

LCMS-8040 测定水产品中磺胺类药物残留

LCMSMS-058

摘要：本文建立了一种使用岛津超快速液相色谱仪 UFLCXR 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定水产品中磺胺类药物残留量的方法。借助超快速液相色谱 UFLCXR 在 5 min 内实现快速分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行定量分析，因此可以快速、准确的测定 12 种磺胺类药物的线性良好，相关系数均大于 0.999；不同浓度的精密实验结果表明：其保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.05 ~ 0.40% 和 1.00 ~ 5.57% 间，仪器精密良好；其仪器检出限为 0.10 ~ 0.24 $\mu\text{g/L}$ ，定量限为 0.41 ~ 0.97 $\mu\text{g/L}$ ；样品加标回收率在 85.7 ~ 116.5% 间，方法的定量限为 0.20 $\mu\text{g/kg}$ 。

关键词：磺胺类药物 水产品 超快速液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

近年来，我国水产养殖业发展迅猛，由于养殖业集约化程度提高，养殖病害日益严峻，各类药物在生产中广泛使用，水产品药物残留问题日益突出。磺胺类是常用的抗菌、抗原药物，这类合成抗菌剂具有导致过敏反应和使人产生抗药性等副作用，世界各国对此有严格的限量要求。因此监测这类抗生素的残留对促进水产品出口和保证动物源性食品安全具有积极的意义。

目前，我国针对磺胺类抗生素药物的残留量测定的标准有很多，如国标 (GB/T 22951-2008)、商检 (SN 0208-93) 以及农业部 (NY 1077-1-2008) 等。这些标准都是使用液相或液相质谱来测定的，本文主要参考《农业部 1077 号公告 -1-2008 水产品中 17 种磺胺类及 15 种喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，使用岛津超快速液相色谱仪 UFLCXR 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用，建立了测定水产品中磺胺类药物残留量的方法，此方法快速、简单、选择性强和灵敏度高，供相关检测人员参考。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超快速液相色谱仪 UFLCXR 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-20AD_{XR} × 2 输液泵，DGU-20A₃ 在线脱气机，SIL-20AC_{XR} 自动进样器，CTO-20A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.53 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：UFLCXR 系统

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS III 2.0 mmI.D. × 50 mmL., 1.6 μm

流动相：A - 5mM 乙酸铵 + 0.1% 甲酸水溶液；
B - 乙腈

流速：0.4 mL/min

进样体积：10 μL

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 15%，
时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.50	Pumps	Pump B Conc.	30
3.50	Pumps	Pump B Conc.	30
3.60	Pumps	Pump B Conc.	55
4.00	Pumps	Pump B Conc.	55
4.01	Pumps	Pump B Conc.	15
5.50	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器：LCMS-8040

离子源：ESI，正离子扫描

离子源接口电压：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

脱溶剂管温度：250 $^{\circ}\text{C}$

加热模块温度：400 $^{\circ}\text{C}$

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：MRM 分组采集，见表 2

表 2 MRM 参数

编号	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	磺胺醋酰	215.1	156.1*	-14	-9	-16
			92.2	-14	-23	-18
2	磺胺嘧啶	251.1	156.0*	-17	-14	-16
			108.1	-17	-23	-20
3	磺胺噻唑	256.1	156.0*	-17	-14	-16
			108.2	-17	-24	-21
4	磺胺吡啶	250.2	156.0*	-17	-15	-16
			92.1	-17	-26	-10
5	磺胺甲基嘧啶	265.1	156.0*	-18	-17	-16
			92.1	-18	-29	-18
6	磺胺二甲嘧啶	279.2	186.1*	-19	-16	-20
			92.1	-19	-30	-18
7	磺胺甲氧哒嗪	280.9	156.1*	-18	-17	-16
			92.1	-18	-30	-18
8	磺胺氯哒嗪	284.9	156.1*	-19	-14	-16
			92.1	-19	-31	-17
9	磺胺甲噁唑	254.2	156.1*	-17	-14	-16
			92.1	-17	-27	-10
10	磺胺二甲基异噁唑	268.0	156.0*	-18	-12	-16
			92.2	-18	-26	-19
11	磺胺间二甲氧嘧啶	311.0	156.1*	-21	-21	-16
			92.1	-21	-31	-18
12	磺胺喹噁啉	301.0	156.0*	-20	-15	-16
			92.1	-20	-31	-19

