

# LC-MS/MS 检测动物性食品中庆大霉素残留量

## LCMSMS-895

**摘要：**本文建立了使用三重四极杆液质联用仪测定动物性食品中的庆大霉素残留量的方法。庆大霉素各组分在 5 µg/L~1000 µg/L 浓度范围内线性良好，其相关系数  $r$  均在 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 0.09%~0.17% 和 1.63%~6.22% 之间，仪器精密度良好。加标浓度为 10~500 µg/kg 的样品回收率在 66.5%~91.1% 之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于动物性食品中庆大霉素残留量的准确定量检测。

**关键词：**三重四极杆液质联用仪 动物性食品 庆大霉素

### 技术特点：

- ❖ 相较《食品安全国家标准 动物性食品中庆大霉素残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》征求意见稿，本方法检测庆大霉素的灵敏度更高。
- ❖ 采用 Peakintelligence 积分方式，无额外参数设置，数据处理操作更简便。

庆大霉素是一种多组分的氨基糖苷类抗生素，它是由微生物产生或经半合成制取的一类由氨基糖与氨基环醇缩合而成的糖苷类化合物，含氨基或其他碱性基团。临床上，庆大霉素主要由 C1、C1a、C2、C2a 四种有效成分组成，用于治疗革兰氏阴性菌引起的感染。此外，庆大霉素在畜牧业及渔业养殖中应用广泛，被用于细菌感染，但同时也带来了药物残留问题。庆大霉素及其残留对人、畜均有明显的毒副作用，长期摄入能诱发急性肾功能衰竭、中毒性耳聋、失语、瘫痪和休克等。

GB 31650-2019《食品安全国家标准 食品中兽

药最大残留限量》对庆大霉素最高残留限量做了规定，在牛 / 猪肌肉或脂肪中和鸡 / 火鸡可食组织中为 100 µg/kg，牛奶中为 200 µg/kg，肝脏中为 2000 µg/kg，肾脏中为 5000 µg/kg。

在本例中，我们参考《食品安全国家标准 动物性食品中庆大霉素残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》征求意见稿，建立了动物性食品中庆大霉素的检测方法。该方法不在流动相中使用离子对试剂、快速、简单、灵敏度高，可实现对动物性食品中庆大霉素的有效检测。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

采用岛津超高效液相色谱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：	SCL-40	自动进样器：	SIL-40C X3
输液泵：	LC-40B X3	质谱仪：	LCMS-8045
柱温箱：	CTO-40C	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.120

### 1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-park Scepter C8-120 (100 mm×2.1 mm I.D, 1.9 µm)  
岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-31033-05

流动相：A 相 -0.1% 甲酸溶液 (含 2 mmol/L 乙酸铵)，B 相 -0.1% 甲酸乙腈溶液

柱温：35℃ 流速：0.3 mL/min  
洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 10%，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
0.50	Pumps	Pump B Conc.	10
4.00	Pumps	Pump B Conc.	60
5.50	Pumps	Pump B Conc.	95
6.00	Pumps	Pump B Conc.	95
6.10	Pumps	Pump B Conc.	10
8.00	Controller	Stop	

质谱条件

质谱仪：LCMS-8045 DL 管温度：250℃  
离子源：ESI, 正离子模式 加热模块温度：400℃  
雾化气：氮气 3 L/min 接口温度：300℃  
干燥气：氮气 10 L/min 扫描模式：MRM  
加热气：空气 10 L/min MRM 参数：见表 2

表 2 MRM 参数

No	化合物	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	庆大霉素 C1	C <sub>60</sub> H <sub>123</sub> N <sub>15</sub> O <sub>21</sub>	1403-66-3	478.0	322.1*	-11.0	-17.0	-21.0
					160.2	-14.0	-25.0	-29.0
2	庆大霉素 C2+C2a	C <sub>60</sub> H <sub>123</sub> N <sub>15</sub> O <sub>21</sub>	1403-66-3	464.0	322.2*	-13.0	-15.0	-15.0
					160.1	-13.0	-25.0	-16.0
3	庆大霉素 C1a	C <sub>60</sub> H <sub>123</sub> N <sub>15</sub> O <sub>21</sub>	1403-66-3	450.0	322.0*	-13.0	-16.0	-22.0
					160.1	-13.0	-24.0	-16.0

