

Nexera UC 系统在鸡肉中磺胺类药物残留检测的应用

SFE-SFC-004

摘要：本实验使用岛津 Nexera UC Online-SFE-SFC-MS 系统建立了鸡肉中磺胺类药物残留检测的分析方法，选择 Shim-pack UC-X SIL 色谱柱，甲醇作为改性剂，通过优化改进剂比例获得最佳分离效果。分析结果显示，13 种磺胺类药物 SFE 的萃取率在 50.18~63.52% 之间，稳定性考察中，保留时间和峰面积的相对标准偏差在 0.041~0.095% 和 6.789~11.830% 之间。磺胺邻二甲氧嘧啶和磺胺间二甲氧嘧啶在 5~100 ng 范围内，其余磺胺类药物在 5~200 ng 范围内线性良好，相关系数 R 大于 0.995，加标回收率在 77.3%-117.1% 之间。

关键词：Nexera UCSFE-SFC-MS 磺胺类药物残留 鸡肉

磺胺类药物是农业生产中常用兽药。农业生产中常以亚治疗浓度的药物做为饲料添加剂来预防疾病的发生，提高饲料的转化率和促进动物生长，其中常用的就有十几种。其不合理的使用很容易造成耐药菌增加，而且动物性食品中残留的药物可能对人体的健康造成潜在的危害。

超临界二氧化碳具有低极性、高扩散等特点，将超临界二氧化碳流体作为萃取溶剂进行超临界流体萃取

(Supercritical Fluid Extraction, SFE)，可以大大缩短萃取时间，并且与当前使用的溶剂萃取法相比，具有使用溶剂少、环保的特点。

本文采用岛津 Nexera UC Online-SFE-SFC 系统，建立了动物源性食品中磺胺类药物残留的分析方法，该方法具有萃取效率高、重复性好、节省溶剂和操作时间、自动化程度高等特点。

实验部分

1.1 仪器 Nexera UC 系统

具体配置为：LC-30ADSF(CO₂ 输液泵)，LC-20ADXR(输液泵，含 LPGE 低压梯度比例阀)，LC-20AD(补液液输送泵)，DGU-20A₅(在线脱气机)，SFE-30A(超临界流体萃取单元)，SIL-30AC(自动进样器，5 μL 定量环)，CTO-20AC(柱温箱)，SFC-30A×2(背压调节单元)，CBM-20A(系统控制器)，LCMS-8050(三重四极杆质谱仪)，LabSolutions Ver 5.86(色谱工作站)。



图1 Nexera UC Online SFE-SFC-MS 系统

1.2 SFE 萃取条件

萃取剂：A-scCO₂； B-MeOH
萃取流速：5 mL/min
萃取剂比例：A/B=90/10(v/v)
静态萃取：4 min

动态萃取：3 min
萃取温度：45℃
萃取背压：A-15.0 MPa;B-15.4 MPa

1.3 SFE 色谱条件

 色谱柱: Shim pack UC-X SIL 4.6 mm I.D.×
 250 mm L., 5 μm

 流动相: A-scCO₂; B- 甲醇

流动相流速: 3 mL/min

质谱补偿液: 20 mM 乙酸铵甲醇溶液

补偿液流速: 0.2 mL/min

柱温: 32°C

背压: A-15 MPa;B-40 MPa

 洗脱方式: 梯度洗脱, 10%B(7 min)-20%B(17 min)
 -40%B(19-20 min)*

* 7 min 之前为 SFE 提取过程

1.4 目标分析物

表1 磺胺类物质质谱参数

N0.	名称	英文名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	磺胺嘧啶	Sulfadiazine	251.1	156.0	-17	-14	-16
			251.1	108.1	-17	-23	-20
3	磺胺吡啶	Sulfapyridine	250.2	156.0	-17	-15	-16
			250.2	92.1	-17	-26	-10
3	磺胺甲基嘧啶	Sulfamerazine	265.1	156.0	-18	-17	-16
			265.1	92.1	-18	-29	-18
4	磺胺甲噻二唑	Sulfamethizole	271.1	156.1	-19	-15	-28
			271.1	108.1	-19	-22	-19
5	磺胺二甲嘧啶	Sulfamethazine	279.2	186.1	-19	-16	-20
			279.2	92.1	-19	-30	-18
6	磺胺甲氧哒嗪	Sulfamethoxy pyridazine	280.9	156.1	-18	-17	-16
			280.9	92.1	-18	-30	-18
7	磺胺氯哒嗪	Sulfachloropyridazine	284.9	156.1	-19	-14	-16
			284.9	92.1	-19	-31	-17
8	磺胺邻二甲氧嘧啶	Sulfadoxine	311.1	156.1	-22	-18	-30
			311.1	108.1	-22	-26	-20
9	磺胺间二甲氧嘧啶	Sulfamethazine	311.0	156.1	-21	-21	-16
			311.0	92.1	-21	-31	-18
10	磺胺甲恶唑	Sulfamethoxazole	254.2	156.1	-17	-14	-16
			254.2	92.1	-17	-27	-10
11	磺胺喹噁啉	Sulfaquinoxaline	301.0	156.0	-20	-15	-16
			301.0	92.1	-20	-31	-19
12	磺胺间甲氧嘧啶	Sulfamonomethoxine	281.0	108.0	-14	-26	-20
			281.0	156.0	-14	-18	-30
13	磺胺对甲氧嘧啶	Sulfameter	281.0	156.0	-14	-18	-30
			281.0	108.0	-14	-29	-21
14	磺胺邻二甲氧嘧啶-D3	Sulfadoxine-D3	314.1	156.0	-17	-14	-16
			314.1	108.0	-17	-23	-20

