

# 水产品中大环内酯的提取与检测

## 背景

大环内酯类抗生素（Macrolide antibiotics, MALs）是一类具有 12-16 个碳内酯环的抗生素类群，是一类应用广泛的兽药。滥用或者不当使用该兽药时，可能会导致动物性食物中抗生素的残留，通过食物链，进入人体内，在体内积累到一定浓度时，会对人体的前庭和耳蜗神经造成损害，严重者会对肝肾造成损害。为保障食品安全，我国农业部 235 公告对食用性组织中大环内酯的最大残留量做出了规定，同时国家标准 GB 31660.1-2019 中也规定了水产品中大环内酯的测定方法。因被测样品基质较为复杂、可能会存在基质效应的干扰，样品必须经过固相萃取柱的净化方可进行后续测定，纳谱分析的 SelectCore Alumina N 可完全满足国标检测需求，具有滴速快、干扰杂质去除率高、回收率稳定等诸多优势。

## 适用范围

参照 GB 31660.1-2019 食品安全国家标准 水产品中大环内酯类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法，本方法适用于水产品中鱼、虾、蟹、贝类等的可食组织中竹桃霉素、红霉素、克拉霉素、阿奇霉素、吉他霉素、交沙霉素、螺旋霉素、替米考星、泰乐菌素 9 种大环内酯类药物残留量的检测。

## 实验步骤

### 1、样品制备

参照 GB 31660.1-2019 样品提取方法，称取样品 5 g（准确至±20 mg）于 50 mL 塑料离心管，加入乙腈 20 mL，于旋涡混合器上以 2000 r/min 旋涡 1 min，超声 5 min，以 3500 r/min 离心 6 min，取上清液转移至另一离心管中，残渣再加乙腈 15 mL，重复提取一次，合并上清液，备用。

### 2、净化

SPE 柱：SelectCore Alumina N 2000mg/6mL 固相萃取柱；

活化：加入 5.0 mL 乙腈活化，保持柱体湿润；

上样：加入步骤 1 中制备好的全部上清液，并收集上样液；

洗脱：用 5.0 mL 乙腈洗脱，收集全部洗脱液；

洗脱液于 40 °C 旋转蒸发至干。用 2 mL 乙腈溶解残余物，涡旋混匀，过 0.22 μm 尼龙滤膜，供高效液相色谱-串联质谱仪测定。

### 3、液相色谱仪器条件

Column: ChromCore C18 1.8 μm

Dimension: 2.1×50 mm

Mobile Phase: A) 0.1% HCOOH

B) ACN

Gradient:

