

LCMS-8045 测定食醋中阿维菌素类药物残留

LCMSMS-252

摘要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定食醋中阿维菌素类药物残留的方法。该方法在 6 min 内完成，以外标法定量，校准曲线线性良好，线性相关系数均在 0.997 以上。对低、中、高不同浓度的样品平行测试 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02~0.09% 和 0.66~4.57% 之间，仪器精密度良好。4 种阿维菌素类药物的检出限和定量限分别在 0.22~0.25 ng/mL 和 0.75~0.83 ng/mL 之间。

关键词：阿维菌素 食醋 超高效液相色谱 三重四极杆质谱

阿维菌素类药物主要品种有阿维菌素、埃普利诺菌素、多拉菌素、伊维菌素等。这类药物具有优异的驱虫性，是目前应用最广泛的抗寄生虫药物。虽然阿维菌素类药物属于微生物源农药，但对大鼠的 LD50 为 10 mg/kg，与硫磷农药相仿，故世界卫生组织将其列为高毒化合物。阿维菌素类药物目前主要的检测方法有液相色谱-紫外检测法、液相色谱-荧光法、酶联免疫吸附法(ELISA) 等。

近年来，用高效液相色谱-串联质谱分析检测阿维菌素类药物残留的方法大量被报道，ESI 及 APCI 两种离子源均可用于阿维菌素类药物的 LC-MS/MS 分析，国标《GB/T 21320-2008 动物源食品中阿维菌素类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》采用 ESI 源，对阿维菌素、埃普利诺菌素、多拉菌素、伊维菌素 4 种阿维菌素类药物的检出限要求为 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；中华人民共和国出入境检验检疫行业标准《SN/T 1973-2007 进出口食

品中阿维菌素残留量的检测方法 高效液相色谱-质谱/质谱法》采用 APCI 源，对阿维菌素的检测低限要求为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。当采用 ESI 的正离子扫描模式进行分析时，阿维菌素类药物的母离子更倾向于以 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 离子形式进行检测，但如果萃取基质中钠含量较低或萃取方法导致萃取液中仅含有痕量的钠离子，以 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 离子形式检测常出现线性关系不理想的情况。为此有文献建议采用 APCI 的负离子模式检测母离子 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ，可以获得较好的线性关系。采用 ESI 源用于阿维菌素类药物的 LC-MS/MS 分析，岛津中国已有相关应用报告(报告编号：AP_News_LCMSMS-050) 应对。

本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用，采用 APCI 源，参考 SN/T 1973-2007 和 GB/T 21320-2008 建立了高灵敏度、快速检测食醋中阿维菌素类药物残留量的方法，结果优于上述标准检测要求，可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-8045 联用系统。具体配置为 LC-30AD \times 2 输液泵，DGU-20A₅ 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-8045 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.86 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS(3.0 mm I.D. \times 75 mm L., 2.2 μm)

流动相：A 相 -5 mM NH_4AC 水溶液，B 相 - 甲醇

流速：1.20 mL/min

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

进样量：20 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 75%，时间程序见表 1。

表1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
3.00	Pumps	Pump B Conc.	100
4.40	Pumps	Pump B Conc.	100
4.50	Pumps	Pump B Conc.	75
6.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: APCI(-)

离子源接口电压: -4.5 kV

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 6.0 L/min

碰撞气: 氩气

接口温度: 350°C

DL 温度: 100°C

加热模块温度: 200°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

驻留时间: 40 ms

延迟时间: 3 ms

MRM 参数: 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	阿维菌素	871.35	565.25*	32.0	21.0	18.0
			229.20	46.0	40.0	50.0
2	埃普利诺菌素	912.35	565.35*	20.0	29.0	18.0
			270.20	46.0	42.0	50.0
3	多拉菌素	897.35	591.35*	16.0	28.0	18.0
			229.20	44.0	43.0	46.0
4	伊维菌素	873.35	567.30*	16.0	28.0	10.0
			229.15	44.0	40.0	50.0

