

文章编号: 1008-1542(2023)02-0177-09

UPLC-MS/MS法测定土壤中氯霉素类 抗生素及其代谢物

米旭蕾¹, 王可², 李志伟¹

(1. 河北科技大学化学与制药工程学院, 河北石家庄 050018; 2. 石家庄市疾病预防控制中心石家庄市化学毒物检测及风险预警技术创新中心, 河北石家庄 050011)

摘要: 针对土壤中抗生素污染日益严重的问题, 为了促进土壤中抗生素监测技术体系及相关标准的完善, 建立了一种 QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱 (UPLC-MS/MS) 的分析方法。土壤样品用 10 mL 3% (体积分数, 下同) 氯化乙腈提取, 0.2 g PSA 和 0.2 g 无水 MgSO₄ 净化, 流动相为甲醇-水 (1:1, 体积比, 下同), ZORBAX SB-Aq (2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm) 色谱柱, 质谱条件为电喷雾离子源 (ESI)、正/负离子扫描、多反应监测 (MRM)。结果表明, 4 种分析物在 0.1~200 ng/mL 范围内线性关系良好, 相关系数 (r) > 0.999, 检出限 (LOD) 为 0.01~0.06 μg/kg, 定量限 (LOQ) 为 0.05~0.19 μg/kg, 在 3 个加标水平 (0.4, 8.0, 40.0 μg/kg) 下, 平均回收率为 87.23%~108.57%, 相对标准偏差 (RSD, $n=5$) 为 0.36%~6.55%。该方法准确、简便、高效、灵敏, 适用于土壤中氯霉素、甲砜霉素、氟苯尼考及其代谢物氟苯尼考胺的同步检测, 可为相关部门制定相关行业标准、规范提供数据依据。

关键词: 化学分析; QuEChERS; 超高效液相色谱-串联质谱; 土壤; 氯霉素类抗生素及其代谢物

中图分类号: O657.63 文献标识码: A DOI: 10.7535/hbkd.2023yx02008

Determination of chloramphenicol antibiotics and their metabolite in soil by UPLC-MS/MS

MI Xulei¹, WANG Ke², LI Zhiwei¹

(1. School of Chemistry and Pharmaceutical Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang, Hebei 050018, China; 2. Shijiazhuang Technology Innovation Center for Chemical Poison Detection and Risk Early Warning, Shijiazhuang Center for Disease Control and Prevention, Shijiazhuang, Hebei 050011, China)

Abstract: Aiming at the problem that antibiotic pollution in soil is becoming more and more serious, in order to promote the improvement of antibiotic monitoring technical system and related standards, a method of QuEChERS combined with ultra

收稿日期: 2023-03-02; 修回日期: 2023-03-23; 责任编辑: 王淑霞

基金项目: 河北省省级科技计划项目 (223777116D)

第一作者简介: 米旭蕾 (1997—), 女, 河北石家庄人, 硕士研究生, 主要从事药物分析方面的研究。

通信作者: 李志伟副教授。E-mail: lizhiwei@hebust.edu.cn

米旭蕾, 王可, 李志伟. UPLC-MS/MS法测定土壤中氯霉素类抗生素及其代谢物[J]. 河北科技大学学报, 2023, 44(2): 177-185.

MI Xulei, WANG Ke, LI Zhiwei. Determination of chloramphenicol antibiotics and their metabolite in soil by UPLC-MS/MS[J]. Journal of Hebei University of Science and Technology, 2023, 44(2): 177-185.

performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was established. The soil samples were extracted with 10 mL 3% ammoniated acetonitrile (V/V), purified with 0.2 g PSA and 0.2 g anhydrous $MgSO_4$, the mobile phase was methanol-water (1:1, V/V), the UPLC column used in the experiment was ZORBAX SB-Aq (2.1 mm \times 150 mm, 3.5 μ m), the ion source was electrospray ion source (ESI) with positive/negative ion scanning, and the detection method was multiple reaction monitoring (MRM). The results indicates that the linear relationships of the four analytes are good in the range of 0.1~200 ng/mL, with a correlation coefficients (r) higher than 0.999, the limits of detection (LOD) and the limits of quantitation (LOQ) are 0.01~0.06 μ g/kg and 0.05~0.19 μ g/kg, respectively; the average recoveries are 87.23%~108.57% at three spiked levels (0.4, 8.0, 40.0 μ g/kg), the relative standard deviations (RSDs, $n=5$) are 0.36%~6.55%. The method is accurate, simple, efficient and sensitive, which is suitable for the simultaneous determination of chloramphenicol, sulfoxamycin, flufenicol and its metabolite florfenicol amine in soil, and provides data basis for setting relevant standards and regulations.

