

食品中兽药最大残留限量标准解决方案



前言

畜牧业是我国社会经济发展中的重要行业，对于相关产业经济的发展有重要作用，也与人们的日常生活有密切联系。在畜产品的饲养过程当中，为了对畜牧疾病等进行有效的预防、治疗，或是有目的的调节动物生理机能，需要在畜产品的养殖中使用兽药，这样容易出现兽药在动物体内积蓄的情况，因此需要严格按照标准谨慎使用。

兽药残留是畜禽产品质量的主要监控指标，它是指食品动物用药后，动物产品的任何可食用部分中所有与药物有关的物质的残留，包括药物原形和其代谢产物。现在不法商家为了追求利益，养殖过程中违规添加、滥用兽药的现象愈发严重，导致兽药残留超标问题日益突出。兽药残留不仅可以直接对人体产生急慢性毒性作用，引起细菌耐药性的增加，还可以通过环境和食物链的作用间接对人体健康造成潜在危害，而且兽药残留还影响我国养殖业的发展和国际市场的开拓。因此必须采取有效措施，减少和控制兽药残留量。

2019年，农业农村部、国家卫生健康委员会、国家市场监督管理总局三部门联合发布的公告2019年第114号GB 31650-2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》及GB 31660.1~9-2019兽药残留检测方法国家标准，自2020年4月1日起正式实施。该标准规定了267种（类）兽药在畜禽产品、水产品、蜂产品中的2191项残留限量及使用要求，标志着我国兽药残留标准体系建设进入新阶段。

2021年9月，三部委发布《食品安全国家标准 牛可食性组织中氨丙啉残留量的测定 液相色谱-串联质谱法和高效液相色谱法》(GB 31653.1-2021)等36项食品安全国家标准，自2022年2月1日起实施。

2022年9月，GB 31650.1-2022《食品安全国家标准 食品中41种兽药最大残留限量》及21项兽药残留检测方法食品安全国家标准发布，自2023年2月1日起实施。从以上总结来看，兽药残留标准的颁布已名副其实进入快车道，也给广大分析工作者带来了更大的挑战。

作为全球知名的实验室分析测试服务供应商，岛津一直致力于提供技术领先的仪器设备及全面可靠的综合方案。继2020年发布《GB 31650-2019 食品中兽药最大残留限量及兽残检测标准应对解决方案》后，我们针对最新颁布的GB 3165X系列的兽药残留标准以及相关农业部公告、行业标准等，再次推出《食品中兽药最大残留限量标准解决方案》，希望能对兽药领域的检测工作有所帮助。

本文集仅供有关人员学习交流使用，不用于任何商业用途。

岛津企业管理（中国）有限公司
分析中心

目 录

第 1 章 兽药残留限量法规与检测标准	1
1 我国现行的兽药最大残留限量标准	1
2 新颁布兽残检测标准	9
3 常见兽药分类	11
第 2 章 兽药残留分析应用方案	12
2.1 多兽残同时分析	12
LCMS-8050 测定猪尿中 160 种兽药残留的含量	13
LCMS-Q-TOF 筛查尿液中 150 种兽药	33
LC-MS/MS 测定鸡肉中的四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留	45
LCMS-8050 测定猪肉中 64 种兽药残留	53
2.2 抗生素类分析	63
LCMS-8050 测定鸡肉中氯霉素的含量	64
LCMS-8050 测定进出口食用动物中新霉素药物的残留量	68
LCMS-8045 检测鱼肉中大环内酯类抗生素	72
LCMS-8050 测定牛奶中的粘菌素残留	78
LC-MS/MS 测定鸡肉中泰万菌素及 3-乙酰泰乐菌素残留量	82
LCMSMS 法分析水产品中青霉素类药物多残留	86
LC-MS/MS 测定动物性食品中氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量	93
LC-MS/MS 法分析水产品中四环素类药物残留	98
LC-MS/MS 检测猪肉中酰胺醇类药物及其代谢物残留	104
LC-MS/MS 测定牛奶中利福昔明残留量的方法	109
2.3 抗寄生虫类药物分析	112
LC-MS/MS 检测猪肉中的阿维菌素类药物含量	113
LCMS-8045 测定牛奶中氮氨菲啶残留量	117
LCMSMS 测定鱼肉中的氯硝柳胺含量	121
LC-MS/MS 测定牛肉中抗虫药氨丙啉残留量	125
LC-MS/MS 法测定鸡肉中氯苯胍残留量	129
LC-MS/MS 法分析鸡肉中抗球虫药二硝托胺及代谢物的残留量	133
LC-MS/MS 法测定动物性食品中左旋咪唑残留量	137
LC-MS/MS 测定牛肉中抗球虫药盐霉素残留量	141
LC-MS/MS 法检测鱼肉中甲苯咪唑及其代谢物残留量	145

2.4 类固醇激素类分析	149
LC-MS/MS 测定牛肉中异丙嗪残留量	150
LCMS-8050 测定猪肉中醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮残留	154
LCMS-8050 测定猪肉中 5 种 α 2-受体激动剂	159
LCMS-8045 测定猪肉中赛庚啶和可乐定	165
LCMS-8045 分析动物毛发中赛庚啶	171
LCMSMS 测定猪尿中巴氯酚残留	176
LC-MS/MS 测定牛奶中的雌激素残留	180
LC-MS/MS 测定牛奶中的 α -群勃龙和 β -群勃龙药物残留	185
LC-MS/MS 法测定动物性食品中赛拉嗪及代谢物 2,6-二甲基苯胺的残留量	189
LC-MS/MS 检测牛奶中氯前列醇残留	194
LC-MSMS 测定动物性食品中阿托品、东莨菪碱、山莨菪碱、利多卡因、普鲁卡因残留量	198
LC-MS/MS 测定水产品中安眠酮残留量	202
LC-MS/MS 检测水产品中的地西洋残留	206
LC-MS/MS 检测鱼肉中的 27 种性激素残留	210
2.5 其它类分析	219
LC-MS/MS 测定南美白虾中的硝基咪唑代谢物残留	220
LCMS-8045 测定鸡肉中金刚烷胺的残留	227
LC-MS/MS 法分析肉类中美度铵残留	231
LC-MS/MS 测定动物源性食品中氢氯噻嗪等 10 种利尿剂的残留量	237
LC-MS/MS 检测猪肉中曲美他嗪残留	244
LC-MS/MS 检测猪肉中卡拉胶含量	249
LC-MS/MS 法测定动物源性食品中 13 种全氟化合物	253
LC-MS/MS 法测定虾肉中 21 种邻苯二甲酸酯类物质含量	260
附录 兽药残留检测项目和岛津仪器应对一览表	268

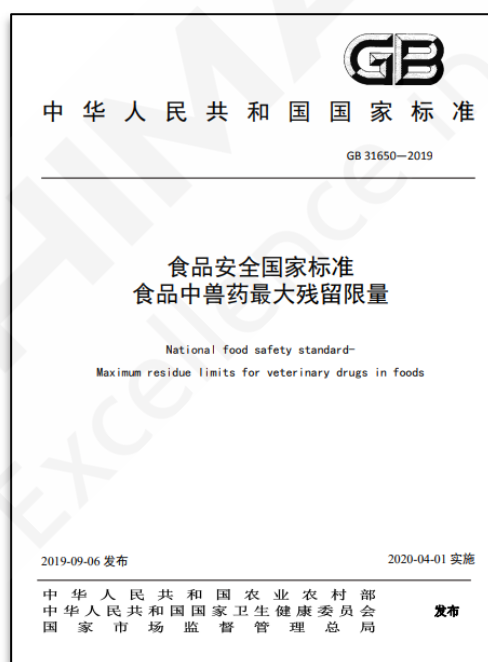
第 1 章 兽药残留限量法规与检测标准

随着社会经济的快速发展，人民生活水平不断提高，对动物源性产品的需求量不断增加，兽药残留问题也越来越受重视。兽药的合理使用可预防动物疾病，促进动物生长，提高动物源性食品产量和质量，满足人民群众对肉类蛋白的摄取需求。然而，部分不法商贩盲目追求经济效益，违背动物生长规律，滥用兽药，导致动物源性食品中兽药残留超标问题时有发生，给养殖业的健康发展带来极大挑战。因此需要对食品中兽药的残留限量以及检测方法作明确规定。

1 我国现行的兽药最大残留限量标准

1.1 GB 31650-2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》

2019 年，农业农村部、国家卫生健康委员会、国家市场监督管理总局三部门联合发布 2019 年第 114 号公告 GB 31650-2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》，自 2020 年 4 月 1 日起正式实施。该标准规定了 267 种（类）兽药在畜禽产品、水产品、蜂产品中的 2191 项残留限量及使用要求，其中有包括需要制定限量的兽药 104 种；允许使用，不需要制定最大残留限量的兽药 154 种；允许作治疗用，但不得在动物性食品中检出的兽药 9 种。这基本覆盖了我国常用兽药品种和主要食品动物及组织，标志着我国兽药残留标准体系建设进入新阶段。



《GB 31650-2019》有三大亮点。一是涵盖兽药品种和限量数量大幅增加。与此前发布的农业部公告第 235 号《动物性食品中兽药最高残留限量》相比，新标准规定的兽药品种增加 76 种、增幅 39.8%，残留豁免品种增加 66 种、增幅 75%，残留限量增加 643 项、增幅 41.5%，基本解决了当前评价动物性食品“限量标准不全”的问题。

新标准的第二大亮点是标准要求与国际全面接轨。新发布的标准全面采用 CAC（国际食品法典委员会）和欧盟、美国等发达国家或地区的最严标准，对农业部公告第 235 号涉及的残留标志物、日允许摄入量、残留限量值、使用要求等重要技术参数进行了全面修订，设定的残留

限量值与 CAC 兽药残留限量值一致率达 90%以上；对氧氟沙星等 10 多种存在食品安全隐患的兽药品种予以淘汰或改变用途。

第三大亮点是标准制定更加科学严谨。本次标准制定中充分考虑了我国动物性食品生产、消费实际和现行兽药残留限量标准实施中的关键问题，遵照国际通行做法开展了相关风险评估，广泛征求了行业、专家、消费者、社会公众、相关机构的意见，并接受了世界贸易组织成员的评议。

GB 31650-2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》涉及的 267 种（类）兽药的分类、日允许摄入量（ADI）、残留标记物等信息可参考 2020 年发布的《GB 31650-2019 食品中兽药最大残留限量及兽残检测标准应对解决方案》，本解决方案只列出了需要制定限量的兽药、不需要制定最大残留限量的兽药以及允许作治疗用，但不得在动物性食品中检出的兽药的具体名称，见下表。

1) 已批准动物性食品中最大残留限量规定的兽药

No	化合物	No	化合物	No	化合物
1	阿苯达唑	36	二氟沙星	71	甲基盐霉素
2	双甲脒	37	三氮脒	72	新霉素
3	阿莫西林	38	二硝托胺	73	尼卡巴嗪
4	氨苄西林	39	多拉菌素	74	硝碘酚腈
5	氨丙啉	40	多西环素	75	喹乙醇
6	安普霉素	41	恩诺沙星	76	苯唑西林
7	氨苯胂酸/洛克沙肿	42	乙酰氨基阿维菌素	77	奥苯达唑
8	阿维菌素	43	红霉素	78	噁喹酸
9	阿维拉霉素	44	乙氧酰胺苯甲酯	79	土霉素/金霉素/四环素
10	氮呋酮	45	非班太尔/芬苯达唑/奥芬达唑	80	辛硫磷
11	杆菌肽	46	倍硫磷	81	呱嗪
12	青霉素/普鲁卡因青霉素	47	氟戊菊酯	82	吡利霉素
13	倍他米松	48	氟苯尼考	83	巴胺磷
14	卡拉洛尔	49	氟佐隆	84	碘醚柳胺
15	头孢氨苄	50	氟苯达唑	85	氯苯胍
16	头孢唑肟	51	醋酸氟孕酮	86	盐霉素
17	头孢噻吩	52	氟甲喹	87	沙拉沙星
18	克拉维酸	53	氟氯苯氧菊酯	88	赛杜霉素
19	氯羟吡啶	54	氟胺氧菊酯	89	大观霉素
20	氯氟碘柳胺	55	庆大霉素	90	螺旋霉素
21	氯唑西林	56	常山酮	91	链霉素/双氢链霉素
22	黏菌素	57	咪多卡	92	磺胺二甲嘧啶
23	氟氯氧菊酯	58	氮氨基吡啶	93	磺胺类
24	三氟氧菊酯	59	伊维菌素	94	噻苯达唑
25	氯氧菊酯/ α -氯氧菊酯	60	卡那霉素	95	甲砒霉素
26	环丙氨嗪	61	吉他霉素	96	泰妙菌素
27	达氟沙星	62	抗球虫药	97	替米考星
28	癸氧喹酯	63	左旋咪唑	98	托曲珠利

