

对 GB/T 22338-2008 气相色谱质谱联用仪负化学源法检测食品中氯霉素类残留量方法的改进与补充

刘跃坤*, 刘崇奇

(吉林市疾病预防控制中心, 吉林 132001)

摘要: **目的** 提高气相色谱质谱联用仪负化学源法检测食品中氯霉素类残留量的能力。**方法** 对现行国家标准方法 GB/T 22338-2008《动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定》进行改进与补充, 例如: 玻璃器材的清洗效果、样品的净化方式、氮气吹干及氯霉素类目标物的衍生化注意事项、定量离子的正确选择等方面, 最终完善国家标准方法。**结果** 实验精密度得到大幅度提升。**结论** 对现行国家标准方法改进后, 精简了实验操作步骤, 缩短了检测时间, 避免了实验员在实验操作过程中可能陷入的误区, 提高了实验员检测食品中氯霉素类残留量的能力。

关键词: 氯霉素类; 残留; 气相色谱质谱联用仪; 负化学源法; 注意事项

Improvement and supplement of detection method of chloramphenicol residues in food by gas chromatography-mass spectrometry with the negative chemical source in GB/T 22338-2008

LIU Yue-Kun*, LIU Chong-Qi

(Jilin Center for Disease Control and Prevention, Jilin 132001, China)

ABSTRACT: Objective To improve the determination ability of chloramphenicol residues in food by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) with the negative chemical source. **Methods** The current national standard method was improved and replenished from the following aspects: the cleaning effect of the glass equipment, sample purification methods, drying with nitrogen, matters of chloramphenicol class object derivatization, the correct choice of quantitative ion and so on, ultimately improving the national standard method. **Results** The precision of the experiment was greatly improved. **Conclusion** The improvement of the national standard method can simplify the experimental operation steps, shorten the detection time and avoid the mistakes of the experimental procedure in the experimental operation, which improves the reproducibility of the detection of chloramphenicol residues in food.

KEY WORDS: chloramphenicol; residual; gas chromatography-mass spectrometry; negative chemical source; matters

*通讯作者: 刘跃坤, 副主任技师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 752616763@qq.com

*Corresponding author: LIU Yue-Kun, Associate Chief Technician, Jilin Center for Disease Control and Prevention, Jilin 132001, China. E-mail: 752616763@qq.com

1 引言

氯霉素类在检验标准方法中指的是氯霉素、甲矾霉素、氟甲矾霉素 3 种药物, 作为一类违禁药物在世界上引起了广泛关注。长期大量使用氯霉素类可抑制骨髓造血功能, 引起粒细胞和血小板减少再生障碍性贫血等状况。氯霉素类对老年人、新生儿以及肾功能不全的病人危害更大, 世界各国都将其作为禁用药物严格控制^[1-5]。国家标准检验方法 GB/T 22338-2008《动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定》^[6], 在使用气相色谱质谱联用仪负化学源法检测过程中会出现很多问题, 如: 检验方法缺少注解说明、实验结果回收率不稳定、重现性差等^[7], 给检验工作带来极大的困难。为此, 本研究经过大量实验, 弥补了 GB/T 22338-2008 中标准方法的一些疏漏, 解决了检测过程中实际遇到的问题。经进一步分析、研究, 归纳注意事项, 提高了检测水平, 保障了实验结果的有效、准确。

2 对实验结果的影响因素

2.1 洗刷玻璃器材^[8,9]

为了提高实验的检测能力, 减少可能的干扰因素, 对衍生化过程, 经洗衣粉洗刷后的试管中洗衣粉的影响采用了对照实验, 见表 1。

从表 1 色谱峰响应值(峰面积)可以得出, 试管内壁含有洗衣粉(200 ng, 数据从实验中总结而来)样本, 氯霉素内标衍生物(40 ng)响应值偏高。分析认为, 氮气吹干之后, 氯霉素的反应物附着于玻璃表面, 样品管使用混匀器振荡数分钟, 依然不容易将其完全洗脱下来, 从实验结果来看, 洗衣粉不发生化学反应, 并且在试管玻璃内壁与反应物形成隔离层, 极易洗脱, 提高了实验结果的灵