*表示定量离子

1.3 样品制备

标准物质：共 12 种，分别为磺胺醋酰、磺胺嘧啶、磺胺噻唑、磺胺吡啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺氯哒嗪、磺胺甲噁唑、磺胺二甲基异噁唑、磺胺间二甲氧嘧啶和磺胺喹噁啉。

标准溶液配制：用甲醇配制 1 mg/L 的混合标准中间溶液，用甲醇 + 水溶液 (V/V, 15:85) 稀释成 1 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、50 μg/L、100 μg/L 和 200 μg/L 不同浓度的混合标准工作液。

样品前处理方法：具体参考《农业部 1077 号公告 -1-2008 水产品中 17 种磺胺类及 15 种喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》。

结果与讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

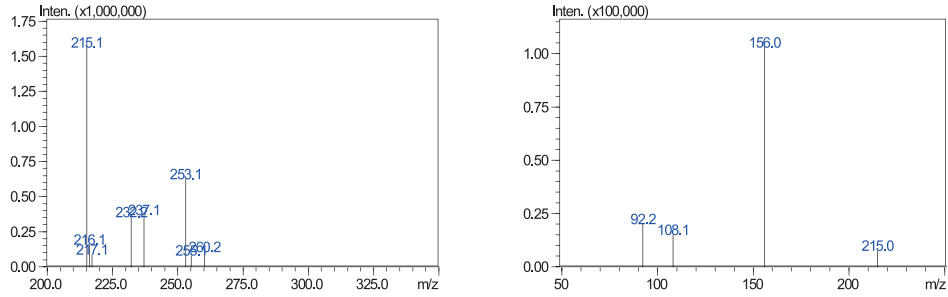