Keywords: chemical analysis; QuEChERS; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; soil; chloramphenicol antibiotics and their metabolite

氯霉素类抗生素又称酰胺醇类抗生素,因具有廉价、高效、广谱等特点,在畜禽养殖中被广泛使用^[1],主要包括氯霉素(CAP)、甲砒霉素(TAP)和氟苯尼考(FF)^[2]。CAP残留会抑制人体骨髓的造血功能,引起颗粒性白细胞缺乏症等疾病^[3]。TAP和FF是CAP的新型同类药物,具有良好的抗菌效果和安全性能。但人类若长期摄入TAP,会对人体的造血功能产生不可逆的抑制作用。TAP结构中的羟基被氟原子取代得到FF,其具有良好的抗菌谱和活性^[4]。FF代谢产物复杂,其中,氟苯尼考胺(FFA)是FF的主要代谢物,也是FF在动物体内的残留标志物^[5]。土壤环境是人类赖以生存的环境之一,人类常常通过施用含有抗生素的粪便和废水导致大量抗生素进入土壤,造成土壤污染,对微生物、动植物及人类健康产生不同程度的毒性作用。氯霉素类抗生素的化学性质稳定,在自然界中可长期存在^[6],而中国尚未规定氯霉素类抗生素及其代谢物在环境中的最大残留限量。因此,建立一种检测土壤中氯霉素类抗生素及其代谢物的分析方法十分必要。

近年来,针对氯霉素类抗生素及其代谢物的检测方法主要包括气相色谱法(GC)^[7]、气相色谱-串联质谱法(GC-MS)^[8]、免疫层析法(ICA)^[9]、液相色谱法(LC)^[10]和液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)^[11-12]等。其中,GC法和GC-MS法适用于分析易挥发、热稳定的小分子有机化合物,应用范围较窄^[13];ICA法准确度较差,有时会出现假阳性或假阴性的结果^[14];LC法灵敏度较低,无法满足痕量测定的要求^[15];而LC-MS/MS法具有分离能力强、灵敏度高、定性定量准确等优点,适用于复杂基质中多种抗生素的痕量分析^[15]。国内外关于该类药物的检测主要集中在牛奶^[16]、蜂蜜^[17]、鱼肉^[18]、畜禽产品^[19]等动物源性食品,而土壤基质更为复杂,关于氯霉素类抗生素及其代谢物在土壤基质中残留检测的报道相对较少。胡钰等^[20]采用固相萃取前处理技术检测农田土壤中氯霉素和氟苯尼考,回收率仅为46.9%~146.0%。曾芳等^[6]利用LC测定土壤中氯霉素、甲砒霉素和氟苯尼考,首先,用乙酸乙酯提取目标物;然后,用正己烷进行脱脂;最后,用固相萃取柱进行富集、净化,该检测方法操作步骤繁琐,分析时间长。刘虹等^[21]采用固相萃取技术检测土壤中氯霉素,该方法的检出限较高,为23 μ g/kg。目前,关于同时检测土壤基质中3种氯霉素类抗生素及其代谢物的方法未见报道。因此,建立操作简便、灵敏、准确、可靠的氯霉素类抗生素及其代谢物的分析新方法,具有十分重要的意义。

QuEChERS技术在2003年由德国斯图加特CVUA实验室的ANASTASSIADES等首次提出,随后由美国农业部农业研究院化学家PERESTRELO等确证^[22]。该技术具有高通量、操作简便、成本低廉、溶剂消耗少等优点^[23],在检测水果和蔬菜中农药残留方面应用较为广泛,但在兽药残留检测中的应用相对较少。李常雄等^[24]建立了QuEChERS技术方法,同时测定水果和蔬菜中4种双酰胺类农药残留;韩梅等^[25]建立了一种基于QuEChERS前处理技术快速检测蔬菜中48种农药残留的分析方法;DINH等^[26]开发了QuEChERS法测定鱼和虾中27种兽药残留的检测新方法。用QuEChERS技术开展土壤中兽药的监测需要对提取剂、净化剂种类和净化剂用量等进行优化,以得到更好的提取和净化效果。本研究通过对质谱参数、色谱条件、提取剂种类、净化方式等进行优化,以改进的QuEChERS作为前处理技术,结合超高效液相色谱三重四级杆串联质谱(UPLC-MS/MS),建立同时测定土壤中氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考及其代谢物氟苯尼考胺的新方法,以期开展土壤样品中氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考及其代谢物氟苯尼考胺残留监测及风险评价提供技术支持。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

AB SCIEX XEzion-TRIPLE QUAD 5500 型超高效液相色谱串联质谱仪,美国 AB SCIEX 公司提供;VXMNAL 型涡旋振荡器,美国 OHAUS 公司提供;CR21N 型高速冷冻离心机,日本日立公司提供;AE240 型电子天平,瑞士 Mettler Toledo 公司提供;EVAP-12 型氮吹仪,美国 Organomation 公司提供。

CAP,纯度为 98.5%,Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司提供;TAP,FF,纯度为 99.9%,Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司提供;FFA,纯度为 99.2%,上海安谱实验科技股份有限公司提供;甲酸,乙酸铵(色谱纯),美国 Dikma 公司提供;乙腈(色谱纯),德国 Merck 公司提供;甲醇,色谱纯,美国 Fisher 公司提供;N-丙基乙二胺(PSA),美国 Dikma 公司提供; C_{18} ,40~50 μm ,美国 Welch 公司提供;无水 MgSO_4 ,分析纯,天津永大化学试剂有限公司提供;Milli-Q 超纯水机,美国 Millipore 公司提供。