敏度, 但是降低了方法的精密度, 所以, 洗刷过程中, 应尽量去除洗衣粉的残留, 减少对实验结果的影响。

2.2 样品净化

在“正己烷液液萃取, 弃去正己烷层”步骤中, 国家标准方法(GB/T 22338-2008)没有提及具体措施。多数实验员会采用吸管抽吸的方式, 其缺点是吸管吸取有机试剂常漏液, 实验室环境污染重, 操作繁杂。如果样本量大, 实验经常难以顺利完成。本研究建议采用抽滤器, 可以极大程度地提高实验效率, 保障实验质量, 减少污染^[10]。

2.3 氮吹^[11-15]

通常情况下, 氮气吹至近干即可, 不要求全干, 但是 N,O 双(三甲基硅基)三氟乙酰胺-三甲基氯硅烷这种衍生剂遇水易分解, 会严重影响实验结果, 所以, 氮吹要完全, 不能含有肉眼可见的液体。这是国家标准方法(GB/T 22338-2008)没有着重说明, 但却是容易出错的关键步骤, 需要实验员观察实验过程中氮吹是否彻底。

2.4 衍生化

要使用具塞试管, 外面缠绕封口膜的方式进行密封, 应避免直接使用无塞试管, 因为在烘箱 60~70 °C 加热时, 封口膜会变脆、开裂。国家标准方法(GB/T 22338-2008)没有提及封口膜的使用, 在加热情况下, 具塞试管的密闭性是无法保障的, 不使用封口膜会导致衍生化试剂挥干, 最终影响实验结果。

2.5 干扰峰^[1]

在 NIST 2008 版的质谱库中, 查询不到甲矾霉素衍生物, 所以, 无法使用质谱图对化合物进行定性。而采用色谱法的保留时间定性时, 由于生产工艺所限,

表 1 内标响应值试验(μg/L)
Table 1 Internal standard response test(μg/L)

样品	测定次数						均值	变异系数
	1	2	3	4	5	6		
含洗衣粉	11078	11295	11376	11493	11526	10938	11284	2.07
不含洗衣粉	9725	10791	10132	10524	10373	10517	10343	3.59

标准品中存在一个结构类似的干扰物质(保留时间为 18.183), 峰值较大, 易造成定性错误。如图 1 所示。

甲矾霉素衍生物的定量、定性离子为 409、411, 而干扰峰的定量、定性离子也是 409、411, 所以, 需要结合其他的定性离子来判断。本研究选取 337 作为定性离子。如图 2 所示。

3 方法改进

3.1 重叠峰的识别

利用工作站软件“显示峰纯度”功能, 可以看到图 3 中标注的“2”, 表明是两个色谱峰。分别是氯霉素衍生物与氯霉素内标衍生物的峰, 所以, 在选择定量离子的时候, 需考虑独有的特征离子。