29	溴氰菊酯	64	林可霉素	99	敌百虫
30	越霉素 A	65	马度米星铵	100	三氯苯哒唑
31	地塞米松	66	马拉硫磷	101	甲氧苄啶
32	二嗪农	67	甲苯咪唑	102	泰乐菌素
33	敌敌畏	68	安乃近	103	泰万菌素
34	地克珠利	69	莫能菌素	104	维吉尼亚霉素
35	地昔尼尔	70	莫昔克丁		

2) 允许用于食品动物，但不需要制定残留限量的兽药

No	化合物	No	化合物	No	化合物
1	醋酸	53	叶酸	105	过硫酸氢钾
2	安络血	54	促卵泡素	106	硫酸钾
3	氢氧化铝	55	甲醛	107	聚维酮碘
4	氯化铵	56	甲酸	108	碘解磷定
5	安普霉素	57	明胶	109	吡嗪酮
6	青蒿琥酯	58	葡萄糖	110	普鲁卡因
7	阿司匹林	59	戊二醛	111	黄体酮
8	阿托品	60	甘油	112	双羟萘酸噻啉啶
9	甲基吡啶磷	61	垂体促性腺激素释放激素	113	溶葡萄球菌酶
10	苯扎溴铵	62	月苄三甲氯铵	114	水杨酸
11	小檗碱	63	绒促性素	115	东莨菪碱
12	甜菜碱	64	盐酸	116	血促性素
13	碱式碳酸铋	65	氢氯噻嗪	117	碳酸氢钠
14	碱式硝酸铋	66	氢化可的松	118	溴化钠
15	硼砂	67	过氧化氢	119	氯化钠
16	硼酸及其盐	68	鱼石脂	120	二氯异氰尿酸钠
17	咖啡因	69	苯噻唑	121	二巯丙磺钠
18	硼葡萄糖酸钙	70	碘和碘无机化合物	122	氢氧化钠
19	碳酸钙	71	右旋糖酐铁	123	乳酸钠
20	氯化钙	72	白陶土	124	亚硝酸钠
21	葡萄糖酸钙	73	氯胺酮	125	过硼酸钠
22	磷酸氢钙	74	乳糖生	126	过碳酸钠
23	次氯酸钙	75	乳酸	127	高碘酸钠
24	泛酸钙	76	利多卡因	128	焦亚硫酸钠
25	过氧化钙	77	促黄体素	129	水杨酸钠
26	磷酸钙	78	氯化镁	130	亚硒酸钠
27	硫酸钙	79	氧化镁	131	硬脂酸钠
28	樟脑	80	硫酸镁	132	硫酸钠
29	氯己定	81	甘露醇	133	硫代硫酸钠
30	含氯石灰	82	药用炭	134	软皂
31	亚氯酸钠	83	甲萘醌	135	脱水山梨醇三油酸酯
32	氯甲酚	84	蛋氨酸碘	136	山梨醇
33	胆碱	85	亚甲蓝	137	士的宁
34	枸橼酸	86	萘普生	138	愈创木酚磺酸钾

35	氯前列醇	87	新斯的明	139	硫
36	硫酸铜	88	中性电解氧化水	140	丁卡因
37	可的松	89	烟酰胺	141	硫喷妥钠
38	甲酚	90	烟酸	142	维生素 A
39	癸甲溴铵	91	去甲肾上腺素	143	维生素 B1
40	癸氧喹酯	92	辛氨乙甘酸	144	维生素 B12
41	地克珠利	93	缩宫素	145	维生素 B2
42	二巯基丙醇	94	对乙酰氨基酚	146	维生素 B6
43	二甲硅油	95	石蜡	147	维生素 C
44	度米芬	96	胃蛋白酶	148	维生素 D
45	干酵母	97	过氧乙酸	149	维生素 E
46	肾上腺素	98	苯酚	150	维生素 K1
47	马来酸麦角新碱	99	聚乙二醇	151	赛拉嗪
48	酚磺乙胺	100	吐温-80	152	赛拉唑
49	乙醇	101	垂体后叶	153	氧化锌
50	硫酸亚铁	102	硫酸铝钾	154	硫酸锌
51	氟氯苯氟菊酯	103	氯化钾		
52	氟轻松	104	高锰酸钾		

3) 允许作治疗用,但不得在动物性食品中检出的兽药

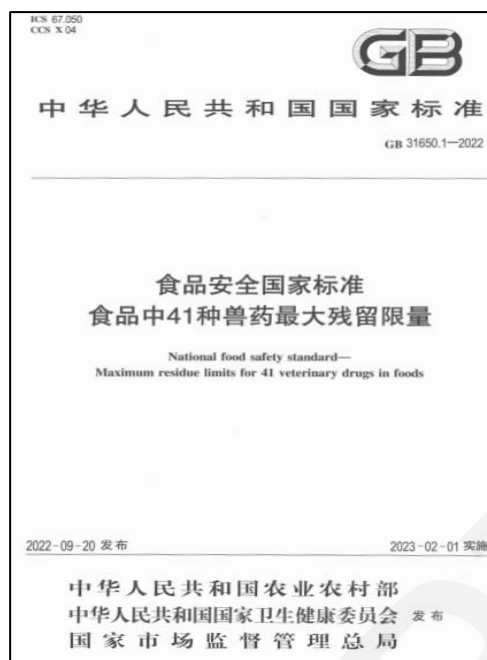
No	化合物	No	化合物	No	化合物
1	氯丙嗪	4	苯甲酸雌二醇	7	苯丙酸诺龙
2	地西洋	5	潮霉素 B	8	丙酸睾酮
3	地美硝唑	6	甲硝唑	9	赛拉嗪

1.2 GB 31650.1-2022《食品安全国家标准 食品中 41 种兽药最大残留限量》

2022 年 9 月,根据《中华人民共和国食品安全法》规定,食品安全国家标准审评委员会审查通过农业农村部第 594 号公告 GB 31650.1-2022《食品安全国家标准 食品中 41 种兽药最大残留限量》,于 2023 年 2 月 1 日起实施。本文件是 GB 31650-2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》的增补版,与 GB 31650-2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》配套使用。

GB 31650.1-2022《食品安全国家标准 食品中 41 种兽药最大残留限量》包括转化 CAC 限量标准的药物 5 种,农业部公告试行标准转化为食品安全国家标准的药物 7 种,农业部第 2292 号公告食品动物停用的喹诺酮类药物 4 种和蛋鸡产蛋期禁用的药物 25 种。GB 31650.1-2022 的发布,是对我国食品中兽残最大残留限量的进一步补充和完善,为兽药残留检测工作提供了更全面科学的判定依据,有利于更好地保障我国的食品安全。

与 GB 31650-2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》相比,GB 31650.1-2022 在术语与定义、技术要求、检测结果判定方面均有改进。



1.2.1 术语和定义

新标准在术语方面，增加了“残留标志物”（Marker Residue）的定义：指动物用药后在靶组织中与总残留物有明确相关性的残留物。可以是药物原形、相关代谢物，也可以是原形与代谢物的加和，或者是可转为单一衍生物或药物分子片段的残留物总量。

1.2.2 技术要求

新标准共涉及 41 种兽药，122 个限量值，其中 16 种是在原标准的基础上新增的兽药，共 97 个限量值；25 种是原标准已经规定的兽药，此次只是新增了 25 个限量值。

1.2.2.1 16 种新增药物名称

新标准新增的 16 种兽药中，包含转化 CAC 限量标准的药物 5 种，农业部公告试行标准转化为食品安全国家标准的药物 7 种，农业部第 2292 号公告食品动物停用的喹诺酮类药物 4 种，具体 16 种兽药名称及残留限量见下表 1。

表 1. 16 种新增兽药的分类、残留标准物及残留限量

No.	名称	兽药分类	残留标志物	动物种类	靶组织	最大残留限量, $\mu\text{g}/\text{kg}$	备注
1	加米霉素	大环内酯类 抗生素	加米霉素	猪	肌肉	100	农业部公告试行标准转化为食品安全国家标准的药物
					皮+脂	100	
					肝	100	
				牛	肾	300	
					肌肉	150	
					脂肪	20	
2	泰拉霉素	大环内酯类 抗生素	泰拉霉素等效物，以(2R,3S,4R,5R,8R,10R,11R,12S,13S,14R)-2-乙基-3,4,10,13-四羟基-	牛	肌肉	300	农业部公告试行标准转化为
					脂肪	200	
					肝	4500	

			3,5,8,10,12,14-六甲基-11-[[3,4,6-三脱氧-3-(二甲氨基)- β -D-木吡喃型己糖基]氧]-1-氧杂-6-氮杂环十五烷-15-酮计	猪	肾	3000	食品安全
					肌肉	800	国家标准
					脂肪	300	的药物
					肝	4000	
					肾	8000	
3	氟尼辛	解热镇痛抗炎药	可食组织：氟尼辛 牛奶：5-羟基氟尼辛	猪	肌肉	50	农业部公告试行标准转化为食品安全国家标准的药物
					脂肪	10	
					肝	200	
					肾	30	
				牛	肌肉	20	
					脂肪	30	
					肝	300	
					肾	100	
					奶	40	
4	美洛昔康	解热镇痛抗炎药	美洛昔康	猪	肌肉	20	农业部公告试行标准转化为食品安全国家标准的药物
					肝	65	
					肾	65	
				牛	肌肉	20	
					肝	65	
					肾	65	
					奶	15	
5	双氯芬酸	解热镇痛抗炎药	双氯芬酸	猪	肌肉	5	农业部公告试行标准转化为食品安全国家标准的药物
					皮+脂	1	
					肝	5	
					肾	10	
6	烯丙孕素	性激素药	烯丙孕素	猪	肌肉	1	农业部公告试行标准转化为食品安全国家标准的药物
					皮+脂	4	
					肝	2	
7	马波沙星	喹诺酮类合成抗菌药	马波沙星	牛	肌肉	150	农业部公告试行标准转化为食品安全国家标准的药物
					脂肪	50	
					肝	150	
					肾	150	
					奶	75	
				猪	肌肉	150	
					皮+脂	50	
					肝	150	
					肾	150	
8	洛美沙星	喹诺酮类合成抗菌药	洛美沙星	所有食品动物	肌肉	2	农业部公告第2292号在食品动物中停止使用的药物
					肝	2	
					肾	2	
					脂肪	2	
					奶	2	
					蛋	2	

				鱼	皮+肉	2	
				蜜蜂	蜂蜜	5	
9	诺氟沙星	喹诺酮类合成抗菌药	诺氟沙星	所有食品	肌肉	2	农业部公告第2292号在食品动物中停止使用的药物
				动物	肝	2	
					肾	2	
					脂肪	2	
					奶	2	
					蛋	2	
				鱼	皮+肉	2	
				蜜蜂	蜂蜜	5	
10	培氟沙星	喹诺酮类合成抗菌药	培氟沙星	所有食品	肌肉	2	农业部公告第2292号在食品动物中停止使用的药物
				动物	肝	2	
					肾	2	
					脂肪	2	
					奶	2	
					蛋	2	
				鱼	皮+肉	2	
				蜜蜂	蜂蜜	5	
11	氧氟沙星	喹诺酮类合成抗菌药	氧氟沙星	所有食品	肌肉	2	农业部公告第2292号中在食品动物中停止使用的药物
				动物	肝	2	
					肾	2	
					脂肪	2	
					奶	2	
					蛋	2	
				鱼	皮+肉	2	
				蜜蜂	蜂蜜	5	
12	氟苯脲	杀虫药	氟苯脲	鱼	皮+肉	400	
13	氯芬新	杀虫药	氯芬新	鲑鱼	皮+肉	1350	转化 CAC 限量标准的药物
				鳟鱼	皮+肉	1350	
14	因灭汀	杀虫药	埃玛菌素 B1a	鲑鱼	皮+肉	100	
				鳟鱼	皮+肉	100	
15	得曲恩特	抗寄生虫药	得曲恩特	绵羊	肌肉	0.3	转化 CAC 限量标准的药物
					脂肪	7	
					肝	0.8	
				牛	肾	0.4	
16	莫奈太尔	抗寄生虫药	莫奈太尔砒		肌肉	300	转化 CAC 限量标准的药物
					脂肪	7000	
					肝	2000	
					肾	1000	
				绵羊	肌肉	500	
					脂肪	13000	
					肝	7000	
	肾	1700					

