

LCMS-8045 测定猪肉中磺胺类药物残留

LCMSMS-254

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 联用测定猪肉中磺胺类药物残留量的方法。11 种磺胺类药物的线性关系良好，相关系数均大于 0.999；仪器检出限为 0.002 ~ 0.026 $\mu\text{g/L}$ ，定量限为 0.006 ~ 0.080 $\mu\text{g/L}$ ；基质加标回收率在 86.6 ~ 119.8% 之间。该方法可满足农业部 1025 号公告 -23-2008 中 0.5 $\mu\text{g/kg}$ 测定低限的要求，因此可用于快速、准确地测定猪肉中磺胺类药物残留。

关键词：磺胺类药物 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

磺胺类药物 (Sulfonamides, SAs) 是指具有对氨基苯磺酰胺结构的一类人工合成抗菌药物，能抑制大多数革兰氏阳性菌和一些革兰氏阴性菌，与抗菌增效剂甲氧苄啶联用，可增强抗菌作用，扩大治疗范围。由于磺胺类药物具有抗菌谱广、疗效强、价格低廉等优点，因此广泛应用于预防和治疗疾病。但磺胺类药物易引起过敏和造血紊乱等副作用，临床应用逐渐减少，而广泛用于畜禽类和水产养殖业。这些药物在动物体内大多不能被充分代谢，其残留量通过食物链进入人体，从而对人体健康造成危害。目前，欧盟、美国和日本等均将磺胺类药物列为动物饲养过程中限制使用的药物，其最大残余量一般为 50~100 $\mu\text{g/kg}$ 。我国也制定了相关标准

检测动物源性食品中磺胺类药物的残留，如 GB 29694-2013《动物性食品中 13 种磺胺类药物多残留的测定 高效液相色谱法》、GB 21316-2007《动物源性食品中磺胺类药物残留量的测定 液相色谱 - 质谱 / 质谱法》、SN/T 4057-2014《出口动物源性食品中磺胺类药物残留量的测定 免疫亲和柱净化 HPLC 和 LC-MS/MS 法》等。

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》样品前处理方法，采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用，测定猪肉中磺胺类药物残留。

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-20A_{SR}(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-8045 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.86 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

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

流动相: A 相 -0.1% 甲酸水溶液; B 相 - 甲醇

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40°C

进样量: 5 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 10%, 洗脱程序见表 1。

表1 梯度洗脱程序

Time (min)	Module	Command	Value
0.20	Pumps	Pump B Conc.	10
1.00	Pumps	Pump B Conc.	30
2.00	Pumps	Pump B Conc.	30
4.00	Pumps	Pump B Conc.	90
5.00	Pumps	Pump B Conc.	90
5.01	Pumps	Pump B Conc.	10
8.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源: ESI

雾化气流速: 3.0 L/min

接口温度: 300°C

干燥气流速: 10.0 L/min

DL 温度: 250°C

加热气流速: 10.0 L/min

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

MRM 参数: 见表 2

表2 MRM参数

序号	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	磺胺噻唑	256.10	156.05*	-28.0	-16.0	-29.0
			108.10	-18.0	-25.0	-21.0
2	磺胺吡啶	250.15	156.05*	-28.0	-17.0	-29.0
			184.00	-12.0	-17.0	-19.0
3	磺胺甲噻二唑	271.05	156.05*	-13.0	-14.0	-29.0
			108.10	-13.0	-27.0	-21.0
4	磺胺二甲嘧啶	279.20	186.10*	-14.0	-18.0	-19.0
			156.00	-30.0	-20.0	-28.0
5	磺胺对甲氧嘧啶	281.15	156.05*	-30.0	-18.0	-30.0
			108.15	-20.0	-28.0	-20.0
6	磺胺甲氧哒嗪	281.15	156.10*	-30.0	-18.0	-30.0
			108.10	-20.0	-27.0	-20.0
7	磺胺氯哒嗪	285.05	156.10*	-14.0	-14.0	-29.0
			108.00	-14.0	-27.0	-21.0
8	磺胺甲噁唑	254.10	156.05*	-29.0	-16.0	-30.0
			108.10	-12.0	-24.0	-21.0
9	磺胺二甲异噁唑	268.10	156.10*	-29.0	-14.0	-28.0
			113.15	-13.0	-15.0	-22.0
10	磺胺间二甲氧嘧啶	311.15	156.10*	-15.0	-23.0	-30.0
			108.05	-15.0	-30.0	-22.0
11	磺胺喹噁啉	301.15	156.10*	-15.0	-17.0	-29.0
			108.10	-15.0	-27.0	-19.0

