

LC-MS/MS 法测定牛奶中 10 种头孢类药物的残留量

LCMSMS-813

摘要：本文参考食品安全国家标准 GB 31659.3 -2022《奶和奶粉中头孢类药物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》，建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪检测牛奶中 10 种头孢类药物残留量的方法。该方法采用基质匹配外标法定量，线性关系良好，相关系数均大于 0.998。重复性测试的保留时间和峰面积的相对标准偏差 RSD 值分别小于 0.23% 和 4.32%，仪器精密度良好。仪器定量限均小于 0.25 ng/mL，灵敏度高。平均加标回收率在 78.5%~107.9% 之间，回收率良好。该方法灵敏可靠，可为相关行业人员参考使用。

关键词：三重四极杆液质联用系统 头孢类药物 牛奶或奶粉

技术特点：

- ❖ 分析速度快，7 分钟完成 10 种头孢类药物残留量的检测。
- ❖ 灵敏度优于国家标准要求，定量限均小于 0.25 ng/mL。

头孢是头孢类抗菌药的总称，头孢菌素类（Cephalosporins）是以冠头孢菌培养得到的天然头孢菌素 C 作为原料，经半合成改造其侧链而得到的一类抗生素。作为一种广谱抗菌药，头孢在畜牧水产养殖中被广泛使用，奶制品属于日常的生活食物来源，若其中头孢类药物残留量超标，则可能危害人体健康与安全。

2023 年 2 月 1 日，食品安全国家标准 GB 31659.3 -2022《奶和奶粉中头孢类药物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》开始实施，该标准规定了牛奶、羊

奶和奶粉中 10 种头孢类药物（头孢氨苄、头孢拉定、头孢唑林、头孢哌酮、头孢乙腈、头孢匹林、去乙酰基头孢匹林、头孢洛宁、头孢喹肟和头孢噻肟）残留量的检测方法。

本文参考该标准，利用岛津三重四极杆液质联用系统，建立了牛奶中 10 种头孢类药物残留量的检测方法。该方法灵敏度高，分析速度快，可作为食品行业检测从业者参考使用。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 LCMS-8050 高效液相色谱串联质谱系统。

具体配置为：

系统控制器：CBM-40

脱气机：DGU-40

输液泵：LC-40BX3 × 2

自动进样器：SIL-40C X3

柱温箱：CTO-40S

离子源：ESI

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.113

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack GISS C18(2.1×50 mm, 1.9 μm),
PN: 227-30048-01, 岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A相 -0.02% 乙酸水，B相 - 甲醇
 流速：0.3 mL/min 柱温：40°C
 进样体积：10 μL
 洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为6%，时间程序见表1。

表1 梯度时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	6
2.00	Pumps	Pump B Conc.	50
3.20	Pumps	Pump B Conc.	50
3.25	Pumps	Pump B Conc.	60
4.00	Pumps	Pump B Conc.	60
4.05	Pumps	Pump B Conc.	6
7.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源参数

离子源：ESI+ 接口温度：300°C
 雾化气流速：3.0 L/min 加热模块温度：400°C
 DL温度：250°C 干燥气流速：10.0 L/min
 干燥气流速：10 L/min 扫描模式：MRM，参数见表2

表2 MRM 参数

No.	中文名称	英文名称	CAS#	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	去乙酰基头孢匹林	Desacetyl Cefapirin	38115-21-8	382.00	152.10*	-28	-25	-28
					112.20	-14	-25	-21
2	头孢乙腈	Cefacetrile	10206-21-0	362.00	258.10*	-26	-15	-29
					178.10	-26	-14	-12
3	头孢匹林	Cefapirin	21593-23-7	423.90	152.10*	-17	-39	-28
					292.10	-16	-25	-20
4	头孢洛宁	Cefalonium	5575-21-3	459.00	152.10*	-23	-42	-29
					337.00	-11	-18	-23
5	头孢氨苄	Cefalexin	15686-71-2	348.00	158.20*	-17	-25	-30
					106.10	-13	-54	-20
6	头孢喹肟	Cefquinome	84957-30-2	529.10	134.20*	-28	-15	-25
					396.10	-20	-14	-28
7	头孢拉定	Cefradine	38821-53-3	350.00	176.10*	-27	-30	-19
					158.00	-14	-27	-16
8	头孢噻肟	Cefotaxime	63527-52-6	456.00	167.10*	-17	-25	-30
					396.10	-18	-16	-28
9	头孢唑林	Cefazolin	25953-19-9	454.95	323.10*	-23	-17	-23
					156.10	-24	-25	-30

