

# LCMS-8050 测定牛奶中磺胺类药物残留

## LCMSMS-175

**摘要：** 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用测定牛奶中磺胺类药物残留量的方法。24 种磺胺类药物的线性良好，判定系数均大于 0.994；精密度实验结果表明：其保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.01~0.35 % 和 0.39~3.68 % 之间，仪器精密度良好；其仪器检出限为 0.001~0.008 ng/mL，定量限为 0.003~0.028 ng/mL；样品加标回收率在 90.1~106.9 % 之间。借助超高效液相色谱 LC-30A 在 10 min 内实现 24 种化合物快速分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 进行定量分析，因此可以快速、准确地测定牛奶中 24 种磺胺类药物残留。

**关键词：** 磺胺牛奶超高效液相色谱仪三重四极杆质谱仪

磺胺类药物是人工合成的广谱抑菌药物，对大多数革兰氏阳性和许多革兰氏阴性细菌有效。磺胺类药物的基本结构为对氨基苯磺酰胺结构，与对氨基苯甲酸结构相似，二者竞争性地与二氢叶酸合成酶作用，阻碍微生物生长所必需的物质叶酸的合成，进而使核糖核酸的合成发生障碍，使细菌的生长繁殖受到抑制。长期摄入磺胺类药物有促进动物生长的作用，所以磺胺类药物也用作动物饲料添加剂。由于磺胺类药物抗菌谱广，价格低

廉，化学性质稳定，使用方便，目前广泛用于预防和治疗食源性动物疾病。然而过量使用磺胺类药物以及该药物在体内残留会引起人类严重的健康问题（如产生耐药性、过敏或毒性反应等），因此欧盟和许多国家对一些磺胺类药物在动物源性食品中的最大残留限量均有明确规定。本文参考《农业部 781 号公告 -12-2006 和国家食品安全风险评估中心内部资料》建立了一种快速灵敏的牛奶中 24 种磺胺类药物的检测方法。

### 实验部分

#### 1.1 仪器

本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-8050 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2（输液泵），DGU-20A<sub>SR</sub>（在线脱气机），SIL-30AC（自动进样器），CTO-30AC（柱温箱），CBM-20A 系统控制器，LCMS-8050 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.60 SP2 色谱工作站。

#### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱：Shim-pack XR-ODS III 2.0 mmI.D.×75 mmL., 1.6 μm

流动相：A：水（0.1 % 甲酸）

B：甲醇

流速：0.3 mL/min

柱温：40℃

洗脱方式：梯度洗脱，初始比例 10 %B

表1 通用梯度洗脱程序

Time (min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	10
1.10	Pumps	Pump B Conc.	30
5.00	Pumps	Pump B Conc.	30
7.00	Pumps	Pump B Conc.	95
10.00	Pumps	Pump B Conc.	95
10.01	Pumps	Pump B Conc.	10
14.00	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器：LCMS-8050

离子源：ESI

雾化气流速：3.0 L/min

加热气流速：10.0 L/min

接口温度：300°C

DL 温度：250°C

加热模块温度：400°C

干燥气流速：10.0 L/min

扫描模式：多反应监测 (MRM)

MRM 参数见表 3

表2 化合物信息

编号	中文名称	英文名称	英文简称	CAS
1	磺胺胍	Sulfaguanidine	SGN	6190-55-2
2	甲氧苄胺嘧啶	Trimethoprim	TMP	738-70-5
3	磺胺醋酰	Sulfacetamide	SAA	144-80-9
4	磺胺噻唑	Sulfathiazole	STZ	72-14-0
5	磺胺吡啶	Sulfapyridine	SPD	144-83-2
6	磺胺嘧啶	Sulfadiazine	SDZ	68-35-9
7	磺胺甲嘧啶	Sulfamerazine	SMR	127-79-7
8	磺胺二甲嘧啶	Sulfadimidine	SDM	57-68-1
9	磺胺索嘧啶	Sulfisomidine	SIM	515-64-0
10	磺胺对甲氧嘧啶	Sulfamethoxydiazine	SMD	651-06-9
11	磺胺间甲氧嘧啶	Sulfamonomethoxine	SMM	1220-83-3
12	磺胺恶唑	Sulfamoxole	SMO	729-99-7
13	磺胺异恶唑	Sulfafurazole	SFZ	127-69-5
14	磺胺甲恶唑	Sulfamethoxazole	SMZ	723-46-6
15	磺胺甲基硫二噻	Sulfamethizole	SMT	144-82-1
16	磺胺喹啉	Sulfaquinoxaline	SQX	967-80-6
17	磺胺氯吡嗪	Sulfachloropyrazine	SPZ	102-65-8
18	磺胺氯吡嗪	Sulfachloropyridazine	SCP	80-32-0
19	磺胺甲氧嘧啶	Sulfamethoxypyridazine	SMP	80-35-3
20	磺胺地索辛	Sulfadimethoxine	SDT	122-11-2
21	磺胺多辛	Sulfadoxine	SDX	244757-6
22	磺胺苯酰	Sulfabenzamide	SBA	127-71-9
23	磺胺苯吡唑	Sulfaphenazole	SPA	526-08-9
24	磺胺硝苯	Sulfanitran	SAN	122-16-7

表3 MRM 参数

序号	化合物	极性	前体离子	产物离子	Q1Pre Bias(V)	CE	Q3Pre Bias(V)
1	SGN	+	215.05	156.05*	-30.0	-14.0	-30.0
				108.10	-30.0	-22.0	-20.0
2	SAA	+	215.00	156.00*	-24.0	-11.0	-30.0
				108.05	-24.0	-19.0	-20.0
3	SDZ	+	251.10	156.05*	-13.0	-15.0	-29.0
				108.10	-13.0	-22.0	-21.0
4	SIM	+	279.10	124.10*	-14.0	-22.0	-23.0
				186.05	-14.0	-17.0	-20.0