1.2 标准溶液的配制

分别准确称取一定量的分析物标准品,用甲醇溶解定容至 10 mL,配制成 1 mg/mL 的各标准储备液,于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中储存。分别准确移取 100 μL 各标准储备液,用甲醇稀释至 1 mL,配制成 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的各标准中间液。分别准确移取 100 μL 各标准中间液,用甲醇稀释至 10 mL,配制成 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准溶液。采用土壤空白基质液逐级稀释混合标准溶液,配制成 0.1,0.2,0.5,1.0,2.0,5.0,10.0,20.0,50.0,100.0,200.0 ng/mL,体积均为 500 μL 的系列混合标准工作溶液。

1.3 样品采集与前处理

1.3.1 土壤样品采集

土壤样品按照《土壤环境监测技术规范》(HJ/T 166—2004)的要求进行采集、运输和保存。采集 0~20 cm 的表层土壤,除去碎石、杂草和植物根茎等杂物,装于封口袋中。在运输过程中密封、避光。将样品运送到实验室后,自然风干,粉碎,过 0.425 mm(40 目)筛,装于封口袋中,于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 避光保存。

1.3.2 样品前处理

准确称取 5.0 g($\pm 0.01\text{ g}$)土壤样品于 50 mL 离心管中,加 10 mL 3% 氨化乙腈,涡旋混匀 20 s,振荡 2 min,以 10 000 r/min 离心 5 min。准确移取 7 mL 上清液,置于含有 0.2 g 无水 MgSO_4 和 0.2 g PSA 的 15 mL 离心管中,涡旋 20 s,以 10 000 r/min 离心 5 min。准确移取 5 mL 上清液,在 $40\text{ }^\circ\text{C}$ 下氮吹干,用 1 mL 甲醇-水(1:1)复溶,过 0.20 μm 滤膜,待测。

1.4 仪器条件

1.4.1 色谱条件

Aligent ZORBAX SB-Aq(2.1 mm \times 150 mm,3.5 μm);流动相:甲醇-水(50:50);进样量:3 μL ;柱温: $40\text{ }^\circ\text{C}$;流速:0.3 mL/min。

1.4.2 质谱条件

离子源:电喷雾电离源(ESI);扫描模式:正/负离子扫描模式;检测方式:多反应监测(MRM);离子源电压:5 500 V;离子源温度: $550\text{ }^\circ\text{C}$;气帘气压力:40 psi(1 psi 相当于 6 894.757 Pa,下同);雾化气压力:50 psi;辅助气压力:50 psi。4 种分析物的质谱参数见表 1。

表 1 4 种分析物的质谱参数

Tab.1 Mass spectrometric parameters of four analytes

序号	分析物	保留时间/min	母离子/($\text{m} \cdot \text{z}^{-1}$)	子离子/($\text{m} \cdot \text{z}^{-1}$)	去簇电压/V	碰撞能/eV
1	氟苯尼考胺	0.96	248.1	230.1*/130.0	79.30/70.03	16.84/30.13
2	甲砜霉素	1.65	354.0	290.2*/185.0	-128.20/-129.90	-17.10/-30.20
3	氟苯尼考	1.92	358.0	337.8*/185.0	-105.05/-109.19	-13.46/-28.35
4	氯霉素	2.26	321.1	151.8*/257.0	-107.06/-107.71	-27.01/-16.29

注:*为定量离子。

2 结果与讨论

2.1 质谱参数优化

分别配制 50 ng/mL 的 4 种分析物标准溶液,采用针泵进样。由于 CAP,TAP 和 FF 含有电负性较高的卤原子和羟基,因此,在负离子模式下具有更高的灵敏度;而 FFA 含有氨基,因此,在正离子模式下具有更高

的灵敏度^[27],所以实验在正/负离子模式下进行质谱参数优化。首先,在一级质谱(Q1 MS)扫描模式下,获得每种分析物的母离子;然后,在二级质谱(Product ion, MS2)扫描模式下,获得其碎片离子;最后,将母离子和碎片离子组成检测离子对,在 MRM 模式下分别对碰撞能(CE)和去簇电压(DP)进行优化,使各碎片离子获得最佳响应。

2.2 色谱条件优化

2.2.1 色谱柱选择

有研究表明,C₁₈柱适用于氯霉素类抗生素残留的分析^[28]。因此,实验比较了 Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈(4.6 mm × 50 mm, 1.8 μm)、Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm)、Agilent ZORBAX SB-Aq(2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm)3种色谱柱对4种目标物的分离效果。结果显示,与另外2个色谱柱相比,在 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱上,4种分析物响应偏低(见图1);在 ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱上,氟苯尼考胺出现分裂峰(见图2);在 ZORBAX SB-Aq 色谱柱上,4种分析物具有较好的响应和峰形。因此,选择 ZORBAX SB-Aq 色谱柱进行分析。

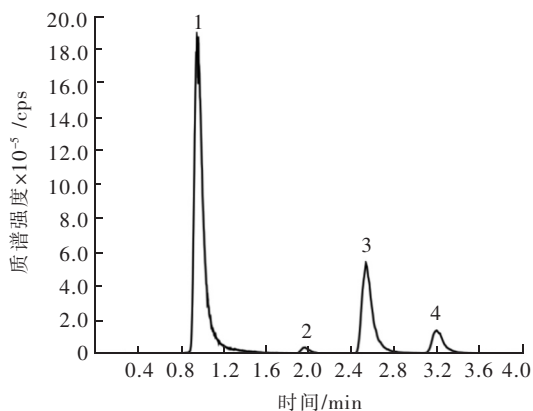


图1 4种分析物在 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱上的混合标准溶液色谱图(50 ng/mL)

