

# 超快速三重四极杆液质联用仪

## LCMS-8045 应用文集

Ultra Fast Mass Spectrometry  
— *Speed Beyond Comparison* —



# 目 录

前 言.....	III
LCMS-8045 介绍.....	IV
食品样品 .....	6
1. LCMS-8045 测定鱼肉基质中的硝基咪唑类代谢物.....	7
2. LCMS-8045 测定猪肉中磺胺类药物残留.....	13
3. LCMS-8045 测定牛奶中 5 种雌激素含量.....	20
4. LCMS-8045 测定食醋中阿维菌素类药物残留.....	26
5. 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定鸡肉中喹诺酮类抗生素残留.....	33
生物样品 .....	44
1. ATLAS-USIS-LCMS-8045 联用测定尿样中甲基安非他明含量.....	45
2. 超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用技术测定人血浆中氨氯地平含量.....	51
3. LCMS-8045 检测血浆中 $V_A$ 和 $V_E$ 长期稳定性考察.....	57
4. 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定新生儿排泄物中 14 种抗生素.....	63
5. 使用岛津“药物毒物快速筛查方法包”对尿样中药物毒物进行快速筛查、定性及定量.....	70
6. 利用 LC-MS/MS 分析三种用于抗体药物生产的培养基组分差异.....	80
7. 超高效液相色谱三重四极杆质谱法测定血清中 25-羟基维生素 $D_2/D_3$ 含量.....	86
环境样品 .....	99
1. 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定自来水中药物和个人护理用品物质 (PPCPs) 的残留.....	100
2. 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定土壤中 20 种氨基甲酸酯类农药残留.....	109

# 前言

“工欲善其事，必先利其器”，近些年随着分析工作者需要应对的样品基质越来越复杂、目标物含量越来越低等情况的出现，抗干扰能力强、检测灵敏度高的“定量专家”高效（或超高效）液相色谱-三重四极杆质谱联用仪逐渐开始被广大的分析工作者所熟知。三重四极杆质谱主要的工作模式有全扫描(Scan)、选择离子监测(SIM)、前体离子扫描(Precursor Ion Scan)、产物离子扫描(Product Ion Scan)、中性丢失扫描(Neutral Loss Scan)和多反应监测(Multiple Reaction Monitoring, MRM)等。其中，MRM 模式在定量分析时应用最多，其通过 Q1 筛选特异性的母离子，在 Q2 碰撞池中将其打碎后，Q3 筛选特异性的子离子，此工作模式可以在很大程度上消除基质的干扰，同时保证了检测的灵敏度。

岛津自 2010 年推出公司第一代超快速三重四极杆液质联用仪(UFMS) LCMS-8030 以来，不断在仪器硬件和软件等方面做出改进，后续又陆续更新换代推出 LCMS-8040、LCMS-8050、LCMS-8060 等产品，在产品线不断丰富的时候，在用户中的口碑也越来越好。

作为岛津超快速质谱系列产品的成员，LCMS-8045 发布于 2016 年 6 月第 64 届美国质谱年会(ASMS)，其继承了多项岛津超快速专利技术，如质量分析器最大扫描速度 30000 u/sec；正负离子同时监测时，正负极切换速度 5 ms；MRM 模式工作时 Dwell time 可低至 0.8 ms，Pause time 低至 1 ms 等。操作软件方面，凭借岛津 LabSolutions 全中文工作站的图形化友好界面，LCMS-8045 能够便捷地进行仪器控制和数据处理，全面满足法规要求。专项分析方法包、数据定量分析软件等丰富软件支持，全方位满足实验室具体工作需求。另用户如有需要，LCMS-8045 还可以升级成性能更加优异的 LCMS-8050 乃至 LCMS-8060。

为增进用户对 LCMS-8045 的了解、认识和熟悉，岛津企业管理（中国）有限公司分析中心整理编写了本册《超快速三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045 应用文集》以飨读者。本册文集共收录应用文 9 篇，涉及食品、生物样品、环境等多个领域，通过分析实例介绍该产品的性能、详尽的参数设置也为相关领域的客户使用该系统提供参考。本册文集收录之文章由岛津企业管理（中国）有限公司分析中心多位应用工程师分别完成，在此一并感谢。

知识水平所限，文中难免存有不妥之处，恳请读者匡误斧正。

岛津企业管理（中国）有限公司  
分析中心

# LCMS-8045 介绍

LCMS-8045 是岛津超快速质谱家族的最新成员，其借助于 2016 年 6 月第 64 届美国质谱年会(ASMS)的机会对外发布。主要特点包括：

(1) 无与伦比的速度以及与超快速分析完美匹配的出色灵敏度

LCMS-8045 继承了多项岛津超快速专利技术，其质量分析器最大扫描速度可达 30000 u/sec；正负离子同时监测时，正负极切换速度 5 ms；MRM 模式工作时 Dwell time 可低至 0.8 ms，Pause time 低至 1 ms。

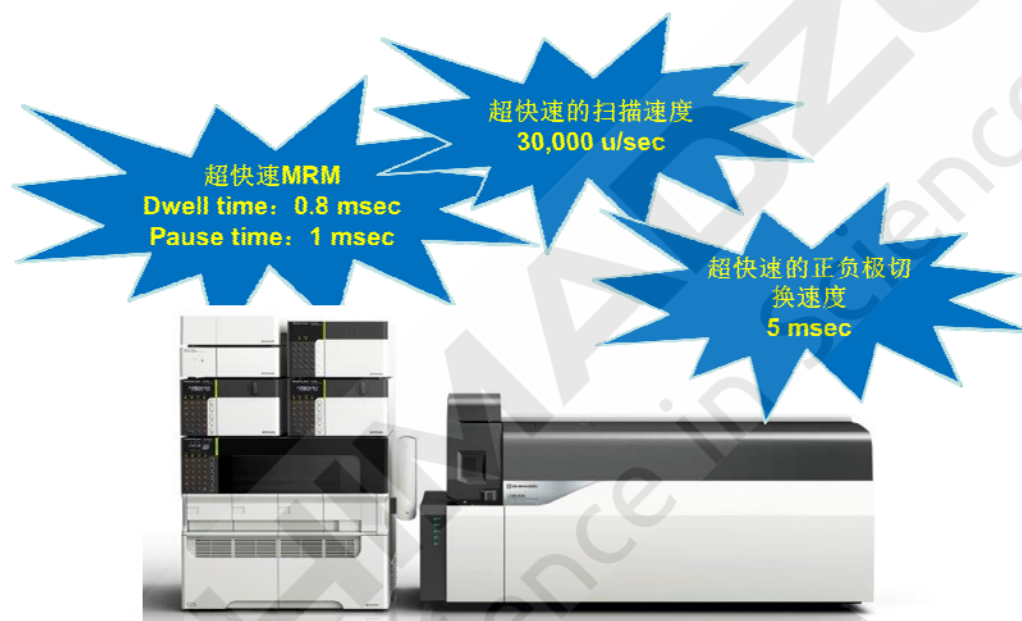


图 1 超快速三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045

LCMS-8045 在灵敏度方面同样有不俗的表现，分别以利血平和氯霉素为目标物进行考察，可得利血平和氯霉素的 LOD（柱上 IDL）分别低至 1.3 fg 和 1.4 fg。

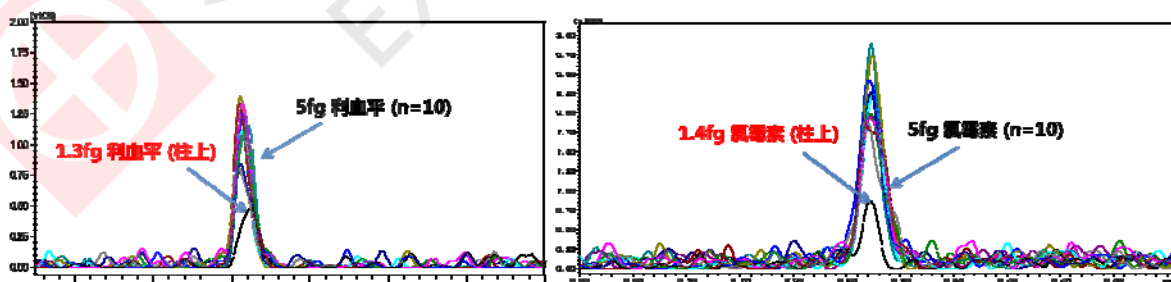


图 2 LCMS-8045 灵敏度

(2) 卓越的稳定性

以血浆中添加的 5 ng/mL 阿普唑仑（内标物 d5-阿普唑仑）作为目标物，峰面积比为考察指标，连续进样 12000 次来考察 LCMS-8045 的稳定性，结果表明：在血浆这样的复杂基质样品中，阿普唑仑连续 12000 次进样分析结果的 RSD 值为

3.42%，其中在 7500 次进样后更换色谱柱，更换前后 RSD 值分别为 3.43%和 3.04%。

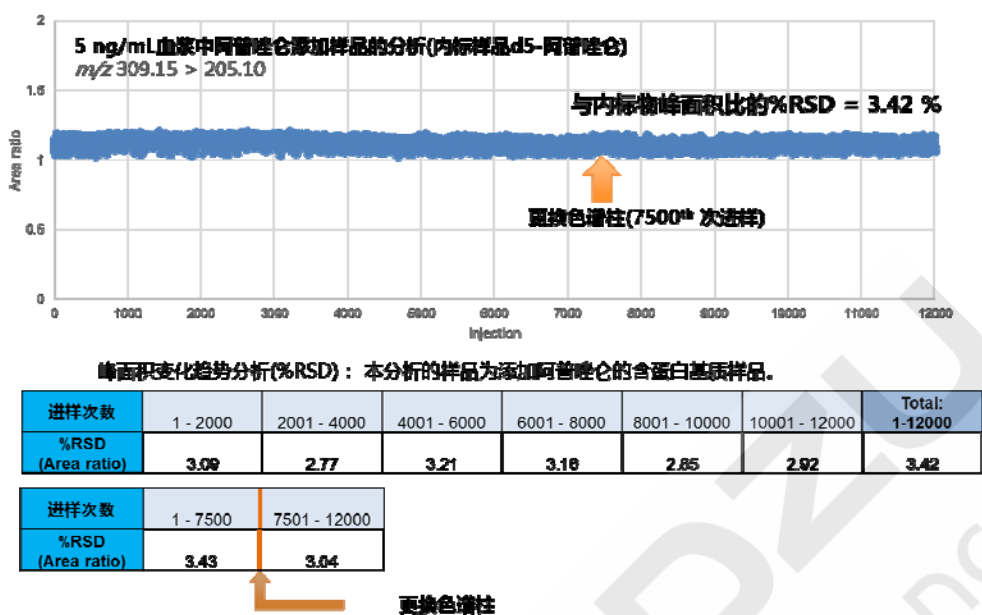


图 3 LCMS-8045 稳定性试验结果

### (3) 使用友好

主要体现在以下几点：

- 1) LabSolutions 全中文工作站方便国内用户更好的掌握和使用；
- 2) 自动开关机和自动调谐，使得即使没有质谱使用经验的用户亦可轻松掌握；
- 3) 全自动优化 MRM 参数功能可以极大的节省用户的方法开发时间和精力；
- 4) 维护简单，岛津专利技术使得更换 DL 管时无须卸载真空即可完成；
- 5) 可根据用户需要，将仪器升级为性能更为优异的 LCMS-8050 乃至更高端的

LCMS-8060。

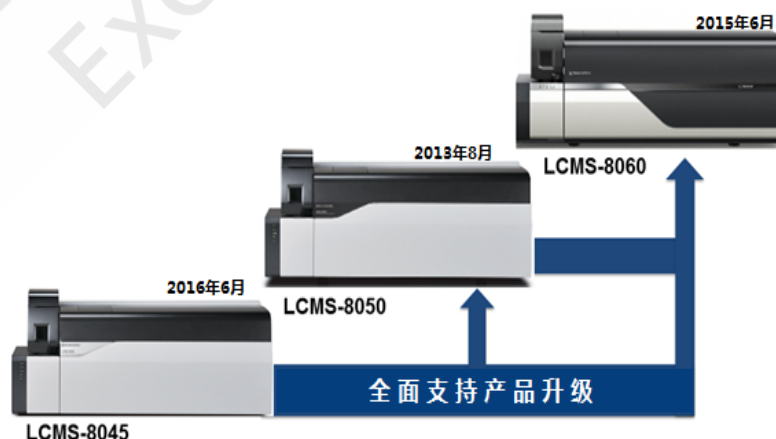


图 4 LCMS-8045 全面支持产品升级

# 食品样品

近些年，国内食品安全问题事件频发，如“瘦肉精猪肉”、“三聚氰胺奶粉”、“苏丹红鸭蛋”、“染色剂馒头”、“地沟油”、“镉大米”等，这些事件一经媒体曝光，一方面对社会造成了极大的负面影响，严重影响了国内民众对于国产食品的信心，如近些年国内民众对于进口奶粉的追捧即为“三聚氰胺奶粉”事件的直接后果；另一方面也促使相关监测部门



加大了对食品质量和安全的监管，如“镉大米”事件曝光后，部分省份和地区稻米中的镉含量检测由抽检改为每批必检，同时一些要求更严格的法规也开始实行，如于2011年6月底开始实施的《GB 2760-2011 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》，规定了食品添加剂的使用原则、允许使用的食品添加剂品种、使用范围及最大使用量或残留量。

食品类的样品往往基质比较复杂，且有些待检测成分含量较低，即使经过一系列复杂的前处理之后，进样样溶液里也经常会有一些干扰成分存在。高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪通常使用MRM模式来进行定量，其通过Q1筛选特异性的前体离子，在Q2碰撞池中将其打碎后，Q3筛选特异性的产物离子，如此在很大程度上可以消除基质的干扰，同时仪器的高灵敏度使得含量极低的成分也可以被检测。因此，高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪在食品安全检测领域的使用越来越广。

该部分介绍了岛津分析中心使用LCMS-8045在食品安全检测方面所做的一些工作，检测样品包括有鱼肉、猪肉、牛奶和食醋等，检测目标组分为硝基呋喃、磺胺类药物、雌激素、阿维菌素等，希望能为您提供有益参考。

## LCMS-8045 测定鱼肉基质中的硝基呋喃类代谢物

**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 联用检测鱼肉基质中硝基呋喃类代谢物残留量的检测方法。样品经处理后,用超高效液相色谱 LC-30A 在 3.0 min 内完成分离,三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 进行定量分析。3-氨基-2-恶唑酮(AOZ)、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮(AMOZ)、1-氨基-乙内酰脲(AHD)和氨基脲(SEM)在 0.05~20 ng/mL 内线性良好,相关系数均大于 0.9970;分别用浓度为 0.05 ng/mL 和 2.0 ng/mL 的混合标准溶液进行了精密度实验,实验结果表明连续 6 次进样保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.09~0.18%和 0.85~1.99%之间,仪器精密度良好。

**关键词:** 硝基呋喃 鱼肉 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

硝基呋喃类药物(Nitrofurans)是一类合成的抗菌药物,它们作用于微生物酶系统,抑制乙酰辅酶 A,干扰微生物糖类的代谢,从而起抑菌作用。硝基呋喃类药物很不稳定,很容易生成代谢物。硝基呋喃类药物在动物体内迅速分解产生代谢物,代谢物在体内与细胞膜蛋白结合成结合态。由于代谢物比较稳定也有致癌作用,所以在食品安全的检测中检测硝基呋喃代谢物。常见的硝基呋喃代谢物的衍生物有如下四种,包括:3-氨基-2-恶唑酮(AOZ)、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮(AMOZ)、1-氨基-乙内酰脲(AHD)和氨基脲(SEM)。

本文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,参考 GB/T 21311-2007,建立了测定鱼肉基质中硝基呋喃代谢物:3-氨基-2-恶唑酮 AOZ)、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮(AMOZ)、1-氨基-乙内酰脲(AHD)和氨基脲(SEM)残留量的高灵敏度检测方法,供相关检测人员参考。

### 1 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×2(输液泵),DGU-20A5R(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 GISS C18 Column (2.1 mm I.D.×100 mm L., 1.9 μm)

流动相: A 相: (0.01%甲酸) 水, B 相: (0.01%甲酸) 乙腈

流速: 0.50 mL/min

柱温: 40°C

进样体积: 10 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, 初始比例 10% B

表 1 梯度洗脱程序

Time (min)	Module	Command	Value
1.50	Pumps	Pump B Conc.	80
1.51	Pumps	Pump B Conc.	10
3.00	Controller	Stop	

### 质谱条件

离子化模式: ESI(+)

雾化气: 氮气 3.0 L/min

加热气: 空气 15.0 L/min

干燥气流速: 氮气 5.0 L/min

接口温度: 400°C

DL 温度: 250°C

加热模块温度: 450°C

喷针偏移距离: +3.0 mm

扫描模式: 多反应监测(MRM), MRM 参数见表 2

表 2 化合物信息及 MRM 参数

编号	名称	CAS.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	SEM	57-56-7	209.05	166.10*	-14.0	-9.0	-17.0
				192.05	-15.0	-13.0	-21.0
2	AOZ	80-65-9	236.10	134.00*	-11.0	-11.0	-23.0
				104.10	-17.0	-22.0	-11.0
3	AHD	2827-56-7	249.00	134.05*	-26.0	-12.0	-25.0
				104.15	-17.0	-23.0	-21.0
4	AMAZ	43056-63-9	335.15	291.10*	-16.0	-12.0	-30.0
				262.10	-24.0	-18.0	-30.0

\*表示定量离子

### 1.3 样品制备

标准溶液配制：硝基咪唑衍生化标准物质 3-氨基-2-恶唑酮(AOZ)、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮(AMOZ)、1-氨基-乙内酰脲(AHD)和氨基脲(SEM)分别称取适量用丙酮/甲醇（1:1）的混合溶剂配制 0.5 mg/mL 的单标准贮备液，用甲醇稀释至 100 ng/mL 的混标后用水逐步稀释成 0.050、0.10、0.20、0.50、1.0 和 2.0 ng/mL 系列浓度的混合标准工作液。

样品前处理方法：参考《GB/T 21311-2007 动物源性食品中硝基咪唑类药物代谢物残留量检验方法高效液相色谱串联质谱法》。

## 2.结果讨论

### 2.1 标准样品的 MRM 色谱图

标准样品的 MRM 色谱图如图 1 所示：

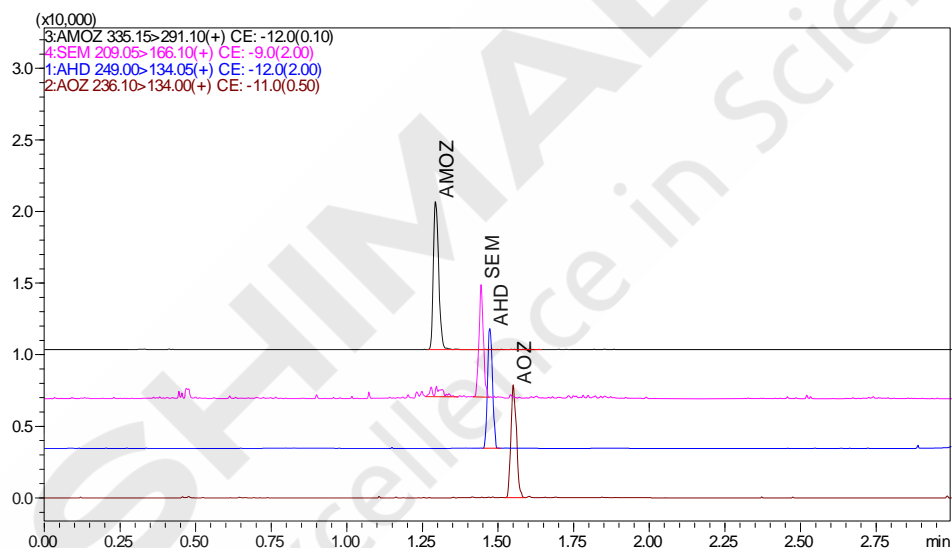


图 1 标准样品的 MRM 色谱图 (0.5 ng/mL)

### 2.2 线性关系

配制浓度为 0.050、0.10、0.20、0.50、1.0、2.0、5.0、10.0 和 20 ng/mL 的混合标准工作液，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，标线如下图所示。在 0.005~20 ng/mL 浓度范围内线性良好。线性方程、线性范围和判定系数见表 3。

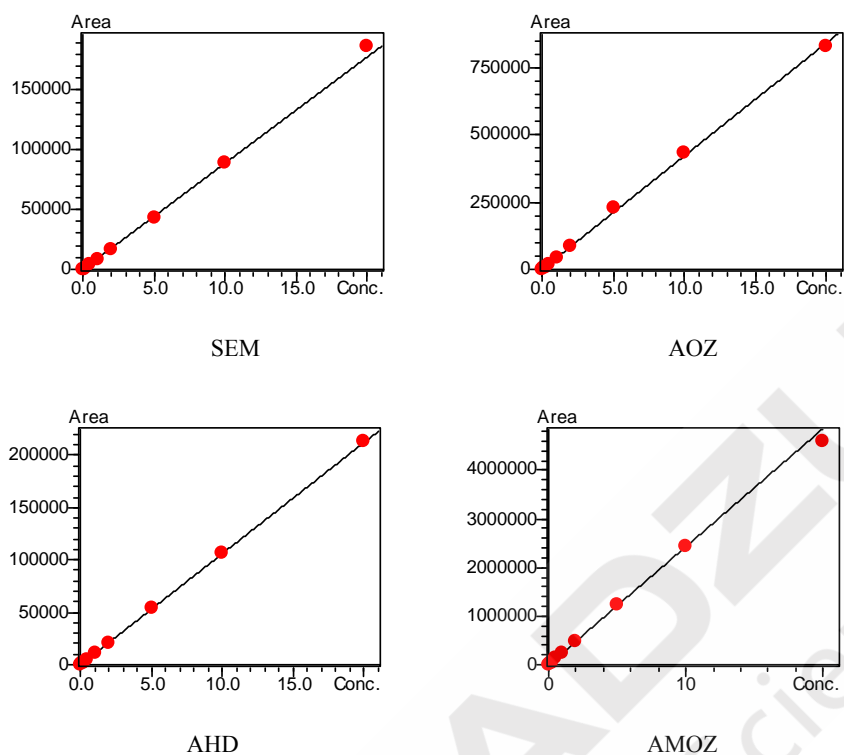


图2 标准工作曲线

表3 校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	线性范围(ng/mL)	准确度 (%)	相关系数 r
1	SEM	$Y = (8892.23)X + (-316.210)$	0.050~20	93.2~111.6	0.9970
2	AOZ	$Y = (42020.9)X + (65.5028)$	0.050~20	94.0~108.4	0.9986
3	AHD	$Y = (10603.3)X + (-260.028)$	0.050~20	95.5~102.1	0.9996
4	AMOZ	$Y = (242918)X + (-322.397)$	0.050~20	94.5~103.8	0.9996

### 2.3 检出限和定量限

对浓度为 0.05 ng/mL 的混合标准溶液进样分析，最低检出限（S/N=3, LOD 表示）、最低定量限（S/N=10, LOQ 表示）结果如表 4 所示。

表4 检出限和定量限

No.	名称	信噪比	检出限(ng/mL)	定量限(ng/mL)
1	SEM	10	0.015	0.05
2	AOZ	156	0.00096	0.0032
3	AHD	150	0.0010	0.0033
4	AMOZ	633	0.00024	0.00079

## 2.4 精密度实验

对两个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。三个浓度标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.09~0.18%和 0.85~1.99%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)

样品名称	RSD% (0.5 ng/mL)		RSD% (2 ng/mL)	
	R.T	Area	R.T	Area
SEM	0.14	1.99	0.09	1.86
AOZ	0.13	1.94	0.12	1.65
AHD	0.18	1.97	0.14	1.61
AMAZ	0.18	1.97	0.09	0.85

## 2.5 回收率实验

按照 1.3 中样品制备方法提取净化的空白鱼肉样品中添加混合标样，加标含量为 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，进样浓度为 1.0 ng/mL，空白基质色谱图如图 3 所示，基质加标样品色谱图如图 4 所示。

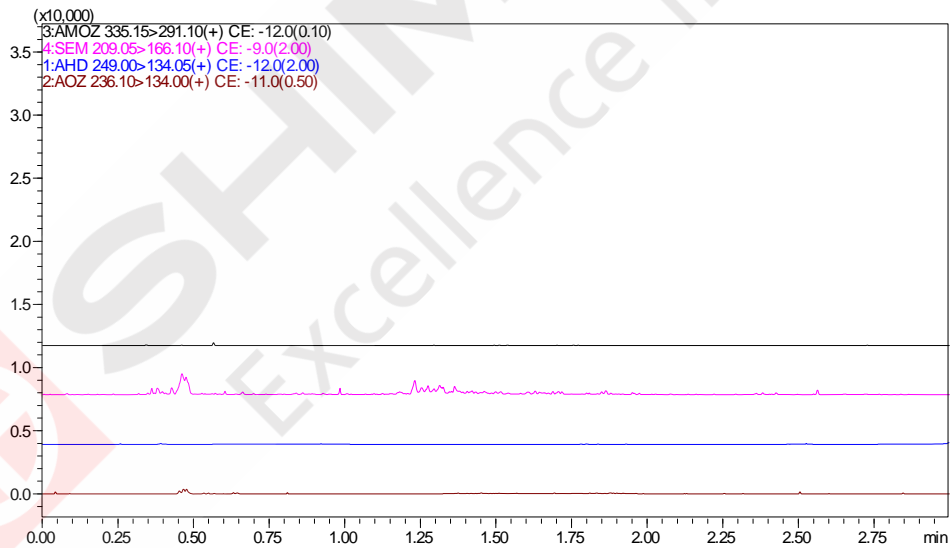


图 3 空白基质色谱图

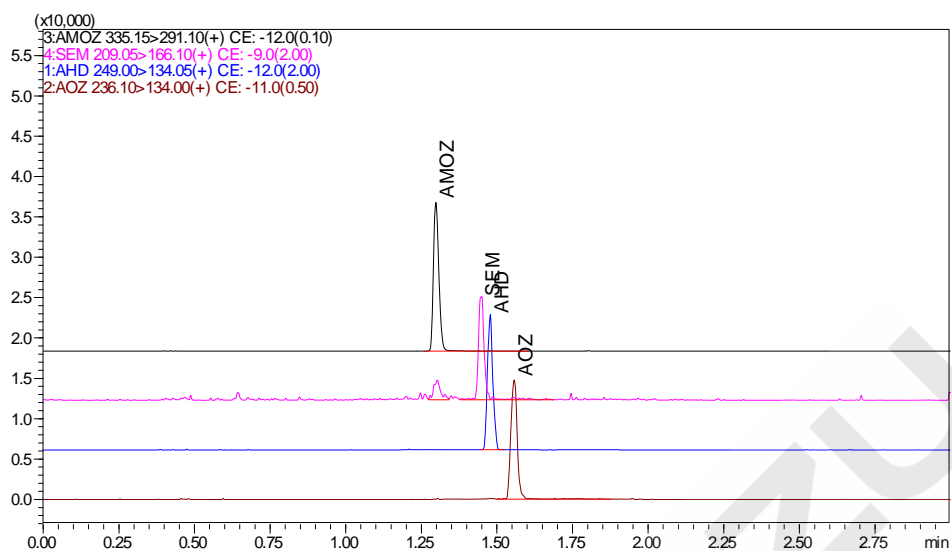


图4 基质加标样品色谱图 (1.0 ng/mL)

### 3. 结论

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 联用测定鱼肉基质中的硝基咪唑类代谢物。参考《GB/T 21311-2007 动物源性食品中硝基咪唑类药物代谢物残留量检验方法高效液相色谱串联质谱法》，3-氨基-2-恶唑酮(AOZ)、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮(AMOZ)、1-氨基-乙内酰脲(AHD)和氨基脲(SEM)四种物质在 0.05~20 ng/mL 浓度范围内线性良好，相关系数均大于 0.9970。此方法快速、简单、选择性强和灵敏度高，满足目前动物源食品中硝基咪唑类代谢物残留量检测要求。

## LCMS-8045 测定猪肉中磺胺类药物残留

**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胺嘧啶联用, 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。

### 1. 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<sub>5R</sub> (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: 0.30 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:

离子化模式: ESI(+)

加热气: 空气 10.0 L/min

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 10.0 L/min

接口温度: 300°C

DL 温度: 250°C

加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测(MRM), MRM 参数请见表 2.

## 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、磺胺二甲异恶唑、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。

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	磺胺甲恶唑	254.10	156.05*	-29.0	-16.0	-30.0
			108.10	-12.0	-24.0	-21.0
9	磺胺二甲异恶唑	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

## 2. 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。

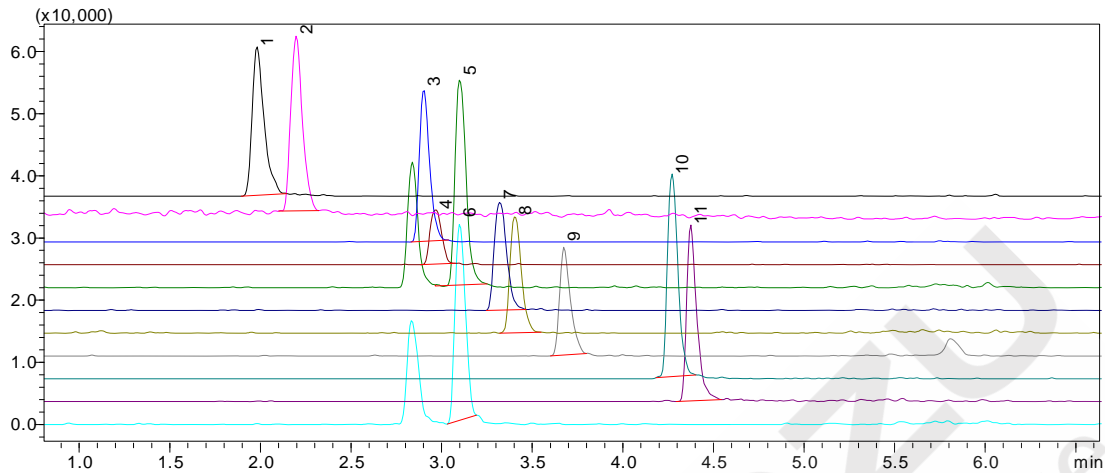


图 1 混合标准样品的 MRM 色谱图 (0.5 µg/L)

(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、磺胺甲噻唑；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	磺胺甲噻唑	$Y = (154848)X + (4259.61)$	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 µg/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 (μg/L)	定量限 (μg/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 μg/L)		RSD% (10 μg/L)	
		R.T.	Area	R.T.	Area
1	磺胺醋酸	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。

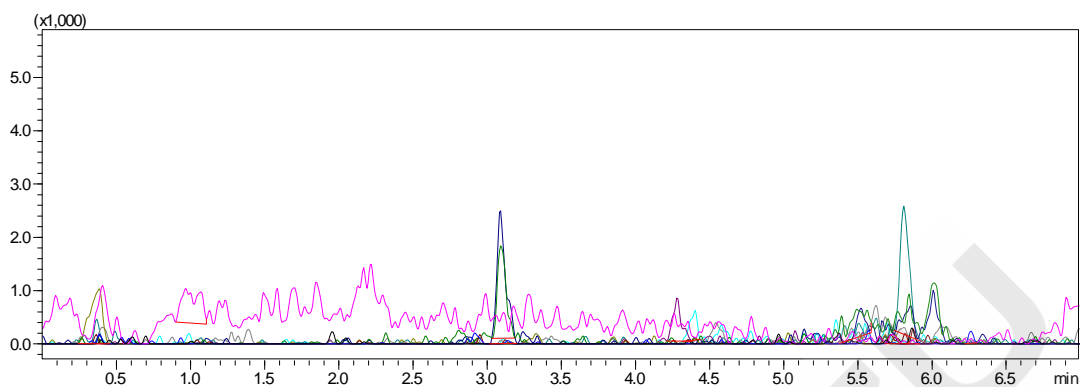


图 2 空白基质色谱图

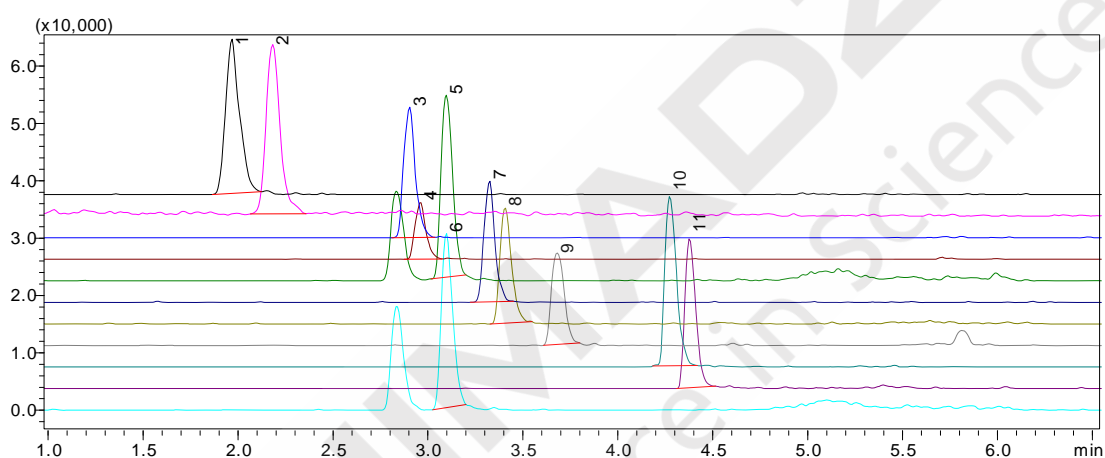


图 3 加标回收色谱图

(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

### 3. 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。



SHIMADZU  
Excellence in Science

## LCMS-8045 测定牛奶中 5 种雌激素含量

**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 联用测定牛奶中雌酮、17 $\beta$ -雌二醇、雌三醇 3 种天然雌激素和己雌酚、己烯雌酚 2 种合成雌激素含量的方法。牛奶样品以乙腈沉淀蛋白, 并超声萃取后, 不需要经过衍生, 样品在 ESI 源负离子模式下电离, MRM 模式采集数据, 外标法定量, 校准曲线线性良好, 线性相关系数均不低于 0.9993. 对低、中、高不同浓度的样品平行测试 6 次, 保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05 ~ 0.12%和 0.42 ~ 8.26%之间, 仪器定量限在 0.006~0.033 ng/mL. 该方法前处理简单、灵敏度高、重复性好, 可用于牛奶样品中雌激素含量的检测。

**关键词:** 三重四极杆质谱 LCMS-8045 牛奶 雌激素 负离子模式

雌激素属于类固醇类激素的一种, 其在奶牛养殖业被广泛使用, 以提高奶牛的产奶量, 这种做法在提高经济效益的同时可能会使得雌激素在牛奶中残留。近年来, 已经有大量研究证明: 雌激素通过食物链进入人体可能会诱发乳腺、子宫、睾丸、骨、肾和其他一些组织的癌症。因此牛奶中雌激素的分析和检测具有十分重要的现实意义。

本文以雌酮 (Estrone, E<sub>1</sub>)、17  $\beta$ -雌二醇 (17  $\beta$ -Estradiol, E<sub>2</sub>)、雌三醇 (Estrinol, E<sub>3</sub>)、己雌酚 (Hexestrol, HEX) 和己烯雌酚 (Diethylstilbestrol, DES) 为目标物, 利用岛津 LCMS-8045 建立了牛奶中雌激素含量的检测方法: 牛奶样品以乙腈沉淀蛋白, 并超声萃取后, 不需要经过衍生, 样品在 ESI 源负离子模式下电离, MRM 模式采集数据, 外标法定量。该方法前处理简单、灵敏度高、重复性好, 可用于牛奶样品中雌激素含量的检测。

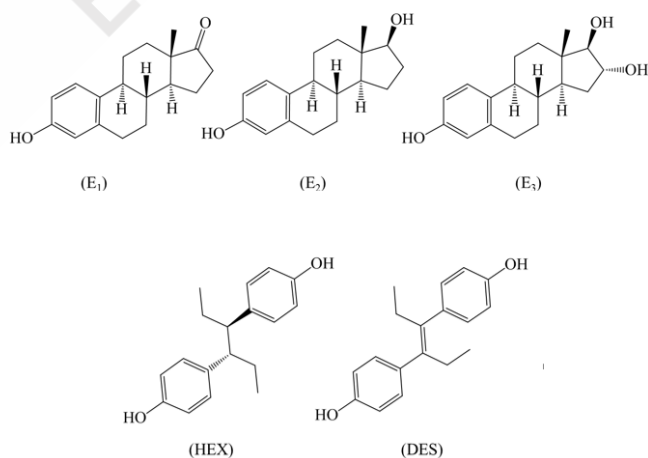


图1 5种雌激素分子结构式

## 1. 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×2 输液泵, DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 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 GISS Column (2.1 mm I.D.×100 mm L., 1.9 μm C18)

流动相: A 相-0.03%氨水溶液, B 相-乙腈

流速: 0.4 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 20%, 洗脱程序见表 1.

