

LC-MS/MS 检测虾肉中利福平残留量

LCMSMS-829

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仪测定虾肉中利福平残留量的方法。利福平在 0.5~20.0 ng/mL 浓度范围内线性良好, 相关系数 r 在 0.999 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 0.08%~0.10% 和 2.08%~3.94% 之间, 仪器精密度良好。加标浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品, 平均回收率 ($n=3$) 为 75.73%。该方法灵敏度高, 分析时间短, 结果准确, 可用于水产品中利福平残留量的准确检测。

关键词: 三重四极杆液质联用仪 虾肉 利福平

技术特点:

- ❖ 满足《食品安全国家标准 水产品中利福平残留量》报批稿的测定要求;
- ❖ 减小进样量的条件下, 依然满足标准要求, 灵敏度更高。

利福平是一种广谱抗生素药物, 对革兰氏细菌以及金黄色葡萄球菌等均有较好的疗效, 但该药物未被批准为动物用药。因其价格低廉, 在水产养殖以及运输流通环节中, 易被用作非法添加药物来使用。利福平耐药性好, 容易通过食物链在人体内富集, 对消费者的生命健康造成不良的影响。

本文参照《食品安全国家标准 水产品中利福平残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》报批稿, 建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪测定虾肉中利福平的方法。该方法灵敏度高, 分析时间短, 结果准确, 可用于水产品中利福平的准确检测。

实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40D X3 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 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-40D X3 x2	质谱仪 : LCMS-8050
柱温箱 : CTO-40C	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)	
流动相 : A 相 -0.1%甲酸溶液, B 相 -0.1%甲酸乙腈溶液	
柱温 : 40°C	流速 : 0.3 mL/min
洗脱方式 : 梯度洗脱, 初始浓度为 B 相 30%,	进样体积 : 2 μL

时间程序见表 1

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
0.20	Pumps	Pump B Conc.	30
1.00	Pumps	Pump B Conc.	90
2.00	Pumps	Pump B Conc.	90
2.10	Pumps	Pump B Conc.	30
7.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源：	ESI, 正离子模式	DL管温度：	200℃
接口电压：	3 kV	加热模块温度：	400℃
雾化气：	氮气 3.0 L/min	接口温度：	300℃
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 Bais(V)	CE (V)	Q3 Pre Bais(V)
1	利福平	C ₄₃ H ₅₈ N ₄ O ₁₂	13292-46-1	823.50	791.40*	-20.0	-20.0	-30.0
					399.05	-20.0	-27.0	-28.0
2	利福平-D ₈	C ₄₃ H ₅₀ D ₈ N ₄ O ₁₂	/	831.50	799.35	-22.0	-19.0	-30.0

* 表示定量离子

■ 样品前处理

参考《食品安全国家标准 水产品中利福平残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》报批稿中 8.1 和 8.2 样品提取与净化的方法。

