

# 使用 Bond Elut QuEChERS dSPE EMR-Lipid 增强型脂质去除净化管和 Poroshell 120 分析猪肉中的大环内酯 类物质

## 应用简报

食品检测与农业

### 作者

Rong-jie Fu 和 Chen-Hao (Andy) Zhai  
安捷伦科技（上海）有限公司

### 摘要

本应用简报描述了如何使用快速、简便、经济、高效、耐用和安全 (QuEChERS) 的样品前处理方法来萃取和净化猪肉中的 7 种大环内酯类残留。我们分析了螺旋霉素、替米考星、竹桃霉素、红霉素、泰乐菌素、罗红霉素和交沙霉素残留。我们使用 Bond Elut QuEChERS dSPE EMR-Lipid 增强型脂质去除净化管萃取分析物，并在 Agilent Poroshell 120 EC-C18 HPLC 色谱柱上进行分离。通过液相色谱与阳离子多反应监测模式下运行的电喷雾离子化串联质谱联用完成定量分析。该方法对猪肉中的所有大环内酯类物质都具有较低检测限。这些化合物的动态校准范围在 5 - 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间。总体回收率在 63.9% - 98.4% 之间，且 RSD 值在 3.8% - 10.3% 之间。



**Agilent Technologies**

## 前言

抗生素在食品动物产品中的使用为整个食品行业带来了诸多优势。然而，抗生素的使用引起了人们对于动物和人类健康安全的关注。大环内酯类是一组广泛用于治疗动物的多种呼吸系统和肠道细菌感染的抗生素。其中较为常用的大环内酯类药物包括螺旋霉素、替米考星、竹桃霉素、红霉素、泰乐菌素、罗红霉素和交沙霉素。

国家机构和国际组织针对动物源食品中的抗生素残留浓度设置了法规限度 [1,2]。法规规定的残留限度在 0 - 15 mg/kg 之间。此前开发了针对蜂蜜中痕量大环内酯类残留分析的应用 [3]。该方法使用 Agilent Bond Elut Plexa 进行样品前处理，并使用 Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱进行分离。根据基质加标标准品得到的回收率和重现性结果表明，本方法符合法规对蜂蜜中大环内酯类残留进行测定的要求。

本研究的目的在于开发出简单、快速的多残留分析方法，用于猪肉中大环内酯类残留的常规法规分析。Agilent Bond Elut QuEChERS dSPE EMR-Lipid 增强型脂质去除净化管是一种新型吸附剂材料，能够选择性去除高脂肪含量基质（例如猪肉）中的主要脂质组分而不会造成分析物意外损失。去除复杂基质中的脂质干扰具有众多优势，包括降低基质效应以增强质谱响应，以及有助于延长液相色谱柱的使用寿命。Poroshell 120 HPLC 色谱柱采用表面多孔填料，分离速度快、效率高且背压较低。

