

# 采用三重四极杆液质联用系统测定蜂蜜和蜂王浆中 6 种青霉素类药物的残留

## 作者

薛晓锋  
中国农业科学院蜜蜂研究所  
方正瑞, 吴翠玲, 安娟, 杜伟, 薛彬  
安捷伦科技 (中国) 有限公司

## 前言

青霉素, 又名盘尼西林, 是一种广谱抗生素。长期食用含有过量青霉素的蜂蜜、王浆, 会危害人体健康。青霉素类药物稳定性差, 标准方法多, 采用固相萃取方法对食品基质中的青霉素类药物进行富集和净化, 方法较为繁琐, 操作耗时长。因此, 本研究开发出一种快速检测蜂蜜和蜂王浆中青霉素类药物残留的检测方法。该方法采用 Agilent Bond Elut QuEChERS dSPE EMR-Lipid 除去蜂王浆基质中的脂肪等杂质, 蜂蜜基质利用乙腈直接提取, 并结合高灵敏度 Agilent 6470 三重四极杆液质联用系统, 适用于检测蜂蜜和蜂王浆基质中的青霉素 G、青霉素 V、氨苄西林、苯唑西林、哌拉西林和邻氯青霉素残留。

## 蜂蜜和蜂王浆基质中青霉素类药物分析

标准储备液: 青霉素 G、青霉素 V、氨苄西林、氨苄西林-d5、苯唑西林、哌拉西林和邻氯青霉素标准品用乙腈-水 (1:3, V/V), 配制成 1.0 mg/mL 的单标母液, 于冰箱 -20 °C 保存。

10 µg/mL 混合标准中间液: 分别取单标适量, 加乙腈稀释为浓度为 10 µg/mL 的混合标准中间液, -20 保存, 有效期为 7 天。

1 µg/mL 混合标准工作液: 取适量 10 µg/mL 的混合标准中间液, 加乙腈稀释至 1 µg/mL, 临用现配。

基质标准曲线的配制: 取配制成 1.0 mg/mL 的混合标准工作液, 以经过样品前处理后的样品基质空白为溶剂, 制备浓度分别为 100、50、25、10、5.0 和 1.0 ng/mL 6 个浓度点的基质混标溶液, 进行 LC-MS/MS 检测。

基质加标测试液的制备: 取配制成 1.0 mg/mL 的混合标样母液, 以乙腈-水 (1:3, V/V) 为溶剂, 稀释为 1.0 µg/mL 标准溶液, 分别准确移取适量体积加入蜂蜜和蜂王浆基质中, 使其添加浓度为 5、20 和 200 µg/kg。经图 1 流程所示前处理过程后进样检测。