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.30	Pumps	Pump B Conc.	20
0.50	Pumps	Pump B Conc.	50
3.50	Pumps	Pump B Conc.	50
3.70	Pumps	Pump B Conc.	95
4.50	Pumps	Pump B Conc.	95
4.60	Pumps	Pump B Conc.	20
7.00	Controller	Stop	

#### 质谱条件

离子化模式: ESI(-)

DL 温度: 150°C

加热气: 空气 12.0 L/min

加热模块温度: 350°C

雾化气: 氮气 2.0 L/min

扫描模式: 多反应监测(MRM)

干燥气: 氮气 8.0 L/min

驻留时间: 100 ms

碰撞气: 氩气

延迟时间: 3 ms

接口温度: 350°C

MRM 参数: 见表 2

表2 MRM优化参数

化合物	英文名	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
雌三醇	Estriol (E3)	50-27-1	287.20	171.10*	20.0	40.0	27.0
				145.10	20.0	47.0	22.0
17 $\beta$ -雌二醇	17 $\beta$ -Estradiol (17 $\beta$ -E2)	50-28-2	271.20	145.10*	13.0	44.0	21.0
				183.20	28.0	45.0	30.0
雌酮	Estrone (E1)	53-16-7	269.20	145.10*	30.0	41.0	25.0
				143.00	13.0	66.0	12.0
己雌酚	Hexestrol (HEX)	84-16-2	269.20	119.05*	19.0	43.0	18.0
				134.10	19.0	16.0	11.0
己烯雌酚	Diethylstilbestrol (DES)	6898-97-1	267.20	251.10*	18.0	27.0	23.0
				237.10	18.0	31.0	22.0

注：\*表示定量离子

### 1.3 标准溶液的配制

标准溶液配制：将 100 mg/L 混合标样储备液以 50% 甲醇水溶液逐级稀释得到浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1.0、5.0、10.0、50.0、100.0 ng/mL 的标准溶液。

### 1.4 样品前处理方法

取 200  $\mu$ L 牛奶样品，加入 800  $\mu$ L 乙腈，涡旋振荡 1 min，超声萃取 20 min，10000 rpm 离心 3 min，取上清液上机检测。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 标准样品色谱图

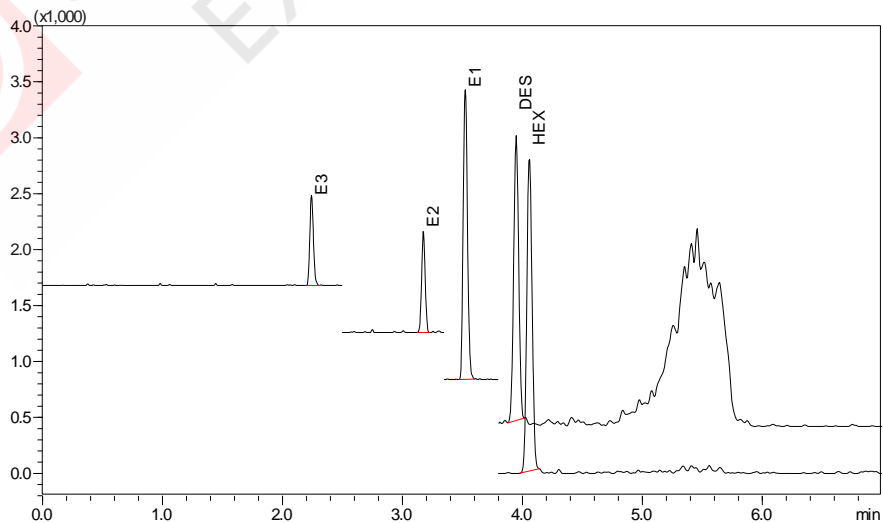


图2 0.2 ng/mL 标准样品 MRM 色谱图

## 2.2 线性范围

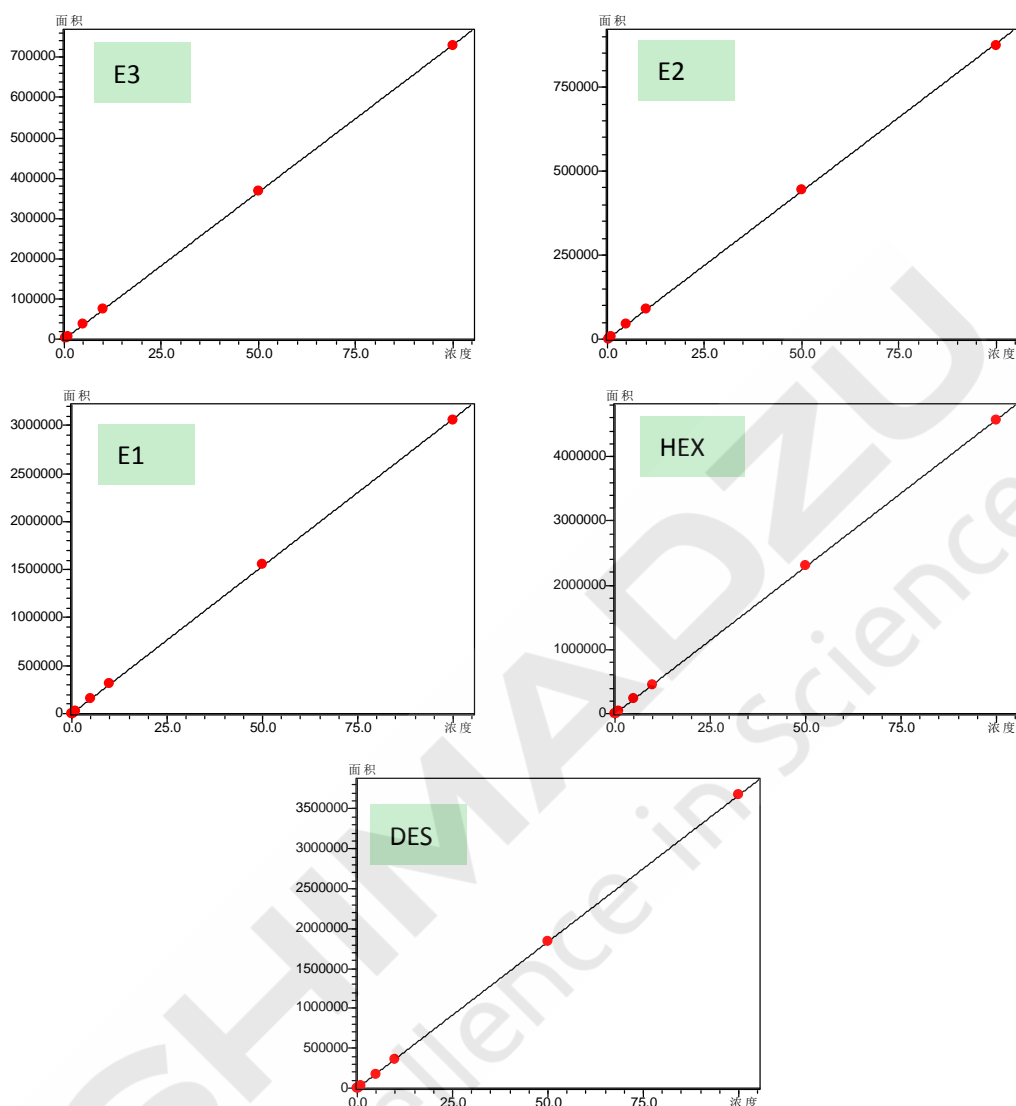


图3 校准曲线

将浓度为 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 50.0 和 100.0 ng/mL 的 4 种目标物标准工作液, 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, 如图 2 所示, 线性方程、线性范围和相关系数见表 3。

表 3 校准曲线参数

名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	线性相关系数 R	准确度 (%)
E3	$Y = (7335.5)X + 150.426$	0.2-100	0.9999	96.01-103.4%
E2	$Y = (8932.6)X - 2.7160$	0.2-100	0.9999	95.5-104.7%
E1	$Y = (30778.2)X - 18.0396$	0.1-100	0.9998	94.7-104.9%
HEX	$Y = (45714.2)X - 376.316$	0.1-100	0.9999	96.5-106.1%
DES	$Y = (36057.1)X - 196.210$	0.1-100	0.9997	93.4-105.1%

## 2.3 精密度实验

配制目标物浓度分别为 0.2、5.0、100 ng/mL 的混合标样，平行测定各 6 次，考察仪器的重复性，保留时间和峰面积重复性结果如表 4 所示，仪器重复性良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

名称	RSD (% , 0.2 ng/mL)		RSD (% , 5.0 ng/mL)		RSD (% , 100 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
E3	0.12	3.99	0.11	1.33	0.08	0.42
E2	0.12	5.34	0.09	1.48	0.06	0.54
E1	0.10	2.20	0.09	0.62	0.06	0.51
HEX	0.11	3.35	0.09	0.84	0.05	0.49
DES	0.08	8.26	0.09	1.62	0.05	0.39

## 2.4 灵敏度实验

对目标物浓度为 0.20 ng/mL 标准溶液进样分析，由信噪比计算各目标组分仪器检出限(ILOD, S/N=3) 和仪器定量限 (ILOQ, S/N=10)，结果如表 5 所示。

表 5 检出限和定量限

名称	检出限(ng/mL)	定量限(ng/mL)
E3	0.008	0.025
E2	0.007	0.021
E1	0.002	0.006
HEX	0.007	0.020
DES	0.010	0.033

## 2.5 回收率实验

将在超市购买的某品牌牛奶按照 1.4 对样品处理后进样分析，结果 5 种目标组分均未检出，如图 4 所示。在牛奶中添加 5 种目标组分，计算加标回收率，结果如表 6 所示。

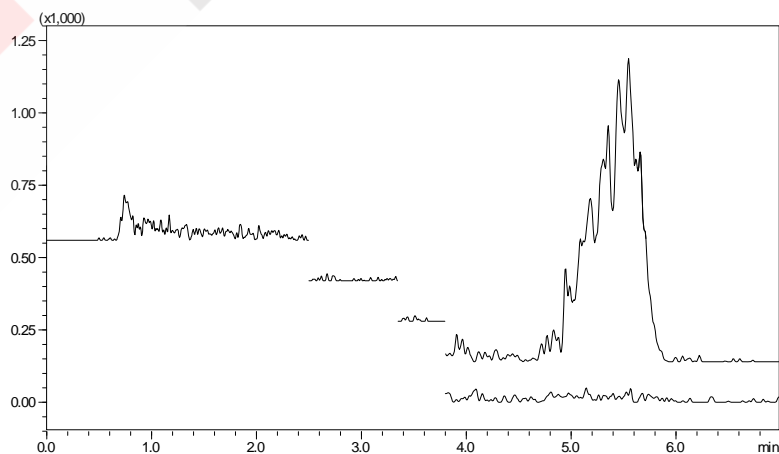


图 4 阴性样品色谱图

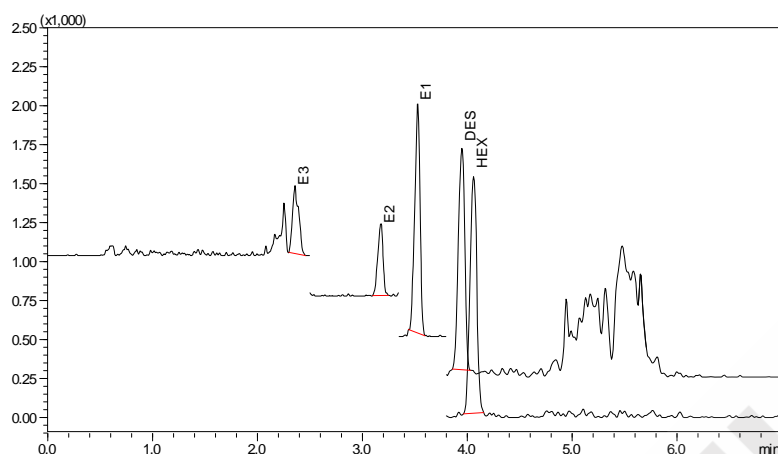


图 5 空白基质加标 0.2 ng/mL 色谱图

表 6 加标回收实验

名称	加标浓度 (ng/mL)	平均回收率 (%)	加标浓度 (ng/mL)	平均回收率 (%)	加标浓度 (ng/mL)	平均回收率 (%)
E3	0.2	103.3	4.0	86.5	80	92.0
E2	0.2	87.8	4.0	103.3	80	106.0
E1	0.2	86.8	4.0	102.4	80	106.3
HEX	0.2	81.0	4.0	90.8	80	95.9
DES	0.2	83.3	4.0	102.9	80	109.4

### 3. 结论

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 联用测定牛奶中雌酮、17 $\beta$ -雌二醇、雌三醇 3 种天然雌激素和己雌酚、己烯雌酚 2 种合成雌激素含量的方法。牛奶样品以乙腈沉淀蛋白，并超声萃取后，不需要经过衍生，样品在 ESI 源负离子模式下电离，MRM 模式采集数据，外标法定量，校准曲线线性良好，线性相关系数均不低于 0.9993。对低、中、高不同浓度的样品平行测试 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05 ~ 0.12% 和 0.42 ~ 8.26% 之间，仪器定量限在 0.006~0.033 ng/mL。该方法前处理简单、灵敏度高、重复性好，可用于牛奶样品中雌激素含量的检测。

## LCMS-8045 测定食醋中阿维菌素类药物残留

**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 联用测定食醋中阿维菌素类药物残留的方法。该方法在 6 min 内完成, 以外标法定量, 校准曲线线性良好, 线性相关系数均在 0.997 以上。对低、中、高不同浓度的样品平行测试 6 次, 保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02~0.09% 和 0.66~4.57% 之间, 仪器精密度良好。4 种阿维菌素类药物的检出限和定量限分别在 0.22~0.25 ng/mL 和 0.75~0.83 ng/mL 之间。

**关键词:** 阿维菌素 食醋 超高效液相色谱 三重四极杆质谱

阿维菌素类药物主要品种有阿维菌素、埃普利诺菌素、多拉菌素、伊维菌素等。这类药物具有优异的驱虫性, 是目前应用最广泛的抗寄生虫药物。虽然阿维菌素类药物属于微生物源农药, 但对大鼠的LD50为10 mg/kg, 与硫磷农药相仿, 故世界卫生组织将其列为高毒化合物。阿维菌素类药物目前主要的检测方法有液相色谱-紫外检测法、液相色谱-荧光法、酶联免疫吸附法(ELISA)等。

近年来, 用高效液相色谱-串联质谱分析检测阿维菌素类药物残留的方法大量被报道, ESI及APCI两种离子源均可用于阿维菌素类药物的LC-MS/MS分析, 国标《GB/T 21320-2008 动物源食品中阿维菌素类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》采用ESI源, 对阿维菌素、埃普利诺菌素、多拉菌素、伊维菌素4种阿维菌素类药物的检出限要求为1.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准《SN/T 1973-2007 进出口食品中阿维菌素残留量的检测方法 高效液相色谱-质谱/质谱法》采用APCI源, 对阿维菌素的检测低限要求为5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . 当采用ESI的正离子扫描模式进行分析时, 阿维菌素类药物的母离子更倾向于以 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 离子形式进行检测, 但如果萃取基质中钠含量较低或萃取方法导致萃取液中仅含有痕量的钠离子, 以 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 离子形式检测常出现线性关系不理想的情况。为此有文献建议采用APCI的负离子模式检测母离子 $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 可以获得较好的线性关系。采用ESI源用于阿维菌素类药物的LC-MS/MS分析, 岛津中国已有相关应用报告(报告编号: AP\_News\_LCMSMS-050)应对。

本文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, 采用APCI源, 参考SN/T 1973-2007和GB/T 21320-2008建立了高灵敏度、快速检测食醋中阿维菌素类药物残留量的方法, 结果优于上述标准检测要求, 可供相关检测人员参考。

## 1. 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×2 输液泵, DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 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 (3.0 mm I.D.×75 mm L., 2.2 μm)

流动相: A 相-5 mM NH<sub>4</sub>Ac 水溶液, B 相-甲醇

流速: 1.20 mL/min

柱温: 40°C

进样量: 20 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 75%, 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.	100
4.40	Pumps	Pump B Conc.	100
4.50	Pumps	Pump B Conc.	75
3	Controller	Stop	

#### 质谱条件

离子化模式: APCI(-)

DL 温度: 100°C

离子源接口电压: -4.5 kV

加热模块温度: 200°C

雾化气: 氮气 3.0 L/min

扫描模式: 多反应监测(MRM)

干燥气: 氮气 6.0 L/min

驻留时间: 40 ms

碰撞气: 氩气

延迟时间: 3 ms

接口温度: 350°C

MRM 参数: 见表 2

### 1.3 标准溶液的配制

用乙腈配制 1 mg/mL 的混合标准储备液, 然后用乙腈逐级稀释成浓度为 1、2、5、10、20、50、100、200、400 ng/mL 的系列标准工作液。

表 2 MRM 参数

编号	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	阿维菌素	871.35	565.25*	32.0	21.0	18.0
			229.20	46.0	40.0	50.0
2	埃普利诺菌素	912.35	565.35*	20.0	29.0	18.0
			270.20	46.0	42.0	50.0
3	多拉菌素	897.35	591.35*	16.0	28.0	18.0
			229.20	44.0	43.0	46.0
4	伊维菌素	873.35	567.30*	16.0	28.0	10.0
			229.15	44.0	40.0	50.0

\*表示定量离子

## 1.4 样品前处理方法

参照行业标准《SN/T 1973-2007 进出口食品中阿维菌素残留量的检测方法 高效液相色谱-质谱/质谱法》。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 标准样品一级质谱图和产物离子质谱扫描图

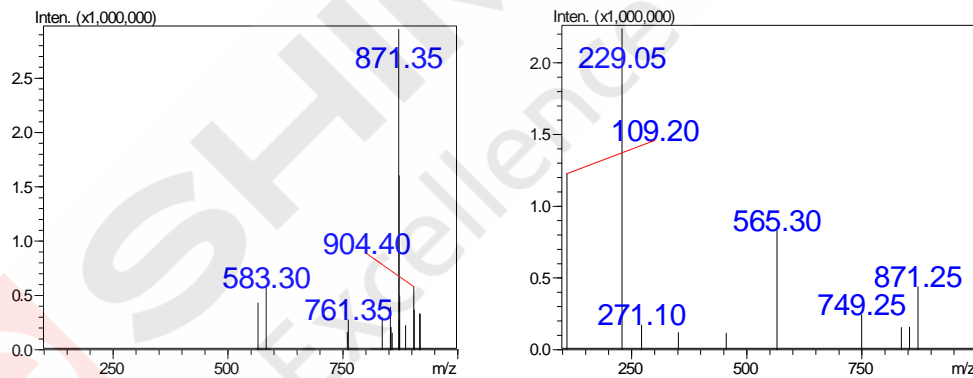


图 1 阿维菌素的一级质谱图(左图)和产物离子质谱扫描图(右图, CE 值为 40V)

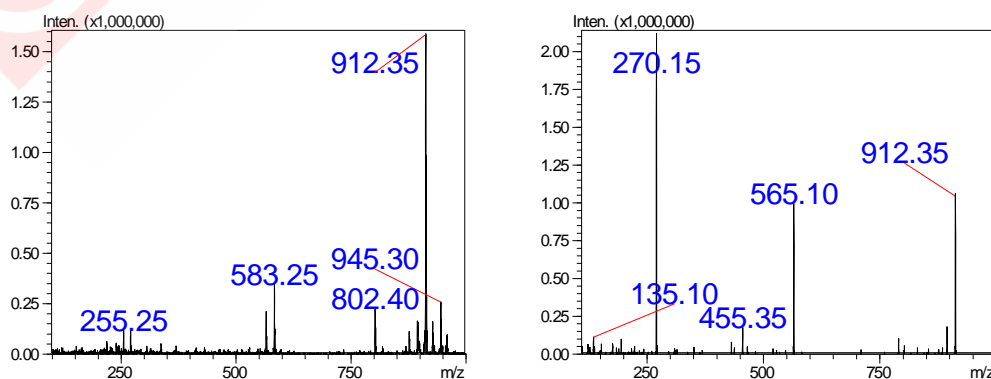


图 2 埃普利诺菌素的一级质谱图(左图)和产物离子质谱扫描图(右图, CE 值为 40V)

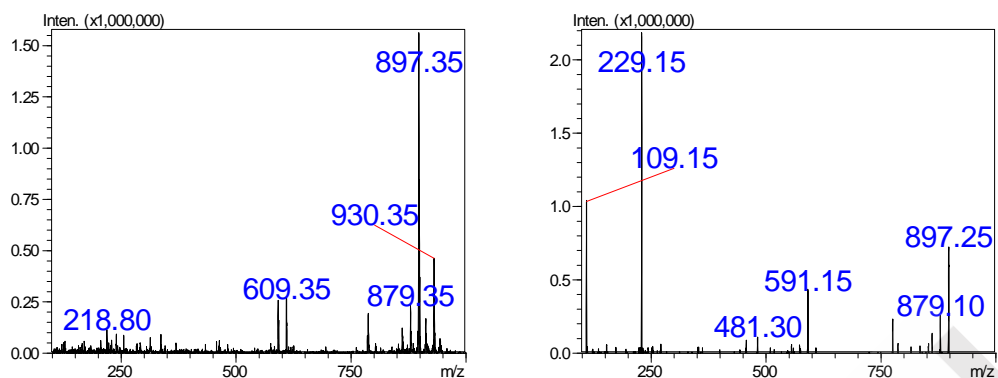


图3 多拉菌素的一级质谱图(左图)和产物离子质谱扫描图(右图, CE 值为 40V)

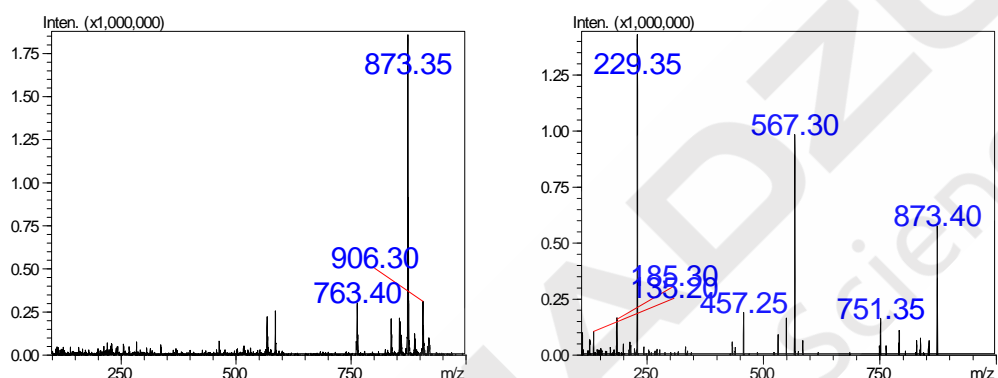


图4 伊维菌素的一级质谱图(左图)和产物离子质谱扫描图(右图, CE 值为 40V)

## 2.2 标准样品的 MRM 色谱图

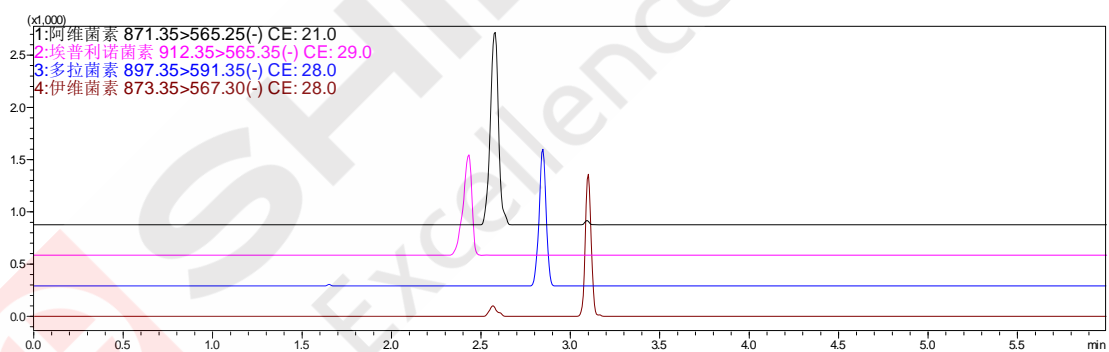


图5 1 ng/mL 的四种阿维菌素类药物标准样品的 MRM 色谱图

## 2.3 线性范围

将浓度为 1、2、5、10、20、50、100、200、400 ng/mL 的标准溶液按 1.2 中的分析条件上机分析, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 外标法建立校准曲线, 结果如图 6~9 所示, 4 种阿维菌素类药物在 1~400 ng/mL 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。

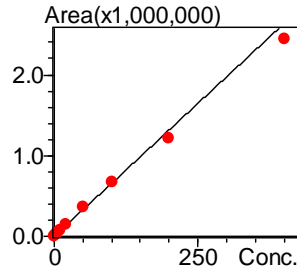


图 6 阿维菌素的标准曲线

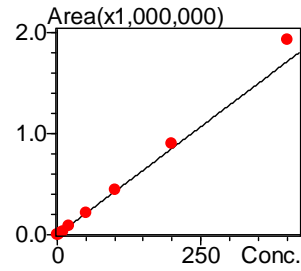


图 7 埃普利诺菌素的标准曲线

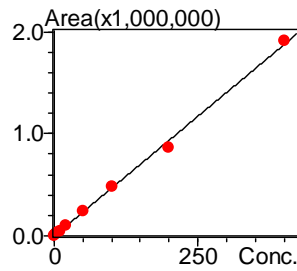


图 8 多拉菌素的标准曲线

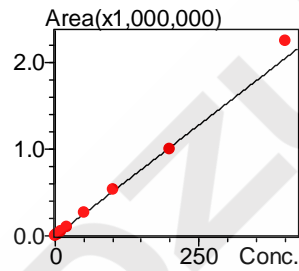


图 9 伊维菌素的标准曲线

表 3 4 种阿维菌素类药物的校准曲线参数 (权重 1/C<sup>2</sup>)

名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度 (%)
阿维菌素	$Y = (6631.81)X + (-448.237)$	1.00~400.00	0.9977	90.9~107.4
埃普利诺菌素	$Y = (4314.94)X + (-2460.15)$	1.00~400.00	0.9974	92.0~111.9
多拉菌素	$Y = (4740.90)X + (-850.905)$	1.00~400.00	0.9986	91.5~105.4
伊维菌素	$Y = (5160.71)X + (-1877.62)$	1.00~400.00	0.9975	87.1~109.0

## 2.4 检出限和定量限

对浓度为 1.0 ng/mL 溶液进样分析,以噪声的 3 倍作为最低检出限(即  $S/N=3$ , LOD 表示),以噪声的 10 倍作为最低定量限 (即  $S/N=10$ , LOQ 表示),则仪器对 4 种阿维菌素类药物的最低检出限、最低定量限结果如表 4 所示。

表 4 检出限和定量限

名称	检出限(ng/mL)	定量限(ng/mL)
阿维菌素	0.23	0.77
埃普利诺菌素	0.25	0.83
多拉菌素	0.23	0.76
伊维菌素	0.22	0.77

## 2.5 精密度实验

对 10 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL 的混合标准溶液连续进样 6 次分析,3 个浓度标准

品的相对保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02~0.09%和 0.66~4.57 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)

名称	RSD% (10 ng/mL)		RSD % (100 ng/mL)		RSD% (200 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
阿维菌素	0.03	2.79	0.02	3.18	0.02	0.66
艾普利诺菌素	0.09	4.57	0.02	1.31	0.05	1.30
多拉菌素	0.05	3.76	0.02	2.68	0.02	1.30
伊维菌素	0.03	2.55	0.02	2.92	0.02	0.92

## 2.6 基质效应

分别配制低、中、高三份不同浓度的标准溶液和样品加标液，以相同浓度样品加标液所得峰面积同标准溶液所得峰面积的比值换算成百分比作为基质效应进行考察，所得基质效应结果在 80%~120%之间，则认为基质效应对目标物检测的干扰较小。实验结果见表 6，由表 6 可知基质效应对目标物检测的干扰较小。

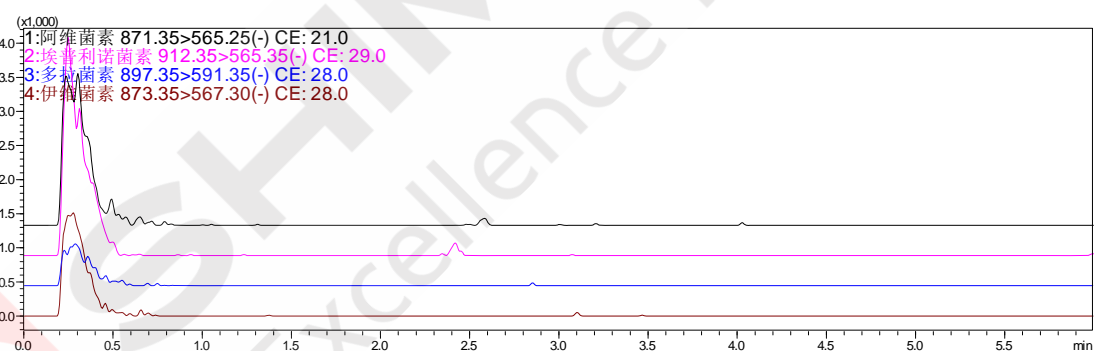


图 10 食醋空白基质的 MRM 色谱图

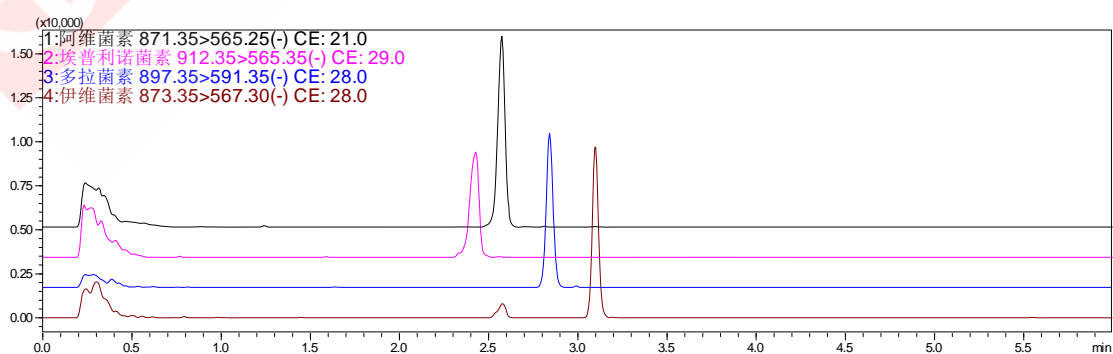


图 11 食醋基质加标样的 MRM 色谱图 (5 ng/mL)

表 6 基质效应

加标浓度 (ng/mL)	阿维菌素 (%)	埃普利诺菌素 (%)	多拉菌素 (%)	伊维菌素 (%)
10	103.8	105.7	117.1	109.7
100	84.5	91.7	101.1	90.6
200	94.7	82.0	118.4	100.4

### 2.7 回收率考察

向空白食醋中分别添加混标，参照 1.4 中方法处理加标样品，使进样浓度分别为 10 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL；另参照 1.4 方法，制得食醋空白基质，向食醋空白基质中添加混标，使进样浓度分别为 10 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL。分别进样分析，以相应的处理前加标进样分析得到的峰面积和处理后加标进样分析得到的峰面积之比值作为回收率。得到各个浓度下的回收率如表 7 所示：

表 7 回收率考察

加标浓度 (ng/mL)	阿维菌素 (%)	埃普利诺菌素 (%)	多拉菌素 (%)	伊维菌素 (%)
10	77.5	74.3	78.0	71.9
100	81.2	72.8	80.4	75.3
200	88.0	76.4	78.0	77.4

### 3. 结论

本文建立了一种岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定食醋中阿维菌素类药物残留量的方法。以外标法定量，校准曲线线性良好，线性相关系数均大于 0.997。对低、中、高不同浓度的样品平行测试 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02~0.09% 和 0.66~4.57% 之间，仪器精密度良好。检出限和定量限分别在 0.22~0.25 ng/mL 和 0.75~0.83 ng/mL 之间，满足目前食品中阿维菌素类药物残留量检测要求。该方法可为相关人员检测食品中阿维菌素类药物残留量提供参考。

# 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定鸡肉中喹诺酮类抗生素残留

**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 联用测定鸡肉中 12 种喹诺酮类抗生素的方法。该方法在 9 min 内完成 12 种抗生素的分析，校准曲线的相关系数均在 0.997 以上。对不同浓度抗生素的混合标准溶液各平行测试 6 次，12 种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.03~0.27%和 1.13~4.93%之间，仪器精密度良好。对于不同浓度下基质加标回收率范围在 91.90~108.60%之间。该方法可应用于鸡肉中 12 种喹诺酮类抗生素残留的同时检测。

**关键词：**三重四极杆质谱 喹诺酮 鸡肉 抗生素

喹诺酮类药物 (Quinolones, QNs) 是一类人工合成的广谱杀菌性抗菌药物，因其抗菌谱广、抗菌活性强等优点，而广泛应用于人、家禽、家畜的多种感染性疾病的预防和治疗。但过量或不正当使用会导致动物体内 QNs 药物残留量过高。特别是食品源性动物除其本身的毒副作用对人体造成直接危害外，人类长期食用含 QNs 药物的动物性食品容易诱导耐药性的传递，从而影响该类药物对人体的临床疗效。因此，喹诺酮类药物的残留问题越来越引起人们的关注。美国，日本，欧盟及我国都对食品中 QNs 最大残留量有相关规定，根据不同品种、组织和药物种类，食品中 QNs 药物的最大残留量为 10~6000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

鸡肉作为我国大量使用的肉类食品，对鸡肉中喹诺酮类药物的残留检测，具有重要的意义。高效液相色谱-串联质谱联用技术是近些年来快速发展的分析技术，具有很高的选择性和灵敏度，对复杂基质中的抗生素类残留具有很强的定性和定量能力，准确度高，是目前超痕量残留分析的首选方法。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 联用测定鸡肉中 12 种喹诺酮类抗生素的方法。

## 1. 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<sub>5</sub> 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 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

## 液相条件

色谱柱: Shim-pack GISS 2.1 mm I.D.× 100 mm L., 1.9 μm

流动相: A 相-0.2%甲酸水溶液; B 相-乙腈/甲醇 (6:4)

流速: 0.4 mL/min

柱温: 40°C

进样量: 10 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
4.50	Pumps	Pump B Conc.	40
4.60	Pumps	Pump B Conc.	95
5.50	Pumps	Pump B Conc.	95
5.60	Pumps	Pump B Conc.	10
9.00	Controller	Stop	

## 质谱条件

离子化模式: ESI(+)

加热气: 空气 10.0 L/min

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 10.0 L/min

碰撞气: 氩气

源温度: 300°C

DL 温度: 250°C

加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测(MRM), MRM 参数见表 2.

### 1.3 标准溶液的配制

分别称取喹诺酮标准品适量, 用甲醇溶解、配制成 1.0 mg/mL 的混合标准储备液, 置于 -18°C 冰箱中保存。取准确体积的标样储备液, 加入到空白鸡肉基质中, 依次配制成 0.2 ng/mL, 0.5 ng/mL, 1 ng/mL, 5 ng/mL, 10 ng/mL, 20 ng/mL, 50 ng/mL 浓度的混合标准工作液。

表 2 MRM 优化参数

No	化合物	英文名	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	吡哌酸	Pipemidic Acid	51940-44-4	304.1	286.1*	-16	-21	-20
					215.1	-30	-38	-24
2	依诺沙星	Enoxacin	84294-96-2	321.1	303.1*	-13	-22	-11
					232.1	-13	-35	-16
3	氧氟沙星	Ofloxacin	82419-36-1	362.1	318.2*	-12	-21	-22
					261.1	-12	-29	-18
4	诺氟沙星	Norfloxacin	70458-96-7	320.0	302.1*	-11	-22	-21
					231.1	-11	-39	-24
5	培氟沙星	Pefloxacin	149676-40-4	334.1	316.1*	-28	-23	-22
					290.1	-13	-18	-14
6	环丙沙星	Ciprofloxacin	93107-08-5	332.0	314.1*	-11	-16	-24
					231.0	-11	-37	-25
7	洛美沙星	Lomefloxacin	98079-52-8	352.1	265.1*	-16	-25	28
					308.1	-16	-17	-21
8	达氟沙星	Danofloxacin	119478-55-6	358.1	340.1*	-14	-24	-12
					255.1	-14	-40	-17
9	恩诺沙星	Enrofloxacin	93106-60-6	360.1	316.2*	-12	-20	-11
					342.1	-12	-20	-11
10	西诺沙星	Cinoxacin	28657-80-9	263.0	245.0*	-28	-15	-26
					217.0	-28	-23	-22
11	奥索利酸	Oxolinic Acid	14698-29-4	262.1	244.0*	-17	-18	-26
					216.1	-30	-28	-23
12	氟甲喹	Flumequine	42835-25-6	262.1	244.1*	-16	-16	-17
					202.0	-16	-36	-22

注：\*表示定量离子

#### 1.4 样品前处理方法

鸡肉样品的前处理操作方法参照国标《GB/T 21312-2007 动物源性食品中14种喹诺酮类药物残留检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》。称取均质试样5.0 g（精确到0.1 g），置于50 mL聚丙烯离心管中，加入20 mL 0.1 mol/L EDTA-Mellvaine 缓冲液，涡旋混匀后超声提取10 min，10000 r/min离心5 min，提取3次合并上清液。取上清液6 mL经HLB固相萃取柱(200 mg, 6 mL)净化，使用前分别用6 mL 甲醇、6 mL水活化，然后用2 mL 5%甲醇水溶液淋洗，弃去滤液，将小柱抽干，再用6 mL甲醇洗脱并收集洗脱液。洗脱液用氮气吹干，用1 mL流动相溶解，涡旋混匀后过0.22  $\mu\text{m}$ 滤膜，然后进液相色谱-串联质谱测定。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

