

LC-MS/MS 检测猪肉中 10 种头孢类药物残留量

LCMSMS-644

摘要：本文参考中华人民共和国国家标准 GB 31658.4 -2021《动物性食品中头孢类药物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》，建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪检测猪肉中 10 种头孢类药物残留量的方法。样品经乙腈 - 水、磷酸盐缓冲液提取，固相萃取柱净化后，以 LC-MS/MS 外标法定量检测其中 10 种头孢类药物的残留量。实验结果表明：该方法灵敏度高，重复性好，校准曲线线性良好，适合用作检测猪肉中的头孢类物质残留量。

关键词：猪肉 头孢 三重四极杆液质联用仪

头孢类药物属于 β -内酰胺类抗生素，是以冠头孢菌培养而得到的天然头孢菌素 C 为原料，经侧链改造而得。作为一种广谱抗菌药，头孢在临床和畜牧水产养殖中被广泛使用甚至滥用。猪肉属于日常生活中极为常见的肉食来源，若其中头孢类药物残留较多，则可能危害食用者身体安全。

2022 年 2 月 1 日，中华人民共和国国家标准 GB 31658.4 -2021《动物性食品中头孢类药物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》开始实施，该标准规定了

猪肉等动物性食品中 10 种头孢类药物（头孢氨苄、头孢拉定、头孢唑林、头孢哌酮、头孢乙腈、头孢匹林、去乙酰基头孢匹林、头孢洛宁、头孢喹肟和头孢噻肟）残留量的检测方法。

本文参考该标准，利用岛津三重四极杆液质联用系统，建立了猪肉中卡拉胶的检测方法。该方法灵敏度高，重复性好，校准曲线线性良好，适合用作检测猪肉中的头孢类物质残留量。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40B 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：CBM-40

自动进样器：SIL-40C X3

输液泵：LC-40B X3

质谱仪：LCMS-8045

柱温箱：CTO-40S

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99 SP2

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack Velox SP-C18, 100 mm×2.1 mm I.D., 1.8 μ m

P/N: 227-32001-03, 岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A 相 -0.1% 甲酸水溶液；B 相 - 甲醇

流速：0.3 mL/min

柱温：30°C

进样量：10 μ L

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 洗脱程序

| Time(min) | Module | Command | Value |
|-----------|--------|--------------|-------|
| 1.0 | Pumps | Pump B Conc. | 5 |
| 4.5 | Pumps | Pump B Conc. | 50 |
| 5.5 | Pumps | Pump B Conc. | 50 |
| 6.0 | Pumps | Pump B Conc. | 95 |

| | | | |
|------|------------|--------------|----|
| 7.5 | Pumps | Pump B Conc. | 95 |
| 7.6 | Pumps | Pump B Conc. | 5 |
| 10.0 | Controller | Stop | |

质谱条件

离子化模式: ESI⁺

干燥气: 氮气 10.0 L/min

接口温度: 300°C

DL 温度: 250°C

雾化气: 氮气 3.0 L/min

加热气: 空气 10.0 L/min

加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

表 2 MRM 参数

| 序号 | 化合物名称 | 前体离子 | 产物离子 | Q1 Pre Bias (V) | CE | Q3 Pre Bias (V) |
|----|----------|--------|---------|-----------------|-------|-----------------|
| 1 | 头孢氨苄 | 348.10 | 158.10* | -13.0 | -11.0 | -16.0 |
| | | | 174.10 | -25.0 | -16.0 | -18.0 |
| 2 | 头孢拉定 | 350.10 | 158.10* | -26.0 | -10.0 | -17.0 |
| | | | 176.20 | -18.0 | -14.0 | -18.0 |
| 3 | 头孢乙腈 | 362.20 | 178.10* | -14.0 | -14.0 | -28.0 |
| | | | 258.00 | -10.0 | -14.0 | -18.0 |
| 4 | 头孢唑林 | 455.20 | 156.10* | -22.0 | -18.0 | -20.0 |
| | | | 323.10 | -13.0 | -13.0 | -22.0 |
| 5 | 头孢哌酮 | 646.10 | 143.20* | -34.0 | -35.0 | -14.0 |
| | | | 290.00 | -24.0 | -23.0 | -20.0 |
| 6 | 头孢匹林 | 424.20 | 152.10* | -21.0 | -24.0 | -16.0 |
| | | | 292.10 | -21.0 | -16.0 | -20.0 |
| 7 | 头孢洛宁 | 459.10 | 152.10* | -17.0 | -21.0 | -10.0 |
| | | | 337.10 | -13.0 | -11.0 | -24.0 |
| 8 | 头孢喹肟 | 529.10 | 134.20* | -20.0 | -17.0 | -27.0 |
| | | | 396.10 | -20.0 | -14.0 | -28.0 |
| 9 | 去乙酰基头孢匹林 | 382.20 | 112.10* | -19.0 | -26.0 | -22.0 |
| | | | 152.10 | -19.0 | -27.0 | -30.0 |
| 10 | 头孢噻肟 | 456.20 | 167.10* | -13.0 | -20.0 | -17.0 |
| | | | 395.90 | -29.0 | -13.0 | -27.0 |