10	头孢哌酮	Cefoperazone	62893-19-0	646.10	143.10*	-24	-60	-27
					530.20	-24	-14	-38

* 定量离子对

1.3 标准溶液配制

储备溶液 (1 mg/mL): 分别精密称定 10 种头孢类药物固体粉末, 使用 30% 乙腈水溶液溶解于棕色瓶中, 配制成浓度为 1 mg/mL 储备溶液, 置于 -18°C 冰箱中保存备用。

基质匹配混合溶液 (10 mg/L): 将各储备溶液混合, 取空白基质溶液 (按照 1.4 处理获得) 稀释, 得到 10 mg/L 基质匹配混合溶液。

基质匹配校准曲线溶液: 取一定比例的基质匹配混合溶液, 使用空白基质溶液稀释得到浓度分别为 0.5、1.0、2.0、5.0、10、20、50、100 和 200 ng/mL 的基质匹配校准工作液。

1.4 样品前处理

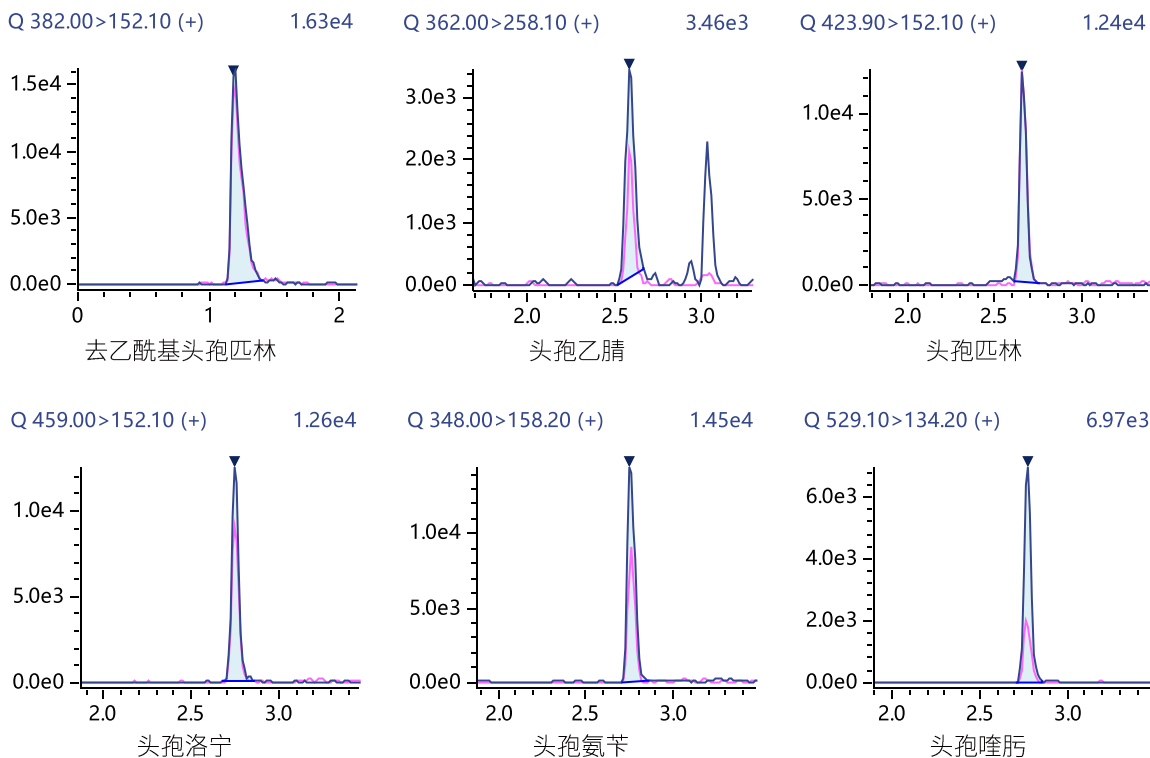
提取: 称取牛奶、羊奶试样 5 g (准确至 ±1%) 或奶粉试料 0.5 g (准确至 ±0.01 g), 于 50 mL 离心管中, 加磷酸盐缓冲溶液 (0.05 mol/L, PH=8.5) 20 mL、涡旋混匀 30 s, 调节 PH 为 8.5 备用。

