

# 超高效液相色谱串联质谱联用法测定猪肉中磺胺类药物

LCMSMS-007

**摘要：** 本文采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用的方法测定猪肉中 9 种磺胺类药物：磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲氧吡嗪、磺胺甲恶唑、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺异恶唑、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺喹恶啉。9 种磺胺类药物在 0.5~1000 ng/mL 浓度范围内线性良好，标准曲线的相关系数为 0.999 以上；对 5 ng/mL、50 ng/mL 和 500 ng/mL 的标准溶液进行精密度试验，连续测定 6 次，保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.19 % 和 2.46 % 以下，系统精密度良好；灵敏度高，本方法定量限达到 0.04~0.31 μg/kg，满足农业部 1025 号公告 -23-2008 中 0.5 μg/kg 测定低限的要求。

**关键词：** 磺胺类药物超高效液相色谱 三重四极杆质谱

磺胺类药物 ( sulfa drug ) 是一类人工合成的抗菌药。因磺胺类药物抗菌谱广、使用方便、价格低廉，为了提高养殖产量，在饲料添加和动物生长中被广泛使用。磺胺类药物本身服用过量会导致胃肠刺激、肾损伤、过敏、抗药性等副作用，而磺胺类药物残留可使对这类药物过敏的食用者发生过敏反应，这类药物在体内长期蓄积也会引发过敏反应，甚至引发癌症。国际食品法典委员会 ( CAC ) 与欧美等大多数国家对食品业饲料中磺胺类药物残留都有限量标准，我国农业部第 235 号公告《动物性食品中兽药最高残留量》中规定，磺胺类药物在各靶组织中的最大允许残留总量为 100 μg/kg。兽药残留的监控是保证食品安全的重要措施，也是保障人民身体健康的重要手段。

康的重要手段。

本文参考农业部 1025 号公告 -23-2008 《动物源食品中磺胺类药物残留量检测液相 - 串联质谱法》中的样品提取纯化过程和分析方法，采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用的方法测定猪肉中 9 种磺胺类药物：磺胺嘧啶 ( SD )、磺胺甲基嘧啶 ( SM1 )、磺胺二甲嘧啶 ( SM2 )、磺胺甲氧吡嗪 ( SMP )、磺胺甲恶唑 ( SMZ )、磺胺间甲氧嘧啶 ( SMM )、磺胺异恶唑 ( SIZ )、磺胺间二甲氧嘧啶 ( SDM )、磺胺喹恶啉 ( SQX )。本测定方法分析速度快、系统精密良好、灵敏度高。

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用系统。具体配置为：LC-30AD×2 ( 输液泵 )，DGU-20A<sub>5</sub> ( 在线脱气机 )，SIL-30AC ( 自动进样器 )，CTO-30AC ( 柱温箱 )，CBM-20A ( 系统控制器 )，LCMS-8030 ( 三重四极杆质谱仪 )，LabSolution Ver. 5.41 ( 色谱工作站 )。

### 1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III 2.0 mm I.D.× 50 mm L., 1.6 μm

流动相：A 相 -5 mM 醋酸铵 -0.1 % 甲酸水溶液  
B 相 - 乙腈

流速：0.4 mL/min

表 1 梯度洗脱时间程序

Time	Module	Action	Value(%)
0.01	Pumps	B.Conc	20
3.50	Pumps	B.Conc	30
4.00	Pumps	B.Conc	30
4.01	Pumps	B.Conc	55
4.50	Pumps	B.Conc	55
4.51	Pumps	B.Conc	20
5.00	Controller	Stop	

柱温：40℃

进样量：10 μL

洗脱方式：梯度洗脱，时间程序见表 1

### 质谱条件

离子化模式: ESI(+)  
 离子喷雾电压: 4.5 kV  
 雾化气: 氮气 3.0 L/min  
 干燥气: 氮气 15 L/min  
 碰撞气: 氩气  
 DL 温度: 250°C  
 加热模块温度: 400°C  
 扫描模式: 多反应监测 (MRM)  
 驻留时间: 10 ms  
 延迟时间: 3 ms