*表示定量离子

1.3 标准溶液的配制

用乙腈配制 1 mg/mL 的混合标准储备液, 然后用乙腈逐级稀释成浓度为 1、2、5、10、20、50、100、200、400 ng/mL 的系列标准工作液。

1.4 样品前处理方法

参照行业标准《SN/T 1973-2007 进出口食品中阿维菌素残留量的检测方法 高效液相色谱 – 质谱 / 质谱法》。

■ 结果讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子质谱扫描图

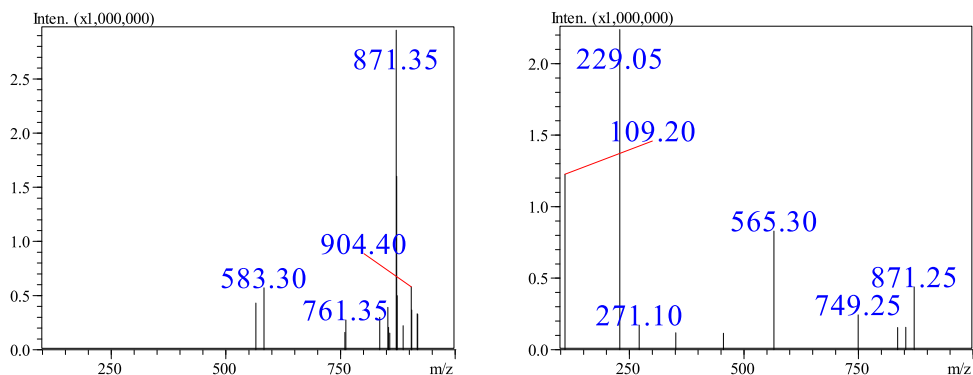


图1 阿维菌素的一级质谱图(左图)和产物离子质谱扫描图(右图, CE值为40V)

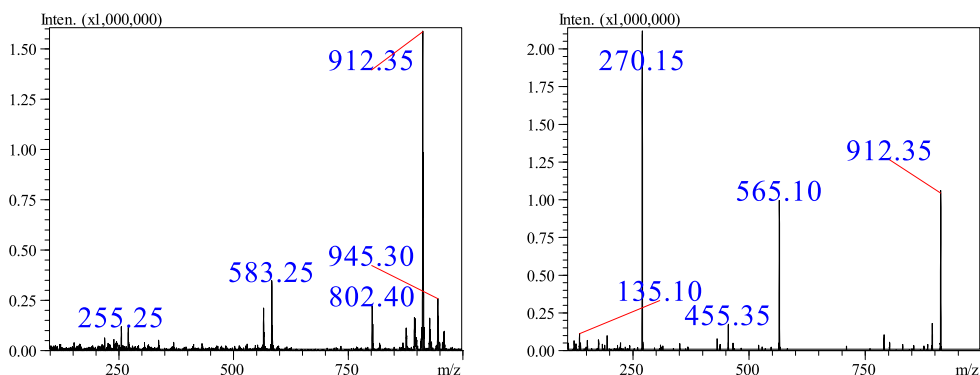


图2 埃普利诺菌素的一级质谱图(左图)和产物离子质谱扫描图(右图, CE值为40V)

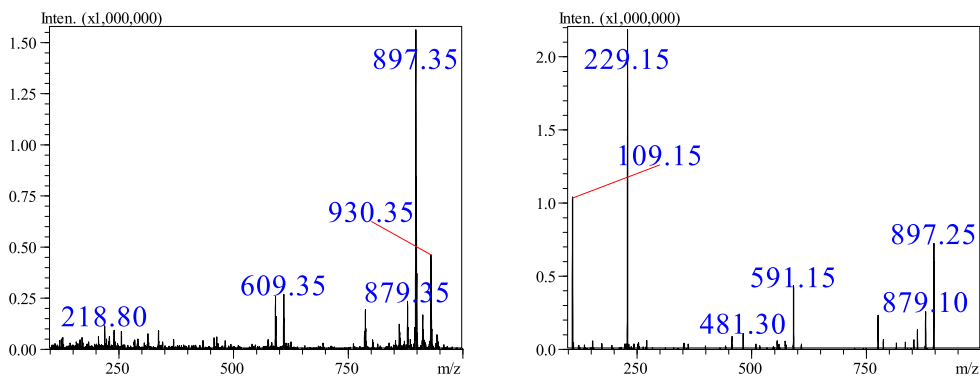


图3 多拉菌素的一级质谱图(左图)和产物离子质谱扫描图(右图, CE值为40V)

