

# UPLC-MS法检测动物类药材中氯霉素类药物残留<sup>Δ</sup>

张治军<sup>1\*</sup>,周文杰<sup>1</sup>,李志芸<sup>2</sup>(1.广西壮族自治区桂林食品药品检验所,广西桂林 541001;2.桂林医学院药学院,广西桂林 541004)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)30-4271-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.30.25

**摘要** 目的:建立检测动物类药材中氯霉素类药物残留的方法。方法:采用超高效液相色谱-质谱法。色谱柱为SB-C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-水(梯度洗脱),流速为0.2 mL/min,柱温为35℃,进样量为20 μL;离子源为电喷雾离子源,干燥气温度为350℃,干燥气流量为5 L/min,鞘气温度为250℃,鞘气流量为11 L/min,毛细管电压为3 500 V,负离子扫描方式,多反应检测模式。结果:氯霉素、氟甲砜霉素和甲砜霉素检测质量浓度线性范围均为0.5~15 ng/mL(*r*分别为0.999 8、0.999 9、0.998 9);定量限分别为0.03、0.03、0.15 μg/kg,检测限分别为0.01、0.01、0.05 μg/kg;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<3.0%;回收率分别为84.00%~112.80%(RSD=10.15%,*n*=9)、88.24%~109.80%(RSD=7.11%,*n*=9)、88.24%~99.02%(RSD=3.91%,*n*=9)。结论:该方法操作简便,精密性、稳定性、重复性好,可用于动物类药材中氯霉素类药物残留的检测。

**关键词** 动物类药材;氯霉素类药物残留;超高效液相色谱-质谱法

## Determination of Chloramphenicol Residue in Animal Medicinal Herbs by UPLC-MS

ZHANG Zhijun<sup>1</sup>, ZHOU Wenjie<sup>1</sup>, LI Zhiyun<sup>2</sup> (1.Guangxi Guilin Institute for Food and Drug Control, Guangxi Guilin 541001, China; 2.College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guangxi Guilin 541004, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for determination of chloramphenicol residue in animal medicinal herbs. METHODS: UPLC-MS method was adopted. The determination was performed on SB-C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (gradient elution) at the flow rate of 0.2 mL/min. The column temperature was 35 °C, and sample size was 20 μL. The ion source was a jet stream ion focusing electrospray ion source. The temperature and flow of drying gas were 350 °C and 5 L/min, and those of sheath gas were 250 °C, 11 L/min, and capillary voltage was 3 500 V. Negative ion scanning mode was conducted with multiple reaction monitoring (MRM) mode. RESULTS: The linear ranges of thiamphenicol, florfenicol and chloramphenicol were 0.5-15 ng/mL (*r* were 0.999 8, 0.999 9, 0.998 9, respectively). The limits of quantitation were 0.03, 0.03, 0.15 μg/kg, and the limits of detection were 0.01, 0.01, 0.05 μg/kg. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 3.0%. The recoveries were 84.00%~112.80% (RSD=10.15%, *n*=9), 88.24%~109.80% (RSD=7.11%, *n*=9), 88.24%~99.02% (RSD=3.91%, *n*=9). CONCLUSIONS: The method is simple, precise, stable and reproducible, and can be used for determination of chloramphenicol in animal medicinal herbs.

**KEYWORDS** Animal medicinal herbs; Chloramphenicol residue; UPLC-MS

动物类药材的应用在我国有着悠久历史,在中药材的发展史中有着重要的地位。随着自然资源的匮乏,不少动物类药材来源由野生变为人工养殖。但在养殖过程中,有些不法商家为了追求不正当利益,非法过量使用抗生素、雌激素等化学药物,从而造成相关药物残留,

最终可能对人体造成损害。而氯霉素类药物因具有广谱抗菌能力,价格便宜,抑菌效果好,常被广泛用于养殖业。这类药物性质稳定、不易降解,极易造成残留。已有研究证明,长期摄入氯霉素类药物会严重损伤人体造血机能,可引起粒细胞缺乏症、再生障碍性贫血,同时对

- 2119-2121.
- [6] 马金刚,危雪平,王鹏远,等.UPLC法同时测定复方丁香油涂剂中丁香酚和樟脑的含量[J].解放军药学报,2014,30(5):423-427.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:4.