1.2.2.2 25 种新增限量值的药物名称

25 种兽药是原标准已经有规定的，且在产蛋期禁用，此次只是在新标准中新增了对不同动物种类的蛋组织制订了最大残留限量。具体 25 种兽药的最大残留量详见表 2。

表 2. 25 种兽药在不同动物种类中蛋组织的最大残留限量(MRL, $\mu\text{g}/\text{kg}$)

No	名称	兽药分类	残留标志物	GB 31650.1-2022			GB 31650-2019
				动物种类	靶组织	MRL	
1	阿莫西林	β 内酰胺类抗生素	阿莫西林	家禽	蛋	4	
2	氨苄西林	β 内酰胺类抗生素	氨苄西林	家禽	蛋	4	
3	青霉素、普鲁卡因青霉素	β 内酰胺类抗生素	青霉素	家禽	蛋	4	
4	氯唑西林	β 内酰胺类抗生素	氯唑西林	家禽	蛋	4	
5	苯唑西林	β 内酰胺类抗生素	苯唑西林	家禽	蛋	4	
6	安普霉素	氨基糖苷类抗生素	安普霉素	鸡	蛋	10	
7	卡那霉素	氨基糖苷类抗生素	卡那霉素 A	家禽	蛋	10	
8	替米考星	大环内酯类抗生素	替米考星	家禽	蛋	10	
9	阿维拉霉素	寡糖类抗生素	二氯异苔酸	鸡/火鸡	蛋	10	需要制定限量的
10	磺胺二甲嘧啶	磺胺类合成抗菌药	磺胺二甲嘧啶	家禽	蛋	10	兽药，在产蛋期
11	磺胺类	磺胺类合成抗菌药	兽药原型之和	家禽	蛋	10	禁用。同时二氟
12	甲氧苄啶	抗菌增效剂	甲氧苄啶	家禽	蛋	10	沙星、多西环
13	地克珠利	抗球虫药	地克珠利	家禽	蛋	10	素、氟苯尼考、
14	托曲珠利	抗球虫药	托曲珠利砒	家禽	蛋	10	托曲珠利、左旋
15	左旋咪唑	抗线虫药	左旋咪唑	家禽	蛋	5	咪唑和安普霉素
16	达氟沙星	喹诺酮类合成抗菌药	达氟沙星	家禽	蛋	10	在泌乳期也禁
17	二氟沙星	喹诺酮类合成抗菌药	二氟沙星	家禽	蛋	10	用。
18	恩诺沙星	喹诺酮类合成抗菌药	恩诺沙星与环丙沙星之和	家禽	蛋	10	
19	氟甲喹	喹诺酮类合成抗菌药	氟甲喹	鸡	蛋	10	
20	噁喹酸	喹诺酮类合成抗菌药	噁喹酸	鸡	蛋	10	
21	沙拉沙星	喹诺酮类合成抗菌药	沙拉沙星	鸡/火鸡	蛋	5	
22	多西环素	四环素类抗生素	多西环素	家禽	蛋	10	
23	氟苯尼考	酰胺醇类抗生素	氟苯尼考和氟苯尼考胺之和	家禽	蛋	10	
24	甲砒霉素	酰胺醇类抗生素	甲砒霉素	家禽	蛋	10	
25	阿司匹林	解热镇痛抗炎药	阿司匹林	鸡	蛋	10	允许使用，不需要制定最大残留量的兽药，在产蛋期禁用，泌乳期禁用。

需要注意的是，农业部公告第 2292 号中在食品动物中停止使用 4 种兽药及原标准中规定了在产蛋期禁用的 25 种兽药，虽然本次新增了在食品中的最大残留限量值，但并不意味着可

以在食品动物或产蛋期中使用，仍要遵守农业部公告第 2292 号及原标准中的停止使用和产蛋期禁止使用的规定。

1.2.3 检测结果判定

对于需要制定限量的兽药根据药物在不同动物种类及靶组织的最大残留限量值进行判定：检测结果大于等于最大残留限量值判定为不合格，检测结果小于最大残留限量值判定为合格。

对于禁用药物或允许作治疗用，但不得在动物性食品中检出的兽药按照不得检出进行判定。注意 4 种停用的喹诺酮类兽药及 25 种产蛋期禁用的兽药在 2023 年 2 月 1 日前仍按不得检出进行判定，在 2023 年 2 月 1 日后按新标准中制定的最大残留限量值进行判定。

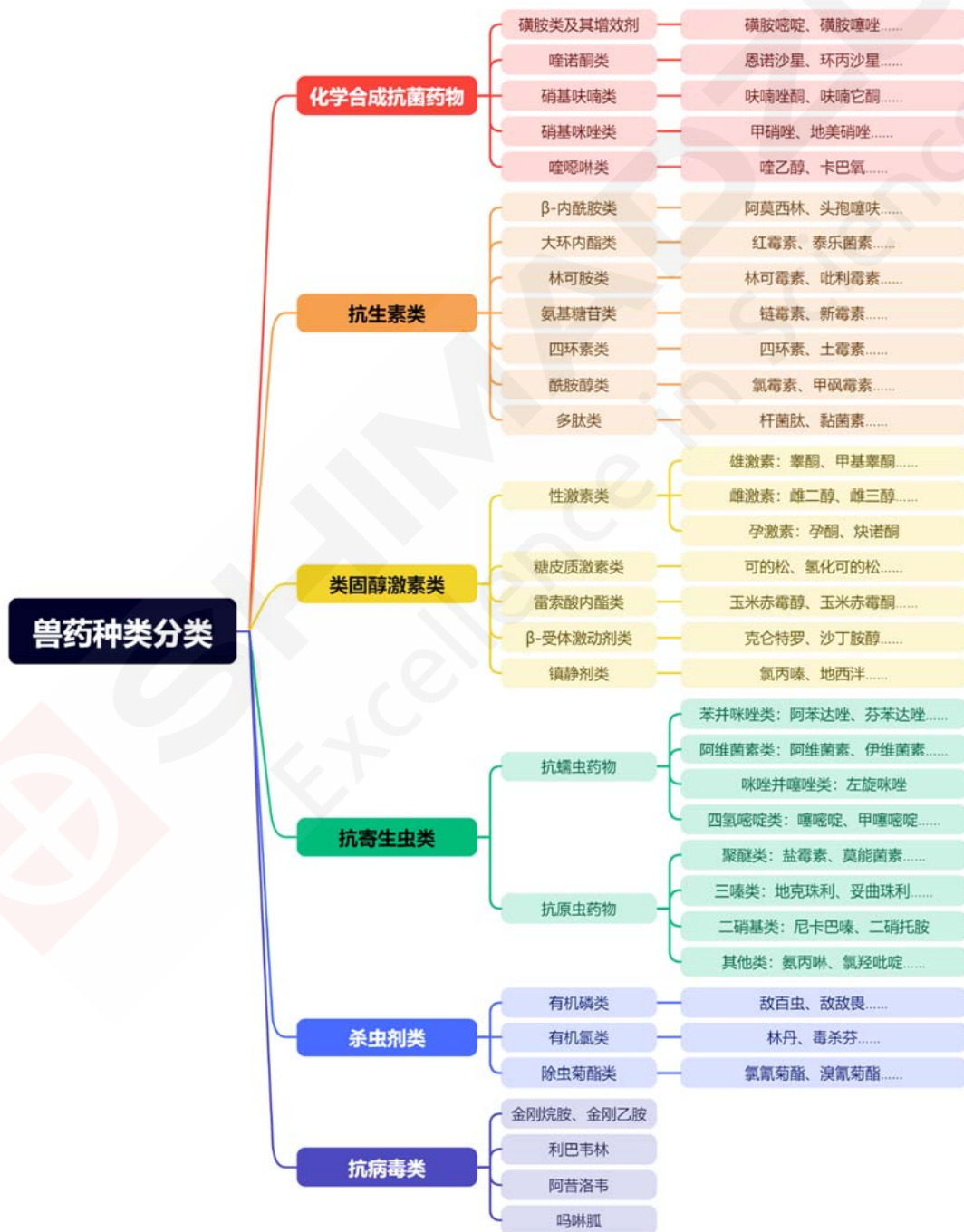
2 新颁布兽残检测标准（2019 年至今）

颁布年份	标准号	具体内容	涉及化合物数目
2019 年	GB 31660.1-2019	水产品中大环内酯类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	9
	GB 31660.2-2019	水产品中辛基酚、壬基酚、双酚 A、己烯雌酚、雌酮、17 α -乙炔雌二醇、17 β -雌二醇、雌三醇残留量的测定 气相色谱-质谱法	8
	GB 31660.3-2019	水产品中氟乐灵残留量的测定 气相色谱法	1
	GB 31660.4-2019	动物性食品中醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	2
	GB 31660.5-2019	动物性食品中金刚烷胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
	GB 31660.6-2019	动物性食品中 5 种 α 2-受体激动剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	5
	GB 31660.7-2019	猪组织和尿液中赛庚啶及可乐定残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	2
	GB 31660.8-2019	牛可食性组织及牛奶中氮氨菲啶残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
	GB 31660.9-2019	家禽可食性组织中乙酰胺苯甲酯残留量的测定 高效液相色谱法	1
2021 年	GB 31613.1-2021	牛可食性组织中氨丙啉残留量的测定 液相色谱-串联质谱法和高效液相色谱法	1
	GB 31613.2-2021	猪、鸡可食性组织中泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	2
	GB 31613.3-2021	鸡可食性组织中二硝托胺残留量的测定	1
	GB 31659.1-2021	牛奶中赛拉嗪残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
	GB 31656.1-2021	水产品中甲苯咪唑及代谢物残留量的测定 高效液相色谱法	3
	GB 31656.2-2021	水产品中泰乐菌素残留量的测定 高效液相色谱法	1
	GB 31656.3-2021	水产品中诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、氧氟沙星、噁喹酸、氟甲喹残留量的测定 高效液相色谱法	6
	GB 31656.4-2021	水产品中氯丙嗪残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
	GB 31656.5-2021	水产品中安眠酮残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
	GB 31656.6-2021	水产品中丁香酚残留量的测定 气相色谱-质谱法	1
	GB 31656.7-2021	水产品中氯硝柳胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
GB 31656.8-2021	水产品中有机磷类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	9	
GB 31656.9-2021	水产品中二甲戊灵残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1	
GB 31656.10-2021	水产品中四聚乙醛残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1	
GB 31656.11-2021	水产品中土霉素、四环素、金霉素和多西环素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	4	