5	STZ	+	256.05	156.05 <sup>*</sup>	-30.0	-15.0	-30.0
				108.05	-30.0	-23.0	-20.0
6	SPD	+	250.10	156.05 <sup>*</sup>	-30.0	-16.0	-30.0
				184.10	-30.0	-17.0	-20.0
7	SMR	+	265.10	156.05 <sup>*</sup>	-30.0	-17.0	-29.0
				172.10	-30.0	-16.0	-19.0
8	SMD	+	281.05	156.05 <sup>*</sup>	-30.0	-17.0	-29.0
				108.10	-30.0	-26.0	-21.0
9	SMO	+	268.10	156.05 <sup>*</sup>	-30.0	-15.0	-29.0
				113.10	-30.0	-22.0	-21.0
10	SMT	+	271.10	156.05 <sup>*</sup>	-14.0	-14.0	-30.0
				108.05	-14.0	-23.0	-20.0
11	SDM	+	279.10	186.10 <sup>*</sup>	-30.0	-17.0	-20.0
				156.05	-30.0	-19.0	-29.0
12	TMP	+	291.15	230.15 <sup>*</sup>	-30.0	-24.0	-25.0
				261.15	-30.0	-26.0	-29.0
13	SMP	+	281.05	156.05 <sup>*</sup>	-30.0	-17.0	-29.0
				108.10	-30.0	-26.0	-20.0
14	SCP	+	285.00	156.05 <sup>*</sup>	-15.0	-16.0	-29.0
				108.10	-15.0	-24.0	-20.0
15	SMZ	+	254.10	156.05 <sup>*</sup>	-30.0	-15.0	-30.0
				108.10	-30.0	-23.0	-20.0
16	SMM	+	281.05	156.00 <sup>*</sup>	-30.0	-18.0	-30.0
				108.10	-30.0	-27.0	-21.0
17	SBA	+	277.10	156.05 <sup>*</sup>	-15.0	-13.0	-29.0
				108.10	-15.0	-23.0	-20.0
18	SDX	+	311.10	156.05 <sup>*</sup>	-22.0	-18.0	-29.0
				108.10	-30.0	-26.0	-20.0
19	SFZ	+	268.10	156.05 <sup>*</sup>	-30.0	-13.0	-30.0
				113.10	-30.0	-16.0	-21.0
20	SPZ	+	285.00	156.05 <sup>*</sup>	-15.0	-17.0	-30.0
				108.10	-15.0	-26.0	-20.0
21	SPA	+	315.10	158.10 <sup>*</sup>	-30.0	-28.0	-30.0
				156.05	-30.0	-21.0	-30.0
22	SDT	+	311.10	156.05 <sup>*</sup>	-30.0	-21.0	-30.0
				108.05	-30.0	-28.0	-20.0
23	SQX	+	301.05	156.05 <sup>*</sup>	-16.0	-17.0	-29.0
				108.10	-16.0	-27.0	-21.0
24	SAN	-	334.05	136.00 <sup>*</sup>	15.0	29.0	22.0
				270.00	15.0	24.0	26.0

\*表示定量离子

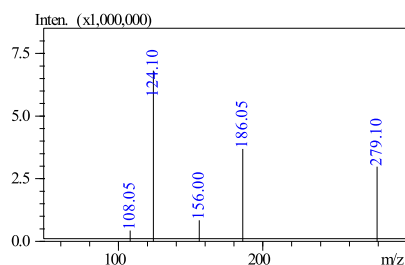
### 1.3 样品制备

标准溶液配制：用甲醇配制 10 $\mu$ g/mL 的混合标准贮备液，用甲醇 + 水溶液 (V/V, 10:90) 逐步稀释成 0.05、0.1、0.5、1、5、10 和 50 ng/mL 不同浓度的混合标准工作液。

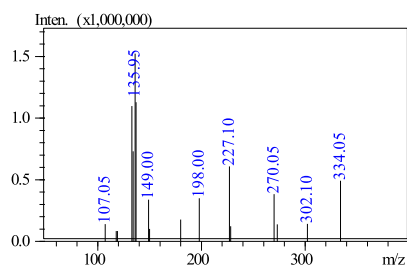
样品前处理方法：具体参考《农业部 781 号公告 -12-2006 和动物源性食品中 45 种抗生素药物残留检测方法》。