注: *表示定量离子对

1.3 样品制备

磺胺类药物标准物质: 共 11 种, 分别为磺胺噻唑、磺胺吡啶、磺胺甲噻二唑、磺胺二甲嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺氯哒嗪、磺胺甲噁唑、磺胺二甲异噁唑、磺胺间二甲氧嘧啶和磺胺喹噁啉。

标准溶液配制: 用乙腈配制 10 mg/L 的混合标准贮备液, 用甲醇 / 水溶液 (V/V, 10:90) 逐步稀释成 0.1、0.5、1、5、10 和 50 µg/L 不同浓度的混合标准工作液。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, 进样检测。

结果讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

混合标准样品的 MRM 色谱图如图 1 所示。

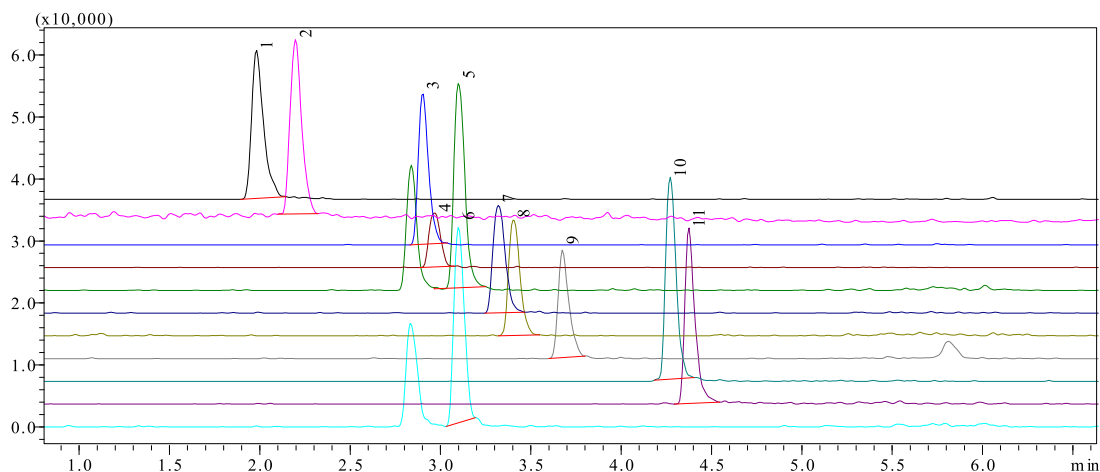


图1 混合标准样品的MRM色谱图 (0.5 µg/L)

(1、磺胺噻唑；2、磺胺吡啶；3、磺胺甲噻二唑；4、磺胺二甲嘧啶；5、磺胺对甲氧嘧啶；6、磺胺甲氧哒嗪；7、磺胺氯哒嗪；8、磺胺甲噁唑；9、磺胺二甲异恶唑；10、磺胺间二甲氧嘧啶；11、磺胺喹噁啉)

2.2 线性关系

配制浓度为 0.1、0.5、1、5、10 和 50 µg/L 的混合标准溶液，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，在 0.1~10 µg/L 和 0.1~50 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。

表3 校准曲线参数 (线性回归, 权重为1/C)