2021 年	GB 31656.12-2021	水产品中青霉素类药物多残留的测定 液相色谱-串联质谱法	11
	GB 31656.13-2021	水产品中硝基咪唑类代谢物多残留的测定 液相色谱-串联质谱法	4
	GB 31657.1-2021	蜂蜜和蜂王浆中氟胺氟菊酯残留量的测定 气相色谱法	1
	GB 31657.2-2021	蜂产品中喹诺酮类药物多残留的测定 液相色谱-串联质谱法	20
	GB 31658.1-2021	动物性食品中头孢噻吩残留量的测定 高效液相色谱法	1
	GB 31658.2-2021	动物性食品中氯霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
	GB 31658.3-2021	猪尿中巴氯酚残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
	GB 31658.4-2021	动物性食品中头孢类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	9
	GB 31658.5-2021	动物性食品中氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	2
	GB 31658.6-2021	动物性食品中四环素类药物残留量的测定 高效液相色谱法	4
	GB 31658.7-2021	动物性食品中 17 β -雌二醇、雌三醇、炔雌醇和雌酮残留量的测定 气相色谱-质谱法	4
	GB 31658.8-2021	动物性食品中拟除虫菊酯类药物残留量的测定 气相色谱-质谱法	6
	GB 31658.9-2021	动物性食品及尿液中雌激素类药物多残留的测定 液相色谱-串联质谱法	8
	GB 31658.10-2021	动物性食品中氨基甲酸酯类杀虫剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	22
	GB 31658.11-2021	动物性食品中阿苯达唑及其代谢物残留量的测定 高效液相色谱法	4
	GB 31658.12-2021	动物性食品中环丙氨嗪残留量的测定 高效液相色谱法	1
	GB 31658.13-2021	动物性食品中氯苯胍残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
GB 31658.14-2021	动物性食品中 α -群勃龙和 β -群勃龙残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	2	
GB 31658.15-2021	动物性食品中赛拉嗪及代谢物 2,6-二甲基苯胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	2	
GB 31658.16-2021	动物性食品中阿维菌素类药物残留量的测定 高效液相色谱法和液相色谱-串联质谱法	4	
GB 31658.17-2021	动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	36	
2022 年	GB 31613.4-2022	牛可食性组织中吡利霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
	GB 31613.5-2022	鸡可食组织中抗球虫药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
	GB 31613.6-2022	猪和家禽可食性组织中维吉尼亚霉素 M1 残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
	GB 31659.2-2022	禽蛋、奶和奶粉中多西环素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
	GB 31659.3-2022	奶和奶粉中头孢类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	9
	GB 31659.4-2022	奶及奶粉中阿维菌素类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	4
	GB 31659.5-2022	牛奶中利福昔明残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
	GB 31659.6-2022	牛奶中氯前列醇残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
	GB 31656.14-2022	水产品中 27 种性激素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	27
	GB 31656.15-2022	水产品中甲苯咪唑及其代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	3
	GB 31656.16-2022	水产品中氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺残留量的测定 气相色谱法	4
	GB 31656.17-2022	水产品中二硫氰基残留量的测定 气相色谱法	1
	GB 31657.3-2022	蜂产品中头孢类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	9
GB 31658.18-2022	动物性食品中三氮唑残留量的测定 高效液相色谱法	1	
GB 31658.19-2022	动物性食品中阿托品、东莨菪碱、山莨菪碱、利多卡因、普鲁卡因残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	5	

	GB 31658.20-2022	动物性食品中酰胺醇类药物及其代谢物残留量的测定液相色谱-串联质谱法	4
	GB 31658.21-2022	动物性食品中左旋咪唑残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
	GB 31658.22-2022	动物性食品中 β -受体激动剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	18
	GB 31658.23-2022	动物性食品中硝基咪唑类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	4
2022 年	GB 31658.24-2022	动物性食品中赛杜霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	1
	GB 31658.25-2022	动物性食品中 10 种利尿药残留量的测定 液相色谱-串联质谱法	10

3 常见兽药分类（按用途）



第 2 章 兽药残留分析应用方案

2.1 多兽残同时分析

LCMS-8050测定猪尿中160种兽药残留的含量

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用测定猪尿中 160 种兽药残留的方法, 该方法可在 30 min 内完成对待测物的检测, 160 种兽药在 1.0 ~100 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好, 校准曲线线性相关系数 r 在 0.996 以上, 精密度结果良好。在高、中、低三个加标浓度下, 80%以上的化合物回收率在 60%~120%之间且重复性良好其中加标浓度为 1 $\mu\text{g/kg}$ 的样品, 也有 135 种化合物的回收率在 60~120%之间。该方法灵敏度高, 分析时间短, 结果准确, 适用于畜禽尿液中多兽药残留的测定。

关键词: 三重四极杆质谱 猪尿 兽药残留

在畜牧业生产、禽类饲养和水产品养殖过程中, 兽药的使用是不可避免的, 或用于疾病预防和治疗, 或调节生理机能, 促进生长。但因兽药种类多, 理化性质差异较大, 大多检测方法只能满足于某种或某类兽药的检测, 给检测人员带来了巨大的挑战。

2019年8月, 农业农村部发布了第197号-10-2019公告《畜禽血液和尿液中160种兽药及其化合物的测定 液相色谱-串联质谱法》, 规定了猪血、牛血、羊血和鸡血以及猪尿、牛尿、羊尿中160种兽药及其他化合物的液相色谱串联质谱测定方法。160种兽药包括磺胺类、喹诺酮类、咪唑与苯并咪唑类、苯并咪唑类、聚醚类、大环内酯类、甾体类、 β 受体激素类、精神类、兴奋剂、中枢神经类、抗组胺类、抗真菌类、非甾体类等。样品用乙腈在弱酸性条件下从尿液中提取, 经QuEChERS方法净化, 使用液相色谱-串联质谱进行检测, 采用基质匹配法校准, 外标法定量。标准于2020年1月1日起正式实施, 是首个动物养殖中检测跨类多残留的国家标准, 一来可以从养殖源头监测兽药残留情况, 另外也极大地提高了对兽药检测的效率。

本文参考农业农村部197-10-2019号标准, 使用岛津超高效液相色谱串联质谱仪, 建立了160种兽药测定方法。本方法简便、快速、准确、灵敏度高, 结果准确, 供相关人员参考。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 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-40DX3 \times 2	质谱仪:	LCMS-8050
柱温箱:	CTO-40C	色谱工作站:	LabSolutions Ver. 5.99
在线脱气机:	DGU-405		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱: Shim-pack GIST-HP C18-AQ (150 mm \times 3.0 mm I.D., 1.9 μm , 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30808-03)

流动相：A相-0.2%甲酸+2 mmol/L 乙酸铵，B相-0.2%甲酸甲醇溶液

流 速：0.40 mL/min

进样体积：2 μ L

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 5%，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.	5
3.00	Pumps	Pump B Conc.	15
10.00	Pumps	Pump B Conc.	40
18.00	Pumps	Pump B Conc.	100
22.00	Pumps	Pump B Conc.	100
22.10	Pumps	Pump B Conc.	5
30.00	Controller	Stop	

质谱条件

离 子 源	: ESI+	加 热 模 块 温 度	: 300°C
离 子 源 接 口 电 压	: 0.5 kV	DL 温 度	: 250°C
雾 化 气 流 速	: 3.0 L/min	离 子 源 温 度	: 400°C
加 热 气 流 速	: 10.0 L/min	扫 描 模 式	: 多反应监测(MRM)
干 燥 气 流 速	: 10.0 L/min	M R M 参 数	: 见表 2

1.3 样品前处理方法

参照农业农村部公告第 197 号-10-2019《畜禽血液和尿液中 160 中兽药及其他化合物的测定 液相色谱-串联质谱法》中试样的处理与净化方法。

1.4 基质标准溶液的配制

取若干份空白试样，按上述前处理方法净化，然后加入不同体积的混合标准工作溶液，配制成浓度为 1、5、10、20、50、100 ng/mL 基质匹配的混合标准系列溶液，供液相色谱-串联质谱分析测定，该系列溶液需临用现。

表 2. MRM 参数

No.	中文名称	英文名称	化学式	CAS No.	分子量	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	羟基甲硝唑	Hydroxy metronidazole	C ₆ H ₉ N ₃ O ₄	4812-40-2	187.2	188.2	126.2	-13	-18	-22
							123.2	-14	-13	-12
2	苯并咪唑	Benzimidazole	C ₇ H ₆ N ₂	51-17-2	118.1	119.2	65.1	-15	-31	-11
							92.1	-18	-25	-18
3	2-甲基-4-硝基咪唑	2-Methyl-4-nitroimidazole	C ₄ H ₅ N ₃ O ₂	696-23-1	127.1	128.2	82.1	-16	-19	-16
							42.2	-17	-35	-15
4	2-甲硝咪唑	2-Methyl-5-nitroimidazole	C ₅ H ₇ N ₃ O ₂	551-92-8	141.1	128.2	82.1	-10	-18	-16
							42.2	-16	-32	-15
5	索他洛尔	Sotalol	C ₁₂ H ₂₀ N ₂ O ₃ S	3930-20-9	272.4	273.2	255.2	-10	-7	-18
							213.2	-10	-18	-14
6	舒必利	Sulpiride	C ₁₅ H ₂₃ N ₃ O ₄ S	15676-16-1	341.4	342.3	112.3	-10	-27	-11
							214.1	-10	-32	-22
7	羟甲基甲硝咪唑	1-Methyl-5-nitro-1H-imidazole-2-methanol	C ₅ H ₇ N ₃ O ₃	936-05-0	157.1	158.2	140.2	-11	-15	-14
							55.2	-11	-20	-21
8	磺胺醋酰	Sulfacetamide	C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₃ S	144-80-9	214.2	215.2	156.1	-11	-11	-10
							92.1	-11	-23	-18
9	甲硝唑	Metronidazole	C ₆ H ₉ N ₃ O ₃	443-48-1	171.2	172.2	128.1	-12	-17	-26
							82.2	-12	-25	-16
10	普鲁卡因	Procaine	C ₁₃ H ₂₀ N ₂ O ₂	59-46-1	236.3	237.2	100.3	-12	-16	-19
							120.1	-12	-24	-12
11	洛硝达唑	Ronidazole	C ₆ H ₈ N ₄ O ₄	7681-76-7	200.2	201.2	140.1	-13	-13	-14
							55.1	-14	-23	-22
12	对乙酰氨基酚	Acetaminophen	C ₈ H ₉ NO ₂	103-90-2	151.2	152.2	110.1	-10	-18	-21
							65.1	-11	-32	-12

13	可待因	Codeine	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	76-57-3	299.4	300.1	165.2	-11	-45	-17
							128.1	-11	-55	-13
14	磺胺二甲嘧啶	Sulfamethazine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	57-68-1	278.3	279.1	186.1	-10	-17	-12
							156.1	-10	-19	-10
15	地美硝唑	1,2-Dimethyl-5-nitroimidazole	C ₅ H ₇ N ₃ O ₂	551-92-8	141.1	142.2	96.1	-10	-16	-18
							81.2	-10	-26	-16
16	磺胺嘧啶	Sulfadiazine	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	68-35-9	250.3	251.2	156.1	-13	-16	-16
							108.2	-13	-24	-21
17	1, 7-二甲基黄嘌呤	1,7-Dimethylxanthine	C ₇ H ₈ N ₄ O ₂	611-59-6	180.2	181.2	124.1	-10	-21	-23
							42.2	-12	-37	-16
18	左旋咪唑	Levamisole	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ S	14769-73-4	204.3	205.1	178.1	-11	-21	-12
							91.1	-10	-40	-17
19	磺胺噻唑	Sulfathiazole	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ S ₂	72-14-0	255.3	256.0	156.1	-13	-15	-10
							108.1	-10	-23	-20
20	利托菌	Ritodrine	C ₁₇ H ₂₁ NO ₃	26652-09-5	287.4	288.2	270.2	-11	-9	-19
							121.2	-11	-23	-12
21	替硝唑	Tinidazole	C ₈ H ₁₃ N ₃ O ₄ S	19387-91-8	247.3	248.2	121.3	-10	-17	-24
							93.1	-12	-20	-17
22	阿苯哒唑-2-氨基砜	Albendazole-2-aminosulfone	C ₁₀ H ₁₃ N ₃ O ₂ S	80983-34-2	239.3	240.2	133.1	-13	-29	-26
							198.1	-13	-19	-20
23	磺胺吡啶	Sulfapyridine	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₂ S	144-83-2	249.3	250.2	156.1	-13	-17	-16
							184.2	-13	-18	-12
24	氯普鲁卡因	Chloroprocaine hydrochloride	C ₁₃ H ₂₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	3858-89-7	307.2	271.1	154.1	-10	-26	-10
							100.3	-14	-16	-20
25	氯甲硝咪唑	5-Chloro-1-methyl-4-nitroimidazole	C ₄ H ₄ ClN ₃ O ₂	4897-25-0	161.6	162.3	116.1	-10	-20	-12
							145.1	-10	-17	-15
26	塞克硝唑	Secnidazole	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₃	3366-95-8	185.2	186.2	128.2	-10	-14	-25
							59.2	-13	-19	-22

