

鸡蛋中多西环素残留量的测定（Copure® HLB）

GB 31659.2-2022《食品安全国家标准 禽蛋、奶和奶粉中多西环素残留量的测定 液相色谱—串联质谱法》

一、样品前处理

1.1 样品提取

- 称取 2 g 鸡蛋样品于 50 mL 聚丙烯离心管中，加入 8mL Mcllvaine-Na2EDTA 缓冲溶液，振荡 10min，4℃下 14000r/min 离心 10min，吸取上层清液于另一个 50mL 离心管中；
- 用 8mL Mcllvaine-Na2EDTA 缓冲溶液重复提取 2 次，合并提取液，4℃下 14000r/min 离心 10min，取上清液备用（用滤纸过滤备用）。

二、样品净化 (Copure®HLB, 60mg/3mL)

- 用 3mL 甲醇、3mL 水依次活化 HLB 固相萃取柱；取全部备用液过柱，用 3mL 水、3mL5% 甲醇溶液淋洗，抽干；加 5mL 甲醇洗脱，抽干，收集洗脱液；
- 将收集的洗脱液于 40℃下氮吹至近干（剩几滴），加 20% 乙腈溶液定容至 1mL，涡旋 30s 溶解残渣，过 0.22μm 微孔滤膜，上机。

三、基质匹配标准曲线的制备

- 准确移取系列标准工作液于上述前处理所得的空白洗脱液中，于 40℃下氮吹至近干，加 20% 乙腈溶液定容至 1mL，涡旋 30s 溶解残渣；分别配制浓度为 1.00ng/mL、2.00 ng/mL、5.00 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL 的系列基质匹配标准曲线，过 0.22μm 微孔滤膜，上机。

四、仪器条件

仪器设备：液相色谱 - 串联质谱联用仪（Triple Quad 5500）
色谱柱：ACQUITY UPLC BEH C18 1.7mm 2.1' 50mm Column
流动相：A：0.1% 甲酸水 B：乙腈
流动相梯度：初始 95%A，60%A（0 min~2.50min），10%A（2.50 min~3.00min），10%A（3.00min~4.00min），

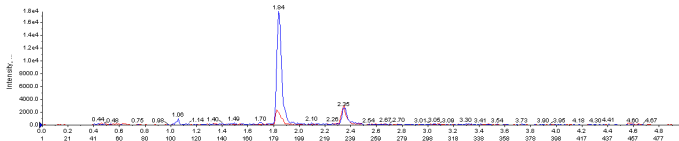


图1 多西环素总离子流图

图2 鸡蛋基质匹配标准溶液特征离子质量色谱图 (2.00ng/mL)

95%A（4.00 min~5.00min）

流速：0.300 mL/min 柱温：35℃ 进样体积：4.0 mL

质谱条件：

检测方式：多反应离子监测（MRM）；

表 1 离子源控制条件

电离方式	ESI+
Curtain Gas(CUR)	40.0 Psi
Collision Gas(CAD)	8Psi
IonSpray Voltage(IS)	5500.0 V
Temperature(TEM)	450℃
Ion Source Gas 1(GS1)	50 Psi
Ion Source Gas 1(GS2)	50 Psi

表 2 待测药物定性离子对、定量离子对、保留时间、去簇电压和碰撞能量参考值

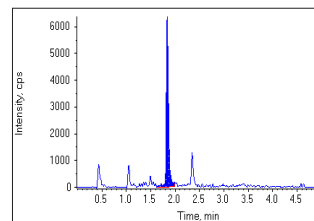
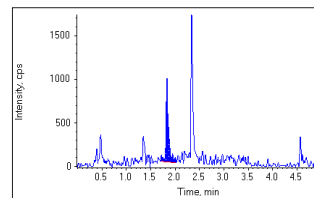
化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	保留时间 (min)	DP (V)	CE (V)
多西环素	445.2	154.0*	1.84	130	40
		321.0			40

注：* 为定量离子。

五、实验结果

表 3 5.00μg/kg 鸡蛋中多西环素加标回收实验结果

检测项目	回收率 (%)			平均回收率 (%)	RSD (%)
	1	2	3		
多西环素	77.6	82.8	82.3	80.9	3.55

多西环素
445.200/154.200 Da多西环素（定性）
445.200/321.000 Da

订购信息

货号	描述	包装
COHLB360	Copure®HLB 固相萃取柱，60mg/3mL	50 支 / 盒
SDC-3000-D	biocomma® 多管涡旋混匀仪	1 台 / 箱
SF130-22-NL	尼龙针式过滤器，直径 13 mm，孔径 0.22 μm，有机系	100 个 / 盒
SC2-1	2 mL 蓝色聚丙烯盖，白色 PTFE/ 红色硅胶垫，9-425	100 个 / 盒
V2-AL	2 mL 螺纹棕色样品瓶，带书写处 11.6*32 mm，9-425	100 个 / 盒