序号	化合物名称	校准曲线	线性范围 (µg/L)	准确度 (%)	相关系数
1	磺胺噻唑	$Y = (208213)X + (3090.87)$	0.1~50	81.9~106.9	0.9994
2	磺胺吡啶	$Y = (244596)X + (-547.080)$	0.1~10	91.9~104.1	0.9998
3	磺胺甲噻二唑	$Y = (183474)X + (-83.6554)$	0.1~10	95.6~104.9	0.9999
4	磺胺二甲嘧啶	$Y = (163835)X + (1324.90)$	0.1~10	89.2~108.3	0.9997
5	磺胺对甲氧嘧啶	$Y = (250149)X + (5313.05)$	0.1~10	88.5~108.1	0.9997
6	磺胺甲氧哒嗪	$Y = (242793)X + (4103.03)$	0.1~10	95.2~103.3	0.9996
7	磺胺氯哒嗪	$Y = (157837)X + (175.633)$	0.1~10	95.0~104.5	0.9998
8	磺胺甲噁唑	$Y = (154848)X + (4259.61)$	0.1~50	82.0~109.0	0.9991
9	磺胺二甲异恶唑	$Y = (145057)X + (1448.37)$	0.1~50	94.9~106.6	0.9999
10	磺胺间二甲氧嘧啶	$Y = (245919)X + (11612.2)$	0.1~50	97.3~103.3	0.9999
11	磺胺喹噁啉	$Y = (200233)X + (6393.09)$	0.1~50	88.1~104.2	0.9997

2.3 检出限和定量限

对猪肉样品按照 1.3 中处理方法得到浓度为 0.5 $\mu\text{g/L}$ 的加标样品进样分析, 通过软件计算得 11 种磺胺类药物的最低检出限 ($S/N=3$)、最低定量限 ($S/N=10$) 结果如表 4 所示。

表4 11种磺胺类药物的检出限和定量限

序号	化合物名称	检出限 ($\mu\text{g/L}$)	定量限 ($\mu\text{g/L}$)
1	磺胺噻唑	0.002	0.006
2	磺胺吡啶	0.010	0.032
3	磺胺甲噻二唑	0.002	0.006
4	磺胺二甲嘧啶	0.006	0.017
5	磺胺对甲氧嘧啶	0.025	0.076
6	磺胺甲氧哒嗪	0.026	0.080
7	磺胺氯哒嗪	0.003	0.011
8	磺胺甲恶唑	0.021	0.062
9	磺胺二甲异恶唑	0.004	0.014
10	磺胺间二甲氧嘧啶	0.002	0.008
11	磺胺喹噁啉	0.009	0.028

2.4 精密度实验

不同浓度的混合标准溶液连续 6 次进样, 考察仪器的精密度, 保留时间和峰面积的重复性结果如表 5 所示。可见保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02~0.13% 和 0.66~5.15% 之间, 仪器精密度良好。

表5 保留时间和峰面积重复性结果($n=6$)

序号	样品名称	RSD% (1 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (10 $\mu\text{g/L}$)	
		R.T.	Area	R.T.	Area
1	磺胺醋酰	0.13	2.62	0.07	0.92
2	磺胺噻唑	0.08	2.47	0.05	1.28
3	磺胺吡啶	0.13	2.39	0.05	1.00
4	磺胺甲噻二唑	0.03	1.86	0.04	0.83
5	磺胺二甲嘧啶	0.09	4.95	0.05	0.66
6	磺胺对甲氧嘧啶	0.05	1.33	0.03	1.56
7	磺胺甲氧哒嗪	0.04	5.15	0.03	1.72
8	磺胺氯哒嗪	0.07	2.11	0.03	1.04
9	磺胺甲恶唑	0.03	3.44	0.04	0.91
10	磺胺二甲异恶唑	0.03	2.46	0.03	1.31
11	磺胺间二甲氧嘧啶	0.01	1.29	0.03	1.41
12	磺胺喹噁啉	0.06	1.91	0.02	1.26

2.5 基质加标实验

对猪肉样品按照 1.3 中处理方法得到空白基质，配制浓度为 0.5 μg/L 的加标样品进样分析，样品加标回收率在 86.6 ~ 119.8% 之间。空白基质的色谱图如图 2 所示，加标样品的色谱图如图 3 所示。