## ■ 结果讨论

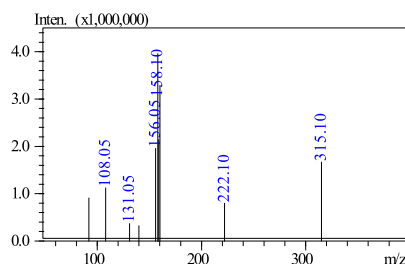
### 2.1 标准样品产物离子扫描质谱图



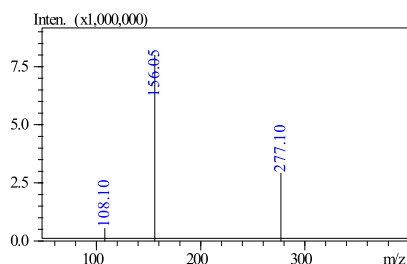
SIM



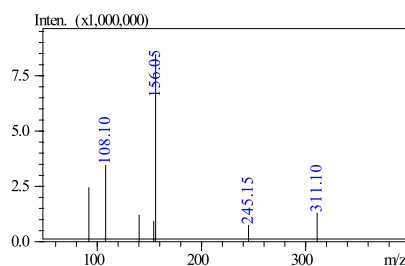
SAN



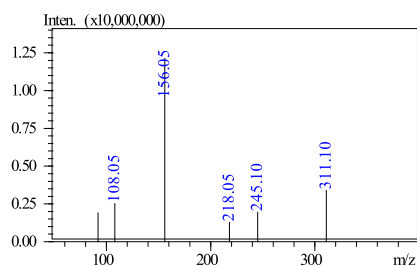
SPA



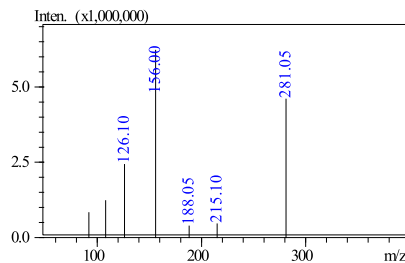
SBA



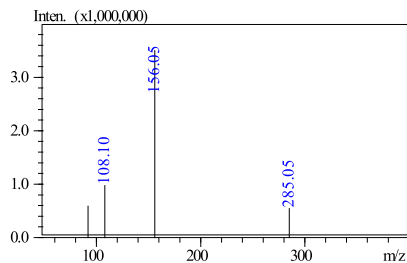
SDX



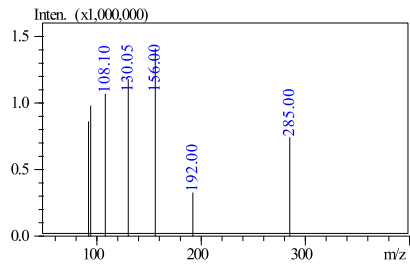
SDM



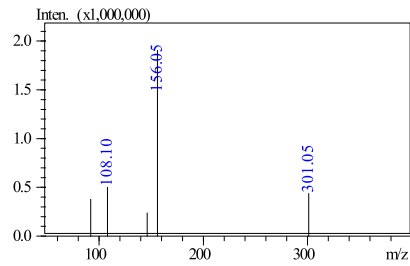
SMP



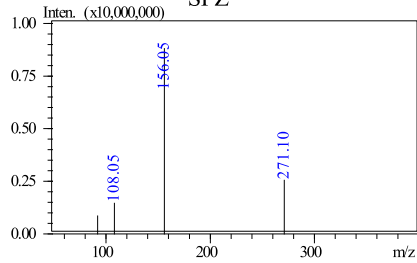
SCP