* 定量离子对

1.3 样品前处理

样品前处理参照 GB 31658.4 -2021 中“8.1 提取”和“8.2 净化”部分进行。

■ 结果与讨论

2.1 灵敏度和专属性

5 ng/mL 加标样品和空白样品的 MRM 色谱图如图 1 所示, 空白样品无干扰, 各目标组分在该浓度下 (方法要求定量限) 信噪比为 13.9~422.3, 以 S/N=10 对应的浓度计算定量限, 均可满足标准要求。

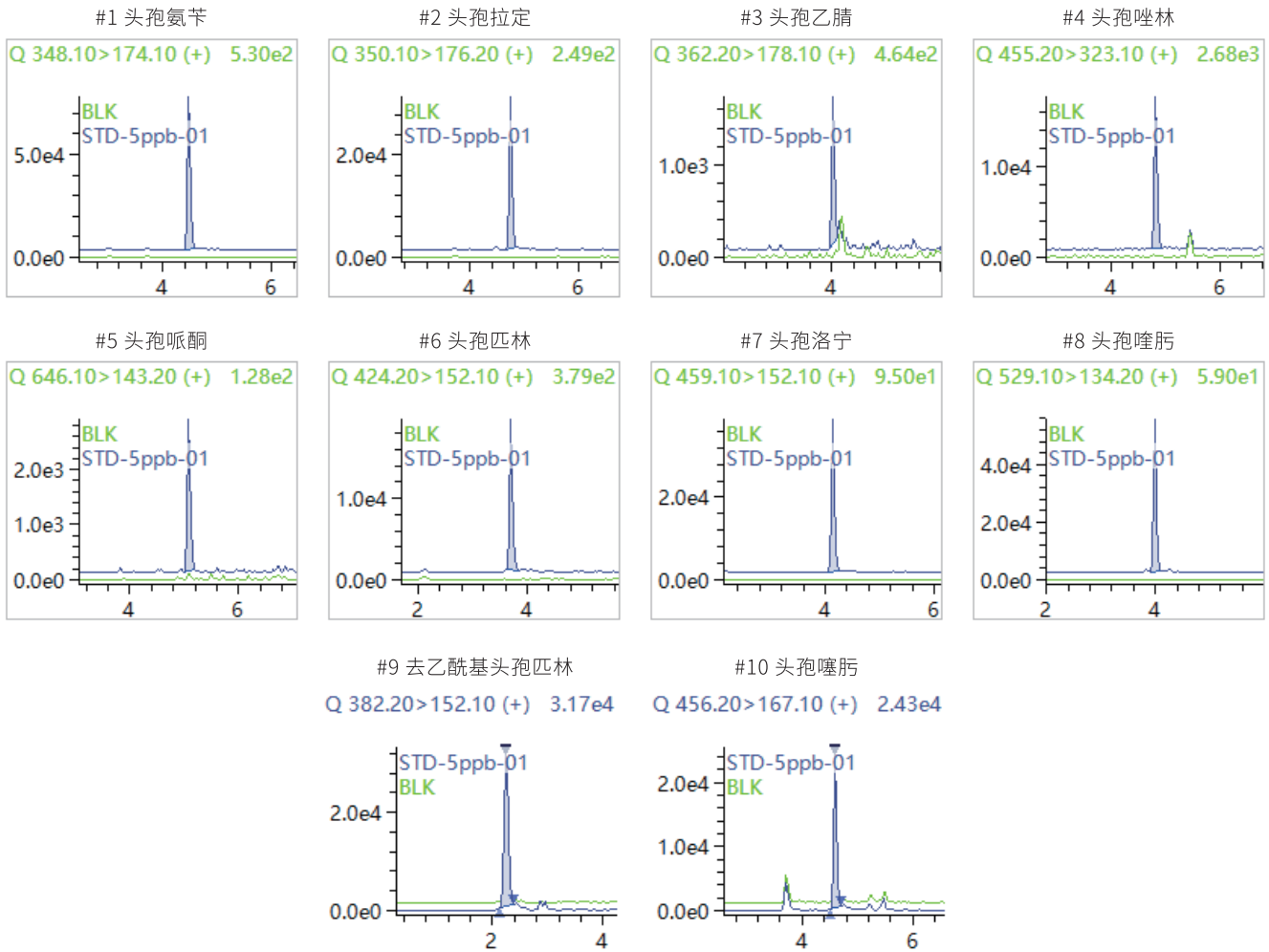
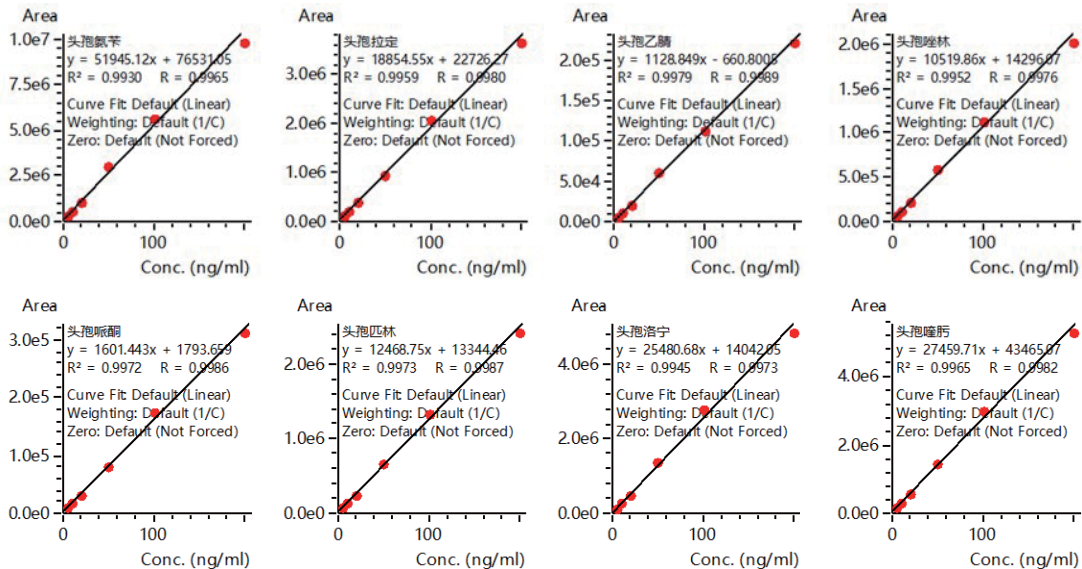


