

## 采用睿科 Fotector-06C 全自动固相萃取仪分析猪肉中的 4 种四环素类药物

### 摘要

依据《GB/T 21317-2007 动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱-质谱 质谱法与高效液相色谱法》，建立基于 Fotector-06C 固相萃取分析猪肉中四环素的检测方法，试样用 Na<sub>2</sub>EDTA-Mellvaine 缓冲液提取，使用 Fotector-06 自动固相萃取系统和 Waters HLB SPE 柱进行固相萃取柱净化后，用液相色谱-质谱/质谱法测定和确证，外标法定量，整体回收率在 75~100% 之间，RSD (n=3) 在 1.2~3.6% 之间。

### 简介

放线菌金色链丛菌的培养液等分离出来的一种广谱抗菌素，但其对人本来会产生多种的危害，如可致肝毒性与胰腺炎，可导致溶血性贫血，可导致人体菌群失衡，可危害中枢神经，产生良性颅内压增高等等。

近年来，我国加大了对四环素残留的检测，睿科作为专业的全自动固相萃取，拥有雄厚的技术能力，利用 Fotector-06C 全自动固相萃取仪，根据《GB/T 21317-2007 动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱-质谱 质谱法与高效液相色谱法》建立四环素类药物分析方法。

### 仪器与耗材

睿科 Fotector-06C 自动固相萃取系统，液质联用仪 Agilent 1260+Agilent 6410 ESI，氮气吹干装置。

Waters Oasis HLB 固相萃取柱 (200mg/6mL)，乙酸乙酯、甲醇、乙腈均为 TEDIA 的色谱纯试剂

Mellvaine 缓冲液：将 1000mL 0.1mol/L 柠檬酸溶液与 625mL 0.2mol/L 磷酸氢二钠溶液混合，调节至 PH=4.0±0.5

0.1mol/L Na<sub>2</sub>EDTA-Mellvaine 缓冲液：称取 60.5g 乙二胺四乙酸二钠放入 1625mL Mellvaine 缓

冲液中。

四环素标准品：纯度≥99%，四环素、强力霉素、金霉素、土霉素。

### 实验方法

称取 5g 匀浆好的样品于 50mL 离心管中分别用 20mL，20mL，10mL Na<sub>2</sub>EDTA-Mellvaine 缓冲液，漩涡 1min，冰水浴超声 10min，提取三次；3000r/min 离心，合并上清液，定容成 50mL，混匀 5000r/min 离心，用快速滤纸过滤；准确量取 10mL 上清液转移 Fotector-06C 上样瓶中待净化。

将 HLB 固相萃取小柱安装在 Fotector-06C 系统上，按照如下程序运行，洗脱液定容至 1mL。

No.	操作命令	溶剂	流速 (ml/min)	体积 (ml)	时间 (min)	排出
1	活化	甲醇	2.0	5	3.0	废液1
2	活化	水	2.0	5	3.0	废液2
3	上样		3.0	10	4.3	废液2
4	清洗样品瓶	水	70.0	5	2.7	废液1
5	气推		10.0	5	1.0	废液2
6	淋洗	5%甲醇水	2.0	5	3.0	废液1
7	气推		10.0	5	1.0	废液1
8	吹干				5.0	
9	清洗溶剂泵	10%甲醇乙	10.0	2	0.4	
10	清洗溶剂泵	10%甲醇乙	10.0	2	0.4	
11	洗脱	10%甲醇乙	1.0	6	6.6	收集试管
12	气推		10.0	10	1.0	收集试管
13	浓缩样品				20.0	
14	结束				51.5	

图 1 Fotector-06C 固相萃取程序

### 实验结果与讨论

#### 1. 4 种四环素素标准品的 MRM 图谱 (图 2)

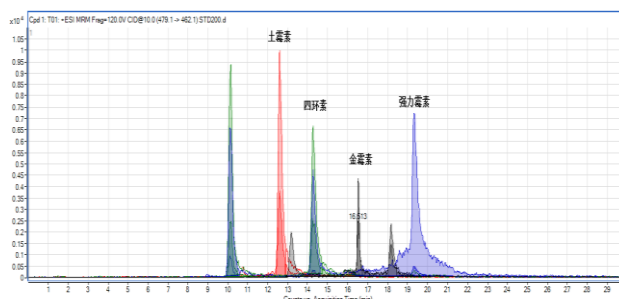


图 2 4 种四环素标准品 (80 μg/kg) 的 MRM 图谱

2. 在 80μg/kg 的加标水平下，样品经过前处理提取后，用 Fotector 净化，整体回收率在 75~100% 之间，RSD (n=3) 在 1.2~3.6% 之间，满足标准对回收率的要求，回收率如表 1 所示。

表 1 加标回收率 (%)

化合物	R1	R2	R3	Avg	RSD
土霉素	92.5	99.4	94.2	95.4	3.6
金霉素	75.2	72.9	74.4	74.1	1.2
四环素	90.5	94.3	97.3	94.0	3.4
强力霉素	84.1	80.3	85.5	83.3	2.7

3. 金霉素与强力霉素的热稳定性比较差，在超声处理的时候需要保证低温状态，否则会因温度过高而造成回收率损失。

4. 在合并完提取液后，可以使用 Reeko 专配的上样瓶滤器来代替快速滤纸过滤样品，且不用考虑滤纸的吸附的问题。

5. Fotector-06C 能够自动的完成整个固相萃取流程，从活化到上样，清洗样品瓶，洗脱，浓缩一步到位，省时省事；

6. Fotector-06C 采用全自动操作，固相萃取过程中可以排除操作带来的误差，能够获得手动固相萃取无法达到的 RSD 水平。

## 结论

利用睿科 Fotector-06C 全自动固相萃取仪能够很好的重现《GB/T 21317-2007 动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱-质谱 质谱法与高效液相色谱法》，80 $\mu$  g/kg 加标水平下回收率在 75~100%之间，RSD (n=3) 在 1.2~3.6%之间，符合 GB/T 21317-2007 中对分析结果的质量控制的要求。