净化: 取固相萃取柱, 依次用甲醇 5 mL、磷酸盐缓冲溶液 10 mL 活化。取备用液, 过柱, 再依次用 3 mL 磷酸盐缓冲溶液和 2 mL 水淋洗, 再用 3 mL 乙腈洗脱, 收集洗脱液于离心管中, 加正己烷 3 mL, 涡旋混合 1 min, 静置 5 min, 弃去正己烷层, 取乙腈层氮气吹干, 加 1.0 mL 的 10% 甲醇水溶液溶解, 0.22 μm PTFE 滤膜过滤, 供测定。

■ 结果与讨论

2.1 MRM 色谱图

实验中, 空白基质样品无检出, 无干扰, 基质匹配校准溶液 MRM 色谱图如下图 1 所示。



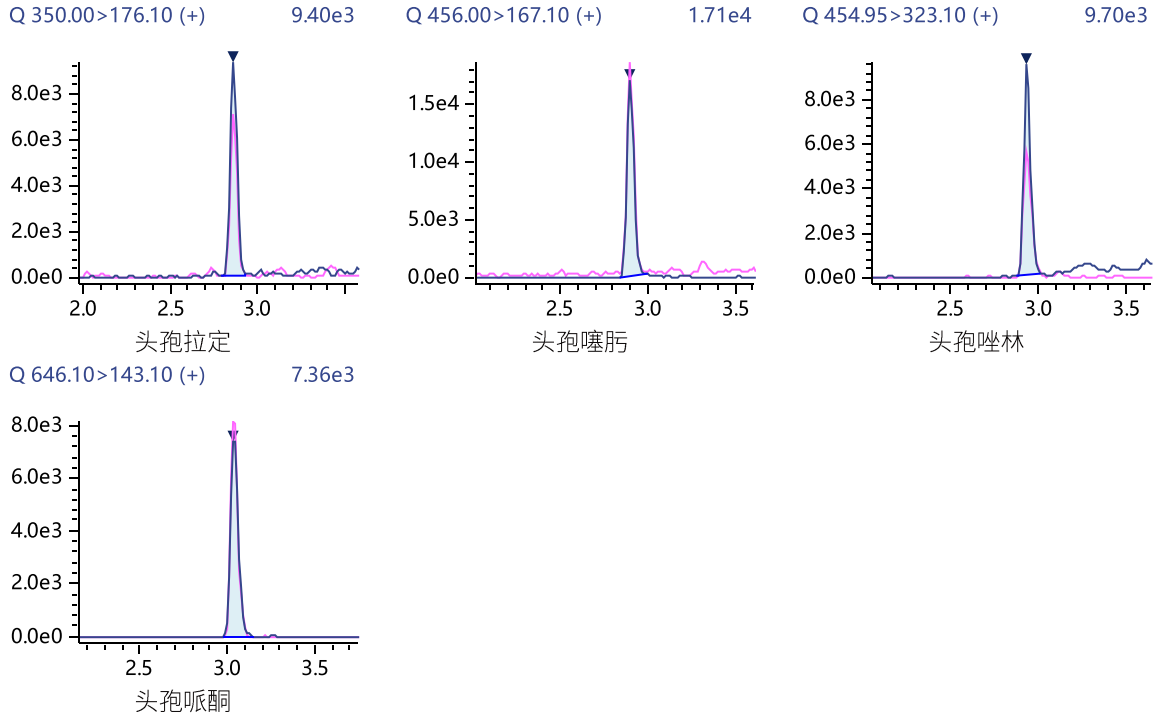
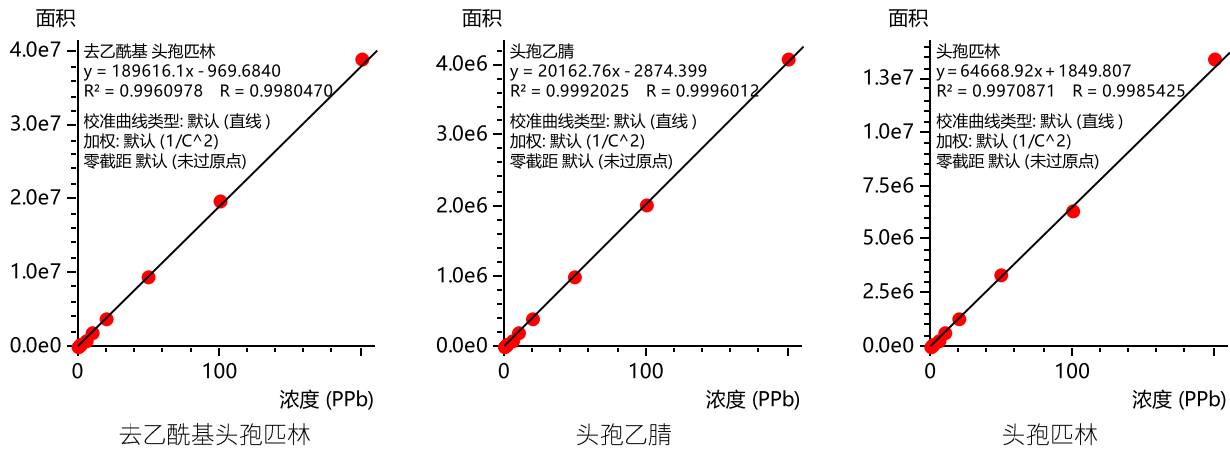