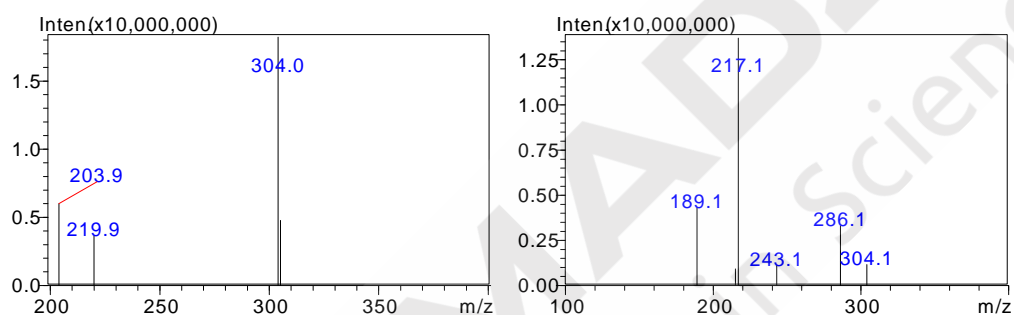


图1 吡哌酸的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-20 V）（右图）

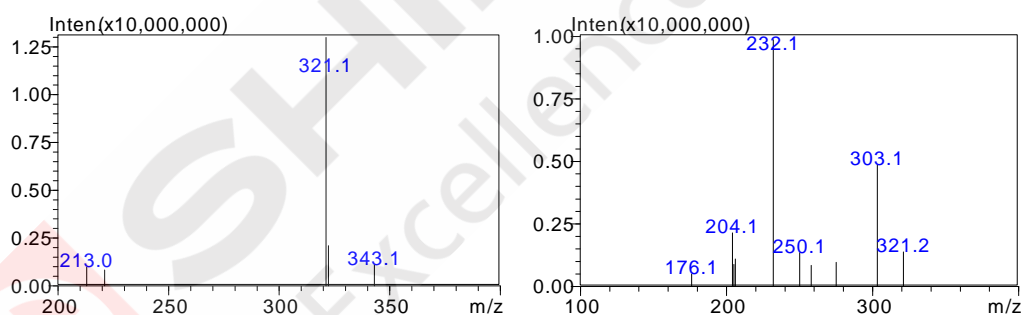


图2 依诺沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-30 V）（右图）

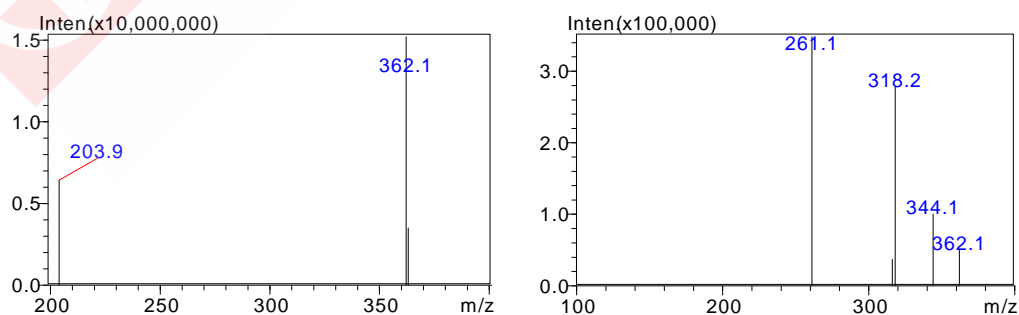


图3 氧氟沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25 V）（右图）

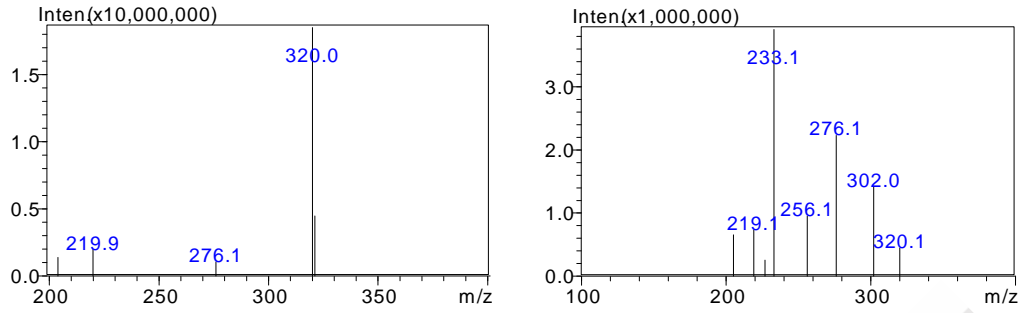


图4 诺氟沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25 V）（右图）

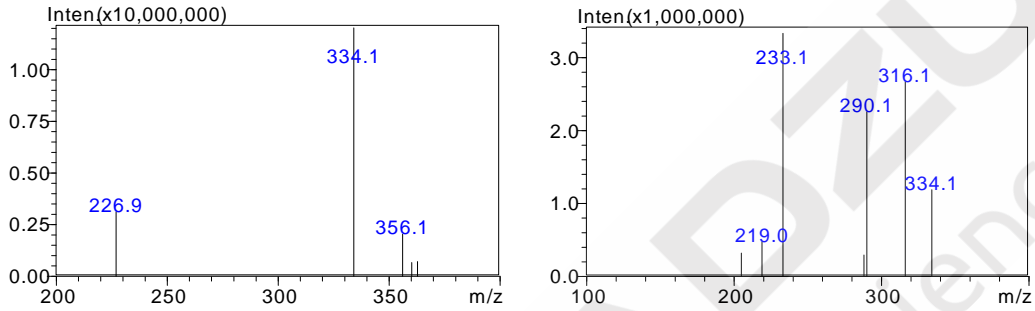


图5 培氟沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25 V）（右图）

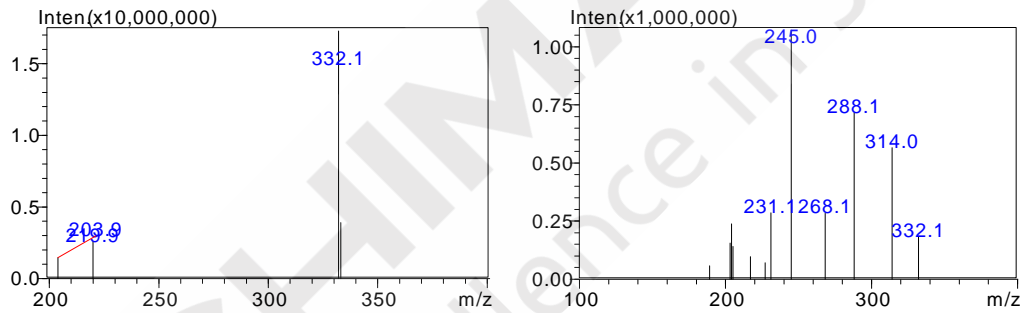


图6 环丙沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25 V）（右图）

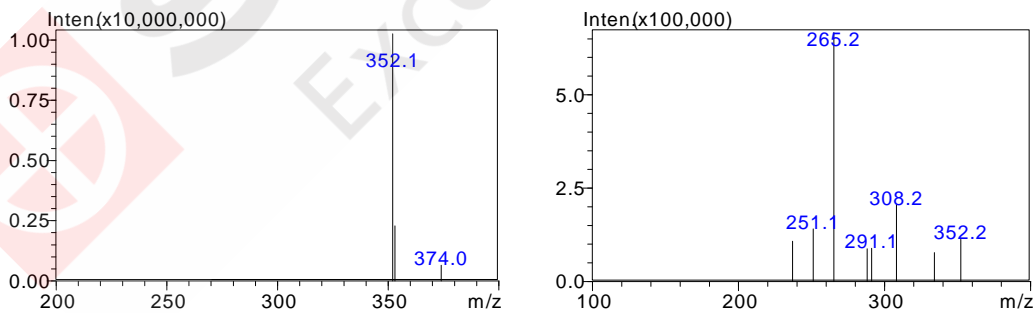


图7 洛美沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25 V）（右图）

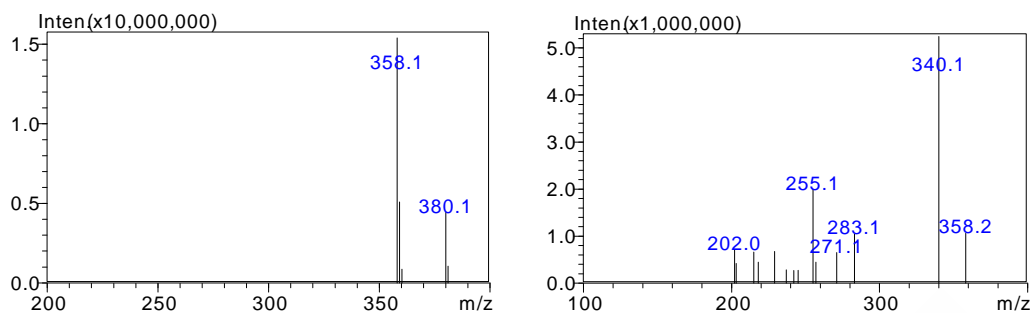


图 8 达氟沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25 V）（右图）

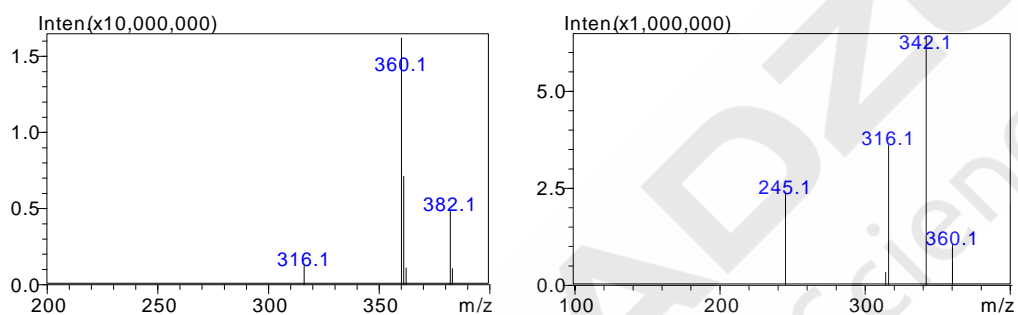


图 9 恩诺沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25 V）（右图）

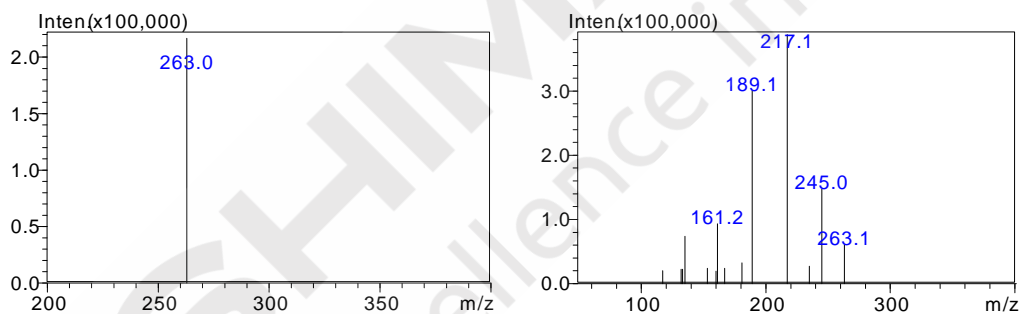


图 10 西诺沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-30 V）（右图）

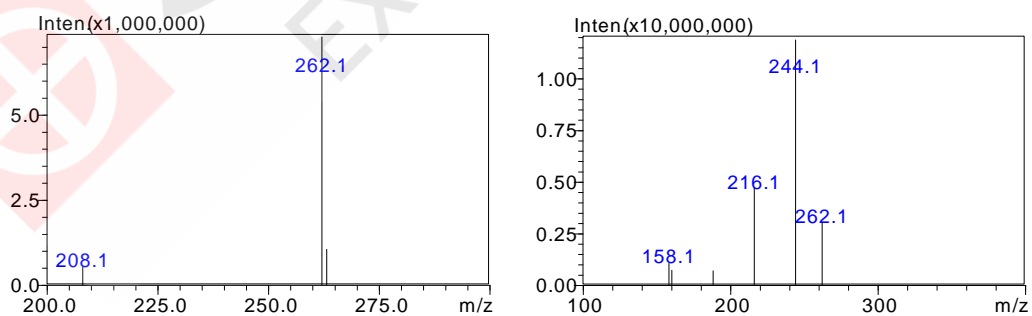


图 11 奥索利酸的—级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25 V）（右图）

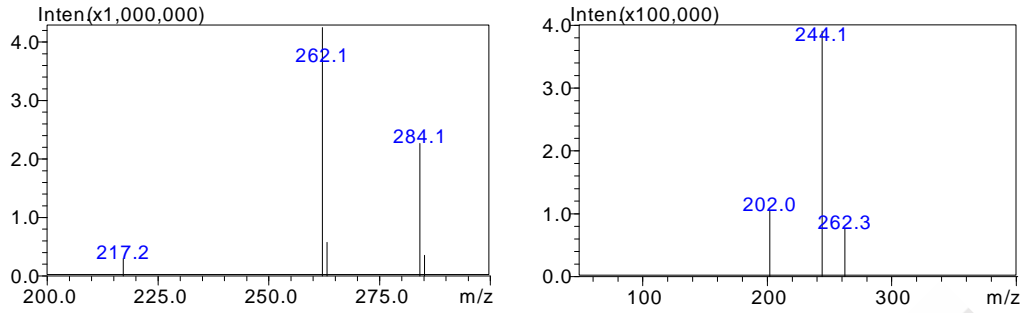


图 12 氟甲喹的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-35 V）（右图）

### 2.2 12 种喹诺酮标准溶液的 MRM 色谱图（1 ng/mL）

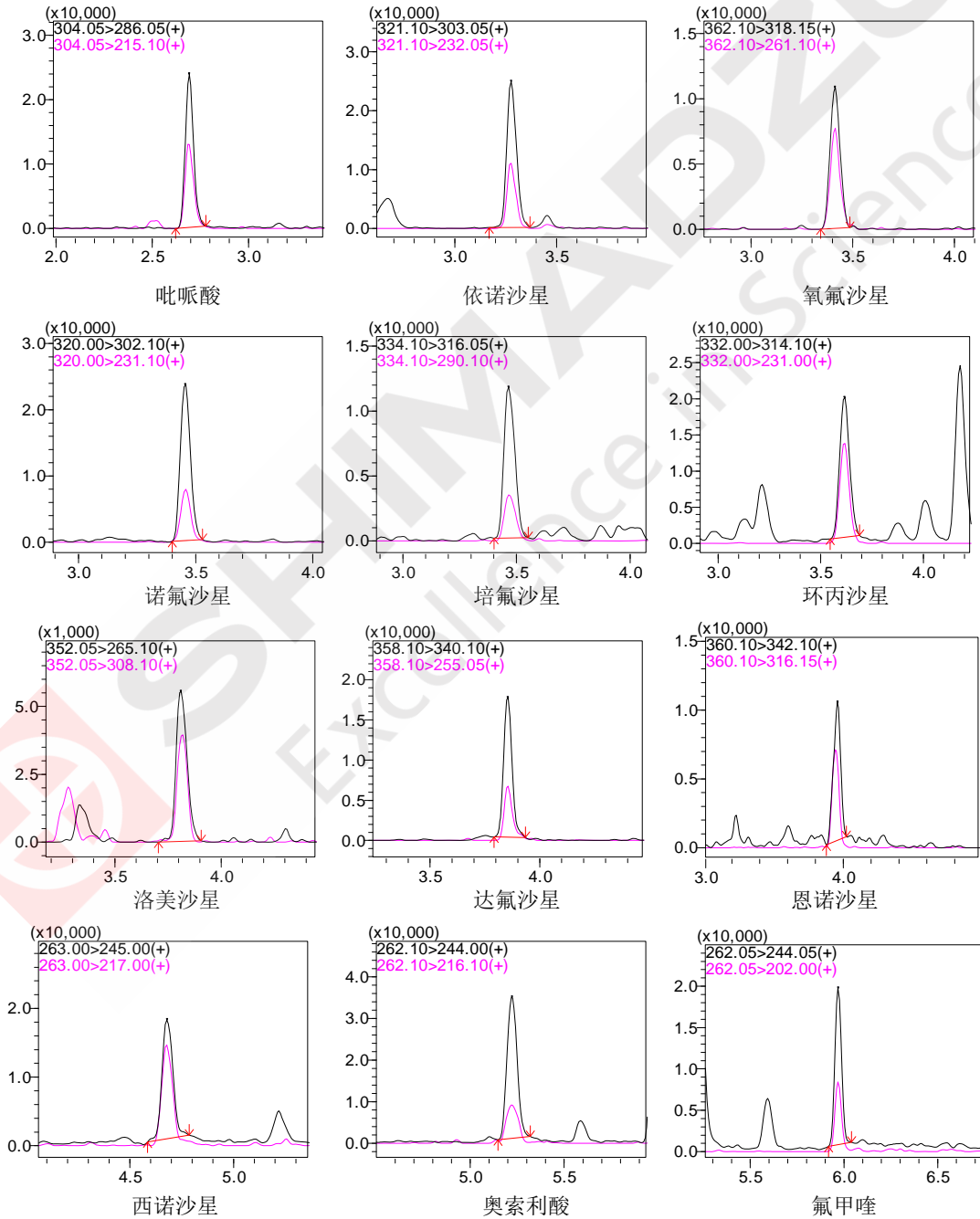


图 13 1 ng/mL 12 种喹诺酮的 MRM 色谱图

### 2.3 线性范围

取 5 g 空白鸡肉基质 1 份，得到约 60 mL 提取液，将提取液按上述净化过程进行处理，得到 10 mL 空白基质提取液。用该空白基质溶液稀释标准储备液，配制成 0.2 ng/mL、0.5 ng/mL、1 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL 浓度的混合标准工作液。以工作溶液浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线（见下图 14），所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。

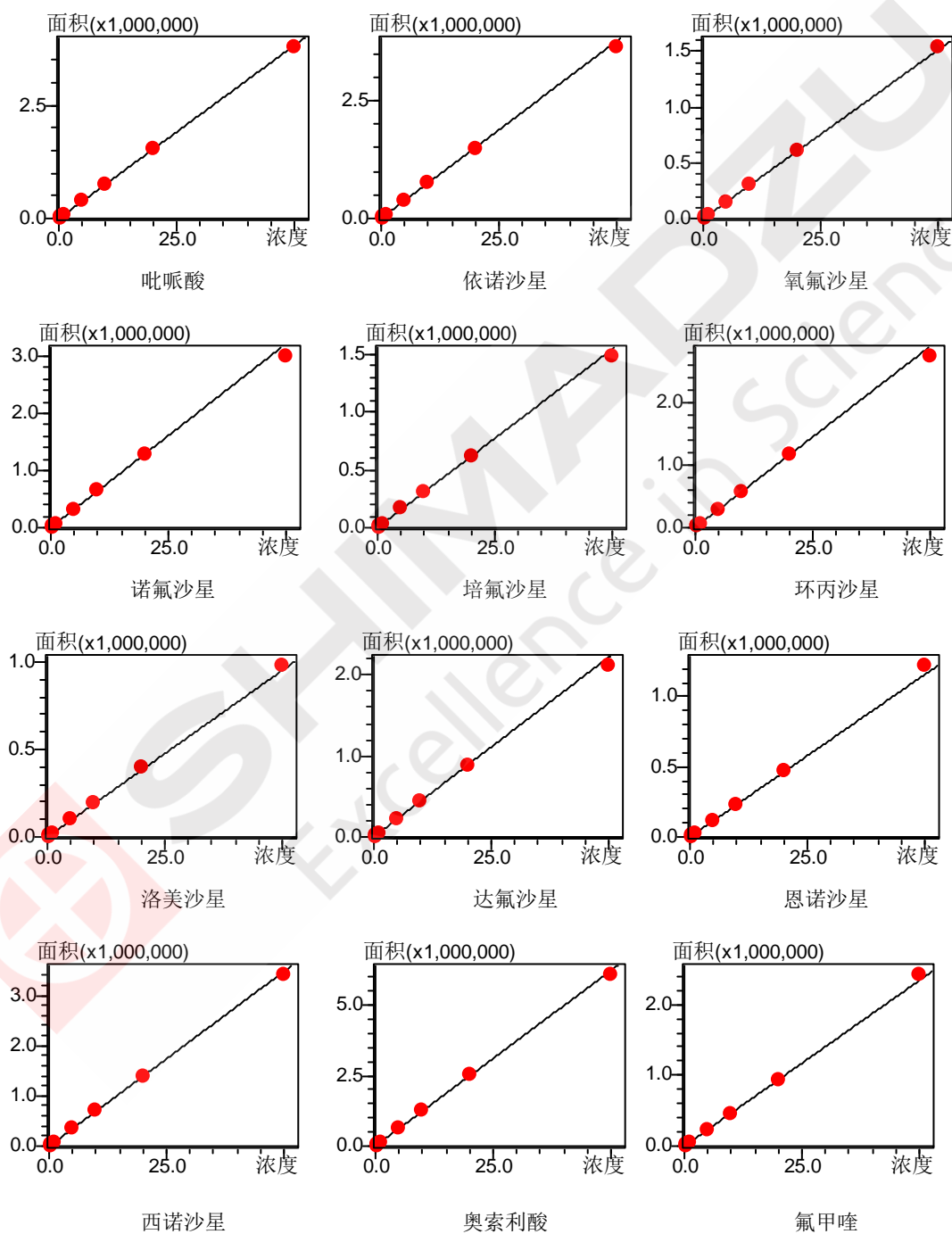


图 14 12 种喹诺酮的标准曲线

表 3 校准曲线参数

序号	名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度%
1	吡哌酸	$Y = (76616.3)X + (-2517.68)$	0.2~50	0.9998	96.1~104.1
2	依诺沙星	$Y = (75235.4)X + (832.686)$	0.2~50	0.9996	87.9~109.4
3	氧氟沙星	$Y = (30271.5)X + (-849.705)$	0.2~50	0.9998	90.9~106.6
4	诺氟沙星	$Y = (64434.1)X + (1680.13)$	0.2~50	0.9988	85.7~112.4
5	培氟沙星	$Y = (30801.7)X + (579.667)$	0.2~50	0.9990	89.5~109.8
6	环丙沙星	$Y = (58040.6)X + (4785.98)$	0.2~50	0.9990	90.7~114.2
7	洛美沙星	$Y = (19629.0)X + (-749.499)$	0.2~50	0.9997	89.8~107.5
8	达氟沙星	$Y = (44434.3)X + (911.073)$	0.2~50	0.9995	91.1~110.6
9	恩诺沙星	$Y = (23178.6)X + (76.5354)$	0.2~50	0.9975	87.2~111.3
10	西诺沙星	$Y = (69528.6)X + (284.320)$	0.2~50	0.9995	92.1~111.6
11	奥索利酸	$Y = (124807)X + (4369.16)$	0.2~50	0.9999	87.5~113.0
12	氟甲喹	$Y = (18436.0)X + (814.851)$	0.2~50	0.9987	91.2~108.2

## 2.4 精密度实验

对不同浓度混合标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.03~0.27 %和 1.13~4.93%之间，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性及灵敏度结果

样品名称	RSD% (0.2 ng/mL)		RSD% (10 ng/mL)		RSD% (50 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
吡哌酸	0.23	4.93	0.21	2.54	0.24	1.85
依诺沙星	0.16	3.73	0.18	1.21	0.19	1.79
氧氟沙星	0.27	4.93	0.17	1.59	0.18	1.66
诺氟沙星	0.17	4.91	0.16	1.92	0.19	1.13
培氟沙星	0.16	4.77	0.17	2.06	0.19	2.01
环丙沙星	0.07	3.88	0.15	1.34	0.18	2.29
洛美沙星	0.15	3.37	0.15	1.70	0.18	1.45
达氟沙星	0.17	3.23	0.15	2.61	0.16	3.74
恩诺沙星	0.23	4.88	0.13	3.16	0.15	1.81
西诺沙星	0.10	3.32	0.11	1.40	0.10	1.34
奥索利酸	0.09	2.15	0.09	1.69	0.07	1.44
氟甲喹	0.04	3.43	0.03	3.37	0.03	2.00

## 2.5 灵敏度实验

配制 0.2 ng/mL 抗生素的混合标准溶液进样，为考察仪器的灵敏度，将低浓度混合标准工作液按 1.2 中的分析条件下进行测定。通过 LabSolutions Ver. 5.86 软件计算信噪比 (采用 RMS 计算方式)，检出限和定量限，12 种化合物的信噪比和方法检出限如下表 5 所示。

表 5 信噪比 (S/N) 和方法检出限以及定量限

名称	浓度水平 (ng/mL)	S/N	检出限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
吡哌酸	0.20	15.43	0.04	0.13
依诺沙星	0.20	31.11	0.02	0.07
氧氟沙星	0.20	21.89	0.03	0.10
诺氟沙星	0.20	39.04	0.02	0.06
培氟沙星	0.20	19.21	0.04	0.12
环丙沙星	0.20	56.02	0.01	0.04
洛美沙星	0.20	39.68	0.02	0.06
达氟沙星	0.20	29.48	0.02	0.07
恩诺沙星	0.20	13.34	0.05	0.16
西诺沙星	0.20	29.57	0.07	0.21
奥索利酸	0.20	44.84	0.02	0.05
氟甲喹	0.20	18.66	0.03	0.09

## 2.6 基质加标实验

按照 1.4 中样品制备方法，空白基质处理完之后，采用后加标的方式，添加标样浓度为 0.5 ng/mL、10 ng/mL 和 40 ng/mL，各平行测定 3 次，结果如表 6。

表 6 基质加标实验结果

序号	名称	加标浓度 0.5 ng/mL		加标浓度 10 ng/mL		加标浓度 40 ng/mL	
		检测平均值 (ng/mL)	回收率 (%)	检测平均值 (ng/mL)	回收率 (%)	检测平均值 (ng/mL)	回收率 (%)
1	吡哌酸	0.54	108.60	10.22	102.20	39.02	97.55
2	依诺沙星	0.50	100.23	9.72	97.23	37.34	93.38
3	氧氟沙星	0.51	101.93	9.59	95.90	38.84	97.08
4	诺氟沙星	0.48	96.35	9.82	98.20	37.16	92.90
5	培氟沙星	0.47	94.08	10.01	100.08	37.37	93.43
6	环丙沙星	0.47	94.23	9.90	99.03	37.12	92.83
7	洛美沙星	0.46	93.70	9.33	93.40	38.51	96.30
8	达氟沙星	0.47	93.05	9.72	97.20	36.77	91.90
9	恩诺沙星	0.48	95.85	9.86	98.63	39.70	99.25
10	西诺沙星	0.48	95.78	9.82	98.25	37.71	94.28
11	奥索利酸	0.50	100.65	10.24	102.45	39.36	98.43
12	氟甲喹	0.50	100.50	10.05	100.60	39.40	98.50

---

测试结果显示：12 种抗生素样品的加标回收率在 91.90~108.60%之间。

### 3. 结论

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 联用测定鸡肉中喹诺酮类抗生素残留的方法。该方法在 9 min 内完成 12 种抗生素的分析，校准曲线的相关系数均在 0.997 以上。对 0.2 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL 抗生素的混合标准溶液，各平行测试 6 次，12 种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.03~0.27 %和 1.13~4.93%之间，仪器精密度良好。对于加标浓度为 0.5 ng/mL, 10 ng/mL 和 40 ng/mL 的鸡肉样品，各平行测定 3 次，加标回收率在 91.90~108.60%之间。该方法具有分析速度快、灵敏度高、重复性好的优势，可用于鸡肉中多种抗生素残留检测。



SHIMADZU  
Excellence in Science

# 生物样品

生物样品通常包括血液、尿液、唾液、头发、脏器组织、乳汁、胆汁、胃液等样品。该类样品通常基质比较复杂，干扰成分众多，被测组分浓度低，样品量少，部分样品稳定性差，因此对于该类样品的分析，前处理和仪器性能均比较重要。



对该类样品的前处理方法通常有沉淀蛋白、液液萃取、固相萃取等，其目的在于尽可能的去除样品中的干扰成分、富集其中的微量甚至痕量待测目标物成分。事实上，即使经过一系列严格的前处理操作，上样样品溶液组成依然较为复杂，对于所使用的检测仪器的灵敏度、稳定性等要求依然很高。

高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪常用来定量的 MRM 模式，通过 Q1 筛选特异性的前体离子，在 Q2 碰撞池中将其打碎后，Q3 筛选特异性的产物离子，如此在很大程度上可以消除基质的干扰，同时仪器的高灵敏度使得含量极低的成分也可以被检测。而 LCMS-8045 的加热 ESI 离子源设计使得仪器对于生物样品的抗污染能力极强，可以保证多次进样检测结果的稳定性，另接口的设计方式使得日常维护极为简单，可以在不卸载真空的情况下，完成 DL 管更换等操作。

本书收录了分析中心同事使用 LCMS-8045 检测生物样品的一些成果，其中《ATLAS-USIS-LCMS-8045 联用测定尿样中甲基安非他明含量》介绍了使用岛津岛津 ATLAS-USIS 自动前处理装置对尿液进行自动液液萃取后，以 LCMS-8045 检测了其中甲基安非他明的含量，具体细节请见下文。

## ATLAS-USIS-LCMS-8045 联用测定尿样中甲基安非他明含量

**摘要:** 本文建立了一种使用 ATLAS-USIS 自动前处理装置及岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定尿样中甲基安非他明含量的方法。以外标法定量, 校准曲线线性良好, 线性相关系数为 0.9981。对低、中、高不同浓度的样品平行测试 6 次, 保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06 ~ 0.18% 和 1.06 ~ 4.10% 之间, 仪器精密度良好, 检出限和定量限分别为 0.017 ng/mL 和 0.056 ng/mL。该方法具有自动化程度高、分析速度快、灵敏度高、重现性好的特点, 可用于尿样中甲基安非他明含量的测定。

**关键词:** ATLAS-USIS 三重四极杆质谱 甲基安非他明 尿液

甲基安非他明, 即兴奋剂甲基苯丙胺, 由于毒性剧烈, 又俗称“冰毒”, 是苯丙胺类毒品中重要的一种, 属于违禁毒品。冰毒是一种具有拟交感神经兴奋作用的精神药物, 服用后会导中枢神经系统的兴奋增强, 长期或大量服用后容易使吸食者产生身体依赖性和精神依赖性, 诱发大量治安和刑事案件, 进而引发诸多社会问题。

近年来苯丙胺类毒品的滥用呈增长趋势, 由于其严重的社会和个人危害性, 各国政府已经采取了许多措施来打击吸毒、贩毒等活动, 尿液、汗液、唾液、精液及毛发等均可作为检测的基质, 这些基质中的兴奋剂检测是确认吸毒的科学依据, 其鉴定结果的准确性至关重要。考虑到可萃取检测基质的量、检测基质中兴奋剂的浓度及可检查期间等, 尿液是最合适的检测基质。通常尿液组成复杂, 干扰成分多, 且待检测物质的含量往往比较低, 因此分析尿液基质中的毒品往往必须进行一定的样品前处理。常见的前处理方法有固相萃取、固相微萃取、液-液萃取等, 利用这些方法可以达到目标物的提纯、净化、浓缩等作用, 但是人工操作较为繁琐、费时, 且成本较高。因此开发自动化程度高、快速、准确、高效的检测方法无论从禁毒或毒理研究等方面来说都具有重要意义。

岛津 ATLAS-USIS 自动前处理装置针对尿液、血液等样品中的毒品、兴奋剂等违禁药物可自动进行液-液萃取制备样品, 复溶后可以进行液质联用分析或气质联用分析, 自动化程度高, 大量节省人力物力。高效液相色谱-串联质谱法检测具有灵敏度高、重复性好、通量高等特点, 能够提供快速、准确的分析结果。本文利用岛津 ATLAS-USIS 自动前处理装置, 结合 LCMS-8045 建立了尿液中甲基安非他明含量的高自动化、高灵敏度、快速的检测方法。

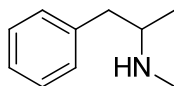


图1 甲基安非他明的结构式

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

前处理仪器： ATLAS-USIS 自动前处理装置

自动进行液-液萃取制备样品。

#### 自动前处理装置 ATLAS-USIS®



分析仪器：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×2 输液泵，DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 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 GIST C18 Column (2.1 mm I.D.×50 mm L., 2 μm)

流动相：A 相-0.2%甲酸水溶液，B 相-甲醇；A/B = 88/12 (v/v)

流速：0.40 mL/min

柱温：40℃

进样量：5 μL

#### 质谱条件

离子化模式：ESI(+)

干燥气：氮气 10.0 L/min

加热气：空气 10.0 L/min

碰撞气：氩气

雾化气：氮气 3.0 L/min

接口温度：300℃

DL 温度: 250°C  
加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测(MRM)  
驻留时间: 100 ms

表1 MRM优化参数

化合物	英文名	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
甲基安非他明	Methyl	537-46-2	150.25	91.15*	-11.0	-22.0	-17.0
	amphetamine			119.20	-16.0	-15.0	-21.0

注: \*表示定量离子

### 1.3 标准溶液的配制

将 1 mg/mL 甲基安非他明 (甲醇溶解) 标样储备液以流动相逐级稀释得到浓度分别为 0.02、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、2.00、5.00、10.00、20.00、50.00 ng/mL 的标准溶液。

### 1.4 样品前处理方法

(1) 取准确体积的 1 mg/mL 标样储备液, 加到空白尿液中, 依次配制得到浓度分别为 50.00、10.00、1.00 ng/mL 的基质加标溶液, 每个浓度平行取样 6 份, 用 ATLAS-USIS 自动前处理装置的主程序 MainSeq 2 程序进行前处理, 将前处理得到的样品用流动相定容到 5 mL, 0.22  $\mu$ m 滤膜过滤后上机分析 (注: ATLAS-USIS 的主程序 MainSeq 2 程序处理样品时, 取 3 mL 尿样, 用 4 mL 乙酸乙酯萃取, 然后取 3 mL 上清液进行烘干处理, 最后手动用流动相将烘干剩余物定容到 5 mL);

(2) 取准确体积的 1 mg/mL 标样储备液, 加到经 ATLAS-USIS 处理过的空白尿样中, 依次配制得到浓度分别为 50.00、5.00、0.50 ng/mL 的基质加标溶液, 0.22  $\mu$ m 滤膜过滤后上机分析以考察基质效应。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 标准样品一级质谱图和产物离子质谱扫描图

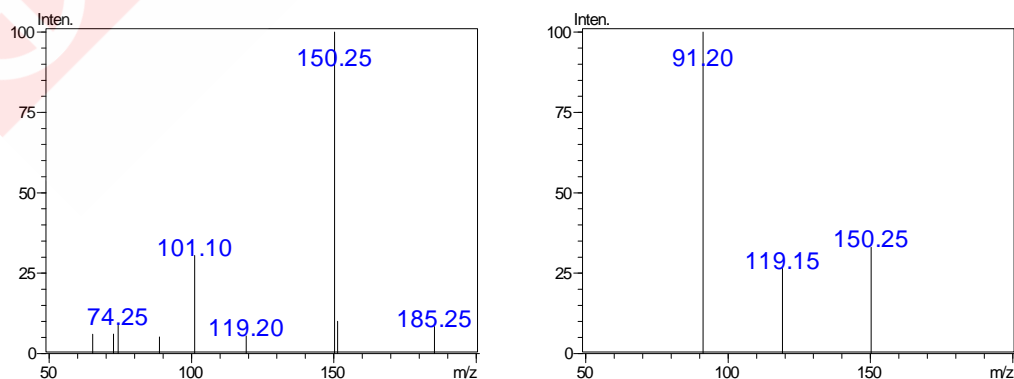


图2 甲基安非他明的一级质谱图 (左图) 和产物离子质谱扫描图 (右图, CE 值为-15V)

## 2.2 标准样品的 MRM 色谱图

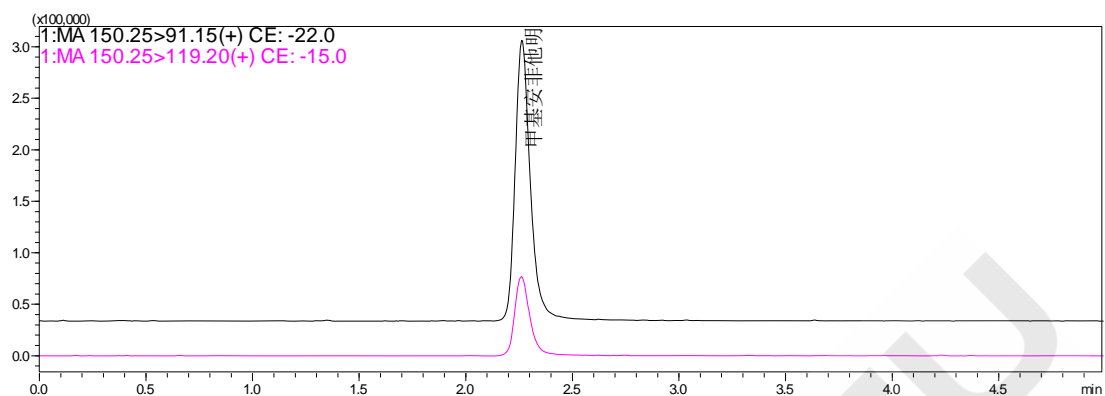


图 3 5 ng/mL 的甲基安非他明 MRM 色谱图

## 2.3 线性范围

将浓度为 0.02、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、2.00、5.00、10.00、20.00、50.00 ng/mL 甲基安非他明标准工作液，按 1.2 中的分析条件上机分析，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法建立校准曲线，结果如图 4 所示，线性方程、线性范围和相关系数见表 2。

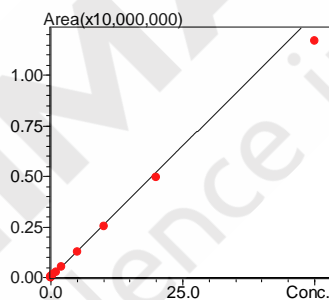


图 4 甲基安非他明的校准曲线

表 2 校准曲线参数 (权重 1/C<sup>2</sup>)

名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度 (%)
甲基安非他明	$Y = (260136)X + (1022.13)$	0.02~50.00	0.9981	90.0~108.5

## 2.4 检出限和定量限

对浓度为 0.02 ng/mL 溶液进样分析，以 ASTM 法计算噪声，以噪声的 3 倍作为最低检出限 (即  $S/N=3$ , LOD 表示)，以噪声的 10 倍作为最低定量限 (即  $S/N=10$ , LOQ 表示)，则仪器对甲基安非他明的最低检出限、最低定量限分别为 0.017 ng/mL、0.056 ng/mL。

表 3 检出限和定量限

名称	检出限(ng/mL)	定量限(ng/mL)
甲基安非他明	0.017	0.056

## 2.5 精密度实验

将 ATLAS-USIS 自动前处理装置处理得到的样品采用 1.2 的方法进行分析，考察仪器的重复性，甲基安非他明在不同浓度下的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06~0.18%和 1.06~4.10%之间，结果表明仪器具有良好的精密度。

表 4 ATLAS-USIS 处理样品的保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

名称	RSD% (1 ng/mL)		RSD % (10 ng/mL)		RSD% (50 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
甲基安非他明	0.18	4.10	0.15	3.45	0.06	1.06

## 2.6 回收率实验

在空白尿液中添加甲基安非他明，按照 1.4- (2) 用 ATLAS-USIS 对样品处理后进样分析，计算回收率，结果如表 5 所示，在不同浓度下甲基安非他明的回收率在 102.3~117.8%之间。需要指出的是经过 ATLAS-USIS 处理得到样品在手动定容到 5 mL 后，以 100%萃取效率计算定容后样品的实际浓度，则上机分析时的理论浓度为加入浓度的 45%。

表 5 ATLAS-USIS 前处理装置回收率结果

名称	加标浓度 (ng/mL)	理论上机分析浓 度(ng/mL)	实测浓度 (ng/mL)	平均回收率 (%)
	0	0	ND	—
甲基安非他明	1.00	0.45	0.53	117.8
	10.00	4.50	4.75	105.6
	50.00	22.50	23.02	102.3

## 2.7 基质效应

分别配制低、中、高三份不同浓度的标准溶液和样品加标液，以相同浓度样品加标液所得峰面积同标准溶液所得峰面积的比值换算成百分比作为基质效应进行考察，所得基质效应结果在 80~120%之间，则认为基质效应可以忽略。实验结果见表 6，由表 6 可知在不同浓度下甲基安非他明基质效应结果在 94.3~99.2%之间，精密度 RSD%在 0.80~2.32%之间，表明基质效应对目标物检测的干扰较小，由图 5 和图 6 可知，尿样基质不干扰待测物的测定。

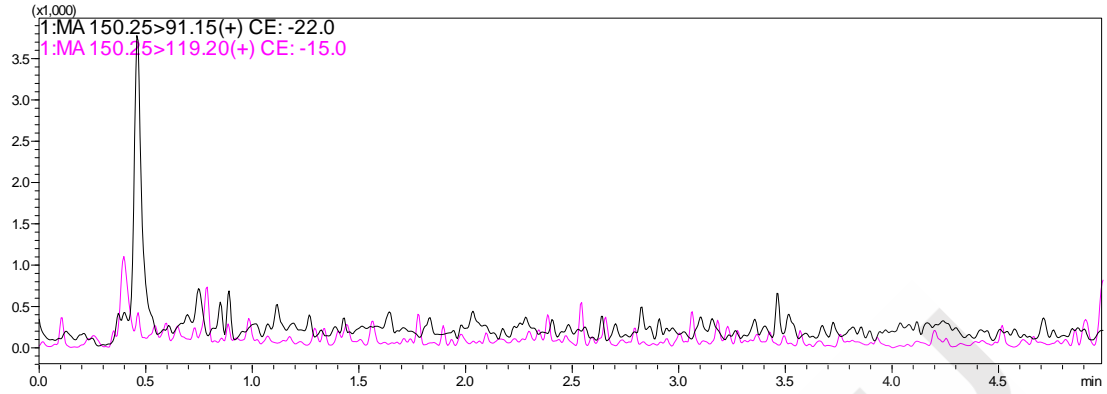


图5 空白尿样的MRM色谱图

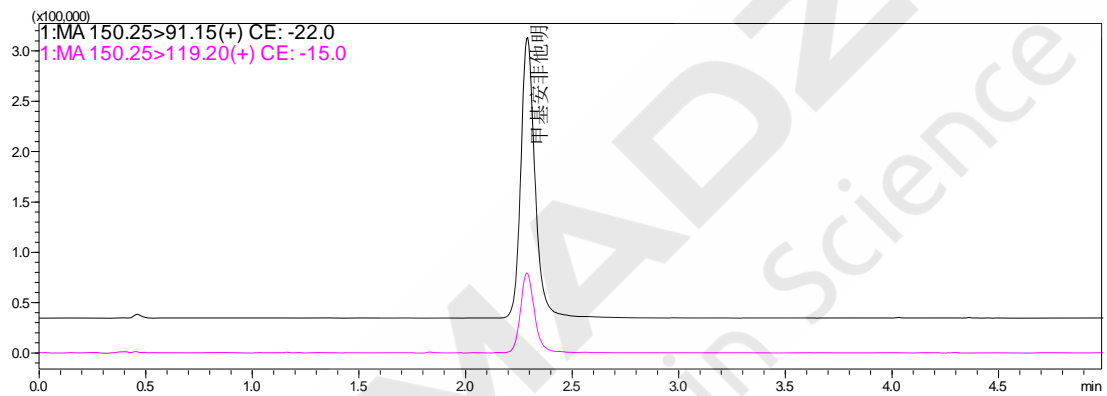


图6 空白尿样加标浓度为5 ng/mL的MRM色谱图

表6 基质效应考察

名称	加标浓度 (ng/mL)	基质效应 (%)	RSD (%)
甲基安非他明	0.50	95.0	2.32
	5.00	99.2	1.21
	50.00	94.3	0.80

### 3. 结论

本文建立了一种使用 ATLAS-USIS 自动前处理装置结合岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定尿样中甲基安非他明含量的方法。以外标法定量，校准曲线线性良好，线性相关系数为 0.9981。对低、中、高不同浓度的样品平行测试 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06~0.18%和 1.06~4.10%之间，检出限和定量限分别为 0.017 和 0.056 ng/mL。该方法具有自动化程度高、分析速度快、灵敏度高、重复性好的特点，可用于尿样中甲基安非他明含量的检测。

# 超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用技术测定人血浆中氨氯地平含量

**摘要:** 本文建立与验证了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 联用测定血浆中氨氯地平的方法。该方法在 4 min 内完成血浆中氨氯地平的检测, 采用同位素内标法定量, 方法定量限 0.003 ng/mL, 线性范围为 0.003~300 ng/mL, 相关系数在 0.9996. 选择性考察结果表明空白血浆中没有对分析造成明显干扰的物质, 并且氨氯地平和其同位素内标之间无相互干扰。方法的日内精密度 0.85~3.78%, 日间精密度 4.25~4.95%, 各浓度水平质控样品的准确度 90.0~109.1%, 能够满足血浆中药物浓度准确定量的要求。方法具有简单、快速、灵敏度高、重现性好的特点, 适合血浆中氨氯地平含量的快速准确检测, 可用于人体内氨氯地平浓度的测定及其人体药代动力学研究。

**关键词:** 超高效液相色谱 三重四极杆质谱 血浆 氨氯地平

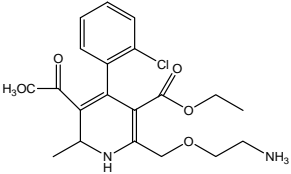
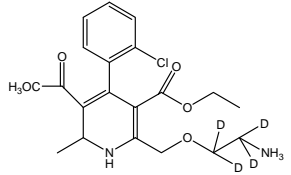
氨氯地平是一种硝苯地平类钙拮抗药, 松弛在动脉壁的平滑肌, 降低总外周阻力从而降低血压; 在心绞痛时, 氨氯地平增加血液流向心肌, 对肾脏有一定的保护作用。临床上可治疗各种类型高血压(单独或与其他药物合并使用)和心绞痛, 尤其自发性心绞痛。

目前已建立 LCMS-8080、LCMS-8060 检测生物样品中氨氯地平浓度的方法, 为展示新机型的优良性能, 推进超高效液相色谱-三重四极杆质谱新机型在生物样品中检测的应用, 本实验使用 LCMS-8045 建立灵敏、高效的人血浆中氨氯地平含量的检测方法。

## 1 实验部分

### 1.1 化合物信息

表 1 化合物信息

化合物名称	英文名	CAS No.	分子式	结构式
氨氯地平	Amlodipine	88150-42-9	$C_{20}H_{25}ClN_2O_5$	
氨氯地平-D4 (IS)	Amlodipine-D4	88150-42-9	$C_{20}H_{21}D_4ClN_2O_5$	

## 1.2 仪器

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×2 输液泵, DGU-20A5R 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 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。

## 1.3 分析条件

### 液相色谱条件

色谱柱: Shim-pack GISS C18 (2.1 mm I.D.×50 mm L.,1.9 μm)

流动相: A 相-2 mM 醋酸铵, 0.1%甲酸水溶液 B 相-乙腈

流速: 0.4 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 20 %, 洗脱程序见表 2.

