

LC-MS/MS 检测猪肉中的阿维菌素类药物含量

LCMSMS-720

摘要： 本文参照 GB 31658.16-2021 《食品安全国家标准 动物性食品中阿维菌素类药物残留量的测定 高效液相色谱法和液相色谱 - 串联质谱法》，建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪测定猪肉中阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素含量的方法。均质后的样品以乙腈提取，C18 固相萃取柱净化后，以 LC-MS/MS 检测，外标法定量。结果表明：该方法灵敏度高，重复性好，校准曲线线性良好，适合用作检测猪肉中的阿维菌素类药物含量。

关键词： LC-MS/MS 猪肉 阿维菌素

阿维菌素类药物是一类十六元大环内酯类抗生素，其具有优异的驱虫性，使用广泛。该类物质与有机磷农药的毒性相仿，属高毒农药，常见的包括阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素等。

2022 年 2 月开始实施的 GB 31658.16-2021 《食品安全国家标准 动物性食品中阿维菌素类药物残留量的

测定 高效液相色谱法和液相色谱 - 串联质谱法》规定了使用 HPLC 和 LC-MS/MS 检测猪肉等动物性食品中阿维菌素类药物的检测方法。

本文参照该标准第二法，使用 LCMS-8045 建立了猪肉样品中阿维菌素类药物的检测方法。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 与 LCMS-8045 联用系统，具体配置为：

系统控制器：	CBM-40	脱气机：	DGU-405
输液泵：	LC-40B X3	自动进样器：	SIL-40C X3
柱温箱：	CTO-40S	质谱检测器：	LCMS-8045
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.114		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱： Shim-pack GIST C18 (50 mm x 2.1 mm I.D., 2 μm)
P/N:227-30001-02, 岛津（上海）实验器材有限公司

流动相： A 相 -0.1% 甲酸水溶液； B 相 -0.1% 甲酸乙腈溶液

洗脱方式： 梯度洗脱，B 相初始浓度为 75%，洗脱程序见表 1

流速： 0.3 mL/min 柱温： 35 °C

进样体积： 10 μL

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.40	泵	B.Conc	75
2.40	泵	B.Conc	100
3.00	泵	B.Conc	100
3.10	泵	B.Conc	75
4.50	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器：	LCMS-8045	离子化模式：	ESI+
接口电压：	5.0 kV	雾化气：	氮气 3.0 L/min
干燥气：	氮气 10.0 L/min	加热气：	空气 10.0 L/min
碰撞气：	氦气	接口温度：	400°C
DL 温度：	250°C	加热模块温度：	500°C
扫描模式：	多反应监测 (MRM)	MRM 参数：	见表 2

表 2 MRM 优化参数

No.	化合物	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE(V)	Q3 Pre Bias (V)
1	阿维菌素 (Avermectin)	65195-55-3	895.50	751.40*	-20	-47	-34
				183.10	-34	-60	-11
2	伊维菌素 (Ivermectin)	71827-03-7	897.50	753.40*	-20	-47	-24
				183.10	-20	-58	-17
3	多拉菌素 (Doramectin)	117704-25-3	921.40	777.40*	-34	-47	-20
				183.10	-34	-59	-17
4	乙酰氨基阿维菌素 (Eprinomectin)	123997-26-2	936.50	490.30*	-22	-56	-17
				352.20	-22	-62	-12

注：* 表示定量离子

1.3 样品前处理

(1) 提取：准确称取均质后的猪肉样品 2 g，于 50 mL 离心管中，加乙腈 8 mL，涡旋 2 min，4000 r/min 离心 5 min。收集上清液，残渣中加入乙腈 8 mL，重复提取 1 次。合并 2 次提取液，混匀。取提取液 4 mL，加水 6 mL 和三乙胺 10 μ L，混匀，备用。

(2) 净化：C18 固相萃取柱 (500 mg/6 mL) 依次用乙腈、洗涤剂 (乙腈/水/三乙胺=80:120:0.2) 各 4 mL 活化，取备用液过柱，依次用洗涤剂 5 mL、水 3 mL 淋洗，抽干，以正己烷 4 mL 淋洗，抽干，乙腈 8 mL 洗脱。收集洗脱液，40°C 水浴氮气吹干。加入 50% 乙腈水溶液 0.5 mL，涡旋 1 min 溶解，0.22 μ m 滤膜过滤即得。

结果与讨论

2.1 灵敏度和专属性

1 ng/mL 加标样品和空白样品的 MRM 色谱图如图 1 所示，空白样品无干扰，各目标组分在该浓度下（方法要求定量限）信噪比均在 18.1 以上，以 S/N=10 对应的浓度计算定量限，均可满足标准要求。