结果讨论

2.1 标准品的色谱图

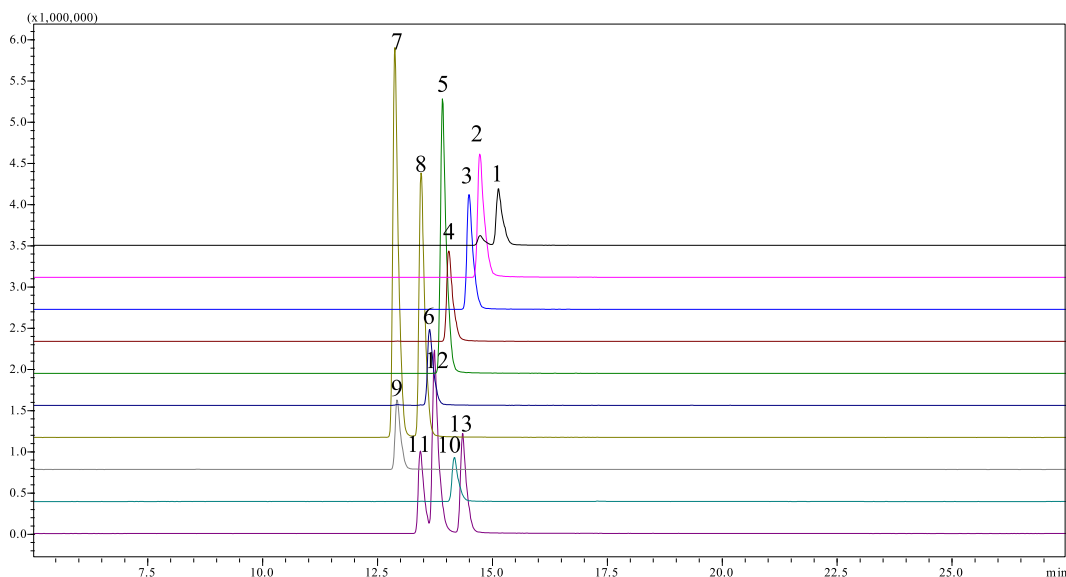


图2 磺胺类药物色谱图 (20 ng, 5 min-27.5 min, 图中峰号依次对应为: 1磺胺嘧啶, 2磺胺吡啶, 3磺胺甲基嘧啶, 4磺胺甲噻二唑, 5磺胺二甲嘧啶, 6磺胺氯吡嗪, 7磺胺邻二甲氧嘧啶, 8磺胺间二甲氧嘧啶, 9磺胺甲恶唑, 10磺胺喹噁啉, 11磺胺甲氧吡嗪, 12磺胺间甲氧嘧啶, 13磺胺对甲氧嘧啶)

2.2 标准曲线

本实验中针对 13 种磺胺类药物建立了分析方法, 具体化合物信息如表 1 所示。取磺胺类标准品, 用甲醇做溶剂, 稀释成系列浓度样品加入萃取罐中进行分析, 采用磺胺间二甲氧嘧啶 -D3 为内标 (50 ng), 建立标准曲线。标准曲线线性关系良好, 相关系数均大于 0.995, 标准曲线准确度在 90.5%-115.2% 之间。

