

# 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定猪可食性食品中阿维拉霉素残留量

## LCMSMS-156

**摘要：**本文建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定猪可食性食品中阿维拉霉素残留量的方法。试样中残留的阿维拉霉素经丙酮提取，氢氧化钠溶液水解为 3,5-二氯-4-羟基-2-甲氧基-6-甲基-苯甲酸 (DIA)，再用乙酸乙酯提取，氧化铝固相萃取柱净化，以 3,6-二氯-2-甲氧基苯甲酸为内标物，超高效液相色谱三重四极杆质谱仪进行测定，内标法定量。标准样品在 0.5~100  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性关系良好；对 5  $\mu\text{g/L}$  标准溶液连续 6 次进样，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.72 % 和 1.81 %。猪肉样品中 DIA 加标浓度为 2.5  $\mu\text{g/kg}$  时，回收率为 87.3 %。

**关键词：**阿维拉霉素 DIA 超高效液相色谱仪三重四极杆质谱仪

阿维拉霉素 (Avilamycin) 又名卑霉素，商品名为效美素，作为一种饲用抗生素，常用于禽饲料药物添加剂，可促进动物生长，显著提高动物平均日增重。虽然阿维拉霉素没有明显的残留和对人体健康的影响，但是滥用抗生素可能使人类致病菌产生抗药性。

自 2006 年 1 月 1 日起，欧盟公布禁用畜禽抗生素阿维拉霉素。且从欧盟以外国家进口的畜禽和水生物食

品中将不允许含有阿维拉霉素残留。因此，对动物性食品中残留的阿维拉霉素进行检测，将会受到越来越多的关注。

本文建立了 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定猪可食性食品中阿维拉霉素残留量的方法。供相关检测人员参考。

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD $\times$ 2 输液泵，DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 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。

### 1.1 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统

色谱柱：Inertsil HILIC HP(2.1 mmI.D. $\times$ 75mmL., 3  $\mu\text{m}$ )

流动相：20 mmol/L 乙酸铵；乙腈 =10:90 (V/V)；

流速：0.2 mL/min

进样体积：10  $\mu\text{L}$

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式：等度洗脱

质谱条件

分析仪器：LCMS-8040

离子源：ESI，负离子扫描

离子源接口电压：-3.5kV

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：300 $^{\circ}\text{C}$

扫描模式：多反应监测 (MRM)

驻留时间：100 ms

MRM 参数：见表 1

表 1 MRM 参数

编号	中文名称	英文名称	缩写	CAS No.	前体离子	产物离子	Bais(V)	CE (V)	Q3 Pre Bais(V)
1	3,5-二氯-4-羟基-2-甲氧基-6-甲基苯甲酸	Dichloro-isoevernic acid	DIA	/	248.90	204.95*	17.0	9.0	19.0
						189.95	17.0	19.0	17.0
2	3,6-二氯-2-甲氧基苯甲酸	Dicamba	/	1918-00-9	218.95	174.95	15.0	7.0	30.0

\*表示定量离子

### 1.3 样品前处理方法

参见国标《GB 29686-2013 猪可食性组织中阿维拉霉素残留量的测定液相色谱-串联质谱法》

## 结果讨论

### 2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

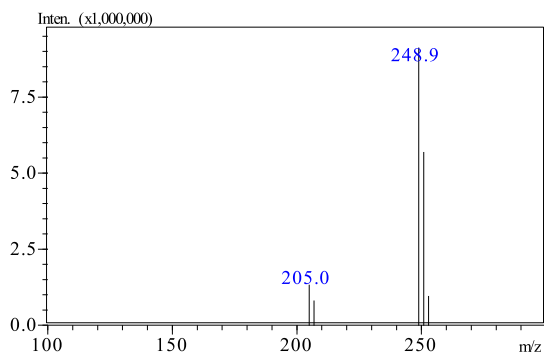


图 1 DIA 的一级质谱图

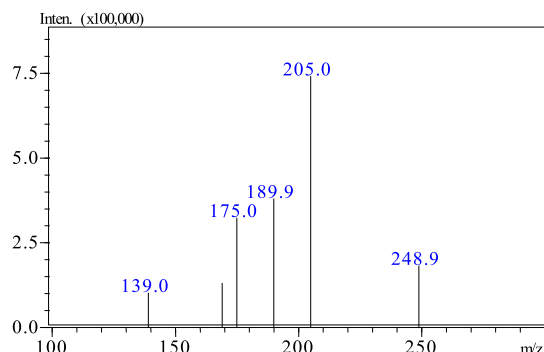


图 2 DIA 的产物离子扫描质谱图(CE: 14V)