图1 基质匹配校准溶液 MRM 色谱图 (0.5 ng/mL)

2.2 校准曲线

基质匹配校准曲线溶液按 1.2 条件进行分析，外标法制作校准曲线。测试结果显示，10 种头孢类药物在浓度范围内线性良好，相关系数 r 在 0.9980 以上，线性回读准确度在 89.5%~106.3% 之间。根据 $S/N=10$ 计算定量限 (ASTM)，10 种头孢类药物的仪器定量限均小于 0.25 ng/mL。具体结果见图 2 及表 3。



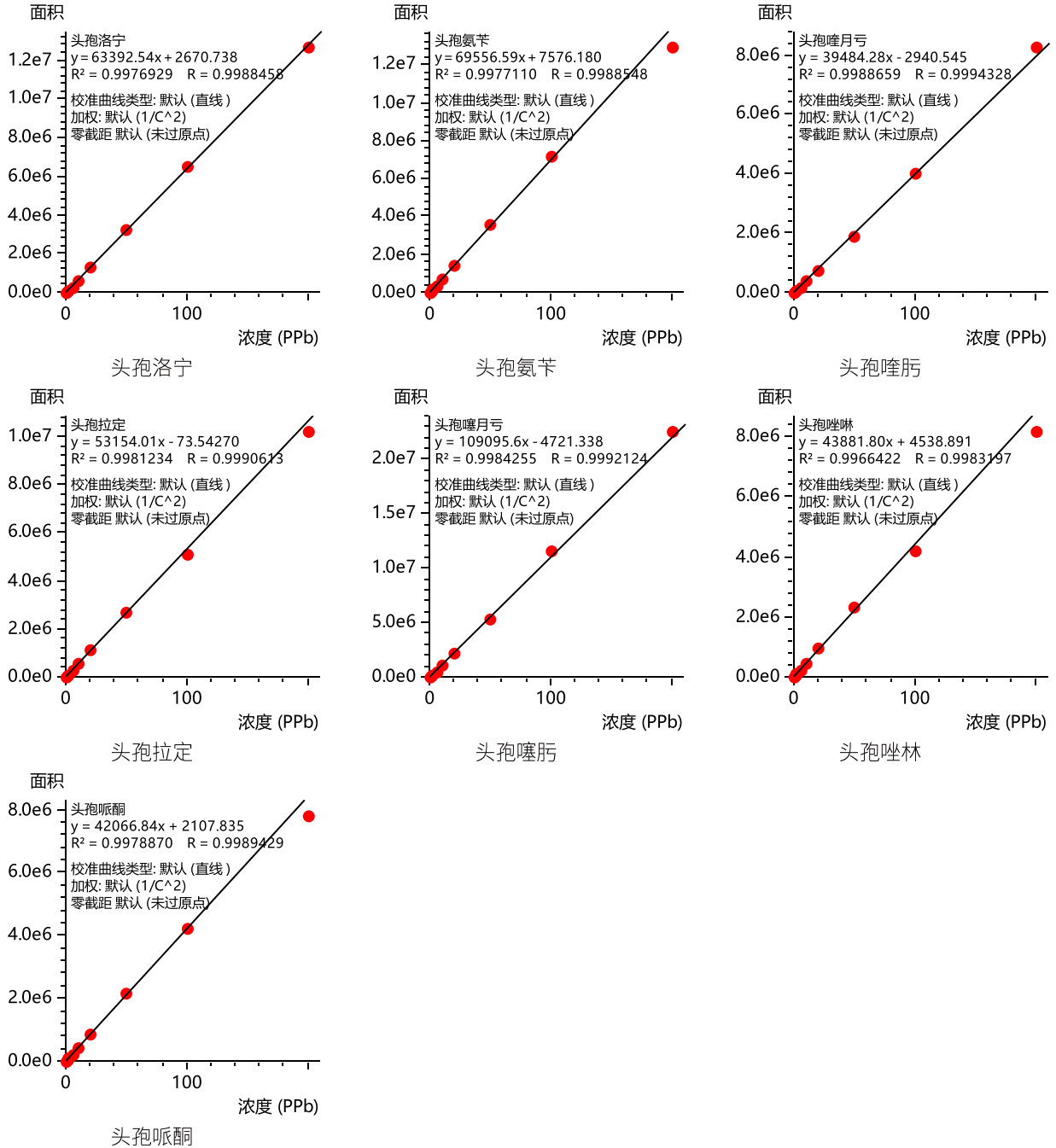


图 2 10 种头孢类药物基质匹配校准曲线

表 3 相关系数及定量限

编号	中文名称	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度 (%)	定量限 (ng/mL)
1	去乙酰基头孢匹林	0.5~200.0	0.9980	92.7~104.8	0.05
2	头孢乙腈	0.5~200.0	0.9996	94.1~102.9	0.20
3	头孢匹林	0.5~200.0	0.9996	89.5~104.2	0.10
4	头孢洛宁	0.5~200.0	0.9996	91.7~103.9	0.08
5	头孢氨苄	0.5~200.0	0.9996	92.4~103.7	0.12
6	头孢唑肟	0.5~200.0	0.9996	96.3~104.9	0.16
7	头孢拉定	0.5~200.0	0.9996	93.2~104.9	0.14
8	头孢噻肟	0.5~200.0	0.9996	96.3~105.8	0.10
9	头孢唑林	0.5~200.0	0.9996	93.4~106.3	0.17
10	头孢哌酮	0.5~200.0	0.9996	93.1~104.3	0.13

2.3 重复性实验