MRM 参数: 见表 2

### 1.3 标准品溶液及样品制备

#### 标准溶液配制:

准确称量 9 种磺胺类药物标准品, 用乙腈配制 10 µg/mL 的混合标准中间溶液, 用 20% 乙腈水溶液稀释成浓度为 0.5、1、2、5、10、50、100、500 和 1000 ng/mL 的混合标准工作液。

#### 样品前处理方法:

参照农业部 1025 号公告 -23-2008《动物源食品中磺胺类药物残留量检测液相 - 串联质谱法》中的样品提取和净化方法。

表 2 MRM 参数列表

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
SD	215.15	156.05	-10	-15	-19
		108.10*	-10	-425	-22
SM1	265.10	156.00	-14	-20	-18
		172.05*	-14	-15	-20
SM2	279.15	186.05	-30	-20	-19
		156.05*	-30	-20	-22
SMP	281.10	156.05	-30	-20	-18
		108.10*	-30	-30	-23
SMM	281.10	156.05	-15	-20	-19
		108.10*	-15	-25	-22
SMZ	254.15	156.05	-13	-15	-18
		108.10*	-13	-25	-24
SIZ	268.15	156.05	-14	-15	-13
		113.15*	-14	-15	-12
SDM	311.10	156.05	-30	-20	-18
		108.10*	-30	-30	-23
SQX	301.10	156.05	-16	-20	-18
		108.10*	-16	-25	-23

注: \*表示定性离子

## 结果讨论

### 2.1 标准工作液的 MRM 色谱图

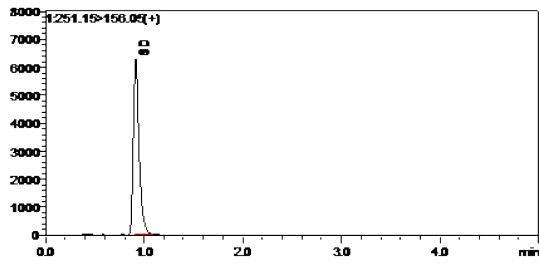


图1 硫胺素的色谱图(215.15>156.05)

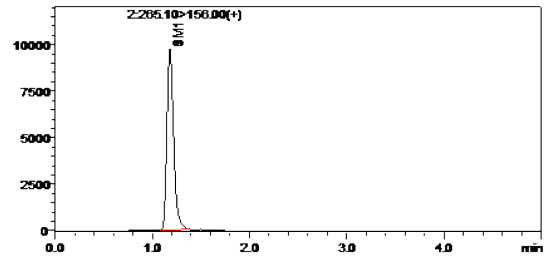


图2 硫胺素甲基的色谱图(265.10>156.00)

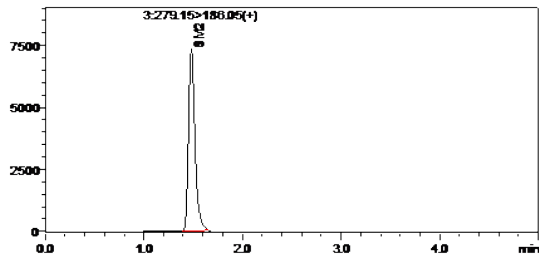


图3 硫胺素二甲的色谱图(279.15>186.05)

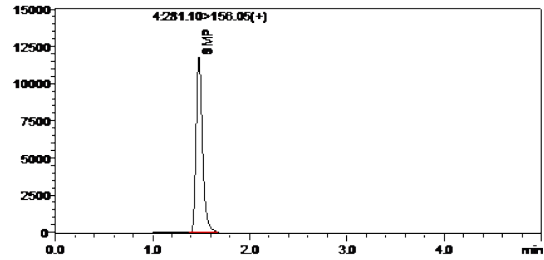


图4 硫胺素甲氧的色谱图(281.10>156.05)

