

# LC-MS/MS 测定猪和家禽可食性组织中维吉尼亚霉素 M<sub>1</sub> 含量

LCMSMS-821

**摘要：** 本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立了猪和家禽可食性组织中维吉尼亚霉素 M<sub>1</sub> 测定的方法。实验结果表明，在 1.0-100 ng/mL 浓度范围内，方法线性良好，线性相关系数 R 为 0.9998，曲线各浓度点准确度在 98.4%-102.9% 之间。5.0 ng/mL 浓度对照品溶液，连续进样 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别为 0.11% 和 2.13%。5.0、50 和 500 µg/kg 三个不同浓度加标回收率在 88.8%-92.0% 之间，平行三份样品的相对标准偏差 (RSD%) 在 2.52%-4.11% 之间。该方法简单、稳定、准确，供相关人员参考。

**关键词：** 三重四极杆液质联用仪 猪和家禽可食性组织 维吉尼亚霉素 M<sub>1</sub>

## 技术特点：

- ❖ 满足 GB 31613.6-2022 食品安全国家标准要求，进样量更小，灵敏度更高。
- ❖ 使用 Shim-pack Gist C18 色谱柱，7 min 完成一针分析，简单快速。

维吉尼亚霉素是维吉尼链霉菌产生的一种内酯环肽类抗生素，它不是单一组分，主要含 70% ~ 80% 的 M<sub>1</sub> 组分，和 20% ~ 30% 的 S<sub>1</sub> 组分。这种抗生素仅对革兰氏阳性菌有抑制作用，作用机理是抑制细菌的核糖体而阻止它对蛋白质的合成达到杀菌效果。它能够防止细菌性下痢和鸡坏死性肠炎，还能杀灭肠道中有害细菌，减少肠蠕动，促进家禽、牲畜对饲料的吸收与利用，促进生长发育。

由于维吉尼亚霉素具有促进生长发育的作用，被广泛用于畜禽饲料中，导致该药物在畜禽中残留，给

人民群众身体健康带来安全隐患。欧盟发布 (EU) No 2015/1491 号法规规定，家禽产品肌肉中维吉尼亚霉素的<sub>最大残留量为 10 µg/kg</sub>，皮肤和脂肪中最大残留量为 30 µg/kg。

本文参考 GB 31613.6-2022 《食品安全国家标准 猪和家禽可食性组织中维吉尼亚霉素 M<sub>1</sub> 残留量的测定》，采用岛津三重四极杆液质联用仪，建立了猪和家禽可食性组织中维吉尼亚霉素 M<sub>1</sub> 测定的方法，该方法简单，稳定，灵敏度高，抗假阳性能力强，供相关检测人员参考。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

系统控制器：	CBM-40	脱气机：	DGU-405
输液泵：	LC-40D XS	自动进样器：	SIL-40C XS
柱温箱：	CTO-40S	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.118
质谱检测器：	LCMS-8045		

### 1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱：Shim-pack Gist C18 (100 mm × 2.1 mm I.D., 2 µm), P/N:227-30001-04, 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 - 乙腈

流速：0.3 mL/min

进样体积：2 µL

柱温：40°C

进样器温度：15°C

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 20%，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.	95
4.00	Pumps	Pump B Conc.	95
4.10	Pumps	Pump B Conc.	20
7.00	Controller	Stop	

质谱条件:

离子源	: ESI (+)	加热模块温度	: 400°C
接口电压	: 4 kV	接口温度	: 300°C
雾化气流速	: 3.0 L/min	碰撞气	: 氦气
加热气流速	: 10.0 L/min	扫描模式	: 多反应监测 (MRM)
干燥气流速	: 10.0 L/min	MRM 参数	: 见表 2
D L 温度	: 250°C		

表 2 MRM 参数

序号	名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	维吉尼亚霉素 M <sub>1</sub>	21411-53-0	526.3	355.1*	-36.0	-19.0	-25.0
				337.1	-36.0	-22.0	-24.0

注: \* 表示定量离子

### 1.3 标准品及样品制备

标准中间液: 精密量取维吉尼亚霉素 M<sub>1</sub> 标准溶液适量, 用乙腈稀释配制浓度为 0.05、0.25、0.5、1.0、2.5、3.75 和 5.0 µg/mL 的维吉尼亚霉素 M<sub>1</sub> 标准中间液。

校准工作曲线: 分别精密量取维吉尼亚霉素 M<sub>1</sub> 标准中间液 200 µL, 加入正己烷除脂处理后的空白组织提取液中, 加水至 10 mL, 制成维吉尼亚霉素 M<sub>1</sub> 浓度为 1.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、75 ng/mL、100 ng/mL 的系列标准工作液。