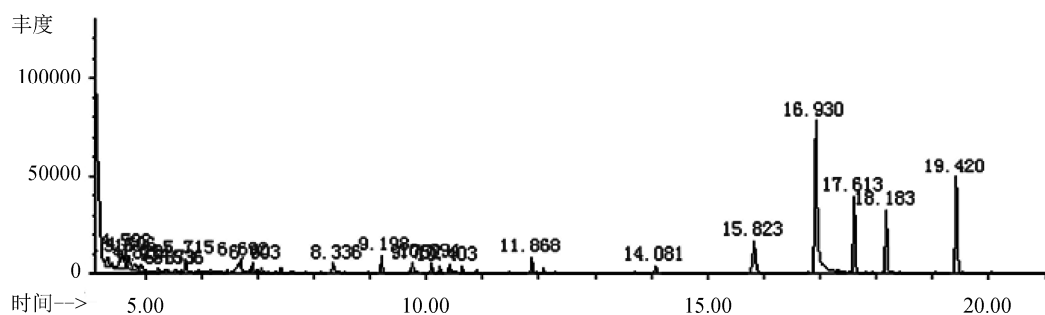


图 1 氯霉素类总离子流图

Fig. 1 Total ion current of chloramphenicol

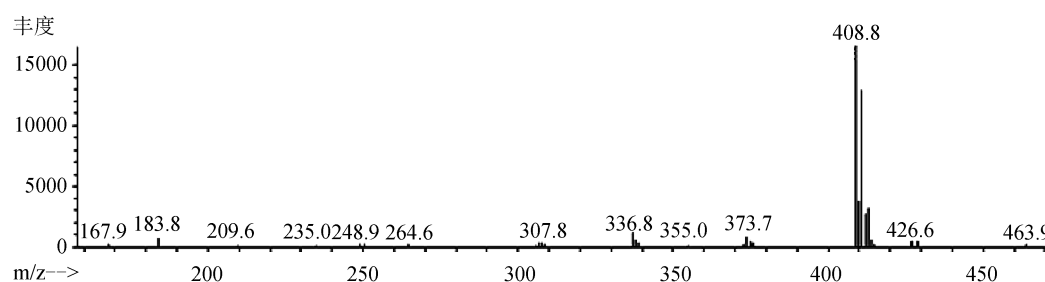


图 2 保留时间为 19.420 的甲矾霉素质谱图

Fig. 2 The mass spectrum of the methyl at the retention time 19.420 min

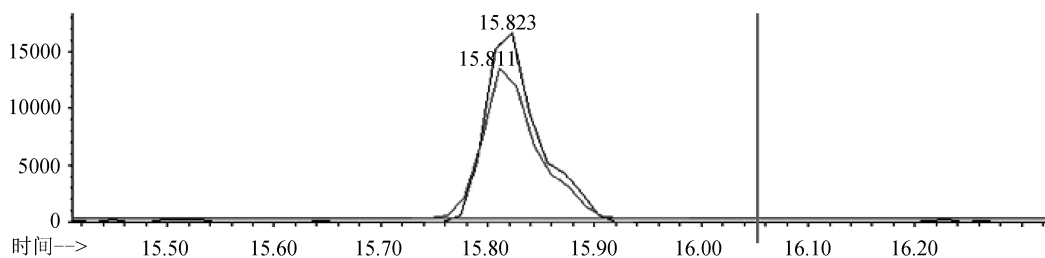


图 3 氯霉素内外标色谱峰

Fig. 3 Internal and external standard chromatographic peak of chloramphenicol

3.2 定量离子的选择

在 GB/T22338-2008《动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定》中, 没有提及内标定量离子。在《2013 年国家食品污染和有害因素风险工作手册》中, 内标氯霉素的定量离子定为 471, 而如果使用它做定量离子, 曲线线性无法满足实验要求, 相关系数甚至只能达到 0.98, 原因就是氯霉素内标衍生物与外标衍生物都有共同的特征离子 471, 工作站软件无法从保留时间上区分。如果内标衍生物改用 473 为定量离子, 则避免了这种情况的发生, 同样的标准曲线相关系数可以达到 0.9992 以上。

4 讨论

检测峰值高不是由于试管不干净引起的。新购置的试管, 没有经过彻底的清洗流程, 只是简单的使用蒸馏水冲掉杂质, 多数样品不能检测出内标的质谱峰。由此看来, 器材的洗刷要彻底, 才能去除来自玻璃器材的干扰因素。

提高氯霉素内标物使用量, 可提高仪器灵敏度。虽然内标与外标有重叠现象, 但是, 正确选择定量离子, 相互之间的干扰就可以忽略不计。标准方法中内标的使用量是 5 ng, 复杂样本基质效应会降低内标响应值, 为了提高检测的准确度, 建议尝试 20~40 ng 的氯霉素内标使用量。

