

# LC-MS/MS 测定饲料中硫酸新霉素

## LCMSMS-580

**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硫酸新霉素的方法，该方法可在 10 min 内完成对目标物的检测。硫酸新霉素在 100.0 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，可用于饲料中硫酸新霉素的快速检测。

**关键词：**三重四极杆质谱 饲料 硫酸新霉素

硫酸新霉素为氨基糖苷类广谱抗菌素，是由链霉菌经培养发酵产生，具有抗菌谱广、抗菌能力强和吸收排泄良好等特点，水溶性好以及化学性质稳定，在临床、畜牧以及农业方面应用广泛。但是硫酸新霉素对人体有着显著的肾毒性和耳毒性副作用。滥用兽药极易造成动物源食品中有害物质的残留，这不仅会对人体健康造成直接危害，而且对畜牧业的发展和生态环境也会造成极大破坏。农业部公告第 168 号《饲料

药物添加剂使用规范》附录 2 中明确规定，所有商品饲料中不得添加硫酸新霉素。

本文参照农业农村部公告第 197 号 -3-2019 《饲料中硫酸新霉素的测定 液相色谱 - 串联质谱法》，建立了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硫酸新霉素的方法。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于饲料中硫酸新霉素的快速检测。

## ■ 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：InertSustain-AQ C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm, SGLC, Cat.No.: 5020-89939)

流动相：A 相 - 七氟丁酸溶液 (2.6 mL/L)；B 相 - 乙腈，时间程序见表 1。

流速：0.30 mL/min

柱温：40°C

进样体积：1.0 μL

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 10%

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
6.00	Pumps	Pump B Conc.	80
6.10	Pumps	Pump B Conc.	10
10.00	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：97 msec

表 2 MRM 参数

化合物名称	监测离子对	Q1 pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
	615.40>161.15*	-20.0	-29.0	-30.0
硫酸新霉素	615.40>163.10	-20.0	-33.0	-30.0
	615.40>293.25	-20.0	-23.0	-22.0

注：\* 表示定量离子对

1.3 标准溶液的配制

准确称取 10 mg 硫酸新霉素标准品，用水配制 1.0 mg/mL 标准物质溶液，置于冰箱中冷藏保存，有效期 3 个月。

1.4 样品前处理方法

(1) 提取：准确称取饲料试样 2 g 于 50 mL 离心管中，准确加入 20 mL 磷酸盐缓冲溶液（含 0.15 g/L EDTA 和 20 g/L 三氯乙酸溶液），振荡提取 20 min，以 8000 r/min 离心 5 min，准确吸取上清液 5 mL，加入七氟丁酸溶液（13 mL/L）1 mL，混匀，作为备用液。

(2) 净化：固相萃取柱 (C18, 500 mg/3 mL) 依次用 3 mL 甲醇、3 mL 水、3 mL 七氟丁酸溶液 (2.6 mL/L) 活化，备用液全部过柱，用 3 mL 水淋洗，抽干，用 4 mL 洗脱液洗脱，洗脱液 40°C 氮吹至近干，用 1 mL 七氟丁酸溶液 (2.6 mL/L) 溶解，过 0.22 μm 滤膜后，上机测定。

■ 结果讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

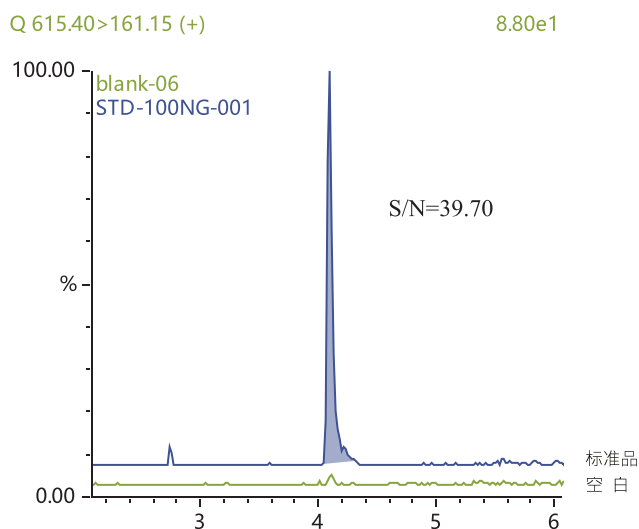


图 1 基质标准曲线中 100 ng/mL 标准品 MRM 色谱图

## 2.2 线性范围与检出限

取空白饲料样品溶液六份，添加硫酸新霉素标准物质工作液，使其浓度分别为 100 ng/mL、200 ng/mL、500 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 2 所示。根据检出限 MDL = 3.3 S/N，计算检出限，所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。