表 1 显示了大环内酯类物质的详细信息。

表 1. 本研究中所用的大环内酯类化合物（接下页）

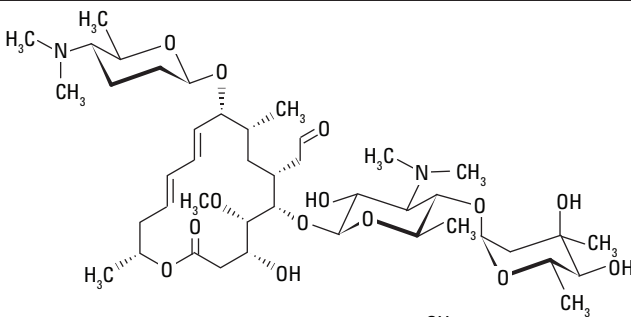
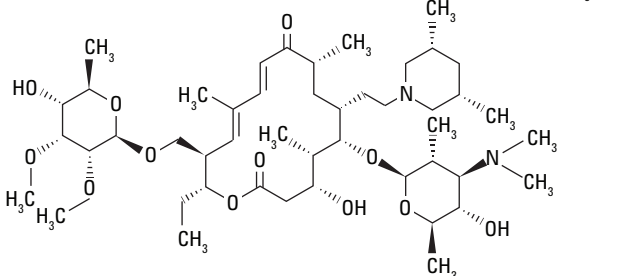
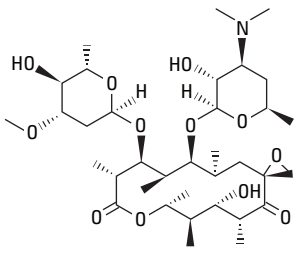
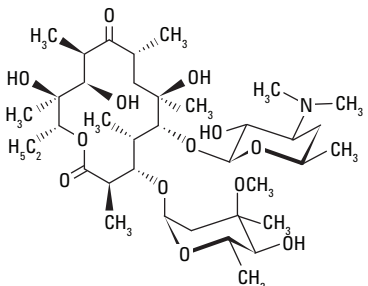
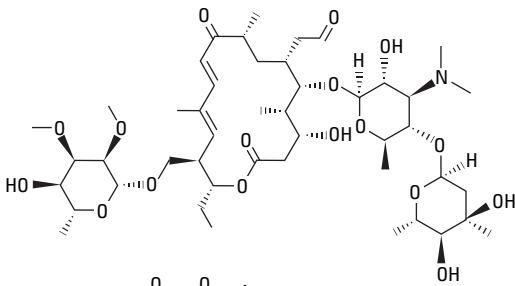
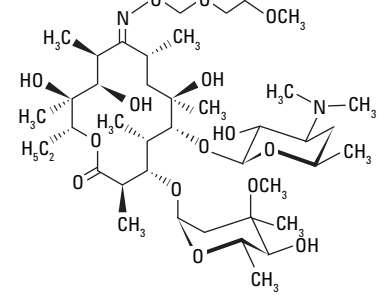
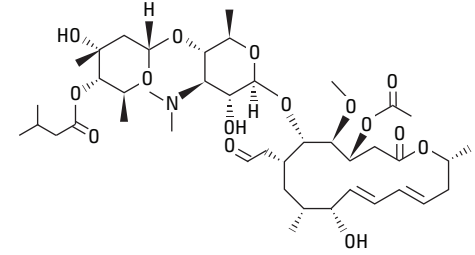
化合物	CAS 号	结构
螺旋霉素	8025-81-8	
替米考星	108050-54-0	

表 1. 本研究中所用的大环内酯类化合物

化合物	CAS 号	结构
竹桃霉素	3922-90-5	
红霉素	114-07-8	
泰乐菌素	1401-69-0	
罗红霉素	80214-83-1	
交沙霉素	16846-24-5	

## 材料与amp;方法

### 试剂与amp;化学品

所有试剂均为质谱、HPLC 或分析纯级。乙腈和水购自 Honeywell International, Inc.。标准品购自 Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany)。猪肉购自当地超市。使用甲醇单独制备标准溶液 (1.0 mg/mL) 并在 -20 °C 下储存。混合工作溶液采用乙腈:水 (10:80) 制备, 同样在 -20 °C 下储存。然后在每日使用时用水对混合工作溶液进行适当稀释, 制得加标溶液。

### 仪器与amp;材料

- Agilent 1290 Infinity LC
- 配备电喷雾离子源的 Agilent 6460 三重四极杆液质联用系统
- Agilent Bond Elut QuEChERS EN 萃取试剂盒 (部件号 5982-5650)
- Agilent Bond Elut QuEChERS dSPE EMR-Lipid 增强型脂质去除净化管 (部件号 5982-1010)
- Agilent Bond Elut QuEChERS EMR-Lipid Polish 反萃管 (部件号 5982-0101)
- Agilent Poroshell 120 EC-C18, 3.0 × 100 mm, 2.7 μm (部件号 695975-302)
- Eppendorf 5810 离心机 (Brinkmann Instruments, Westbury, NY, USA)
- 数字涡旋混合器 (VWR International, LLC, Radnor, Pennsylvania, USA)

### 样品前处理

最终样品前处理流程按照以下步骤进行优化。

1. 称取 2.5 g (±0.1 g) 均质猪肉样品于 50 mL 离心管中
2. 加入 8 mL 水, 涡旋振荡 1 min
3. 加入 10 mL 乙腈
4. 将盐加入 QuEChERS EN 方法萃取试剂盒中
5. 振摇混合样品 1 min

