

三重四极杆质谱测定乳制品中呋喃苯烯酸钠残留量

LCMSMS-144

摘要：本文建立了岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 测定乳制品中呋喃苯烯酸钠残留量的分析方法。样品采用乙腈提取，正己烷萃取净化，采用 MRM 多反应监测进行定性定量分析。采用乳制品空白基质配制呋喃苯烯酸钠标准工作溶液，以外标法定量，在 1~100 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内，校准曲线线性良好。对呋喃苯烯酸钠标准品低、中、高浓度进行系统稳定性考察，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07 %~0.107 % 和 0.98 %~1.51 % 之间系统精密度高。考察牛奶样品分析及加标实验，1 $\mu\text{g/kg}$ 呋喃苯烯酸钠加标样的回收率为 86.4 %。

关键词：呋喃苯烯酸钠 乳制品 三重四极杆质谱

呋喃苯烯酸钠 (Sodium nifurstylenate, CAS#54992-23-3)，属于硝基呋喃类药物，是人工合成的一种广谱抗菌药物，主要用于动物和鱼类的细菌预防和治疗中，有良好的效果。但是，世界卫生组织和联合国粮农组织联合报道硝基呋喃类药物具有潜在的致突变和致癌性。为保护消费者的健康，世界各国纷纷禁止硝基呋喃类药物在食品动物上的使用。然而，这些药物的违法使用现象仍然存在。

目前，国内外色谱法对呋喃苯烯酸钠残留检测主要采用 HPLC-UV 作为检测手段，而 HPLC 法由于检测灵敏度低、前处理操作繁琐费时，不能满足进出口贸易中

各国对呋喃苯烯酸钠残留限量要求。

因此，为保证我国有关食品的进出口贸易，促进呋喃苯烯酸钠残留监控工作的顺利开展，建立一种快速简便、灵敏度高、准确度好的检测方法势在必行。

本文使用岛津 LCMS-8040 三重四极杆质谱，参考《SN/T 2451-2010 动物源性食品中呋喃苯烯酸钠残留量检测方法 液相色谱 - 质谱 / 质谱法》，建立了 UHPLC-MS/MS 法检测乳制品中呋喃苯烯酸钠残留。采用乙腈提取，正己烷萃取净化，方法简便、快速，可用于乳制品进出口样品的监控和检测。

实验部分

1.1 仪器

实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为：LC-30AD \times 2 输液泵，DGU-20A₅ 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.53 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODSIII 2.0 mmL

D. \times 50 mmL., 1.6 μm

流速：0.2 mL/min

进样体积：5 μL

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

流动相：A-0.1 % 甲酸水；B- 乙腈

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度 45 %，梯度洗脱见表 1。

表1 梯度洗脱程序

Time (min)	B.Con c.
0.50	45
1.00	80
2.50	80
2.51	45
5.00	Stop

质谱条件

分析仪器: LCMS-8040

离子源: ESI, 负离子扫描

离子源接口电压: 4.5 kV

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 20 L/min

碰撞气: 氩气

脱溶剂管温度: 250°C

加热模块温度: 450°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

驻留时间: 150 ms

延迟时间: 3 ms

MRM 参数: 见表 2

表2 MRM 参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q ₁ Pre Bias (V)	CE (V)	Q ₃ Pre Bias (V)
呋喃苯烯酸钠	258.00	214.05*	13.0	12.0	21.0
		184.05	13.0	17.0	18.0

*表示定量离子

1.3 样品制备

1.3.1 样品前处理方法

参考《SN/T 2451-2010 动物源性食品中呋喃苯烯酸钠残留量检测方法 液相色谱 - 质谱 / 质谱法》前处理方法。

称取约 5 g 牛奶试样, 置于 50 mL 聚丙烯具塞离心管中, 加入 5 g 无水硫酸钠混匀后, 加入 25 mL 乙腈, 涡旋混匀 30 s, 超声提取 5 min, 于 4000 r/min 离心 5 min。上清液转移至 50 mL 容量瓶中。残渣依上述方法再提取一次, 合并上清液, 混匀后用乙腈定容至 50 mL。移取 10 mL 提取液, 于 40°C 氮气吹至近干, 加入 1.0 mL 0.1% 甲酸溶液 + 乙腈 (4:1) 溶液涡旋 30 s 溶解残渣。

