

LC-MS/MS 法测定鱼肉中水杨酸残留量

LCMSMS-993

摘要： 本文使用岛津三重四极杆液质联用仪，开发了鱼肉中水杨酸残留量的分析方法。水杨酸在 2~200 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性关系良好，相关系数 r 大于 0.9998；4 和 40 $\mu\text{g/L}$ 标准溶液连续进样 6 次，水杨酸的保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.05%~0.17% 和 0.77%~2.28% 之间，仪器精密度良好；加标浓度为 10 和 100 $\mu\text{g/kg}$ 的样品，水杨酸的回收率在 82.6~86.8% 之间。

关键词： 三重四极杆液相色谱质谱联用仪 鱼肉 水杨酸

技术特点：

- ❖ 使用“Co-injection”功能，将 100 $\mu\text{g/L}$ 内标溶液作为共同注入试剂与标准溶液同时进样，制作校准曲线，操作简单且准确；
- ❖ 方法定量限为 0.53 $\mu\text{g/kg}$ ，优于标准规定的定量限 -10 $\mu\text{g/kg}$ 。

水杨酸存在于多种植物中（尤其是柳树树皮），是一种天然的消炎药，其在医药、化妆品和食品等领域应用广泛。

在食品领域，《GB 31650-2019 食品中兽药最大残留限量》将水杨酸归类于“允许用于动物食品，不需要制定残留限量的兽药”，但该标准同时对其使用范围进行了限制，其明确规定水杨酸可用于“除鱼外所有动物食品”。

本文参照《食品安全国家标准 鱼可食性组织中水杨酸的测定 液相色谱 - 串联质谱法（征求意见稿）》，使用岛津三重四极杆液相色谱质谱联用仪 LCMS-8045，建立了鱼肉中水杨酸残留量的测定方法：以 5% 甲酸乙腈溶液提取样品中的水杨酸，增强型脂质去除固相萃取柱净化提取液，内标法定量检测。该方法简单灵敏，准确度高，适合鱼肉中水杨酸残留量的测定。

■ 实验条件

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 Nexera LC-40B X3 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置如下：

系统控制器：	SCL-40	自动进样器：	SIL-40C X3
输液泵：	LC-40B X3	在线脱气机：	DGU-405
柱温箱：	CTO-40C	质谱仪：	LCMS-8045
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.120		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：	Shim-pack GISS C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm) (岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30048-02)		
流动相：	A 相 -0.1% 甲酸水溶液；B 相 -0.1% 甲酸乙腈溶液		
柱温：	40°C	流速：	0.4 mL/min
进样体积：	10 μL		
洗脱方式：	梯度洗脱，初始浓度为 B 相 10%，时间程序见表 1		

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	Command	Value
0.40	泵	B. Conc	10
3.90	泵	B. Conc	60
4.00	泵	B. Conc	95
5.70	泵	B. Conc	95
5.80	泵	B. Conc	10
8.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子源 : ESI-	DL 管 温度 : 200°C
碰撞气 : 氩气 (230 kPa)	加热模块温度 : 400°C
雾化气 : 氮气 3.0 L/min	接口温度 : 350°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
接口电压 : -3 kV	

表 2 MRM 参数

No	化合物	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	Q1 Pre Bais (V)	CE (V)	Q3 Pre Bais (V)
1	水杨酸	137.0	93.0*	23.0	17.0	10.0
			65.0	20.0	29.0	23.0
2	水杨酸 -D4	141.0	97.0	24.0	18.0	17.0

* 表示定量离子

1.3 标准工作液的制备

(1) 将浓度为 100 µg/mL 的水杨酸和水杨酸 -D4 贮备液, 分别以乙腈稀释得 1 µg/mL 的工作液;

(2) 1 µg/mL 的内标工作液以乙腈稀释 10 倍, 得 100 µg/L 的内标溶液, 作为共同注入试剂在制作内标法校准曲线时使用。

1.4 样品前处理

(1) 提取: 称取试料 (2 ± 0.05)g, 置于 50 mL 离心管中, 加入 40 mL 内标工作液 (1 µg/mL), 加入 5% 甲酸乙腈溶液 10 mL, 涡旋混合 1 min, 振荡提取 5 min, 4°C 下 10000 r/min 离心 5 min, 取上清液备用。

(2) 净化: 将增强型脂质去除固相萃取柱安装到预先清洁过的真空萃取装置上, 直接取 5 mL 上清液通过小柱, 保持自然流速, 收集全部流出液。40°C 水浴氮吹至近干, 加入 0.1% 甲酸水溶液 1 mL 溶解残余物, 涡旋混匀, 以 0.22 µm PTFE 滤膜过滤, 滤液上机测试。