图 1 5 ng/mL 加标样品和空白样品 MRM 色谱图

2.2 校准曲线

参照 GB 31658.4-2021 中“8.3 基质匹配标准曲线的制备”，制备浓度分别为 5、10、20、50、100、200 ng/mL 的基质加标溶液，外标法建立校准曲线如图 2 所示，线性方程、相关系数和准确度如表 3 所示。



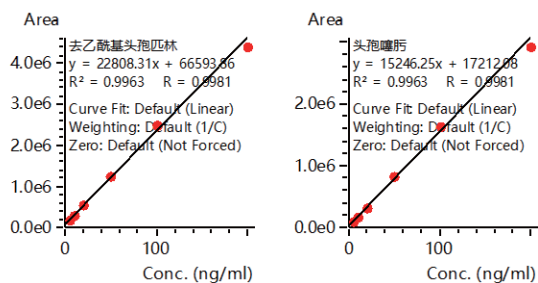


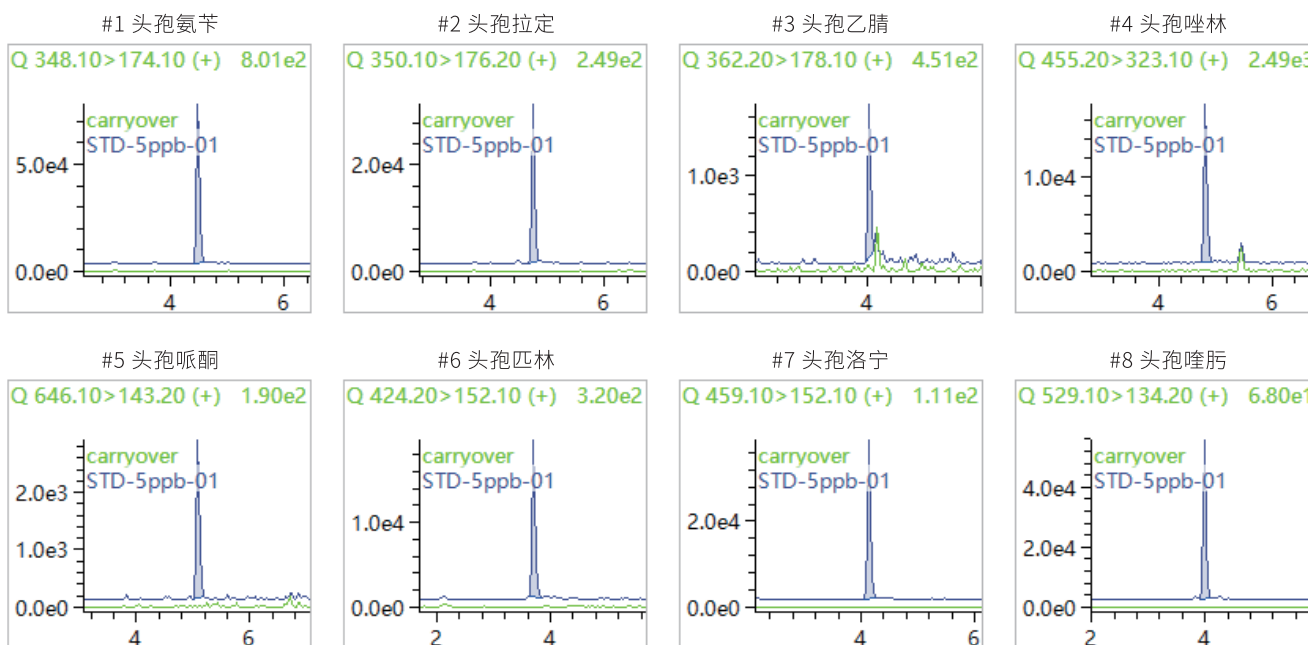
图 2 校准曲线

表 3 校准曲线信息序

| No. | 目标物 | 线性范围 (ng/mL) | 线性方程 | 相关系数 r | 准确度 (%) |
|-----|----------|--------------|------------------------------|--------|-------------|
| 1 | 头孢氨苄 | 5-200 | $Y = (51945.1)X + (76531.1)$ | 0.9965 | 91.5-112.4% |
| 2 | 头孢拉定 | 5-200 | $Y = (18854.6)X + (22726.3)$ | 0.9980 | 94.0-109.0% |
| 3 | 头孢乙腈 | 5-200 | $Y = (1128.8)X - (660.8)$ | 0.9989 | 89.3-108.1% |
| 4 | 头孢唑林 | 5-200 | $Y = (10519.9)X + (14296.1)$ | 0.9976 | 92.9-110.2% |
| 5 | 头孢哌酮 | 5-200 | $Y = (1601.4)X + (1793.7)$ | 0.9986 | 93.1-107.8% |
| 6 | 头孢匹林 | 5-200 | $Y = (12468.8)X + (13344.5)$ | 0.9987 | 92.7-105.6% |
| 7 | 头孢洛宁 | 5-200 | $Y = (25480.7)X + (14042.1)$ | 0.9973 | 91.5-108.8% |
| 8 | 头孢噻肟 | 5-200 | $Y = (27459.7)X + (43465.1)$ | 0.9982 | 95.5-107.4% |
| 9 | 去乙酰基头孢匹林 | 5-200 | $Y = (22808.3)X + (66593.9)$ | 0.9981 | 93.7-106.8% |
| 10 | 头孢噻肟 | 5-200 | $Y = (15246.3)X + (17212.1)$ | 0.9981 | 93.2-107.3% |