Fig. 1 Mixed standard solution chromatogram of four analytes on a ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ column (50 ng/mL)

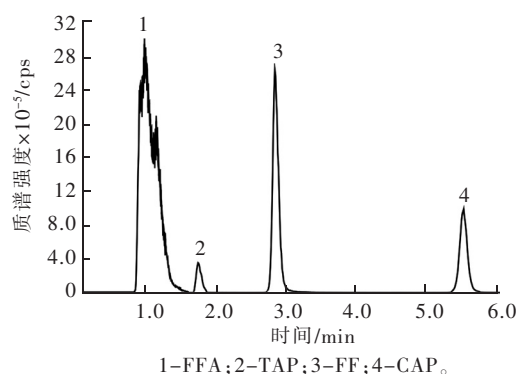


图2 4种分析物在 ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱上的混合标准溶液色谱图(50 ng/mL)

Fig. 2 Mixed standard solution chromatogram of four analytes on a ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ column (50 ng/mL)

2.2.2 流动相优化

流动相对目标物的响应、峰形和保留时间存在一定影响。首先,比较了当以纯水为水相,甲醇、乙腈为有机相时对4种目标物分离效果的影响。结果发现,当有机相为乙腈时,FFA峰形较宽,且FF和CAP未能分开;当有机相为甲醇时,4种目标物具有较好的峰形、响应值和分离度,故选择甲醇作为有机相。以甲醇为有机相,比较了以纯水、0.1%甲酸水溶液、含2 mmol/L 乙酸铵的水溶液为水相时对色谱效果的影响。结果发现,在水中加入甲酸或乙酸铵后,4种目标物的响应值均降低,故选择纯水作为水相。实验进一步对甲醇和水的体积比进行优化,比较了当甲醇和水的体积比分别为40:60,50:50和60:40时对4种目标物分离效果的影响。发现当体积比为40:60时,分析时间较长;当体积比为60:40时,TAP和FF未分开;当体积比为50:50时,4种目标物的峰形和分离度均较好。综上,实验最终采用体积比为50:50的甲醇和水等度洗脱。在最佳色谱柱、甲醇水体积比1:1流动相条件下,得到如图3所示的4种分析物的混合标准溶液色谱图。

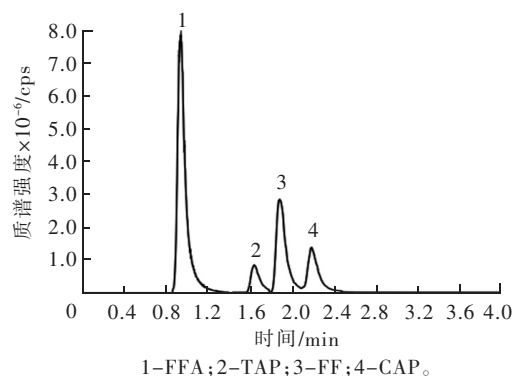


图3 4种分析物在最佳条件下的混合标准溶液色谱图(50 ng/mL)

Fig. 3 Chromatogram of mixed standard solution for four analytes under optimum conditions (50 ng/mL)

2.3 前处理条件优化

2.3.1 提取剂的优化

根据结构和理化性质,实验考察了以乙腈、乙酸乙酯和二氯甲烷分别作为提取剂时,对 4 种分析物回收率的影响,结果如图 4 所示。乙酸乙酯对土壤中 TAP 和 FFA 的提取效果较差,回收率仅为 14.66%和 1.11%,其余 2 种分析物的回收率均达到 60%以上;当用二氯甲烷提取时,仅 FF 的回收率在 60%以上;当用乙腈提取时,FFA 的回收率偏低,仅为 2.57%,其余 3 种分析物的回收率较高,在 60.62%~91.30%之间,所以选择乙腈作为提取当剂。由于 FFA 是弱碱性化合物,在较高的 pH 值下具有更好的溶解性^[29],因此,实验分别考察了 1%,2%,3%,4% 4 种不同体积比的氨化乙腈对 4 种分析物回收率的影响。结果显示,随着氨水浓度的增加,FFA 的回收率呈现先升高后降低的趋势,当使用 3%氨化乙腈时,CAP,TAP,FF 和 FFA 的回收率最好,分别为 104.88%,92.69%,101.94%和 103.60%,最终选择 3%氨化乙腈作为提取剂。

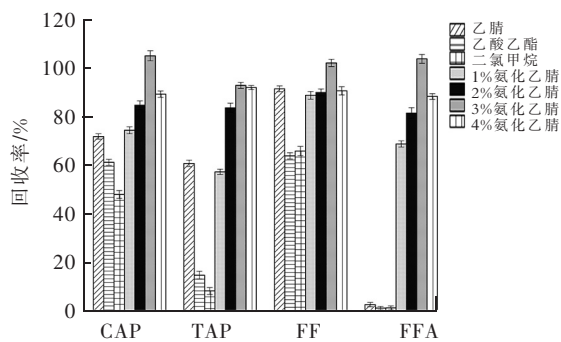


图 4 不同提取剂对 4 种分析物回收率的影响
Fig. 4 Effect of different extractant on the recoveries of four analytes