t (min)	A	B
0.00	90	10
3.00	60	40

6.00	20	80
6.50	0	100
7.50	0	100
7.60	90	10
11.00	90	10

Flow Rate: 0.4 mL/min

Temperature: 30 °C

Injection: 2 µL

#### 4、质谱仪器条件

ESI in positive ionization mode

Ion Spray voltage: 4000 V

Source Temperature: 300 °C

Nebulizer Gas: 45 psi

#### 实验谱图及加标回收率数据

#### 实验谱图

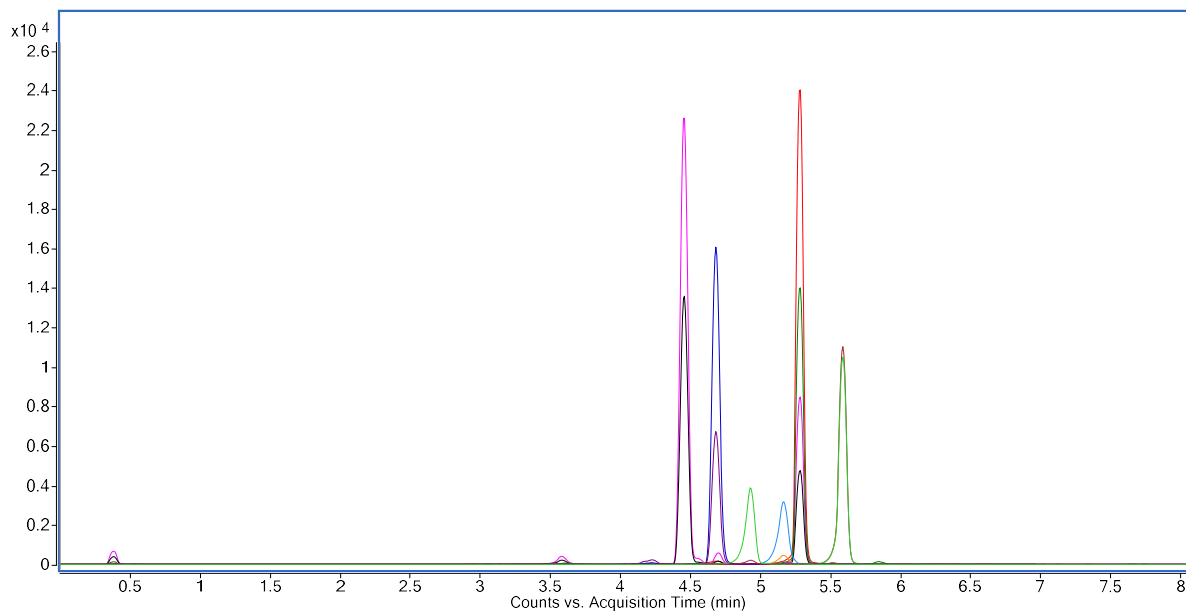


图 1: 20 ng/mL 9 种大环内酯类药物标准溶液的多重反应监测 (MRM) 色谱图

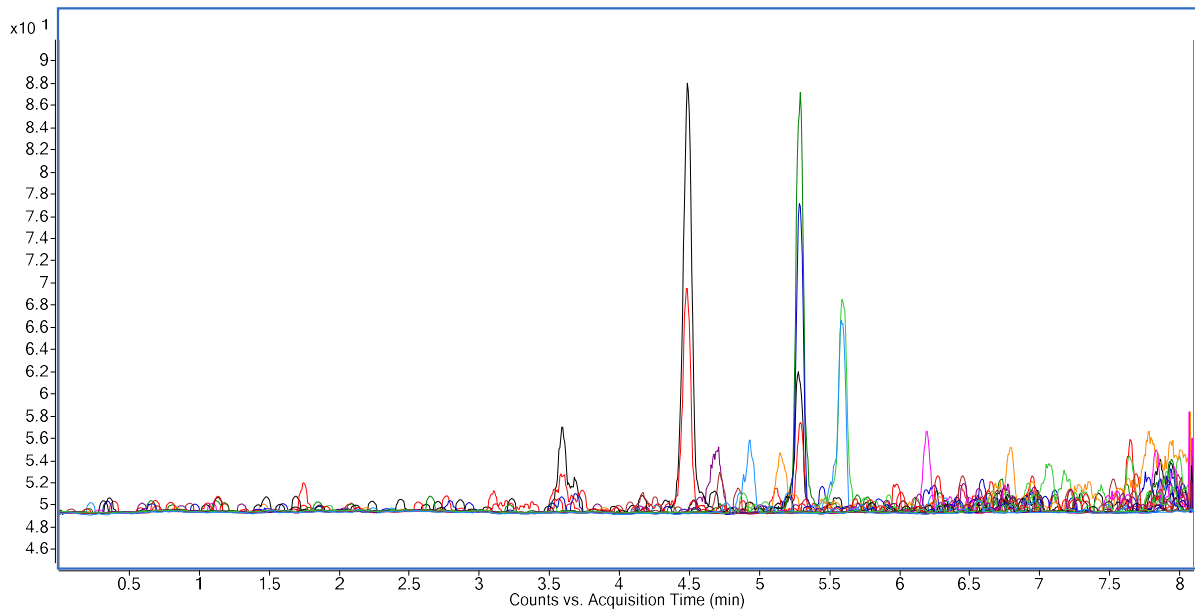


图 2: 鱼肉空白样品里的 9 种大环内酯类药物的多重反应监测 (MRM) 色谱图

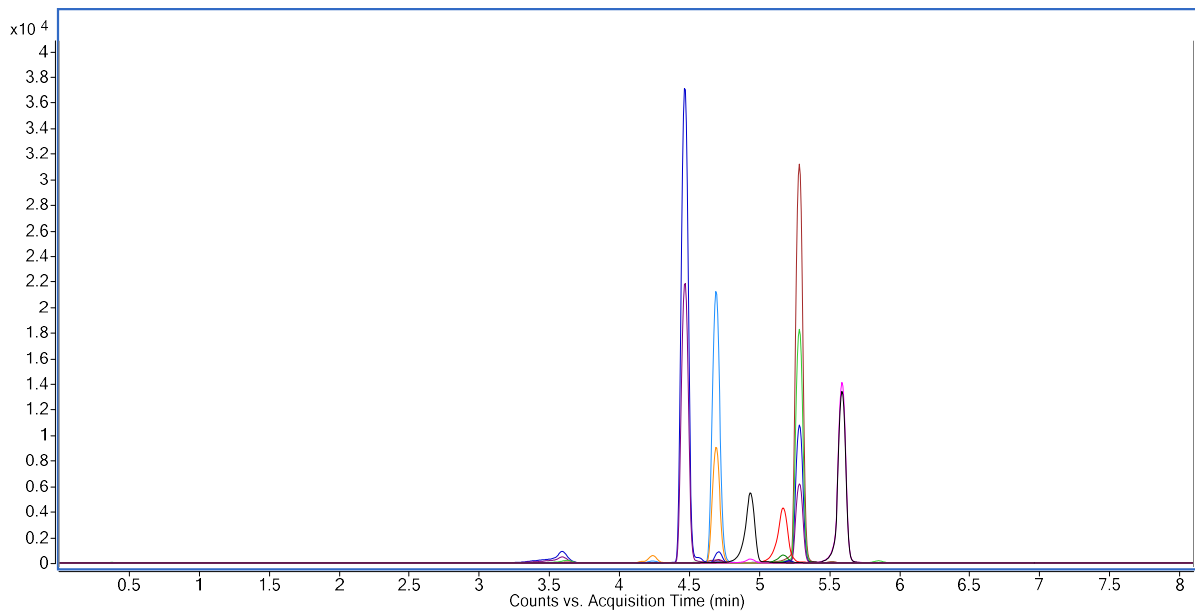


图 3: 鱼肉样品中添加量为 8 µg/kg 的 9 种大环内酯类药物的多重反应监测 (MRM) 色谱图

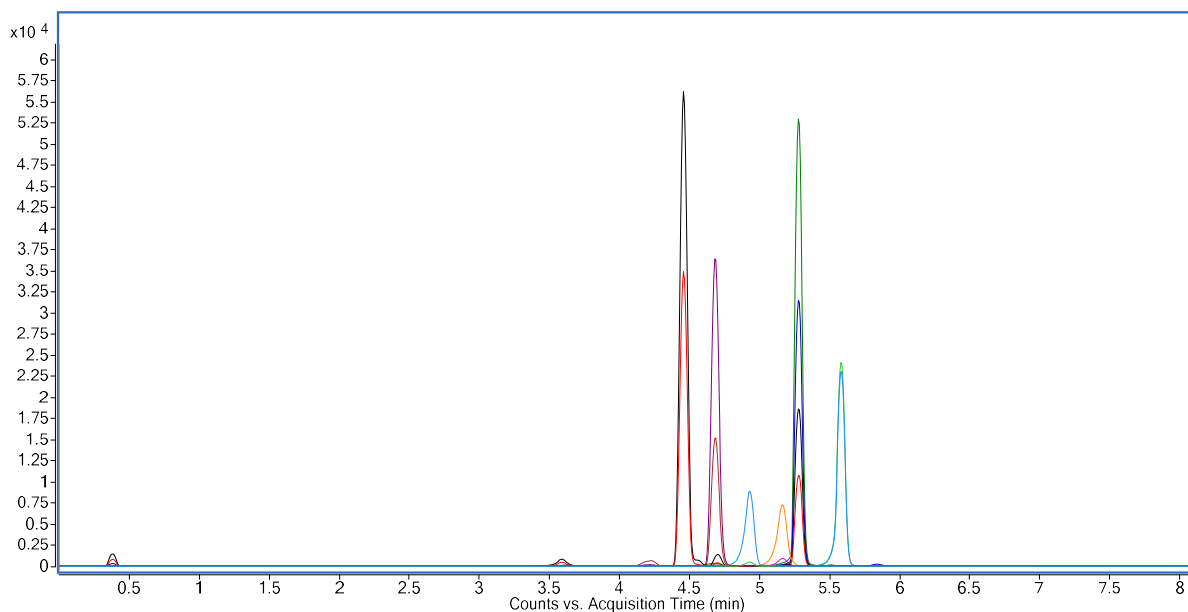


图 4: 鱼肉样品中添加量为 16  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的 9 种大环内酯类药物的多重反应监测 (MRM) 色谱图