\* 表示定量离子

1.3 主要标准品和耗材

标准品：庆大霉素，购于岛津（上海）实验器材有限公司，PN：UC2631-100 mg。

MCX 固相萃取柱：规格 60 mg，3 mL，购于岛津（上海）实验器材有限公司，PN：380-00853-01。

1.4 样品前处理

称取试样 2 g（精确至 ±0.05 g）置于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 磷酸盐缓冲液提取，涡旋混匀 1 min，超声提取 5 min，以 10000 r/min 离心 10 min，移取上清液于另一 50 mL 离心管中。残渣再用磷酸盐缓冲液 4 mL，重复提取一次，合并两次提取液并用磷酸盐缓冲液定容至 15 mL，涡旋混匀，为备用液，供固相萃取柱净化。

MCX 固相萃取小柱（60 mg，3 mL）用甲醇 5 mL 和水 5 mL 活化，取 7.5 mL 备用液过柱，流干后，依次用水 5 mL 和甲醇 5 mL 淋洗，抽干。用 15% 氨水甲醇 5 mL 洗脱，收集洗脱液，40℃ 氮气吹干。准确加入 1 mL 1% 七氟丁酸酐醋酸溶液复溶，涡旋 30 s，过 0.22 μm 有机滤膜，滤液装塑料进样小瓶，上液相色谱串联质谱分析。

### 1.5 基质匹配校准曲线的制备

取空白样品，按 1.4 处理样品获得试样空白基质，分别取庆大霉素标准工作液 1 mL，溶解吹至近干后的空白试料残余物，制得浓度 5 μg/L、10 μg/L、50 μg/L、100 μg/L、500 μg/L、1000 μg/L 的系列基质匹配标准工作溶液（其中庆大霉素 C1 组分为 2.25、4.5、22.5、45、225、450 μg/L；庆大霉素 C1a 组分为 0.95、1.90、9.5、19、95、190 μg/L；庆大霉素 C2+C2a 组分为 1.8、3.6、18、36、180、360 μg/L），供液相色谱 - 串联质谱仪测定。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 基于“AI”算法的 Peakintelligence 助力数据处理

随着人工智能技术的快速发展和迭代更新，通过加载人工智能和机器学习的数据处理算法可以有效避免异常积分曲线出现的概率，简化数据后处理流程，提高结果的准确性。本例中使用了 LabSolutions 新型基于 AI 技术的 Peakintelligence 积分算法，不用复杂参数设置，便可实现目标色谱峰有效积分，并且针对复杂基线情况，积分结果更加科学合理，为多化合物分析提供便捷高效的技术手段。