表2 标准曲线及相关系数

N0.	名称	线性范围 (ng)	线性方程	相关系数	Accuracy (%)
1	磺胺嘧啶	5-200	$Y = (0.0944151)X + (0.000698749)$	0.9997	95.9-103.5
2	磺胺吡啶	5-200	$Y = (0.194423)X + (0.00119763)$	0.9991	93.6-103.0
3	磺胺甲基嘧啶	5-200	$Y = (0.191910)X + (-0.00154979)$	0.9993	95.9-107.8
4	磺胺甲噻二唑	5-200	$Y = (0.159397)X + (-0.00575447)$	0.9982	91.0-115.2
5	磺胺二甲嘧啶	5-200	$Y = (0.380121)X + (0.00703148)$	0.9965	92.9-110.0
6	磺胺甲氧吡嗪	5-200	$Y = (0.0877322)X + (0.00199301)$	0.9998	96.4-103.5
7	磺胺氯吡嗪	5-200	$Y = (0.112623)X + (0.000409920)$	0.9994	93.7-104.5
8	磺胺邻二甲氧嘧啶	5-100	$Y = (0.565106)X + (-0.000880027)$	0.9996	96.8-106.0
9	磺胺间二甲氧嘧啶	5-100	$Y = (0.494316)X + (0.00859373)$	0.9998	96.4-102.8
10	磺胺甲恶唑	5-200	$Y = (0.0958925)X + (0.000938959)$	0.9997	96.4-105.5
11	磺胺喹噁啉	5-200	$Y = (0.0726394)X + (-6.23389e-005)$	0.9992	93.7-105.4
12	磺胺间甲氧嘧啶	5-200	$Y = (0.276390)X + (9.59051e-005)$	0.9993	94.9-103.3
13	磺胺对甲氧嘧啶	5-200	$Y = (0.192781)X + (-0.00281988)$	0.9977	92.8-109.1

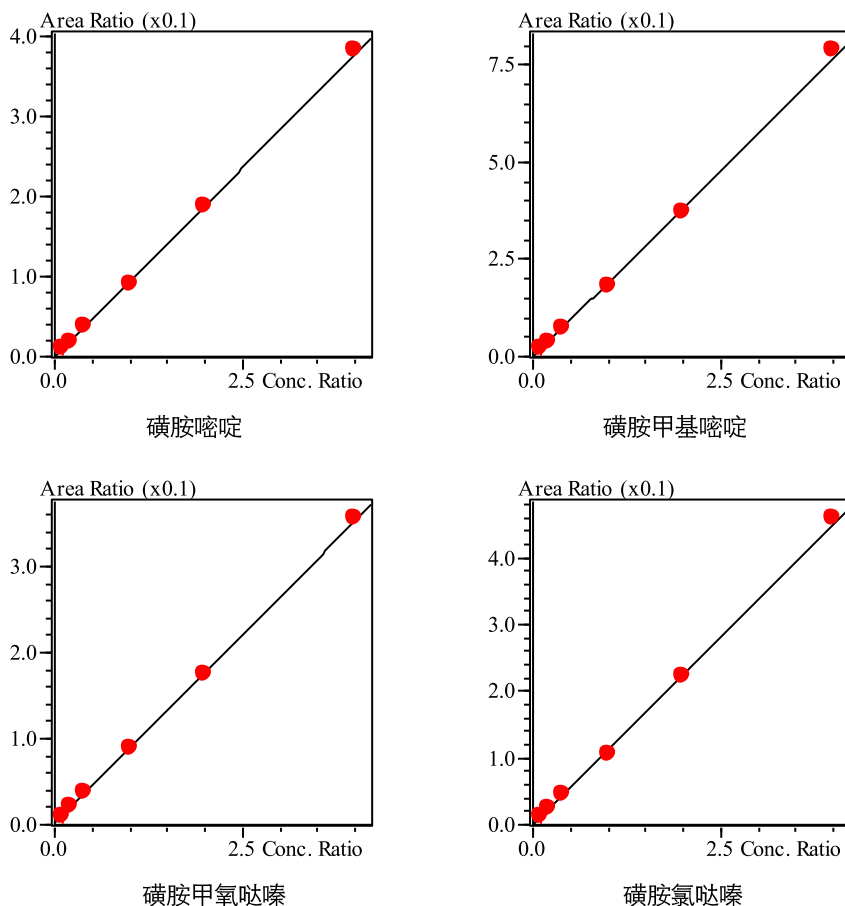


图3 部分磺胺类物质标准曲线

2.3 重复性

取 5 个萃取罐加入相同量的磺胺类混合标样，考察 Online SFE-SFC-MS 分析的重复性，结果如表 3 所示。分析结果表明，Online SFE-SFC-MS 分析磺胺类物质时，保留时间和峰面积的相对标准偏差在 0.041~0.095% 和 6.789~11.830% 之间。

表3 保留时间和峰面积重复性 (n=5)

NO.	化合物名称	重复性 (RSD/%)	
		保留时间	峰面积
1	磺胺嘧啶	0.061	9.247
2	磺胺吡啶	0.059	10.611
3	磺胺甲基嘧啶	0.071	9.234
4	磺胺甲噻二唑	0.041	11.830
5	磺胺二甲嘧啶	0.062	10.309
6	磺胺甲氧哒嗪	0.060	9.664
7	磺胺氯哒嗪	0.062	11.349
8	磺胺邻二甲氧嘧啶	0.078	9.082
9	磺胺间二甲氧嘧啶	0.086	10.187
10	磺胺甲恶唑	0.073	10.123
11	磺胺喹噁啉	0.071	9.089
12	磺胺间甲氧嘧啶	0.058	11.481
13	磺胺对甲氧嘧啶	0.044	9.491

