

液质联用检测蜂蜜中抗病毒药酞丁安

LCMSMS-868

摘要： 本文采用岛津三重四极杆液质联用系统，建立了蜂蜜中抗病毒药酞丁安的检测方法。蜂蜜中酞丁安经水提取，SPE 净化，反相色谱分离，上机测试。结果显示，酞丁安在 5~100 ng/mL 范围内，线性良好，相关系数 $R > 0.997$ ，准确度 93.5%~107.5% 之间，酞丁安检出限 0.44 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限 1.33 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标回收率 73%。该方法前处理简便，灵敏度高，适用于蜂蜜中酞丁安的定量分析。

关键词： LCMSMS 蜂蜜 酞丁安 兽药残留

技术特点：

- ❖ 相比于征求意见稿，增加负离子模式 MRM 参数，定性可靠性更高。
- ❖ 相比于征求意见稿，前处理试剂消耗少，节约成本。

酞丁安 (ftibanzone) 是一种缩胺硫脲类抗病毒药物，对单纯疱疹 I 性或 II 性病毒，水痘带状疱疹病毒有抑制作用，对沙眼衣原体也有作用。酞丁安在 N，N- 二甲基甲酰胺中易溶，在二氧六环中微溶，在水、乙醇或乙醚中几乎不溶；在氢氧化钠试液中易溶。酞丁安作为人用药，违规用于防治蜜蜂麻痹病，导致耐药性风险增加。此外，食用含酞丁安蜂蜜，可能导致瘙痒，红肿等过敏反应，威胁人类健康。

因此，《食品安全国家标准 蜂蜜中酞丁安残留

量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》标准征求意见稿，规定了酞丁安残留量的测定方法。蜂蜜中残留的药物用水提取，固相萃取柱净化，液相色谱 - 串联质谱法检测，外标法定量。

本文参考 2023 年 9 月发布的《食品安全国家标准 蜂蜜中酞丁安残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》标准征求意见稿，对前处理、色谱条件进行优化，建立了基于 LCMSMS 酞丁安残留测试方法，可为蜂蜜产品残留分析提供参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 LC-40BXR 高效液相色谱系统及 LCMS-8045 高效液相色谱串联质谱系统。

具体配置为：

系统控制器：	CBM-40	脱气机：	DGU-40
输液泵：	LC-40BXR × 2	自动进样器：	SIL-40C XR
柱温箱：	CTO-40S	离子源：	ESI
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.118		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：	Shim-pack Scepter C18(2.1×100 mm, 1.9 μm), PN: 227-31012-05, 岛津(上海)实验器材有限公司		
流动相：	A 相 -0.1% 甲酸水, B 相 - 乙腈		
流速：	0.3 mL/min	柱温：	40°C
进样体积：	2 μL		
进样体积：	梯度洗脱, 0-2 min :45-95%B		

质谱条件

离子源参数

离子源：	ESI+/-	接口温度：	300°C
雾化气流速：	3.0 L/min	加热模块温度：	400°C
DL 温度：	250°C	干燥气流速：	10.0 L/min
干燥气流速：	10 L/min	扫描模式：	MRM, 见表 1

表 1 MRM 参数

中文名称	英文名称	分析模式	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
酞丁安	ftibanzone	ESI+	378.10	319.10	-20.0	-15.0	-22.0
				287.10*	-11.0	-13.0	-19.0
		ESI-	376.20	285.20*	12.0	9.0	30.0
				229.10	12.0	9.0	23.0

* 定量离子对

1.3 样品前处理

取 1.0 g 蜂蜜于 15 mL 离心管内,加甲醇水 5 mL,涡旋 1 min,振荡 10 min,3000 rpm 离心 10 min,收集上清液。SHIMSEN Styra Ph (60 mg/3 mL, P/N: 380-00860-01, SGLC), 依次用甲醇 5 mL、水 5 mL 活化, 将上清液转移至 SPE 柱, 待上清液完全流出后, 10% 甲醇水 10 mL 洗涤, 弃去流出液, 负压抽干, 用 DCM: 乙腈 (1: 4) 5 mL 洗脱, 洗脱液收集于 15 mL 离心管中, 于 40°C 下氮吹至近干, 乙腈定容至 1.0 mL, 过 0.22 μm PTFE 滤膜, 上机测定。

结果与讨论

2.1 色谱图

对空白蜂蜜、酞丁安标准溶液 (10 ng/mL) 进行分析, 其色谱图如下。空白蜂蜜无干扰, 标准溶液 (10 ng/mL) 中酞丁安的保留时间 RT=1.46 min。