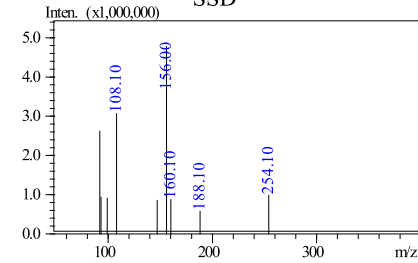
SPZ



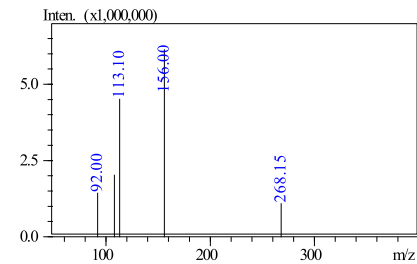
SSD



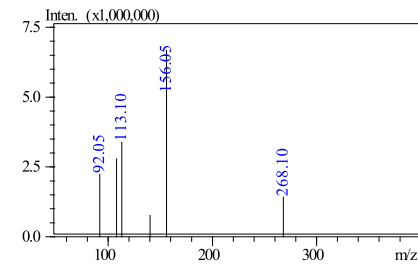
SMT



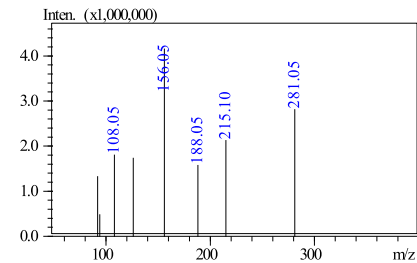
SMZ



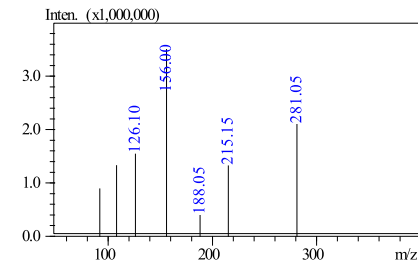
SFZ



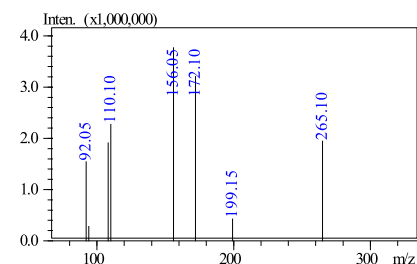
SMO



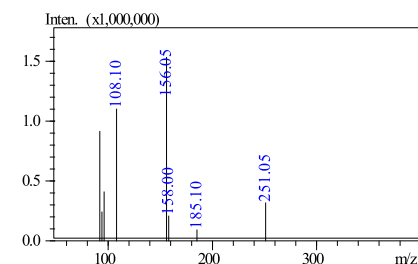
SMD



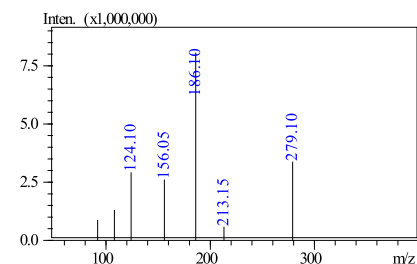
SMM



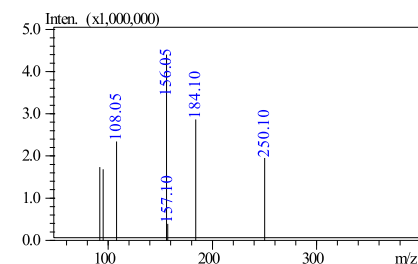
SMR



SDZ



SDM



SPD

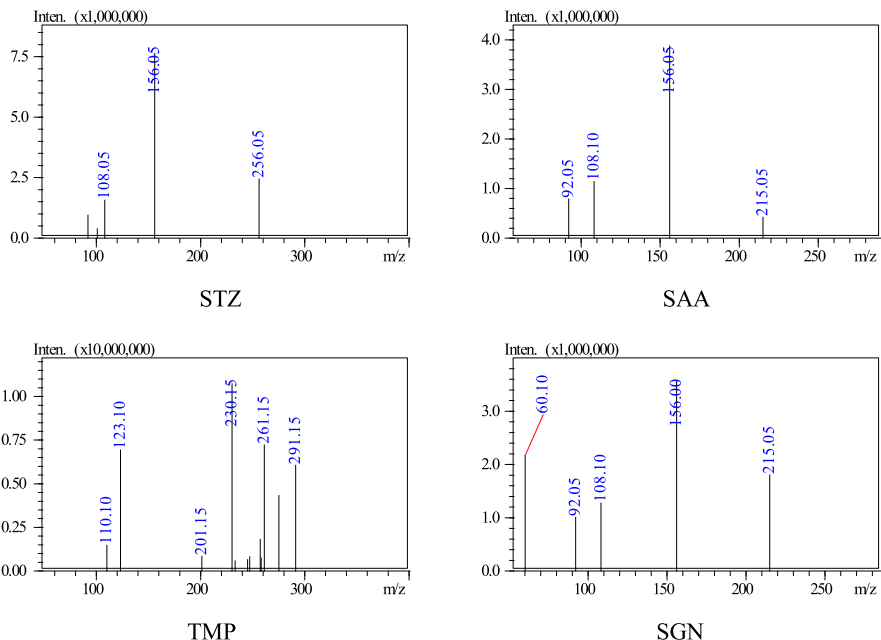