图1 磺胺醋酰的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-12V，右图）

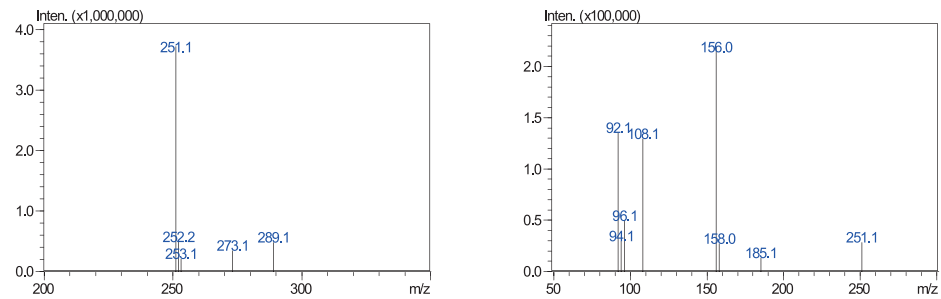


图2 磺胺嘧啶的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-18V，右图）

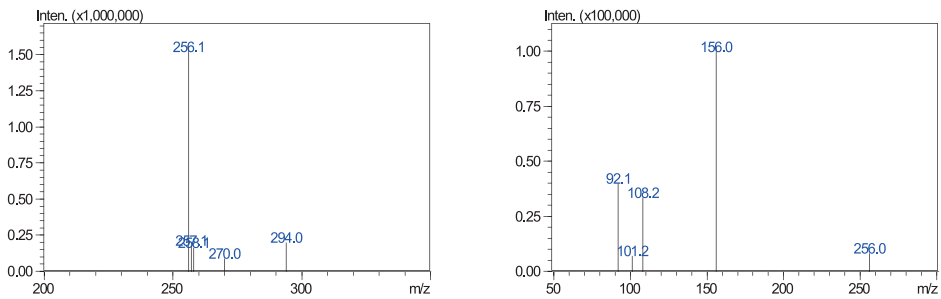


图3 磺胺噻唑的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-17V，右图）

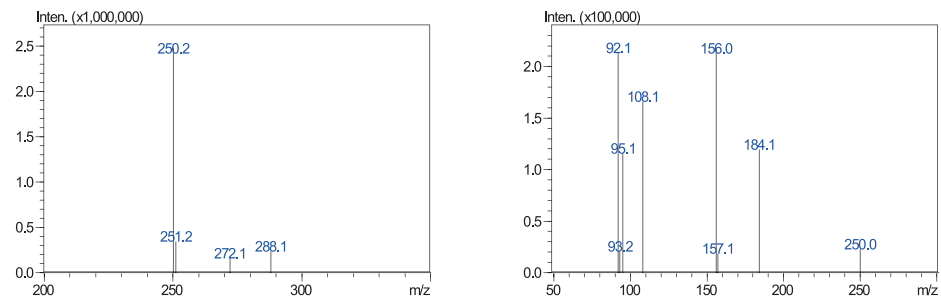


图4 磺胺吡啶的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-21V，右图）

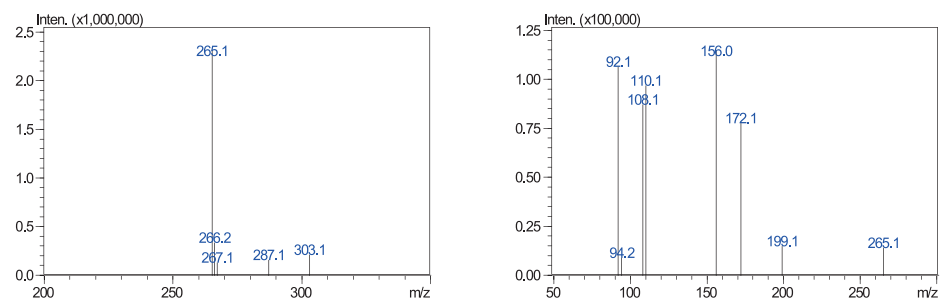


图5 磺胺甲基噁唑的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-20V，右图）

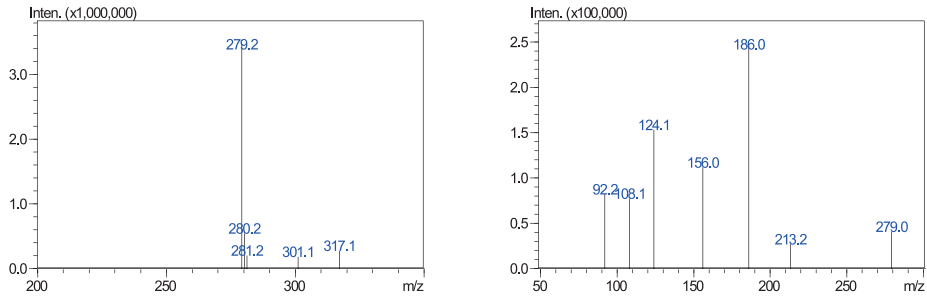