参考文献

- [1] 徐继林, 严小军, 徐年军, 等. 对虾中残留氯霉素的负化学源 GC/MS 分析[J]. 中国水产科学, 2004, 11(2): 111-115.
Xu JL, Yan XJ, Xu NJ, *et al.* Chloramphenicol residues in prawns by negative chemical ionization GC/MS [J]. J Fish Sci China, 2004, 11(2): 111-115.
- [2] 李宁 杨大进. 2013 年国家食品污染和有害因素风险工作手册 [M]. 北京: 中国质检出版社, 2013.
Li N, Yang DJ. National food contamination and harmful factors risk workbook in 2013 [M]. Beijing: Chinese Quality Inspection Press, 2013.
- [3] 陈美莲, 张辉. 乳与乳制品中氯霉素残留量的检测方法[J]. 乳业科学与技术, 2006, (1): 18-19.
Chen ML, Zhang H. Detection of chloramphenicol residues in milk and dairy products [J]. Dairy Sci Technol, 2006, (1): 18-19.
- [4] 黄常刚, 肖永华. 水产品中氯霉素残留 UPLC-MS/MS 测定方法研究[J]. 公共卫生与预防医学, 2012, 23(1): 89-91.
Huang CG, Xiao YH. Determination of chloramphenicol residues in aquatic products by HPLC-MS/MS [J]. J Pub Health Prev Med, 2012, 23(1): 89-91.
- [5] 霍彦, 于红. 微波辅助萃取气质联用仪测定动物性食品中氯霉素残留量[J]. 分析实验室, 2010, 5(29): 441-445.
Huo Y, Yu H. Determination of animal foods chloramphenicol residues by microwave-assisted extraction GC-MS [J]. Chin J Anal Lab, 2010, 5(29): 441-445.
- [6] GB/T22338-2008 动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定 [S].
GB/T22338-2008 Determination of chloramphenicol drug residues in animal-origin food [S].
- [7] Sorensen LK, Elbek TH, Hansen H. Determination of chloramphenicol in bovine milk by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J AOAC Int, 2003, 86(4): 703-706.
- [8] 武焯, 李小桥, 李玉平, 等. 超高效液相色谱法-串联质谱法测定牛奶中的氯霉素残留[J]. 安徽农学通报, 2012, 18(19): 175-179.
Wu X, Li XQ, Li YP, *et al.* Determination of chloramphenicol residues in milk by UPLC-MS/MS [J]. Anhui Agric Sci Bull, 2012, 18(19): 175-179.
- [9] 林海丹, 秦燕, 林峰, 等. LC-MS-MS 测定水产品中氯霉素药物残留[J]. 检验检疫科学, 2005, 15: 44-45.
Lin HD, Qin Y, Lin F, *et al.* Determination of chloramphenicol in aquatic products by LC-MS-MS [J]. Inspect Quarant Sci, 2005, 15: 44-45.
- [10] 孙雷, 张骊. 超高效液相色谱-串联质谱法检测动物源食品中氯霉素类药物及其代谢物残留[J]. 中国兽药杂志, 2009, 43(3): 42-45.
Sun L, Zhang L. Determination of origin chloramphenicol residues of drugs and their metabolites in animal food by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Vet Drug, 2009, 43(3): 42-45.
- [11] 郑萍, 梁艳, 陈聪, 等. HPLC-MS/MS 检测鱼肉中氯霉素残留研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(7): 1520-1522.
Zheng P, Liang Y, Chen C, *et al.* Determination of chloramphenicol residues in fish by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Health Lab, 2012, 22(7): 1520-1522.
- [12] Van de Water C, Haagsma N. Determination of Chloramphenicol in swine muscle tissue using a monoclonal antibody-mediated clean-up procedure [J]. J Chromatogr A, 1987, 411: 415-421.
- [13] Chen HX, Ying J, Chen H, *et al.* Determination of chloramphenicol in honey by dispersive liquid-liquid microextraction [J]. Chromatogram, 2008, 68: 629-634.
- [14] 解秋菊, 许静, 王秀娟. 水产品中氯霉素的残留情况[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(1): 138-140.

Xie QJ, Xu J, Wang XJ. Resiues of cholramphenieol in aquatic products by ELISA [J]. Food Res Dev, 2012, 33(1): 138-140.

- [15] 张晓燕, 张睿, 许蔚, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定蜂胶中的氯霉素[J]. 色谱, 2012, 30(3): 314-317.

Zhang X, Zhang R, Xu W, *et al.* Determination of chloramphenicol in propolis by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chromatogram, 2012, 30(3): 314-317.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



刘跃坤, 副主任技师, 主要研究方向为理化检验。

E-mail: 752616763@qq.com