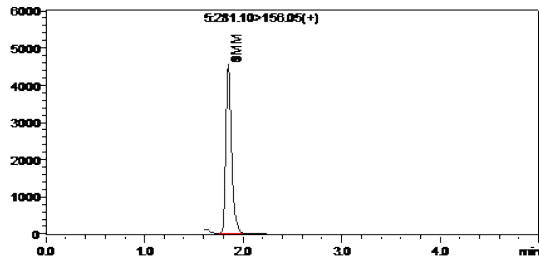


图5 硫胺素甲氧的色谱图(281.10>156.05)

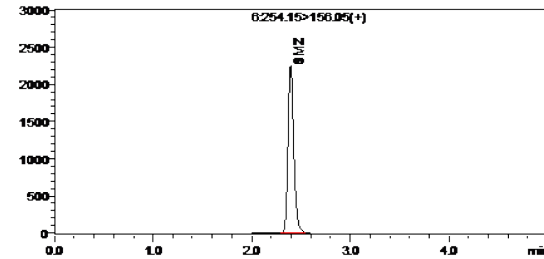


图6 硫胺素噻唑的色谱图(254.15>156.05)

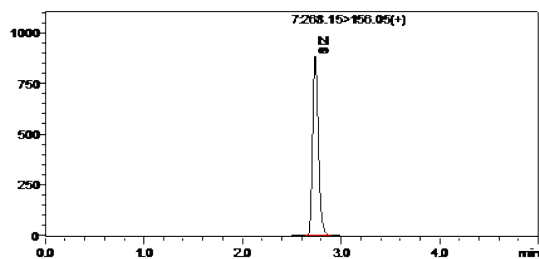


图7 硫胺素噻唑的色谱图(268.15>156.05)

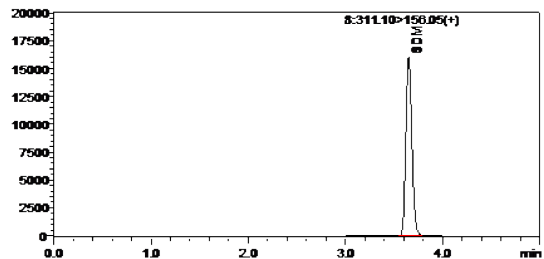


图8 硫胺素二甲氧的色谱图(311.10>156.05)

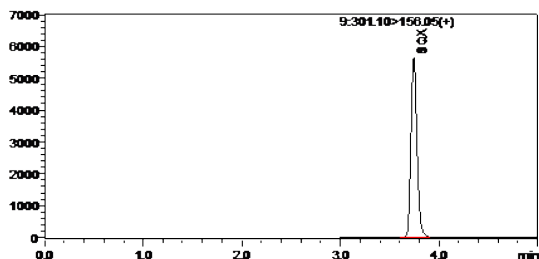


图9 硫胺素噻唑的色谱图(301.10>156.05)

## 2.2 线性关系

将浓度为 0.5、1、5、10、50、100、500 和 1000 ng/mL 的混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线。相关信息见表 3。