图 6 磺胺二甲嘧啶的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-20V，右图）

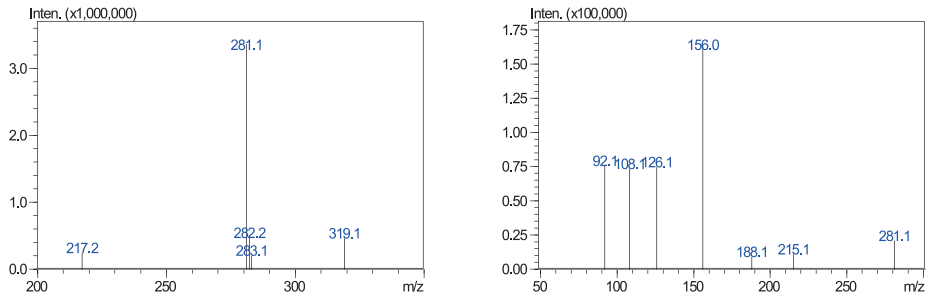


图 7 磺胺甲氧吡嗪的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-20V，右图）

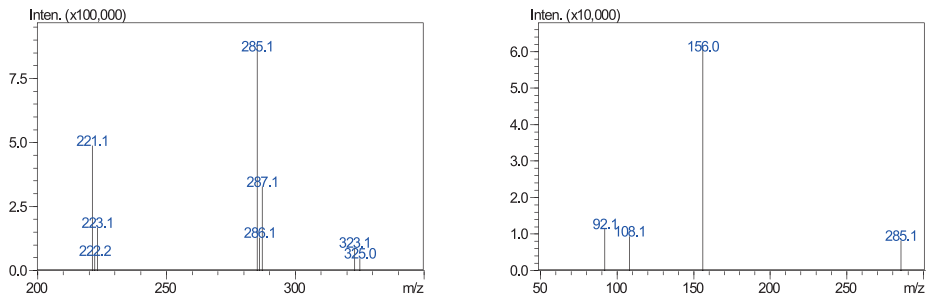


图 8 磺胺氯吡嗪的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-16V，右图）

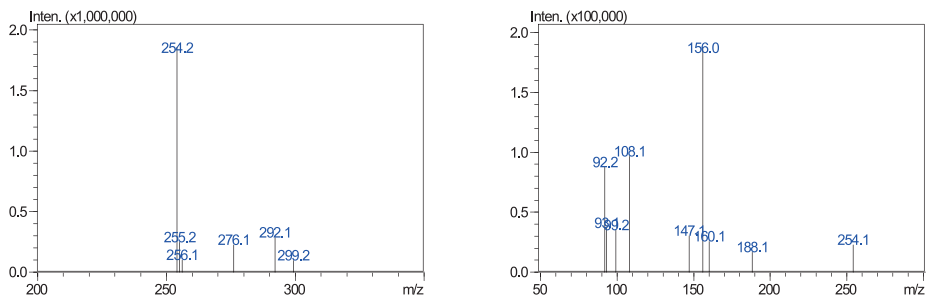


图 9 磺胺甲噁唑的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-18V，右图）

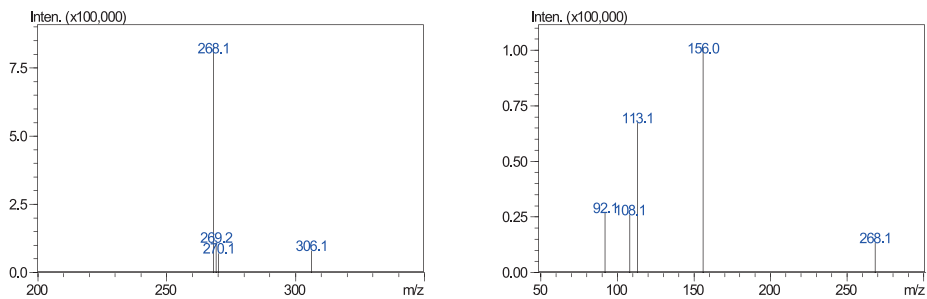


图 10 磺胺二甲基异噁唑的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-16V，右图）

