

LC-MS/MS 测定饲料中海南霉素

LCMSMS-581

摘要： 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪测定饲料中海南霉素的方法，该方法可在 8.0 min 内完成对目标物的检测。海南霉素在 50.0 ng/mL~5000.0 ng/mL 浓度范围内线性良好，校准曲线线性相关系数 r 在 0.999 以上，且精密度和回收率实验结果均符合标准要求。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于饲料中海南霉素的快速检测。

关键词： 三重四极杆质谱 饲料 海南霉素

海南霉素是从我国海南岛土壤中分离的一种稠李链霉菌东方变种，培养液中提取的聚醚类抗生素，是我国 20 世纪 80 年代自主研发并审批通过的第一个一类新兽药。它对革兰氏阳性菌有抑制作用，对革兰氏阴性菌效果较差，主要用来预防和治疗家禽球虫病和作为牛羊等家畜的饲用促生长剂使用。然而，毒理学研究表明海南霉素具有一定的毒性作用，如服用含高浓度海南霉素饲料会影响动物采食和导致瘫痪，更会导致动物食品中药物残留。农业部公告第 168 号《饲

料药物添加剂使用规范》附录 1 中明确规定，海南霉素用于鸡球虫病，每 1000 kg 饲料中可添加海南霉素 500-750 g，但蛋鸡产蛋期禁用。

本文参照农业农村部公告第 197 号 -4-2019《饲料中海南霉素的测定 液相色谱 - 串联质谱法》，建立了使用 LCMSMS 测定饲料中海南霉素的测定方法。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于饲料中海南霉素的快速检测。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验使用超高效液相色谱仪 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：CBM-40

自动进样器：SIL-40C X3

输液泵：LC-40B X3 × 2

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 C18 (100 mm × 2.1 mm I.D., 2.7 μm, SGLC, P/N: 227-32009-03)

流动相：A 相 - 乙酸铵溶液 (1 mmol/L)； B 相 - 甲醇，时间程序见表 1。

流速：0.40 mL/min

柱温：40°C

进样体积：2.0 μL

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 60%

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	60
2.00	Pumps	Pump B Conc.	95
6.00	Pumps	Pump B Conc.	95
6.10	Pumps	Pump B Conc.	60
8.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源：ESI，正离子模式

离子源接口电压：4.0 kV

雾化气氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 10 L/min

加热气：空气 10 L/min

碰撞气：氩气 (230 kPa)

DL 管温度：250°C

加热模块温度：400°C

接口温度：300°C

扫描模式：多反应监测 (MRM)

MRM 参数：见表 2

驻留时间：147 msec

表 2 MRM 参数

化合物名称	监测离子对	Q1 pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
海南霉素	907.30>845.25*	-34.0	-25.0	-30.0
	907.30>863.40	-34.0	-40.0	-30.0