2.3.2 净化方式的优化

PSA,C₁₈ 等是 QuEChERS 前处理中常用的吸附剂。由于土壤中主要含有色素、脂肪等杂质,PSA 可通过阴离子交换的方式,对土壤中多种极性有机酸、脂肪酸、糖类物质、亲脂性色素等杂质有较好的吸附能力^[30-31]。分别比较 PSA,C₁₈,PSA 加入无水 MgSO₄ 净化剂对 4 种分析物回收率的影响,结果如图 5 所示。当以 C₁₈ 作为净化剂时,FF 的回收率仅为 45.33%,可能由于 C₁₈ 对 FF 有吸附作用;当使用 PSA 净化时,4 种分析物的回收率均在 70%以上;PSA 加入无水 MgSO₄ 后 4 种分析物的回收率为 99.71%~106.90%,回收率较好,这是由于无水 MgSO₄ 可去除有机溶剂中残留的水分,而且在吸水放热的过程中促进了目标物的溶出^[32]。而且使用 PSA 加入无水 MgSO₄ 净化后,回收率优于 PSA 净化时的回收率(81.50%~92.34%),故最终选择将 PSA 加入无水 MgSO₄ 作为净化剂。

实验进一步对无水 MgSO₄ 和 PSA 的用量进行考察。首先,固定无水 MgSO₄ 的用量为 0.20 g,考察 PSA 用量(0.05,0.10,0.20,0.30 g)对 4 种分析物回收率的影响。结果如图 6 所示。首先,在不同 PSA 用量下,4 种分析物的回收率随着 PSA 用量的增加呈现先升高后降低的趋势,当 PSA 用量达到 0.20 g 时,4 种分析物的回收率较好,在 93.20%~102.37%之间,所以选择 0.20 g PSA 净化;然后,当 PSA 用量为 0.20 g 时,考察无水 MgSO₄ 的用量(0.10,0.20,0.30 g)对 4 种分析物回收率的影响,结果如图 7 所示。随着无水 MgSO₄ 用量的增加,TAP 和 FFA 的回收率先升高后降低,CAP 的回收率逐渐降低,当无水 MgSO₄ 用量为 0.20 g 时,4 种分析物均有较好的回收率。综上所述,选用 0.20 g PSA 加入 0.20 g 无水 MgSO₄ 进行净化,4 种分析物的回收率总体最好,为 86.68%~101.03%。

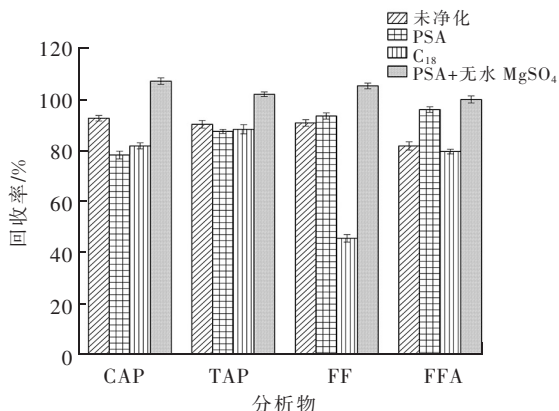


图 5 不同净化剂对 4 种分析物回收率的影响
Fig. 5 Effect of different purifications on the recoveries of four analytes

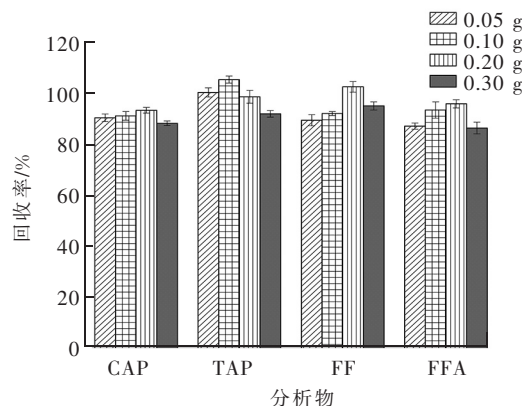


图 6 PSA 用量对 4 种分析物回收率的影响
Fig. 6 Effect of PSA dosage on the recoveries of four analytes

2.4 基质效应

使用电喷雾离子源的主要限制因素是基质中共提取物对分析物的信号抑制或增强^[33]。基质效应(ME, matrix effect)是指分析物的离子化受共提取物的影响,从而导致分析物的响应值出现增强或减弱的现象^[34]。实验分别用土壤空白基质溶液和纯溶剂制备标准曲线,按照式(1)计算ME值。当ME值在80%~120%之间时,认为基质效应较小,可忽略;ME值小于80%,认为有较强的基质抑制作用^[35]。计算得到4种分析物的基质效应分别为42.63%,49.91%,50.37%和53.56%,说明具有较强的基质抑制效应。因此,采用基质匹配标准曲线,以精准定量,减小误差。

$$ME = (\text{基质匹配标准曲线斜率} / \text{溶剂标准曲线斜率}) \times 100\% \quad (1)$$

2.5 方法学验证

2.5.1 线性关系、检出限与定量限

对“1.2”部分配制的不同浓度的混合标准工作溶液进行检测,以各分析物质量浓度(X , ng/mL)和峰面积(Y)为线性方程的横坐标和纵坐标,得到相应的线性方程和相关系数(r)。用3倍信噪比和10倍信噪比计算各分析物的检出限(LOD)和定量限(LOQ)。如表2所示,4种分析物的相关系数(r)均在0.999以上,表明方法线性关系良好。LOD为0.01~0.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$, LOQ为0.05~0.19 $\mu\text{g}/\text{kg}$,方法灵敏度较高。