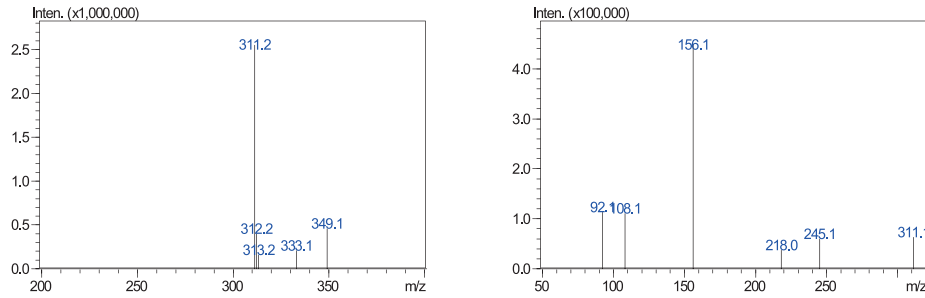


图 11 磺胺间二甲氧嘧啶的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-22V，右图）

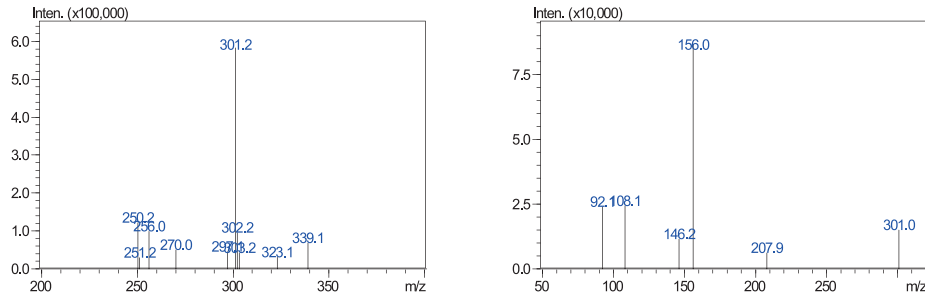


图 12 磺胺嘧啶的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-19V，右图）

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

混合标准样品的 MRM 色谱如图 13 所示。

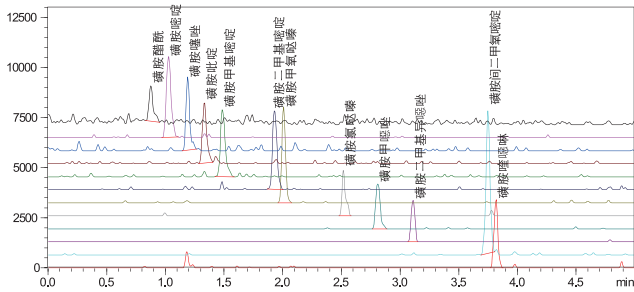


图 13 1 µg/L 混合标准样品的 MRM 色谱图

2.3 线性关系

将浓度为 1, 5, 10, 50, 100 和 200 µg/L 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，外标法制作校准曲线，如图 14~25 所示。在 1~200 µg/L 浓度范围内线性良好。线性方程、线性范围和相关系数见表 3。