6. 在 4000 rpm 下离心 5 min
7. 向 15 mL EMR-Lipid 分散固相萃取管中加入 5 mL 水
8. 移取 5 mL 上清液至 EMR-Lipid 分散固相萃取管中
9. 立即涡旋混合使样品分散, 然后涡旋混合 1 min
10. 在 4000 rpm 下离心 3 min
11. 移取 5 mL 上清液至含有 2 g 盐 (1:4 NaCl:MgSO<sub>4</sub>) 的 15 mL EMR-Lipid Polish 反萃管中, 并涡旋混合 1 min
12. 在 4000 rpm 下离心 3 min
13. 将 200 μL 上层 ACN 相与 800 μL 水合并到 2 mL 样品瓶中并涡旋混合

### 高效液相色谱条件

色谱柱:	Agilent Poroshell 120 EC-C18, 3.0 × 100 mm, 2.7 μm (部件号 695975-302)	
流动相:	A: 10 mM 乙酸铵和 0.1% 甲酸水溶液 B: 乙腈	
进样量:	2 μL	
流速:	0.5 mL/min	
梯度:	时间 (min)	%B
	0	20
	5	65
	6	65
	8	20
柱温:	30 °C	

### 质谱条件

在正离子模式下监测大环内酯类物质。表 2 列出了多反应监测的详细信息。

#### 质谱离子源参数

气体温度:	300 °C
载气流速:	5 L/min
雾化器压力:	45 psi
鞘气温度:	400 °C
鞘气流量:	11 L/min
喷嘴电压:	正, 0 V
毛细管电压:	正, 4000 V

表 2. 多反应监测所得的质量数

化合物	母离子	子离子	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)
螺旋霉素	843.4	540.0	270	35	2.178
螺旋霉素	843.4	174.1	270	40	2.178
替米考星	869.5	696.4	320	44	2.749
替米考星	869.5	174.1	320	49	2.749
竹桃霉素	688.3	544.3	170	15	2.99
竹桃霉素	688.3	158.2	170	25	2.99
红霉素	734.4	576.3	180	14	3.204
红霉素	734.4	158.2	180	30	3.204
泰乐菌素	916.4	772.4	280	30	3.421
泰乐菌素	916.4	174.2	280	40	3.421
罗红霉素	837.4	679.3	200	16	4.087
罗红霉素	837.4	158.1	200	34	4.087
交沙霉素	828.4	174.1	250	35	4.461
交沙霉素	828.4	109.1	250	46	4.461

## 结果与讨论

### 线性与检测限

将混合工作溶液加标至空白基质中，制得用于创建外标校准曲线的溶液（5、10、20、50 和 250 μg/kg）。猪肉经过整个流程（包括预处理和 QuEChERS 步骤）处理，得到空白基质。通过进样浓度为 0.1 μg/kg 的后加标猪肉基质，根据信噪比 (S/N) 3 计算出检测限 (LOD) 数据。所有信噪比均大于 3:1，因此所有这些化合物的 LOD 均低于 0.1 μg/kg，符合法规方法的要求。表 3 显示了校准曲线的结果。

表 3. 猪肉中大环内酯类物质的线性

化合物	回归方程	R <sup>2</sup>
螺旋霉素	Y = 386.144x + 19.317	0.9994
替米考星	Y = 133.272x + 8.018	0.9999
竹桃霉素	Y = 317.284x + 43.963	0.9998
红霉素	Y = 848.506x + 119.918	0.9996
泰乐菌素	Y = 274.158x + 22.703	0.9997
罗红霉素	Y = 477.739x + 53.019	0.9997
交沙霉素	Y = 625.922x + 58.918	0.9998

### 回收率与重现性

在 3 个猪肉样品加标浓度（10、20 和 100 μg/kg）下测定该方法的回收率与重现性，每个浓度的样品重复分析 6 次。表 4 列出了回收率和重现性数据。图 1 显示了 20 μg/kg 的加标猪肉提取物的色谱图。

表 4. 猪肉中大环内酯类物质的回收率和重现性 (n = 6)