表 2 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	100
2.50	Pumps	Pump B Conc.	100
2.60	Pumps	Pump B Conc.	20
4.00	Controller	Stop	

### 质谱条件

离子化模式: ESI (+)

接口温度: 300°C

离子源接口电压: 0.5 kV

DL 温度: 200°C

雾化气: 氮气 3.0 L/min

加热模块温度: 400°C

加热气: 空气 10.0 L/min

扫描模式: MRM, MRM 参数见表 3

干燥气: 氮气 10.0 L/min

驻留时间: 47 ms

碰撞气: 氩气

延迟时间: 3 ms

表3 MRM优化参数

化合物	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
氨氯地平	409.15	238.10*	-20.0	-12.0	-24.0
		294.10	-11.0	-11.0	-30.0
氨氯地平-D4	413.20	238.10*	-20.0	-11.0	-24.0

注：\*表示定量离子

## 1.4 标准品与质控样品的配制

分别精密称取两份氨氯地平适量，用纯甲醇溶解配制两份 1.0 mg/mL 氨氯地平储备液。取其中一份储备液用 50% 甲醇溶液逐级稀释成浓度 0.15、0.5、1.5、5、15、50、150、500、1500、5000、15000 ng/mL 的标准工作曲线；另一份储备液用 50% 甲醇溶液分别稀释成浓度为 5、250、12000 ng/mL 的质控溶液。分别取标准工作曲线中各浓度点 20  $\mu$ L 加入 980  $\mu$ L 空白血浆中，依次配制成标准曲线 0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30、100、300 ng/mL；分别取三个不同浓度质控溶液 20  $\mu$ L 加入 980  $\mu$ L 空白血浆中，依次配制成 0.1、5、240 ng/mL 质控样品。

精密称取氨氯地平-D4 适量，用纯甲醇溶液溶解配制成 1.0 mg/mL 储备液。将配制好的氨氯地平-D4 储备液用 50% 甲醇溶液稀释为 50 ng/mL 内标溶液。

## 1.5 血浆样品前处理方法

取人血浆样品 100  $\mu$ L，依次加入 50 ng/mL 内标溶液 20  $\mu$ L、乙腈 200  $\mu$ L，涡旋混合 2 分钟，13000 rpm/min 离心 10 min，吸取上清液进样分析，进样体积 5  $\mu$ L。

## 2 结果与讨论

### 2.1 标准样品一级质谱图与产物离子扫描质谱图

氨氯地平在一级质谱扫描下主要生成 $[M+H]^+$ 准分子离子峰  $m/z$  409.15，对准分子离子峰进行产物离子扫描，生成主要碎片离子为  $m/z$  238.10、 $m/z$  294.10；氨氯地平-D4 在 Q3+扫描下主要生成 $[M+H]^+$ 准分子离子峰  $m/z$  413.15，对准分子离子峰进行产物离子扫描，生成主要碎片离子为  $m/z$  238.10、 $m/z$  298.10，其一级质谱图与产物离子扫描图分别见图 1-4。

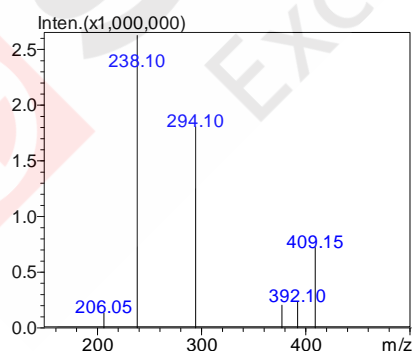


图 1 氨氯地平一级质谱图

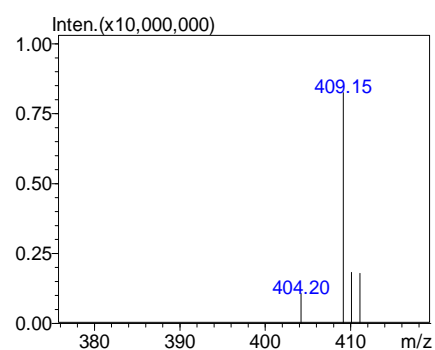


图 2 氨氯地平产物离子扫描图 (CE 值-13 V)

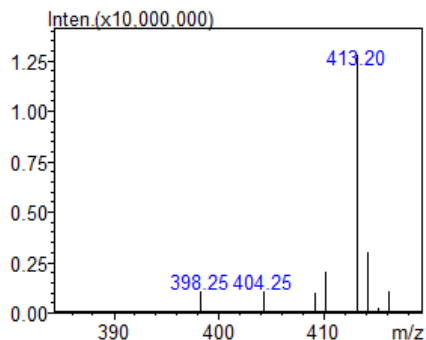


图3 氨氯地平-D4 一级质谱图

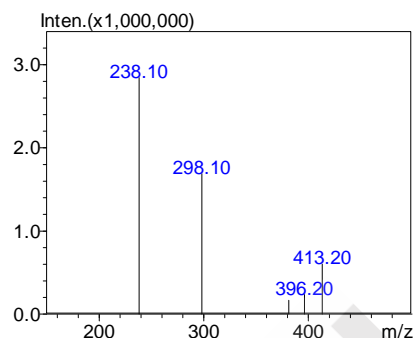


图4 氨氯地平-D4 产物离子扫描图 (CE 值-12 V)

## 2.2 方法选择性

取人空白血浆,按照 1.5 方法和选定的色谱条件处理并测定,得空白血浆、0.003 ng/mL 血浆基质加标样品的 MRM 色谱图,见图 5. 结果表明,氨氯地平与内标物的保留时间  $t_R$  分别为 1.38 min 和 1.39 min.内源物质干扰对样品检测无明显影响,方法具有较强选择性。

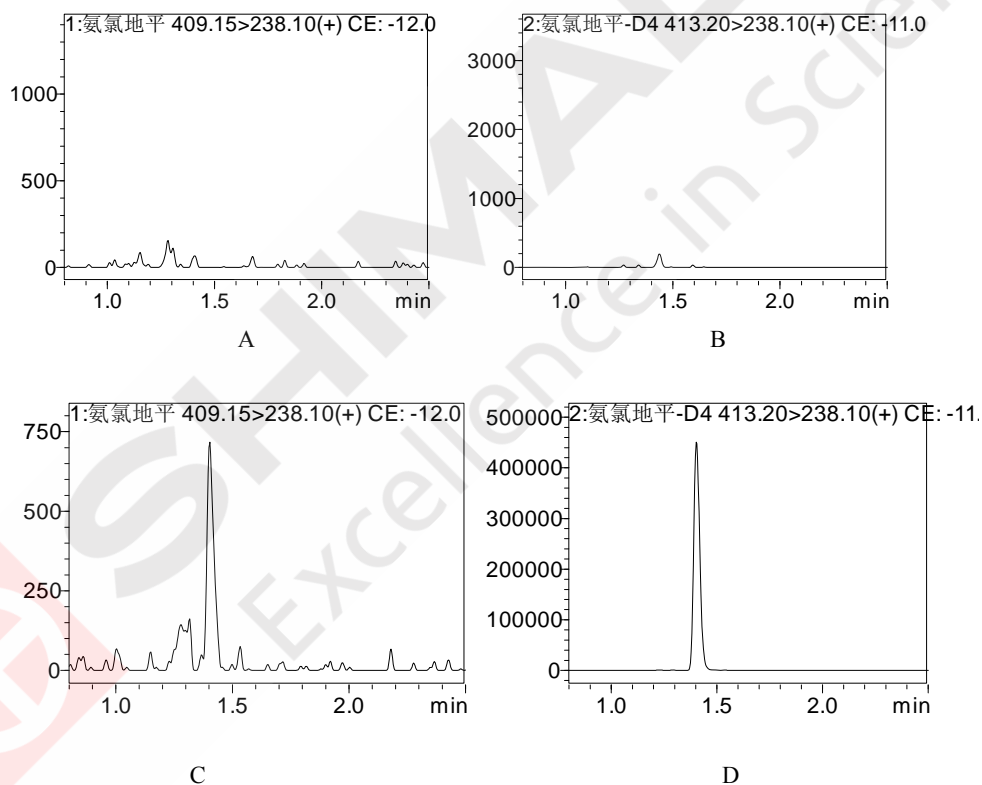


图5 氨氯地平与氨氯地平-D4MRM 色谱图

(A、B: 空白血浆; C: 0.003 ng/mL 氨氯地平血浆基质加标; D: 50 ng/mL 氨氯地平-D4 血浆基质加标)

## 2.3 线性范围与灵敏度

按照 1.4 项下血浆样品配制方法制备 0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30、100、300 ng/mL 血浆标准工作曲线,按照 1.5 项中血浆样品前处理方法处理血浆样品,建立标准曲线,并用同位素内标法进行分析测定。以血浆中氨氯地平浓度与内标浓度(以 1 计)的比值 X 为横坐

标, 以氨氯地平峰面积与氨氯地平-D4 峰面积的比值 Y 为纵坐标, 权重系数为  $Y=1/C$ , 进行线性回归分析, 所得标准曲线见图 6, 血浆中氨氯地平线性回归方程及相关系数见表 4. 结果表明氨氯地平分别在 0.003-300 ng/mL 的浓度范围内均与峰面积线性关系良好。

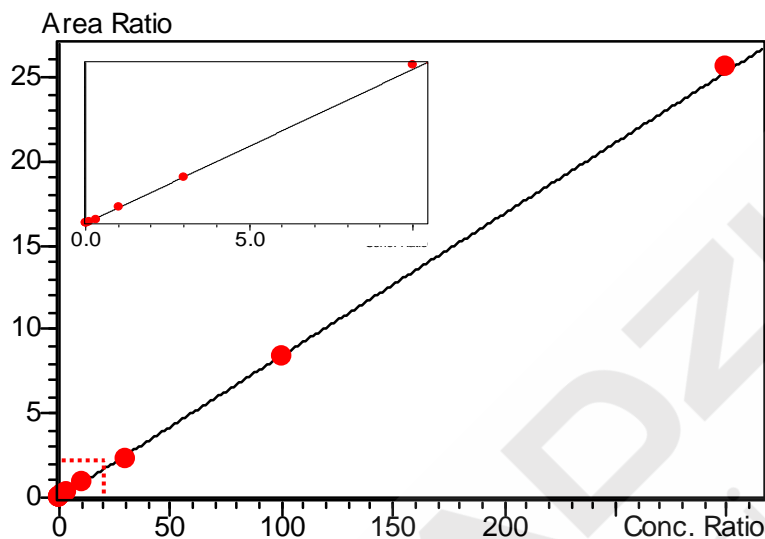


图 6 氨氯地平标准曲线

表 4 氨氯地平标准曲线参数 (线性回归, 权重系数为  $Y=1/C$ )

化合物	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	准确度 (%)	相关系数 r
氨氯地平	$Y = (0.0843872)X + (0.00181189)$	0.003-300	89.4~107.1	0.9996

表 5 标准曲线各浓度点准确度

级别	标准浓度 (ng/mL)	实测浓度 (ng/mL)	准确度 (%)
1	0.003	0.003	104.5
2	0.01	0.010	97.2
3	0.03	0.031	103.0
4	0.1	0.107	107.1
5	0.3	0.268	89.4
6	1	1.062	106.2
7	3	2.958	98.6
8	10	10.293	102.9
9	30	27.370	91.2
10	100	98.722	98.7
11	300	303.619	101.2

## 2.4 方法精密度与准确度

取已配制好的 0.1、5、240 ng/mL 质控样品, 按照 1.5 方法制备, 每个浓度的质控血浆样品

在 1 day 内制备 6 份平行样品分析，连续测定 3 day，每日随行标准曲线，用测得质控样品中氨氯地平峰面积的 RSD% 值计算其日间和日内差异，结果见表 6。

表 6 氨氯地平日内精密度与日间精密度 (3 天，每天 n=6)

理论浓度 (ng/mL)	日内精密度 RSD%	日间精密度 RSD%	准确度%
0.1	3.78	4.5	97.8-109.1
5	3.16	4.92	90.0-95.4
240	0.85	4.25	95.9-97.6

### 3 结论

本文建立与验证了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 联用测定血浆中氨氯地平的方法。该方法在 4 min 内完成血浆中氨氯地平的检测，采用同位素内标法定量，方法定量限 0.003 ng/mL，线性范围为 0.003~300 ng/mL，相关系数在 0.9996。选择性考察结果表明空白血浆中没有对分析造成明显干扰的物质，并且氨氯地平和其同位素内标之间无相互干扰。方法的日内精密度 0.85~3.78%，日间精密度 4.25~4.95%，各浓度水平质控样品的准确度 90.0~109.1%，能够满足血浆中药物浓度准确定量的要求。

为展示 LCMS-8045 新型液质联用仪的良好性能，实验中建立了较宽的线性范围，所建方法具有分析速度快、灵敏度高、重现性好的特点，适合血浆中氨氯地平含量的快速准确检测。该实验方法学的全验证数据请参考 LCMS-8060 检测血浆中氨氯地平应用报告。

## LCMS-8045 检测血浆中 V<sub>A</sub> 和 V<sub>E</sub> 长期稳定性考察

**摘要:** 本文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, 连续 30 天测定血浆中维生素 A 和维生素 E, 分别考察了日内精密度和日间精密度。实验数据表明, 在没有使用阀切换情况下, 30 天内维生素 A 和维生素 E 的平均 RR 值稳定, 相对偏差小于 10%, 能够为临床诊断提供参考。

**关键词:** LCMS-8045 V<sub>A</sub> 和 V<sub>E</sub> 血浆 稳定性

维生素是人和动物为维持正常的生理功能而必须从食物中获得的一类微量有机物质, 在人体生长、代谢、发育过程中发挥着重要的作用。维生素 A 能够促进发育、细胞生长发育和再生、维持免疫系统, 是构成视觉细胞中感受弱光的视紫红质的组成成分。维生素 E 是天然的抗氧化剂, 阻止细胞膜上的不饱和脂肪酸的过氧化反应, 具有抗衰老、保护皮肤等作用。近年来的研究发现, 维生素 A 和维生素 E 与儿童的生长发育及一些营养代谢疾病有密切关系。因此, 能够及时、准确地掌握体内的维生素 A 和维生素 E 的水平对疾病的预防、诊断和治疗具有重要意义。

在临床检测中, 维生素 A 和维生素 E 检测常用液相色谱法, 但该方法存在灵敏度低、样品用量大、易被干扰等问题。液相色谱串联质谱在分析中具有分析速度快、灵敏度高、定性定量准确度高、抗干扰能力强的优势, 而被越来越多的应用于临床检测中。

为了验证液相色谱串联质谱法在临床检测中应对大量样品分析时的稳定性, 本文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, 连续 30 天测定血浆中维生素 A 和维生素 E 的 RR 值 (RR 值=目标峰面积/内标峰面积), 并计算连续 30 天的相对偏差。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器

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×2 输液泵, DGU-20A5 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-20AC 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: C8 (3.0 mm I.D.×50 mm L., 5 μm)

流动相: A 相-0.1%甲酸水, B 相-0.1%甲酸甲醇

流速：0.4 mL/min

柱温：25℃

进样体积：2 μL

自动进样器温度：4℃

洗脱方式：梯度洗脱，初始比例 85%B, 时间程序见表 1

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.20	Pumps	Pump B Conc.	85
0.21	Pumps	Pump B Conc.	95
2.00	Pumps	Pump B Conc.	95
2.01	Pumps	Pump B Conc.	85
4.00	Controller	Stop	

#### 质谱条件：

离子源：ESI (+)

加热模块温度：400℃

雾化气流速：2.5 L/min

干燥气流速：10.0 L/min

加热气流速：10.0 L/min

扫描模式：多反应监测(MRM)

接口温度：300℃

驻留时间：34 ms

D L 温度：250℃

M R M 参数：见表 2

表 2 MRM 参数

名称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q <sub>1</sub> Pre Bias (V)	CE (V)	Q <sub>3</sub> Pre Bias (V)
V <sub>A</sub>	68-26-8	269.20	213.20	-13.0	-13.0	-22.0
V <sub>A</sub> IS	--	272.20	216.20	-13.0	-13.0	-22.0
V <sub>E</sub>	10191-41-0	431.35	165.10	-21.0	-21.0	-17.0
V <sub>E</sub> IS	--	437.35	171.10	-21.0	-21.0	-17.0

### 1.3 样品制备

血浆样品经液液萃取后，取上清液吹干，保存于-20℃下，备用。上机测试前取出，用甲醇复溶（10 倍稀释），混匀，离心(12000 rpm, 5 min)，溶液转移至样品瓶，上机测试。

日内精密度考察：同一天的不同时间取 3 份吹干样本，复溶后上机测试，每份样本重复进样 15 针，统计每个样本平均 RR 值（RR 值=目标峰面积/内标峰面积）。

日间精密度考察：每天取 1 份吹干的样本，经复溶后上机测试，每份样本重复进样 15 针，统计每个样本平均 RR 值（RR 值=目标峰面积/内标峰面积），以第一天样本的 V<sub>A</sub> 和 V<sub>E</sub> 的 RR 值为基准，计算每天的相对偏差；连续考察 30 天。

## 2 结果讨论

### 2.1 MRM 色谱图

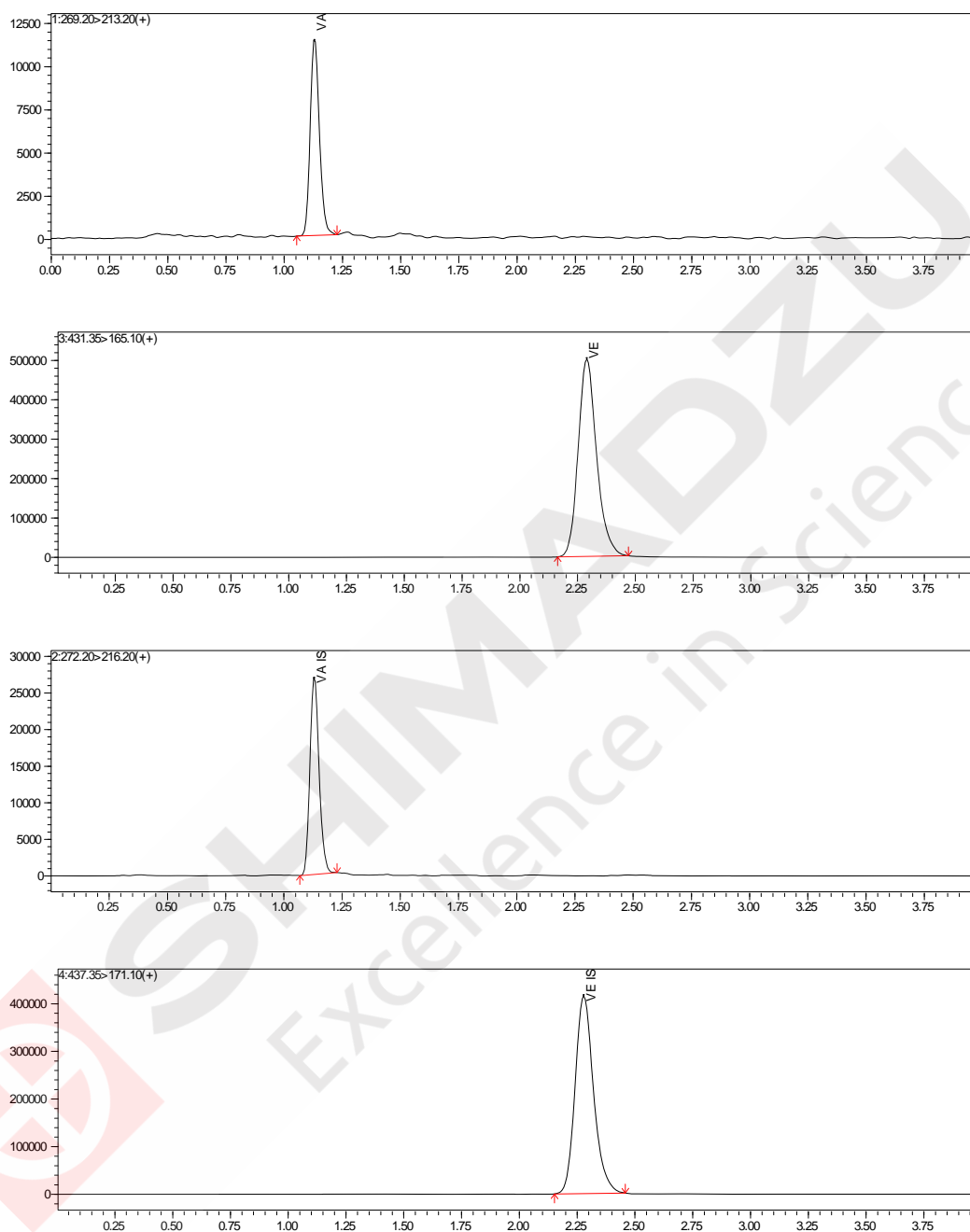


图 1. V<sub>A</sub> 和 V<sub>E</sub> 及其内标物的 MRM 色谱图

### 2.2 灵敏度考察

健康人群血浆中维生素 A 的浓度为 300-360  $\mu\text{g/L}$ , 维生素 E 的浓度为 5~20  $\text{mg/L}$ <sup>[1, 2]</sup>. 复溶后的样本用甲醇稀释 40 倍时, 连续进样 10 次, V<sub>A</sub> 的平均信噪比为 19.39, 峰面积和峰高的 RSD 均小于 10%; 复溶后的样本用甲醇稀释 4000 倍时, V<sub>E</sub> 的平均信噪比为 52.75, 连续进样 10 次,

峰面积和峰高的 RSD 均小于 10%。具体结果如表 3，结果表明 LCMS-8045 完全能够满足样品检测要求。

表 3. V<sub>A</sub> 和 V<sub>E</sub> 的连续 10 针进样统计结果 (n=10)

项目	V <sub>A</sub>		V <sub>E</sub>	
	平均值	RSD/%	平均值	RSD/%
保留时间	1.125	0.39	2.295	0.33
峰面积	1432	7.60	2846	4.44
峰高	595	8.05	544	6.35

Quantitative Results View ID# 1 VA

Data#	Data Filename	Sample	Leve	Ret. Time	Area	Height	S/N
1	18#_40倍稀释_016.lcd	Unknown	0	1.127	1,529	576	17.74
2	18#_40倍稀释_017.lcd	Unknown	0	1.123	1,494	549	18.20
3	18#_40倍稀释_018.lcd	Unknown	0	1.125	1,598	569	21.81
4	18#_40倍稀释_019.lcd	Unknown	0	1.118	1,473	599	17.64
5	18#_40倍稀释_020.lcd	Unknown	0	1.129	1,508	495	13.36
6	18#_40倍稀释_021.lcd	Unknown	0	1.128	1,219	620	22.17
7	18#_40倍稀释_022.lcd	Unknown	0	1.125	1,372	637	23.20
8	18#_40倍稀释_023.lcd	Unknown	0	1.127	1,371	646	17.77
9	18#_40倍稀释_024.lcd	Unknown	0	1.117	1,371	636	19.94
10	18#_40倍稀释_025.lcd	Unknown	0	1.131	1,384	623	22.11

Quantitative Results View ID# 3 VE

Data#	Data Filename	Sample	Leve	Ret. Time	Area	Height	S/N
1	VE_18#_4000倍稀释_002	Unknown	0	2.292	2,772	573	56.06
2	VE_18#_4000倍稀释_003	Unknown	0	2.303	2,635	582	47.62
3	VE_18#_4000倍稀释_004	Unknown	0	2.296	2,790	560	41.26
4	VE_18#_4000倍稀释_005	Unknown	0	2.307	2,904	542	42.15
5	VE_18#_4000倍稀释_006	Unknown	0	2.295	3,088	573	54.66
6	VE_18#_4000倍稀释_007	Unknown	0	2.292	3,204	584	69.25
7	VE_18#_4000倍稀释_008	Unknown	0	2.293	3,208	590	55.47
8	VE_18#_4000倍稀释_009	Unknown	0	2.299	3,043	458	52.04
9	VE_18#_4000倍稀释_010	Unknown	0	2.279	2,947	513	60.53
10	VE_18#_4000倍稀释_011	Unknown	0	2.293	2,767	537	56.33

图 2. V<sub>A</sub> 和 V<sub>E</sub> 连续 10 针进样信息统计

### 2.3 日内精密度

同一天的不同时间取 3 份样本，每份样本重复进样 15 针，统计每个样本平均 RR 值 (RR 值=目标峰面积/内标峰面积)，具体见下表 4。

表 4. 日内精密度样本平均 RR 值统计 (n=15)

序号	V <sub>A</sub> 的 RR 值	V <sub>E</sub> 的 RR 值
1	0.4218	1.2424
2	0.4249	1.1920
3	0.4404	1.2396

## 2.4 日间精密度

每天取 1 份样本，用甲醇复溶，每份样本重复进样 15 针，统计每个样本平均 RR 值（RR 值=目标峰面积/内标峰面积），以第一天样本的  $V_A$  和  $V_E$  的 RR 值为基准，计算相对偏差，具体结果见表 5,  $V_A$  和  $V_E$  的 RR 值在 30 天内的相对偏差小于 10%.

表 5. 日间精密度样本平均 RR 值统计 (n=15)

序号	$V_A$		$V_E$	
	RR 值	相对偏差/%	RR 值	相对偏差/%
1	0.4254	--	1.2021	--
2	0.4289	0.82	1.2001	-0.17
3	0.4218	-0.85	1.2424	3.35
4	0.4258	0.09	1.2387	3.04
5	0.4343	2.09	1.2414	3.27
6	0.4343	2.09	1.2675	5.44
7	0.4454	4.70	1.3011	8.24
8	0.406	-4.56	1.1865	-1.30
9	0.3961	-6.89	1.1549	-3.93
10	0.4262	0.19	1.2270	2.07
11	0.4099	-3.64	1.2204	1.52
12	0.4425	4.02	1.2404	3.19
13	0.4356	2.40	1.2833	6.75
14	0.4391	3.22	1.2581	4.66
15	0.4068	-4.37	1.1276	-6.20
16	0.3967	-6.75	1.1281	-6.16
17	0.3974	-6.58	1.1303	-5.97
18	0.3924	-7.76	1.1572	-3.74
19	0.3932	-7.57	1.1656	-3.04
20	0.3938	-7.43	1.1646	-3.12
21	0.3930	-7.62	1.1540	-4.00
22	0.4021	-5.48	1.2129	0.90
23	0.4131	-2.89	1.2308	2.39
24	0.4085	-3.97	1.2103	0.68
25	0.3944	-7.29	1.1642	-3.15
26	0.3985	-6.32	1.1946	-0.62
27	0.3914	-7.99	1.1464	-4.63
28	0.4045	-4.91	1.2546	4.37
29	0.4219	-0.82	1.2746	6.03
30	0.4232	-0.52	1.2077	0.47

---

相对偏差 =  $\frac{x - \bar{x}}{\bar{x}} \times 100$ ,  $\bar{x}$  为第一天  $V_A$  和  $V_E$  的平均 RR 值

### 3 结论

本文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，连续 30 天测定血浆中维生素 A 和维生素 E，实验中分别考察了日内精密度和日间精密度。实验数据表明，在没有使用阀切换情况下，维生素 A 和维生素 E 不仅日内精密度良好，而且 30 天内的平均 RR 值稳定，且相对偏差小于 10%，能够为临床诊断提供参考，由此可见 LCMS-8045 能够应对复杂生物样本的大量分析。

### 参考文献

1. 习娟娟, 田兰, 孙伟, 李新霞. 《化学通报》, 2010(9): 826-831.
2. 许蕴, 马经野, 付林等. 《中国医院药学杂志》, 2006, 26(4): 412-414.



SHIMADZU  
Excellence in Science

# 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定新生儿排泄物中 14 种抗生素

**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 联用检测新生儿排泄物中青霉素类、磺胺类、四环素类、喹诺酮类等 14 种抗生素的方法。该方法在 12 min 内完成 14 种抗生素的分析, 校准曲线的线性关系良好, 相关系数均大于 0.991; 低、中、高不同浓度抗生素的混合标准溶液平行测试 6 次, 14 种抗生素的保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别在 0.02~0.78% 和 0.41~8.34% 之间, 表明仪器精密度良好; 配制不同浓度的加标样品, 加标回收率在 40.0~113.1% 之间, 表明该方法可用于新生儿排泄物中不同种类抗生素的同时检测。

**关键词:** 新生儿排泄物 胎粪 抗生素 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

新生儿感染性疾病是新生儿中发病率最高的, 常见的感染有新生儿败血症、新生儿肺炎、新生儿破伤风、腹泻等。其感染途径可在母亲妊娠期, 分娩过程和出生后, 常见病原菌有溶血性链球菌、大肠杆菌、肺炎球菌、金黄色葡萄球菌等。由于新生儿肝、肾均未发育成熟, 肝酶的分泌不足或缺乏, 肾清除功能较差, 药物代谢及排泄速度慢, 不合理的抗生素使用会新生儿给带来诸多危害和风险, 如可影响新生儿生长发育的四环素类、喹诺酮类应禁用, 可导致脑性核黄疸及溶血性贫血的磺胺类药和呋喃类药避免使用。根据《抗菌药物临床使用指导原则》, 新生儿感染性疾病抗生素选用原则: 针对明确的或可能的病原菌选择敏感性高的抗生素, 选择广谱、高效、低毒性、不易耐药的抗生素, 以杀菌抗生素为宜。因此新生儿感染时应避免应用毒性大的抗菌药物, 同时加强对新生儿感染疾病认识, 从而更合理、安全地使用抗生素。

近年来, 对于新生儿抗生素治疗及预防用药的研究受到国内外专家学者越来越多的关注, 加强儿童尤其是新生儿用药, 如药品剂量及用药指征等项目的监测, 是十分必要的。本文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 联用系统, 对胎粪中青霉素类、磺胺类、四环素类、喹诺酮类等 14 种抗生素进行检测, 建立不同种类抗生素同时检测的方法, 有助于监控胎儿体内抗生素浓度水平, 为新生儿合理使用抗生素提供指导。

## 1. 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×2(输液泵), DGU-20A<sub>5R</sub>(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.×75 mm L., 1.6 μm

流动相: A 相-0.1%甲酸水溶液; B 相-乙腈

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40°C

进样体积: 5 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, 初始比例 10% B

表 1 梯度洗脱程序

Time (min)	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	10
3.00	Pumps	Pump B Conc.	35
5.50	Pumps	Pump B Conc.	90
8.00	Pumps	Pump B Conc.	90
8.10	Pumps	Pump B Conc.	10
12.00	Controller	Stop	

### 质谱条件:

离子化模式: ESI

雾化气: 氮气 3.0 L/min

加热气: 空气 5.0 L/min

干燥气流速: 氮气 15.0 L/min

接口温度: 100°C

DL 温度: 250°C

加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测(MRM), MRM 参数见表 2

表 2 MRM 参数

名称	英文名	CAS No.	前体 离子	产物 离子	Q1 Pre Bias (V)	CE(V)	Q3 Pre Bias (V)
阿莫西林	Amoxicillin	26787-78-0	366.2	114.00*	-26.0	-22.0	-20.0
				349.20	-26.0	-10.0	-17.0
林可霉素	Lincomycin	154-21-2	407.3	126.10*	-20.0	-40.0	-17.0
				359.30	-20.0	-20.0	-27.0
磺胺嘧啶	Sulfadiazine	68-35-9	251.0	156.00*	-30.0	-15.0	-29.0
				92.10	-30.0	-25.0	-17.0
氨苄西林	Ampicillin	69-53-4	350.2	106.10*	-17.0	-23.0	-11.0
				114.10	-17.0	-30.0	-19.0
磺胺噻唑	Sulfathiazole	72-14-0	256.0	156.00*	-30.0	-14.0	-30.0
				92.10	-30.0	-28.0	-17.0
左氧氟沙星	Levofloxacin	100986-85-4	362.1	318.10*	-11.0	-20.0	-21.0
				261.10	-11.0	-28.0	-17.0
氧氟沙星	Ofloxacin	82419-36-1	362.2	318.20*	-30.0	-18.0	-24.0
				261.10	-30.0	-28.0	-19.0
磺胺吡啶	Sulfapyridine	144-83-2	250.0	156.00*	-30.0	-16.0	-29.0
				92.10	-30.0	-27.0	-17.0
土霉素	Oxytetracyclin	79-57-2	461.2	426.00*	-14.0	-18.0	-23.0
				443.10	-14.0	-14.0	-24.0
四环素	Tetracycline	60-54-8	445.2	410.20*	-11.0	-22.0	-30.0
				427.00	-11.0	-16.0	-23.0
磺胺二甲嘧啶	Sulfamethazine	57-68-1	279.0	186.00*	-30.0	-17.0	-20.0
				92.10	-30.0	-31.0	-17.0
呋喃西林	Furacilin	59-87-0	197.2	124.10*	21.0	10.0	23.0
				80.10	21.0	9.0	30.0
头孢噻肟	Cefotaxime	63527-52-6	454.05	239.05*	30.0	12.0	26.0
				350.05	23.0	8.0	26.0
苯唑西林	Oxacillin	66-79-5	400.1	259.10*	29.0	13.0	19.0
				356.25	30.0	8.0	14.0

注：\*表示定量离子对

### 1.3 标准溶液的配制

精确称取适量标准品,用甲醇溶解配制成浓度为 10 mg/L 的 14 种抗生素混合标准品储备液,使用空白基质稀释成浓度为 10 ng/mL、20 ng/mL、40 ng/mL、100 ng/mL、250 ng/mL、500 ng/mL 和 1000 ng/mL 的混合标准溶液(以苯唑西林的浓度为例)。

## 1.4 样品前处理

称取 1.5 g 胎粪样品，用 4.5 mL 80% 甲醇水溶液超声混匀后，8000 rpm 离心 5 min，取上清液 4 mL，加入 4 mL 乙腈涡旋混匀，8000 rpm 离心 5 min，取 6 mL 过 Waters PRiME HLB 小柱（无需活化和平衡），收集全部滤液，取 5 mL 滤液旋蒸至近干，用 10% 乙腈水溶液定容至 1 mL，取 200  $\mu$ L 溶液稀释 5 倍，过 0.22  $\mu$ m 滤膜后进样检测。

## 2. 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。

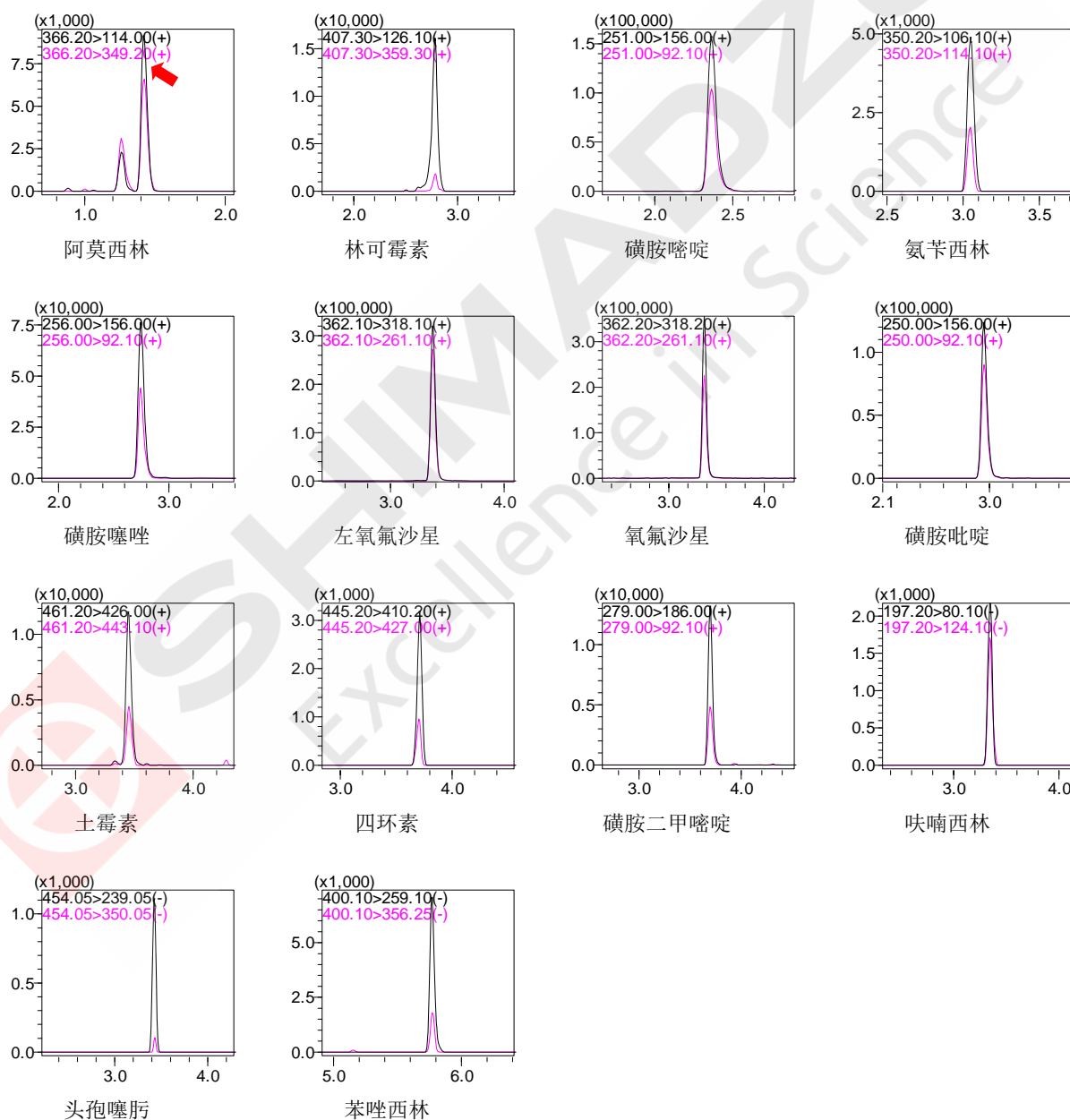


图 1 浓度为 10 ng/mL（以苯唑西林的浓度为例）标准品的 MRM 色谱图

## 2.2 线性关系

称取 1.5 g 空白胎粪样品, 按 1.4 中样品萃取和净化过程进行处理, 得到 5 mL 基质提取液, 使用该基质提取液将储备液稀释成浓度为 10 ng/mL、20 ng/mL、40 ng/mL、100 ng/mL、250 ng/mL、500 ng/mL 和 1000 ng/mL 的混合标准溶液 (以苯唑西林的浓度为例), 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, 线性方程、线性范围和和系数见 表 3。

表 3 校准曲线参数 (线性回归, 权重为 1/C<sup>2</sup>)

化合物	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	准确度 (%)	相关系数 r	定量下限 (ng/mL)	检测限 要求*
阿莫西林	$Y = (1139.26)X + (2767.39)$	10~500	93.6~105.8	0.9983	10	20
林可霉素	$Y = (102162)X + (6338.38)$	0.5~50	94.9~106.2	0.9983	0.5	10
磺胺嘧啶	$Y = (62302.1)X + (206877)$	10~500	86.7~109.5	0.9944	10	100
氨苄西林	$Y = (3116.55)X + (-3405.12)$	10~1000	95.9~105.7	0.9988	10	20
磺胺噻唑	$Y = (21950.6)X + (89159.8)$	10~500	84.3~111.0	0.9916	10	500
左氧氟沙星	$Y = (1.35537e+006)X + (74006.0)$	0.5~25	92.1~104.8	0.9984	0.5	25
氧氟沙星	$Y = (89479.6)X + (130397)$	10~500	92.4~105.0	0.9984	10	50
磺胺吡啶	$Y = (46483.4)X + (114233)$	10~500	89.0~108.7	0.9952	10	100
土霉素	$Y = (2948.32)X + (-2772.88)$	10~500	93.8~107.9	0.9979	10	50
四环素	$Y = (22684.7)X + (-424.714)$	0.5~50	95.1~106.4	0.9991	0.5	15
磺胺二甲嘧啶	$Y = (121408)X + (-327.283)$	0.5~50	97.3~105.4	0.9991	0.5	4
呋喃西林	$Y = (119.035)X + (-800.206)$	40~4000	94.1~104.1	0.9991	40	100
头孢噻肟	$Y = (124.079)X + (-590.113)$	20~1000	90.1~103.9	0.9929	20	100
苯唑西林	$Y = (2477.01)X + (-375.048)$	10~1000	96.6~105.0	0.9994	10	30

注: \*表示根据目前临床采用试剂盒法测定胎粪中抗生素时的要求

## 2.3 精密度实验

使用空白基质配制不同浓度的混合标准溶液连续 6 次进样 (以苯唑西林的标准曲线浓度为 例), 考察仪器的精密度, 结果如表 4 所示, 保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别在 0.02~0.78%和 0.41~8.34%之间, 仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

序号	样品名称	RSD% (20 ng/mL)		RSD% (100 ng/mL)		RSD% (500 ng/mL)	
		R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	阿莫西林	0.42	6.81	0.13	2.06	0.25	1.57
2	林可霉素	0.46	4.98	0.39	2.60	0.50	1.32
3	磺胺嘧啶	0.24	1.15	0.26	1.59	0.36	0.78
4	氨苄西林	0.60	3.50	0.48	1.83	0.78	0.66
5	磺胺噻唑	0.33	3.00	0.28	2.31	0.45	2.00
6	左氧氟沙星	0.60	0.60	0.46	0.88	0.70	0.47
7	氧氟沙星	0.60	1.26	0.47	0.51	0.70	0.41
8	磺胺吡啶	0.31	2.63	0.26	1.11	0.34	1.35
9	土霉素	0.40	5.01	0.31	2.05	0.43	1.83
10	四环素	0.31	4.60	0.23	3.40	0.30	3.30
11	磺胺二甲嘧啶	0.21	3.54	0.16	2.73	0.20	1.49
12	呋喃西林	0.27	8.34	0.19	3.99	0.25	1.55
13	头孢噻肟	0.26	7.13	0.16	4.85	0.21	1.88
14	苯唑西林	0.02	4.30	0.03	2.36	0.03	0.87