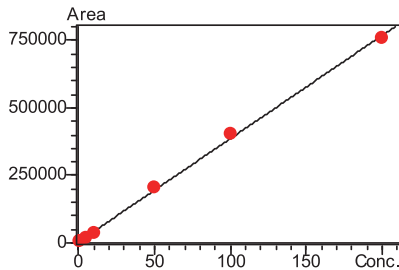


图 14 磺胺醋酰的标准工作曲线

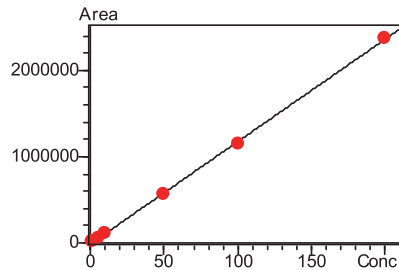


图 15 磺胺嘧啶的标准工作曲线

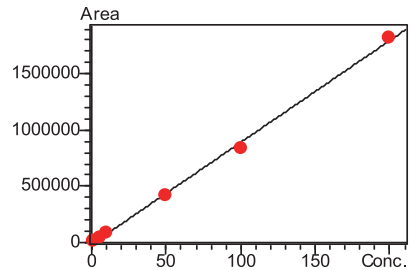


图 16 磺胺噻唑的标准工作曲线

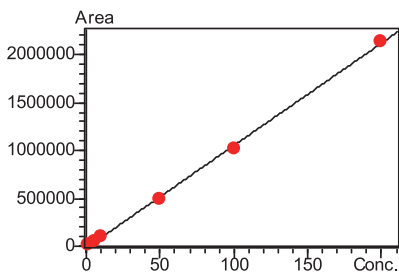


图 17 磺胺吡啶的标准工作曲线

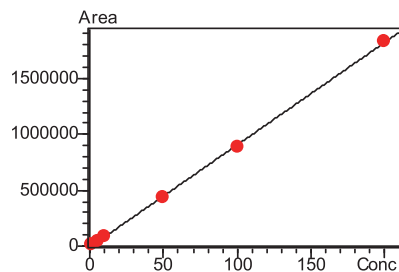


图 18 磺胺甲基吡啶的标准工作曲线

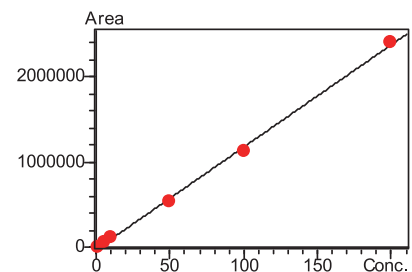


图 19 磺胺二甲基吡啶的标准工作曲线

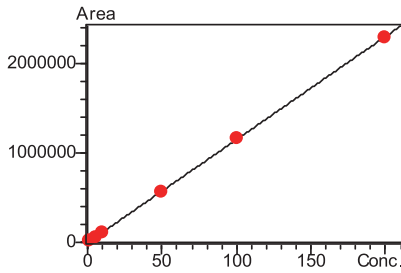


图 20 磺胺甲氧哒嗪的标准工作曲线

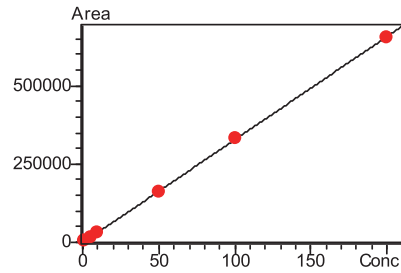


图 21 磺胺氯哒嗪的标准工作曲线

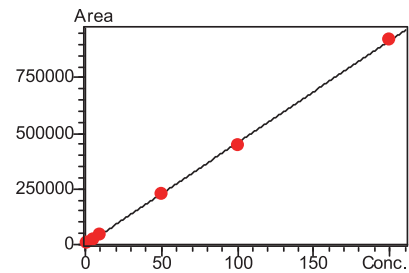


图 22 磺胺甲噁唑的标准工作曲线

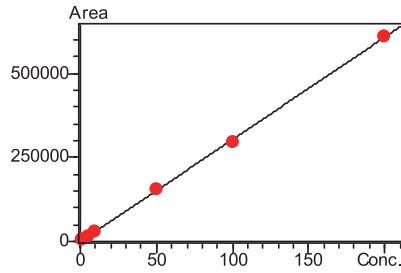


图 23 磺胺二甲基异噁唑的标准工作曲线

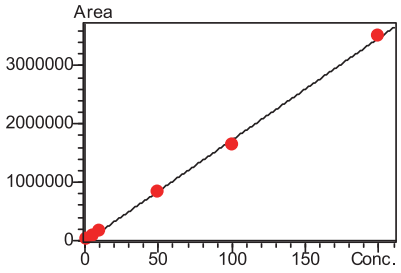


图 24 磺胺间二甲氧嘧啶的标准工作曲线

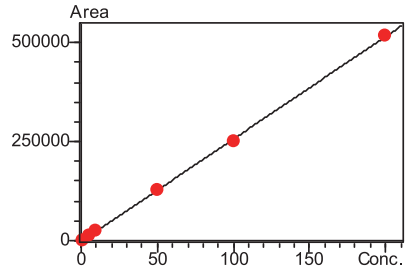


图 25 磺胺喹噁啉的标准工作曲线

表 3 12 种物质的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	相关系数 R
1	磺胺醋酰	$Y = (3826.48)X + (4169.68)$	0.9995
2	磺胺嘧啶	$Y = (11871.8)X + (-11818.8)$	0.9998
3	磺胺噻唑	$Y = (9060.06)X + (-15028.4)$	0.9991
4	磺胺吡啶	$Y = (10690.2)X + (-17268.2)$	0.9996
5	磺胺甲基嘧啶	$Y = (9172.93)X + (-10178.5)$	0.9998
6	磺胺二甲嘧啶	$Y = (12027.5)X + (-27177.9)$	0.9993
7	磺胺甲氧哒嗪	$Y = (11505.3)X + (-2363.67)$	0.9999
8	磺胺氯哒嗪	$Y = (3292.91)X + (-1440.52)$	0.9999
9	磺胺甲噁唑	$Y = (4594.02)X + (-1854.49)$	0.9998
10	磺胺二甲基异噁唑	$Y = (3040.69)X + (-1135.20)$	0.9998
11	磺胺间二甲氧嘧啶	$Y = (17525.0)X + (-25256.2)$	0.9994
12	磺胺喹噁啉	$Y = (2587.97)X + (-2408.19)$	0.9999