■ 结果与讨论

2.1 标准溶液 MRM 色谱图与灵敏度

2 µg/L 水杨酸标准溶液和内标溶液 MRM 色谱图如图 1 所示。该浓度下水杨酸定量离子色谱峰 S/N=37.5, 以 S/N=10 计算仪器定量限为 0.53 µg/L, 换算可得方法定量限为 0.53 µg/kg, 灵敏度优于标准规定的定量限 -10 µg/kg。

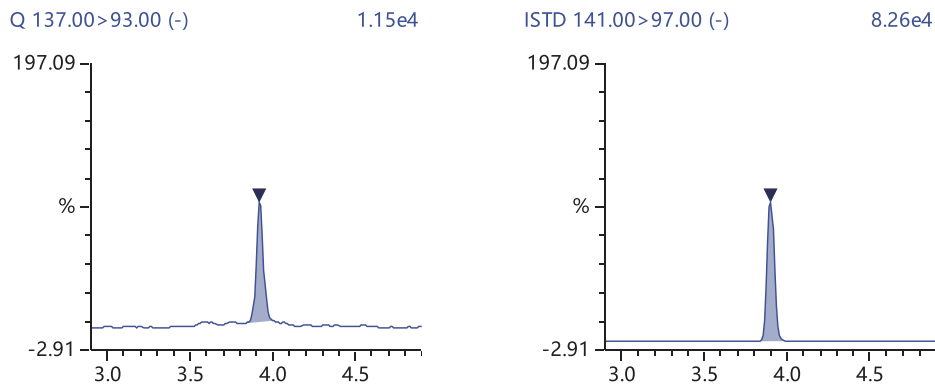


图1 2 µg/L 水杨酸标准溶液 MRM 色谱图 (内标 20 µg/L)

2.2 校准曲线

精密量取适量水杨酸标准工作液，用 0.1% 甲酸水溶液稀释配制成浓度为 2、4、10、20、40、100 和 200 µg/L 的系列标准溶液。使用 “Co-injection” 功能，以 100 µg/L 内标溶液 (2 µL) 作为共同注入试剂，与标准溶液同时进样分析，制作内标法校准曲线。内标峰面积重复性、校准曲线线性和准确度良好，具体结果见表 3。

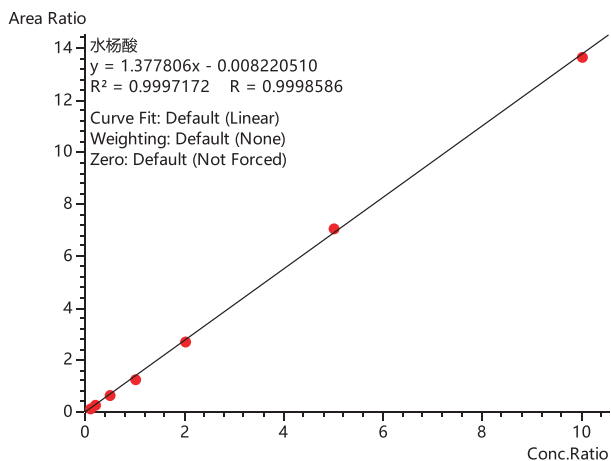


图2 校准曲线

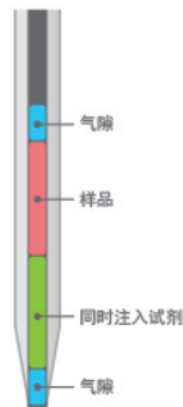


图3 Co-injection 进样模式

表3 校准曲线信息

化合物	校准曲线	相关系数 R	准确度 %	内标峰面积 RSD(%)
水杨酸	$y = 1.3778x - 0.0082$	>0.9998	91.8~108.2	4.24

2.3 重复性实验

浓度为 4 和 40 µg/L 的标准溶液连续测定 6 次，考察仪器的精密度。不同浓度样品中待测物保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05%~0.17% 和 0.77%~2.28% 之间，仪器精密度良好。

表4 水杨酸保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

化合物	RSD(% , 4 µg/L)		RSD(% , 40 µg/L)	
	R.T	Area	R.T	Area
水杨酸	0.17	2.28	0.05	0.77

2.4 加标回收率

在未检出水杨酸的鱼肉中加入水杨酸和内标,加标浓度分别为10和100 $\mu\text{g}/\text{kg}$,样品经提取及净化后,按照1.2中的分析条件测定化合物的加标回收率,平行测定3次,其回收率在82.6~86.8%之间,具体结果见表5。

表5 鱼肉中水杨酸加标回收测定结果

化合物	加标浓度 (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)		加标浓度 (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	
	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
水杨酸	82.6	6.6	86.8	4.2

■ 结论

本文使用岛津三重四极杆液质联用仪,建立了鱼肉中水杨酸残留量的分析方法。该方法简单灵敏,准确度高,适合鱼肉中水杨酸残留量的测定。

岛津应用云