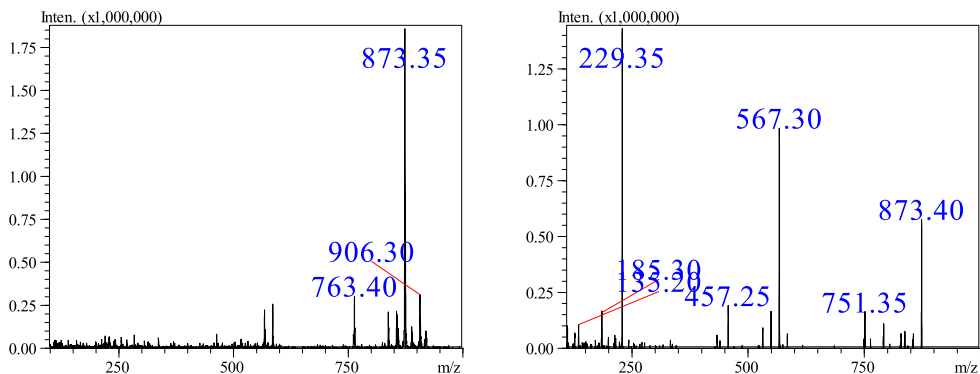


图4 伊维菌素的一级质谱图(左图)和产物离子质谱扫描图(右图, CE值为40V)

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

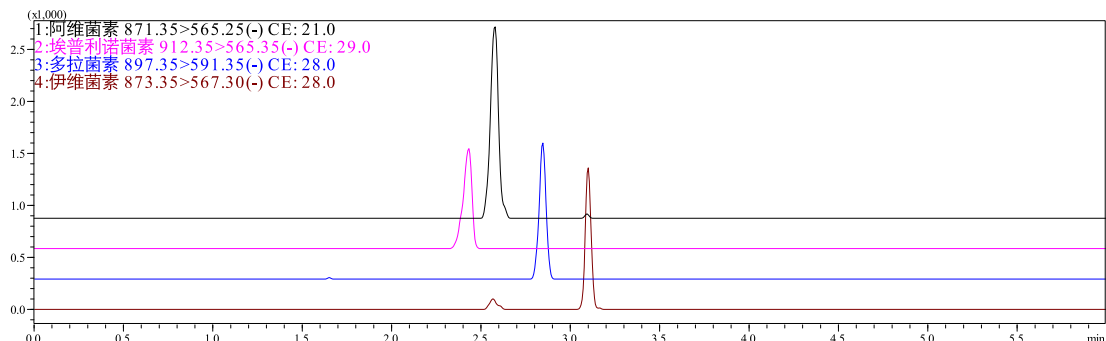


图5 1 ng/mL的四种阿维菌素类药物标准样品的MRM色谱图

2.3 线性范围

将浓度为 1、2、5、10、20、50、100、200、400 ng/mL 系列标准溶液按 1.2 中的分析条件上机分析，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法建立校准曲线，结果如图 6~9 所示，4 种阿维菌素类药物在 1~400 ng/mL 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。