2.4 检出限和定量限

配制 1 $\mu\text{g/L}$ 的混合标样 7 份, 进样分析, 对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算其标准偏差 S, 此时检出限 $\text{MDL} = 3.14 \times S$, 定量限 $\text{LOQ} = 4 \times \text{MDL}$ 。测定结果如表 4 所示:

表 4 12 种物质的检出限和定量限 (n=7)

No.	名称	标准偏差(S)	检出限($\mu\text{g/L}$)	定量限($\mu\text{g/L}$)
1	磺胺醋酰	0.07	0.21	0.84
2	磺胺嘧啶	0.03	0.10	0.41
3	磺胺噻唑	0.07	0.21	0.85
4	磺胺吡啶	0.07	0.23	0.94
5	磺胺甲基嘧啶	0.06	0.18	0.70
6	磺胺二甲嘧啶	0.04	0.13	0.51
7	磺胺甲氧哒嗪	0.04	0.13	0.52

8	磺胺氯哒嗪	0.07	0.20	0.82
9	磺胺甲噁唑	0.06	0.20	0.81
10	磺胺二甲基异噁唑	0.08	0.24	0.95
11	磺胺间二甲氧嘧啶	0.04	0.13	0.50
12	磺胺喹噁啉	0.08	0.24	0.97

2.5 精密度实验

平行配置如表 5 浓度的混合标液各 6 份，依次进样。12 种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05 ~ 0.40% 和 1.00 ~ 5.57% 之间，仪器精密度良好。

表 5 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No.	名称	RSD% (1 µg/L)		RSD% (10 µg/L)		RSD% (100 µg/L)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	磺胺醋酰	0.38	4.71	0.40	4.43	0.17	2.34
2	磺胺嘧啶	0.32	3.26	0.27	3.91	0.22	2.21
3	磺胺噻唑	0.22	5.22	0.21	3.13	0.22	1.82
4	磺胺吡啶	0.38	5.57	0.32	2.85	0.26	1.16
5	磺胺甲基嘧啶	0.13	5.28	0.28	3.86	0.19	1.00
6	磺胺二甲嘧啶	0.06	4.32	0.18	2.40	0.16	2.64
7	磺胺甲氧哒嗪	0.19	5.49	0.21	4.02	0.18	1.69
8	磺胺氯哒嗪	0.24	5.39	0.11	3.47	0.13	2.49
9	磺胺甲噁唑	0.15	5.18	0.08	4.46	0.13	3.33
10	磺胺二甲基异噁唑	0.19	5.25	0.07	4.41	0.12	1.91
11	磺胺间二甲氧嘧啶	0.12	4.85	0.10	2.06	0.05	1.83
12	磺胺喹噁啉	0.29	4.93	0.09	4.00	0.05	2.53