分别取三个不同浓度的基质匹配校准工作溶液连续平行测定 6 次, 考察仪器精密度。结果显示, 10 种头孢类药物的保留时间相对标准偏差在 0.07%~0.23% 之间, 峰面积的相对标准偏差在 1.91%~4.23% 之间, 仪器精密度良好 (见表 4)。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

编号	中文名称	0.5 ng/mL (RSD%)		1.0 ng/mL (RSD%)		5.0 ng/mL (RSD%)	
		R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	去乙酰基头孢匹林	0.23	4.23	0.18	3.89	0.14	1.12
2	头孢乙腈	0.15	3.95	0.16	3.67	0.15	2.65
3	头孢匹林	0.14	4.20	0.13	4.03	0.09	3.08
4	头孢洛宁	0.15	3.89	0.10	3.20	0.08	2.85
5	头孢氨苄	0.12	3.91	0.09	3.50	0.08	1.91
6	头孢唑肟	0.12	4.10	0.10	3.81	0.09	3.10
7	头孢拉定	0.13	4.07	0.12	3.95	0.10	2.70
8	头孢噻肟	0.13	3.86	0.11	3.45	0.08	2.30
9	头孢唑林	0.11	3.40	0.10	3.03	0.07	2.10
10	头孢哌酮	0.11	3.24	0.09	3.00	0.10	2.08

2.4 加标回收率

按照 1.4 前处理方法, 取牛奶开展样品加标回收率实验。根据标准限值要求, 选择加标浓度分别为 0.5、1.0 和 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (对应溶液理论浓度分别为 2.5、5.0 和 10.0 ng/mL), 每个浓度平行实验 3 个样品。样本未检出, 10 种头孢类药物的平均回收率范围分别在 78.5%~107.9% 之间, 回收率良好。具体结果图 3-4 和表 5。