图1 产物离子扫描图

## 2.2 标准样品的 MRM 色谱图

混合标准样品的 MRM 色谱如图 13 所示。

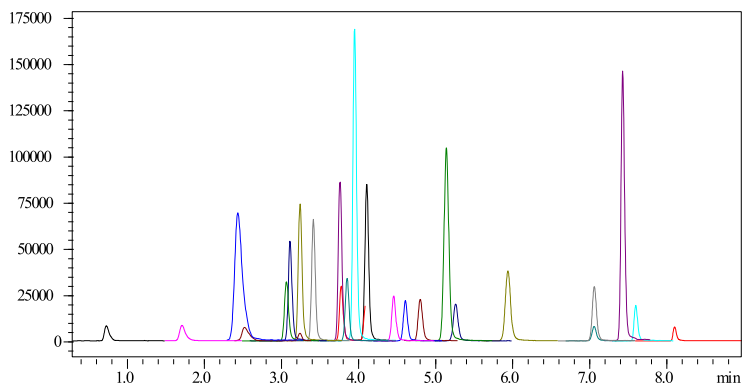
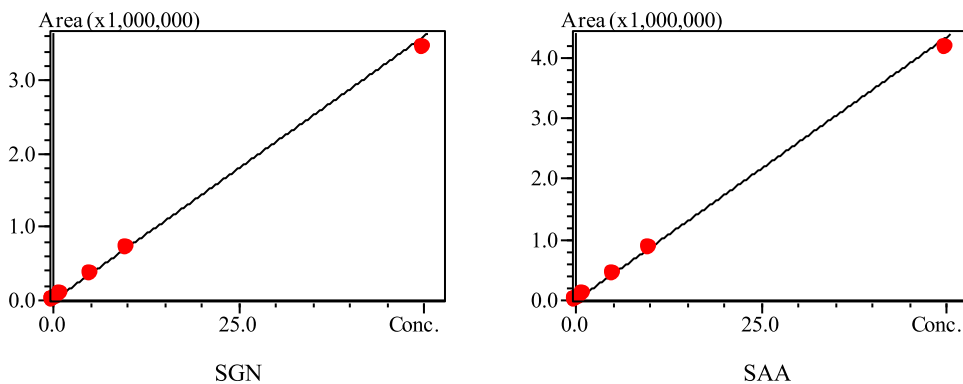
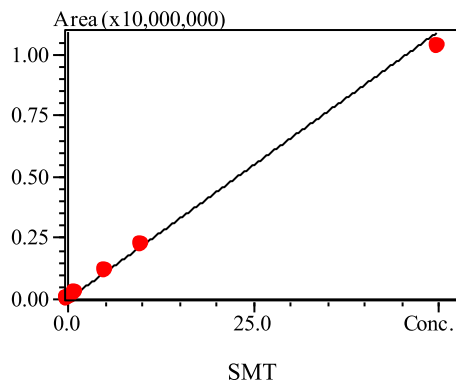
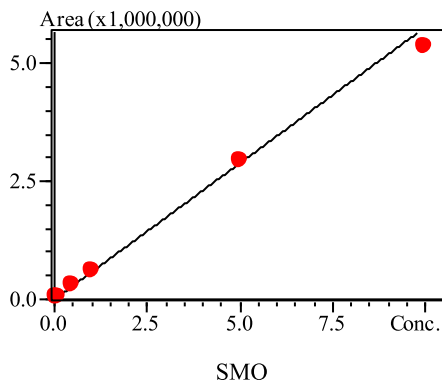
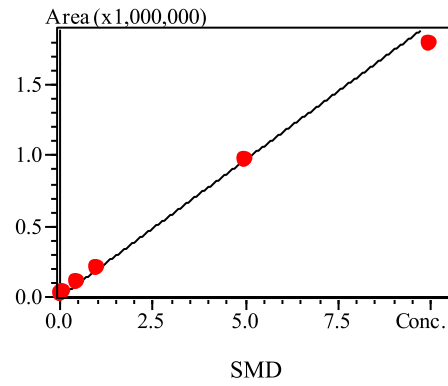
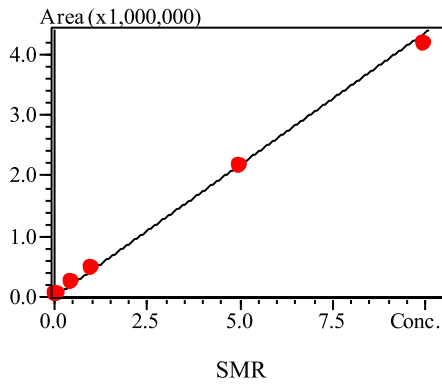
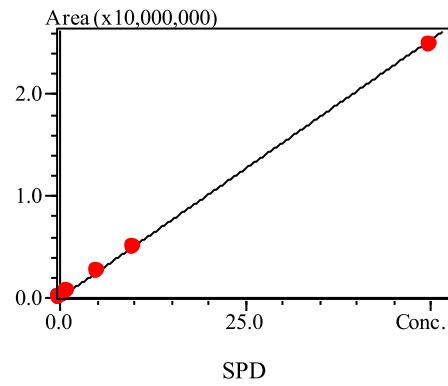
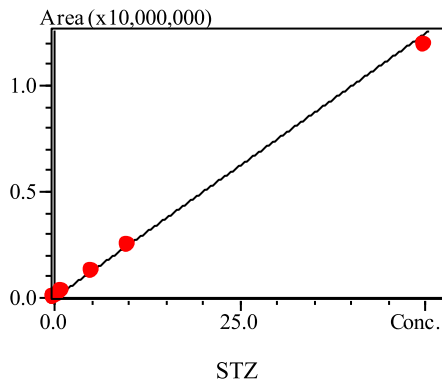
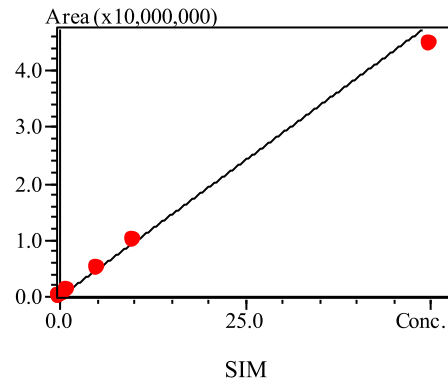
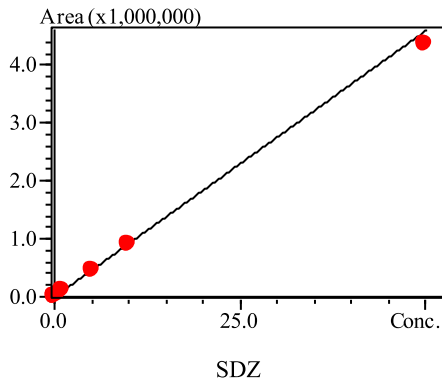