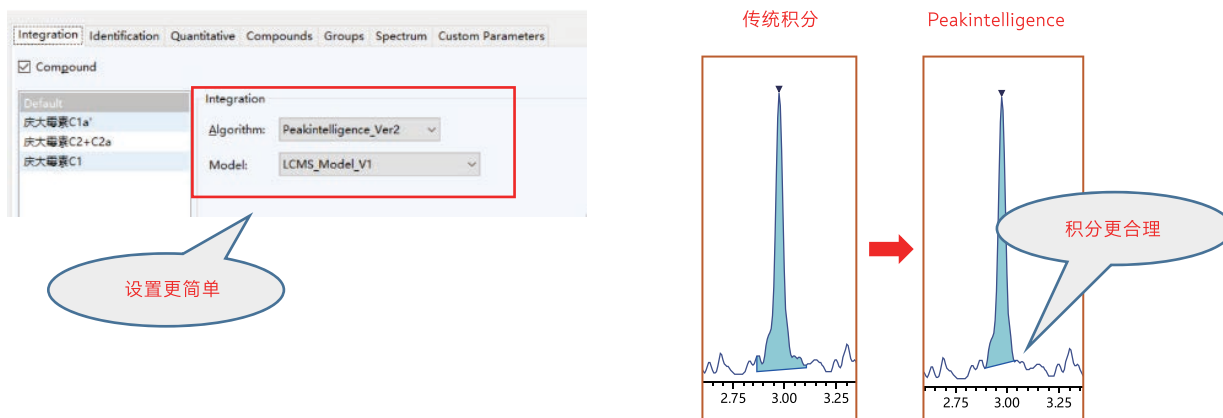


图 1 Peakintelligence 积分处理界面和效果比较

### 2.2 色谱图

10 μg/L 庆大霉素标准品的 MRM 色谱图如图 2 所示，色谱峰分离良好，定量离子通道无干扰。

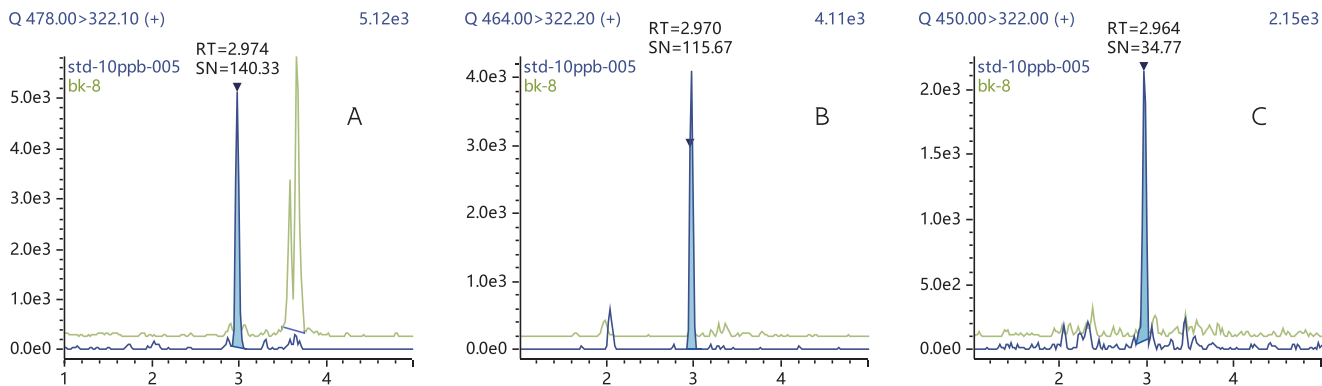


图 2 庆大霉素各组分的 MRM 色谱图 (10 μg/L)  
(A、庆大霉素 C1；B、庆大霉素 C2+C2a；C、庆大霉素 C1a)

### 2.3 校准曲线和检出限

按照 1.5 方法配制标准系列溶液，上机分析，以待测物特征离子峰面积为纵坐标，相应的基质匹配标准溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线，求回归方程和相关系数。通过 LabSolutions insight 软件依据信噪比 (ASTM) 自动计算，以 3 倍信噪比计算方法检出限，其结果如表 3 所示。

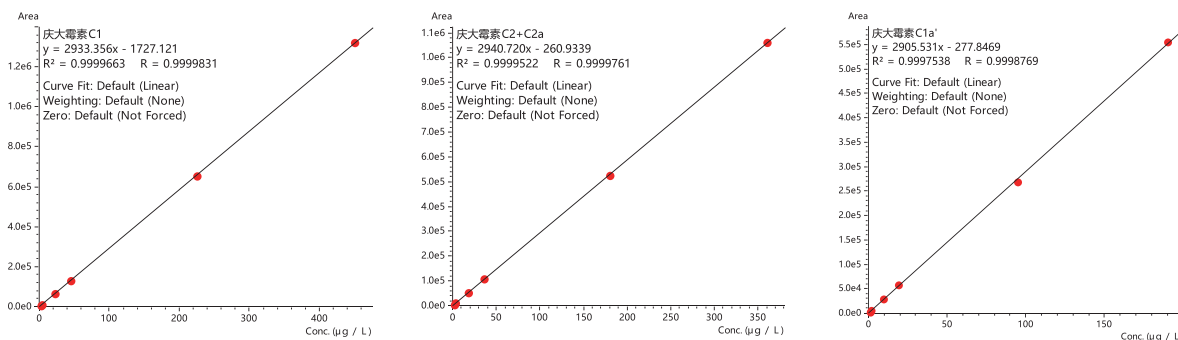


图 3 庆大霉素各组分标准曲线

表 3 庆大霉素各组分校准曲线及检出限

#	化合物	校准曲线	相关系数 R	准确度 %	检测限 (µg/L)	定量限 (µg/L)
1	庆大霉素 C1	Y = 2933.356 X - 1727.121	0.9999	99.1~115.4	0.12	0.37
2	庆大霉素 C2+C2a	Y = 2940.720 X - 260.9339	0.9999	91.4~103.3	0.10	0.30
3	庆大霉素 C1a	Y = 2905.531 X - 277.8469	0.9998	90.8~105.4	0.21	0.62