向溶液中加入 3 mL 乙腈饱和正己烷, 震荡后静置分层, 取下层溶液于 9500 rpm 离心 5 min, 过滤上机测试。

1.3.2 标准溶液配制

用甲醇配制 10 mg/L 的混合标准中间溶液, 用乳制品空白基质溶液稀释成浓度为 1, 10, 25, 50, 100 μg/L 标准工作液。

结果讨论

2.1 呋喃苯烯酸钠标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

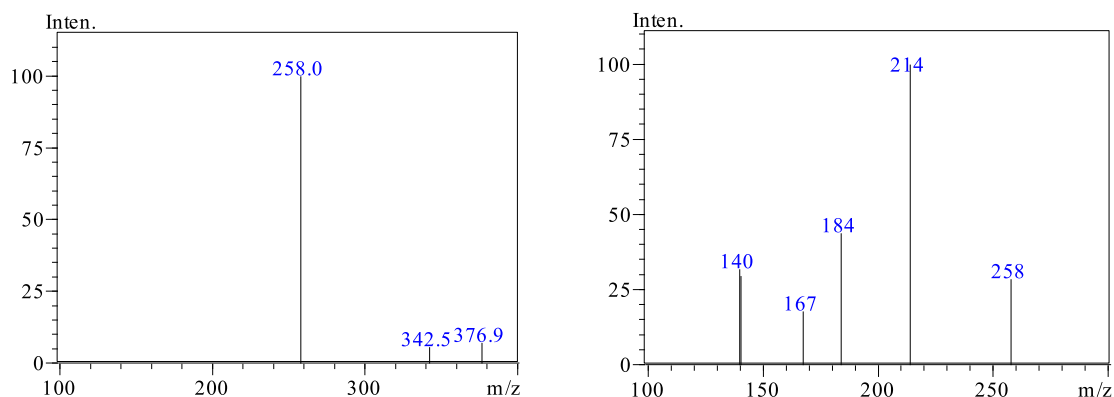


图1 呋喃苯烯酸钠的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (CE 值为 15V) (右图)

2.2 标准溶液的 MRM 色谱图

呋喃苯烯酸钠标准溶液 MRM 色谱图如图 2 所示。

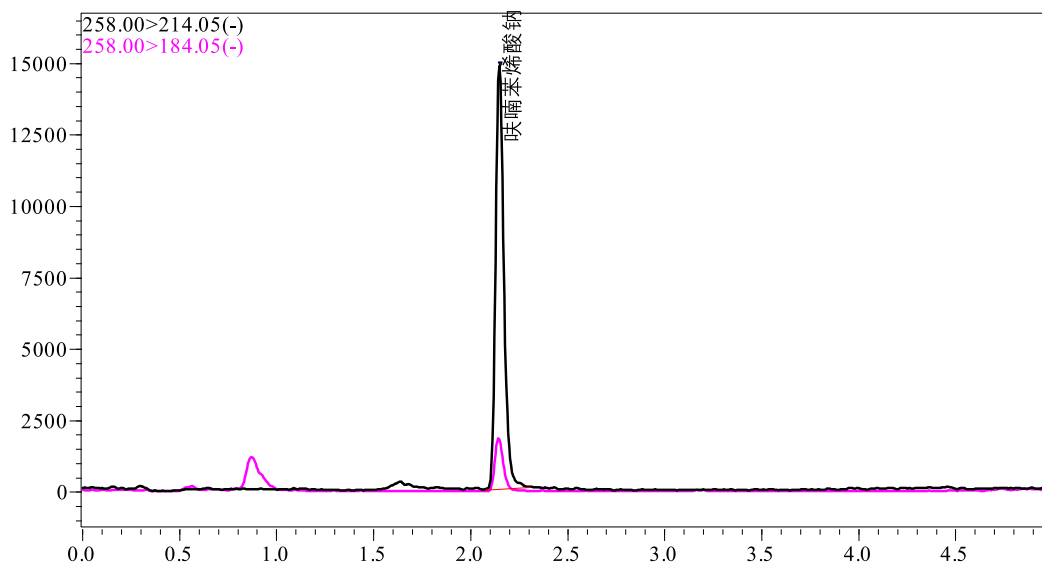


图2 呋喃苯烯酸钠 1 μg/L 标准溶液的 MRM 色谱图

2.3 线性关系

按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，以 1, 10, 25, 50, 100 μg/L 标准工作液浓度点，采用外标法建立校准曲线，如图 3 所示呋喃苯烯酸钠在线性浓度范围内，线性相关性良好，相关系数为 0.9993。