- [8] 刘颖新,刘利利,孔兴欣,等.HPLC法测定香薷散不同煎液中香荆芥酚和麝香草酚的含量及体外抗菌作用比较[J].药物分析杂志,2014,34(6):1006-1010.
- [9] 陈欣,陈鹏.RP-HPLC测定麝香草酚的含量及有关物质[J].华西药学杂志,2012,27(1):102-103.
- [10] 黄家卫,盛振华,张蓓,等.HPLC法测定银黄喷雾剂中麝香草酚及香荆芥酚的含量[J].中华中医药杂志,2011,26(11):2693-2695.

Δ 基金项目:广西壮族自治区食品药品监督管理局科研项目(No.桂食药监科评函[2015]20号)

\* 副主任中药师。研究方向:药品质量检验、控制。E-mail: 770013802@qq.com

(收稿日期:2017-05-16 修回日期:2017-07-14)  
(编辑:刘柳)

消化系统也具有较严重的毒副作用<sup>[1-3]</sup>。因此,欧盟国家、美国、我国及其他一些国家严禁该类药物在食用动物上使用,我国农业部235号公告(2002年)中明确把氯霉素列为食品动物养殖中的禁用药物<sup>[4]</sup>。但是对于动物类药材,有关氯霉素类药物残留的检测研究目前尚未见文献报道。本试验以常用动物类药材鸡内金、土鳖虫、地龙、水蛭为例,建立了以超高效液相色谱-质谱法(UPLC-MS)同时测定其中氯霉素、氟甲砒霉素和甲砒霉素残留的方法,并对市售120批动物类药材进行了检测,旨在为动物类药材中氯霉素类药物残留的检测和控制提出参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1290 Infinity型UPLC仪和6460型三重四极杆MS仪(美国Agilent公司);XS205DU型电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司);3-30K型高速冷冻离心机(美国Sigma公司)。

### 1.2 试剂

氯霉素对照品(中国食品药品检定研究院,批号:130555-201203,纯度:99.80%);氟甲砒霉素对照品(批号:01103,纯度:99.0%)、甲砒霉素对照品(批号:01103,纯度:98.5%)、*D*<sub>5</sub>-氯霉素对照品(批号:10307AC,纯度:99.0%)均购于德国Dr.Ehrenstorfer GmbH公司;甲醇、乙腈、乙酸乙酯、正己烷均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

### 1.3 药材

地龙、水蛭、鸡内金、土鳖虫药材各30批,均购于广西不同地区药店和药材市场,经广西桂林食品药品检验所饶伟文主任药师鉴定为真品。

## 2 方法与结果

### 2.1 试验条件

2.1.1 色谱条件 色谱柱:SB-C<sub>18</sub>(50 mm×2.1 mm,1.8 μm);流动相:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~3 min,25%→70% A;3~5 min,70%→95% A;5~8 min,95%→25% A);流速:0.2 mL/min;柱温:35℃;进样量:20 μL。

2.1.2 质谱条件 离子源:电喷雾离子源(ESI);干燥气温度:350℃;干燥气流量:5 L/min;鞘气温度:250℃;鞘气流量:11 L/min;毛细管电压:3 500 V;负离子扫描方式,多反应检测模式。质谱分析参数见表1。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取待测成分对照品各10.0 mg,置于20 mL量瓶中,加*D*<sub>5</sub>-氯霉素内标溶液(10 ng/mL)0.10 mL,加乙腈溶解并定容,摇匀,制成氯霉素、氟甲砒霉素、甲砒霉素质量浓度均为500 μg/mL的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取药材样品2.0 g,置于50 mL离心管中,加*D*<sub>5</sub>-氯霉素内标溶液(10 ng/mL)0.10 mL,加