27	麻保沙星	Marbofloxacin	C ₁₇ H ₁₉ FN ₄ O ₄	115550-35-1	362.4	363.1	345.2	-18	-22	-25
							320.2	-13	-16	-22
28	甲氧苄啶	Trimethoprim	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	738-70-5	290.3	291.2	230.2	-11	-23	-16
							123.1	-11	-25	-23
29	5-羟基噻苯咪唑	5-Hydroxy-Thiabendazole	C ₁₀ H ₇ N ₃ OS	948-71-0	217.3	218.2	191.1	-11	-26	-13
							147.1	-11	-33	-15
30	氟罗沙星	Fleroxacin	C ₁₇ H ₁₈ F ₃ N ₃ O ₃	79660-72-3	369.3	370.1	326.3	-13	-19	-16
							269.2	-11	-26	-18
31	磺胺甲基嘧啶	Sulfamerazine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	127-79-7	264.3	265.2	156.2	-10	-17	-16
							172.1	-10	-17	-11
32	克伦塞罗	Clencyclohexerol	C ₁₄ H ₂₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	157877-79-7	319.2	319.2	203.1	-16	-21	-14
							168.1	-12	-33	-17
33	氯羟吡啶	Clopidol	C ₇ H ₇ Cl ₂ NO	2971-90-6	192.0	192.0	87.1	-11	-31	-17
							101.1	-10	-28	-19
34	氧氟沙星	Ofloxacin	C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₄	82419-36-1	361.4	362.1	318.3	-11	-20	-22
							261.2	-19	-27	-18
35	磺胺二甲唑	Sulfamoxol	C ₁₁ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	729-99-7	267.3	268.2	156.3	-10	-16	-16
							113.2	-10	-22	-22
36	咖啡因	Caffeine	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	58-08-2	194.2	195.2	83.1	-10	-30	-16
							138.1	-10	-19	-27
37	氮哌醇	Azaperol	C ₁₉ H ₂₄ FN ₃ O	2804-05-9	329.4	330.3	121.2	-10	-25	-23
							149.2	-10	-29	-29
38	羟甲基克伦特罗	HydroxyMethyl Clenbuterol	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O ₂	38339-18-3	293.2	293.1	275.2	-11	-12	-19
							203.1	-15	-19	-21
39	利多卡因	Lidocaine	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O	137-58-6	234.3	235.3	58.2	-12	-35	-10
							86.2	-12	-28	-16
40	克伦普罗	Clenproperol	C ₁₁ H ₁₆ Cl ₂ N ₂ O	38339-11-6	263.2	263.2	245.1	-10	-12	-17
							203.1	-10	-18	-14

41	5-硝基苯并咪唑	5-Nitrobenzimidazole	C ₇ H ₅ N ₃ O ₂	94-52-0	163.1	164.2	118.1	-12	-22	-22
							91.1	-12	-38	-18
42	磺胺甲噻二唑	Sulfamethizole	C ₉ H ₁₀ N ₄ O ₂ S ₂	144-82-1	270.3	271.3	156.1	-13	-15	-16
							108.1	-10	-24	-20
43	磺胺甲氧达嗪	Sulfamethoxypyridazine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	80-35-3	280.3	281.1	156.2	-10	-17	-16
							108.1	-10	-25	-21
44	氨苯砜	4,4'- Diaminodiphenylsulfone	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₂ S	80-08-0	248.3	249.2	156.3	-13	-14	-17
							92.2	-13	-24	-18
45	恩诺沙星	Enrofloxacin	C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₃	93106-60-6	359.4	360.1	342.3	-13	-23	-24
							316.3	-11	-21	-22
46	磺胺索嘧啶	Sulfisomidine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	515-64-0	278.3	279.1	186.2	-10	-18	-19
							124.2	-10	-22	-24
47	磺胺对甲氧嘧啶	Sulfameter	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	651-06-9	280.3	281.1	156.2	-10	-17	-16
							108.3	-10	-25	-21
48	噻苯达唑	Thiabendazole	C ₁₀ H ₇ N ₃ S	148-79-8	201.3	202.1	175.1	-13	-25	-18
							131.1	-11	-32	-25
49	洛美沙星	Lomefloxacin	C ₁₇ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃	98079-51-7	351.4	352.2	265.2	-13	-24	-18
							308.2	-13	-17	-22
50	奥比沙星	Orbifloxacin	C ₁₉ H ₂₀ F ₃ N ₃ O ₃	113617-63-3	395.4	396.2	352.3	-12	-19	-25
							295.2	-12	-25	-21
51	羟基异丙硝唑	Hydroxy Ipronidazole	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₃	35175-14-5	185.2	186.2	168.2	-13	-15	-17
							122.3	-10	-21	-23
52	二氟沙星	Difloxacin	C ₂₁ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃	98106-17-3	399.4	400.1	382.2	-20	-23	-27
							356.3	-14	-20	-25
53	磺胺氯达嗪	Sulfachlorpyridazine	C ₁₀ H ₉ ClN ₄ O ₂ S	80-32-0	284.7	285.3	156.2	-11	-15	-16
							108.2	-14	-25	-20
54	塞拉嗪	Xylazine	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ S	7361-61-7	220.3	221.1	90.2	-15	-23	-17
							164.2	-14	-25	-11

55	磺胺甲恶唑	Sulfamethoxazole	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	723-46-6	253.3	254.2	156.1	-10	-16	-10
							108.1	-10	-23	-21
56	氮哌酮	Azaperone	C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O	1649-18-9	327.4	328.2	165.2	-10	-15	-11
							121.2	-12	-22	-24
57	沙拉沙星	Sarafloxacin	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₃ O ₃	98105-99-8	385.4	386.1	368.2	-14	-22	-18
							342.3	-14	-20	-25
58	克伦特罗	Clenbuterol	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O	37148-27-9	277.2	277.2	203.1	-14	-16	-14
							259.2	-14	-12	-18
59	卡巴氧	Carbadox	C ₁₁ H ₁₀ N ₄ O ₄	6804-07-5	262.2	263.2	129.2	-10	-30	-13
							229.2	-10	-17	-16
60	安替比林	Antipyrine	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O	60-80-0	188.2	189.1	77.1	-10	-39	-14
							147.2	-10	-21	-15
61	加替沙星	Gatifloxacin	C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₄	112811-59-3	375.4	376.2	261.2	-14	-33	-18
							245.1	-19	-53	-28
62	磺胺间甲氧嘧啶	Sulfamonomethoxine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	1220-83-3	280.3	281.0	156.2	-14	-17	-10
							108.2	-14	-25	-11
63	溴氯布特罗	Bromoclenbuterol	C ₁₂ H ₁₈ BrClN ₂ O	37153-52-9	321.6	321.2	247.0	-12	-18	-17
							168.2	-12	-29	-18
64	磺胺二甲氧达嗪	Sulfadimethoxine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	122-11-2	310.3	311.0	156.2	-11	-19	-16
							108.1	-12	-27	-20
65	氟康唑	Fluconazole	C ₁₃ H ₁₂ F ₂ N ₆ O	86386-73-4	306.3	307.1	220.1	-11	-17	-15
							238.1	-18	-17	-17
66	司帕沙星	Sparfloxacin	C ₁₉ H ₂₂ F ₂ N ₄ O ₃	111542-93-9	392.4	393.2	349.3	-14	-20	-17
							292.2	-14	-24	-14
67	莫西沙星	Moxifloxacin	C ₂₁ H ₂₄ FN ₃ O ₄	151096-09-2	401.4	402.1	364.3	-20	-29	-26
							358.3	-12	-21	-25
68	螺旋霉素	Spiramycin	C ₄₃ H ₇₄ N ₂ O ₁₄	8025-81-8	843.1	843.3	174.2	-24	-37	-11
							101.2	-24	-46	-18

69	苯氧丙酰胺	Phenoxypropionamine	C ₁₈ H ₂₄ ClNO ₃	579-56-6	337.8	302.2	284.3	-11	-22	-10
							107.2	-11	-35	-21
70	苯甲酰磺胺	Sulfabenzamide	C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O ₃ S	127-71-9	276.3	277.2	156.2	-11	-13	-16
							108.2	-10	-24	-20
71	唑吡坦	Zolpidem	C ₁₉ H ₂₁ N ₃ O	82626-48-0	307.4	308.3	235.3	-16	-25	-16
							236.2	-12	-28	-16
72	托氟沙星	Tosufloxacin	C ₁₉ H ₁₅ F ₃ N ₄ O ₃	108138-46-1	404.3	405.1	263.2	-12	-47	-18
							387.2	-12	-15	-19
73	克伦潘特	Clenpenterol	C ₁₃ H ₂₀ Cl ₂ N ₂ O	38339-21-8	291.2	291.1	273.2	-11	-12	-19
							203.1	-16	-10	-14
74	磺胺苯吡唑	sulfaphenazole	C ₁₅ H ₁₄ O ₂ N ₄ S	526-08-9	314.4	315.2	158.2	-12	-27	-17
							222.1	-16	-20	-15
75	阿司咪唑	Astemizole	C ₂₈ H ₃₁ FN ₄ O	68844-77-9	458.6	459.2	135.2	-17	-28	-13
							218.2	-23	-27	-15
76	异丙硝唑	Ipronidazole	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₂	14885-29-1	169.2	170.4	124.2	-10	-20	-22
							109.3	-10	-24	-11
77	酮替芬	Ketotifen fumarate	C ₂₃ H ₂₃ NO ₅ S	34580-14-8	425.5	310.1	96.2	-11	-23	-18
							82.1	-16	-35	-16
78	吉米沙星	Gemifloxacin	C ₁₈ H ₂₀ FN ₅ O ₄	175463-14-6	389.4	390.1	372.3	-20	-21	-26
							313.3	-19	-30	-22
79	拉贝特罗	Labetalol	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₃	36894-69-6	328.4	329.3	311.3	-12	-14	-15
							207.2	-12	-18	-14
80	唑啞心安	Carazolol	C ₁₈ H ₂₂ N ₂ O ₂	57775-29-8	298.4	299.3	116.3	-11	-22	-23
							222.2	-16	-21	-15
81	阿苯达唑亚砷	Albendazole S-oxide	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₃ S	54029-12-8	281.3	282.2	240.1	-11	-14	-16
							208.1	-14	-23	-14
82	2-氨基氟苯咪唑	2-Aminoflubendazole	C ₁₄ H ₁₀ FN ₃ O	82050-13-3	255.3	256.2	123.1	-10	-28	-23
							95.1	-13	-41	-18

83	异克伦潘特	Clenisopenterol	C ₁₃ H ₂₀ Cl ₂ N ₂ O	157664-68-1	291.2	291.1	188.1 273.2	-15 -15	-22 -12	-20 -19
84	氯苯那敏	Chlorpheniramine	C ₁₆ H ₁₉ ClN ₂	132-22-9	274.8	275.2	230.1 167.2	-16 -10	-10 -30	-21 -17
85	5-羟基甲苯咪唑	5-hydroxymebendazole	C ₁₆ H ₁₄ N ₃ O ₃	60254-95-7	296.3	298.2	266.2 160.1	-11 -11	-23 -35	-18 -30
86	西诺沙星	Cinoxacin	C ₁₂ H ₁₀ N ₂ O ₅	28657-80-9	262.2	263.1	189.1 217.1	-10 -10	-28 -22	-20 -15
87	磺胺邻二甲氧嘧啶	Sulfadoxine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	2447-57-6	310.3	311.1	156.2 92.2	-11 -16	-19 -32	-16 -18
88	替米考星	Tilmicosin	C ₄₆ H ₈₀ N ₂ O ₁₃	108050-54-0	869.1	869.4	174.2 696.5	-20 -20	-47 -45	-12 -26
89	阿苯达唑磺	Albendazole sulfone	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₄ S	75184-71-3	297.3	298.2	266.2 159.1	-11 -11	-22 -37	-18 -16
90	磺胺吡唑	Sulfapyrazole	C ₁₆ H ₁₆ N ₄ O ₂ S	852-19-7	328.4	329.2	172.2 145.2	-12 -10	-29 -46	-17 -15
91	溴苯那敏	Brompheniramine	C ₁₆ H ₁₉ BrN ₂	86-22-6	319.2	319.1	274.1 167.2	-12 -12	-10 -44	-19 -11
92	Clenhexerol	Clenhexerol	C ₁₄ H ₂₂ Cl ₂ N ₂ O	38339-23-0	305.2	305.1	203.1 132.2	-11 -11	-10 -30	-14 -25
93	苯乙醇胺 A	Phenylethanolamine A	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₄	1346746-81-3	344.4	345.3	327.3 150.2	-13 -13	-18 -24	-16 -15
94	非那西汀	Phenacetin	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	62-44-2	179.2	180.2	110.2 138.4	-12 -10	-22 -17	-21 -14
95	丁卡因	Tetracaine	C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O ₂	94-24-6	264.4	265.2	72.2 176.2	-10 -10	-23 -30	-13 -18
96	磺胺喹恶琳	Sulfaquinoxaline	C ₁₄ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	59-40-5	300.3	301.2	156.1 108.2	-11 -12	-17 -27	-16 -21