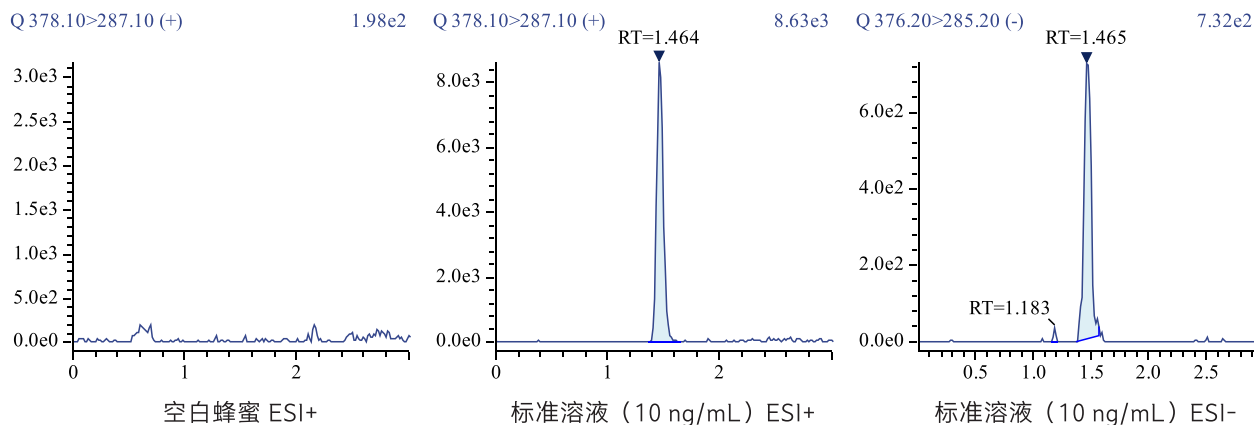


图 1 空白蜂蜜、酞丁安标准溶液 (10 ng/mL) 色谱图

2.2 前处理考察

蜂蜜成分以糖类为主，葡萄糖和果糖含量约占 70%，而葡萄糖水溶液溶解度可达 50%，因此，选择水作为提取溶剂；酞丁安含双缩硫脲结构，碱性强，极性相对较弱，在 HLB、SCX、MCX、以及 C18 上均出现不同程度的死保留，无法洗脱，回收率在 14-55% 之间。此外，酞丁安含有苯环，与 Ph 之间存在 $\pi-\pi$ 堆积效应，相比于非极性相互作用，选择性更强，不易受到干扰。因此，最终选择 SHIMSEN Styra Ph 固相萃取柱净化。

2.3 线性及检出限

以乙腈为溶剂，配制浓度为 5、10、25、50、100 ng/mL 的标准工作曲线，上机测试，酞丁安在 5~100 ng/mL 范围内，线性良好，相关系数 R 均 >0.997，准确度 93.5%~107.5% 之间，如图 2。根据信噪比，计算其检出限 (S/N=3) 和定量限 (S/N=10)，正负两种模式下，酞丁安检出限 0.24-0.44 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限 0.73-1.33 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，优于标准要求，如下表 2。

表 2 酞丁安标准曲线的线性关系

化合物	分析模式	线性方程	相关系数 R	准确度 (%)	检出限 $\mu\text{g}/\text{kg}$	定量限 $\mu\text{g}/\text{kg}$
酞丁安	ESI+	$Y=4013.276X-357.2856$	0.9973	93.5-107.5	0.44	1.33
	ESI-	$Y=451.4162X-273.5871$	0.9994	97.7-103.1	0.24	0.73

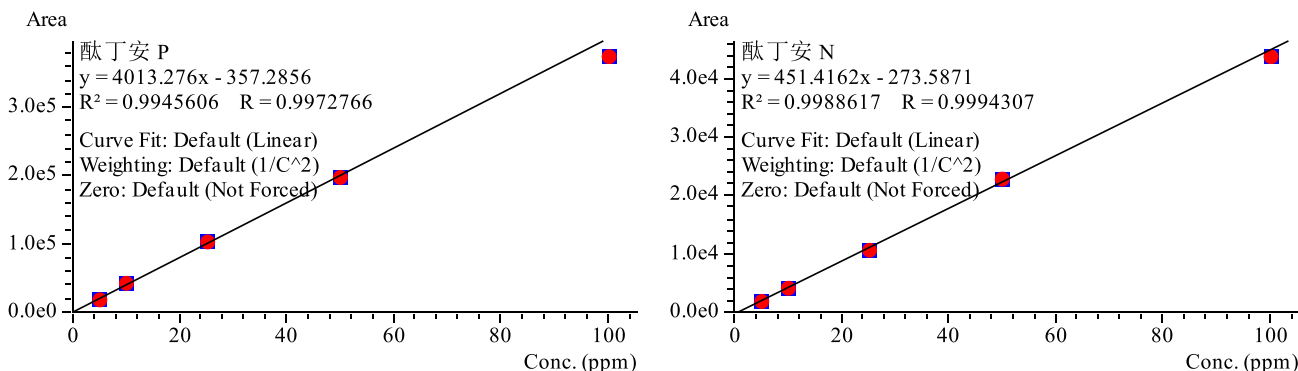


图 2 酞丁安标准曲线色谱图

2.4 重复性

酞丁安标准溶液 (10 ng/mL) 连续分析 6 次，计算保留时间及峰面积 RSD，如下图所示，保留时间 RSD=0.25%，面积 RSD=4.5%。

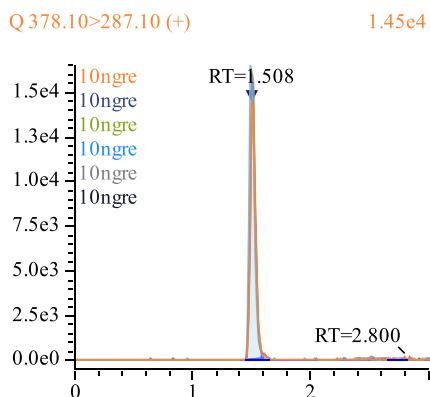


图 3 6 次分析叠加色谱图

2.5 回收率

选择空白蜂蜜样品，加标 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，重复三次，测定回收率。经计算，酞丁安回收率 73%，RSD=5.3%，满足标准公示稿要求。

■ 结论

本文采用岛津超高效液相色谱质谱联用系统，建立了蜂蜜中抗病毒药酞丁安的检测方法。样品经水提取后，SPE 净化，C18 色谱柱分离，三重四极杆质谱 MRM 模式定量。酞丁安在 5-100 ng/mL 范围内，线性良好，线性相关系数 $R>0.997$ ，酞丁安检出限 0.44 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限 1.33 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该方法前处理简便、灵敏度高。

岛津应用云