样品制备: 取试料 2 g, 加乙腈 4 mL, 涡旋 2 min, 超声 30 min, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液转移至 15 mL 具塞离心管中。残渣加乙腈 2 mL 重复提取一遍, 合并上清液, 备用。取备用液, 加水至约 9.5 mL, 涡旋混匀, 加正己烷 3 mL, 涡旋 30 s, 4000 r/min 离心 10 min, 弃去上层正己烷, 重复除脂一次。将下层溶液转移至 10 mL 刻度试管中, 加水至 10 mL, 混匀备用。取备用液, 过滤, 上机测定。

## 结果讨论

### 2.1 色谱图

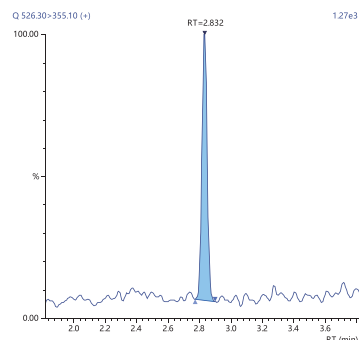


图 1 维吉尼亚霉素 M<sub>1</sub> 标准品溶液 MRM 色谱图 (1.0 ng/mL)

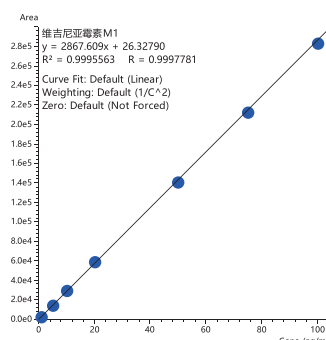


图 2 维吉尼亚霉素 M<sub>1</sub> 校准曲线

## 2.2 校准曲线结果

按照 1.3 制备标准系列工作溶液，使用外标法拟合工作曲线，校准曲线见图 2，相关系数  $R = 0.9998$ 。各浓度点线性回归的准确度等结果见表 3。曲线各标点准确度在 98.4%-102.9%。

表 3 校准曲线结果

Data#	数据文件名	保留时间	面积	浓度 (ng/mL)	标准浓度	精确度%
1	级别1.lod	2.832	2,893	0.99970	1	100.0
2	级别2.lod	2.830	14,136	4.92032	5	98.4
3	级别3.lod	2.829	29,460	10.26414	10	102.6
4	级别4.lod	2.834	59,020	20.57257	20	102.9
5	级别5.lod	2.834	141,105	49.19721	50	98.4
6	级别6.lod	2.828	212,808	74.20160	75	98.9
7	级别7.lod	2.835	283,316	98.78956	100	98.8

## 2.3 重复性考察

5.0 ng/mL 浓度对照品溶液，连续进样 6 次，考察保留时间和峰面积的重复性，结果如表 4 所示。保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别为 0.11% 和 2.13%，方法精密度良好。

表 4 重复性结果

编号	峰面积	保留时间
1	15110	2.826
2	15253	2.831
3	15257	2.826
4	15090	2.828
5	15397	2.834
6	15975	2.828
平均值	15347	2.829
RSD%	2.13	0.11

## 2.4 加标回收率及重复性考察

取猪肉空白基质，按照 1.3 前处理方法，对样品进行低、中、高三个浓度水平加标回收率考察。每个浓度平行制备三份样品，进行重复性考察。低、中、高三个加标浓度分别为 5.0、50 和 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。三水平加标回收率及重复性结果见表 5。

表 5 回收率结果 (n=3)

No.	5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标回收率 (%)	50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标回收率 (%)	500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标回收率 (%)
1	91.4	94.8	89.5
2	88.6	90.2	92.3
3	86.4	87.4	94.1
平均值	88.8	90.8	92.0
RSD%	2.82	4.11	2.52

## ■ 结论

本文参考 GB 31613.6-2022 食品安全国家标准，使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045 建立了猪和家禽可食性组织中维吉尼亚霉素  $M_1$  测定的方法。在 1.0-100 ng/mL 浓度范围内，方法线性良好，线性相关系数  $R$  为 0.9998，曲线各浓度点准确度在 98.4%-102.9% 之间。对样品进行 5.0、50 和 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  三个浓度加标回收实验，回收率在 88.8%-92.0% 之间。该方法灵敏度高，准确度高，简单快速，适用于猪和家禽可食性组织中维吉尼亚霉素  $M_1$  的检测。