## 2.4 基质加标实验

表 5 加标样品的回收率结果

序号	名称	加标浓度 120 ng/mL		加标浓度 300 ng/mL	
		检测值 (ng/mL)	回收率%	检测值 (ng/mL)	回收率%
1	阿莫西林	135.09	112.6	339.33	113.1
2	林可霉素	5.83	97.2	11.79	78.6
3	磺胺嘧啶	80.03	66.7	157.10	52.4
4	氨苄西林	121.75	101.5	287.77	95.9
5	磺胺噻唑	75.11	62.6	154.68	51.6
6	左氧氟沙星	2.39	40.0	6.92	46.1
7	氧氟沙星	50.37	42.0	140.67	46.9
8	磺胺吡啶	79.12	65.9	164.55	54.9
9	土霉素	58.61	48.8	130.75	43.6
10	四环素	3.28	54.7	8.13	54.2
11	磺胺二甲嘧啶	4.70	78.4	13.28	88.6
12	呋喃西林	349.22	72.8	849.89	70.8
13	头孢噻肟	89.77	74.8	234.40	81.1
14	苯唑西林	91.09	75.9	234.54	81.2

---

称取 1.5 g 胎粪样品两份,用 4.5 mL 80%甲醇水溶液超声混匀后,分别加入混合标准品溶液,涡旋混匀,使标准品最终浓度分别为 120 ng/mL 和 300 ng/mL (以苯唑西林的浓度为例),按 1.4 中样品萃取和净化过程进行处理,进样检测,样品加标回收率在 40~113.1%之间。从结果看出,回收率偏低是由于胎粪中抗生素检测尚无标准可参考,样品前处理方法在目前提取和净化的基础上还需进一步优化,所测结果可满足临床检测需求,由于涉及不同种类抗生素的同时检测,后续临床检测时可根据抗生素的种类进行分类检测,从而提高回收率。

### 3. 结论

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 联用快速测定新生儿排泄物中 14 种抗生素的方法。该方法在 12 min 内完成 14 种抗生素的分析,校准曲线的相关系数均在 0.991 以上;低、中、高不同浓度抗生素的混合标准溶液平行测试 6 次,14 种抗生素的保留时间和峰面积重现性良好;加标浓度为 120 ng/mL 和 300 ng/mL 的样品,加标回收率在 40.0~113.1%之间,表明该方法具有分析速度快、重复性好的特点,可满足新生儿排泄物中不同种类的抗生素同时检测。



---

## 使用岛津“药物毒物快速筛查方法包”对尿样中药物毒物进行快速筛查、定性及定量

**摘要:** 本文基于岛津“药物毒物快速筛查方法包”(Ver. 2), 使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱 LCMS-8045 联用, 实现了一次进样分析即可对尿样中的药物毒物进行快速筛查、定性及半定量分析。根据方法包提供的 QuEChERS 前处理方法将尿样处理后上机分析, 五种加标物质 Methamphetamine、MDMA、Ketamine、Methomyl、Warfarin 均被筛查出; 依据 MRM 同时触发产物离子扫描结果进行二级质谱库搜索, 结果显示五种检出物的匹配度均在 89%及以上; 同时依据方法包内置的标准曲线得到检出物的半定量分析结果。采用该方法包, 方法无需优化仪器参数, 具有分析速度快、筛查结果可靠的特点, 可用于 161 种药物毒物的快速筛查、定性及半定量分析。

**关键词:** 药物毒物快速筛查方法包 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱

当前, 药物滥用和非法使用毒品已成为一个社会问题, 导致越来越多的犯罪以及精神类药物和安眠药物的成瘾性倾向。同时滥用药物还出现了多元化的趋势。寻找和确认在刑侦、法医、毒理和临床等领域的违规化合物需要快速、高灵敏且行之有效的分析方法, 以解决司法人员在相关案件审理时亟需解决的“是什么、有多少”的问题。

针对当前刑侦、法医、毒理等相关领域通常需要分析的化合物, 岛津公司适时推出“药物毒物快速筛查”方法包, 该方法包使用简易定量法, 以用于检测正离子的Diazepam-d5及用于检测负离子的Phenobarbital-d5作为内标, 无需准备标准样品, 即可进行161种药物、毒物的同时筛查、定性和半定量分析。其特点主要有: 1) 提供分析解决方案: 方法包中包含方法文件及样品前处理方案, 其中列出了质谱分析条件, 液相色谱分析条件, 各化合物保留时间信息, 报告文件等, 实验人员只需简单准备实验条件即可快速启动分析工作。由于这些分析方法已在实验室验证, 因此可以显著减少分析方法开发所需的时间; 2) 简化LC-MS/MS多组分同时分析时的分析流程: 在进行LC-MS/MS分析时, 必须对各化合物的质谱分析参数进行优化。由于方法包中已经包含了经过优化后的各化合物质谱分析参数, 从而可大幅度减少参数优化所需的时间和精力; 3) 提供优化后的同步检查扫描参数以用于筛查分析: 通过方法包中的二级质谱数据库, 可以对产物离子扫描结果进行相似度检索, 进一步对疑似阳性化合物进行定性确证, 确保检查结果的准确性; 4) 轻松自定义方法文件: LabSolutions LCMS可以轻松自定义方法文件, 增加或减少待分析目标化合物。并且, 该方法包中的分析参数列表可以用于针对待分析目标化合物创建特

定的新方法文件。

本文基于岛津“药物毒物快速筛查方法包”(Ver. 2), 使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A和三重四极杆质谱LCMS-8045联用, 实现了尿样中5种毒物的快速筛查、定性及半定量分析。方法具有分析速度快、筛查结果可靠的特点,可用于161种药物、毒物的快速筛查、定性及半定量分析。

## 1. 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×2 输液泵, DGU-20A<sub>5</sub> 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

#### 液相条件

色谱柱: Phenomenex Kinetex XB-C18 (2.1 mm I.D.×100 mm L., 2.6 μm)

流动相: A 相-水+0.1%甲酸+10 mM 甲酸铵, B 相-甲醇+0.1%甲酸+10 mM 甲酸铵

流 速: 0.3 mL/min

柱 温: 40℃

进样量: 1 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 5%, 洗脱程序见表 1.

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
7.50	Pumps	Pump B Conc.	95
10.00	Pumps	Pump B Conc.	95
10.01	Pumps	Pump B Conc.	5
15.00	Controller	Stop	

#### 质谱条件

离子化模式: ESI

加 热 气: 空气 10.0 L/min

雾 化 气: 氮气 3.0 L/min

干 燥 气: 氮气 10.0 L/min

碰 撞 气: 氩气

接口 温度: 300°C

DL 温度: 250°C

加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测(MRM)

MRM 参数: 见方法包

### 1.3 样品前处理方法

参照“药物毒物快速筛查方法包”中提供的 QuEChERS 前处理方法:

(1) 向 15 mL 离心管中加入 0.5 mL 尿样 (其中加入了 100 ng/mL 的 Methamphetamine、MDMA、Ketamine、Methomyl、Warfarin) 及 1 mL 蒸馏水, 漩涡混合器混合均匀;

(2) 加入 1.5 mL 乙腈和 10  $\mu$ L 10 ng/ $\mu$ L Diazepam-d5 溶液, 用漩涡混合器混合后加入 0.5 g Q-sep™ QuEChERS 盐包, 震荡, 涡旋, 充分混合后, 3000 rpm 离心 10 min, 上清液移至新的 15 mL 离心管中, 添加 100  $\mu$ L 0.1%TFA-乙腈溶液, 涡旋混匀后氮气吹干;

(3) 干燥得到的样品用 500  $\mu$ L 甲醇复溶, 10000 rpm 离心 5 min, 取 200  $\mu$ L 上清液, 装入放有内衬管的 1.5 mL 进样瓶中, 上机分析。

## 2. 分析结果

### 2.1 样品筛查结果

参照“药物毒物快速筛查方法包”中的方法 SSS\_Rapid Tox Screening\_Ver2.lcm 对样品按照上述 1.3 的前处理方法处理后进样分析, Methamphetamine、MDMA、Methomyl、Ketamine、Warfarin 全部被检测到。此外 Caffeine 也有被检出, 推测可能是被测人饮茶所致, 这也从一个侧面说明了方法包筛查结果具有较高的准确性及可靠性。MRM 色谱图如图 1 所示。

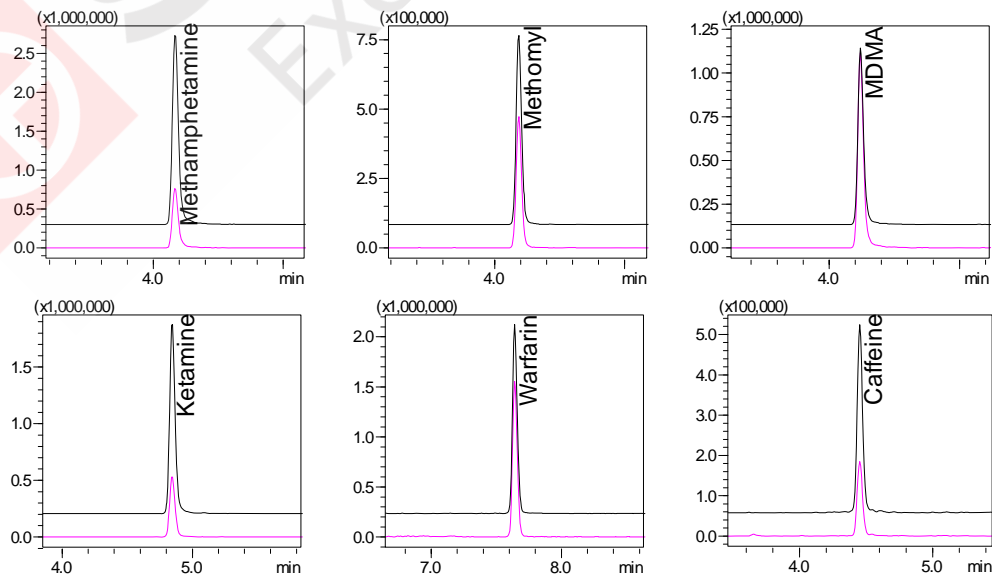


图1 检出化合物 MRM 色谱图

## 2.2 谱库搜索结果

“SSS\_Rapid Tox Screening\_Ver2.lcm”方法中包含触发产物离子扫描功能:当超过设定的筛查扫描阈值时,同步筛查扫描功能启动,可自动对检出化合物进行产物离子扫描,得到检出物的二级质谱并进行谱库搜索,得到匹配度,根据匹配度可对检出物进行进一步定性。本次分析得到的匹配度结果和搜库结果分别如表2和图2~7(图中上部为目标化合物二级质谱,下部为谱库中相应化合物的标准二级质谱)所示。六种检出物及内标物的匹配度结果均在74%及以上,说明得到的筛查结果可靠性良好。

表2 谱库搜索匹配度结果表

编号	化合物	匹配度%
1	Methamphetamine	95
2	MDMA	99
3	Methomyl	89
4	Ketamine	92
5	Warfarin	94
6	Caffeine	74

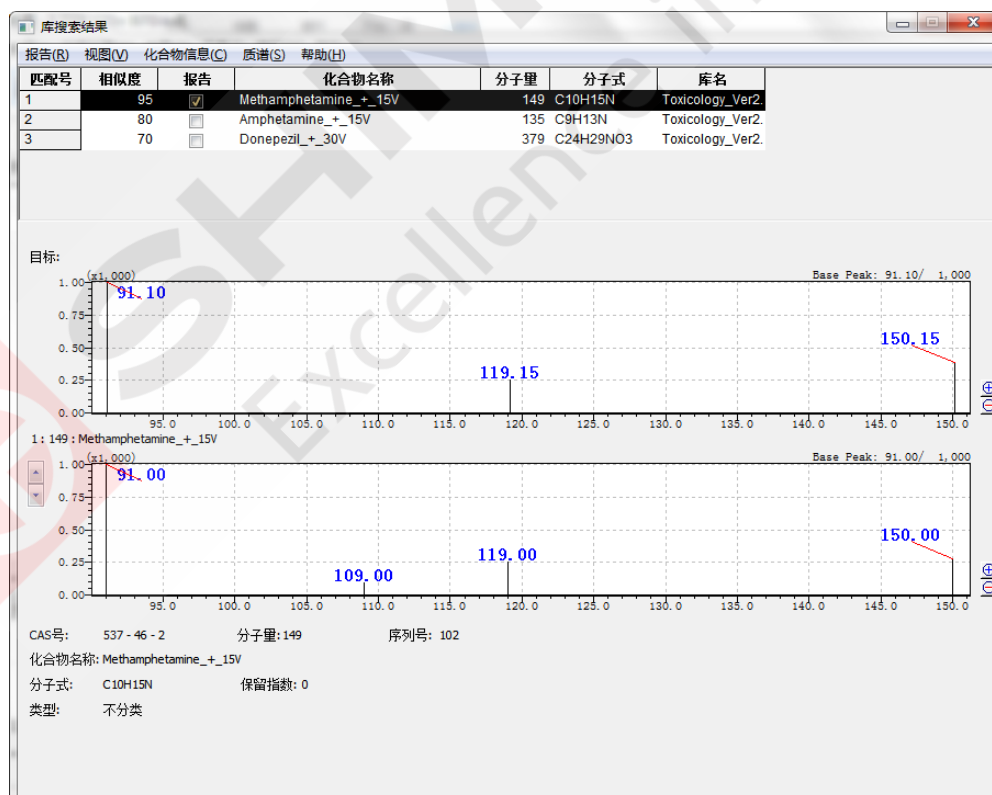


图 2 Methamphetamine 二级质谱图 (上) 与库中二级质谱图 (下) 匹配情况

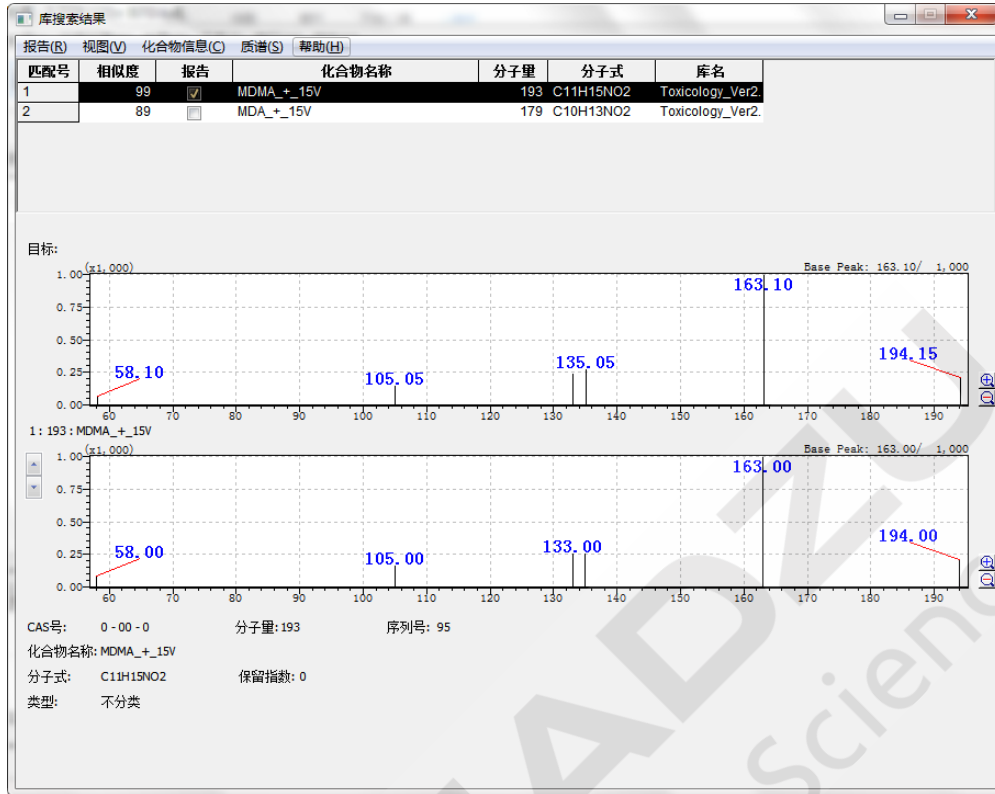


图 3 MDMA 二级质谱图（上）与库中二级质谱图（下）匹配情况



图 4 Methomyl 二级质谱图（上）与库中二级质谱图（下）匹配情况

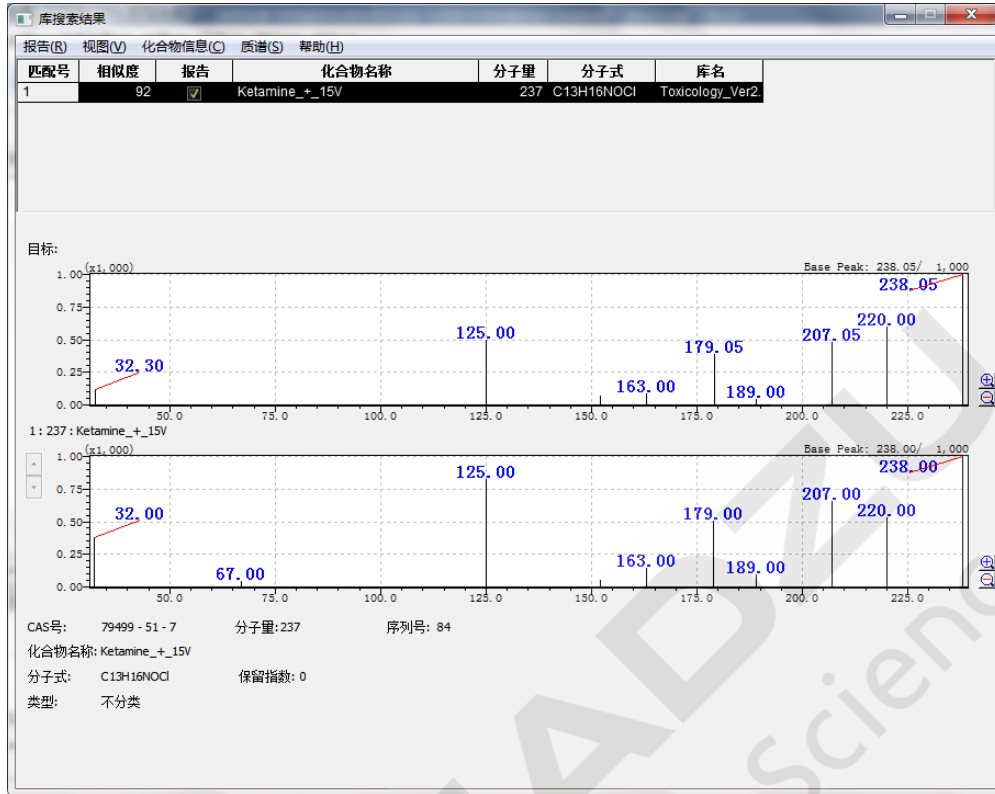


图 5 Ketamine 二级质谱图（上）与库中二级质谱图（下）匹配情况

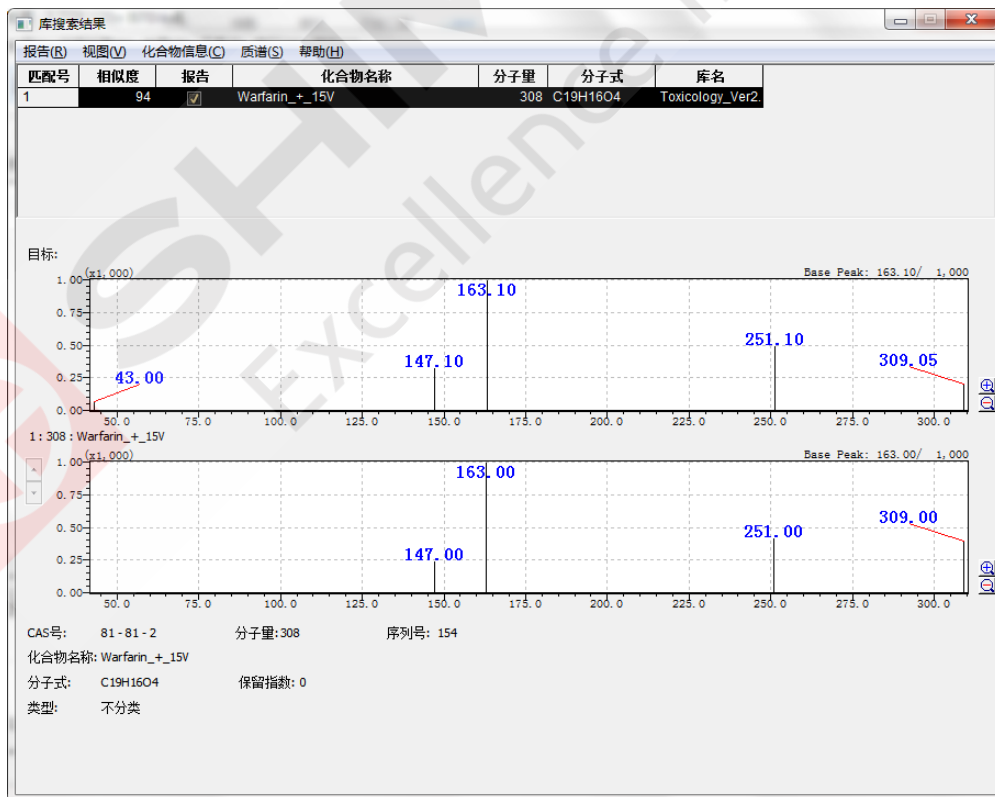


图 6 Warfarin 二级质谱图（上）与库中二级质谱图（下）匹配情况

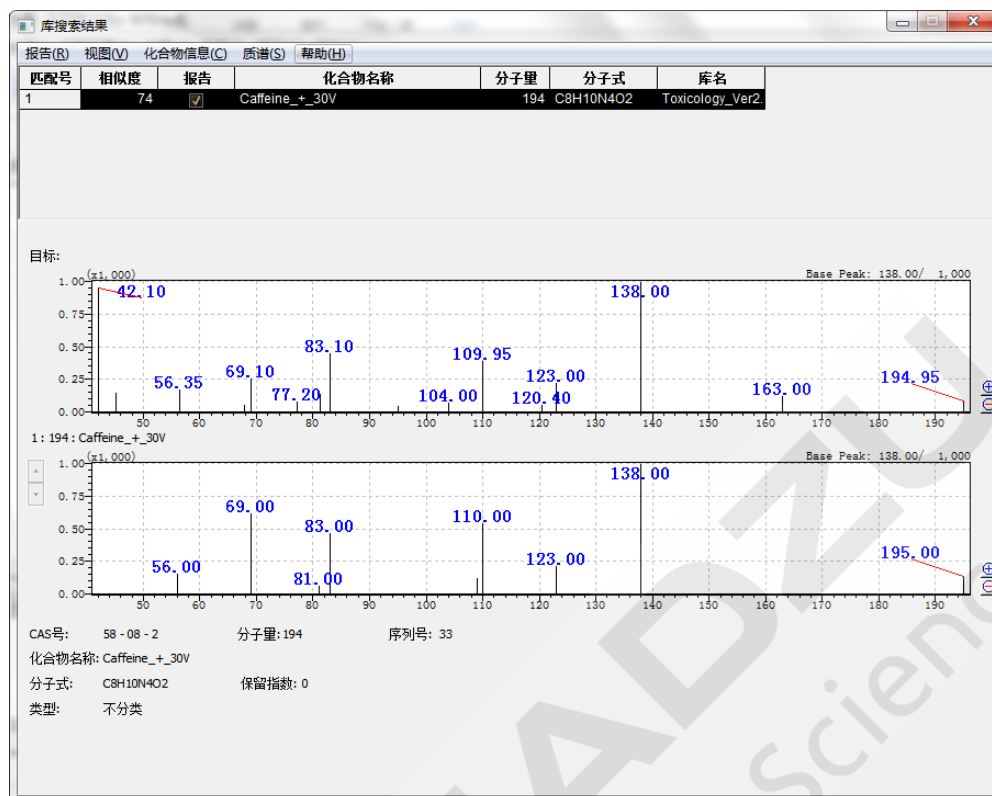


图7 Caffeine 二级质谱图（上）与库中二级质谱图（下）匹配情况

### 2.3 利用内标物半定量分析结果

方法包中方法储存了用于检测正离子的 Diazepam-d5及用于检测负离子的 Phenobarbital-d5 作为内标的每一化合物的校准曲线，因此无需准备标准品即可进行半定量分析。通过该方法获得的半定量结果可供实验人员参考，如果需要获取精确的定量结果，则需要根据每个真正标准品进行的定量操作。如果在分析的同时选择报告输出功能，并加载方法包中附带的报告模板，则分析完成后可直接生成带定量结果的报告（报告中定量结果截图如图8所示）。

表3 各个化合物半定量分析结果

编号	化合物	定量结果 (ng/ $\mu$ L)
1	Methamphetamine	0.736
2	MDMA	0.295
3	Methomyl	0.894
4	Ketamine	0.630
5	Warfarin	0.908
6	Caffeine	1.162

ID#	Name	Ret. Time	m/z	Area	Conc.	Unit
1	0 Diazepam-d5	7.637	290.15>154.05	2238104	0.200	ng/ul
33	Caffeine	4.467	195.05>138.05	1294256	1.162	ng/ul
84	Ketamine	4.863	238.10>125.00	7681433	0.630	ng/ul
95	MDMA	4.259	194.10>163.05	5105250	0.295	ng/ul
102	Methamphetamine	4.187	150.10>91.05	14455473	0.736	ng/ul
103	Methomyl	4.209	163.00>88.05	3659802	0.894	ng/ul
158	Warfarin	7.657	309.15>163.05	7939075	0.908	ng/ul

图 8 利用方法包自动生成报告中定量结果截图

### 3. 结论

本文基于岛津“药物毒物快速筛查方法包”（Ver. 2），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，实现了尿样中毒物的快速筛查、定性及半定量。样品采用方法包中 QuEChERS 前处理方法处理后上机分析，Methamphetamine、MDMA、Methomyl、Ketamine、Warfarin、Caffeine（可能源于供试人员饮茶所致）等六种毒物分别被筛查出；依据 MRM 同时触发产物离子扫描分析，通过方法包中二级质谱库搜索，匹配得到化合物与上述检出物相同，匹配度在 74~99% 之间；通过方法自带的简易定量法，可在没有目标物标品的情况下得到各个化合物的半定量结果供相关人员参考。总之，通过方法包的使用在一次分析中解决了药物毒物筛查过程中“是什么、有多少”的棘手问题。

附录：方法包中包含化合物清单

1	7-Aminoclonazepam	55	Diltiazem	109	Milnacipran
2	7-Aminoflunitrazepam	56	Diphenhydramine	110	Mirtazapine
3	7-Aminonimetazepam	57	Diprophyline	111	Morphine
4	7-Aminonitrazepam	58	Diquat	112	Mosapramine
5	8-Hydroxyetizolam (M-III)	59	Donepezil	113	Nemonapride
6	9-Hydroxyrisperidone	60	Dosulepin	114	Nicotine
7	Acetaminophen	61	Duloxetine	115	Nimetazepam
8	Acetylpheneturide	62	Ecgonine methyl ester	116	Nitrazepam
9	Aconitine	63	Ephedrine	117	Nortriptyline
10	Allylisopropylacetylurea	64	Escitalopram	118	Olanzapine
11	alpha-Hydroxyalprazolam	65	Estazolam	119	Oxazepam
12	alpha-Hydroxybrotizolam	66	Ethenzamide	120	Paliperidone
13	alpha-Hydroxymidazolam	67	Ethyl loflazepate	121	Paroxetine
14	alpha-Hydroxytriazolam	68	Etizolam	122	Pemoline
15	Alprazolam	69	Fenitrothion(MEP)	123	Pentazocine
16	Amitriptyline	70	Fludiazepam	124	Pentobarbital (neg)
17	Amobarbital (neg)	71	Flunitrazepam	125	Perospirone
18	Amoxapine	72	Flurazepam	126	Perphenazine
19	Amphetamine	73	Fluvoxamine	127	Phenobarbital (neg)
20	Aripiprazole	74	Gabapentin	128	Pimozide
21	Atropine	75	Glibenclamide	129	Pioglitazone
22	Barbital (neg)	76	Gliclazide	130	Primidone
23	Benzoyl ecgonine	77	Glimepiride	131	Promethazine
24	Biperiden	78	Haloperidol	132	Propericiazine
25	Blonanserin	79	Haloxazolam	133	Propofol (neg)
26	Bromazepam	80	Hydroxyzine	134	Quazepam
27	Bromocriptine	81	Ibuprofen	135	Quetiapine
28	Bromovalerylurea	82	Imipramine	136	Risperidone

29	Bromperidol	83	Ketamine	137	Ropivacaine
30	Brotizolam	84	Lamotrigine	138	Salicylic acid (neg)
31	Bupivacaine	85	Levetiracetam	139	Sertraline
32	Caffeine	86	Levomepromazine	140	Sildenafil
33	Carbamazepine	87	Lidocaine	141	Spiperone
34	Carpipramine	88	Lorazepam	142	Sulpiride
35	Chlordiazepoxide	89	Lormetazepam	143	Tadalafil
36	Chlorpheniramine	90	Loxoprofen (neg)	144	Tandospirone
37	Chlorpromazine	91	Malathion	145	Temazepam
38	Clobazam	92	Maprotiline	146	THC
39	Clocapramine	93	MDA	147	THC-COOH
40	Clomipramine	94	MDMA	148	Thiamylal (neg)
41	Clonazepam	95	Medazepam	149	Timiperone
42	Clotiazepam	96	Mefenamic acid	150	Tofisopam
43	Cloxacolam	97	Memantine	151	Topiramate
44	Clozapine	98	Mepivacaine	152	Trazodone
45	Cocaine	99	Mequitazine	153	Triazolam
46	Codeine	100	Metformin	154	Trihexyphenidyl
47	Colchicine	101	Methamphetamine	155	Vardenafil
48	Desipramine	102	Methomyl	156	Valproic Acid (neg)
49	Desmethylclotiazepam	103	Methylephedrine	157	Warfarin
50	Desmethyldiazepam	104	Methylphenidate	158	Zolpidem
51	Dextromethorphan	105	Mexazolam	159	Zopiclone
52	Diazepam	106	Mexiletine	160	Zopiclone-N-oxide
53	Diclofenac	107	Mianserin	161	Zotepine
54	Dihydrocodeine	108	Midazolam		

注：负离子模式在括号中进行了标注 (neg)，其余采用正离子模式

---

# 利用 LC-MS/MS 分析三种用于抗体药物生产的培养基组分差异

**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 联用同时测定 3 种用于抗体药物生产的培养基中 95 种化合物的方法。该方法在 17 min 内完成 95 种化合物的分析，速度快、重复性好、灵敏度高，适合用于抗体药物生产的培养基中氨基酸类、维生素类和其他类影响因子的高灵敏度快速检测。利用该方法可快速对比不同类别和不同批次培养基之间的组分差异，从而根据抗体生产的要求选择合适的培养基，提高抗体生产效率。

**关键词：**超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪 抗体药物生产 培养基

动物细胞大规模培养和抗体质量分析已然成为抗体药物产业化的主要限制因素。培养基优化作为动物细胞大规模培养的关键环节，对抗体质量的影响显得尤为重要。众所周知，培养基开发与生产用细胞株特征关系密切，因此，在培养基开发过程中需要围绕生产用细胞株的特点进行“个性化培养基”的设计与优化，了解每种细胞在培养过程中对各种营养成分的消耗，以及自身分泌物对细胞生产繁殖的影响。

为满足快速全面分析细胞培养基组分，将基础碳源、氮源、核苷酸、维生素和其他主要代谢物一起检测分析，得到更多有关生物过程中的详细信息，我们开发出“细胞培养分析方法包”。该技术平台采用超高效液相色谱三重四极杆液质联用仪，仅需17分钟，即可同时监测分析95种细胞培养上清液营养成份和代谢物的相对丰度变化。

本文使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A和三重四极杆质谱LCMS-8045联用，利用“细胞培养分析方法包”建立了用于抗体药物生产的培养基中营养物质和细胞代谢物的液相色谱-串联质谱的同时分析方法，供相关人员参考。

## 1. 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×2 输液泵，DGU-20A<sub>5</sub> 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

分析仪器：LC-30A系统  
色 谱 柱：见“细胞培养分析方法包”  
流 动 相：见“细胞培养分析方法包”  
流 速：0.35 mL/min  
进样体积：1  $\mu$ L  
柱 温：40 $^{\circ}$ C  
洗脱方式：梯度洗脱  
时间程序：见“细胞培养分析方法包”

### 质谱条件

离子源：ESI，正负离子同时扫描  
离子源接口电压：+4.0 kV; -3.0 kV  
雾化气：氮气 3.0 L/min  
干燥气：氮气 15 L/min  
加热气：空气 10 L/min  
碰撞气：氩气  
脱溶剂管温度：250 $^{\circ}$ C  
加热模块温度：400 $^{\circ}$ C  
接口温度：300 $^{\circ}$ C  
扫描模式：多反应监测（MRM）  
驻留时间：4.0-97.0 ms  
MRM 参数：见“细胞培养分析方法包”  
化合物：见表 1

## 1.3 培养基

三种用于抗体药物生产的培养基分别为：1#培养基、2#培养基和 3#培养基。

## 1.4 数据处理

软件：LabSolutions

Traverse MS

## 1.5 样品制备

样品前处理方法：取 500  $\mu\text{L}$  细胞培养液，在室温下离心 1 分钟（3000 rpm），吸取 100  $\mu\text{L}$  离心后上清液到新的离心管中，然后加入 20  $\mu\text{L}$  2-异丙基苹果酸内标溶液（0.5 mmol/L），再加入 200  $\mu\text{L}$  乙腈，涡旋使充分混匀，室温下离心 15 分钟（15000 rpm），精密吸取上清液 100  $\mu\text{L}$ ，加入 900  $\mu\text{L}$  水，涡旋混匀，上机前再用纯水稀释 10 倍。

表 1. 细胞培养方法包中 96 种化合物列表

编号	化合物名	类别	编号	化合物名	类别	编号	化合物名	类别
1	2-Isopropylmalic acid	内标	33	N-Acetylaspartic acid	氨基	65	Cytidine	核苷
2	Gluconic acid	糖类	34	N-Acetylcysteine	氨基	66	Cytidine monophosphate	核苷
3	Glucosamine Carbohydrate	糖类	35	Ornithine	氨基	67	Deoxycytidine	核苷
4	Hexose (Glucose)	糖类	36	Oxidized glutathione	氨基	68	Guanine	核苷
5	Sucrose Carbohydrate	糖类	37	Phenylalanine	氨基	69	Guanosine	核苷
6	Threonic acid Carbohydrate	糖类	38	Pipecolic acid	氨基	70	Guanosine	核苷
7	2-Aminoadipic acid	氨基	39	Proline	氨基	71	Hypoxanthine	核苷
8	4-Aminobutyric acid	氨基	40	Serine	氨基	72	Inosine	核苷
9	4-Hydroxyproline	氨基	41	Threonine	氨基	73	Thymidine	核苷
10	5-Glutamylcysteine	氨基	42	Tryptophan	氨基	74	Thymine	核苷
11	5-Oxoproline	氨基	43	Tyrosine	氨基	75	Uracil	核苷
12	Alanine	氨基	44	Valine	氨基	76	Uric acid	核苷
13	Alanyl-glutamine	氨基	45	4-Aminobenzoic acid	维生	77	Uridine	核苷
14	Arginine	氨基	46	Ascorbic acid	维生	78	Xanthine	核苷
15	Asparagine	氨基	47	Ascorbic acid	维生	79	Xanthosine	核苷
16	Aspartic acid	氨基	48	Biotin	维生	80	Penicillin G	抗生
17	Citrulline	氨基	49	Choline	维生	81	2-Aminoethanol	其他
18	Cystathionine	氨基	50	Cyanocobalamin	维生	82	2-Ketoisovaleric acid	其他
19	Cysteine	氨基	51	Ergocalciferol	维生	83	3-Methyl-2-oxovaleric	其他
20	Cystine	氨基	52	Folic acid	维生	84	4-Hydroxyphenyllactic	其他
21	Glutamic acid	氨基	53	Folinic acid	维生	85	Citric acid	其他
22	Glutamine	氨基	54	Lipoic acid	维生	86	Ethylenediamine	其他
23	Glutathione	氨基	55	Niacinamide	维生	87	Fumaric acid	其他
24	Glycine	氨基	56	Nicotinic acid	维生	88	Glyceric acid	其他
25	Glycyl-glutamine	氨基	57	Pantothenic acid	维生	89	Histamine	其他
26	Histidine	氨基	58	Pyridoxal	维生	90	Isocitric acid	其他
27	Isoleucine	氨基	59	Pyridoxine	维生	91	Lactic acid	其他
28	Kynurenine	氨基	60	Riboflavin	维生	92	Malic acid	其他
29	Leucine	氨基	61	Tocopherol acetate	维生	93	O-Phosphoethanolamine	其他
30	Lysine	氨基	62	Adenine	核苷	94	Putrescine	其他
31	Methionine	氨基	63	Adenosine	核苷	95	Pyruvic acid	其他
32	Methionine sulfoxide	氨基酸	64	Adenosine monophosphate	核苷酸	96	Succinic acid	其他