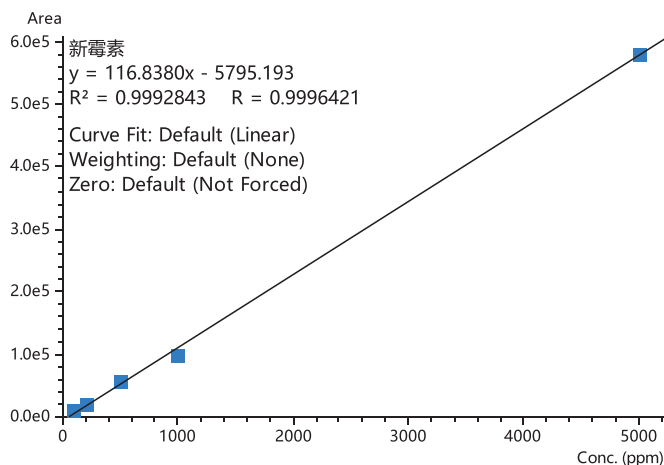


图 2 硫酸新霉素校准曲线

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 (mg/kg)	准确度, %
硫酸新霉素	0.9996	100.0~5000.0	0.05	90.18-126.33

## 2.3 精密度

对浓度为 200 ng/mL 的硫酸新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 0.06% 和 2.53%，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

#	保留时间 (min)	峰面积
1	4.094	17187
2	4.092	17639
3	4.086	16959
4	4.092	16454
5	4.090	16589
6	4.093	17123
RSD(%)	0.06	2.53

## 2.4 回收率

称取空白饲料样品，加入硫酸新霉素标准溶液，使加标浓度为 1.0 mg/kg。按照 1.4 样品前处理方法提取净化后，测定硫酸新霉素的加标回收率。空白饲料样品和加标饲料样品 MRM 色谱图如图 3 所示，平行 3 次测试，平均加标回收率为 92.25%，RSD=5.05%。

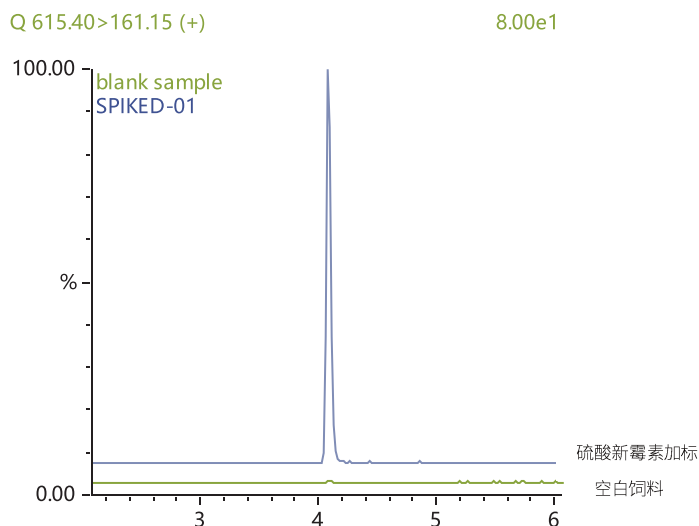


图3 空白饲料样品和加标浓度为 1.0 mg/kg 饲料样品 MRM 色谱图

## ■ 结论

本文参照农业农村部公告第 197 号 -3-2019《饲料中硫酸新霉素的测定 液相色谱 - 串联质谱法》，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测定饲料中硫酸新霉素的方法，该方法可在 10 min 内完成对目标物的检测。硫酸新霉素在 100.0 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 0.06% 和 2.53%，仪器精密度良好。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于饲料中硫酸新霉素的快速检测。

岛津应用云