注：* 表示定量离子对

1.3 标准溶液的配制

准确称取 10 mg 海南霉素标准品，用乙腈配制 1.0 mg/mL 标准物质溶液，置于冰箱中 -20°C 保存，有效期 12 个月。

1.4 样品前处理方法

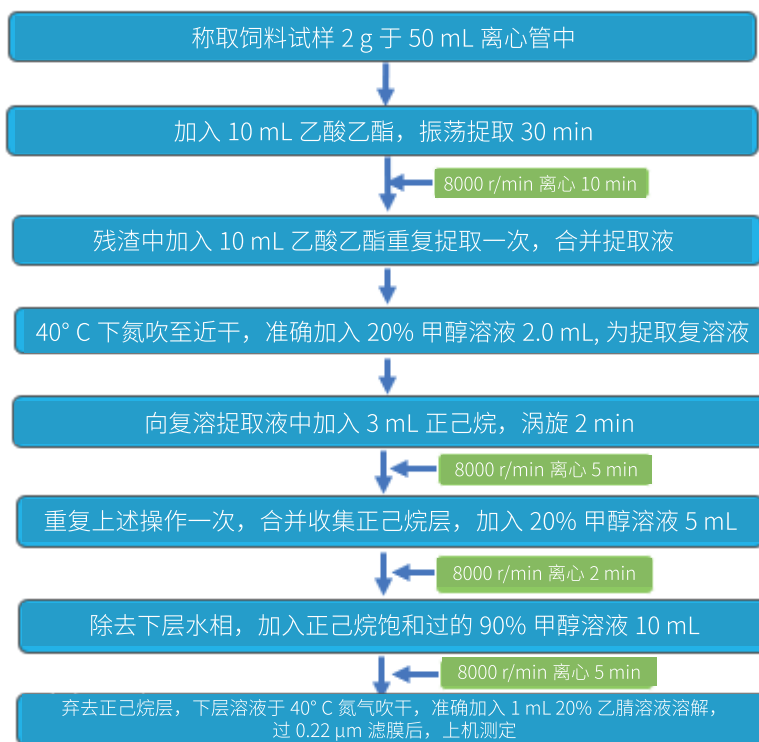


图 1 样品前处理流程图

■ 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

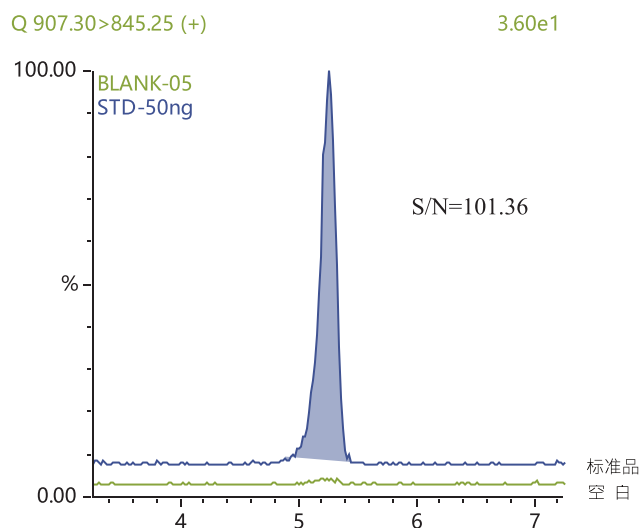


图 2 基质标准曲线中 50 ng/mL 标准品 MRM 色谱图

2.2 线性范围与检出限

取空白饲料样品溶液六份，添加海南霉素标准物质工作液，使其浓度分别为 50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、1000 ng/mL、5000 ng/mL，作为添加样品，与检材样品平行操作。以待测物特征离子峰面积为纵坐标，标准溶液浓度为横坐标，外标法绘制标准曲线。如图 3 所示，所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。

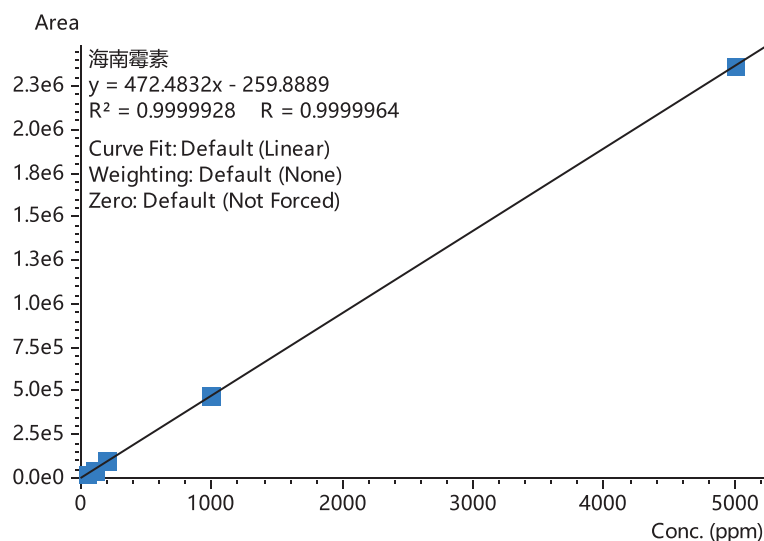


图 3 海南霉素校准曲线

表 3 标准曲线与检出限信息

化合物	R	线性范围 (ng/mL)	检出限 (μg/kg)	准确度, %
海南霉素	0.9999	50.0~5000.0	2.47	94.37-104.73

2.3 精密度

对浓度为 100 ng/mL 的海南霉素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：保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.20% 和 2.51%，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

项目	保留时间 (min)	峰面积
1	5.246	70341
2	5.252	70091
3	5.262	66747
4	5.271	71870
5	5.242	71153
6	5.254	69955
RSD(%)	0.20	2.51

2.4 回收率

称取空白饲料样品，加入海南霉素标准溶液，使加标浓度为 0.125 mg/kg。按照 1.4 样品前处理方法提取净化后，测定海南霉素的加标回收率。空白饲料样品和加标饲料样品 MRM 色谱图如图 4 所示，3 个平行样品的加标回收率均值为 99.50%，RSD 为 5.70%。

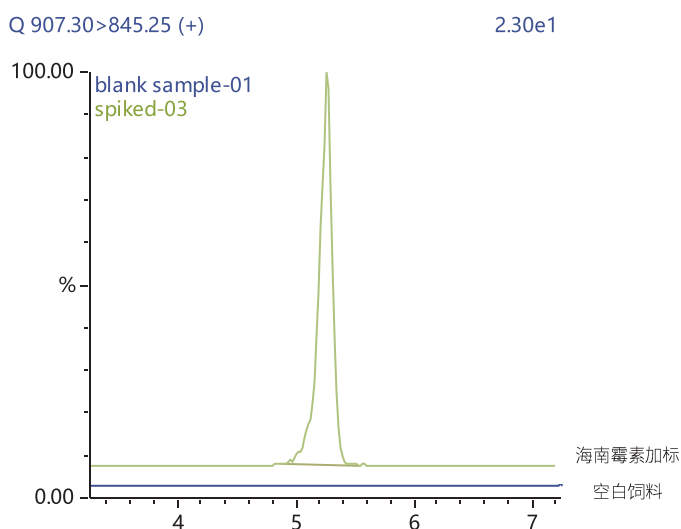


图 4 空白饲料样品和加标浓度为 0.125 mg/kg 饲料样品 MRM 色谱图

■ 结论

本文参照农业农村部公告第 197 号 -4-2019《饲料中海南霉素的测定 液相色谱 - 串联质谱法》，建立了一种使用 LCMSMS 测定饲料中海南霉素的方法，该方法可在 8.0 min 内完成对目标物的检测。海南霉素在 50.0 ng/mL~5000.0 ng/mL 浓度范围内线性良好，校准曲线线性相关系数 r 在 0.999 以上，保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.20% 和 2.51%，仪器精密度良好。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于饲料中海南霉素的快速检测。

岛津应用云