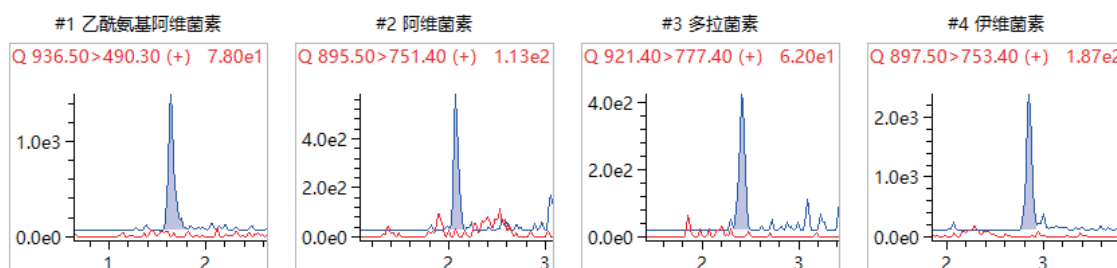


图 1 1 ng/mL 加标样品 (蓝) 和空白样品 (红) MRM 色谱图

2.2 校准曲线

参照 GB 31658.16-2021 中“18.3 基质匹配标准曲线的制备”，制备浓度分别为 1、5、10、50、100、200 ng/mL 的基质加标溶液，外标法建立校准曲线如图 2 所示，线性方程、相关系数和准确度如表 3 所示。

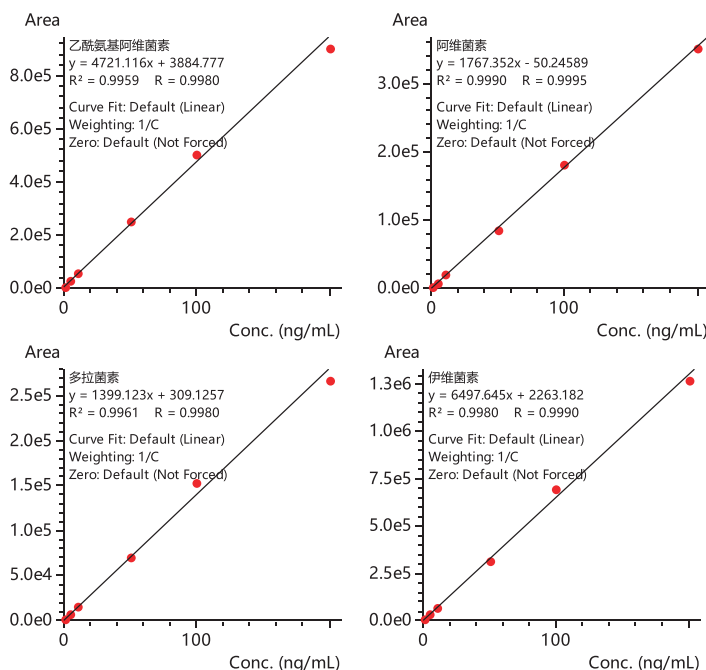


图 2 校准曲线

表 3 校准曲线信息

No.	化合物	线性范围 (ng/mL)	线性方程	相关系数 r	准确度 (%)
1	乙酰氨基阿维菌素	1~200	$Y=4721.1X + 3884.7$	0.9980	85.7~114.5
2	阿维菌素	1~200	$Y=1767.3X - 50.2$	0.9995	87.4~112.1
3	多拉菌素	1~200	$Y=1399.1X + 309.1$	0.9980	88.5~111.0
4	伊维菌素	1~200	$Y=6497.6X + 2263.1$	0.9990	93.6~109.5

2.3 残留考察

ULOQ 基质加标样品进样后，空白样品进样分析所得色谱图如图 3 所示，各目标组分保留时间处无明显色谱峰。



图 3 残留考察

2.4 重复性考察

对浓度分别为 5 ng/mL 和 100 ng/mL 的基质加标样品分别连续分析 6 次，计算保留时间和峰面积的 RSD。结果见表 4，保留时间 RSD 均不高于 0.14%，峰面积 RSD 均不高于 7.10%。

表 4 重复性考察

No.	目标物	浓度 (ng/mL)	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
1	乙酰氨基阿维菌素	5	0.07	5.08
		100	0.07	1.52
2	阿维菌素	5	0.14	4.75
		100	0.09	1.31
3	多拉菌素	5	0.14	7.10
		100	0.13	2.14
4	伊维菌素	5	0.11	2.81
		100	0.10	1.65

2.5 加标回收率

空白样品中加入浓度分别为 5 ng/mL 和 50 ng/mL 的混标, 各浓度平行处理 2 份样品, 进样分析后计算方法的回收率。结果如表 5 所示, 不同浓度加标回收率分别在 73.2%~92.1% 和 78.9%~93.2% 之间, 满足标准关于回收率在 60~120% 之间的要求。

表 5 加标回收率

No.	目标物	样品检测浓度 (ng/mL)	加标浓度 (ng/mL)	加标后检测浓度 (ng/mL)	加标回收率 (%)
1	乙酰氨基阿维菌素	N.D.	5	4.18	83.6
			50	44.1	88.2
2	阿维菌素	N.D.	5	3.85	77.1
			50	39.5	78.9
3	多拉菌素	N.D.	5	3.66	73.2
			50	39.6	79.1
4	伊维菌素	N.D.	5	4.61	92.1
			50	46.6	93.2

注: N.D. 表示未检出

■ 结论

本文参照 GB 31658.16-2021 《食品安全国家标准 动物性食品中阿维菌素类药物残留量的测定 高效液相色谱法和液相色谱-串联质谱法》, 建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045 测定猪肉中阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素含量的方法。均质后的样品以乙腈提取, C18 固相萃取柱净化后, 以 LC-MS/MS 检测, 外标法定量。结果表明: 该方法灵敏度高, 重复性好, 校准曲线线性良好, 适合用作检测猪肉中的阿维菌素类药物含量。

岛津应用云

