

# 蜂蜜中链霉素和双氢链霉素的测定 (Copure® HLB)

BJS 202103 蜂蜜中链霉素和双氢链霉素的测定 液相色谱 - 串联质谱法

链霉素和双氢链霉素属于氨基糖苷类抗生素，对革兰氏阴性菌具有抑菌活性，可以预防多种动物疾病。在养蜂行业中，链霉素和双氢链霉素能够有效地治疗蜜蜂的腐蛆病，但由于管理和使用的不科学，常造成蜂产品中该类物质的残留。本实验参考国标 BJS 202103, 对样品前处理进行优化后，建立了一个稳定可靠，回收率高，且适合动物源性蜂蜜中链霉素和双氢链霉素残留量测定的 SPE-UPLC-MS/MS 方法。

## 一、样品提取

准确称取 5 g 试样于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 提取液（含 2 % 三氯乙酸的磷酸盐缓冲溶液），涡旋混匀 1 min，超声提取 10 min，再加入 10 mL 提取液并定容至 25 mL，涡旋混匀 1 min 后超声提取 5 min，在 10000 r/min 离心 5 min，待净化。

## 二、样品净化 (Copure® HLB, 60 mg/3mL)

活化：依次用 3 mL 甲醇，3 mL 水活化 Copure® HLB 固相萃取小柱；

上样：取 5 mL 待净化液至已活化好的固相萃取小柱；

淋洗：用 2 mL 水淋洗固相萃取小柱两次，抽干小柱；

洗脱：用 1 mL 甲酸-乙腈-水 (2:10:88, v:v:v) 溶液洗脱，收集洗脱液，用 2 % 氯化乙腈 1 mL 定容至 2 mL，涡旋，过滤膜，上机测试。

## 三、标曲配制

选同类型空白样品，依次加入适量混合标准中间溶液，按照样品提取和净化的步骤进行操作，配制上机浓度分别为 2.5 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL 的标准曲线。

## 四、仪器条件 (Thermo Fisher TSQ Endura)

液相部分：

色谱柱：Hilic (2.1 mm × 100 mm, 2.7 μm)

流动相：A: 5 mmol/L 乙酸铵溶液 (含 0.3 % 甲酸)

B: 乙腈 (含 0.3 % 甲酸)

流速：0.3 mL/min

柱温：35°C

进样量：10 μL

洗脱程序：梯度洗脱表 1

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0.0	10	90
0.5	10	90
2.5	90	10
4.0	90	10
4.1	10	90
5.0	10	90

质谱条件：

离子源：HESI

电喷雾电压：3500 V

鞘气压力：40 arb 辅气压力：10 arb

离子传输管：350 °C

辅气温度：375 °C

表 2 组分名称、保留时间及特征离子一览表 (\* 为定量离子)

名称	母离子	子离子
链霉素	582.2	246.2, 263.2*
双氢链霉素	584.2	246.0, 263.0*

## 五、实验结果

### 5.1 测试数据

表 3 加标回收率结果

化合物	5.00 μg/kg		10.0 μg/kg		20.0 μg/kg	
	回收率 %	RSD% (n=3)	回收率 %	RSD% (n=3)	回收率 %	RSD% (n=3)
链霉素	81.6	6.12	86.1	5.25	93.8	4.41
双氢链霉素	83.5	5.94	90.8	5.11	101	3.89

### 5.2 测试色谱图