2.6 基质加标实验

在按照 1.3 中样品制备方法，样品中添加混合标样，加标含量如表 6，各平行 4 次。测试结果显示：鱼的样品加标回收率在 85.7 ~ 116.5% 之间；具体结果如表 6。鱼基体空白的色谱图如图 26 所示，鱼加标样品的色谱图如图 27 所示。

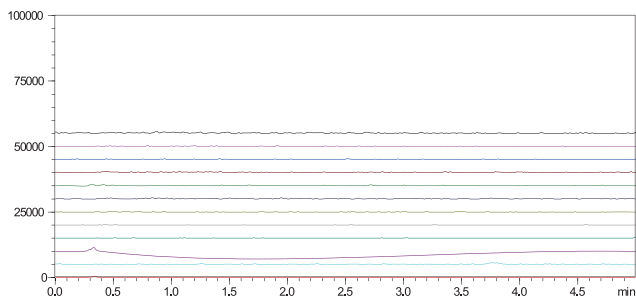


图 26 鱼基体空白色谱图

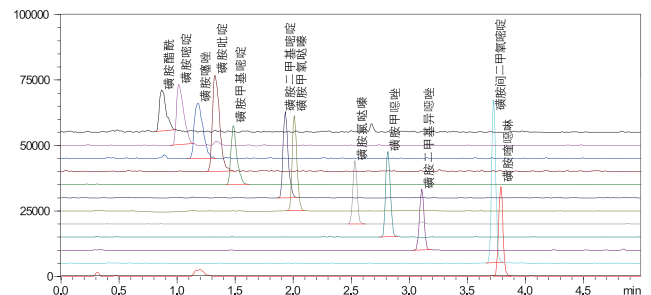


图 27 2 µg/kg 样品基质加标样色谱图

表 6 加标样的回收率结果 (n=4)

No.	样品名称	回收率 (%)		
		0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$	2 $\mu\text{g}/\text{kg}$	20 $\mu\text{g}/\text{kg}$
1	磺胺醋酰	110.4	88.6	91.2
2	磺胺嘧啶	97.9	96.4	89.6
3	磺胺噻唑	91.2	91.1	90.0
4	磺胺吡啶	107.7	106.3	101.6
5	磺胺甲基嘧啶	85.7	94.0	88.8
6	磺胺二甲嘧啶	116.3	97.2	87.4
7	磺胺甲氧哒嗪	106.5	91.9	90.5
8	磺胺氯哒嗪	98.7	95.3	91.3
9	磺胺甲噁唑	89.7	103.1	104.8
10	磺胺二甲基异噁唑	98.3	102.2	106.8
11	磺胺间二甲氧嘧啶	93.6	94.1	93.5
12	磺胺喹噁啉	113.9	93.9	95.0

结论

使用岛津超快速液相色谱仪 UFLCXR 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定水产品中磺胺类药物残留量。12 种磺胺类药物的线性良好, 相关系数均大于 0.999; 其仪器检出限为 0.10 ~ 0.24 $\mu\text{g}/\text{L}$, 定量限为 0.41 ~ 0.97 $\mu\text{g}/\text{L}$; 对浓度为 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以及 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 三种浓度的 12 种磺胺类药物进行基质加标, 其回收率在 85.7 ~ 116.5% 之间; 此法的定量限为 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 低于《农业部 1077 号公告 -1-2008 水产品中 17 种磺胺类及 15 种喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》规定的检出限 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、定量限 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的要求。

此方法快速、简单、选择性强和灵敏度高, 可作为测定水产品中磺胺类药物残留量的有效检测方法。