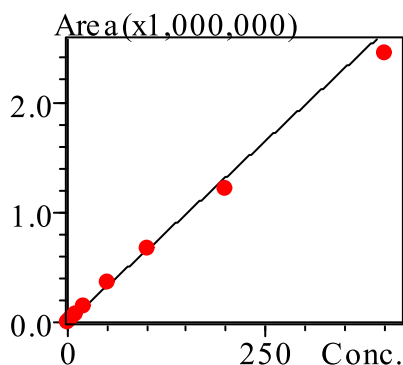


图6 阿维菌素的标准曲线

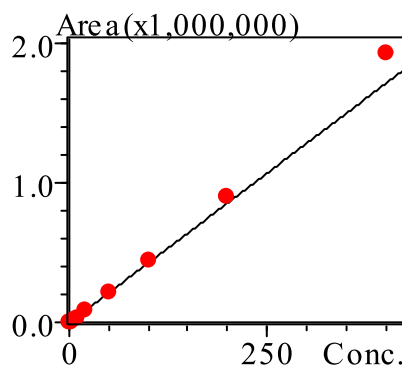


图7 埃普利诺菌素的标准曲线

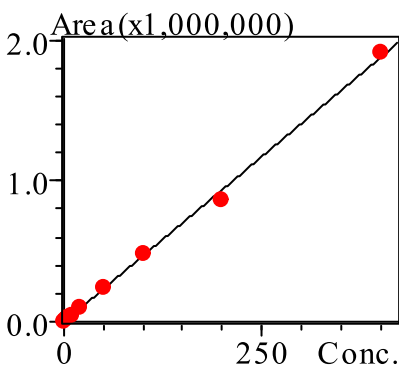


图8 多拉菌素的标准曲线

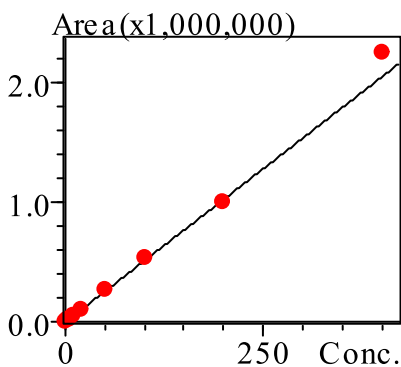


图9 伊维菌素的标准曲线

表3 4种阿维菌素类药物的校准曲线参数 (权重1/C²)

名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 R	准确度 (%)
阿维菌素	$Y = (6631.81)X + (-448.237)$	1.00~400.00	0.9977	90.9~107.4
埃普利诺菌素	$Y = (4314.94)X + (-2460.15)$	1.00~400.00	0.9974	92.0~111.9
多拉菌素	$Y = (4740.90)X + (-850.905)$	1.00~400.00	0.9986	91.5~105.4
伊维菌素	$Y = (5160.71)X + (-1877.62)$	1.00~400.00	0.9975	87.1~109.0

2.4 检出限和定量限

对浓度为 1.0 ng/mL 溶液进样分析，以噪声的 3 倍作为最低检出限（即 S/N=3，LOD 表示），以噪声的 10 倍作为最低定量限（即 S/N=10，LOQ 表示），则仪器对 4 种阿维菌素类药物的最低检出限、最低定量限结果如表 4 所示。

表4 检出限和定量限

名称	检出限(ng/mL)	定量限(ng/mL)
阿维菌素	0.23	0.77
埃普利诺菌素	0.25	0.83
多拉菌素	0.23	0.76
伊维菌素	0.22	0.77

2.5 精密度实验

对 10 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL 的混合标准溶液连续进样 6 次分析，3 个浓度标准品的相对保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02~0.09% 和 0.66~4.57 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)

名称	RSD% (10 ng/mL)		RSD% (100 ng/mL)		RSD% (200 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
阿维菌素	0.03	2.79	0.02	3.18	0.02	0.66
艾普利诺菌素	0.09	4.57	0.02	1.31	0.05	1.30
多拉菌素	0.05	3.76	0.02	2.68	0.02	1.30
伊维菌素	0.03	2.55	0.02	2.92	0.02	0.92

2.6 基质效应

分别配制低、中、高三份不同浓度的标准溶液和样品加标液，以相同浓度样品加标液所得峰面积同标准溶液所得峰面积的比值换算成百分比作为基质效应进行考察，所得基质效应结果在 80%~120% 之间，则认为基质效应对目标物检测的干扰较小。实验结果见表 6，由表 6 可知基质效应对目标物检测的干扰较小。