97	恶唑酸	Oxolinic acid	C ₁₃ H ₁₁ NO ₅	14698-29-4	261.2	262.1	216.1	-10	-29	-15
							160.1	-10	-38	-16
98	曲安西龙	Triamcinolone	C ₂₁ H ₂₇ FO ₆	124-94-7	394.4	395.3	357.3	-15	-14	-25
							225.2	-15	-21	-15
99	苯佐卡因	Benzocaine	C ₉ H ₁₁ NO ₂	94-09-7	165.2	166.3	120.1	-10	-19	-23
							138.1	-10	-14	-27
100	多塞平	Doxepin	C ₁₉ H ₂₁ NO	1668-19-5	279.4	280.3	107.2	-14	-24	-21
							77.1	-14	-54	-14
101	氧苯达唑	Oxibendazole	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₃	20559-55-1	249.3	250.2	218.2	-10	-12	-15
							176.1	-10	-20	-18
102	坎苯达唑	Cambendazol	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	26097-80-3	302.4	303.2	217.1	-11	-28	-15
							261.1	-12	-18	-18
103	氟哌啶醇	haloperidol	C ₂₁ H ₂₃ ClFNO ₂	52-86-8	375.9	376.3	123.1	-14	-30	-24
							165.2	-14	-30	-17
104	奥芬达唑	Oxfendazole	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	53716-50-0	315.3	316.2	159.1	-12	-32	-16
							191.2	-12	-22	-13
105	脱氧卡巴氧	Desoxycarbadox	C ₁₁ H ₁₀ N ₄ O ₂	55456-55-8	230.2	231.2	199.2	-15	-12	-21
							143.2	-12	-21	-15
106	芬苯达唑砒	Fenbendazole Sulfone	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₄ S	54029-20-8	331.3	332.2	300.1	-10	-23	-21
							159.1	-18	-38	-16
107	泼尼松	Prednisone	C ₂₁ H ₂₆ O ₅	53-03-3	358.4	359.3	341.3	-13	-13	-12
							147.2	-13	-25	-15
108	可的松	Cortisone	C ₂₁ H ₂₈ O ₅	53-06-5	360.4	361.3	163.2	-19	-25	-17
							121.2	-11	-33	-23
109	丙咪嗪	Imipramine	C ₁₉ H ₂₄ N ₂	113-52-0	280.4	281.2	86.2	-10	-11	-17
							58.2	-11	-39	-22
110	赛庚啉	Cyproheptadine	C ₂₁ H ₂₁ N	969-33-5	287.4	288.2	96.2	-11	-25	-18
							191.2	-11	-31	-19

111	萘啶酸	Nalidixic acid	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₃	389-08-2	232.2	233.1	215.2	-12	-24	-15
							187.1	-12	-35	-19
112	羟嗪	Hydroxyzine	C ₂₁ H ₂₇ N ₂ O ₂ Cl	68-88-2	374.9	375.2	201.1	-14	-12	-14
							166.2	-11	-32	-11
113	氟甲喹	Flumequine	C ₁₄ H ₁₂ FNO ₃	42835-25-6	261.2	262.1	202.2	-10	-40	-14
							126.1	-10	-48	-25
114	泼尼松龙	Prednisolone	C ₂₁ H ₂₈ O ₅	50-24-8	360.4	361.3	343.3	-13	-12	-23
							147.2	-13	-26	-15
115	辛可卡因	Dibucaine	C ₂₀ H ₂₉ N ₃ O ₂	85-79-0	343.5	344.2	215.2	-18	-31	-15
							271.2	-10	-15	-19
116	卡马西平	Carbamazepine	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	298-46-4	236.3	237.1	194.2	-12	-19	-13
							179.2	-12	-34	-19
117	柱晶白霉素	Sineptina	C ₄₀ H ₆₇ NO ₁₄	1392-21-8	786.0	786.5	109.2	-22	-49	-19
							229.2	-22	-31	-26
118	氯诺昔康	Lornoxicam	C ₁₃ H ₁₀ ClN ₃ O ₄ S ₂	70374-39-9	371.8	372.1	95.2	-11	-23	-18
							121.1	-11	-23	-24
119	那氟沙星	Nadifloxacin	C ₁₉ H ₂₁ N ₂ O ₄ F	124858-35-1	360.4	361.2	283.2	-11	-38	-20
							257.2	-13	-37	-12
120	美利曲辛	Melitracen	C ₂₁ H ₂₅ N	5118-29-6	291.4	292.2	217.2	-11	-35	-15
							247.2	-11	-19	-17
121	甲苯咪唑	Mebendazole	C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	31431-39-7	295.3	296.2	264.2	-11	-21	-18
							105.1	-11	-33	-19
122	西替利嗪	Cetirizine	C ₂₁ H ₂₅ ClN ₂ O ₃	83881-51-0	388.9	389.0	201.1	-11	-21	-21
							166.2	-19	-39	-17
123	灰黄霉素	Griseofulvin	C ₁₇ H ₁₇ ClO ₆	126-07-8	352.8	353.2	165.1	-10	-22	-29
							215.1	-13	-21	-10
124	氟苯达唑	Flubendazole	C ₁₆ H ₁₂ N ₃ O ₃ F	31430-15-6	313.3	314.1	282.2	-16	-24	-19
							123.1	-10	-35	-24

125	维吉霉素 M1	Virginiamycin M1	C ₂₈ H ₃₅ N ₃ O ₇	21411-53-0	525.6	526.2	508.3	-20	-14	-26
							355.2	-26	-19	-25
126	甲基泼尼松龙	Methylprednisolone	C ₂₂ H ₃₀ O ₅	83-43-2	374.5	375.2	357.3	-14	-12	-25
							161.2	-14	-22	-16
127	双氯青霉素	Dicloxacillin	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ O ₅ SCl ₂	3116-76-5	470.3	470.1	311.1	-11	-18	-24
							160.1	-29	-17	-18
128	曲安西龙丙酮	Triamcinolone acetonide	C ₂₄ H ₃₁ FO ₆	76-25-5	434.5	435.3	397.3	-10	-16	-28
							339.3	-13	-15	-12
129	阿苯达唑	Albendazole	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₂ S	54965-21-8	265.3	266.2	234.2	-10	-20	-16
							191.1	-10	-32	-20
130	氟米龙	Fluorometholone	C ₂₂ H ₂₉ FO ₄	426-13-1	376.5	377.2	279.3	-11	-17	-19
							321.3	-19	-16	-16
131	氟奋乃静	Fluphenazine	C ₂₂ H ₂₆ F ₃ N ₃ OS	69-23-8	437.5	438.2	171.2	-10	-26	-18
							143.2	-10	-32	-15
132	特非那定	Terfenadine	C ₃₂ H ₄₁ NO ₂	50679-08-8	471.7	472.3	454.4	-11	-24	-17
							436.4	-11	-21	-16
133	酮洛芬	ketoprofen	C ₁₆ H ₁₄ O ₃	22071-15-4	254.3	255.4	105.1	-10	-22	-21
							209.2	-10	-15	-14
134	萘普生	Naproxen	C ₁₄ H ₁₄ O ₃	22204-53-1	230.3	231.2	141.3	-12	-42	-25
							185.1	-12	-16	-12
135	地夫可特	Deflazacort	C ₂₅ H ₃₁ NO ₆	14484-47-0	441.5	442.3	124.2	-16	-44	-25
							142.1	-13	-34	-14
136	诺龙	Nandrolone	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	434-22-0	274.4	275.2	109.2	-10	-27	-21
							239.3	-14	-17	-16
137	醋酸甲基泼尼松龙	Methylprednisolone acetate	C ₂₄ H ₃₂ O ₆	53-36-1	416.5	417.3	399.3	-12	-11	-29
							253.2	-15	-22	-18
138	二氟拉松双醋酸酯	Diflorasone	C ₂₆ H ₃₂ F ₂ O ₇	33564-31-7	494.5	495.3	317.2	-10	-16	-23
							279.2	-18	-18	-19

139	睾酮	Testosterone	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	58-22-0	288.4	289.4	109.2	-11	-25	-21
							97.2	-11	-23	-18
140	萘丁美酮	Nabumetone	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	42924-53-8	228.3	229.4	128.3	-11	-40	-25
							171.2	-11	-19	-18
141	美伦孕酮	Melengestrol	C ₂₃ H ₃₀ O ₃	5633-18-1	354.5	355.2	279.3	-18	-22	-19
							337.3	-11	-16	-16
142	布地奈德	Budesonide	C ₂₅ H ₃₄ O ₆	51333-22-3	430.5	431.2	413.4	-15	-14	-15
							323.2	-10	-16	-23
143	氟替卡松丙酸酯	Fluticasone propionate	C ₂₅ H ₃₁ F ₃ O ₅ S	80474-14-2	500.6	501.1	293.3	-26	-18	-14
							313.2	-24	-16	-23
144	表睾酮	Epitestosterone	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	481-30-1	288.4	289.3	109.2	-11	-26	-20
							97.2	-11	-23	-19
145	甲地孕酮	Megestrol	C ₂₂ H ₃₀ O ₃	3562-63-8	342.5	343.2	325.3	-10	-17	-23
							267.3	-18	-22	-13
146	奥沙普秦	Oxaprozin	C ₁₈ H ₁₅ NO ₃	21256-18-8	293.3	294.0	103.1	-15	-30	-20
							234.2	-15	-21	-11
147	氯地孕酮	Chlormadinon	C ₂₁ H ₂₇ ClO ₃	1961-77-9	362.9	363.3	309.3	-13	-16	-15
							345.3	-11	-16	-17
148	氯倍他索丙酸酯	Clobetasol propionate	C ₂₅ H ₃₂ ClFO ₅	25122-46-7	467.0	467.3	355.3	-14	-16	-17
							373.3	-16	-12	-18
149	氟尼新葡甲胺	Flunixin Meglumine	C ₂₁ H ₂₈ F ₃ N ₃ O ₇	42461-84-7	491.5	297.1	279.2	-11	-29	-19
							264.1	-11	-34	-18
150	双氯芬酸	Diclofenac	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	15307-86-5	296.1	296.9	215.1	-15	-51	-14
							250.3	-11	-38	-12
151	莫米他松糠酸酯	Mometasone furoate	C ₂₇ H ₃₀ Cl ₂ O ₆	83919-23-7	521.4	521.1	503.3	-26	-13	-38
							263.2	-20	-25	-18
152	倍他米松戊酸酯	Betamethasone 17-valerate	C ₂₇ H ₃₇ FO ₆	2152-44-5	476.6	477.2	279.3	-14	-22	-19
							355.3	-14	-14	-25

153	氯倍他松丁酸酯	Clobetasone butyrate	C ₂₆ H ₃₂ ClFO ₅	25122-57-0	479.0	479.3	343.2	-11	-19	-24
							279.3	-11	-20	-19
154	安西奈德	Amcinonide	C ₂₈ H ₃₅ FO ₇	51022-69-6	502.6	503.2	339.2	-26	-16	-23
							321.2	-26	-22	-23
155	倍他米松双丙酸酯	Betamethasone Dipropionate	C ₂₈ H ₃₇ FO ₇	5593-20-4	504.6	505.2	279.3	-26	-21	-19
							319.3	-26	-18	-23
156	氯雷他定	Loratadine	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₂ O ₂	79794-75-5	382.9	383.1	337.2	-11	-25	-24
							267.2	-19	-35	-18
157	倍氯米松双丙酸酯	Beclometasone dipropionate	C ₂₈ H ₃₇ ClO ₇	1327543	521.0	521.1	503.2	-20	-14	-38
							319.3	-26	-18	-16
158	三氯苯达唑	Triclabendazole	C ₁₄ H ₉ Cl ₃ N ₂ OS	68786-66-3	359.7	359.1	274.1	-11	-36	-19
							344.0	-10	-27	-24
159	托芬那酸	Tolfenamic acid	C ₁₄ H ₁₂ ClNO ₂	13710-19-5	261.7	262.2	209.2	-10	-28	-14
							180.3	-15	-40	-19
160	莫能菌素	Monensin	C ₃₆ H ₆₁ NaO ₁₁	17090-79-8	670.9	688.3	635.5	-20	-18	-24
							461.4	-20	-25	-17