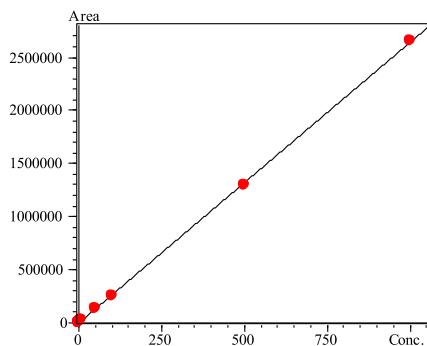


图10 磺胺嘧啶的校准曲线

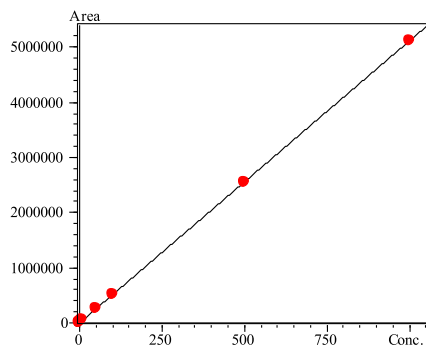


图11 磺胺甲基嘧啶的校准曲线

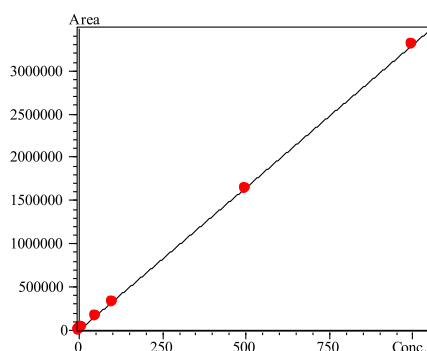


图12 磺胺二甲嘧啶的校准曲线

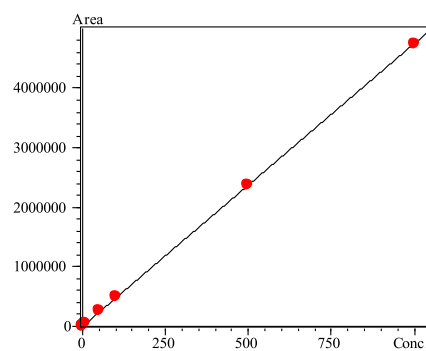


图13 磺胺甲氧哒嗪的校准曲线

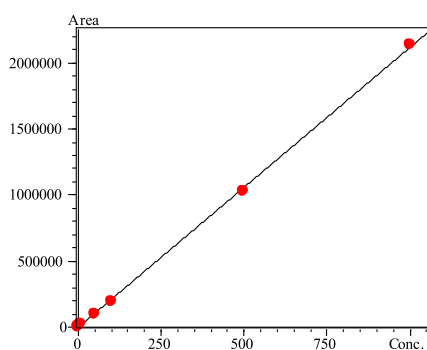


图14 磺胺间甲氧嘧啶的校准曲线

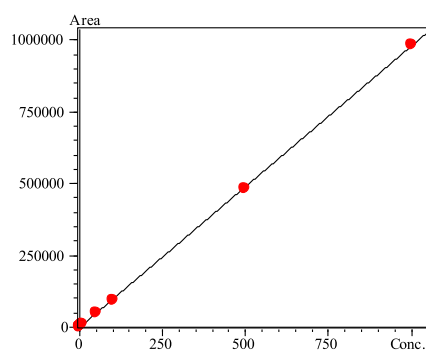


图15 磺胺甲恶唑的校准曲线

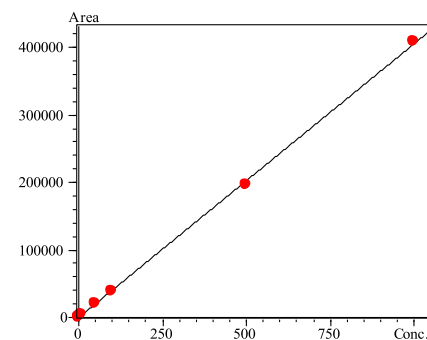


图16 磺胺异恶唑的校准曲线

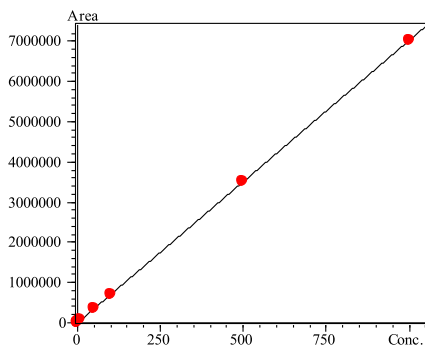


图17 磺胺间二甲氧嘧啶的校准曲线

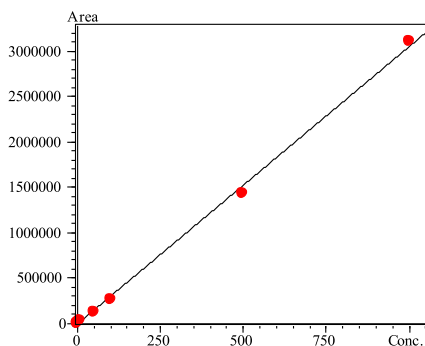


图18 磺胺喹恶啉的校准曲线

表3 9种磺胺类药物的校准曲线信息

名称	校准曲线	相关系数 r
磺胺嘧啶	Y= 5118.114 X	0.9999
磺胺甲基嘧啶	Y= 5118.114 X	0.9999
磺胺二甲嘧啶	Y= 3302.206 X	0.9999
磺胺甲氧哒嗪	Y= 4750.240 X	0.9999
磺胺间甲氧嘧啶	Y= 2117.916 X	0.9996
磺胺甲恶唑	Y= 979.5841 X	0.9999
磺胺异恶唑	Y= 405.7352 X	0.9998
磺胺间二甲氧嘧啶	Y= 7023.682 X	0.9999
磺胺喹恶啉	Y= 3048.031 X	0.9992

### 2.3 精密度实验

分别对 5 ng/mL、50 ng/mL、500 ng/mL 三个不同浓度的标准工作液连续测定 6 次，考察方法的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示，结果显示，高中低 3 个浓度的标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.03 %~0.19 % 和 0.49 %~2.46 % 之间，系统精密度良好。