2.3 残留考察

ULOQ 基质加标样品进样后，空白样品进样分析所得色谱图如图 3 所示，各目标组分保留时间处无明显色谱峰。



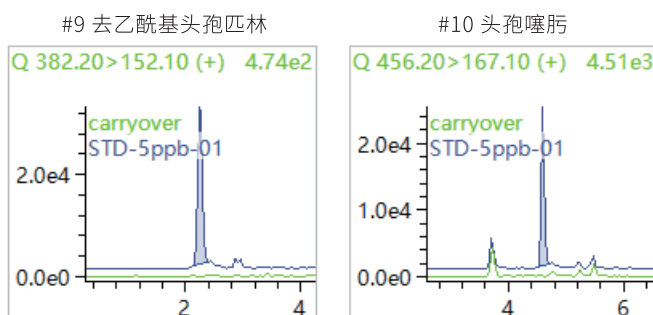


图3 残留考察

2.4 重复性考察

对不同浓度的基质加标样品分别连续分析6次，计算保留时间和峰面积的RSD。结果见表4，保留时间RSD均不高于0.13%，峰面积RSD均不高于7.43%。

表4 保留时间和面积RSD

| No. | 目标物 | 浓度 (ng/mL) | 保留时间 RSD(%) | 峰面积 RSD (%) |
|-----|----------|------------|-------------|-------------|
| 1 | 头孢氨苄 | 5 | 0.06 | 3.26 |
| | | 20 | 0.05 | 1.39 |
| | | 100 | 0.09 | 2.08 |
| 2 | 头孢拉定 | 5 | 0.07 | 2.41 |
| | | 20 | 0.05 | 3.15 |
| | | 100 | 0.08 | 1.90 |
| 3 | 头孢乙腈 | 5 | 0.11 | 5.45 |
| | | 20 | 0.07 | 4.83 |
| | | 100 | 0.10 | 4.31 |
| 4 | 头孢唑林 | 5 | 0.06 | 3.95 |
| | | 20 | 0.03 | 3.00 |
| | | 100 | 0.09 | 2.45 |
| 5 | 头孢哌酮 | 5 | 0.06 | 7.43 |
| | | 20 | 0.05 | 5.13 |
| | | 100 | 0.07 | 3.20 |
| 6 | 头孢匹林 | 5 | 0.10 | 2.98 |
| | | 20 | 0.06 | 1.20 |
| | | 100 | 0.09 | 1.90 |
| 7 | 头孢洛宁 | 5 | 0.08 | 2.58 |
| | | 20 | 0.05 | 2.17 |
| | | 100 | 0.08 | 1.31 |
| 8 | 投保噻肟 | 5 | 0.08 | 4.87 |
| | | 20 | 0.05 | 2.86 |
| | | 100 | 0.11 | 1.35 |
| 9 | 去乙酰基头孢匹林 | 5 | 0.13 | 4.38 |
| | | 20 | 0.09 | 2.76 |
| | | 100 | 0.11 | 1.73 |

| | | | | |
|----|------|-----|------|------|
| 10 | 头孢噻肟 | 5 | 0.07 | 3.50 |
| | | 20 | 0.04 | 1.06 |
| | | 100 | 0.04 | 1.13 |

2.5 加标回收率

空白样品中加入浓度分别为 10 ng/mL 和 100 ng/mL 的混标，各浓度平行处理 2 份样品，进样分析后计算方法的回收率。结果如表 5 所示，不同浓度加标回收率分别在 61.5%~77.9% 和 67.4%~81.4% 之间，满足标准关于回收率在 60~130% 之间的要求。

表 4 保留时间和面积 RSD

| 序号 | 目标物 | 加标浓度 (ng/mL) | 加标回收率 (%) |
|----|----------|--------------|-----------|
| 1 | 头孢氨苄 | 10 | 61.8 |
| | | 100 | 70.4 |
| 2 | 头孢拉定 | 10 | 62.7 |
| | | 100 | 73.4 |
| 3 | 头孢乙腈 | 10 | 70.9 |
| | | 100 | 77.8 |
| 4 | 头孢唑林 | 10 | 63.8 |
| | | 100 | 74.2 |
| 5 | 头孢哌酮 | 10 | 70.6 |
| | | 100 | 77.9 |
| 6 | 头孢匹林 | 10 | 62.4 |
| | | 100 | 67.6 |
| 7 | 头孢洛宁 | 10 | 70.4 |
| | | 100 | 81.4 |
| 8 | 头孢唑肟 | 10 | 61.5 |
| | | 100 | 67.6 |
| 9 | 去乙酰基头孢匹林 | 10 | 66.6 |
| | | 100 | 67.4 |
| 10 | 头孢噻肟 | 10 | 73.2 |
| | | 100 | 80.1 |

■ 结论

本文参考中华人民共和国国家标准 GB 31658.4 -2021 《动物性食品中头孢类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪检测猪肉中 10 种头孢类药物残留量的方法。样品经乙腈-水、磷酸盐缓冲液提取，固相萃取柱净化后，以 LC-MS/MS 外标法定量检测其中 10 种头孢类药物的残留量。实验结果表明：该方法灵敏度高，重复性好，校准曲线线性良好，适合用作检测猪肉中的头孢类药物残留量。

岛津应用云