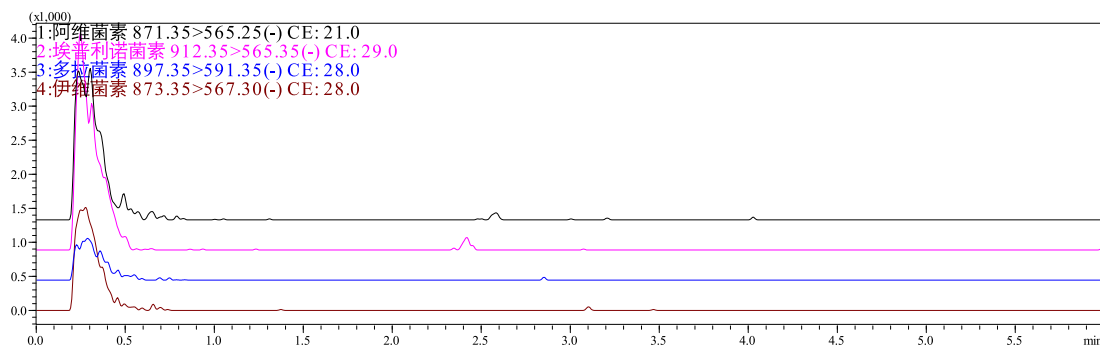


图10 食醋空白基质的MRM色谱图

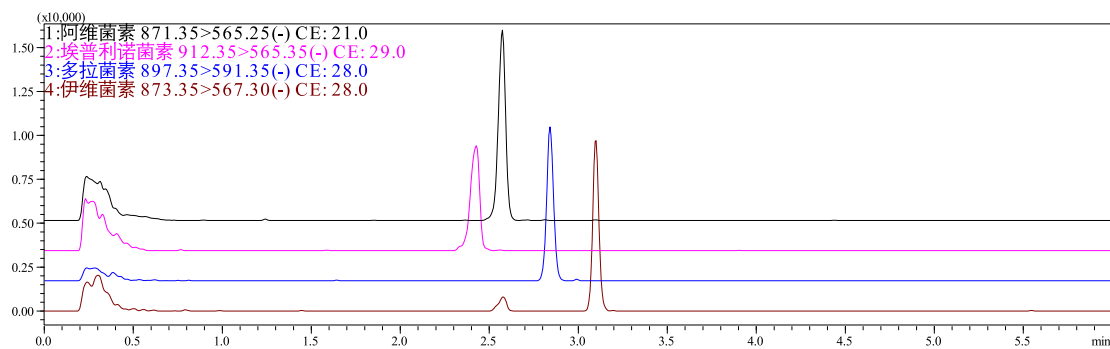


图11 食醋基质加标样的MRM色谱图 (5 ng/mL)

表6 基质效应

加标浓度 (ng/mL)	阿维菌素 (%)	埃普利诺菌素 (%)	多拉菌素 (%)	伊维菌素 (%)
10	103.8	105.7	117.1	109.7
100	84.5	91.7	101.1	90.6
200	94.7	82.0	118.4	100.4

2.7 回收率考察

向空白食醋中分别添加混标, 参照 1.4 中方法处理加标样品, 使进样浓度分别为 10 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL; 另参照 1.4 方法, 制得食醋空白基质, 向食醋空白基质中添加混标, 使进样浓度分别为 10 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL。分别进样分析, 以相应的处理前加标进样分析得到的峰面积和处理后加标进样分析得到的峰面积之比值作为回收率。得到各个浓度下的回收率如表 7 所示:

表7 回收率考察

加标浓度 (ng/mL)	阿维菌素 (%)	埃普利诺菌素 (%)	多拉菌素 (%)	伊维菌素 (%)
10	77.5	74.3	78.0	71.9
100	81.2	72.8	80.4	75.3
200	88.0	76.4	78.0	77.4

结论

本文建立了一种岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定食醋中阿维菌素类药物残留量的方法。以外标法定量, 校准曲线线性良好, 线性相关系数均大于 0.997。对低、中、高不同浓度的样品平行测试 6 次, 保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02~0.09% 和 0.66~4.57% 之间, 仪器精密度良好。检出限和定量限分别在 0.22~0.25 ng/mL 和 0.75~0.83 ng/mL 之间, 满足目前食品中阿维菌素类药物残留量检测要求。该方法可为相关人员检测食品中阿维菌素类药物残留量提供参考。