表1 质谱分析参数

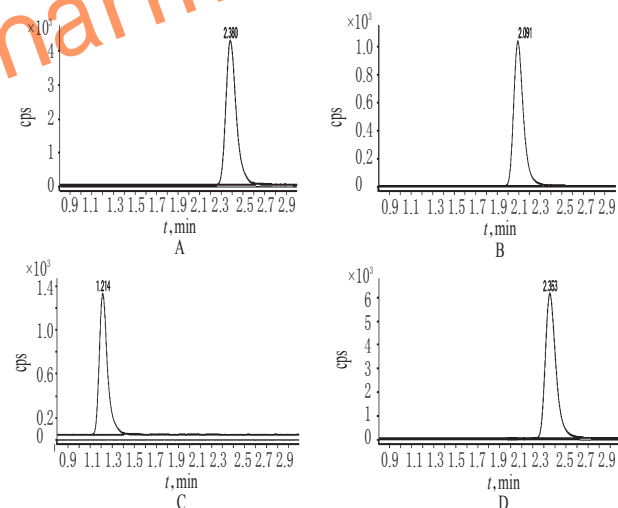
Tab 1 Mass spectrometry analysis conditions

待测成分	母离子	子离子	碎裂电压,V	碰撞能量,eV
氯霉素	320.9	151.9	125	15
		256.9	125	7
氟甲砒霉素	356.0	336.0	135	5
		185.0	135	15
甲砒霉素	353.9	289.9	125	7
		184.9	125	19
<i>D</i> <sub>5</sub> -氯霉素	326.1	157.0	100	17
		262.0	100	9

碱化乙酸乙酯溶液(乙酸乙酯-25%氨水,97:3,V/V,下同)25 mL,涡旋后水平振荡5 min,以半径12 cm、5 000 r/min离心10 min,取上清液,于45℃水浴氮气吹干;残渣加碱化乙酸乙酯溶液25 mL,涡旋后水平振荡5 min,以半径12 cm、5 000 r/min离心10 min,取上清液;合并上述上清液,于45℃水浴氮气吹干,残渣加4%氯化钠溶液5 mL溶解,加正己烷萃取2次,每次5 mL,弃去正己烷,再加乙酸乙酯萃取2次,每次10 mL,合并乙酸乙酯萃取液,于45℃水浴氮气吹干,残渣加1 mL水溶解,经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

### 2.3 系统适用性试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下试验条件进样测定,记录色谱,详见图1。结果,氯霉素、氟甲砒霉素与甲砒霉素色谱峰可达到很好的分离,且无杂质峰干扰。



A.氯霉素;B.氟甲砒霉素;C.甲砒霉素;D.*D*<sub>5</sub>-氯霉素

A.chloramphenicol; B.florfenicol; C.thiamphenicol; D.*D*<sub>5</sub>-chloramphenicol

图1 提取离子流图

Fig 1 Extraction particle flow graph

### 2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,加乙腈制成氯霉素、氟甲砒霉素、甲砒霉素质量浓度均为0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、15.0 ng/mL的系列混合对照品溶液(均含*D*<sub>5</sub>-氯霉素内标溶液10 ng/mL)。精密量取上述系列混合对照品溶液各20 μL,按“2.1”项下试验条件进

样测定,记录峰面积。以氯霉素、氟甲砒霉素、甲砒霉素质量浓度( $x$ , ng/mL)为横坐标、峰面积( $y$ )为纵坐标进行线性回归,得氯霉素、氟甲砒霉素、甲砒霉素回归方程分别为 $y=1.909\ 674x-0.000\ 299\ 161$  ( $r=0.999\ 8$ )、 $y=3.926\ 487x+0.007\ 515$  ( $r=0.999\ 9$ )、 $y=0.658\ 704x+0.004\ 180$  ( $r=0.998\ 9$ )。结果表明,氯霉素、氟甲砒霉素、甲砒霉素检测质量浓度线性范围均为0.5~15 ng/mL。

## 2.5 定量限与检测限考察

精密量取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,并按“2.1”项下试验条件进样测定,当信噪比为10:1时,得定量限;当信噪比为3:1时,得检测限。结果,氯霉素、氟甲砒霉素、甲砒霉素定量限分别为0.03、0.03、0.15  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,检测限分别为0.01、0.01、0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

## 2.6 精密度试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量,按“2.1”项下试验条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,氯霉素、氟甲砒霉素、甲砒霉素峰面积的RSD分别为1.4%、1.5%、2.6% ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

## 2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下土鳖虫药材供试品溶液适量,分别于室温下放置0、2、8、12、24 h时按“2.1”项下试验条件进样测定,记录峰面积。结果,氯霉素、氟甲砒霉素、甲砒霉素峰面积的RSD分别为1.6%、1.3%、1.5% ( $n=5$ ),表明供试品溶液室温放置24 h内基本稳定。