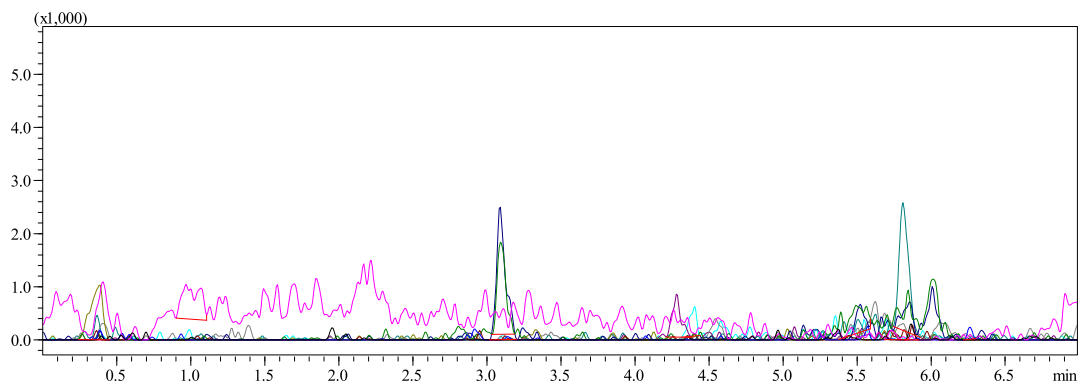


图2 空白基质色谱图

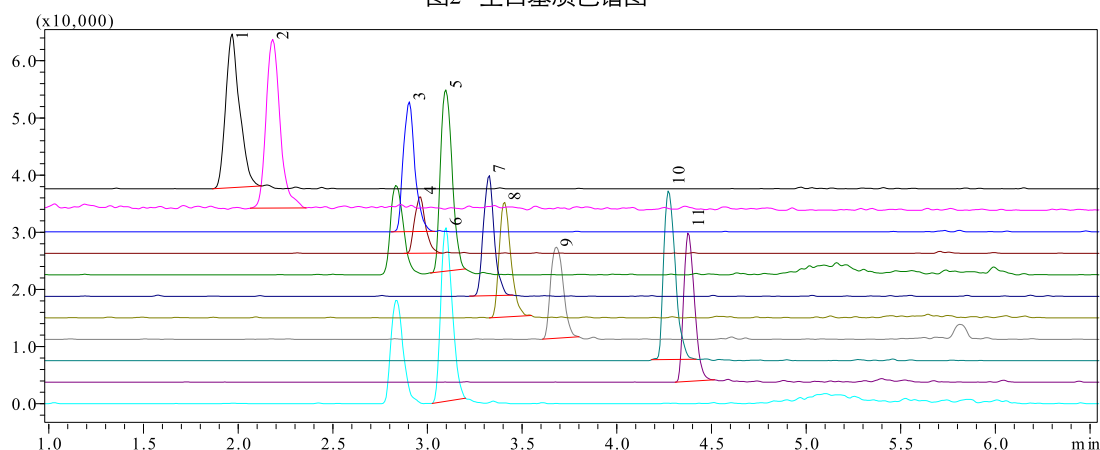


图3 加标回收色谱图

(1、磺胺噻唑；2、磺胺吡啶；3、磺胺甲噻二唑；4、磺胺二甲嘧啶；5、磺胺对甲氧嘧啶；6、磺胺甲氧哒嗪；7、磺胺氯哒嗪；8、磺胺甲噁唑；9、磺胺二甲异恶唑；10、磺胺间二甲氧嘧啶；11、磺胺喹噁啉)

表6 加标样品的回收率结果

序号	化合物名称	实测浓度 (μg/L)	回收率 (%)
1	磺胺噻唑	0.599	119.8
2	磺胺吡啶	0.553	110.6
3	磺胺甲噻二唑	0.509	101.8
4	磺胺二甲嘧啶	0.468	93.6
5	磺胺对甲氧嘧啶	0.494	98.8
6	磺胺甲氧哒嗪	0.508	101.6
7	磺胺氯哒嗪	0.479	95.8
8	磺胺甲噁唑	0.513	102.6
9	磺胺二甲异恶唑	0.515	103.0
10	磺胺间二甲氧嘧啶	0.433	86.6
11	磺胺喹噁啉	0.478	95.6

■ 结论

使用岛津超快速液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定猪肉中磺胺类药物残留, 11 种磺胺类药物的线性关系良好, 相关系数均大于 0.999; 仪器检出限为 0.002~0.026 $\mu\text{g/L}$, 定量限为 0.006~0.080 $\mu\text{g/L}$; 基质加标回收率在 86.6~119.8% 之间。该方法可满足农业部 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》的 0.5 $\mu\text{g/kg}$ 的检出限要求, 因此可用于猪肉中磺胺类药物残留量的检测。