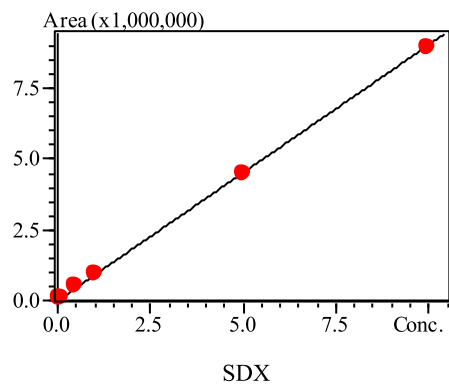
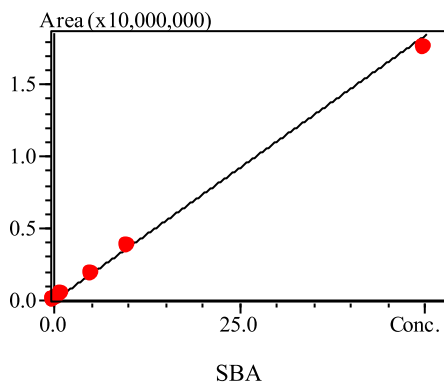
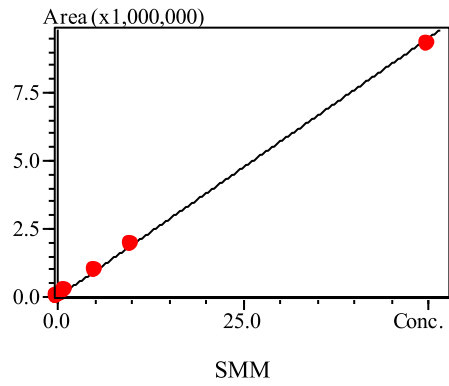
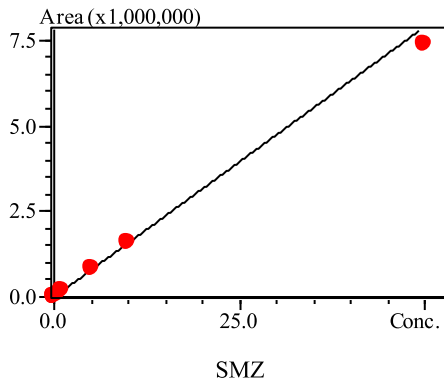
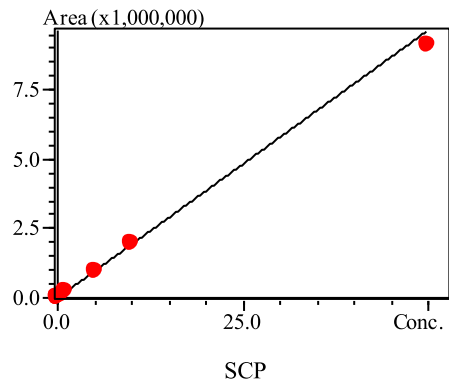
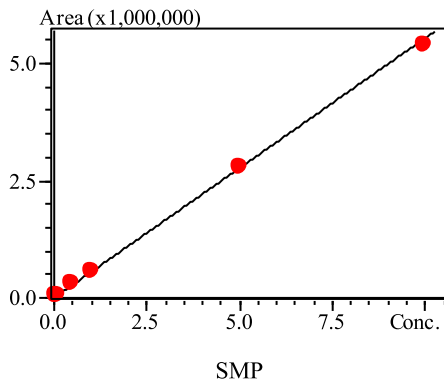
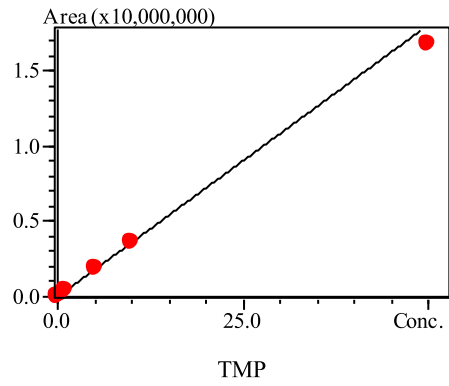
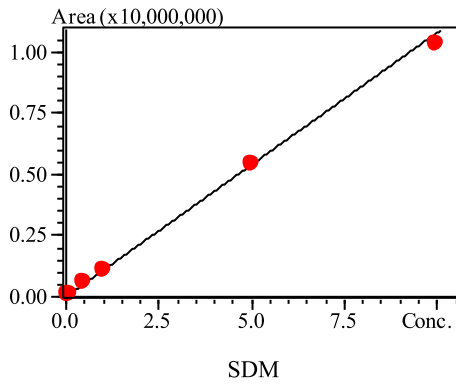
图2 混合标准样品的 MRM 色谱图 (0.5 ng/mL)

