

LC-MS/MS 检测猪肉中酰胺醇类药物及其代谢物残留

LCMSMS-742

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测定猪肉中酰胺醇类药物及其代谢物残留的方法。4种化合物在 0.2 µg/L~40.0 µg/L 浓度范围内线性良好，相关系数 r 均在 0.998 以上。在高、中、低三个浓度下，化合物的保留时间和峰面积的 RSD% 分别在 0.06%~0.26% 和 1.10%~10.27% 之间，仪器精密度良好。加标浓度为 0.2、1 和 10 µg/kg 的样品，回收率在 87.0~116.3% 之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于猪肉中酰胺醇类药物及其代谢物残留的准确定量检测。

关键词：三重四极杆液质联用仪 猪肉 酰胺醇类 代谢物

技术特点：

- ❖ 甲砒霉素、氟苯尼考及氟苯尼考胺的灵敏度远高于标准要求。
- ❖ 相较《GB 31658.20-2021》，各化合物具有更宽的线性范围。

酰胺醇类药物又称氯霉素类抗生素，属于广谱抗生素，对革兰氏阳性菌和阴性菌均有抑制作用，常见的该类物质主要包括氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考等。由于氯霉素会严重干扰动物造血功能，引起粒细胞及血小板生成减少，导致不可逆性再生障碍性贫血等，中华人民共和国农业农村部公告第 250 号已明确将其列入《食品动物中禁止使用的药品及其他化合物清单》。

甲砒霉素为氯霉素类衍生物，GB 31650-2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》规定了甲砒霉素在牛、羊和猪的肌肉、肝、肾等组织的最大残

留限量（MRLs）为 50 µg/kg；而氟苯尼考是新一代氯霉素类抗生素，氟苯尼考胺是其代谢产物，《GB 31650-2019》规定残留标志物是氟苯尼考和氟苯尼考胺之和，在猪不同组织中的 MRLs 为 300~2000 µg/kg。

为了保障人们的食品安全，农业农村部首次发布了《GB 31658.20-2021 食品安全国家标准 动物性食品中酰胺醇类药物及其代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，本文参考标准，建立了猪肉中酰胺醇类药物残留的检测方法。

实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 X3 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为：

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

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：	Shim-pack Scepter C18-120 (100 mm×2.1 mm I.D, 1.9 µm) 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-31012-05		
流动相：	A相 - 10 mM 甲酸铵水溶液, B相 - 乙腈		
柱温：	35°C	流速：	0.3 mL/min
洗脱方式：	梯度洗脱, 初始浓度为 B 相 5%, 进样体积：5 µL 时间程序见表 1		

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	5
3.50	Pumps	Pump B Conc.	60
4.50	Pumps	Pump B Conc.	60
4.51	Pumps	Pump B Conc.	5
6.50	Controller	Stop	

质谱条件

离子源：	ESI, 正 + 负离子模式	DL 管 温 度：	250°C
接口电压：	0.5 kV	加热模块温度：	400°C
雾化气：	氮气 3.0 L/min	接 口 温 度：	300°C
干燥气：	氮气 10 L/min	扫 描 模 式：	多反应监测 (MRM)
加热气：	空气 10 L/min	MRM 参 数：	见表 2
碰撞气：	氩气 (230 kPa)		

表 2 MRM 参数

编号	名称	化学分子式	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	氯霉素	C ₁₁ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₅	56-75-7	321.0	152.1*	20.0	16.0	15.0
					257.0	19.0	10.0	17.0
2	甲砒霉素	C ₁₂ H ₁₅ Cl ₂ NO ₅ S	15318-45-3	354.0	185.1*	22.0	21.0	18.0
					290.0	12.0	12.0	20.0
3	氟苯尼考	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₂ FNO ₄ S	73231-34-2	356.0	185.1	12.0	18.0	12.0
					336.0*	12.0	10.0	23.0
4	氟苯尼考胺	C ₈ H ₁₀ D ₅ N ₃ O ₃	76639-93-5	248.1	130.2	-18.0	-19.0	-12.0
					230.1*	-18.0	-12.0	-25.0
5	氯霉素 D ₅	C ₁₁ H ₇ D ₅ Cl ₂ N ₂ O ₅	/	326.0	157.0*	20.0	17.0	29.0
6	甲砒霉素 D ₃	C ₁₂ H ₁₂ D ₃ Cl ₂ NO ₅ S	/	359.0	295.0*	25.0	12.0	14.0
7	氟苯尼考 D ₃	C ₁₂ H ₁₁ D ₃ Cl ₂ FNO ₄ S	/	361.0	341.0*	18.0	10.0	25.0
8	氟苯尼考胺 D ₃	C ₁₀ H ₁₁ D ₃ FNO ₃ S	/	251.1	233.1*	-16.0	-12.0	-30.0