#### 加标回收率数据

保留时间 (min)	化合物 (中文)	化合物 (英文)	加标量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	平均回收率%
4.463	竹桃霉素	Oleandomycin	8	107.5%
			16	99.5%
4.687	红霉素	Erythromycin	8	94.0%
			16	91.3%
5.285	克拉霉素	Clarithromycin	8	92.4%
			16	90.5%
5.284	阿奇霉素	Azithromycin	8	90.7%
			16	90.2%
5.168	吉他霉素	Kitasamycin	8	94.6%
			16	86.3%
5.589	交沙霉素	Josamycin	8	92.5%
			16	88.3%
5.853	螺旋霉素	Spiramycin	8	90.3%
			16	88.6%

4.240	替米考星	Tilmicosin	8	108.5%
			16	103.1%
4.933	泰乐菌素	Tylosin	8	101.1%
			16	92.5%

## 实验结论

由图 2 可以看出，鱼肉空白样品基质干扰较大，严重影响对目标物的辨别，但经过 SelectCore Alumina N 净化后，如图 3 中所示，目标物清晰可见，易于判别。9 种大环内酯类药物的加标回收率均在 85% 以上，符合国标规定的准确度的标准，并且两种不同浓度的加标量，回收率均能有所保证。使用纳谱分析的 ChromCore C18 1.8  $\mu\text{m}$  规格为 2.1 $\times$ 50 mm 的色谱柱，缩短了分析时间，提高了检测效率。