化合物	加标浓度 (μg/kg)	回收率 (%)	RSD (%)
螺旋霉素	10	89.7	10.3
	20	94.0	8.3
	100	95.2	3.8
替米考星	10	98.4	9.5
	20	90.0	9.7
	100	95.3	7.1
竹桃霉素	10	92.4	5.7
	20	96.4	7.1
	100	97.5	6.2
红霉素	10	64.5	8.8
	20	63.9	8.1
	100	68.7	5.1
泰乐菌素	10	84.1	10.2
	20	93.3	7.4
	100	94.6	5.5
罗红霉素	10	89.9	9.8
	20	91.6	7.7
	100	92.6	5.1
交沙霉素	10	87.9	7.4
	20	92.4	5.6
	100	93.2	4.9

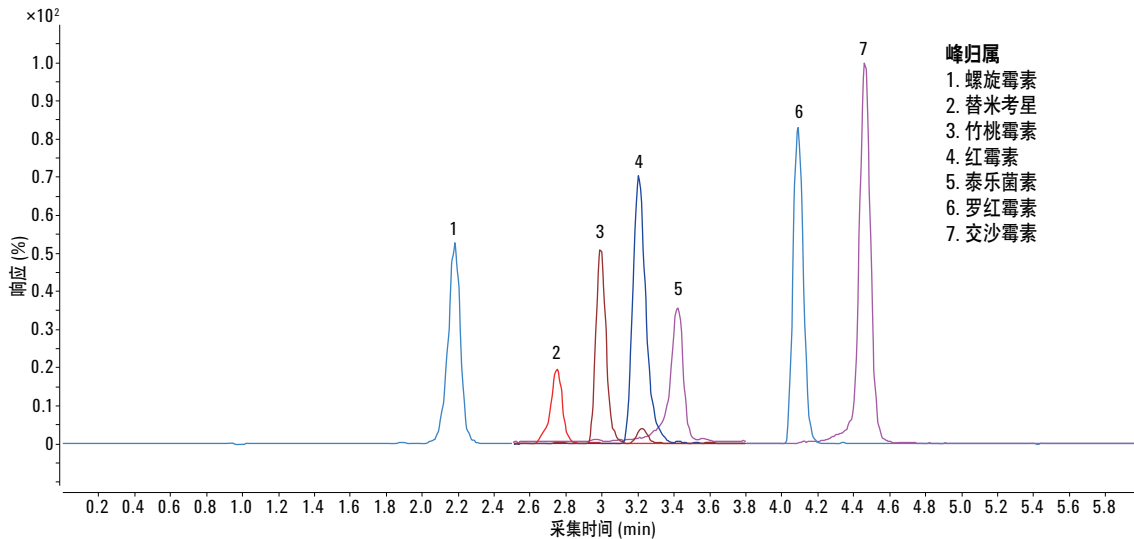


图 1. 20 µg/kg 加标猪肉样品萃取物的色谱图

## 结论

本应用简报介绍的方法能够可靠、快速且稳定地对猪肉中的大环内酯类残留进行同时定量分析与鉴定。EMR-Lipid 增强型脂质去除产品和 EMR-Lipid Polish 反萃管具有出色的基质净化效果，能够去除大部分基质（尤其是脂质），且不会对分析物回收率造成显著影响。Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱能够快速分离多种大环内酯类物质，并可实现对称峰形和较高灵敏度。

## 参考文献

1. Anon. GB/T 23408-2009. *Determination of macrolides residues in honey – LC-MS/MS method*. China Standard. General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine, Beijing, China
2. SN/T 1777.2-2007. *Determination of macrolide antibiotic residues in animal-derived food – part 2: LC-MS/MS method*. China Standard. General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine, Beijing, China
3. Chen-Hao Zhai, Rong-jie Fu. *Macrolides in Honey Using Agilent Bond Elut Plexa SPE, Poroshell 120, and LC/MS/MS (使用 Agilent Bond Elut Plexa SPE, Poroshell 120 和 LC/MS/MS 分析蜂蜜中的大环内酯类物质)*; 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 5991-3190EN, 2013

## 更多信息

这些数据仅代表典型的结果。有关我们的产品与服务的信息，请访问我们的网站 [www.agilent.com](http://www.agilent.com)。

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线：

**800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)**

联系我们：

**LSCA-China\_800@agilent.com**

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2015

2015 年 11 月 12 日，中国出版

5991-6442CHCN



**Agilent Technologies**