* 表示定量离子

■ 样品前处理

参考《GB 31658.20-2021 食品安全国家标准 动物性食品中酰胺醇类药物及其代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》中 7.1 和 7.2 样品提取与净化的方法。

■ 结果与讨论

3.1 酰胺醇类标准溶液谱图

图 1 为 0.2 ng/mL 4 种酰胺醇类药物及代谢物的 MRM 色谱图, 色谱峰分离良好, 通道无干扰。

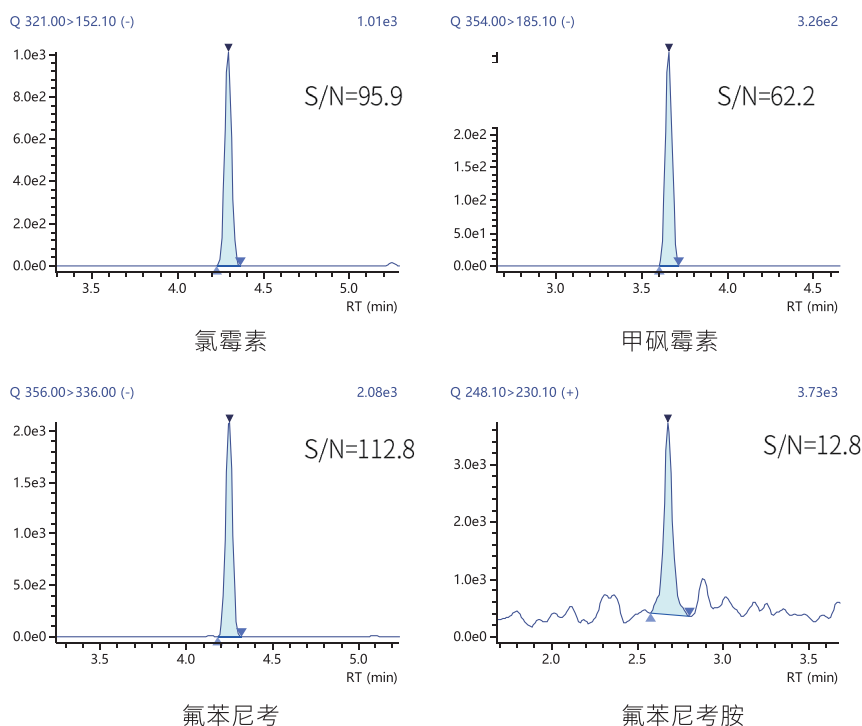


图 1 4 种酰胺醇类药物及代谢物标准品溶液质量色谱图 (0.2 μg/L)

3.2 校准曲线和检出限

使用 20% 甲醇溶液稀释混合标准溶液，配制成四种目标物浓度为 0.2、0.4、1、2、4、10、20 和 40 μg/L 的系列标准溶液，其中同位素内标的浓度均为 5 μg/L，以定量离子峰面积比为纵坐标，浓度比为横坐标，绘制校准曲线如图 2 所示。根据 0.2 μg/L 标样数据，以 3 倍信噪比计算 4 种酰胺醇类药物的方法检出限，各化合物检出限以及线性相关系数如表 3 所示。