表2 4种分析物的线性、检出限与定量限

Tab. 2 Linear, limits of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ) for detection of 4 analytes

分析物	线性范围/(ng · mL ⁻¹)	线性方程	r	LOD/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	LOQ/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
氯霉素	0.1~200	$Y=13\ 448.17X+5\ 949.33$	0.999 9	0.02	0.06
甲砒霉素	0.1~200	$Y=1\ 816.37X+81.60$	0.999 8	0.04	0.14
氟苯尼考	0.1~200	$Y=101\ 177.00X+18\ 399.77$	0.999 7	0.01	0.05
氟苯尼考胺	0.1~200	$Y=102\ 221.00X+169\ 896.00$	0.999 3	0.06	0.19

2.5.2 加标回收率与精密度

取空白土壤样品,加标回收试验分别在0.4,8.0,40.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 下进行,每个量平行测定5次。如表3所示,4种分析物的平均加标回收率在87.23%~108.57%之间,RSD值在0.36%~6.55%之间,表明建立的方法准确度和精密度良好,能够满足对土壤中4种分析物进行定量分析的要求。

表3 4种分析物的加标回收率与精密度($n=5$)

Tab. 3 Spiked recoveries and RSD of 4 analytes ($n=5$)

分析物	加标量/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	加标回收率/%	RSD/%
氯霉素	0.4	87.23	1.54
	8.0	95.42	2.45
	40.0	98.27	3.10
甲砒霉素	0.4	93.65	4.38
	8.0	99.04	6.55
	40.0	100.64	2.47
氟苯尼考	0.4	101.37	2.65
	8.0	104.50	1.79
	40.0	108.57	3.95
氟苯尼考胺	0.4	90.82	5.73
	8.0	95.55	1.39
	40.0	98.99	0.36

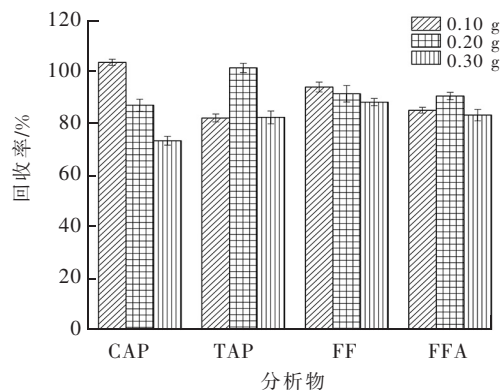


图7 无水MgSO₄用量对4种分析物回收率的影响

Fig. 7 Effect of anhydrous MgSO₄ dosage on the recoveries of four analytes

2.6 实际样品测定

采集 12 份养殖场土壤、11 份菜地土壤共 23 份样品,在最佳优化条件下对上述样品进行检测。其中,在 1 份养殖场和 2 份菜地的土壤中均检测到 FFA,质量浓度分别为 6.34,4.12 和 14.92 $\mu\text{g}/\text{kg}$,另外,20 份样品中 4 种分析物均低于各自的检出限。

3 结 语

本研究建立了一种 QuEChES 结合 UPLC-MS/MS 同步测定土壤中 CAP,TAP,FF 及其代谢物 FFA 的新方法。通过对质谱参数、色谱条件和前处理条件的优化,确立了最佳检测条件:样品经 3% 氨化乙腈提取,0.2 g PSA 加入 0.2 g 无水 MgSO_4 净化,以甲醇-水(1:1)为流动相,经 ZORBAX SB-Aq 色谱柱分离,采用电喷雾离子源正/负离子扫描,多反应监测模式进行检测。方法学验证表明,本方法具有准确、简便、高效、灵敏等优点,适用于大批量土壤样品中 3 种氯霉素类抗生素及其代谢物的定性定量分析。所建立的方法对开展土壤中氯霉素类抗生素及其代谢物的监测、评价提供了技术支持,同时为相关部门制定相关行业标准、规范提供了数据依据。本研究仅建立了土壤中氯霉素类抗生素及其代谢物的检测方法,今后需完善该方法在水等其他基质中的应用效果。

参考文献/References:

- [1] 陈涛,倪建秀,陈桂芳,等.超高效液相色谱-串联质谱检测鸡蛋、鸡肉和猪肉中酰胺醇类药物残留[J].畜牧与兽医,2020,52(6):66-75.
CHEN Tao,NI Jianxiu,CHEN Guifang,etal. Simultaneous determination of amphenicol residues in eggs,chicken and pork by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine,2020,52(6):66-75.
- [2] MORAGIANNI D,DRYLLIS G,ANDROMIDAS P,et al. Genital tract infection and associated factors affect the reproductive outcome in fertile females and females undergoing in vitro fertilization[J]. Biomedical Reports,2019,10(4):231-237.
- [3] 郭晓关,李俊.高效液相色谱-质谱法测定水中氯霉素效果分析[J].耕作与栽培,2016(6):11-13.
GUO Xiaoguan,LI Jun. Analysis of chloramphenicol determination in water by high performance liquid chromatography-quadrupole mass spectrometry[J]. Tillage and Cultivation,2016(6):11-13.
- [4] 张桂云,杨伟强.分散固相萃取-高效液相色谱串联质谱法测定水产品中氯霉素类药物的残留量[J].福建分析测试,2019,28(2):17-22.
ZHANG Guiyun,YANG Weiqiang. Determination of chloramphenicol in aquatic products based on the combination of DSPE method and HPLC-MS/MS[J]. Fujian Analysis & Testing,2019,28(2):17-22.
- [5] 王丽英,任贝贝,路杨,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡肉、鸡蛋中氟苯尼考和氟苯尼考胺残留[J].食品安全质量检测学报,2020,11(15):5056-5061.
WANG Liying,REN Beibei,LU Yang,et al. Determination of florfenicol and florfenicol amine residues in chicken and hen eggs by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Journal of Food Safety & Quality,2020,11(15):5056-5061.
- [6] 曾芳,黄玉芬,刘忠珍,等.高效液相色谱法测定土壤和畜禽粪中的氯霉素、甲砜霉素和氟甲砜霉素[J].广东农业科学,2010,37(10):38-40.
ZENG Fang,HUANG Yufen,LIU Zhongzhen,et al. Determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol in soil, livestock and poultry manure by high performance liquid chromatography[J]. Guangdong Agricultural Sciences,2010,37(10):38-40.
- [7] 杨秋红,艾晓辉,李荣,等.固相萃取-气相色谱法同时检测水产品中的氯霉素、甲砜霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺[J].分析实验室,2015,34(5):533-537.
YANG QiuHong,AI Xiaohui,LI Rong,et al. Simultaneous determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol-amine in aquatic products by gas chromatographic method with solid phase extraction[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory,2015,34(5):533-537.
- [8] 张丽萍,孟蕾,张盼盼,等.鸡、猪组织中甲砜霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺残留量测定的 GC-MS 法建立[J].中国兽药杂志,2020,54(9):33-40.
ZHANG Liping,MENG Lei,ZHANG Panpan,et al. Determination of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in chicken and swine tissues by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug,2020,54(9):33-40.
- [9] ZHOU Jinyu,NIE Wei,CHEN Yiqiang,et al. Quadruplex gold immunochromatographic assay for four families of antibiotic residues in milk[J]. Food Chemistry,2018,256:304-310.
- [10] WANG Guotian,WANG Bo,ZHAO Xia,et al. Determination of thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in poultry meat

- and pork via ASE-UPLC-FLD[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2019, 81:19-27.
- [11] GUIDI L R, TETTE P A S, GLORIA M B A, et al. A simple and rapid LC-MS/MS method for the determination of amphenicols in Nile tilapia[J]. *Food Chemistry*, 2018, 262:235-241.
- [12] HONG Bing, YU Shen, ZHOU Min, et al. Development of a pH-paralleling approach of quantifying six-category pharmaceuticals in surface water using SPE-HPLC-MS/MS[J]. *Watershed Ecology and the Environment*, 2021, 3:1-16.
- [13] 郭爱静, 王可, 花中霞, 等. 食品中取代脲类除草剂残留检测技术研究进展[J]. *职业与健康*, 2022, 38(16):2299-2304.
- GUO Aijing, WANG Ke, HUA Zhongxia, et al. Research progress on detection technology of substituted urea herbicide residues in food[J]. *Occupation and Health*, 2022, 38(16):2299-2304.
- [14] XU Lulu, WU Ruimei, GENG Xiang, et al. Rapid detection of sulfonamide antibiotics residues in swine urine by surface-enhanced raman spectroscopy[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2022, 267. DOI: 10.1016/j.saa.2021.120570.
- [15] 徐圆, 徐宇峰, 曹赵云, 等. QuEChERS-液相色谱-串联质谱法测定稻田中土壤及水稻中抗生素的残留量[J]. *环境工程学报*, 2021, 15(9):3112-3120.
- XU Yuan, XU Yufeng, CAO Zhaoyun, et al. Determination of antibiotic residues in soil and rice of the simulated paddy field by QuEChERS-LC-MS/MS[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2021, 15(9):3112-3120.
- [16] ZHAO Mantong, LI Xiaolong, ZHANG Yule, et al. Rapid quantitative detection of chloramphenicol in milk by microfluidic immunoassay[J]. *Food Chemistry*, 2021, 339. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.127857.
- [17] LI Xiuqin, LI Hongmei, XU Sen, et al. Rapid quantification of trace chloramphenicol in honey under ambient conditions using direct analysis via real-time QTRAP mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2019, 276:50-56.
- [18] BORTOLOTTI A R, DANIEL D, REYES F G R. Occurrence of antimicrobial residues in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets produced in Brazil and available at the retail market[J]. *Food Research International*, 2021. DOI:10.1016/j.foodres.2020.109865.
- [19] IMRAN M, FAZAL-E-HABIB, TAWAB A, et al. LC-MS/MS based method development for the analysis of florfenicol and its application to estimate relative distribution in various tissues of broiler chicken[J]. *Journal of Chromatography B*, 2017, 1063:163-173.
- [20] 胡钰, 朱青青, 胡立刚, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定土壤中 30 种抗生素[J]. *色谱*, 2021, 39(8):878-888.
- HU Yu, ZHU Qingqing, HU Ligang, et al. Simultaneous determination of 30 antibiotics in soil by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2021, 39(8):878-888.
- [21] 刘虹, 张国平, 刘丛强. 固相萃取-色谱测定水、沉积物及土壤中氯霉素和 3 种四环素类抗生素[J]. *分析化学*, 2007, 35(3):315-319.
- LIU Hong, ZHANG Guoping, LIU Congqiang. Determination of chloramphenicol and three tetracyclines by solid phase extraction and high performance liquid chromatography-ultraviolet detection[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2007, 35(3):315-319.
- [22] PERESTRELO R, SILVA P, PORTO-FIGUEIRA P, et al. QuEChERS-fundamentals, relevant improvements, applications and future trends[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2019, 1070:1-28.
- [23] 张悦, 宋志花, 王艺晓, 等. 基于色谱技术的典型环境污染物快速检测研究新进展[J]. *分析实验室*, 2022, 41(3):341-349.
- ZHANG Yue, SONG Zhihua, WANG Yixiao, et al. Research progress of rapid detection of typical environmental pollutants based on chromatographic technologies[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2022, 41(3):341-349.
- [24] 李常雄, 邹海民, 胡晓科, 等. 超高效液相色谱法测定果蔬中 4 种双酰胺类农药残留[J]. *中国测试*, 2020, 46(3):59-63.
- LI Changxiong, ZOU Haimin, HU Xiaoke, et al. UHPLC determination of four diacylhydrazide pesticides residues in fruits and vegetables[J]. *China Measurement & Testing Technology*, 2020, 46(3):59-63.
- [25] 韩梅, 侯雪, 邱世婷, 等. QuEChERS-气相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 48 种农药残留[J]. *中国测试*, 2020, 46(5):65-71.
- HAN Mei, HOU Xue, QIU Shiting, et al. Determination of 48 pesticide residues in vegetables by QuEChERS-GC-MS/MS[J]. *China Measurement & Testing Technology*, 2020, 46(5):65-71.
- [26] DINH Q T, MUNOZ G, DUYS V, et al. Analysis of sulfonamides, fluoroquinolones, tetracyclines, triphenylmethane dyes and other veterinary drug residues in cultured and wild seafood sold in Montreal, Canada[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2020, 94. DOI: 10.1016/j.jfca.2020.103630.
- [27] ZHANG Suxia, LIU Zhongwei, GUO Xia, et al. Simultaneous determination and confirmation of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in chicken muscle by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B*, 2008, 875(2):399-404.