表4 磺胺类药物的重复性数据(n=6)

药物名称	Conc. 5 ng/mL		Conc. 50 ng/mL		Conc. 500 ng/mL	
	R.T (RSD%)	Area (RSD%)	R.T (RSD%)	Area (RSD%)	R.T (RSD%)	Area (RSD%)
磺胺嘧啶	0.16	1.72	0.19	0.56	0.05	0.70
磺胺甲基嘧啶	0.07	0.85	0.15	0.95	0.07	0.49
磺胺二甲嘧啶	0.11	1.31	0.11	1.44	0.08	0.84
磺胺甲氧哒嗪	0.04	2.07	0.12	0.79	0.08	0.59
磺胺间甲氧嘧啶	0.03	1.49	0.10	1.00	0.09	0.88
磺胺甲恶唑	0.08	2.24	0.14	0.84	0.07	1.11
磺胺异恶唑	0.05	2.46	0.15	1.56	0.06	1.11
磺胺间二甲氧嘧啶	0.05	1.62	0.11	0.57	0.06	0.70
磺胺喹恶啉	0.07	0.99	0.11	1.31	0.06	0.58

## 2.4 灵敏度实验

为了考察方法的灵敏度，在猪肉空白样品中添加 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的 9 种磺胺类药物，得到色谱图如图 19~ 图 27 所示。从结果得到本方法的测定低限为 0.04~0.31  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，低于国家标准农业部 1025 号公告 -23-2008《动物源食品中磺胺类药物残留量检测液相 - 串联质谱法》中 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  的要求。

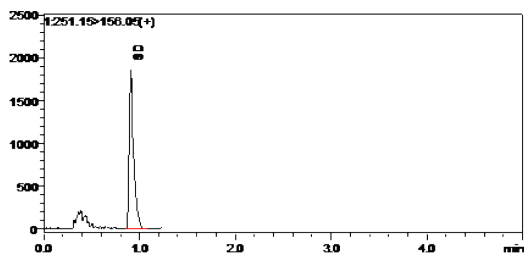


图 19 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  磺胺嘧啶的色谱图  
(215.15>156.05)

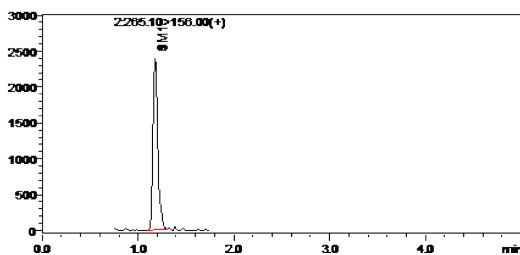


图 20 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  磺胺甲基嘧啶的色谱图  
(265.10>156.00)