2.4 回收率

称取空白鸡肉样品 0.5 g, 加入各磺胺类药物 100 ng 和内标 50 ng, 加入 1 g 吸水剂与样品充分混合后, 装入萃取罐进行分析, 加标回收率如表 4 所示。由表可知, 样品加标回收率在 77.3%-117.1% 之间, 相对标准偏差在 2.17%-12.91%, 能够满足样品定量分析的要求。

表4 加标回收率 (n=3)

N0.	名称	平均回收率/%	相对标准偏差/%
1	磺胺嘧啶	77.3	8.15
2	磺胺吡啶	79.1	7.88
3	磺胺甲基嘧啶	104.5	6.34
4	磺胺甲噻二唑	116.5	5.21
5	磺胺二甲嘧啶	91.7	5.97
6	磺胺甲氧哒嗪	99.4	3.97
7	磺胺氯哒嗪	87.9	9.43
8	磺胺邻二甲氧嘧啶	117.1	2.17
9	磺胺间二甲氧嘧啶	94.8	5.57
10	磺胺甲恶唑	75.3	6.07
11	磺胺喹噁啉	92.4	8.94
12	磺胺间甲氧嘧啶	89.1	10.51
13	磺胺对甲氧嘧啶	78.9	12.91

2.5 萃取效率

为考察设定条件下 SFE 对磺胺类药物的萃取效率, 通过重复对同一萃取罐内容物进行多次 SFE-SFC-MS 联用分析 (如图 4), 计算各化合物萃取率并记录于表 5, 每次萃取化合物峰面积对多次萃取的峰面积和做比表示萃取率。

表5 磺胺类药物萃取效率 (%)

N0.	名称	第一次	第二次	第三次	第四次
1	磺胺嘧啶	59.61	32.38	6.93	1.09
2	磺胺吡啶	61.62	30.82	6.54	1.02
3	磺胺甲基嘧啶	59.16	32.92	6.91	1.02
4	磺胺甲噻二唑	50.18	35.40	11.39	3.04
5	磺胺二甲嘧啶	60.80	31.91	6.35	0.95
6	磺胺甲氧哒嗪	61.33	31.08	6.57	1.01
7	磺胺氯哒嗪	61.22	31.24	6.57	0.96
8	磺胺邻二甲氧嘧啶	60.63	31.85	6.63	0.89
9	磺胺间二甲氧嘧啶	63.52	29.68	5.95	0.85
10	磺胺甲恶唑	58.54	32.79	7.48	1.18
11	磺胺喹噁啉	61.21	31.72	6.19	0.89
12	磺胺间甲氧嘧啶	60.78	31.79	6.43	1.00
13	磺胺对甲氧嘧啶	59.41	33.06	6.49	1.03

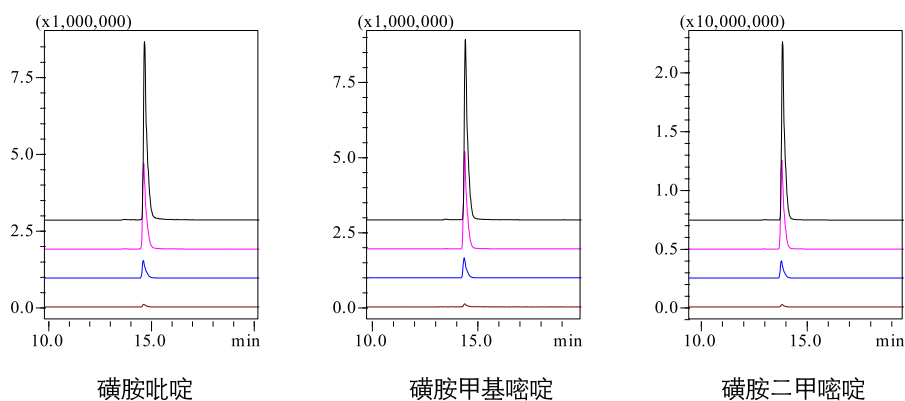


图4 SFE萃取效率考察
(图示依次为第一次萃取、第二次萃取、第三次萃取和第四次萃取)

■ 结论

本文使用岛津 Nexera UC Online SFE-SFC-MS 系统建立了鸡肉中磺胺类药物残留检测的分析方法，该方法实现样品前处理 (SFE) 和样品分析 (SFC) 在线联用，简化了鸡肉样品的前处理过程。Online SFE-SFC-MS 分析方式可以磺胺类药物残留的快速检测手段，该方法可为生产行业、检验行业及部门提供参考。