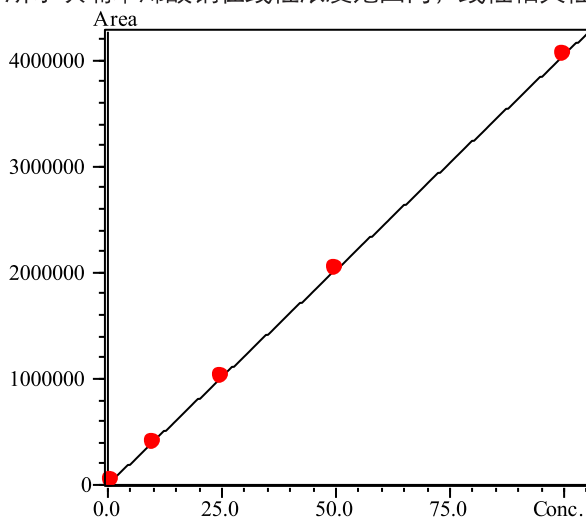


图3 呋喃苯烯酸钠校准曲线

表3 呋喃苯烯酸钠的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	线性范围 (μg/L)	相关系数 (R)
1	呋喃苯烯酸钠	$Y = (40451.8)X + 2490.94$	1.0-100	0.9999

2.4 检出限和定量限

配制 7 份 1 μg/L 标准溶液，进样分析，对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算其标准偏差 S，此时检出限 MDL = 3.14×S，定量限 LOQ=4×MDL。测定结果如表 4 所示：

表4 呋喃苯烯酸钠的检出限和定量限

名称	浓度 (ug/L)	标准偏差(S)	检出限 (ug/L)	定量限 (ug/L)
呋喃苯烯酸钠	1.0	0.011	0.035	0.14

2.5 精密度实验

配制低中高浓度的混合标样依次平行测定 6 次, 呋喃苯烯酸钠的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07 %~0.107 % 和 0.98 %~1.51 % 之间, 结果表明系统具有良好的精密度。

表5 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% (1 μg/L)		RSD% (25 μg/L)		RSD% (100 μg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
呋喃苯烯酸钠	0.107	0.98	0.07	1.19	0.091	1.51

2.6 实际样品分析及回收率实验

将所建立的分析方法用于实际样品分析, 检测牛奶样品, 未检测到呋喃苯烯酸钠。图4为牛奶样品的MRM色谱图。在牛奶样品中添加浓度为 1.0 μg/kg 的混合标准溶液, 加标样品 MRM 色谱图如图5所示, 加标回收率结果见表6。

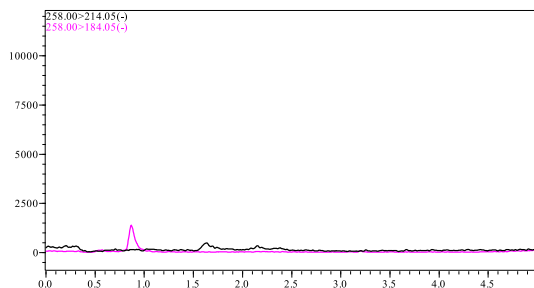


图4 牛奶样品的呋喃苯烯酸钠 MRM 色谱图

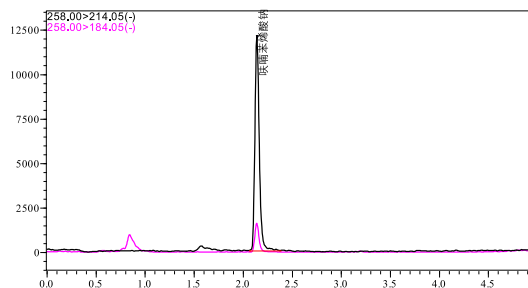


图5 1.0 μg/kg 呋喃苯烯酸钠基质加标 MRM 色谱图

表6 牛奶样品呋喃苯烯酸钠检测与加标回收结果

编号	名称	检测浓度 (μg/kg)	理论浓度 (μg/kg)	实测浓度 (μg/kg)	回收率 (%)
1	呋喃苯烯酸钠	N.D.	1.0	0.864	86.4

注: N.D.表示未检出

结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 测定乳制品中呋喃苯烯酸钠残留量的分析方法。呋喃苯烯酸钠在 1~100 μg/L 线性范围内线性良好, 相关系数达到 0.9999。对低中高不同浓度的混合标准溶液进行精密度实验, 连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差在 0.07 %~0.107 % 和 0.98 %~1.51 % 之间, 仪器精密度良好。考察牛奶样品分析及加标实验, 呋喃苯烯酸钠的回收率范围为 86.4 %, 可以满足乳制品中呋喃苯烯酸钠残留量的检测需求。