蜂蜜和蜂王浆基质中青霉素类药物的前处理流程和分析条件, 如图 1-2、表 1-3 所示。

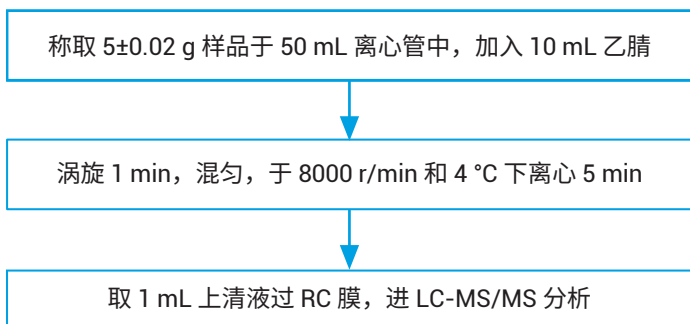


图 1. 蜂蜜中青霉素类药物的前处理流程

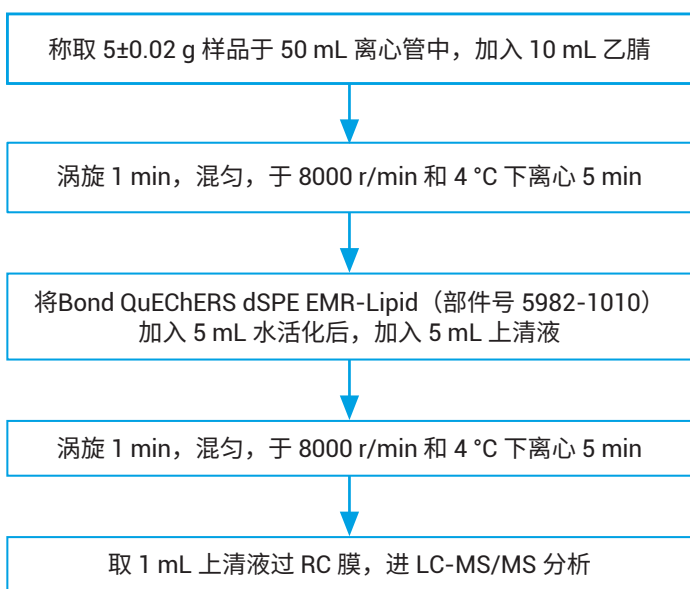


图 2. 蜂王浆中青霉素类药物的前处理流程

表 1. 色谱条件

色谱柱	Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 3.0 × 100 mm, 1.8 μm (部件号 959758-302)
柱温	40 °C
进样量	2 μL
流动相 A	0.1% 甲酸水溶液
流动相 B	乙腈
流速	0.4 mL/min
梯度条件	0–1 min, 2% B; 1–5 min, 2%–90% B; 5–7 min, 90% B; 后运行 2 min

表 2. 质谱条件

扫描模式	正离子模式
干燥气温度	350 °C
干燥气流速	10 L/min
雾化器压力	45 psi
鞘气温度	350 °C
鞘气流速	10 L/min
毛细管电压	4000 V(+)

表 3. 质谱监测的离子对参数

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞电压 (V)
氨苄西林-d5	355.1	111	110	12
氨苄西林	350.1	106	110	12
氨苄西林	350.1	160	110	6
邻氯青霉素	436.0	160	110	15
邻氯青霉素	436.0	277	110	2
苯唑西林	402.1	243	100	8
苯唑西林	402.1	160	100	11
青霉素 G	335.1	176	90	6
青霉素 G	335.1	160	90	4
青霉素 V	351.1	160	90	4
青霉素 V	351.1	114	90	32
哌拉西林	518.2	160	140	15
哌拉西林	518.2	143	140	25