## 2.3 线性关系

配制浓度为 0.05、0.1、0.5、1、5、10 和 50 ng/mL 的混合标准工作液，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，外标法制作校准曲线，标线如下图所示。在 0.05~10 ng/mL 和 0.05~50 ng/mL 浓度范围内线性良好。线性方程、线性范围和判定系数见表 4。







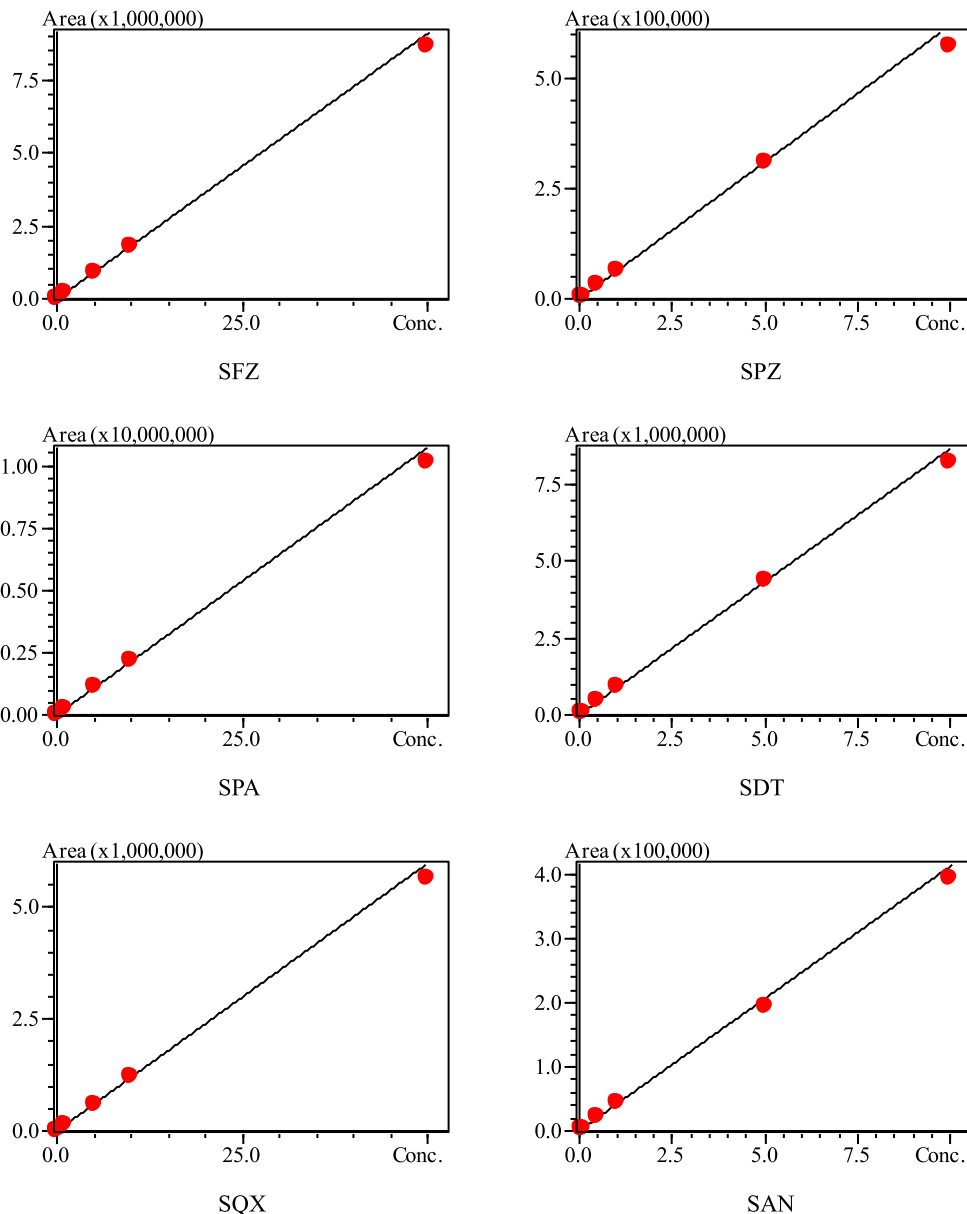


图3 标准工作曲线

表4 24种物质的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	线性范围 ng/mL	准确度 (%)	判定系数 $r^2$
1	SAA	$Y = (85600.9)X + (453.119)$	0.05~50	99.1~101.1	0.9997
2	SGN	$Y = (71416.5)X + (413.106)$	0.05~50	97.7~102.2	0.9993
3	SPD	$Y = (503422)X + (-392.526)$	0.05~50	93.9~105.2	0.9984
4	SDZ	$Y = (90947.8)X + (-202.831)$	0.05~50	97.7~104.3	0.9988
5	SMZ	$Y = (158115)X + (-62.7764)$	0.05~50	98.0~102.9	0.9985
6	STZ	$Y = (248164)X + (1562.55)$	0.05~50	92.6~103.7	0.9979
7	SMR	$Y = (436343)X + (1449.22)$	0.05~10	96.0~104.0	0.9989
8	SMO	$Y = (577610)X + (3313.87)$	0.05~10	93.2~103.6	0.9977
9	SFZ	$Y = (181898)X + (650.422)$	0.05~50	95.8~104.0	0.9983
10	SMT	$Y = (219226)X + (926.071)$	0.05~50	98.4~103.4	0.9987

11	SBA	$Y = (368331)X + (1443.07)$	0.05~50	98.1~103.5	0.9991
12	SIM	$Y = (966523)X + (6690.30)$	0.05~50	98.0~101.6	0.9983
13	SDM	$Y = (1.08e+006)X + (4368.14)$	0.05~10	95.5~102.5	0.9993
14	SMM	$Y = (190222)X + (352.451)$	0.05~50	96.6~106.6	0.9984
15	SMD	$Y = (194128)X + (624.656)$	0.05~10	92.2~109.0	0.9953
16	SMP	$Y = (196382)X + (-289.496)$	0.05~10	96.7~103.2	0.9992
17	SCP	$Y = (193520)X + (-101.186)$	0.05~50	97.1~104.0	0.9985
18	SPZ	$Y = (62065.0)X + (322.577)$	0.05~10	92.6~104.5	0.9975
19	TMP	$Y = (361000)X + (2979.08)$	0.05~50	98.1~103.9	0.9999
20	SQX	$Y = (120003)X + (85.5374)$	0.05~50	97.3~104.9	0.9981
21	SDX	$Y = (904746)X + (1241.25)$	0.05~10	99.0~102.3	0.9997
22	SDT	$Y = (868519)X + (6209.46)$	0.05~10	95.0~102.5	0.9989
23	SPA	$Y = (214796)X + (1288.56)$	0.05~50	96.9~101.9	0.9988
24	SAN	$Y = (41309.8)X + (433.011)$	0.05~10	91.8~109.9	0.9936

#### 2.4 检出限和定量限

用牛奶基质稀释得到浓度为 0.1 ng/mL 的溶液进样分析，24 种磺胺的最低检出限（S/N=3，LOD 表示）、最低定量限（S/N=10，LOQ 表示）结果如表 5 所示。

表 5 24 种物质的检出限和定量限

编号	名称	检出限(ng/mL)	定量限(ng/mL)
1	SAA	0.006	0.019
2	SGN	0.004	0.014
3	SPD	0.0036	0.012
4	SDZ	0.006	0.019
5	SMZ	0.004	0.014
6	STZ	0.002	0.008
7	SMR	0.002	0.008
8	SMO	0.002	0.006
9	SFZ	0.004	0.014
10	SMT	0.003	0.009
11	SBA	0.001	0.004
12	SIM	0.003	0.008
13	SDM	0.001	0.003
14	SMM	0.006	0.019
15	SMD	0.005	0.016
16	SMP	0.003	0.009

17	SCP	0.005	0.018
18	SPZ	0.007	0.022
19	TMP	0.004	0.013
20	SQX	0.006	0.019
21	SDX	0.002	0.007
22	SDT	0.002	0.006
23	SPA	0.004	0.012
24	SAN	0.008	0.028

## 2.5 精密度实验

对三个浓度的混合标准溶液连续 7 次进样，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 6 所示。3 个浓度标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.01~0.35 % 和 0.39~3.68 % 之间，仪器精密度良好。

表 6 保留时间和峰面积重复性结果(n=7)