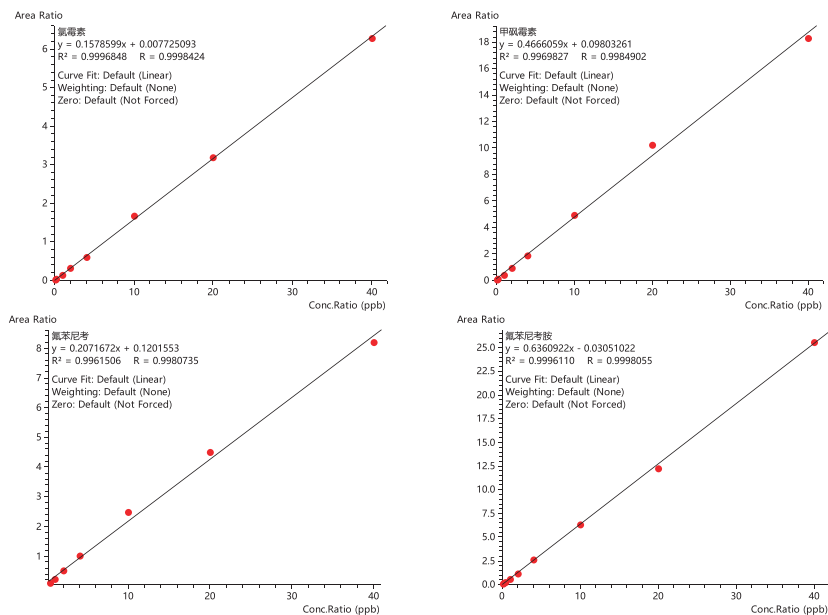


图 2 酰胺醇类药物及代谢物标准曲线

表 3 4 种酰胺醇类药物及代谢物校准曲线及检出限

编号	组分名称	校准曲线	相关系数 R	准确度 %	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
1	氯霉素	$Y=(0.1578599)X+(0.007725093)$	0.9998	92.4~109.7	0.01	0.02
2	甲矾霉素	$Y=(0.4666059)X+(0.09803261)$	0.9985	85.4~118.2	0.01	0.03
3	氟苯尼考	$Y=(0.2071672)X+(0.1201553)$	0.9981	88.5~117.3	0.01	0.02
4	氟苯尼考胺	$Y=(0.6360922)X-(0.03051022)$	0.9998	83.0~112.5	0.04	0.13

3.3 重复性实验

取 0.2、2 和 40 $\mu\text{g/L}$ 标准品溶液，连续进样 6 次，考察仪器的重复性，测定结果见表 4。

表 4 酰胺醇类药物及代谢物保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

编号	化合物	RSD% (0.2 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (2 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (40 $\mu\text{g/L}$)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	氯霉素	0.08	7.97	0.06	5.00	0.09	1.18
2	甲矾霉素	0.16	9.76	0.09	5.88	0.13	1.10
3	氟苯尼考	0.08	8.45	0.07	2.75	0.09	2.21
4	氟苯尼考胺	0.18	10.27	0.20	4.75	0.26	2.15

3.4 加标回收率

取空白猪肉 2 g，加入混标工作液，使加标浓度为 0.2、1 和 10 $\mu\text{g/kg}$ ，样品经提取及净化后，按照 1.2 中的分析条件测定 4 种酰胺醇类药物及代谢物的加标回收率，平行测定 3 次。4 个化合物的回收率在 87.0~116.3% 之间，具体结果见表 5。

表 5 4 种酰胺醇类药物及代谢物回收率结果 (n=3)

编号	化合物	加标浓度 0.2 $\mu\text{g/kg}$		加标浓度 1 $\mu\text{g/kg}$		加标浓度 10 $\mu\text{g/kg}$	
		回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%
1	氯霉素	87.0	10.8	96.6	7.3	96.2	6.4
2	甲矾霉素	101.0	12.2	116.3	1.26	106.4	10.8
3	氟苯尼考	113.5	4.3	110.4	4.0	115.8	2.1
4	氟苯尼考胺	102.5	12.5	94.3	4.5	98.5	4.8

■ 结论

依据国家标准《GB 31658.20-2021 食品安全国家标准 动物性食品中酰胺醇类药物及其代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪测定猪肉中酰胺醇类药物及代谢物残留的方法。4 种化合物在 0.2 $\mu\text{g/L}$ ~40.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好，相关系数 r 均在 0.998 以上。加标浓度为 0.2、1 和 10 $\mu\text{g/kg}$ 的样品，回收率在 87.0~116.3% 之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于动物性食品中酰胺醇类药物及其代谢物残留量的准确检测。

岛津应用云