### 2.4 重复性实验

取 10、100 和 1000 µg/L 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 庆大霉素各组分保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No	化合物	RSD% (10 µg/L)		RSD% (100 µg/L)		RSD% (1000 µg/L)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	庆大霉素 C1	0.11	5.09	0.11	2.36	0.17	2.07
2	庆大霉素 C2+C2a	0.09	4.11	0.11	3.12	0.17	2.03
3	庆大霉素 C1a	0.10	6.22	0.11	1.63	0.17	1.81

### 2.5 加标回收率

选择空白鸡肉，进行 10、50、500 µg/kg 浓度的加标回收试验，每个加标浓度 3 个平行，按照前述前处理方式处理，上机测定，以校准曲线法定量，计算回收率。庆大霉素各组分回收率在 66.5% ~ 91.1% 之间，具体结果见表 5，且定性离子的相对离子丰度，与浓度相当的校正标准溶液相对离子丰度一致，其相对丰度在 ±40%，满足标准要求。

表 5 庆大霉素各组分回收率结果 (n=3)

No.	化合物	加标浓度 10 µg/kg		加标浓度 50 µg/kg		加标浓度 500 µg/kg	
		回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%
1	庆大霉素 C1	66.5	3.58	64.0	3.28	77.5	0.54
2	庆大霉素 C2+C2a	73.2	7.28	80.8	1.47	91.1	0.49
3	庆大霉素 C1a	67.0	7.55	73.6	0.16	84.9	2.29

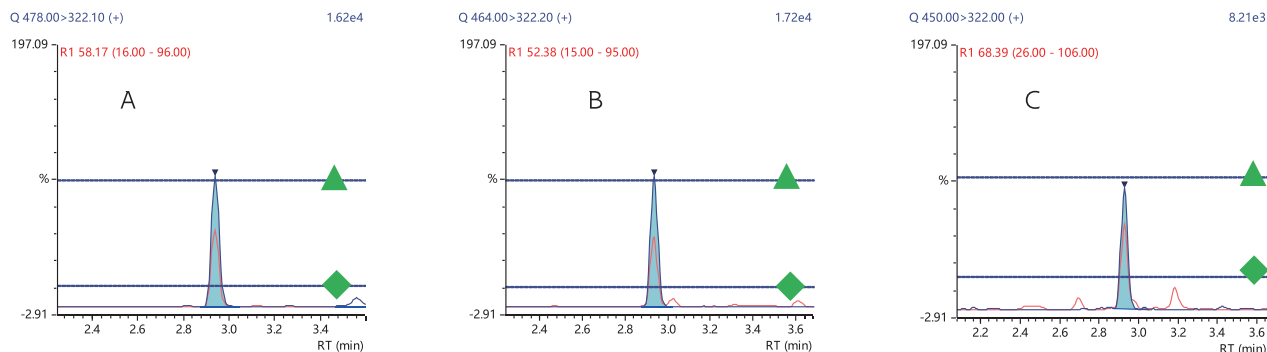


图4 Insight 软件中直接展示定性离子的相对离子丰度（加标浓度 50  $\mu\text{g/L}$ ）  
 （A、庆大霉素 C1；B、庆大霉素 C2+C2a；C、庆大霉素 C1a）  
 （▲为定性离子丰度可接受上限；◆为定性离子丰度可接受下限）

## ■ 结论

依据食品安全国家标准《食品安全国家标准 动物性食品中庆大霉素残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪测定鸡肉中庆大霉素残留的方法。庆大霉素在 5  $\mu\text{g/L}$ ~1000  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好，相关系数  $r$  在 0.999 以上。加标浓度为 10~500  $\mu\text{g/kg}$  的样品回收率在 66.5% ~ 91.1% 之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于动物性食品中庆大霉素药物残留量的准确检测。

岛津应用云

