残留。日本在2006年实施的肯定列表制中，氯霉素包括在“按照规定的试验法进行检测时，在食品中「不得检出」的

农药等成分物质”之中。并且，关于从畜牧水产品以及蜂蜜、蜂王浆等中检测出氯霉素的报道不断，氯霉素成为各国进出口食品检测的目标成分。

图1表示氯霉素的负离子电喷雾离子化（ESI）法质谱图。在 m/z 321观察到去质子分子 $[M-H]^-$ ，在 m/z 357上观察到氯离子加合型分子 $[M+Cl]^-$ 。根据日本告示试验法（2005年11月修订）阐述的流动相条件，“使用乙腈及10mmol/L甲酸铵水溶液的混合液（3:7）并调整流速，使氯霉素约5分钟洗脱”，但考虑到与杂质成分的分离，将流动相变更为乙腈及10mmol/L甲酸铵水溶液的混合液（25:75）进

行分析（流量0.2mL/min）。图2表示以 m/z 321为检测离子的氯霉素（10 μ g/L）的选择离子检测（SIM）色谱图。在此条件下，氯霉素在7.9分洗脱。

图4（a）表示0.5~10 μ g/L的SIM色谱图。在此范围内的工作曲线具有良好的线性（相关系数 0.9999以上），浓度1 μ g/L时的重现性（ $n=5$ ）良好，为RSD% < 5%以下。

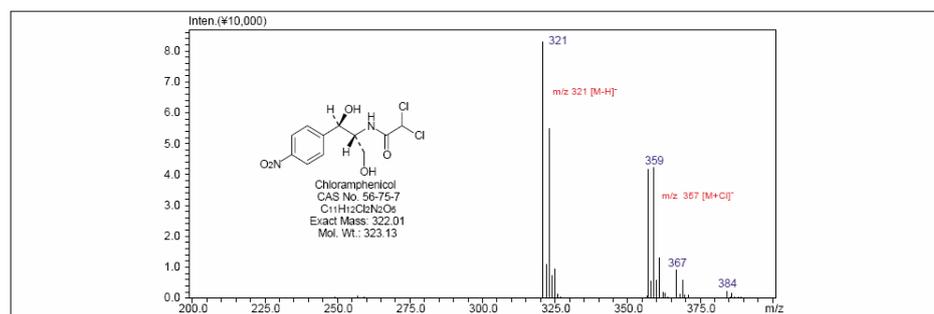


图1 氯霉素的负离子ESI 质谱图

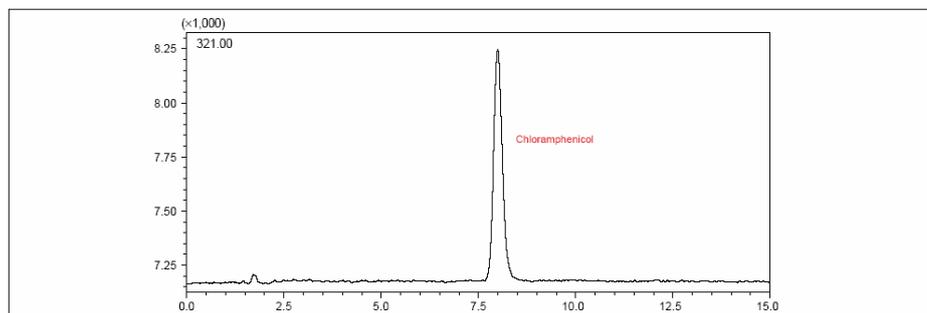


图2 氯霉素的SIM 色谱图(10 μ g/L, 3 μ L 进样)

图3表示蜂蜜的提纯方法。以二乙烯基苯-N-乙炔基吡咯烷酮异分子聚合物微型柱（225 mg）提纯蜂蜜提取液是非常简便的前处理方法。曾使用20%甲醇清洗微型柱后，使用60%

甲醇洗脱氯霉素的方法，但添加在蜂蜜中的氯霉素的回收率低，为76%，因此，为了提高回收率，采用使用水清洗微型柱后，使用甲醇10mL进行洗脱的提纯法。图4（b）表示①：