2. 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

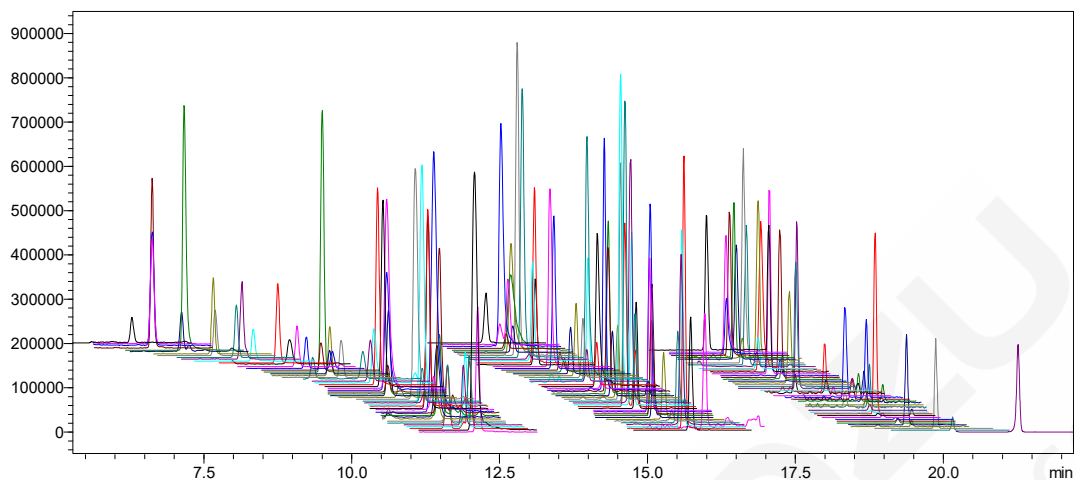


图 1. 160 种兽药及其它化合物 MRM 色谱图 (5 ng/mL 基质标样)

2.2 线性范围与检测限

将浓度为 1、5、10、20、50、100 ng/mL 基质匹配的混合标准系列溶液按 1.2 中的分析条件进行测试。以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，制作标准曲线，部分化合物校准曲线如图 2 所示。所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。根据检出限 MDL=3.3 S/N，定量限 LOQ=10 S/N 计算检测限和定量限，结果见表 3。

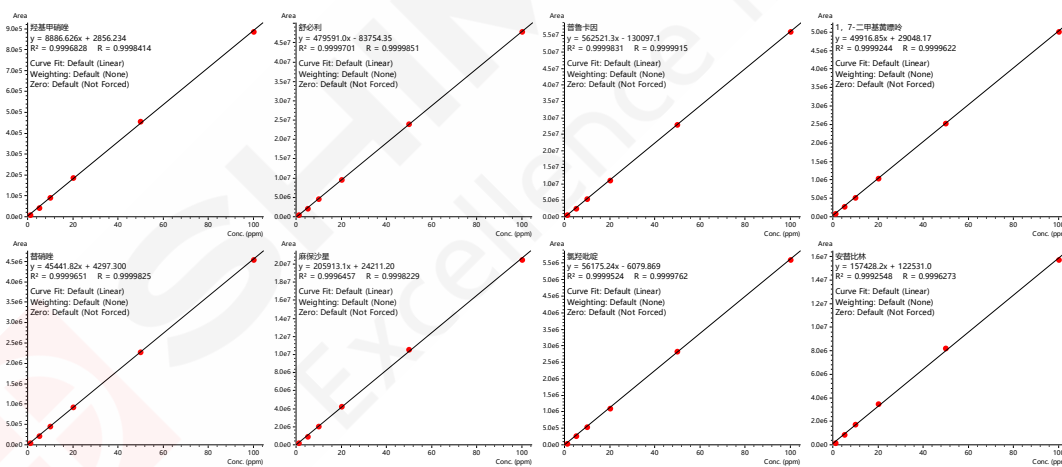


图 2. 部分化合物校准曲线

表 3. 化合物标准曲线及检测限、定量限

No.	中文名称	标准曲线	相关系数 r	检出限 (µg/L)	定量限 (µg/L)
1	羟基甲硝唑	$Y = (8886.63)X + (2856.23)$	0.9998	0.29	0.88
2	苯并咪唑	$Y = (243049)X + (39225.0)$	0.9999	0.29	0.88
3	2-甲基-4-硝基咪唑	$Y = (193556)X + (173468)$	0.9993	0.11	0.33
4	2-甲硝咪唑	$Y = (210311)X + (189806)$	0.9993	0.09	0.27
5	索他洛尔	$Y = (344694)X + (531814)$	0.9990	0.02	0.06

6	舒必利	$Y = (479591)X + (-83754.4)$	0.9999	0.03	0.09
7	羟甲基甲硝咪唑	$Y = (10255.2)X + (-4916.16)$	0.9999	0.30	0.91
8	磺胺醋酰	$Y = (111329)X + (128828)$	0.9993	0.02	0.06
9	甲硝唑	$Y = (81868.7)X + (69470.0)$	0.9994	0.05	0.15
10	普鲁卡因	$Y = (562521)X + (-130097)$	0.9999	0.03	0.09
11	洛硝达唑	$Y = (93690.2)X + (40437.7)$	0.9998	0.06	0.18
12	对乙酰氨基酚	$Y = (128153)X + (124417)$	0.9996	0.05	0.15
13	可待因	$Y = (60503.7)X + (15436.8)$	0.9999	0.16	0.48
14	磺胺二甲嘧啶	$Y = (151061)X + (3851.69)$	0.9999	0.04	0.12
15	地美硝唑	$Y = (65534.5)X + (-1590.46)$	0.9999	0.32	0.97
16	磺胺嘧啶	$Y = (67372.0)X + (41391.6)$	0.9999	0.02	0.06
17	1, 7-二甲基黄嘌呤	$Y = (49916.9)X + (29048.2)$	0.9999	0.06	0.18
18	左旋咪唑	$Y = (304764)X + (18798.9)$	0.9999	0.06	0.18
19	磺胺噻唑	$Y = (49786.4)X + (5772.43)$	0.9999	0.06	0.18
20	利托菌	$Y = (415915)X + (392927)$	0.9994	0.01	0.03
21	替硝唑	$Y = (45441.8)X + (4297.30)$	0.9999	0.10	0.30
22	阿苯达唑-2-氨基砒	$Y = (89429.0)X + (10344.6)$	0.9999	0.09	0.27
23	磺胺吡啶	$Y = (74317.0)X + (30.2935)$	0.9999	0.05	0.15
24	氯普鲁卡因	$Y = (412686)X + (-77112.4)$	0.9999	0.05	0.15
25	氯甲硝咪唑	$Y = (63713.0)X + (-15294.2)$	0.9999	0.48	1.45
26	塞克硝唑	$Y = (89882.9)X + (16040.5)$	0.9999	0.07	0.21
27	麻保沙星	$Y = (205913)X + (24211.2)$	0.9998	0.08	0.24
28	甲氧苄啶	$Y = (353300)X + (178634)$	0.9996	0.01	0.03
29	5-羟基噻苯咪唑	$Y = (336983)X + (347600)$	0.9990	0.01	0.03
30	氟罗沙星	$Y = (491309)X + (105629)$	0.9999	0.04	0.12
31	磺胺甲基嘧啶	$Y = (50930.9)X + (3598.50)$	0.9999	0.05	0.15
32	克伦塞罗	$Y = (153556)X + (165091)$	0.9992	0.02	0.06
33	氯羟吡啶	$Y = (56175.2)X + (-6079.87)$	0.9999	0.16	0.48
34	氧氟沙星	$Y = (588630)X + (-60264.5)$	0.9999	0.04	0.12
35	磺胺二甲唑	$Y = (64889.1)X + (-5804.44)$	0.9999	0.05	0.15
36	咖啡因	$Y = (111898)X + (58709.6)$	0.9999	0.05	0.15
37	氮呋醇	$Y = (629300)X + (-362277)$	0.9999	0.05	0.15
38	羟甲基克伦特罗	$Y = (371231)X + (217982)$	0.9999	0.06	0.18
39	利多卡因	$Y = (867236)X + (-255298)$	0.9999	0.04	0.12
40	克伦普罗	$Y = (380503)X + (71015.3)$	0.9999	0.09	0.27
41	5-硝基苯并咪唑	$Y = (184606)X + (118486)$	0.9997	0.13	0.39
42	磺胺甲噻二唑	$Y = (40764.2)X + (15513.0)$	0.9998	0.04	0.12
43	磺胺甲氧达嗪	$Y = (124265)X + (-27748.8)$	0.9999	0.03	0.09
44	氨苯砒	$Y = (106691)X + (49817.0)$	0.9998	0.05	0.15
45	恩诺沙星	$Y = (532290)X + (-256741)$	0.9999	0.10	0.30
46	磺胺索嘧啶	$Y = (151895)X + (-61912.0)$	0.9997	0.04	0.12
47	磺胺对甲氧嘧啶	$Y = (127062)X + (-23022.2)$	0.9999	0.02	0.06
48	噻苯达唑	$Y = (710953)X + (19299.0)$	0.9999	0.03	0.09
49	洛美沙星	$Y = (241418)X + (-117781)$	0.9999	0.04	0.12

50	奥比沙星	$Y = (116790)X + (20051.6)$	0.9996	0.02	0.06
51	羟基异丙硝唑	$Y = (30235.0)X + (17397.6)$	0.9998	0.28	0.85
52	二氟沙星	$Y = (560034)X + (-269742)$	0.9999	0.04	0.12
53	磺胺氯达嗪	$Y = (29193.4)X + (550.470)$	0.9999	0.13	0.39
54	塞拉嗪	$Y = (319539)X + (-109163)$	0.9999	0.06	0.18
55	磺胺甲恶唑	$Y = (47334.3)X + (19369.8)$	0.9999	0.05	0.15
56	氮呋酮	$Y = (490617)X + (-363375)$	0.9998	0.04	0.12
57	沙拉沙星	$Y = (586583)X + (-76754.3)$	0.9999	0.04	0.12
58	克伦特罗	$Y = (512337)X + (179639)$	0.9998	0.03	0.09
59	卡巴氧	$Y = (8988.07)X + (822.458)$	0.9999	0.35	1.06
60	安替比林	$Y = (157428)X + (122531)$	0.9996	0.01	0.03
61	加替沙星	$Y = (294065)X + (9085.13)$	0.9999	0.01	0.03
62	磺胺间甲氧嘧啶	$Y = (127150)X + (90791.8)$	0.9997	0.06	0.18
63	溴氯布特罗	$Y = (334860)X + (107006)$	0.9999	0.04	0.12
64	磺胺二甲氧达嗪	$Y = (256336)X + (90924.9)$	0.9999	0.01	0.03
65	氟康唑	$Y = (46420.2)X + (-32218.1)$	0.9996	0.07	0.21
66	司帕沙星	$Y = (28255.4)X + (-6912.21)$	0.9998	0.31	0.94
67	莫西沙星	$Y = (73312.7)X + (-28106.7)$	0.9995	0.06	0.18
68	螺旋霉素	$Y = (9779.70)X + (-3021.23)$	0.9999	0.08	0.24
69	苯氧丙酰胺	$Y = (319216)X + (76047.2)$	0.9999	0.06	0.18
70	苯甲酰磺胺	$Y = (99007.2)X + (41781.1)$	0.9999	0.08	0.24
71	唑吡坦	$Y = (465034)X + (-97469.5)$	0.9999	0.02	0.06
72	托氟沙星	$Y = (257179)X + (269413)$	0.9993	0.08	0.24
73	克伦潘特	$Y = (206697)X + (252138)$	0.9990	0.02	0.06
74	磺胺苯砒唑	$Y = (64916.6)X + (33217.4)$	0.9999	0.02	0.06
75	阿司咪唑	$Y = (367999)X + (-435552)$	0.9994	0.09	0.27
76	异丙硝唑	$Y = (45699.7)X + (7567.18)$	0.9999	0.23	0.70
77	酮替芬	$Y = (443495)X + (-60626.8)$	0.9999	0.06	0.18
78	吉米沙星	$Y = (388235)X + (-105529)$	0.9999	0.04	0.12
79	拉贝特罗	$Y = (226717)X + (310010)$	0.9994	0.12	0.36
80	咪唑心安	$Y = (257887)X + (156418)$	0.9997	0.02	0.06
81	阿苯达唑亚砷	$Y = (148470)X + (76124.2)$	0.9999	0.09	0.27
82	2-氨基氟苯咪唑	$Y = (130079)X + (95712.2)$	0.9998	0.03	0.09
83	异克伦潘特	$Y = (489838)X + (65277.6)$	0.9999	0.09	0.27
84	氯苯那敏	$Y = (450334)X + (-378808)$	0.9998	0.04	0.12
85	5-羟基甲苯咪唑	$Y = (493066)X + (-112358)$	0.9999	0.02	0.06
86	西诺沙星	$Y = (395074)X + (74345.3)$	0.9999	0.02	0.06
87	磺胺邻二甲氧嘧啶	$Y = (259897)X + (96634.6)$	0.9999	0.04	0.12
88	替米考星	$Y = (47242.1)X + (1025.33)$	0.9999	0.02	0.06
89	阿苯达唑砷	$Y = (213812)X + (149743)$	0.9993	0.01	0.03
90	磺胺砒唑	$Y = (152701)X + (-5581.20)$	0.9999	0.07	0.21
91	溴苯那敏	$Y = (255363)X + (125439)$	0.9999	0.09	0.27
92	Clenhexerol	$Y = (208210)X + (197218)$	0.9990	0.03	0.09