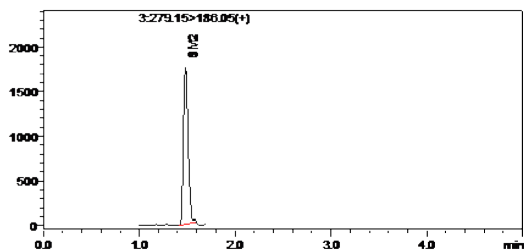


图 21 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  磺胺二甲嘧啶的色谱图  
(279.15>186.05)

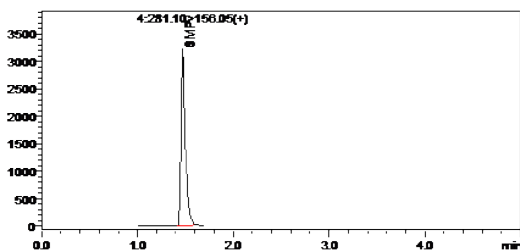


图 22 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  磺胺甲氧吡嗪的色谱图  
(281.10>156.05)

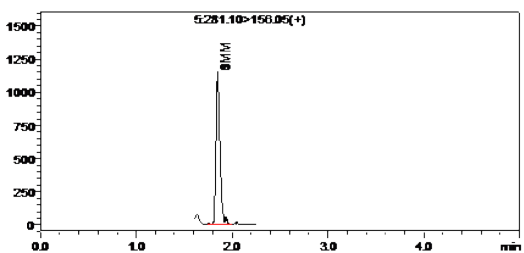


图 23 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  磺胺间甲氧嘧啶的色谱图  
(281.10>156.05)

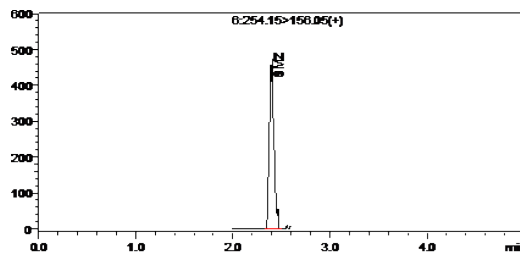


图 24 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  磺胺甲恶唑的色谱图  
(254.15>156.05)

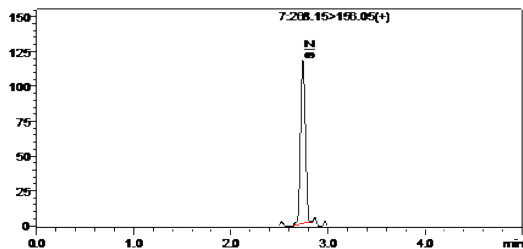


图 25 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  磺胺异恶唑的色谱图  
(268.15>156.05)

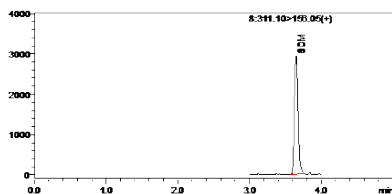


图26 0.5 µg/kg 磺胺间二甲氧嘧啶的色谱图  
(311.10>156.05)

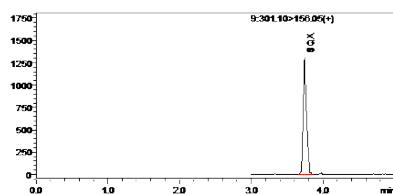


图27 0.5 µg/kg 磺胺噻恶啉的色谱图  
(301.10>156.05)

## ■ 结论

使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用建立了测定猪肉中磺胺类药物的分析方法。本方法分析方法速度快, 精密度高, 线性范围宽 (0.5~1000 ng/mL), 校准曲线的相关系数在 0.999 以上, 灵敏度高。本方法的定量限满足农业部标准 0.5 µg/kg 的要求, 9 种磺胺类药物的定量限达到 0.04~0.31 µg/kg。岛津超高效液相色谱串联质谱联用仪可以满足猪肉中磺胺类药物的检测要求。