编号	化合物	RSD% (0.5ng/mL)		RSD% (2ng/mL)		RSD% (5 ng/mL)		RSD% (10ng/mL)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	SGN	0.35	0.61	0.12	1.35	0.28	1.26	0.04	1.27
2	TMP	0.03	2.12	0.01	1.34	0.02	1.39	0.09	0.58
3	SAA	0.13	1.64	0.12	0.48	0.20	1.36	0.13	1.06
4	STZ	0.03	2.30	0.10	1.55	0.03	1.42	0.08	1.32
5	SPD	0.04	2.12	0.04	2.41	0.03	1.12	0.06	0.83
6	SDZ	0.14	0.98	0.17	3.47	0.19	1.38	0.18	1.09
7	SMR	0.06	0.80	0.04	0.99	0.02	0.96	0.05	1.39
8	SDM	0.05	0.60	0.03	1.94	0.02	1.12	0.05	0.75
9	SIM	0.23	1.60	0.16	0.91	0.19	0.93	0.22	0.86
10	SMD	0.06	2.29	0.03	1.87	0.01	1.62	0.04	1.67
11	SMM	0.07	2.48	0.06	1.58	0.02	1.36	0.07	1.91
12	SMO	0.04	2.18	0.03	1.54	0.01	1.51	0.05	1.41
13	SFZ	0.05	1.87	0.04	2.10	0.04	0.81	0.08	0.88
14	SMZ	0.08	2.34	0.03	1.89	0.02	0.56	0.06	1.64
15	SMT	0.05	3.08	0.04	2.29	0.01	1.20	0.05	1.84
16	SQX	0.04	2.88	0.01	0.91	0.01	1.38	0.03	0.79
17	SPZ	0.10	2.46	0.03	1.15	0.03	2.36	0.05	1.34
18	SCP	0.05	1.34	0.05	0.51	0.02	1.26	0.07	1.12
19	SMP	0.05	1.93	0.03	0.91	0.02	1.04	0.06	1.20
20	SDT	0.03	0.40	0.01	0.39	0.01	1.70	0.03	1.12
21	SDX	0.07	2.38	0.05	1.14	0.03	1.39	0.08	2.17
22	SBA	0.06	2.60	0.04	1.49	0.02	0.97	0.08	0.86
23	SPA	0.06	0.76	0.02	1.05	0.02	1.34	0.05	0.82
24	SAN	0.02	3.68	0.01	3.55	0.01	1.76	0.03	1.41

## 2.6 基质加标实验

用牛奶基质按照 1.3 进行处理后加混标至浓度为 2 ng/mL，平行 3 份样品测定回收率和 RSD。具体结果如表 7，样品加标回收率在 90.1~106.9% 之间。空白基质的色谱图如图 4 所示，标样品的色谱图如图 5 所示。

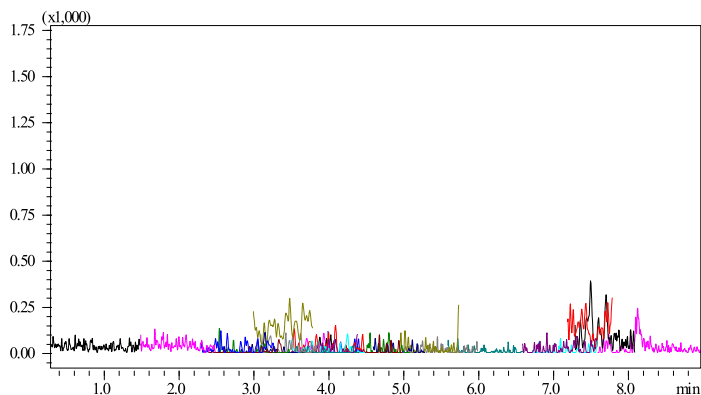


图4 空白基质色谱图

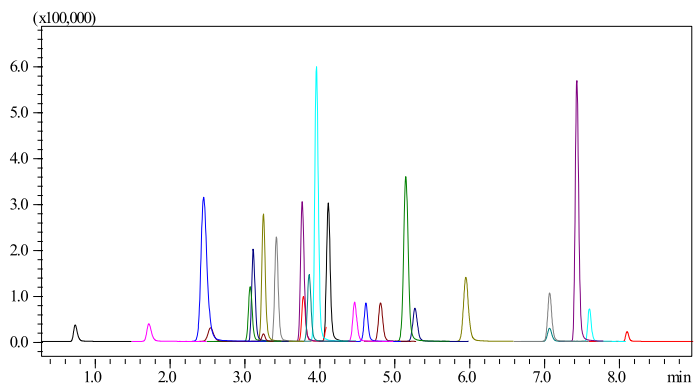


图5 加标回收色谱图

表7 加标样的回收率结果(n=3)

编号	名称	回收率 (%)	RSD%	编号	名称	回收率 (%)	RSD%
1	SAA	98.2	0.47	13	SDM	95.3	1.93
2	SGN	91.8	1.28	14	SMM	93.1	1.71
3	SPD	94.3	2.39	15	SMD	93.3	1.85
4	SDZ	94.5	1.31	16	SMP	94.8	0.92
5	SMZ	94.0	1.90	17	SCP	91.5	0.63
6	STZ	91.0	0.65	18	SPZ	99.5	1.14
7	SMR	92.0	1.11	19	TMP	93.1	0.58
8	SMO	91.0	0.16	20	SQX	98.5	0.91
9	SFZ	95.1	0.74	21	SDX	90.1	0.51
10	SMT	101.9	4.21	22	SDT	106.9	0.53
11	SBA	92.2	0.46	23	SPA	95.4	1.06
12	SIM	91.1	0.92	24	SAN	90.3	0.79

## ■ 结论

使用岛津超快速液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用测定牛奶中磺胺类药物残留量。24 种磺胺类药物的线性良好，判定系数均大于 0.994；其仪器检出限为 0.001~0.008 ng/mL，定量限为 0.003~0.028ng/mL；基质加标回收率在 90.1~106.9 % 之间；此法的定量限远优于《农业部 781 号公告 -12-2006》规定的检出限、定量限的要求。

此方法快速、简单、选择性强和灵敏度高，可作为测定牛奶中磺胺类药物残留量的有效检测方法。