■ 结果与讨论

3.1 利福平标准溶液谱图

图 1 为 0.5 ng/mL 利福平的 MRM 色谱图，色谱峰分离良好，通道无干扰。

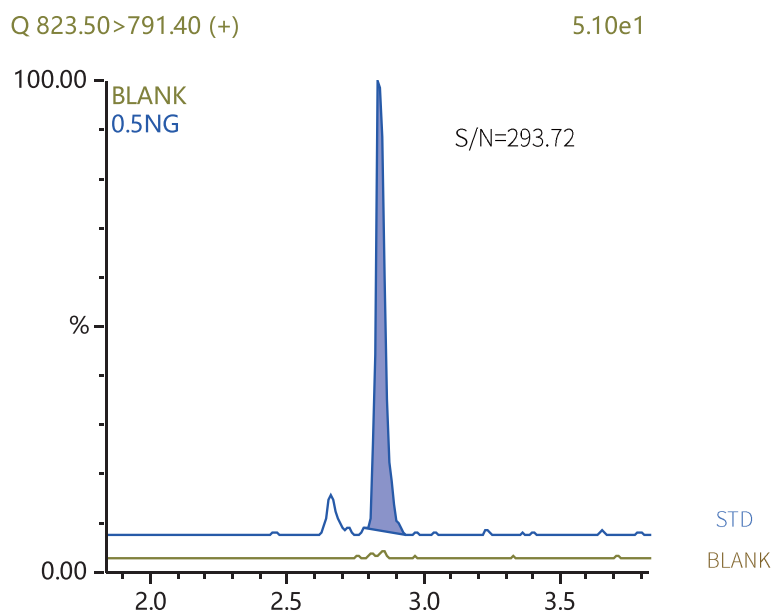


图 1 利福平标准溶液质量色谱图

3.2 校准曲线和检出限

精密量取利福平标准溶液适量，用乙腈稀释成含利福平浓度分别为 0.5、1、2、5、10 和 20 ng/mL 的标准溶液，以特征离子峰面积比值为纵坐标，对应浓度比值为横坐标，绘制校准曲线如图 2 所示。根据 0.5 ng/mL 标样数据，以 3.3 倍信噪比计算利福平的检出限，检出限以及线性相关系数如表 3 所示。

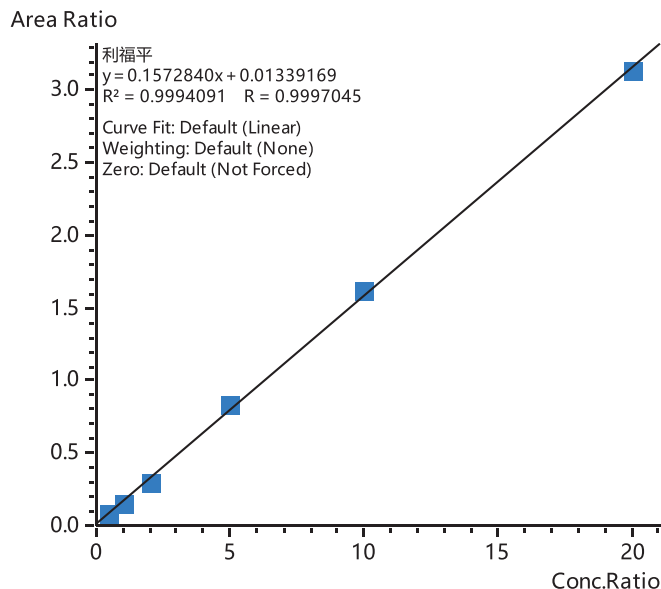


图 2 利福平标准曲线

表 3 利福平校准曲线及检出限

化合物	校准曲线	相关系数 R	准确度 %	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
利福平	$Y=(0.1572840)X+(0.01339169)$	0.9997	90.1~103.8	0.0028

3.3 重复性实验

取 0.5、2 和 10 ng/mL 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 利福平保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

化合物	RSD% (0.5 ng/mL)		RSD% (2 ng/mL)		RSD% (10 ng/mL)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
利福平	0.10	3.94	0.08	2.62	0.09	2.08

3.4 加标回收率

取空白虾肉 2 g，加入利福平工作液，使加标浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，样品经提取及净化后，按照 1.2 中的分析条件测定利福平的加标回收率，平行测定 3 次。利福平的平均回收率为 75.73%，具体结果见表 5。

表 5 利福平回收率结果 (n=3)

化合物	加标量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	测定量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 %	平均回收率 %	回收率 RSD(%)
利福平	1	0.7905	79.05	75.73	4.45
		0.7585	75.85		
		0.7230	72.30		

■ 结论

依据国家标准《食品安全国家标准 水产品中利福平残留量 液相色谱 - 串联质谱法》报批稿，建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪测定虾肉中利福平残留量的方法。利福平在 0.5 ng/mL~20 ng/mL 浓度范围内线性良好，相关系数 r 在 0.999 以上。加标浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品，平均回收率 ($n=3$) 为 75.73%。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于水产品中利福平的准确检测。

岛津应用云