- [28] TAO Yanfei, ZHU Fangwei, CHEN Dongmei, et al. Evaluation of matrix solid-phase dispersion (MSPD) extraction for multi-fenicol determination in shrimp and fish by liquid chromatography-electrospray ionisation tandem mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2014, 150:500-506.
- [29] XIE Xing, WANG Bo, PANG Maoda, et al. Quantitative analysis of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in eggs via liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2018, 269:542-548.
- [30] 黄玉芬, 骆冲, 黄健祥, 等. QuEChERS-LC-MS/MS同时测定土壤中3种典型手性农药对映体[J]. *农产品质量与安全*, 2019(2):29-34.
HUANG Yufen, LUO Chong, HUANG Jianxiang, et al. Simultaneous extraction and determination of three typical chiral pesticides in soil using a QuEChERS based method and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Quality and Safety of Agro-Products*, 2019(2):29-34.
- [31] 王旭强, 孙文闪, 冯均利, 等. 液质联用法测定蔬菜、水果、土壤中的溴氰虫酰胺残留[J]. *福建分析测试*, 2019, 28(2):1-4.
WANG Xuqiang, SUN Wenshan, FENG Junli, et al. Determination of cyantraniliprole in vegetables, fruits and soils by LC-MS/MS[J]. *Fujian Analysis & Testing*, 2019, 28(2):1-4.
- [32] 钱卓真, 梁焱, 王丽娟, 等. 分散固相萃取-高效液相色谱串联质谱法同时测定沉积物中氟喹诺酮类药物残留[J]. *渔业研究*, 2018, 40(4):286-294.
QIAN Zhuozhen, LIANG Yan, WANG Lijuan, et al. Simultaneous determination of fluoroquinolones residues in sediment by dispersive solid-phase extraction combined with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Fisheries Research*, 2018, 40(4):286-294.
- [33] DORIVAL-GARC? A N, LABAJO-RECIO C, ZAFRA-G? MEZ A, et al. Improved sample treatment for the determination of 17 strong sorbed quinolone antibiotics from compost by ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Talanta*, 2015, 138:247-257.
- [34] 李晶, 董超, 左巍, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时检测土壤-小青菜系统中丁虫脒及其代谢物残留[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(15):273-280.
LI Jing, DONG Chao, ZUO Wei, et al. The simultaneous determination of flufiprole and its metabolites in soil-pakchoi system by QuEChERS-UPLC-MS/MS[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(15):273-280.
- [35] 王可, 曹倩玉, 赵灵芝, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿谷物食品中11种苯氧羧酸类除草剂[J]. *分析测试学报*, 2018, 37(11):1349-1353.
WANG Ke, CAO Qianyu, ZHAO Lingzhi, et al. Determination of 11 phenoxy acid herbicides in infant cereal food by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2018, 37(11):1349-1353.