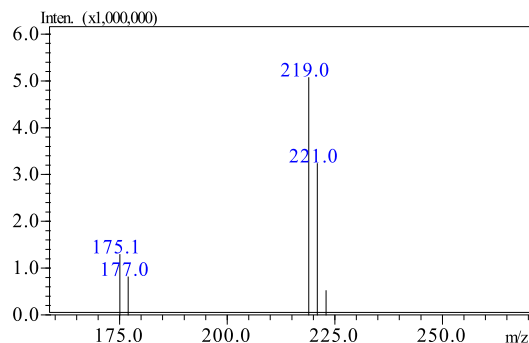


图 3 Dicamba 的一级质谱图

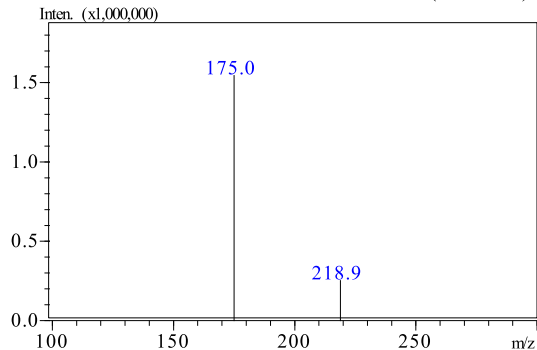


图 4 Dicamba 的产物离子扫描质谱图(CE: 7V)

### 2.2 标准样品的 MRM 色谱图

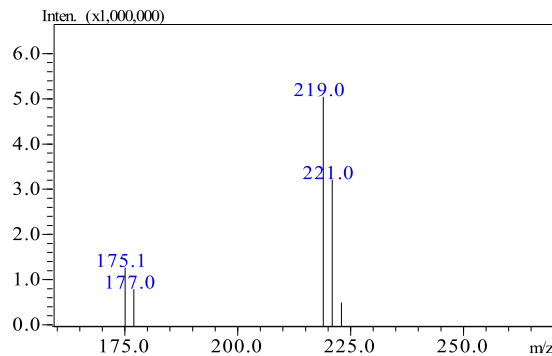


图 3 Dicamba 的一级质谱图

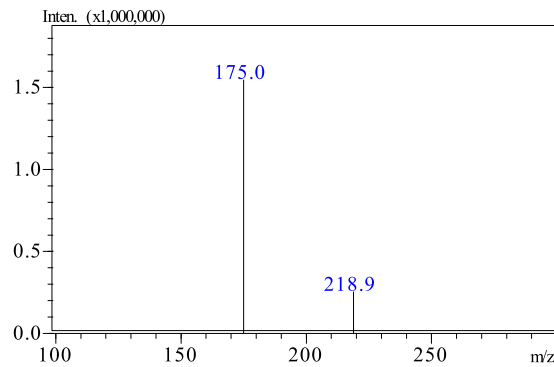


图 4 Dicamba 的产物离子扫描质谱图(CE: 7V)

### 2.3 线性关系

配制 7 个不同浓度的标准溶液，DIA 的浓度分别为 0.5, 1, 2.5, 5, 25, 50 和 100  $\mu\text{g/L}$ ，Dicamba 浓度为 20  $\mu\text{g/L}$ ，以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标制作内标法标准曲线。具体见图 7。DIA 在检测浓度范围内线性关系良好。线性方程、相关系数及由软件计算得到的检出限和定量限见表 2。

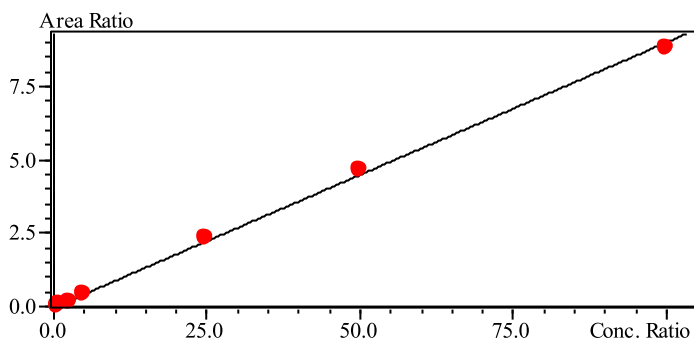


图 7 DIA 的标准工作曲线

表 2 校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	相关系数	检出限( $\mu\text{g/L}$ )	定量限 ( $\mu\text{g/L}$ )
1	DIA	$Y = (0.09)X + (-0.02)$	0.9992	0.01	0.03