## 2.8 重复性试验

精密称取同一批土鳖虫药材样品适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下试验条件进样测定,记录峰面积。结果,氯霉素、氟甲砒霉素、甲砒霉素峰面积的RSD分别为2.4%、1.8%、2.2% ( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

## 2.9 回收率试验

分别取低、中、高质量的待测成分对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下试验条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表2。

## 2.10 药材样品中氯霉素类药物残留量检测

取120批药材样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下试验条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表3(表中仅列检出氯霉素类药物残留的药材样品)。

由表3可知,检出氯霉素类药物残留的鸡内金药材有18批(检出率为60%)、地龙药材7批(检出率为23%)、土鳖虫药材4批(检出率为13%)、水蛭药材4批(检出率为13%)。

## 3 讨论

由于动物养殖者一味地追求经济利益,氯霉素类药物有意无意滥用现象在当前养殖业中普遍存在。同时,环境水质、土壤的污染也是造成该类物质残留的一个重

表2 回收率试验结果( $n=9$ )

Tab 2 Results of recovery tests( $n=9$ )

待测成分	加入量, $\mu\text{g}/\text{kg}$	测得量, $\mu\text{g}/\text{kg}$	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %			
氯霉素	0.50	0.47	94.00	98.96	10.15			
	0.50	0.42	84.00					
	0.50	0.53	106.00					
	1.00	1.03	103.00					
	1.00	0.91	91.00					
	1.00	0.88	88.00					
	5.00	5.64	112.80					
	5.00	5.46	109.20					
	5.00	5.13	102.60					
	氟甲砒霉素	0.51	0.45			88.24	98.17	7.11
		0.51	0.48			94.12		
		0.51	0.50			98.04		
1.02		1.12	109.80					
1.02		0.93	91.18					
1.02		1.09	106.86					
5.10		4.96	97.25					
5.10		5.18	101.57					
5.10		4.92	96.47					
甲砒霉素		0.51	0.46	90.20	94.25	3.91		
		0.51	0.45	88.24				
		0.51	0.48	94.12				
	1.02	1.01	99.02					
	1.02	0.95	93.14					
	1.02	0.99	97.06					
	5.10	4.81	94.31					
	5.10	4.75	93.14					
	5.10	5.05	99.02					

表3 药材样品中氯霉素类药物残留量检测结果( $n=3$ ,  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

Tab 3 Results of chloramphenicol residue in medicinal herbs samples( $n=3$ ,  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

药材	编号	来源	甲砒霉素	氟甲砒霉素	氯霉素
地龙	1	市售(玉林)	0	0.31	0.46
	2	市售(玉林)	0	0.28	0
	3	市售(柳州)	0	0	0.27
	4	市售(柳州)	0	0.65	0
	5	市售(桂林)	0	0	0.27
	6	市售(桂林)	0	0.47	0
	7	市售(贵港)	0	0	1.09
土鳖虫	1	市售(玉林)	0	2.28	0
	2	市售(柳州)	0	1.91	0
	3	市售(柳州)	0	0.44	0
	4	市售(柳州)	0.25	0	0
鸡内金	1	市售(玉林)	0	1.19	0
	2	市售(玉林)	0	2.03	0
	3	市售(玉林)	0	1.90	0
	4	市售(玉林)	0	0.52	0
	5	市售(玉林)	0	0.40	0
	6	市售(玉林)	0	0.51	0
	7	市售(玉林)	0	3.10	0
	8	市售(贵港)	0	0.80	0
	9	市售(贵港)	0	2.70	0.28
	10	市售(贵港)	0	16.70	0
	11	市售(柳州)	0	0.49	0
	12	市售(柳州)	0	1.60	0
	13	市售(柳州)	0	0.31	0
	14	市售(桂林)	0	0.28	0

续表3

Continued tab 3

药材	编号	来源	甲砒霉素	氟甲砒霉素	氯霉素
水蛭	15	市售(桂林)	0	0.98	0
	16	市售(桂林)	0	2.77	0
	17	市售(桂林)	0	1.31	0
	18	市售(桂林)	0	0.60	0
	1	市售(玉林)	0	0.88	0
	2	市售(柳州)	0	0.70	0
	3	市售(桂林)	0	1.48	0
	4	市售(桂林)	0	0.43	0