## 2. 结果及讨论

### 2.1 用于抗体药物生产的培养基组分分析色谱图

使用“细胞培养分析方法包”中的方法对用于抗体药物生产的培养基中组分进行分析，目标组分不同程度被检出，色谱图如图 1 所示。

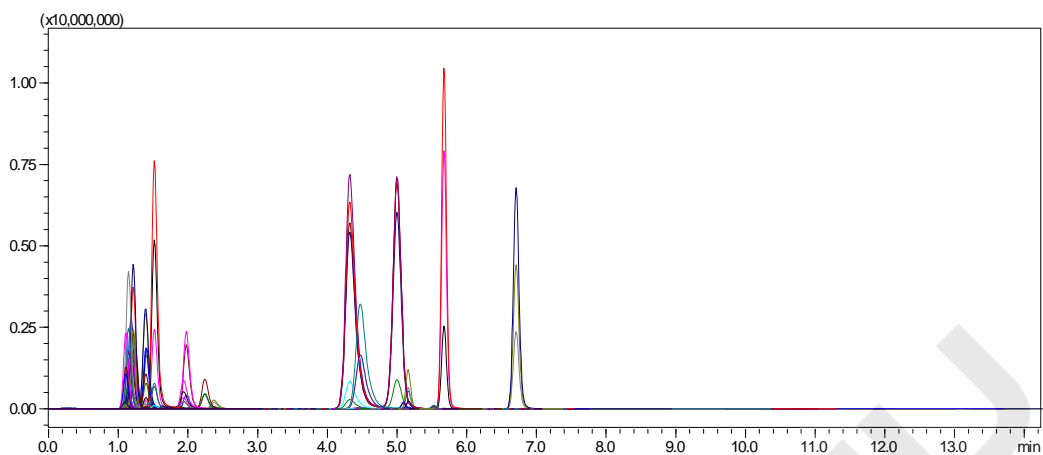


图1 1#培养基上清液分析色谱图

## 2.2 三种用于抗体药物生产的培养基中部分氨基酸、维生素和其他类化合物的含量差异

### 2.2.1 氨基酸类化合物

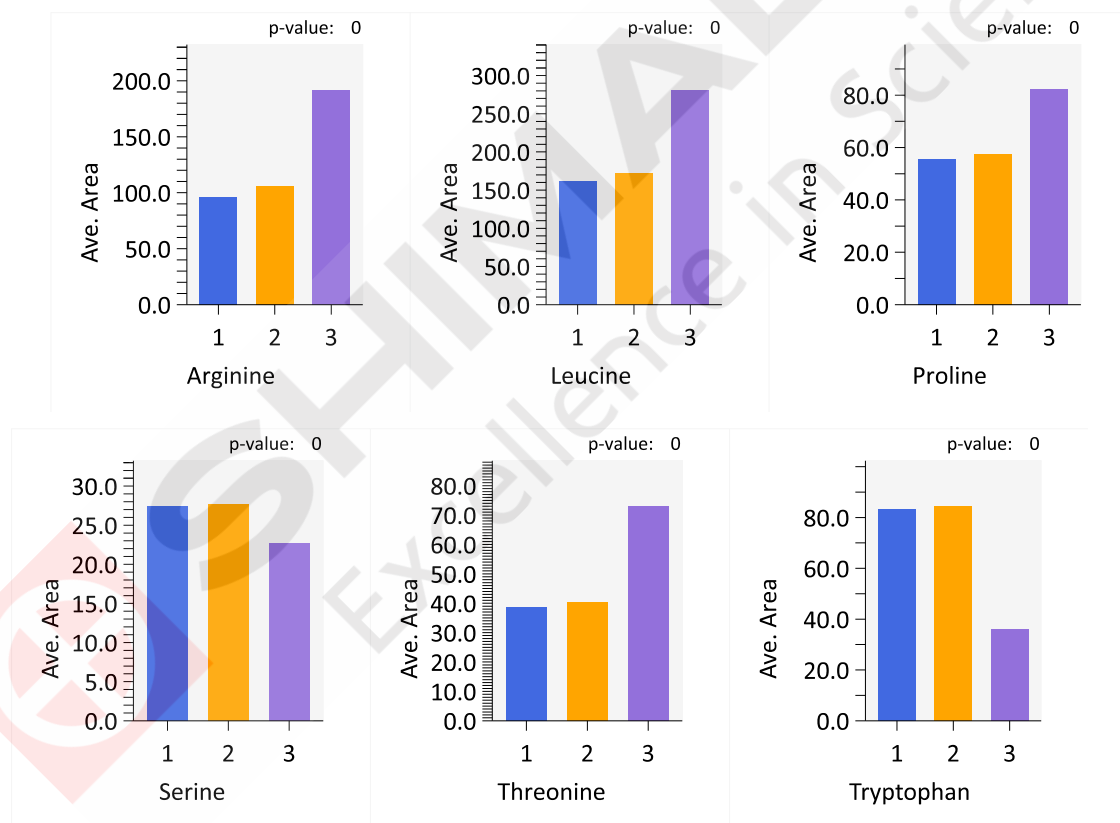


图2 3种用于抗体药物生产的培养基中部分氨基酸类化合物的相对含量差异

### 2.2.2 维生素类化合物

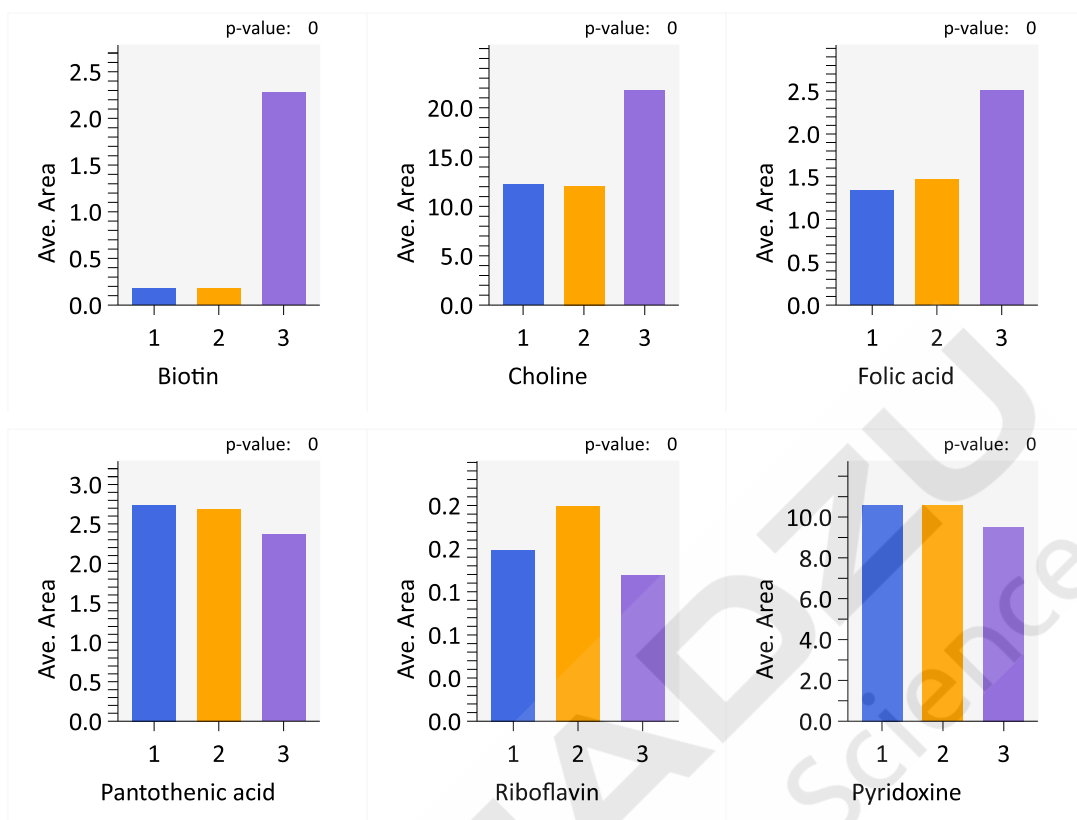


图3 3种用于抗体药物生产的培养基中部分维生素类化合物的相对含量差异

### 2.2.3 其他类化合物

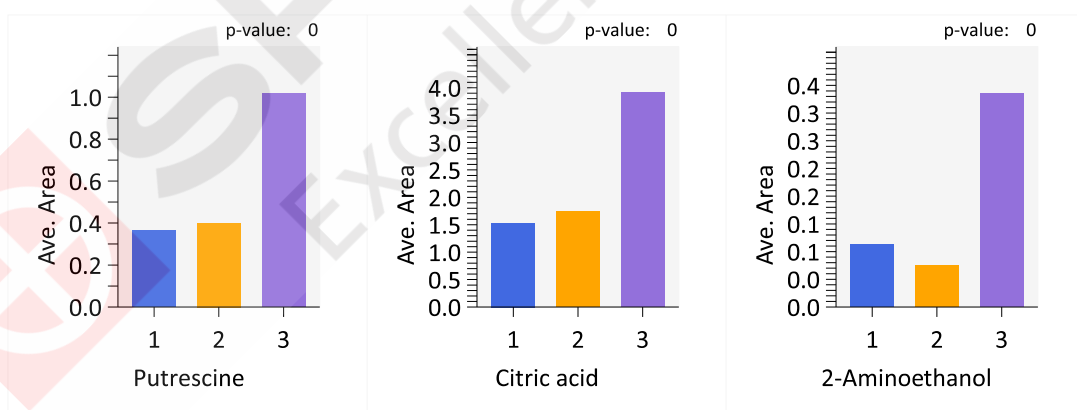


图4 3种用于抗体药物生产的培养基中其他类化合物的相对含量差异

图 2-4 中纵坐标为峰面积比，横坐标代表 3 个培养基样品。结果显示 1#和 2#培养基中每个对应的氨基酸、维生素和其他类化合物的峰面积比相差不大，表明这两个培养基组成以及比例相近，而 3#培养基样品与 1#和 2#相差比较大。

---

### 3. 结论

采用岛津公司 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪分析 3 种用于抗体药物生产的动物细胞培养基中 95 种组分相对含量之间的差异。利用岛津“细胞培养分析方法包”快速分析了 3 种培养基中 95 种化合物的相对含量，并对培养基中糖类、氨基酸类和其他类化合物在 3 种培养基中的分布情况以图表的形式进行了详细说明。



## 超高效液相色谱三重四极杆质谱法测定血清中 25-羟基维生素 D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> 含量

**摘要:** 本文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, 建立了血清中 25-羟基维生素 D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> 的定量检测方法, 并依据临床检验相关指导原则完成了方法学验证。实验结果表明, 该方法对血清中 25-羟基维生素 D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> 测定的可报告范围为 5-500 ng/mL, 日内和日间精密度 (%CV) 分别为 1.4-4.6%、3.3-6.9%, 准确度范围为 86.7-111.8%。该方法分析速度快、稳定性和准确度高, 适用于血清中 25-羟基维生素 D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> 的定量分析, 能够为临床检验行业的从事人员提供参考。

**关键词:** LCMS-8045 25-羟基维生素 D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> 血清 临床检验

维生素 D 是一类脂溶性激素原, 对人体的骨骼健康, 钙、磷的体内平衡调节起到重要作用, 此外维生素 D 还有着广泛的非骨骼效应, 与心血管疾病、免疫疾病、糖尿病和肿瘤等疾病密切相关。维生素 D 的缺乏可导致骨骼发育受损, 以及各类慢性疾病的发病风险增加, 如类风湿性关节炎、软骨化、冠心病、糖尿病和肿瘤等。人体维生素 D 的来源主要有两个途径, 一是通过膳食途径摄入的维生素 D<sub>2</sub> (酵母或真菌) 和维生素 D<sub>3</sub> (鱼、鱼肝油或蛋黄), 二是机体经光照将皮肤中的 7-脱氢胆固醇转化为维生素 D<sub>3</sub>。

维生素 D 在肝脏中可转化为 25-羟基维生素 D (25OHD), 从而被机体转运或储藏, 因此体内 25OHD 含量可有效反映人体维生素 D 的营养状态。此外, 25OHD 在体内稳定, 半衰期长, 其浓度水平与体内维生素 D 含量直接相关, 因此 25OHD 可作为一类主要的生物标志物用于体现机体维生素 D 水平。

目前, 25OHD 的检测方法有多种, 包括免疫检测、HPLC 法和 LC-MSMS 方法等。其中, LC-MS/MS 法具有特异性强、准确度高、分析时间短等特点, 被认为是评价机体维生素 D 营养状况的“金标准”。对此, 我们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, 并采用 D6-25OHD<sub>2</sub> 和 D6-25OHD<sub>3</sub> 为内标, 建立了血清中 25OHD<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> 的定量分析方法, 并结合临床检验相关指导原则, 完成了方法的全验证, 以供相关从事人员参考。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器

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×2 输液泵, DGU-20A5 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-20AC 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-C8(2.0 mm I.D. × 50 mm L., 2.2 μm)

流动相: A 相-2 mM 乙酸铵水溶液 (含 0.1%甲酸),

B 相-2 mM 乙酸铵甲醇溶液 (含 0.1%甲酸)

流速: 0.4 mL/min

柱温: 25°C

进样体积: 5 μL

自动进样器温度: 10°C

洗脱方式: 梯度洗脱, 初始比例 85% B

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.50	Pumps	Pump B Conc.	85
3.00	Pumps	Pump B Conc.	98
4.00	Pumps	Pump B Conc.	98
4.10	Pumps	Pump B Conc.	85
6.00	Controller	Stop	

### 质谱条件:

离子化模式: ESI(+)

雾化气: 氮气 3.0 L/min

加热气: 空气 8.0 L/min

干燥气流速: 氮气 10.0 L/min

接口温度: 300°C

DL 温度: 150°C

加热模块温度: 300°C

扫描模式: 多反应监测(MRM), MRM 参数见表 2

## 1.3 样品制备

### 1.3.1 标准工作曲线配制

称取 4.0 g BSA 溶于 100 mL PBS, 配制 4% BSA 溶液作为血清的替代基质溶液, 用于配制

标准工作曲线。用甲醇配制浓度为 100  $\mu\text{g/mL}$  的 25OHD<sub>2</sub> 和 25OHD<sub>3</sub> 混合标准储备液，随后用甲醇将混合标准溶液逐级稀释成浓度为 0.5  $\mu\text{g/mL}$ 、1.0  $\mu\text{g/mL}$ 、2.0  $\mu\text{g/mL}$ 、5.0  $\mu\text{g/mL}$ 、10  $\mu\text{g/mL}$ 、20  $\mu\text{g/mL}$  和 50  $\mu\text{g/mL}$  的标准工作液。取 10  $\mu\text{L}$  标准工作液加入 990  $\mu\text{L}$  替代基质溶液，依次配制标准曲线。用甲醇配制浓度为 25  $\mu\text{g/mL}$  的 D6-25OHD<sub>2</sub> 和 D6-25OHD<sub>3</sub> 的混合内标储备液，再用甲醇稀释为浓度为 250  $\text{ng/mL}$  的内标工作液。

表 2 MRM 参数

名称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q <sub>1</sub> Pre Bias (V)	CE (V)	Q <sub>3</sub> Pre Bias (V)
25OHD <sub>2</sub>	21343-40-8	413.40	395.35*	-27.0	-9.0	-18.0
			355.35	-27.0	-10.0	-23.0
25OHD <sub>3</sub>	63283-36-3	401.40	383.35*	-13.0	-9.0	-25.0
			365.35	-26.0	-10.0	-12.0
D6-25OHD <sub>2</sub>	-	419.45	401.40*	-28.0	-10.0	-13.0
			355.35	-28.0	-8.0	-16.0
D6-25OHD <sub>3</sub>	-	407.45	389.40*	-27.0	-10.0	-26.0
			371.35	-27.0	-11.0	-17.0

\*表示定量离子对

### 1.3.2 样品前处理方法

取 50  $\mu\text{L}$  样品于 1.5 mL 离心管中，加入 10  $\mu\text{L}$  的内标溶液，再加入 140  $\mu\text{L}$  甲醇，涡旋蛋白沉淀，13000 g 高速离心 10 min，取上清液进样分析。

日内精密度和准确度考察：一天内制备 4 批不同浓度（LOQ、MOQ 和 HOQ）的样本，每批当中不同浓度的样品平行处理 5 个。样品进样分析后，统计精密度变异系数（CV）和准确度。

日间精密度和准确度考察：每天制备 2 批不同浓度（LOQ、MOQ 和 HOQ）的样本，每批当中不同浓度的样品平行处理 5 个，连续考察 3 天。统计精密度变异系数（CV）和准确度。

## 2 结果讨论

### 2.1 MRM 色谱图

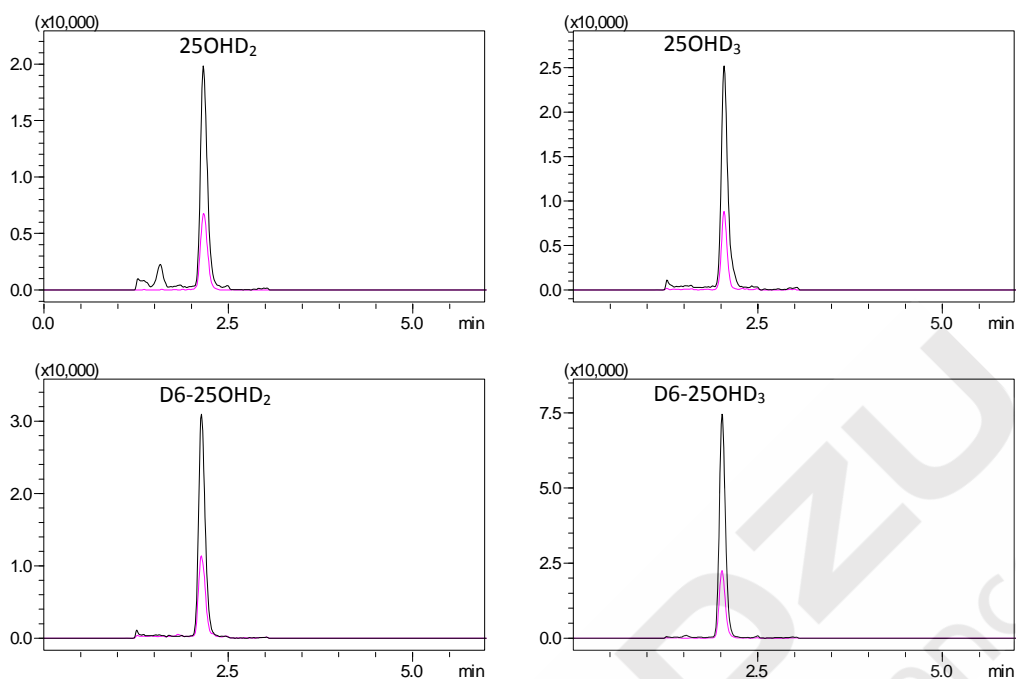


图 1 25OHD<sub>2</sub> 和 25OHD<sub>3</sub> (20 ng/mL) 及其内标物 (50 ng/mL) 的 MRM 色谱图

## 2.2 替代基质与血清基质一致性验证

考虑到正常人血清中含有一定量的 25OHD，空白血清样品经处理分析后，检测到一定量的 25OHD<sub>3</sub>，但未检出 25OHD<sub>2</sub>（如图 2 所示）。因此不宜使用空白血清配制 25OHD 标准曲线，而考虑用 4% BSA 溶液作为血清的替代基质溶液。在此，需要对替代基质与血清基质进行一致性验证。

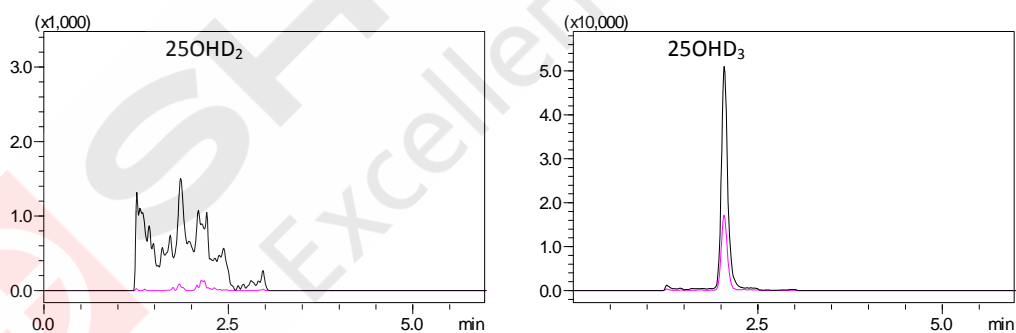


图 2 空白血清样品分析结果

### 2.2.1 替代基质标曲和血清标曲的比较

分别用血清和 4% BSA 溶液依照“标准工作曲线配制”中的方法，配制标准曲线溶液，样品经过前处理后，进样分析，分别绘制出血清基质标曲和替代基质标曲（如图 3 和 4 所示）。

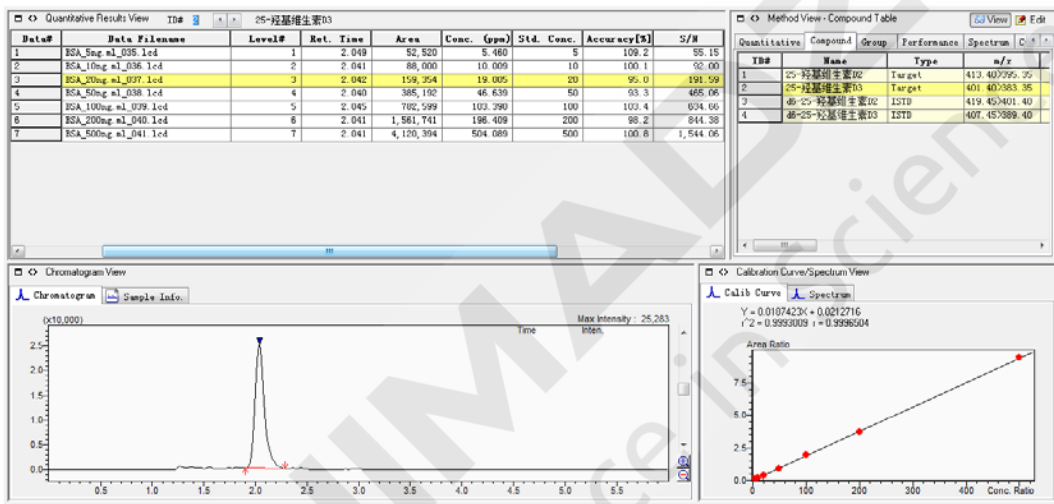
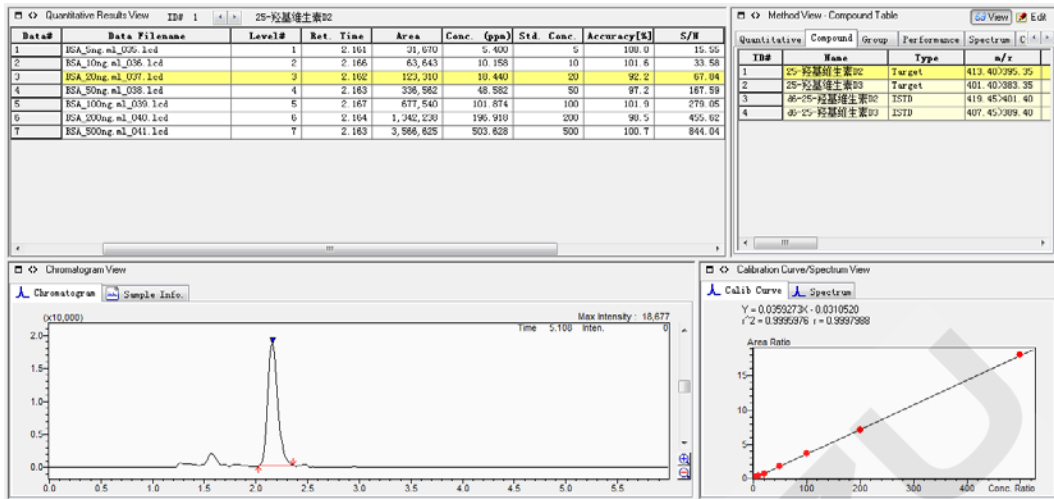
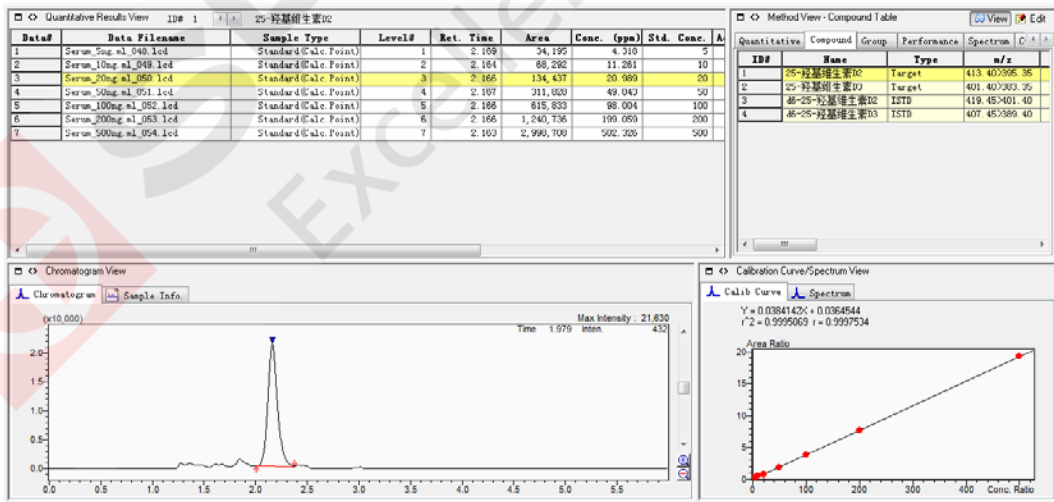


图 3 25OHD 4% BSA 溶液标准曲线（上图为 25OHD<sub>2</sub>，下图为 25OHD<sub>3</sub>）



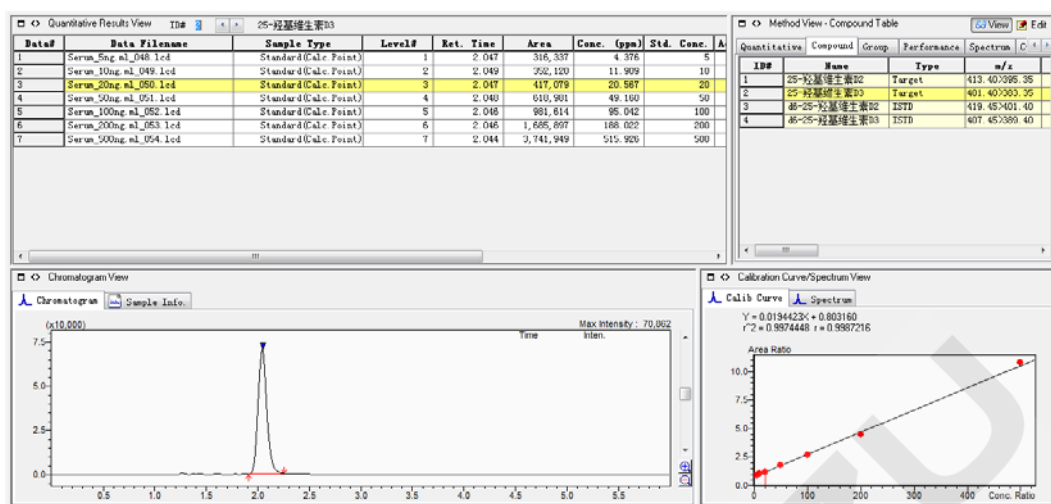


图 4 25OHD 血清标准曲线（上图为 25OHD<sub>2</sub>，下图为 25OHD<sub>3</sub>）

从结果上看,4% BSA 溶液配制的替代基质标曲和血清基质标曲相比,曲线斜率基本相当(如表 3 和图 5 所示)。此外,依据标准加入法外推得到 X 轴负截距,可以计算出血清中 25OHD<sub>3</sub> 的含量为 41.3 ng/mL。

表 3. 替代基质标曲和血清基质标准曲线比较

目标物	标准曲线	
	4% BSA	血清
25OHD <sub>2</sub>	$Y=0.0359273X-0.0310520$	$Y=0.038412X+0.0364544$
25OHD <sub>3</sub>	$Y=0.0187423X+0.0212716$	$Y=0.0194423X+0.803160$

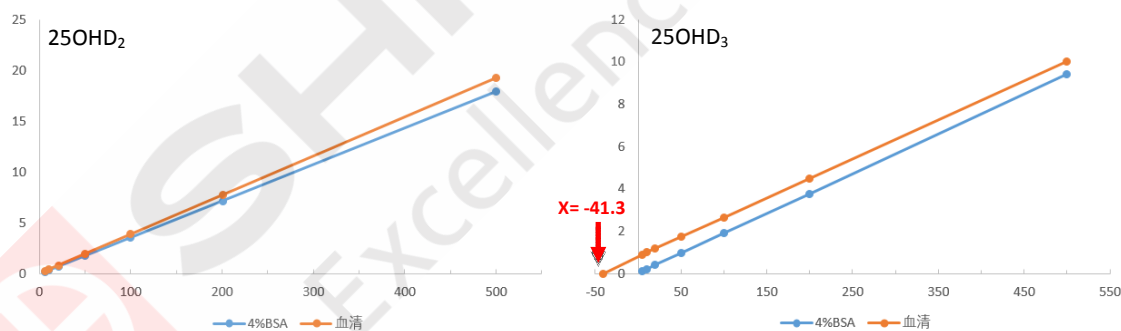


图 5 替代基质标曲和血清标曲比较

## 2.2.2 替代基质标曲测定血清及血清加标样品中 25OHD 含量

分别制备血清及血清加标样品（加入 25OHD 浓度为 15 ng/mL、50 ng/mL 和 450 ng/mL），依照上述前处理方法，各浓度样品平行处理 6 份，进样分析后根据替代基质标曲计算目标物浓度，结果如表 4 所示。

从结果上看，使用替代基质标曲测定各组样品，其检测均值和理论值相对误差均<15%，变异系数<15%，均在可接受范围之内。

表 4. 血清及血清加标样品中 25OHD 含量测定结果

项目	血清		血清加标 (E+15 ng/mL)		血清加标 (E+50 ng/mL)		血清加标 (E+450 ng/mL)	
	25OHD <sub>2</sub>	25OHD <sub>3</sub>	25OHD <sub>2</sub>	25OHD <sub>3</sub>	25OHD <sub>2</sub>	25OHD <sub>3</sub>	25OHD <sub>2</sub>	25OHD <sub>3</sub>
检测均值 (ng/mL)	-	40.3	13.0	55.7	56.4	93.2	465.7	482.3
理论值 (ng/mL)	-	41.3	15.0	56.3	50.0	91.3	450.0	491.3
样品数量 (n)	6	6	6	6	6	6	6	6
相对误差 (%RE)	-	2.3	13.5	1.0	12.9	2.1	3.5	1.8
变异系数 (%CV)	-	2.8	5.3	5.8	2.7	3.6	4.5	2.3

### 2.2.3 替代基质稀释血清基质

采用替代基质稀释血清基质，分别测定不同稀释倍数下得到的空白基质中内源性物质 25OHD 的浓度，该浓度与理论值的偏差在接受范围内（相对误差均<15%，变异系数<15%），结果如表 5 所示。

表 5. 不同稀释倍数下血清中 25OHD 含量测定结果

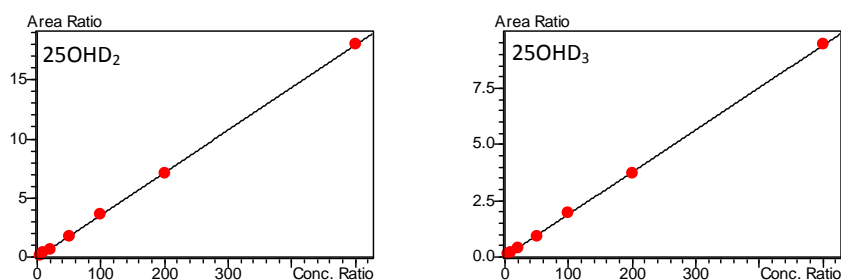
项目	1.25 倍稀释		2.5 倍稀释		4 倍稀释	
	25OHD <sub>2</sub>	25OHD <sub>3</sub>	25OHD <sub>2</sub>	25OHD <sub>3</sub>	25OHD <sub>2</sub>	25OHD <sub>3</sub>
检测均值 (ng/mL)	-	34.1	-	17.9	-	10.2
理论值 (ng/mL)	-	33.0	-	16.5	-	10.3
样品数量 (n)	6	6	6	6	6	6
相对误差 (%RE)	-	3.3	-	8.6	-	0.9
变异系数 (%CV)	-	5.7	-	59.2	-	4.6

### 2.2.4 小结

综上所述，在血清中 25OHD 的检测实验中，4% BSA 溶液和血清配制的标准曲线，二者斜率基本一致。替代基质标曲测定血清和血清加标样品，检测结果与理论值偏差在可接受范围内。此外，采用替代基质稀释血清，对不同稀释倍数下的样品测定结果，仍然表现出良好的准确度和精密度。因此，4% BSA PBS 溶液作为血清替代基质，用于配制 25OHD 标准曲线或质控样品。

## 2.3 线性范围及其验证

使用 4% BSA 溶液配制标准曲线，按上述处理方法和分析条件，采用内标法建立标准曲线。如图 6 所示，25OHD<sub>2</sub> 和 25OHD<sub>3</sub> 在 5-500 ng/mL 的线性浓度范围内，线性相关性良好，相关系数 r 分别为 0.9998 和 0.9997，准确度范围分别为 92.2-108.0%和 95.0-109.2%。

图 6 25OHD<sub>2</sub> 和 25OHD<sub>3</sub> 的标准曲线

确定线性范围后，还需要对线性范围进行进一步验证。配制上限浓度（H, 500 ng/mL）和下限浓度（L, 5 ng/mL）各 1 例，按照 L、4L+1H、3L+2H、2L+3H、1L+4H、H 的体积比，混合成 6 个不同浓度的样品，每个样品测定 2 次。以理论浓度值为 X，测定浓度均值为 Y，计算回归方程  $Y=bX+a$ （如图 7 所示）。线性方程相关系数  $r \geq 0.975$ ，b 在 0.97-1.03 范围内，表明实验结果可接受。

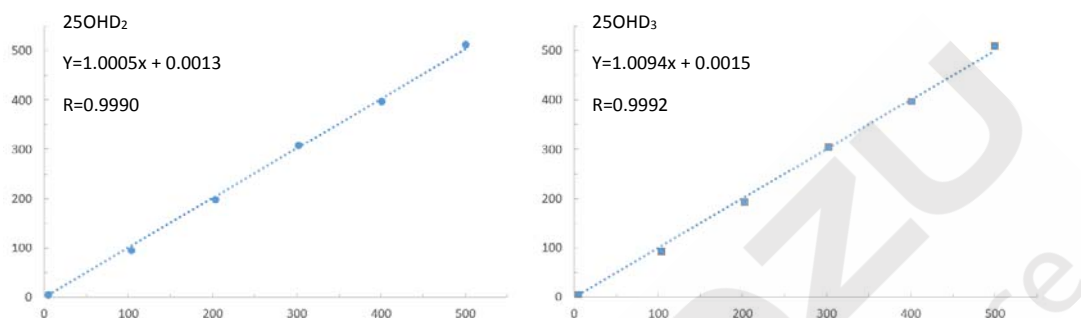


图 7 25OHD<sub>2</sub> 和 25OHD<sub>3</sub> 的线性范围验证

## 2.4 特异性验证

分别考察空白替代基质、空白替代基质加内标和 5 ng/mL 替代基质加标样品，结果表明，替代基质对目标物 25OHD<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> 及其内标的检测均无干扰，同时内标亦不干扰 25OHD<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> 的检测（见图 8）。

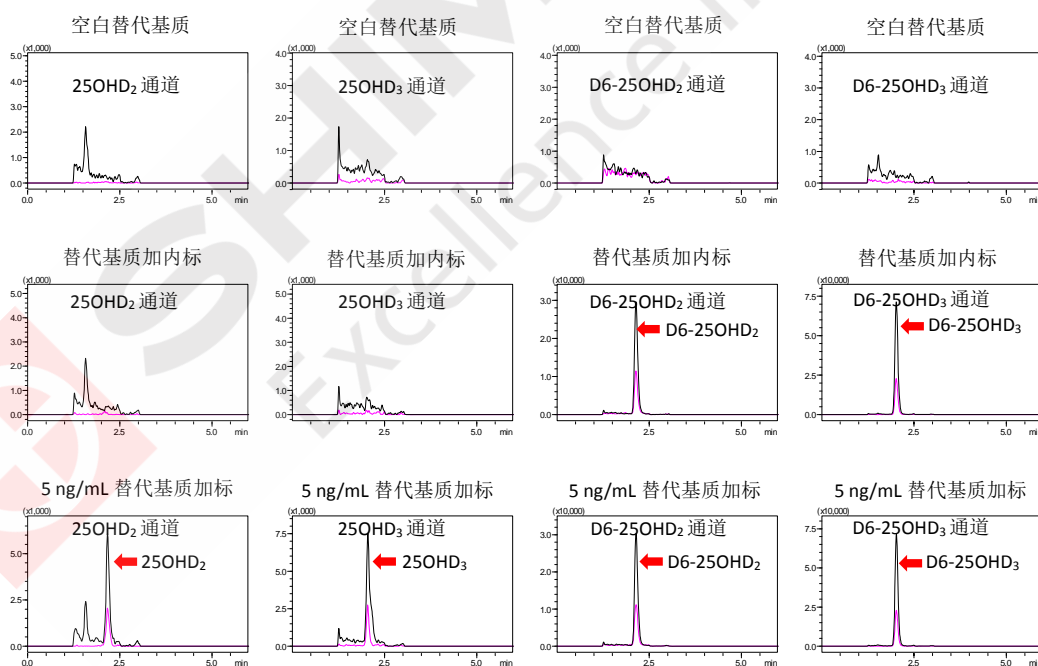


图 8 特异性验证结果

## 2.5 检出限验证

用替代基质配制浓度为 5 ng/mL 的 25OHD 样品，共处理 20 份样品并进样分析，统计 RR 值，RR 值=目标峰面积（A-25OHD）/内标峰面积（A-D6-25OHD），数据结果（见表 6），CV%

值小于 20，表明 5 ng/mL 可作为方法检出限。

表 6. 检出限验证统计结果 (n=20)

样品	25OHD <sub>2</sub>			25OHD <sub>3</sub>		
	A-25OHD <sub>2</sub>	A-D6-25OHD <sub>2</sub>	RR 值	A-25OHD <sub>3</sub>	A-D6-25OHD <sub>3</sub>	RR 值
1	30524	162909	0.187	41001	428336	0.096
2	27096	168014	0.161	48929	438004	0.112
3	31283	170608	0.183	48011	434552	0.110
4	28958	174152	0.166	44346	439456	0.101
5	27145	165930	0.164	43656	434848	0.100
6	25931	152855	0.170	44131	395863	0.111
7	28192	164807	0.171	44188	442351	0.100
8	28680	168208	0.171	46255	431137	0.107
9	28177	169696	0.166	45224	437627	0.103
10	25357	163940	0.155	44321	437362	0.101
11	26167	155843	0.168	43840	392601	0.112
12	26384	158522	0.166	45897	425985	0.108
13	29323	163174	0.180	42284	415843	0.102
14	28447	163700	0.174	43635	428778	0.102
15	27268	162107	0.168	43305	415396	0.104
16	26545	138219	0.192	40201	379425	0.106
17	26001	159800	0.163	45370	412973	0.110
18	29092	152625	0.191	40220	394639	0.102
19	26598	163945	0.162	44245	413205	0.107
20	27566	159563	0.173	39745	402631	0.099
%CV	5.7	4.9	<b>5.9</b>	5.5	4.4	<b>4.6</b>

## 2.6 精密度和准确度验证

### 2.6.1 日内精密度和准确度

用替代基质配制低、中、高三个浓度的样品，即 LOQ (10 ng/mL)、MOQ (100 ng/mL) 和 HOQ (400 ng/mL)。在同一天内，共处理 4 批样品，同一批次中 LOQ、MOQ 和 HOQ 各处理 5 个。样品经分析后，数据统计分析得到变异系数 (%CV) 和准确度 (%accuracy)，结果如表 7 所示。

表 7. 日内精密度和准确度考察结果 (n=20)

样品	25OHD <sub>2</sub> (ng/mL)			25OHD <sub>3</sub> (ng/mL)		
	LOQ	MOQ	HOQ	LOQ	MOQ	HOQ
1-1	9.0	96.6	383.0	9.3	106.6	430.9
1-2	9.0	87.9	385.9	9.7	96.9	431.3
1-3	9.4	92.1	368.5	10.4	108.9	430.5
1-4	9.0	90.9	375.6	10.2	103.4	416.1
1-5	9.1	93.3	398.4	10.1	105.9	431.7
2-1	8.9	95.4	385.5	10.2	106.1	433.9
2-2	9.5	93.6	386.6	10.3	107.8	429.0
2-3	9.2	97.5	384.6	10.4	108.6	432.5
2-4	8.8	87.0	367.5	9.9	97.8	419.3
2-5	10.0	92.8	389.9	9.5	105.5	437.9
3-1	9.2	100.4	385.4	10.2	106.5	433.5
3-2	9.1	86.8	372.8	9.5	100.5	422.4
3-3	9.0	94.4	377.2	9.6	108.5	420.9
3-4	8.8	98.8	377.3	10.3	106.4	426.5
3-5	8.9	92.9	388.3	10.2	104.0	435.3
4-1	9.3	98.7	387.5	9.2	105.1	434.5
4-2	10.0	87.4	387.4	10.4	98.8	426.6
4-3	9.2	92.9	379.2	9.9	106.3	433.3
4-4	9.1	86.7	375.7	9.9	96.1	425.6
4-5	9.3	91.1	380.4	10.0	102.4	430.9
均值	9.2	93.0	381.9	10.0	104.2	429.0
%CV	3.6	4.6	2.0	3.7	3.9	1.4
%accuracy (MIN)	87.7	86.7	91.9	81.7	92.2	96.1
%accuracy (MAX)	100.3	100.4	99.6	102.9	103.8	108.9

### 2.6.2 日间精密度和准确度

每天处理 2 批样品，同一批次中 LOQ、MOQ 和 HOQ 各处理 5 个，连续 3 天。样品经分析后，数据统计分析得到变异系数 (%CV) 和准确度 (%accuracy)，结果如表 8 所示。

表 8. 日间精密度和准确度考察结果 (n=30)

样品	25OHD <sub>2</sub> (ng/mL)			25OHD <sub>3</sub> (ng/mL)		
	LOQ	MOQ	HOQ	LOQ	MOQ	HOQ
Day 1-1	9.0	96.6	383.0	9.3	106.6	430.9
Day 1-2	9.0	87.9	385.9	9.7	96.9	431.3
Day 1-3	9.4	92.1	368.5	10.4	108.9	430.5
Day 1-4	9.0	90.9	375.6	10.2	103.4	416.1
Day 1-5	9.1	93.3	398.4	10.1	105.9	431.7
Day 1-6	8.9	95.4	385.5	10.2	106.1	433.9
Day 1-7	9.5	93.6	386.6	10.3	107.8	429.0
Day 1-8	9.2	97.5	384.6	10.4	108.6	432.5
Day 1-9	8.8	87.0	367.5	9.9	97.8	419.3
Day 1-10	10.0	92.8	389.9	9.5	105.5	437.9
Day 2-1	9.4	98.0	372.4	10.2	102.0	421.5
Day 2-2	9.2	92.0	380.2	9.5	97.5	438.6
Day 2-3	10.1	99.5	384.5	9.6	106.3	434.4
Day 2-4	9.6	90.3	408.7	9.8	96.4	440.7
Day 2-5	9.2	90.0	372.5	9.9	106.2	421.2
Day 2-6	9.0	100.5	378.8	9.4	105.8	428.1
Day 2-7	9.0	91.5	391.9	10.5	107.5	426.5
Day 2-8	9.7	111.6	388.7	9.7	107.2	434.2
Day 2-9	9.2	108.7	403.3	9.3	104.1	430.2
Day 2-10	10.0	106.7	401.2	9.9	98.7	433.4
Day 3-1	9.7	106.3	433.8	10.0	106.3	412.1
Day 3-2	10.0	106.4	442.8	10.0	106.4	414.1
Day 3-3	10.3	95.8	434.8	9.8	95.8	409.9
Day 3-4	10.1	106.6	433.4	10.2	106.6	401.8
Day 3-5	9.7	107.5	441.0	10.1	107.5	407.8
Day 3-6	9.7	99.5	447.4	9.7	99.5	418.3
Day 3-7	10.2	98.1	428.3	10.0	98.1	416.6
Day 3-8	10.2	99.1	420.2	9.8	99.1	409.8
Day 3-9	10.5	103.6	434.1	10.1	103.6	408.1
Day 3-10	9.9	102.2	444.6	10.2	102.2	412.6
均值	9.6	98.0	402.3	9.9	103.5	423.8
%CV	5.2	6.9	6.6	3.3	4.0	2.6
%accuracy (MIN)	87.8	87.0	91.9	92.7	92.9	100.5
%accuracy (MAX)	105.5	111.6	111.8	105.3	108.9	110.2