### 2.4 精密度实验

对标准溶液 (DIA 5  $\mu\text{g/L}$ , Dicamba 20  $\mu\text{g/L}$ ) 连续 6 次进样，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.72 % 和 1.81 %，仪器精密度良好。

表 3 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

ID	Ret. Time (min)	Area
1	1.311	151661
2	1.328	154249
3	1.309	149077
4	1.324	154582
5	1.307	157037
6	1.327	151979
RSD%	0.72	1.81

### 2.5 回收率实验

将所建立的分析方法用于实际样品分析，检测猪肉样品，未检测到 DIA。猪肉样品的 MRM 色谱图见图 8、图 9。猪肉样品按 1.3 中的方法提取后，收集提取液，加入一定量的 DIA 和 Dicamba 标准溶液，使得 DIA 和 Dicamba 添加量分别是 2.5  $\mu\text{g/kg}$ 、10  $\mu\text{g/kg}$ 。按 1.3 中的方法净化，用 1mL 流动相溶解残余物，测定加标回收率。加标样品 MRM 色谱图如图 10、图 11 所示，加标回收率为 87.3 %。

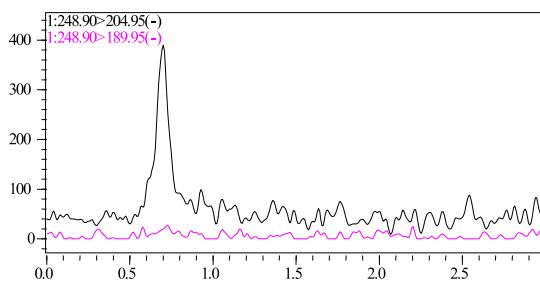


图8 猪肉样品的 DIA MRM 色谱图

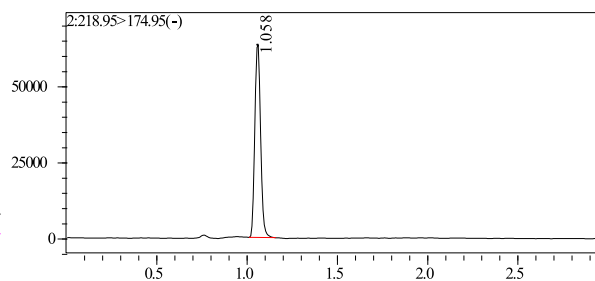


图9 猪肉样品中 Dicamba MRM 色谱图(10 µg/kg)

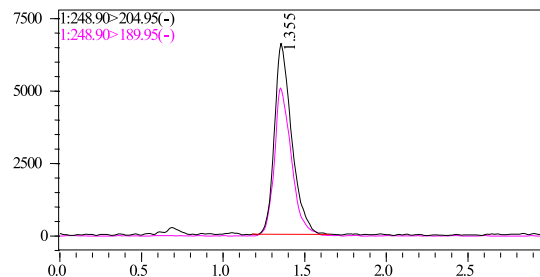


图10 猪肉加标样品的 DIA MRM 色谱图(2.5 µg/kg)

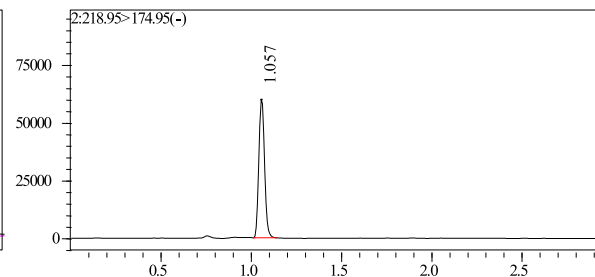


图11 猪肉加标样品中 Dicamba MRM 色谱图(10 µg/kg)

## 结论

建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定猪肉中阿维拉霉素残留量的方法。标准样品在 0.5~100 µg/L 浓度范围内线性关系良好；对 5 µg/L 标准溶液连续 6 次进样，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.72 % 和 1.81 %。猪肉样品 DIA 加标浓度为 2.5 µg/kg 时，回收率为 87.3 %，可满足猪可食性食品中阿维拉霉素残留量的检测。