蜂蜜样品（氯霉素未添加），②：在①添加氯霉素，浓度为 $10\mu\text{g/L}$ 的样品，③：在5 g的蜂蜜中添加 10ng 氯霉素的蜂蜜样品（ $10\mu\text{g/L}$ ），④：氯霉素标准品（ $10\mu\text{g/L}$ ）的LC-MS分析结果。

在本次的提纯法中，②号在提纯后的蜂蜜样品中添加的氯霉素的回收率为95%，未见明显的离子化干扰。③号在蜂蜜中添加的氯霉素的回收率也为94%，结果良好。

另外，①号未添加蜂蜜中也检测到若干氯霉素，定量值为 $0.50\mu\text{g/L}$ 左右。

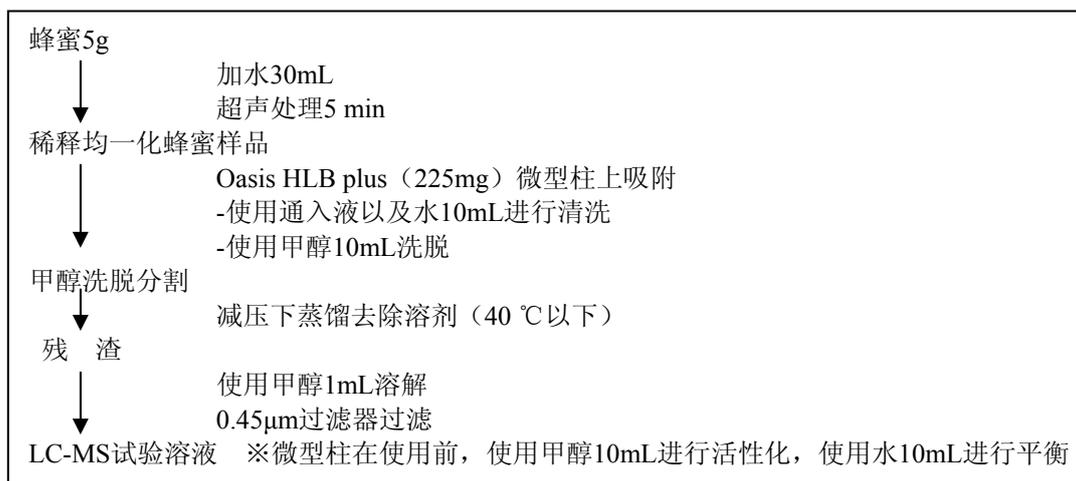


图3 蜂蜜中的氯霉素前处理步骤

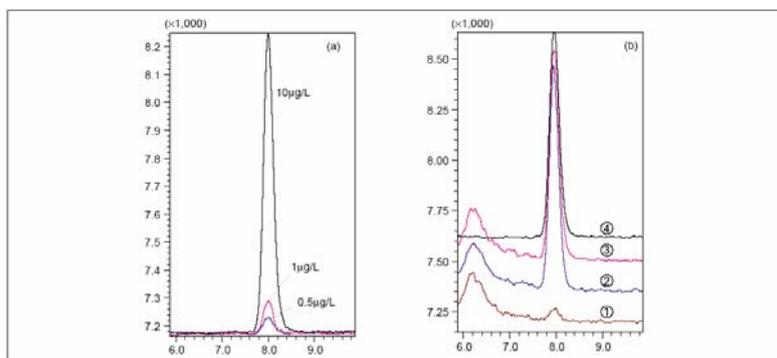


图4 (a) 氯霉素标准品的SIM色谱图（0.5, 1, $10\mu\text{g/L}$ ），(b) 蜂蜜中的氯霉素分析结果（1: 蜂蜜空白, 2: 蜂蜜空白+氯霉素, 3: 蜂蜜+氯霉素, 4: 氯霉素标准品）

表 1 分析条件

色谱柱：Shimadzu Shim-pack VP-ODS (2.0mmI.D.×150mmL.)	CDL 温度：250℃
流动相：10mmol/L 甲酸铵水溶液/乙腈=75/25	加热块温度：200℃
流速：0.2mL/min	雾化气流速：1.5L/min
进样体积：3µL	干燥气压力：0.1MPa
柱温：40℃	CDL 电压：-20V
电压：-3.5kV(ESI-Negative mode)	Q-array DC 电压：Scan-mode
	Q-array RF 电压：Scan-mode
	SIM: m/z 321(0.5sec)

注：数据出自日本 CSC