要原因<sup>[5-8]</sup>。这两种原因极易导致动物类药材中该类药物残留,甚至在含动物类药材较多的制剂中也会有氯霉素类药物残留<sup>[9]</sup>。从本试验收集的药材样品检测结果可知,动物类药材中存在氯霉素类药物残留的现象比较普遍,其中鸡内金药材的残留情况最严重。因此,建议有关监管部门给予足够重视。

氯霉素类药物属于弱极性或弱碱性化合物,易溶于甲醇、乙腈、乙酸乙酯等有机溶剂。相关文献<sup>[10-15]</sup>报道的提取方法多采用乙腈或乙酸乙酯提取,并经固相萃取或正己烷液萃取去除杂质。本试验曾比较了几种方法的提取效果,但结果要么基质效应很大,要么需要通过固相萃取柱净化,操作烦琐。经过进一步试验发现,采用乙酸乙酯加氨水提取药材样品,正己烷脱脂,乙酸乙酯萃取,操作简便,同时可消除药材样品的大部分基质效应,能得到较好的回收率和检测限。

综上所述,本方法操作简便,精密度、稳定性、重复性好,可用于动物类药材中氯霉素类药物残留的检测。

### 参考文献

- [1] 谭慧,麦琦.酶联免疫分析法测定水产品中氯霉素残留量[J].中国卫生检验杂志,2010,20(7):1649-1650.
- [2] 胡红美,郭远明,雷科,等.分散固相萃取净化-气相色谱法测定水产品中氯霉素和氟苯尼考[J].食品科学,2014,35(8):231-235.
- [3] 姚佳,王昕,张建新,等.免疫亲和柱-高效液相色谱法测定牛奶中氯霉素和玉米赤霉醇及其类似物[J].食品科学,2014,35(18):124-127.
- [4] 农业部.关于发布《动物性食品中兽药最高残留限量》的

通知:235号公告[S].2002.

- [5] 王硕,张晶,邵兵.超高效液相色谱-串联质谱法测定污泥中氯霉素、磺胺、四环素与大环内脂类抗生素[J].分析测试学报,2013,32(3):179-185.
- [6] 李红权,孙良娟,伍志强,等.高效液相色谱串联质谱法测定饲料中氯霉素、甲砒霉素、氟甲砒霉素残留[J].分析测试学报,2012,31(11):1396-1400.
- [7] 华娟,方勤美,熊春娥,等.市售动物性食品中氯霉素类药物残留调查研究[J].食品安全质量检测学报,2013,4(1):165-170.
- [8] 周亚民,叶领民.基于石英晶体微天平传感 ELISA 测定水体中残留氯霉素[J].东莞理工学院学报,2013,20(3):64-68.
- [9] 冯向东,张玉洁,王戈,等.HLB固相萃取-HPLC-MS/MS法测定乌鸡白凤(小蜜丸)中氯霉素残留[J].中国药事,2016,30(10):1009-1014.
- [10] 孙雷,张骊,王树槐,等.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.
- [11] 李丽莉,罗轶.液相色谱-串联质谱法测定鸡肉中氯霉素残留[J].中国卫生检验杂志,2011,21(6):1357-1358.
- [12] 曾玉梅,陈繁华.RP-HPLC法测定地枫软膏中3种主药含量[J].中国药房,2015,26(9):1271-1273.
- [13] 胡音,洪建文.亚临界水萃取-HPLC法测定动物源食品中土霉素、四环素和氯霉素残留量[J].中国药房,2013,24(25):2356-2359.
- [14] 陶昕晨,黄和,廖建萌,等.高效液相色谱-串联质谱法同时检测虾肉和猪肉中氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考和其代谢产物氟苯尼考胺残留[J].中国食品学报,2014,14(1):232-238.
- [15] 胡争艳,吴平谷,王天娇,等.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定鸡肉、鸡蛋中氯霉素和甲硝唑残留[J].中国卫生检验杂志,2016,26(21):3083-3097.

(收稿日期:2017-01-24 修回日期:2017-04-06)

(编辑:张静)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊,欢迎投稿、订阅