### 2.6.3 小结

综上所述，LOQ、MOQ 和 HOQ 的日内精密度分别为及准确度范围分别为 1.4-4.6%和 86.7-109.5%，日间精密度及准确度分别为 3.3-6.9%和 87.8-111.8%，均在可接受范围内。

### 2.7 携带污染率验证

制备高浓度样品（H, 500 ng/mL）和低浓度样品（L, 5 ng/mL）各 1 例。连续测定 H 样品 3 次，得到的浓度值分别为 H1、H2、H3；再测定 L 样品 3 次，得到的浓度值分别为 L1、L2、L3。依据公式：携带污染率= $|(L1-L3)/(H3-L3)| \times 100\%$ ，计算得到污染率。当携带污染率 $<2\%$ ，表明没有携带污染。实验结果如表 9 所示，25OHD<sub>2</sub> 和 25OHD<sub>3</sub> 的计算携带污染率分别为 0.06%和 0.04%，表明高浓度样品分析不会造成携带污染。

表 9. 携带污染率考察结果

	H1	H2	H3	L1	L2	L3	携带污染率
25OHD <sub>2</sub>	492.0	491.0	499.6	5.3	4.8	5.0	0.06%
25OHD <sub>3</sub>	536.6	536.5	520.9	4.6	4.9	4.8	0.04%

### 2.8 临床样品测定结果

共获取正常人血清临床样品 10 个，经前处理后分别进行测定，结果如表 10 所示。一般正常人体内 25-OHD 的含量为 10-60 ng/mL，各临床样品测定数值均在正常范围内，因此该方法适用于临床血清样品的检测。

表 10 正常人血清临床样品检测结果

编号	25OHD <sub>2</sub> (ng/mL)	25OHD <sub>3</sub> (ng/mL)	总计 (ng/mL)
1	未检出	25.1	25.1
2	未检出	27.9	27.9
3	未检出	31.5	31.5
4	未检出	29.3	29.3
5	未检出	30.2	30.2
6	未检出	30.1	30.1
7	未检出	29.7	29.7
8	未检出	30.9	30.9
9	未检出	33.1	33.1
10	未检出	33.8	33.8

---

### 3. 结论

本文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，通过替代基质配制标曲，结合蛋白沉淀法及内标定量法，建立了在 6 min 内测定血清中 25-羟基维生素 D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> 的分析方法，并依据临床检验相关指导原则完成了方法学验证。实验结果表明，该方法对 25OHD<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> 测定的可报告范围为 5-500 ng/mL，日内和日间精密度 (%CV) 分别为 1.4-4.6%、3.3-6.9%，准确度范围为 86.7-111.8%，均能满足临床检测要求。该方法分析速度快、稳定性和准确度高，适用于临床实验中测定人血液中 25-羟基维生素 D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> 的含量，从而指导相关疾病治疗及临床合理用药。



SHIMADZU  
Excellence in Science

## 环境样品

近年来,由于全国大面积区域重度雾霾(部分地方  $\text{pM} 2.5$  甚至爆表)、多地自来水异味、常州毒地案等大气、水体、土壤事件的爆发,使得人们对于环保问题的关注日益加强。政府和相关部门也加强了对于此类事件的预防和事后处理,如为应对雾



霾污染,改善空气质量,多地采取了勒令重点排污企业停产或减产、汽车限行、提高汽油质量标准、改进冬天取暖系统燃烧效率等措施。同时,相关的法律法规如“大气十条”-《大气污染防治行动计划》、“水十条”-《水污染防治行动计划》、“土十条”-《土壤污染防治行动计划》等先后出炉,对于新版《生活饮用水卫生标准》(GB5749-2006)中规定指标的监测也日趋严格。

岛津自进入中国以来,一直关注中国的环保问题,此前分析中心曾推出过《岛津应对  $\text{PM}2.5$  空气污染物检测解决方案》、《岛津全新应对《生活饮用水卫生标准》(GB5749-2006)应用方案》、《岛津“土十条”检测解决方案》等多个针对环保热点问题的解决方案以供大家参考。本应用文集也收集了一些使用 LCMS-8045 检测环境类样品的应用报告,敬请关注。

# 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪测定自来水中药物和个人护理用品物质 (PPCPs) 的残留

**摘要:** 本文建立了使用岛津超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8045 测定自来水中 21 种药物和个人护理用品物质(PPCPs)残留的方法。参考 EPA1694 号办法对样品进行前处理, 其中 21 种 PPCPs 化合物在 0.05 ~10  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好, 校准曲线的判定系数在 0.9954~0.9999 之间, 检出限为 0.0025 ~0.015  $\mu\text{g/L}$ , 定量限为 0.0075 ~0.045  $\mu\text{g/L}$ . 对 1.0  $\mu\text{g/L}$  和 10.0  $\mu\text{g/L}$  两不同浓度的标准工作液连续测定 6 次, 保留时间相对标准偏差分别为 0.13~0.53%和 0.12~0.55%, 峰面积的相对标准偏差分别为 1.91~8.64%和 0.83~4.31%之间, 仪器精密度高。21 种 PPCPs 化合物在空白水样中的加标回收率在 75.1~99.7%之间。该方法以其分析速度快、重复性好、灵敏高的特点, 可满足水中 PPCPs 的检测需要。

**关键词:** 自来水 PPCPs 三重四极杆质谱

随着医药及洗化行业的大规模发展, 药品及个人护理用品(Pharmaceuticals and Personal Care Products,简称 PPCPs)的生产和使用量迅猛增长, 并持续不断地输入环境, 导致它们在水、土壤和大气环境中均有残留, 且浓度不断呈上升趋势。20 世纪 90 年代以来, 它们被看作为一类环境污染物质而被广泛关注。

PPCPs 化合物种类繁多, 化合物数目多达近千种, 但通常较关注的为近百种。由于目前国内仍没有针对水中 PPCPs 污染物测试的相应法规和标准, 通常主要参考美国国家环保局 EPA1694 号方法进行相关研究。该办法采用固相萃取富集洗脱方式, 对样品进行浓缩上机测试, 因此其前处理过程较为繁琐, 效率也低。

本试验结合了采样地段水样的特征, 利用岛津超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8045 高灵敏度的特点, 参考 EPA1694 号办法, 选择了其中 21 种 PPCPs 化合物进行相关分析研究。

## 1. 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<sub>5</sub> 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-20AC 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

### 液相条件

色谱柱: Shim-pack XR-ODS III 2.0 mm I.D.× 75 mm L., 1.6 μm

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40℃

进样量: 10 μL

流动相: A-0.1%甲酸水溶液; B-甲醇

洗脱方式: 梯度洗脱, 初始浓度为 B 相 5%, 时间程序见表 1.

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	25
5.00	Pumps	Pump B Conc.	35
6.00	Pumps	Pump B Conc.	95
9.00	Pumps	Pump B Conc.	95
9.10	Pumps	Pump B Conc.	5
13.00	Controller	Stop	

### 质谱条件

离子化模式: ESI, 正负离子同时扫描

DL 温度: 250℃

离子喷雾电压: +4.5 kV; -3.5 kV

加热模块温度: 400℃

雾化气: 氮气 3.0 L/min

扫描模式: 多反应监测(MRM),

加热气: 空气 10.0 L/min

MRM 参数见表 2

干燥气: 氮气 10.0 L/min

驻留时间: 3.0-6.0 ms

碰撞气: 氩气

延迟时间: 2.0 ms

接口温度: 300℃

## 1.3 样品制备

参照 EPA1694 关于城市用水的处理办法, 对水样品分别进行物理过滤、SPE 柱富集与洗脱及氮吹定容处理, 获取最终样品上机测试。

表 2 21 种 PPCPs 化合物 MRM 参数

编号	物质名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	林可霉素	407.20	126.15*	-14.0	-27.0	-23.0
			359.10	-14.0	-12.0	-13.0
2	甲氧苄胺嘧啶	291.10	230.15*	-10.0	-22.0	-25.0
			123.15	-10.0	-24.0	-24.0
3	哌仑西平	352.15	113.10*	-12.0	-21.0	-21.0
			70.15	-12.0	-40.0	-29.0
4	氧氟沙星	362.10	318.20*	-24.0	-19.0	-22.0
			261.05	-24.0	-26.0	-29.0
5	环丙沙星	332.05	314.10*	-15.0	-20.0	-22.0
			231.00	-15.0	-38.0	-24.0
6	磺胺吡啶	250.05	156.05*	-11.0	-15.0	-29.0
			92.15	-11.0	-26.0	-17.0
7	卡巴克络	237.05	220.10*	-11.0	-7.0	-23.0
			194.05	-11.0	-16.0	-17.0
8	美托洛尔	268.10	74.15*	-12.0	-22.0	-28.0
			116.25	-12.0	-19.0	-23.0
9	达舒平	340.20	239.10*	-12.0	-18.0	-26.0
			195.05	-12.0	-30.0	-20.0
10	磺胺甲恶唑	254.00	156.05*	-17.0	-15.0	-16.0
			92.15	-17.0	-28.0	-16.0
11	安替比林	189.05	56.20*	-12.0	-31.0	-22.0
			77.15	-12.0	-40.0	-29.0
12	艾芬地尔	326.20	308.20*	-11.0	-19.0	-22.0
			176.10	-11.0	-22.0	-19.0
13	红霉素	734.50	576.30*	-26.0	-19.0	-28.0
			158.10	-26.0	-33.0	-29.0

14	阿齐霉素	749.55	116.10*	-26.0	-49.0	-22.0
			158.10	-26.0	-40.0	-17.0
15	克拉霉素	748.50	590.35*	-26.0	-20.0	-27.0
			158.10	-26.0	-31.0	-30.0
16	罗红霉素	837.40	679.35*	-28	-22	-34
			158.05	-28	-36	-16
17	卡马西平	237.00	194.05*	-15.0	-19.0	-20.0
			119.00	-15.0	-30.0	-25.0
18	避蚊胺	192.10	119.10*	-13.0	-17.0	-21.0
			91.15	-13.0	-30.0	-16.0
19	克罗米通	204.10	69.15*	-13.0	-22.0	-28.0
			136.15	-13.0	-15.0	-36.0
20	苯扎贝特	360.10	274.05*	16	17	27
			154.00	16	30	24
21	三氯卡班	314.90	162.05*	14.0	14.0	29.0
			126.05	14.0	15.0	26.0

注：\*表示定量离子

## 2. 结果讨论

### 2.1 标准样品的 MRM 色谱图

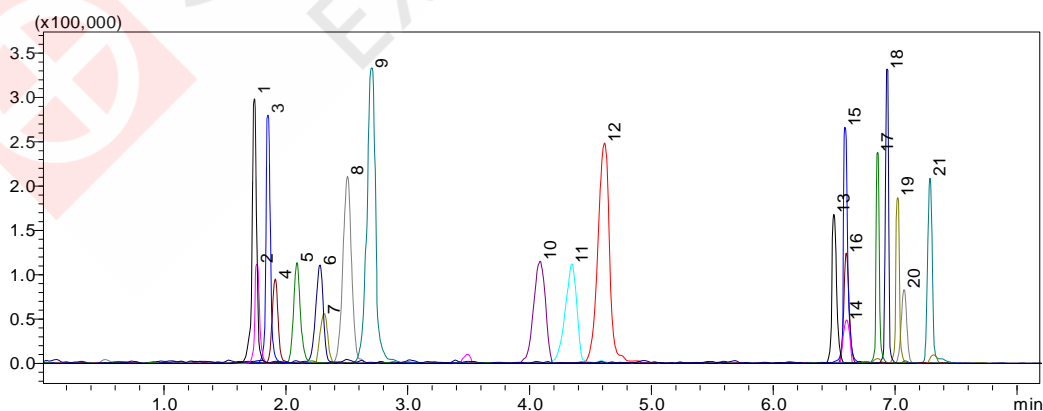


图 1 21 种 PPCPs 标准样品 MRM 色谱图 (1.0 µg/L)

(注：峰序号与表 2 化合物名称相对应)

## 2.2 线性关系与检出限、定量限

配制浓度为 0.05、0.10、0.20、0.50、1.0、2.0、5.0 和 10.0  $\mu\text{g/L}$  的混合标准工作液，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 0.05~10.0  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好。同时，根据信噪比 ( $S/N=3$ , LOD 表示，最低定量限 ( $S/N=10$ , LOQ 表示) 计算各物质的检出限和定量限。具体线性方程见图 2，线性范围、判定系数及检出限和定量限见表 3。

表 3 线性关系

编号	名称	校准曲线	准确度(%)	判定系数 $r^2$	检出限 ( $\mu\text{g/L}$ )	定量限 ( $\mu\text{g/L}$ )
1	林可霉素	$Y = (1.64138e+006)X + (-10050.9)$	83.8~101.5	0.9999	0.010	0.040
2	甲氧苄胺嘧啶	$Y = (213614)X + (23648.7)$	92.3~110.3	0.9991	0.010	0.040
3	哌仑西平	$Y = (833594)X + (19297.3)$	80.7~102.7	0.9998	0.010	0.030
4	氧氟沙星	$Y = (117101)X + (4863.62)$	90.3~105.2	0.9998	0.010	0.030
5	环丙沙星	$Y = (542632)X + (-1996.77)$	89.2~111.3	0.9994	0.002	0.006
6	磺胺吡啶	$Y = (273639)X + (2209.94)$	89.9~111.2	0.9993	0.002	0.006
7	卡巴克络	$Y = (53874.6)X + (-1841.75)$	90.2~112.4	0.9954	0.015	0.045
8	美托洛尔	$Y = (228179)X + (-4012.05)$	83.6~111.4	0.9996	0.013	0.040
9	达舒平	$Y = (1.75782e+006)X + (-7623.46)$	96.6~104.9	0.9999	0.005	0.015
10	磺胺甲恶唑	$Y = (205361)X + (1940.27)$	91.2~113.9	0.9997	0.003	0.010
11	安替比林	$Y = (161552)X + (-1798.87)$	90.3~107.9	0.9996	0.010	0.030
12	艾芬地尔	$Y = (789714)X + (-8527.81)$	94.5~105.6	0.9993	0.0075	0.022
13	红霉素	$Y = (123693)X + (-2316.57)$	92.8~110.3	0.9958	0.015	0.045
14	阿齐霉素	$Y = (12303.9)X + (-428.492)$	85.6~105.7	0.9990	0.010	0.030
15	克拉霉素	$Y = (437746)X + (-14408.8)$	96.4~109.8	0.9978	0.0034	0.010
16	罗红霉素	$Y = (252138)X + (-4464.83)$	77.9~102.3	0.9957	0.0071	0.022
17	卡马西平	$Y = (518201)X + (4883.88)$	87.6~105.9	0.9990	0.010	0.030
18	DEET	$Y = (833190)X + (22136.7)$	98.0~106.9	0.9995	0.0062	0.0183
19	克罗米通	$Y = (426081)X + (-472.990)$	92.8~108.6	0.9998	0.005	0.0015
20	苯扎贝特	$Y = (83466.0)X + (1201.69)$	94.7~107.0	0.9989	0.0025	0.0075
21	三氯卡班	$Y = (17631.2)X + (131.172)$	86.0~115.1	0.9984	0.010	0.030

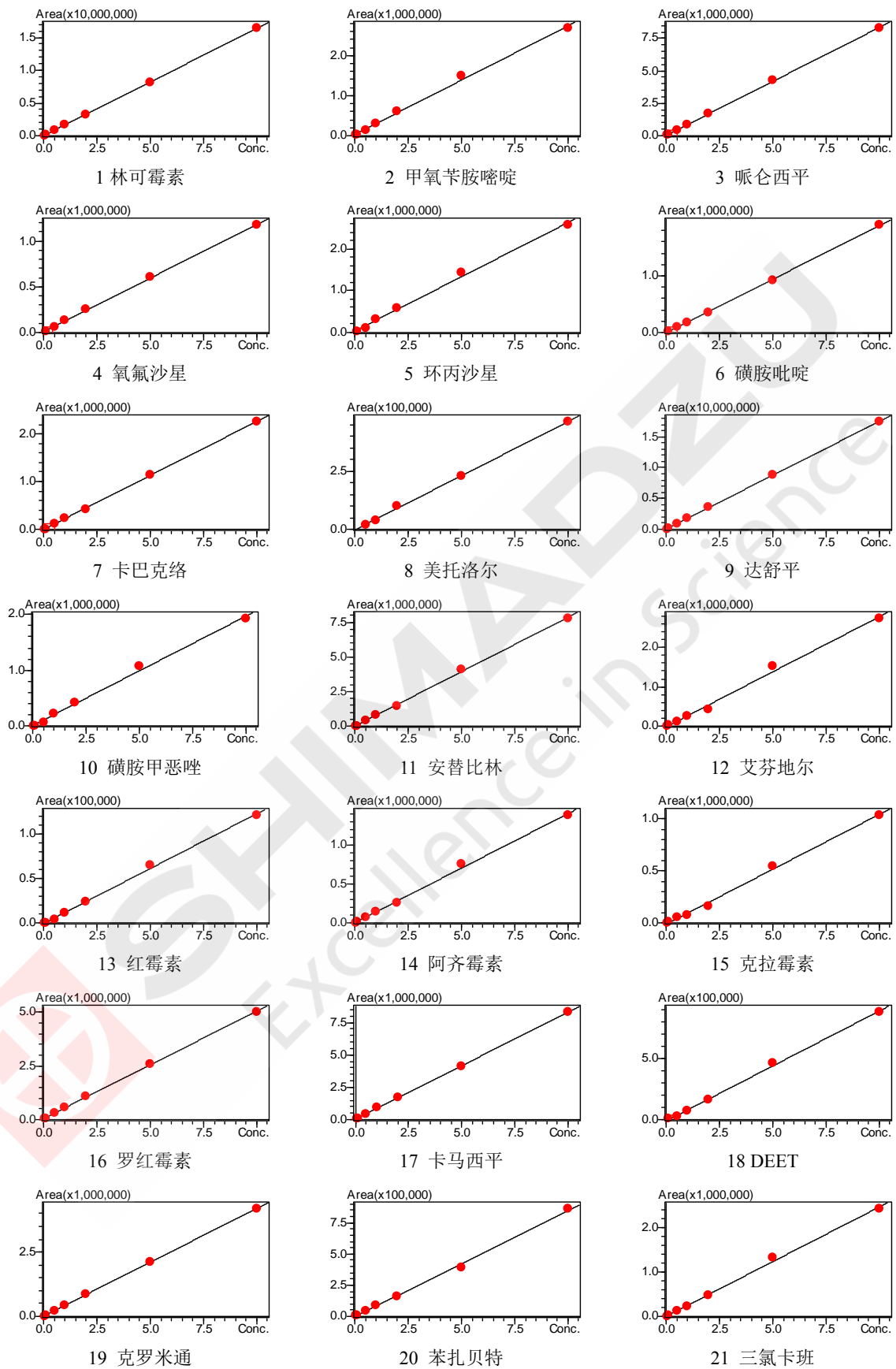


图2 标准工作曲线

### 2.3 精密度实验

取两个不同浓度的 PPCPs 混合标准溶液连续进样 6 次，考察仪器精密度。保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。两个浓度标准品（分别为 1.0  $\mu\text{g/L}$  和 10.0  $\mu\text{g/L}$ ）的保留时间相对标准偏差分别为 0.13~0.53%和 0.12~0.55%，峰面积的相对标准偏差分别为 1.91~8.64%和 0.83~4.31%之间，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

序号	样品名称	RSD% (1.0 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (10.0 $\mu\text{g/L}$ )	
		R.T	Area	R.T	Area
1	林可霉素	0.26	2.79	0.32	1.35
2	甲氧苄胺嘧啶	0.26	3.13	0.33	2.39
3	哌仑西平	0.29	2.71	0.29	1.22
4	氧氟沙星	0.41	8.64	0.28	2.76
5	环丙沙星	0.52	8.44	0.28	2.30
6	磺胺吡啶	0.27	6.71	0.12	1.40
7	卡巴克络	0.26	7.52	0.29	2.16
8	美托洛尔	0.41	5.31	0.19	2.33
9	达舒平	0.53	3.21	0.21	0.83
10	磺胺甲恶唑	0.49	6.23	0.55	1.66
11	安替比林	0.51	3.62	0.54	3.01
12	艾芬地尔	0.39	3.62	0.72	1.48
13	红霉素	0.14	6.21	0.13	2.45
14	阿齐霉素	0.17	3.65	0.12	2.24
15	克拉霉素	0.18	3.43	0.12	2.30
16	罗红霉素	0.18	6.29	0.11	2.23
17	卡马西平	0.13	3.72	0.09	2.48
18	DEET	0.14	2.25	0.09	0.83
19	克罗米通	0.15	1.91	0.09	1.95
20	苯扎贝特	0.15	5.92	0.10	2.59
21	三氯卡班	0.18	5.45	0.16	4.31

### 2.4 加标回收实验

取三份空白水样，往其中两份空白水样中加入 PPCPs 混合标准溶液（加标浓缩后溶液的理论浓度为 1.0  $\mu\text{g/L}$ ），剩下的一份水样作为空白基质样品，并按照 1.3 中样品制备方法进行前处理操作，以考察样品加标回收率。空白基质色谱图如图 3 所示，基质加标样品色谱图如图 4 所示。图表 5 为其加标回收率数据，从数据上看，该 21 种 PPCPs 化合物在空白水样中具有较高的回收率。

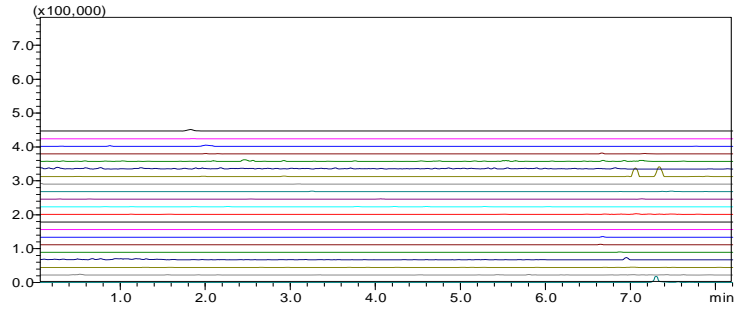


图3 空白基质色谱图

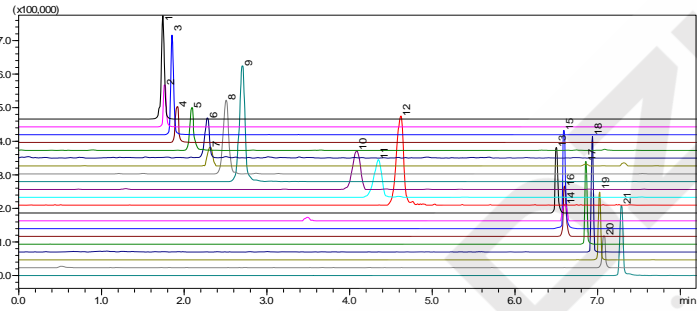


图4 加标回收色谱图 (1.00 ng/mL)

表5 空白水样加标回收率结果 (1.0 µg/L)

NO.	物质名称	空白基质浓度 (µg/L)	样品 1 实测浓度(µg/L)	样品 2 实测度(µg/L)	平均回收率(%)
1	林可霉素	ND	0.968	0.918	94.3
2	甲氧苄胺嘧啶	ND	0.920	0.914	91.7
3	哌仑西平	ND	0.951	0.987	96.9
4	氧氟沙星	ND	0.903	0.843	87.3
5	环丙沙星	ND	0.990	1.005	99.7
6	磺胺吡啶	ND	0.922	0.946	93.4
7	卡巴克络	ND	0.932	1.003	96.8
8	美托洛尔	ND	0.945	0.890	91.8
9	达舒平	ND	1.002	0.960	98.1
10	磺胺甲恶唑	ND	1.002	0.958	98.0
11	安替比林	ND	0.920	0.972	94.6
12	艾芬地尔	ND	0.774	0.728	75.1
13	红霉素	ND	0.841	0.805	82.3
14	阿齐霉素	ND	0.822	0.752	78.7
15	克拉霉素	ND	0.894	0.823	85.9
16	罗红霉素	ND	0.937	0.862	90.0
17	卡马西平	ND	0.762	0.813	78.8
18	DEET	ND	0.980	0.921	95.0
19	克罗米通	ND	0.847	0.810	82.9
20	苯扎贝特	ND	0.826	0.742	80.7
21	三氯卡班	ND	0.854	0.890	87.2

注：ND = 未检出

---

### 3 结论

本文建立了使用岛津超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪LCMS-8045测定自来水中21种药物和个人护理用品物质(PPCPs)残留的方法。参考EPA1694号办法对样品进行前处理,其中21种PPCPs化合物在0.05  $\mu\text{g/L}$ ~10  $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好,校准曲线的判定系数在0.9954~0.9999之间,检出限为0.0025  $\mu\text{g/L}$ ~0.015  $\mu\text{g/L}$ ,定量限为0.0075  $\mu\text{g/L}$ ~0.045  $\mu\text{g/L}$ 。对1.0  $\mu\text{g/L}$ 和10.0  $\mu\text{g/L}$ 两不同浓度的标准工作液连续测定6次,保留时间相对标准偏差分别为0.13~0.53%和0.12~0.55%,峰面积的相对标准偏差分别为1.91~8.64%和0.83~4.31%之间。21种PPCPs化合物在空白水样中的加标回收率在75.1~99.7%之间。该方法以其分析速度快、重复性好、灵敏高的特点,可满足水中PPCPS的检测需要。



SHIMADZU  
Excellence in Science

# 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定土壤中 20 种氨基甲酸酯类农药残留

**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 联用测定土壤中 20 种氨基甲酸酯类农药的方法。该方法在 12 min 内完成 20 种氨基甲酸酯的分析, 校准曲线的相关系数均在 0.997 以上。对不同浓度氨基甲酸酯的混合标准溶液各平行测试 6 次, 20 种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.015 % ~ 0.263 % 和 0.554 % ~ 4.917% 之间, 仪器精密度良好。不同浓度下基质加标回收率范围在 88.1 ~ 108.4% 之间。该方法可应用于土壤中 20 种氨基甲酸酯类农药残留的同时检测。

**关键词:** 三重四极杆质谱 氨基甲酸酯 农药 土壤

氨基甲酸酯农药是一类高效、广谱杀虫剂, 在农作物保护中发挥着重要作用, 约占据 15% 世界杀虫剂市场份额, 且使用量逐年增长。氨基甲酸酯在环境中的累积和危害已经成为亟待解决的问题。急性中毒时可出现流泪、肌肉颤动、瞳孔缩小等胆碱酯酶抑制症状。目前研究较多的是针对水和食品中氨基甲酸酯类农残的分析以及标准制定。土壤是污染物的源和汇, 直接影响农产品的质量, 沉积物在水体污染物的迁移转化中发挥重要作用。目前, 对土壤及沉积物中氨基甲酸酯残留分析研究甚少, 且已有的研究较多采用液相色谱-柱后衍生荧光法或气相色谱法。前者操作繁琐, 且定性能力有限; 由于大部分氨基甲酸酯农药具有热不稳定性, 气相色谱法应用范围有限。

高效液相色谱-串联质谱联用技术是近些年来快速发展的分析技术, 具有很高的选择性和灵敏度, 对复杂基质中的氨基甲酸酯类农药残留具有很强的定性和定量能力, 准确度高, 是目前痕量残留分析的首选方法。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 联用测定土壤中 20 种氨基甲酸酯残留的方法。

## 1. 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×2 输液泵, DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 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

#### 液相条件

色谱柱: Shim-pack XR-ODS III 2.0 mm I.D.× 75 mm L., 1.6 μm

流动相: A 相-5 mM 醋酸铵水溶液; B 相-甲醇

流速: 0.3 mL/min

柱温: 45°C

进样量: 2 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 20%, 洗脱程序见表 1.

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.0	Pumps	Pump B Conc.	20
2.0	Pumps	Pump B Conc.	60
6.0	Pumps	Pump B Conc.	95
7.5	Pumps	Pump B Conc.	95
7.6	Pumps	Pump B Conc.	20
12	Controller	Stop	

#### 质谱条件

离子化模式: ESI(+)

加热气: 空气 10.0 L/min

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 10.0 L/min

碰撞气: 氩气

源温度: 200°C

DL 温度: 150°C

加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测(MRM), MRM 参数请见表 2

表 2 MRM 优化参数

NO	化合物	英文名	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre	CE	Q3 Pre
1	杀线威	Oxamyl	23135-22-0	237.1	72.1*	-11	-13	-27
					90.2	-11	-8	-17
2	灭多威	Methomyl	16752-77-5	163.1	88.1*	-16	-8	-17
					106.1	-16	-10	-11
3	二氧威	Dioxacarb	6988-21-2	224.0	123.0*	-10	-14	-24
					167.1	-10	-8	-17
4	涕灭威	Aldicarb	116-06-3	208.1	116.1*	-19	-10	-20
					89.1	-21	-20	-20
5	恶虫威	Bendiocarb	22781-23-3	224.1	167.1*	-16	-9	-17
					109.1	-16	-18	-21
6	残杀威	Propoxur	114-26-1	210.1	111.1*	-10	-14	-21
					168.1	-10	-9	-18
7	克百威	Carbofuran	1563-66-2	222.1	165.1*	-10	-11	-17
					123.1	-10	-22	-22
8	甲萘威	Carbaryl	63-25-2	202.1	145.1*	-21	-9	-15
					127.1	-20	-26	-13
9	乙硫苯威	Ethiofencarb	29973-13-5	226.1	107.1*	-16	-15	-20
					164.1	-16	-9	-17
10	抗蚜威	Pirimicarb	23103-98-2	239.2	72.1*	-11	-21	-28
					182.2	-12	-15	-19
11	异丙威	Isoprocarb	2631-40-5	194.2	95.1*	-14	-15	-19
					137.2	-14	-11	-14
12	仲丁威	Fenobucarb	3766-81-2	208.1	95.1*	-10	-14	-19
					152.1	-10	-10	-16
13	甲硫威	Methiocarb	2032-65-7	226.1	169.1*	-16	-10	-18
					121.1	-16	-18	-23
14	猛杀威	Promecarb	2631-37-0	208.1	109.1*	-10	-16	-20
					151.2	-21	-10	-17
15	4-溴-3,5-二 甲基苯基 -N-甲基氨 基甲酸酯	4-bromo-3,5-dimethyl Phenyl N-methylcarbamate (BDMC)	672-99-1	258.0	201.0*	-12	-10	-21
					122.1	-10	-22	-23
16	苯硫威	Fenothiocarb	62850-32-2	254.1	72.1*	-12	-16	-27
					160.0	-18	-9	-17

17	棉铃威	Alanycarb	83130-01-2	400.2	238.1*	-15	-9	-18
					91.0	-19	-35	-19
18	茚虫威	Indoxacarb	144171-61-9	528.1	249.1*	-20	-16	-12
					218.0	-20	-24	-22
19	丙硫克百威	Benfuracarb	82560-54-1	411.3	190.2*	-15	-11	-13
					252.0	-15	-13	-18
20	呋线威	Furathiocarb	65907-30-4	383.2	195.1*	-14	-17	-20
					252.1	-14	-12	-18
21	灭多威 D3	Methomyl-D3	398109-07-3	165.9	88.1*	-12	-10	-17
					106.1	-12	-10	-11
22	甲萘威 D7	Carbaryl-D7	362049-56-7	208.9	152.1*	-15	-10	-28
					133.1	-15	-30	-26

注：\*表示定量离子

### 1.3 标准溶液的配制

分别称取氨基甲酸酯类标准品适量，用甲醇溶解、配制成 1.0 mg/mL 的混合标准储备液，置于-18℃冰箱中保存。混合对照品浓储备溶液以 20%甲醇溶液按一定比例稀释，得系列浓度的对照品工作溶液。最终配成：（1）残杀威、灭多威、二氧威、恶虫威、甲萘威、乙硫苯威、异丙威、仲丁威、甲萘威、猛杀威、BDMC、茚虫威、丙硫克百威 1、2、10、20、50、100、200 ng/mL 的系列标准溶液。（2）克百威、苯硫威、涕灭威、棉铃威浓度为 0.5、1、5、10、25、50、100 ng/mL 的系列标准溶液。（3）杀线威、呋线威、抗蚜威浓度为 0.25、0.5、2.5、5、12.5、25、50 ng/mL 的系列标准溶液。各浓度溶液中加入内标甲萘威-D7 和灭多威-D3，终浓度均为 50 ng/mL。根据保留时间就近原则，保留时间在 4.5 min 之前选用灭多威-D3 作为内标，4.5 min 之后选用甲萘威-D7 作为内标。

### 1.4 样品前处理方法

土壤中氨基甲酸酯类物质提取方法参照标准《HJ 783-2016 土壤和沉积物 有机物的提取加压流体萃取法》。称取土壤试样 10 g（精确到 0.1 g），用加压流体萃取仪进行萃取，条件如下：萃取剂 二氯甲烷-甲醇（1:1），温度 80℃，循环 3 次，冲洗 80%。用旋转蒸发器将萃取液浓缩至 1.0 mL，通过预先用 6.0 ml 二氯甲烷-甲醇混合溶剂（1:1）活化的 GCB/PSA 固相萃取小柱，继续用 6 mL 二氯甲烷-甲醇混合溶剂（1:1）洗脱小柱，收集滤出液。用氮吹仪浓缩至近干，加入内标，用初始流动相定容至 1.0 mL，内标浓度为 50 ng/mL。然后进液相色谱-串联质谱测定。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