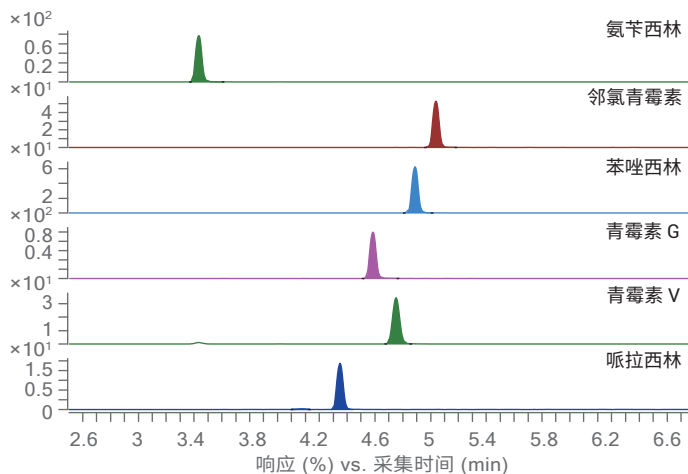


图 3. 6 种青霉素标样 (50 μg/L) 的 MRM 谱图

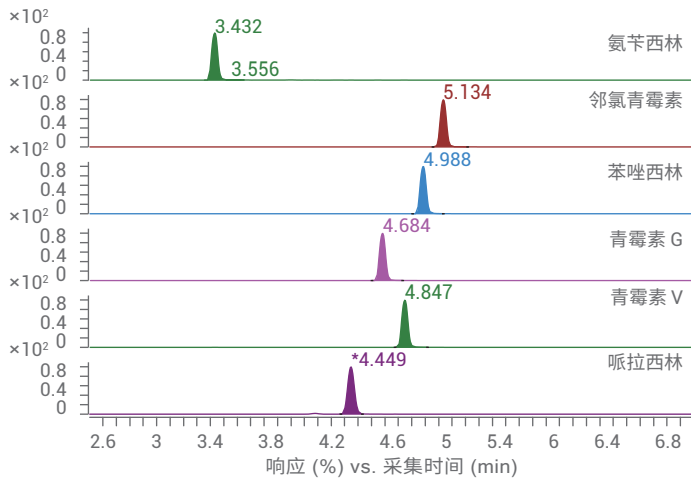


图 4. 蜂蜜基质加标样品 (200 µg/ kg) 的 MRM 谱图

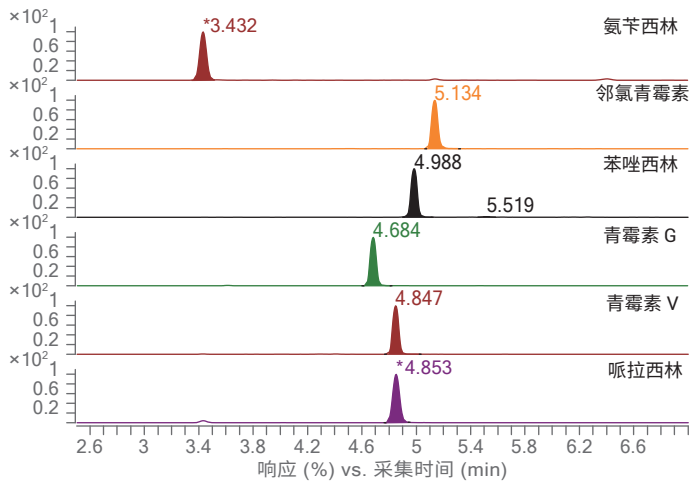


图 5. 蜂王浆基质加标样品 (200 µg/ kg) 的 MRM 谱图

表 4. 6 种青霉素的线性方程 (1-100 ng/mL)

分析物	线性方程	相关系数 R <sup>2</sup>
氨苄西林	Y = 677.0354X - 400.5226	0.994
哌拉西林	Y = 166.9804X - 219.1022	0.997
青霉素G	Y = 283.0328X - 238.5378	0.993
青霉素V	Y = 151.5897X - 150.7411	0.991
苯唑西林	Y = 237.8381X - 195.8661	0.994
邻氯青霉素	Y = 199.2543X - 60.9733	0.996

如图 3-5, 分别为 50 µg/L 青霉素标品和青霉素在蜂蜜与蜂王浆中 200 µg/ kg 加标水平中的响应。如表 4 所示, 6 种青霉素蜂蜜和蜂王浆基质标在 1 ng/mL-100 ng/mL 范围内线性相关良好。从表 5 中可得到, 在王浆和蜂蜜基质中, 三种加标浓度 (5、20 和 200 µg/kg) 下的平均回收率分别为 71.2%-111.9% 和 75.9%-115.1%, RSD 分别不高于 9.2% 和 9.1%; 6 种青霉素药物在蜂蜜和蜂王浆中的定量限均为 5 µg/kg。

表 5. 6 种青霉素在不同基质和添加水平下的回收率

基质	化合物名称	加标浓度 (ng/g)	回收率 (%)	RSD (%)
王浆	氨苄西林	5	111.9	7.9
		20	93.3	5.8
		200	110.4	2.7
	哌拉西林	5	71.2	1.6
		20	78.7	0.9
		200	94.4	5.5
	青霉素 G	5	71.6	4.4
		20	74.6	0.8
		200	81.6	2.9
	青霉素 V	5	85.6	1.7
		20	80.4	1.8
		200	89.2	3.2
苯唑西林	5	96.5	0.8	
	20	89.1	4.2	
	200	91.9	4.8	
邻氯青霉素	5	78	9.2	
	20	77.3	1.8	
	200	97.3	7.1	
蜂蜜	氨苄西林	5	106.1	9.1
		20	88.8	7.4
		200	115.1	4.8
	哌拉西林	5	88.1	8.8
		20	102.1	5.6
		200	109.7	4.2
	青霉素 G	5	86	2.1
		20	94.5	3.3
		200	101.2	1.6
	青霉素 V	5	75.9	2.7
		20	91	7.4
		200	98.1	3.9
苯唑西林	5	83.2	4.9	
	20	94.7	3.2	
	200	98.5	2.5	
邻氯青霉素	5	84.9	5.1	
	20	93.3	3.3	
	200	98.9	1.9	

本文采用 Agilent Bond QuEChERS dSPE EMR-Lipid 除去蜂王浆基质中的脂肪等杂质，蜂蜜基质利用乙腈直接提取，使用 Zorbax Eclipse Plus C18 色谱柱并结合 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱/6470 三重四极杆液质联用系统，采用正离子扫描模式获得了较高的灵敏度。通过方法学验证数据得到，以上 2 种方法分别适用于蜂王浆和蜂蜜基质中青霉素类药物（如青霉素 G、青霉素 V、氨苄西林、苯唑西林、哌拉西林和邻氯青霉素）的残留分析。

## 消耗品订购信息：

消耗品	部件号
Agilent Bond QuEChERS dSPE EMR-Lipid	5982-1010
Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 3.0 × 100 mm, 1.8 μm	959758-302
Agilent Captiva 过滤膜, RC, 0.2 μm	5190-5281

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2020  
2020年12月16日，中国出版  
5994-2917ZH-CN