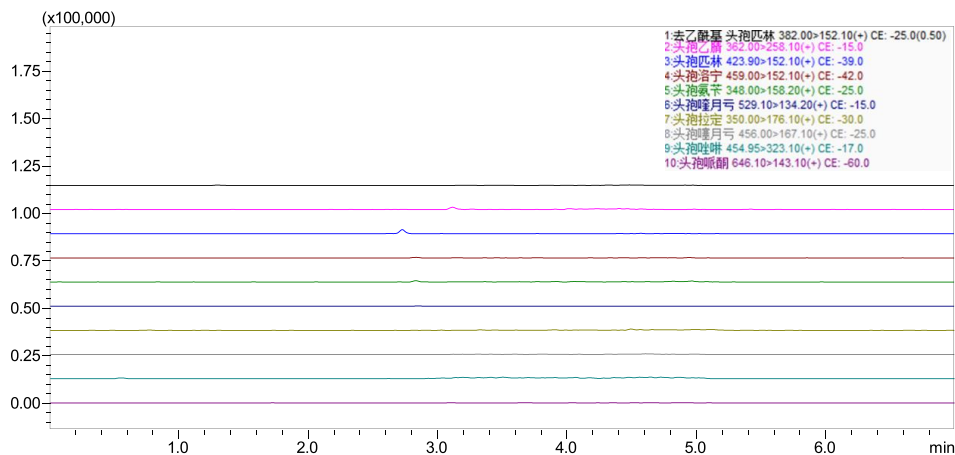


图3 牛奶样品测试色谱图（未检出）

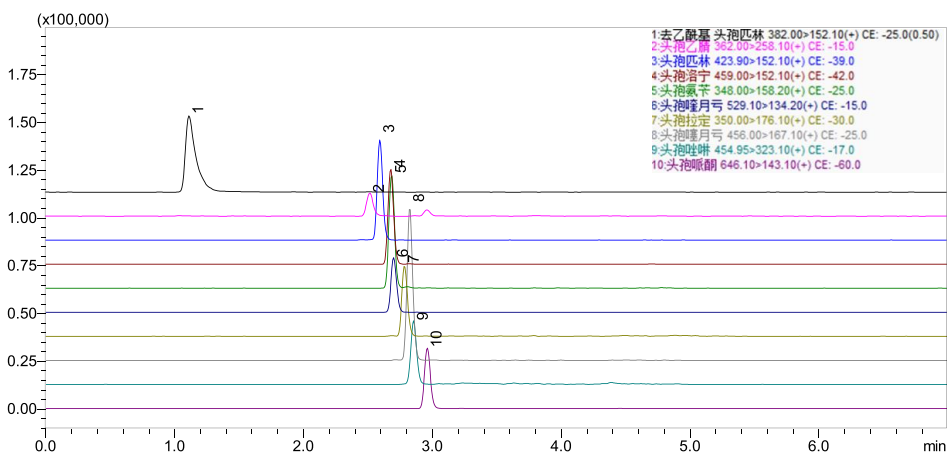


图4 0.5 µg/kg 加标样品的色谱图

表5 回收率结果

编号	化合物名称	平均回收率 (%)		
		加标浓度 0.5 µg/kg	加标浓度 1.0 µg/kg	加标浓度 2.0 µg/kg
1	去乙酰基头孢匹林	78.5	84.3	92.6
2	头孢乙腈	83.1	90.2	96.2
3	头孢匹林	84.1	89.6	94.3
4	头孢洛宁	72.9	80.1	88.5
5	头孢氨苄	92.5	101.6	107.9
6	头孢唑肟	94.7	99.2	105.3
7	头孢拉定	81.1	87.3	90.8
8	头孢噻肟	79.0	84.7	88.2
9	头孢唑林	96.1	104.3	107.1
10	头孢哌酮	76.4	83.9	90.2

■ 结论

本文参考食品安全国家标准 GB 31659.3 -2022《奶和奶粉中头孢类药物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》，采用岛津 LCMS-8050 三重四极杆液质联用仪，建立测定牛奶中 10 种头孢类药物残留量的方法。该方法分析灵敏度高，重复性好，回收率高，测试稳定可靠，可供食品相关行业检测人员参考使用。

岛津应用云