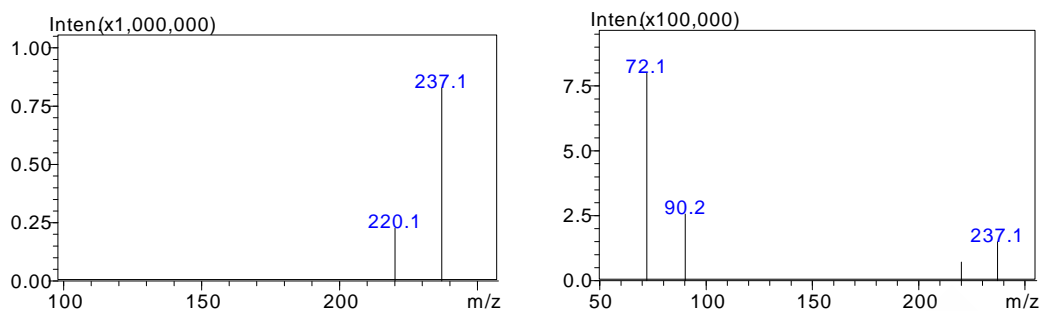


图1 杀线威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-10 V）（右图）

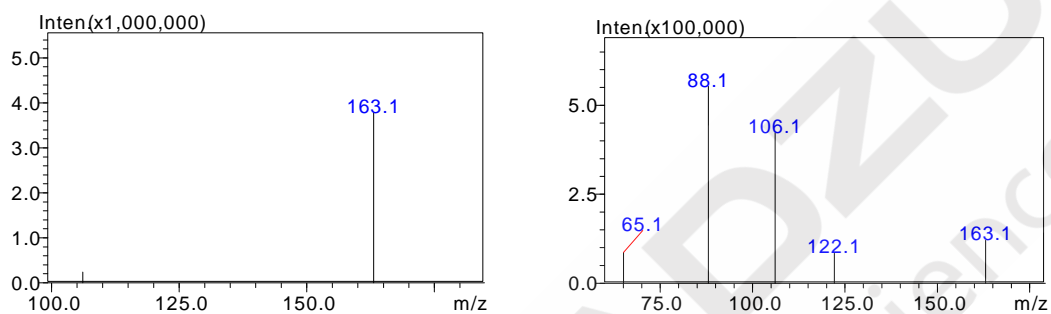


图2 灭多威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-10 V）（右图）

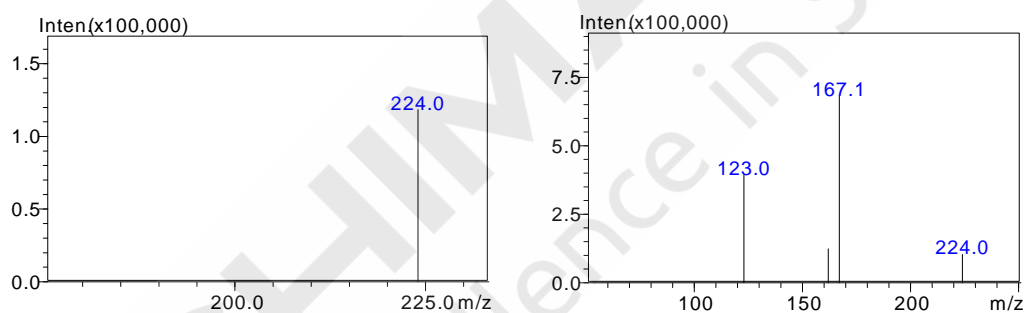


图3 二氧威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-10 V）（右图）

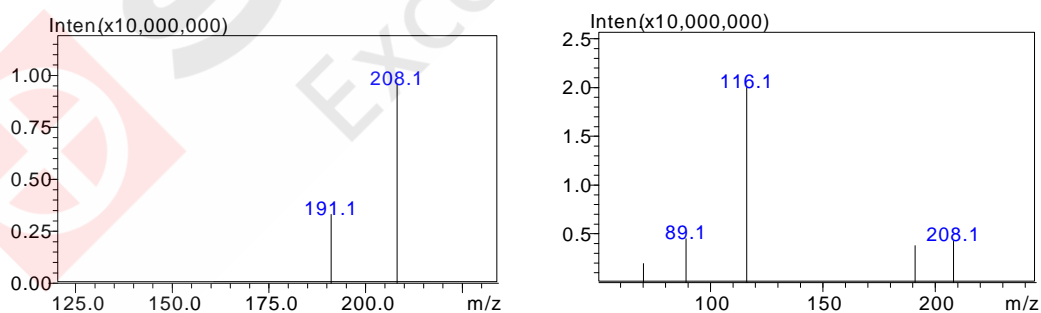


图4 涕灭威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-8 V）（右图）

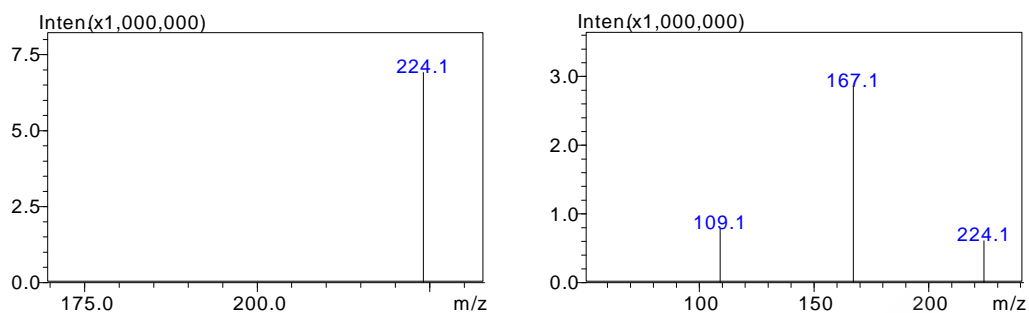


图 5 恶虫威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-10 V）（右图）

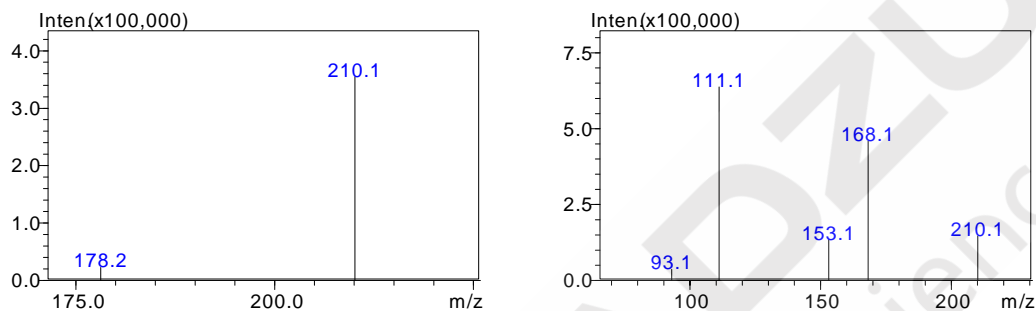


图 6 残杀威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-10 V）（右图）

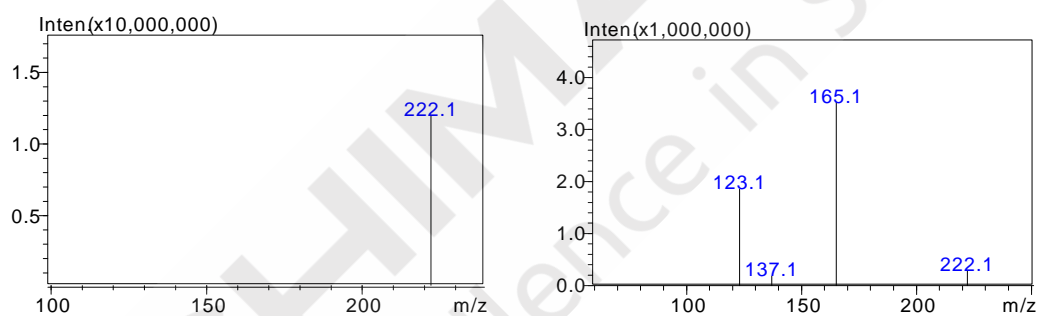


图 7 克百威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-15 V）（右图）

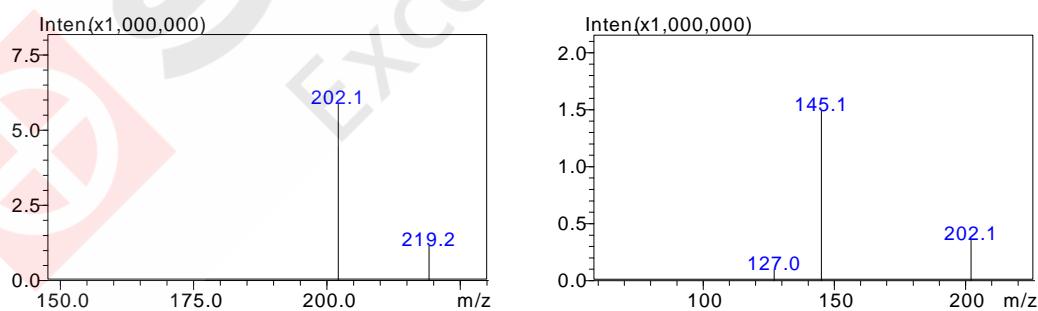


图 8 甲萘威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-10 V）（右图）

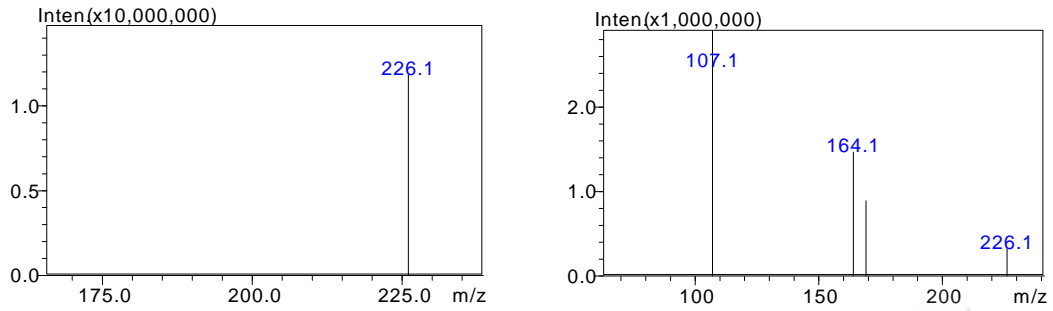


图9 乙硫苯威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-8 V）（右图）

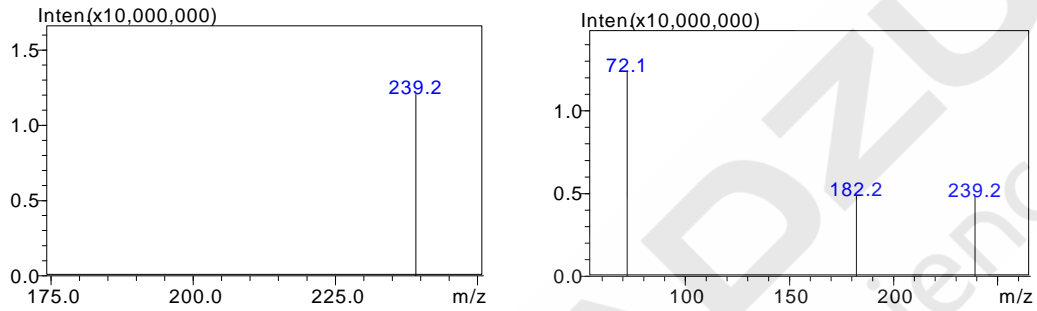


图10 抗蚜威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-15 V）（右图）

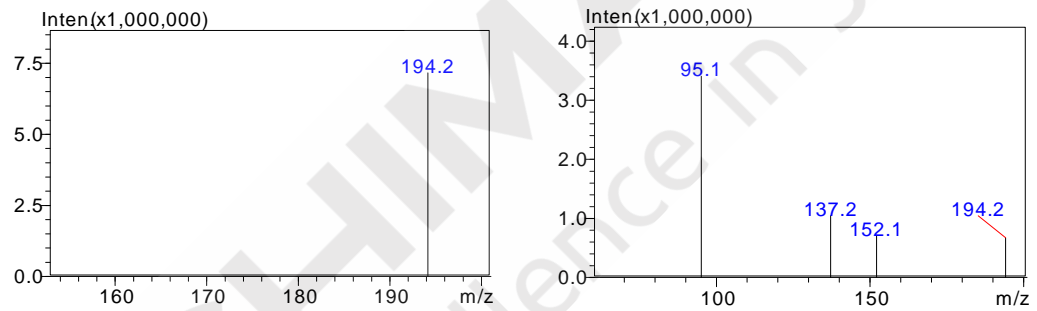


图 11

异丙威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25 V）（右图）

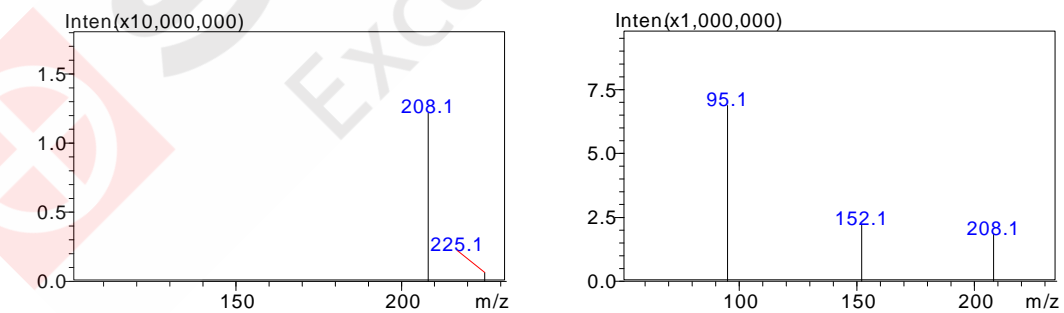


图12 仲丁威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-10 V）（右图）

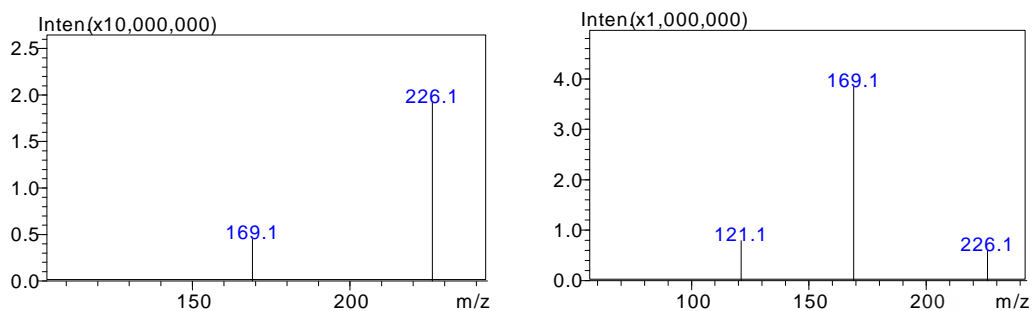


图 13 甲硫威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-10 V）（右图）

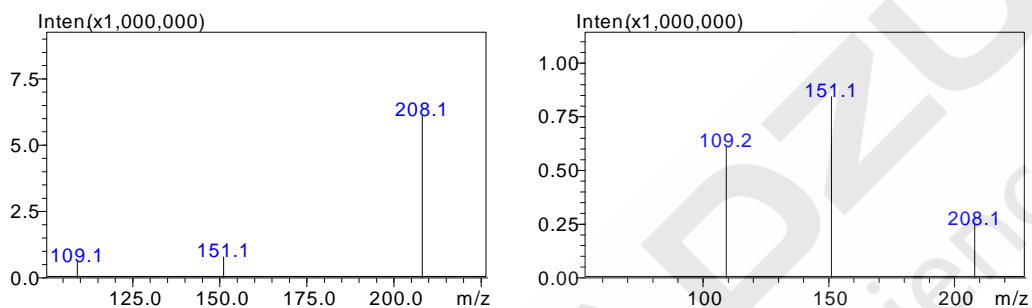


图 14 猛杀威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-10 V）（右图）

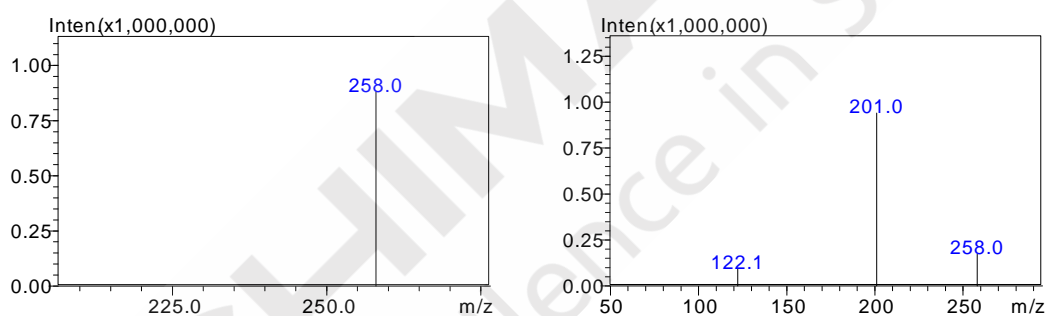


图 15 BDMC 的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-10 V）（右图）

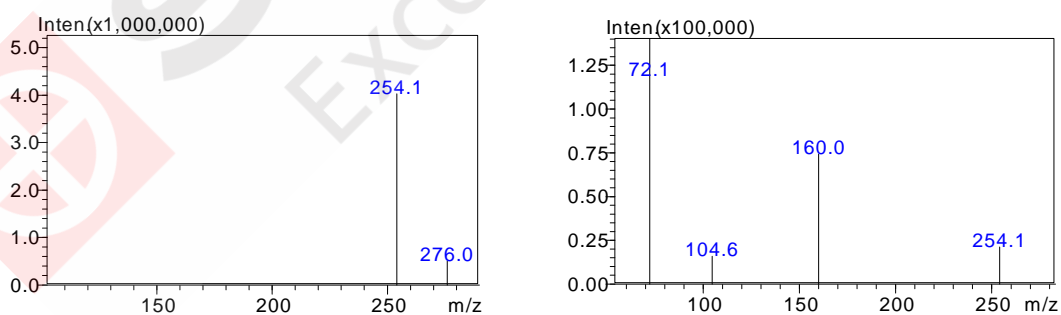


图 16 苯硫威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-10 V）（右图）

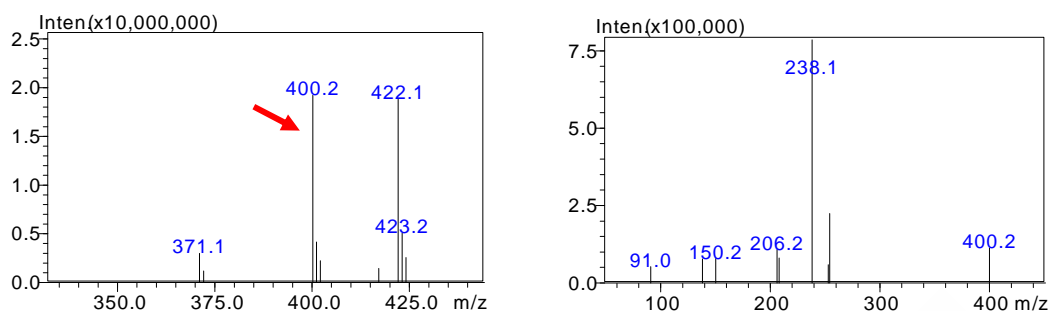


图 17 棉铃威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-8 V）（右图）

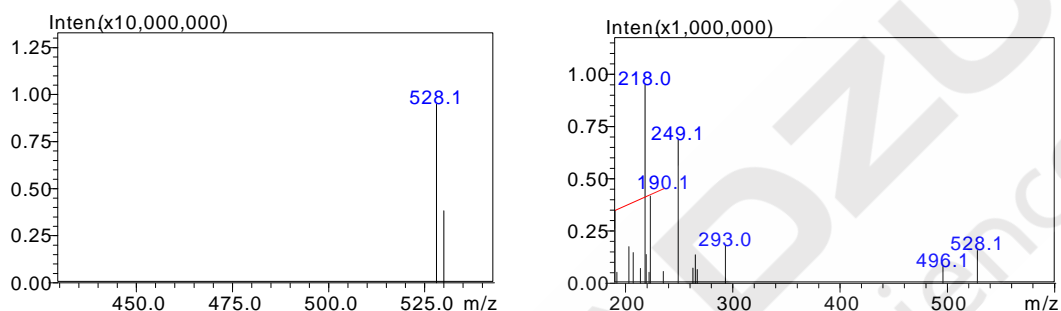


图 18 茚虫威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-20 V）（右图）

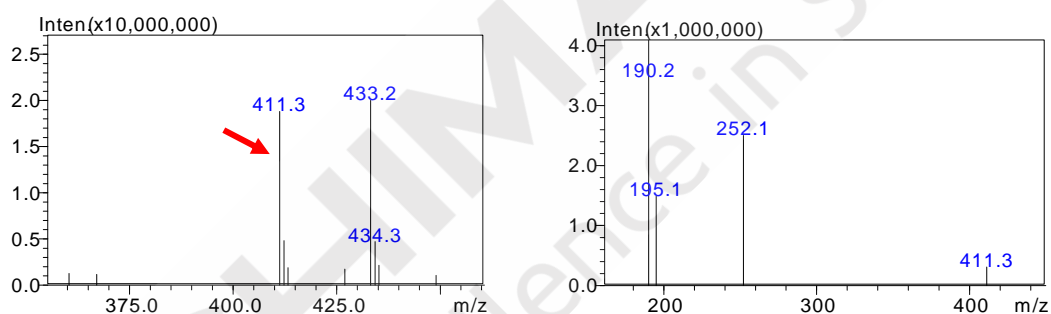


图 19 丙硫克百威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-15 V）（右图）

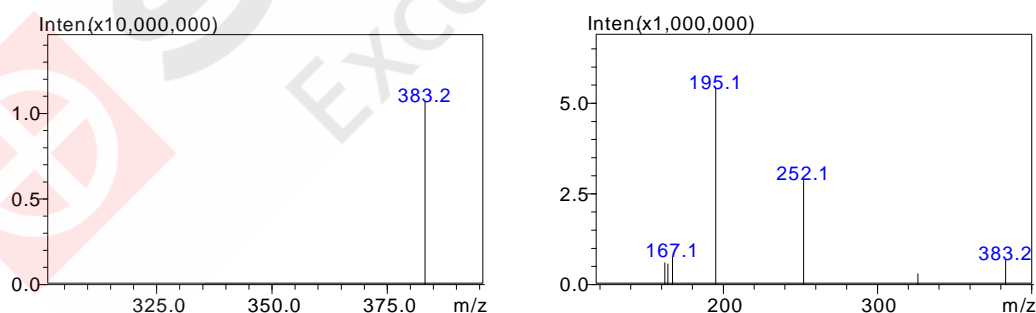


图 20 呋线威的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-15 V）（右图）

## 2.2 20 种氨基甲酸酯标准溶液的 MRM 色谱图

残杀威、灭多威、二氧威、恶虫威、甲萘威、乙硫苯威、异丙威、仲丁威、甲萘威、猛杀威、BDMC、茚虫威、丙硫克百威 为 10 ng/mL 的系列标准溶液。（2）克百威、苯硫威、涕灭威、棉铃威浓度为 5 ng/mL 的系列标准溶液。（3）杀线威、呋线威、抗蚜威浓度为 2.5 ng/mL 的

系列标准溶液。内标甲萘威-D7 和灭多威-D3，终浓度均为 50 ng/mL。其 MRM 色谱图如下图 21 所示。

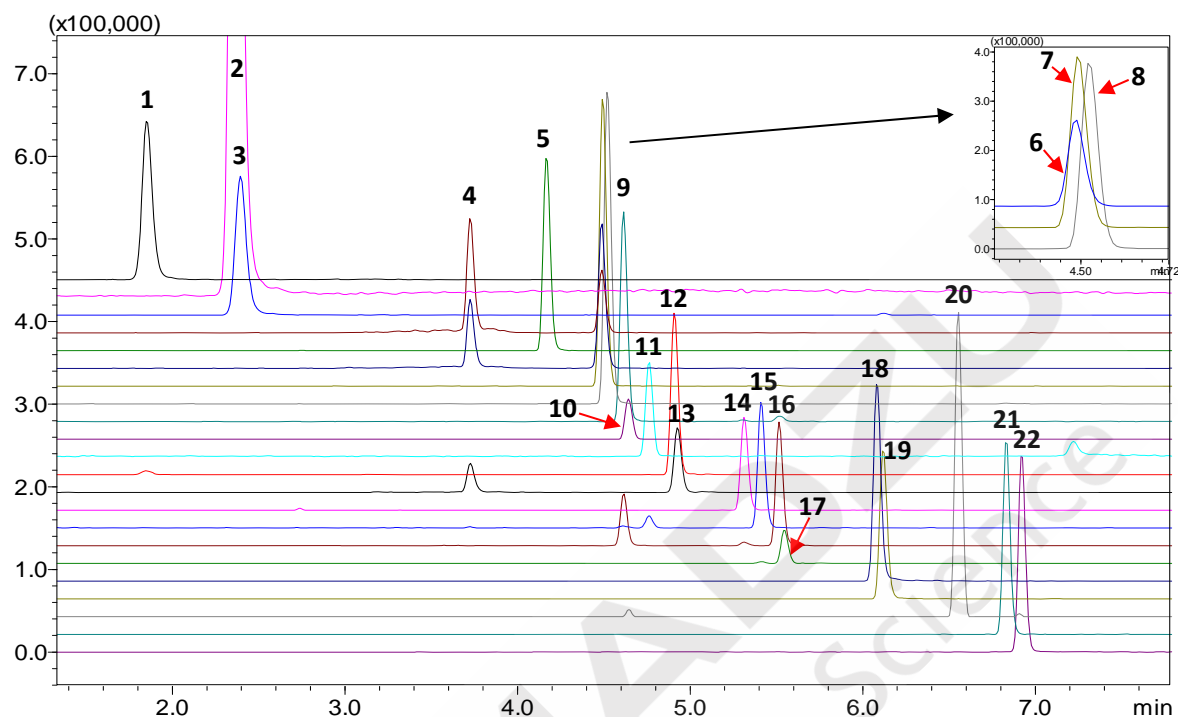
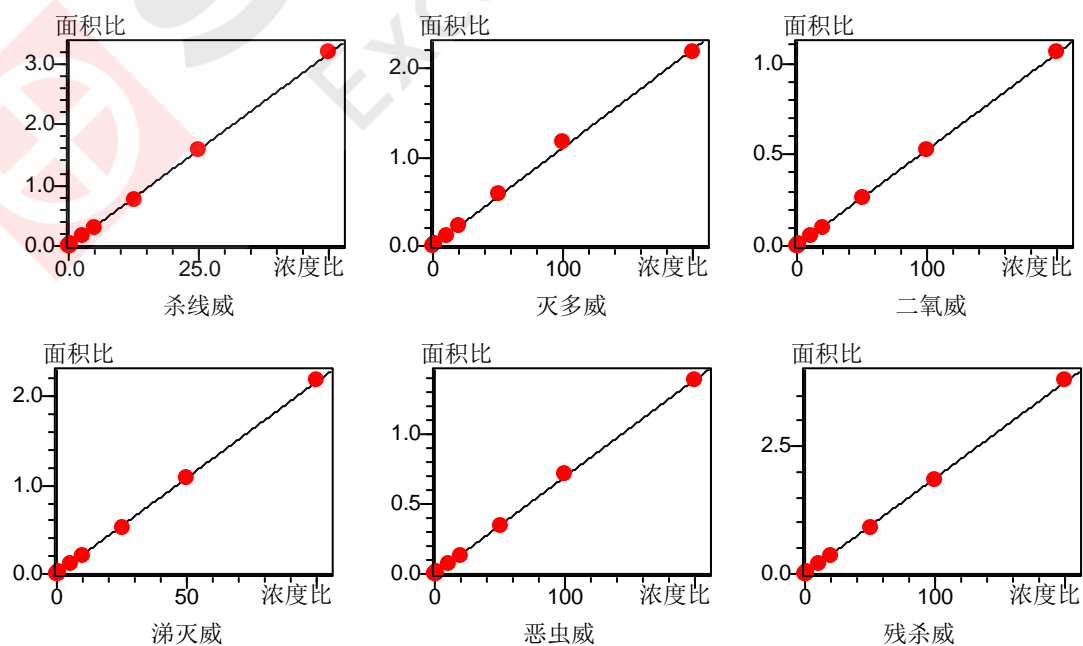


图 21 20 种氨基甲酸酯农残的 MRM 色谱图

(1 杀线威, 2 灭多威-D3, 3 灭多威, 4 二氧威, 5 涕灭威, 6 恶虫威, 7 残杀威, 8 克百威, 9 甲萘威-D7, 10 甲萘威, 11 乙硫苯威, 12 抗蚜威, 13 异丙威, 14 仲丁威, 15 甲硫威, 16 猛杀威, 17 BDMC, 18 苯硫威, 19 棉铃威, 20 茚虫威, 21 丙硫克百威, 22 呋线威)

### 2.3 线性范围

按照 1.3 配制成各浓度混合标准工作液。以工作溶液浓度和内标浓度之比为横坐标，峰面积和内标峰面积之比为纵坐标，内标法绘制标准工作曲线（见下图 22），所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。



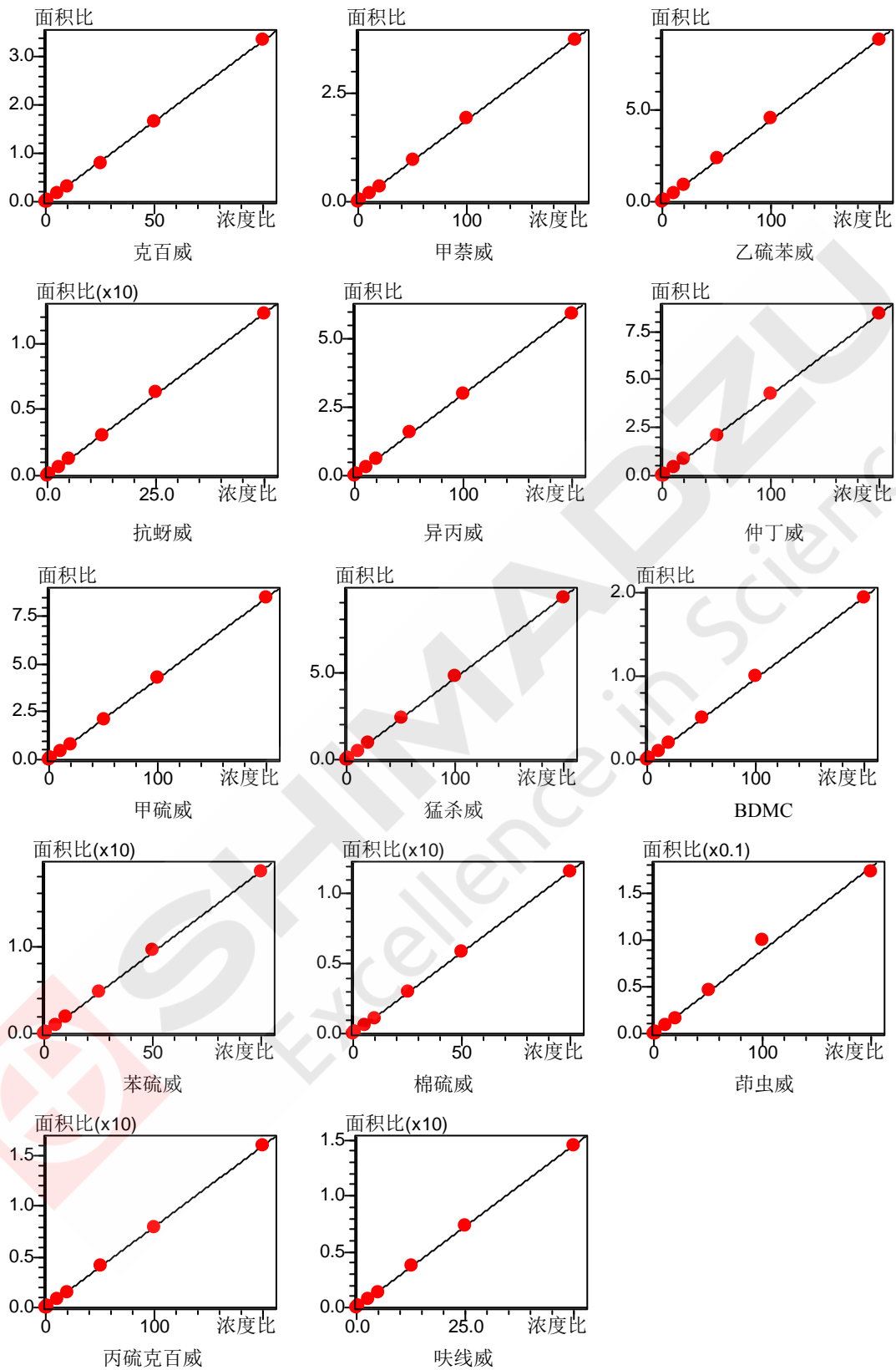


图 22.20 种氨基酸酯的标准曲线

表 3 校准曲线参数

序号	名称	校准曲线	线性范围 (µg/L)	相关系数 r	准确度%
1	杀线威	$Y = 0.0634370X$	0.25~50	0.9999	87.4~100.5
2	灭多威	$Y = 0.0110982X$	1~200	0.9994	98.4~109.7
3	二氧威	$Y = 0.00528174X$	1~200	0.9999	86.1~100.6
4	涕灭威	$Y = 0.0217154X$	0.5~100	0.9999	87.6~100.6
5	恶虫威	$Y = 0.00693232X$	1~200	0.9999	95.8~110.3
6	残杀威	$Y = 0.0188432X$	1~200	0.9998	87.6~100.8
7	克百威	$Y = 0.0334726X$	0.5~100	0.9999	92.9~100.4
8	甲萘威	$Y = 0.0187430X$	1~200	0.9997	93.7~112.6
9	乙硫苯威	$Y = 0.0446606X$	1~200	0.9999	93.2~113.3
10	抗蚜威	$Y = 0.245836X$	0.25~50	0.9999	92.5~108.7
11	异丙威	$Y = 0.0299024X$	1~200	0.9998	87.8~112.2
12	仲丁威	$Y = 0.0421050X$	1~200	0.9999	86.8~102.5
13	甲硫威	$Y = 0.0424351X$	1~200	0.9999	86.3~110.9
14	猛杀威	$Y = 0.0467029X$	1~200	0.9998	90.0~106.3
15	BDMC	$Y = 0.00973255X$	1~200	0.9999	99.3~114.4
16	苯硫威	$Y = 0.186315X$	0.5~100	0.9998	87.9~102.6
17	棉铃威	$Y = 0.116527X$	0.5~100	0.9999	87.0~111.6
18	茚虫威	$Y = 0.000892791X$	1~200	0.9968	85.8~111.7
19	丙硫克百威	$Y = 0.0800311X$	1~200	0.9998	87.9~104.2
20	呋线威	$Y = 0.291325X$	0.25~50	0.9999	99.5~106.8

#### 2.4 精密度实验

对不同浓度混合标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.015 % ~ 0.263 % 和 0.554 % ~ 4.917% 之间，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性及灵敏度结果

样品名称	RSD% (1 µg/L)		RSD% (20 µg/L)		RSD% (160 µg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
残杀威	0.034	4.152	0.058	1.735	0.042	1.353
灭多威	0.180	3.434	0.215	1.017	0.198	0.843
二氧威	0.056	4.833	0.092	3.487	0.069	1.119
恶虫威	0.056	3.010	0.056	2.125	0.042	0.911
甲萘威	0.075	3.335	0.049	2.276	0.042	1.520
乙硫苯威	0.066	4.261	0.051	2.675	0.037	1.126
异丙威	0.077	2.536	0.051	3.565	0.037	1.186
仲丁威	0.077	4.775	0.040	1.483	0.031	1.604
甲硫威	0.077	4.145	0.045	1.611	0.026	0.835
猛杀威	0.076	2.368	0.042	1.802	0.028	1.539
BDMC	0.038	4.917	0.051	4.815	0.027	2.000
茚虫威	0.104	4.318	0.015	4.806	0.026	4.255
丙硫克百威	0.022	3.739	0.036	1.369	0.023	1.394
	RSD% (0.5 µg/L)		RSD% (10 µg/L)		RSD% (80 µg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
克百威	0.068	4.98	0.058	1.735	0.040	0.592
苯硫威	0.035	3.904	0.049	2.455	0.018	1.346
涕灭威	0.056	2.035	0.069	2.639	0.055	1.434
棉铃威	0.062	4.033	0.049	2.455	0.016	1.501
	RSD% (0.25 µg/L)		RSD% (5 µg/L)		RSD% (40 µg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
杀线威	0.263	4.031	0.256	1.624	0.201	0.554
呋线威	0.022	3.739	0.036	1.369	0.024	1.171
抗蚜威	0.072	2.723	0.058	1.735	0.035	0.809

## 2.5 灵敏度实验

为考察仪器的灵敏度，将低浓度混合标准工作液按 1.2 中的分析条件下进行测定。方法检出限根据 HJ 168-2010 《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》规定，以 7 次空白试验平均标准偏差为  $S$ ，按照  $MDL=t_{(6,0.99)} \times S$  进行计算，以 4 倍检出限作为测定下限，20 种化合物的信噪比和方法检出限如下表 5 所示。

表 5 信噪比 (S/N) 和方法检出限以及定量限

名称	浓度水平 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	S/N	测定下限 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	检出限 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
杀线威	0.025	27.59	0.020	0.005
灭多威	0.100	24.98	0.048	0.012
二氧威	0.100	10.22	0.092	0.023
涕灭威	0.050	27.59	0.036	0.009
恶虫威	0.100	19.37	0.068	0.017
残杀威	0.100	55.33	0.036	0.009
克百威	0.050	28.28	0.040	0.010
甲萘威	0.100	54.07	0.052	0.013
乙硫苯威	0.100	12.22	0.024	0.006
抗芽威	0.025	31.67	0.016	0.004
异丙威	0.100	15.49	0.076	0.019
仲丁威	0.100	30.92	0.060	0.015
甲硫威	0.100	72.88	0.032	0.008
猛杀威	0.100	32.27	0.088	0.022
BDMC	0.100	58.56	0.040	0.010
苯硫威	0.050	13.64	0.044	0.011
棉铃威	0.050	64.20	0.036	0.009
茚虫威	0.100	10.73	0.052	0.013
丙硫克百威	0.100	39.73	0.084	0.021
呋线威	0.025	19.13	0.012	0.003

## 2.6 基质加标实验

按照 1.4 中样品制备方法，加标浓度如下表 6 所示，各平行测定 3 次。测试结果显示：20 种氨基甲酸酯样品的加标回收率在 88.1 ~ 108.4% 之间，结果如表 6。

表 6 基质加标实验结果

样品名称	加标浓度 (2 µg/kg)		加标浓度 (16 µg/kg)	
	检测值	回收率	检测值	回收率
残杀威	1.812±0.023	90.6	16.016±0.285	94.3
灭多威	2.123±0.033	106.2	16.584±0.193	103.7
二氧威	1.949±0.051	94.1	15.911±0.181	91.4
恶虫威	1.832±0.028	91.6	16.278±0.167	101.7
甲萘威	2.041±0.106	97.7	16.353±0.278	102.2
乙硫苯威	2.049±0.082	92.2	16.260±0.397	96.6
异丙威	2.067±0.056	103.4	16.652±0.348	98.1
仲丁威	2.042±0.087	102.1	16.597±0.491	103.7
甲硫威	1.980±0.055	95.0	16.393±0.318	99.5
猛杀威	2.038±0.080	101.9	16.731±0.419	94.6
BDMC	2.071±0.086	103.6	16.971±0.269	106.1
茚虫威	1.761±0.096	88.1	17.385±0.428	108.4
丙硫克百威	1.923±0.086	96.3	17.145±0.270	107.2
	加标浓度 (1 µg/kg)		加标浓度 (8 µg/kg)	
	检测值	回收率	检测值	回收率
克百威	0.922±0.011	92.2	8.158±0.863	102.0
苯硫威	0.925±0.039	92.5	7.628±0.161	95.3
涕灭威	0.904±0.018	90.4	7.610±0.106	95.1
棉铃威	0.995±0.046	99.5	8.323±0.190	104.0
	RSD% (0.5 µg/kg)		RSD% (4 µg/kg)	
	检测值	回收率	检测值	回收率
杀线威	0.473±0.010	94.7	3.935±0.036	98.9
呋线威	0.489±0.020	97.9	4.022±0.685	100.6
抗蚜威	0.503±0.018	100.8	3.864±0.0927	96.6

## 2.7 实际土壤样品测定结果

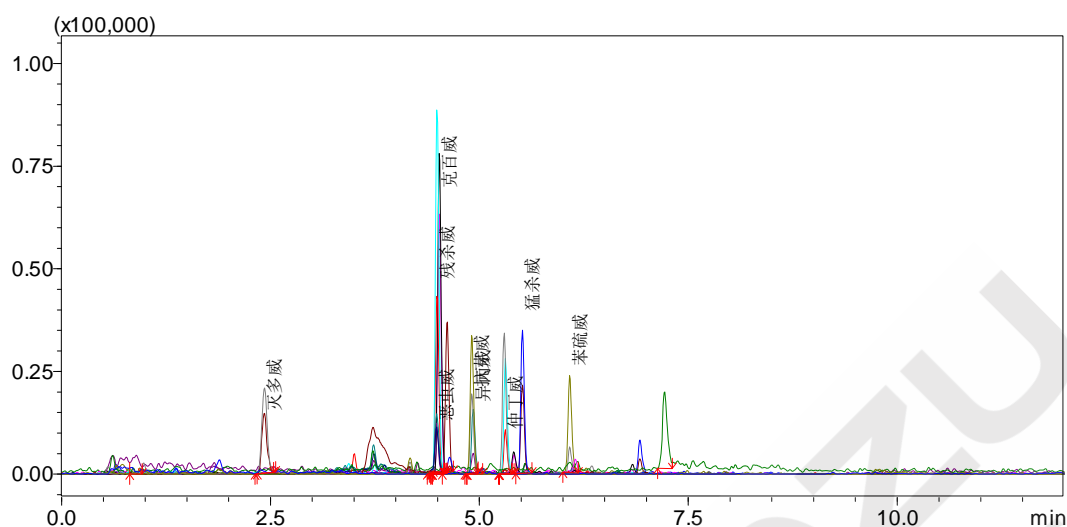


图 23 土壤样品 20 种氨基甲酸酯色谱图

按照 1.4 中样品制备方法处理土壤样品，平行测定 3 次，结果如图 23 所示，测得某土壤样品含有  $0.296 \pm 0.026 \mu\text{g}/\text{kg}$  灭多威， $0.491 \pm 0.047 \mu\text{g}/\text{kg}$  残杀威， $0.235 \pm 0.012 \mu\text{g}/\text{kg}$  克百威， $0.237 \pm 0.013 \mu\text{g}/\text{kg}$  恶虫威， $0.379 \pm 0.025 \mu\text{g}/\text{kg}$  异丙威， $0.462 \pm 0.053 \mu\text{g}/\text{kg}$  仲丁威， $0.517 \pm 0.048 \mu\text{g}/\text{kg}$  猛杀威， $0.095 \pm 0.015 \mu\text{g}/\text{kg}$  苯硫威。

## 3. 结论

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 联用测定土壤中氨基甲酸酯残留的方法。该方法在 12 min 内完成 20 种氨基甲酸酯的分析，校准曲线的相关系数均在 0.997 以上。对不同浓度的混合标准溶液，各平行测试 6 次，12 种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.015 % ~ 0.263 % 和 0.554 % ~ 4.917% 之间，仪器精密度良好。对于空白基质经过样品前处理后上机分析，回收率在 88.1 ~ 108.4% 之间。该方法具有分析速度快、灵敏度高、重复性好的优势，可用于土壤中多种氨基甲酸酯残留检测。



本公司三条工厂获得 ISO 认证

JQA-0376

## ⊕ 岛津企业管理 ( 中国 ) 有限公司 / 岛津 ( 香港 ) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

### 北京

北京市朝阳区朝外大街 16 号中国人寿大厦 14F  
 邮政编码: 100020  
 电话: (010) 8525-2310/2312  
 传真: (010) 8525-2326/2329

### 上海

上海市徐汇区宜州路180号华鑫天地二期C801栋  
 邮政编码: 200233  
 电话: (021) 3419-3888  
 传真: (021) 3419-3666

### 沈阳

辽宁省沈阳市青年大街167号北方国际传媒中心11F  
 邮政编码: 110016  
 电话: (024) 2325-5577  
 传真: (024) 2383-6378

### 四川

成都市锦江区创意产业商务区三色路38号博瑞创意成都B座12层  
 邮政编码: 610015  
 电话: (028) 8619-8421/8422  
 传真: (028) 8619-8420

### 武汉

武汉市汉口建设大道568号新世界国贸大厦1座41层4116室  
 邮政编码: 430022  
 电话: (027) 8555-7910  
 传真: (027) 8555-7920

### 广州

广州市流花路109号之9达宝广场7楼  
 邮政编码: 510010  
 电话: (020) 8710-8603  
 传真: (020) 8710-8698

### 西安

西安市南二环西段88号老三届世纪星大厦24层G座  
 邮政编码: 710065  
 电话: (029) 8838-6016  
 传真: (029) 8838-6497

### 乌鲁木齐

乌鲁木齐市中山路339号中泉广场14层H座  
 邮政编码: 830000  
 电话: (0991) 230-6271/6272  
 传真: (0991) 230-6273

### 昆明

昆明市青年路 432 号天恒大酒店 908 室  
 邮政编码: 650021  
 电话: (0871) 315-2987  
 传真: (0871) 315-2991

### 南京

南京市鼓楼区汉中路2号金陵饭店亚太商务楼27层B单元  
 邮政编码: 210005  
 电话: (025) 8689-0258  
 传真: (025) 8689-0237

### 重庆

重庆市渝中区青年路 38 号重庆国贸中心 1702 室  
 邮政编码: 400010  
 电话: (023) 6380-6057/6058  
 传真: (023) 6380-6551

### 深圳

深圳市福田区天安数码城天展大厦1楼F2. 6-1C  
 邮政编码: 518042  
 电话: (0755) 8340-2852  
 传真: (0755) 8389-3100

### 河南

郑州市中原路220号裕达国际贸易中心A座20层2011室  
 邮政编码: 450007  
 电话: (0371) 8663-2981  
 传真: (0371) 8663-2982

### 香港

Suite 1028, Ocean Centre, Harbour City,  
 Tsim Sha tsui, Kowloon, Hong-Kong  
 电话: (00852) 2375-4979  
 传真: (00852) 2199-7438

用户服务热线电话: 800-8100439  
 400-6500439

本产品样本所宣传的内容, 以本版本为准  
 样本中的试验数据除注明外为本公司的试验数据

日本总公司工厂已通过ISO质量·环境管理体系的认证

注: 此样本所有信息仅供参考, 如有变动恕不另行通知