93	苯乙醇胺 A	$Y = (299414)X + (411381)$	0.9994	0.05	0.15
94	非那西汀	$Y = (209385)X + (132633)$	0.9997	0.01	0.03
95	丁卡因	$Y = (519467)X + (-119784)$	0.9999	0.04	0.12
96	磺胺喹恶啉	$Y = (74773.8)X + (117174)$	0.9984	0.03	0.09
97	恶喹酸	$Y = (111866)X + (-4388.33)$	0.9999	0.05	0.15
98	曲安西龙	$Y = (3166.36)X + (681.174)$	0.9999	0.13	0.39
99	苯佐卡因	$Y = (24780.4)X + (7380.16)$	0.9999	0.30	0.91
100	多塞平	$Y = (168769)X + (-160809)$	0.9997	0.06	0.18
101	氧苯达唑	$Y = (263255)X + (172846)$	0.9997	0.07	0.21
102	坎苯达唑	$Y = (290027)X + (233522)$	0.9995	0.02	0.06
103	氟哌啶醇	$Y = (409684)X + (109194)$	0.9996	0.03	0.09
104	奥芬达唑	$Y = (162453)X + (162286)$	0.9988	0.08	0.24
105	脱氧卡巴氧	$Y = (175172)X + (114539)$	0.9999	0.16	0.48
106	芬芬达唑	$Y = (192320)X + (107343)$	0.9999	0.07	0.21
107	泼尼松	$Y = (7719.73)X + (12274.8)$	0.9996	0.30	0.91
108	可的松	$Y = (10350.9)X + (87186.4)$	0.9998	0.11	0.33
109	丙咪嗪	$Y = (206919)X + (-36383.6)$	0.9999	0.01	0.03
110	赛庚啶	$Y = (98464.6)X + (-10310.1)$	0.9999	0.04	0.12
111	萘啶酸	$Y = (226081)X + (7956.07)$	0.9997	0.03	0.09
112	羟嗪	$Y = (263796)X + (-49427.5)$	0.9999	0.02	0.06
113	氟甲嗪	$Y = (223918)X + (-9265.77)$	0.9999	0.02	0.06
114	泼尼松龙	$Y = (6225.09)X + (3487.13)$	0.9998	1.98	6.00
115	辛可卡因	$Y = (409357)X + (-230858)$	0.9992	0.01	0.03
116	卡马西平	$Y = (324913)X + (-388532)$	0.9986	0.01	0.03
117	柱晶白霉素	$Y = (2337.22)X + (-845.506)$	0.9998	0.30	0.91
118	氯诺昔康	$Y = (27500.9)X + (12743.7)$	0.9996	0.21	0.64
119	那氟沙星	$Y = (53930.0)X + (-457.187)$	0.9999	0.01	0.03
120	美利曲辛	$Y = (368328)X + (-208226)$	0.9999	0.02	0.06
121	甲苯咪唑	$Y = (259644)X + (-134012)$	0.9998	0.05	0.15
122	西替利嗪	$Y = (323721)X + (-378044)$	0.9988	0.01	0.03
123	灰黄霉素	$Y = (40797.1)X + (10484.8)$	0.9998	0.15	0.45
124	氟苯达唑	$Y = (255889)X + (-47195.1)$	0.9992	0.03	0.09
125	维吉霉素 M1	$Y = (39228.8)X + (-20028.8)$	0.9995	0.22	0.67
126	甲基泼尼松龙	$Y = (8351.57)X + (4649.30)$	0.9998	1.89	5.73
127	双氯青霉素	$Y = (1416.87)X + (-210.400)$	0.9999	0.13	0.39
128	曲安西龙丙酮	$Y = (1953.82)X + (-763.909)$	0.9998	0.25	0.76
129	阿苯达唑	$Y = (172144)X + (-79513.7)$	0.9999	0.09	0.27
130	氟米龙	$Y = (7613.88)X + (12476.2)$	0.9995	0.28	0.85
131	氟奋乃静	$Y = (213749)X + (33819.6)$	0.9999	0.01	0.03
132	特非那定	$Y = (248373)X + (-158187)$	0.9995	0.02	0.06
133	酮洛芬	$Y = (23926.8)X + (-4199.31)$	0.9999	0.41	1.24
134	萘普生	$Y = (6237.98)X + (-816.377)$	0.9999	0.31	0.94
135	地夫可特	$Y = (5787.65)X + (1892.51)$	0.9999	0.29	0.88

136	诺龙	$Y = (16319.8)X + (-12086.0)$	0.9997	0.25	0.76
137	醋酸甲基泼尼松龙	$Y = (4166.94)X + (-411.519)$	0.9995	0.30	0.91
138	二氟拉松双醋酸酯	$Y = (2983.54)X + (-2143.94)$	0.9983	0.29	0.88
139	睾酮	$Y = (46927.7)X + (737.939)$	0.9999	0.20	0.61
140	萘丁美酮	$Y = (47053.8)X + (3438.72)$	0.9999	0.12	0.36
141	美伦孕酮	$Y = (9798.80)X + (-6923.80)$	0.9996	0.28	0.85
142	布地奈德	$Y = (13108.9)X + (-17136.2)$	0.9977	0.30	0.91
143	氟替卡松丙酸酯	$Y = (6244.13)X + (2887.10)$	0.9998	0.06	0.18
144	表睾酮	$Y = (28656.2)X + (-7538.98)$	0.9999	0.09	0.27
145	甲地孕酮	$Y = (12993.8)X + (-10507.6)$	0.9995	0.25	0.76
146	奥沙普秦	$Y = (59553.6)X + (-29687.0)$	0.9999	0.03	0.09
147	氯地孕酮	$Y = (9288.22)X + (-7175.16)$	0.9992	0.11	0.33
148	氯倍他索丙酸酯	$Y = (4304.36)X + (-386.720)$	0.9998	0.08	0.24
149	氟尼新葡甲胺	$Y = (279720)X + (-183769)$	0.9988	0.02	0.06
150	双氯芬酸	$Y = (3913.24)X + (-2871.54)$	0.9997	0.23	0.70
151	莫米他松糠酸酯	$Y = (3260.76)X + (-5312.57)$	0.9968	0.24	0.73
152	倍他米松戊酸酯	$Y = (8054.02)X + (-6475.63)$	0.9994	0.16	0.48
153	氯倍他松丁酸酯	$Y = (3026.88)X + (-889.163)$	0.9999	0.30	0.91
154	安西奈德	$Y = (4744.70)X + (2600.80)$	0.9982	0.18	0.55
155	倍他米松双丙酸酯	$Y = (6193.63)X + (1281.34)$	0.9996	0.20	0.61
156	氯雷他定	$Y = (120136)X + (63574.9)$	0.9994	0.07	0.21
157	倍氯米松双丙酸酯	$Y = (7608.58)X + (8662.21)$	0.9979	0.28	0.85
158	三氯苯达唑	$Y = (24505.0)X + (6221.19)$	0.9998	0.03	0.09
159	托芬那酸	$Y = (2804.05)X + (4488.73)$	0.9986	0.06	0.18
160	莫能菌素	$Y = (24861.9)X + (25794.4)$	0.9993	0.02	0.06

2.3 精密度实验

浓度为 5 $\mu\text{g/L}$ 和 50 $\mu\text{g/L}$ 基质标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度。不同浓度样品中待测物保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.01%~0.15%和 0.56%~14.25%之间，峰面积的重复性考察结果显示仪器精密度良好。

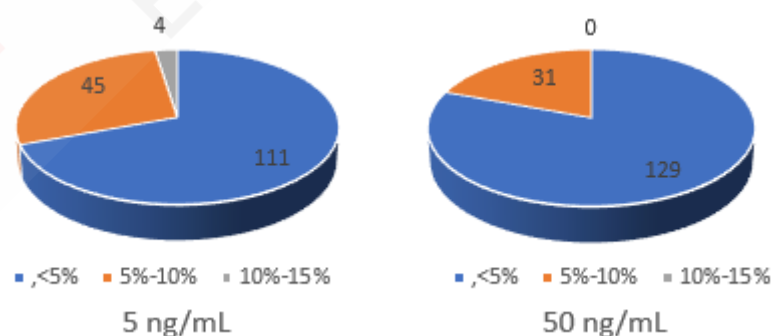


图 3. 基质标样的峰面积重复性结果

2.4 回收率实验

取空白猪尿样品，加入混合标准溶液，使加标浓度分别为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。按照 1.3 样品前处理方法提取净化后，测定待测物的加标回收率。在高、中、低三个加标浓度下，80% 以上的化合物回收率在 60%~120% 之间且重复性良好，即使是加标浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品，也有 84.3% (135 个) 化合物的回收率在 60~120% 之间，仅有 3.1% (5 个) 的化合物回收率低于 40%，具体加标回收率结果及相对标准偏差见图 4 所示。由结果可知，该方法灵敏度高，准确率高，可以满足 160 种兽药快速检测。

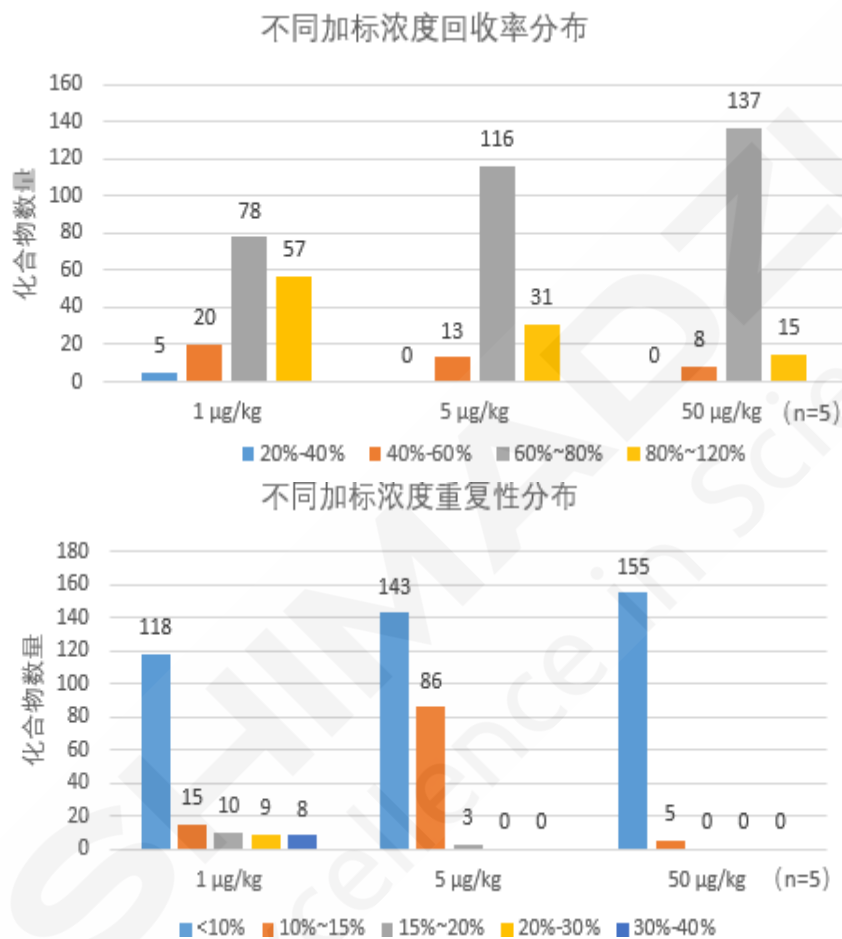


图 4. 化合物的加标回收率及相对标准偏差结果

3 结论

本文根据农业农村部第 197 号-10-2019 公告《畜禽血液和尿液中 160 种兽药及其化合物的测定 液相色谱-串联质谱法》，建立了使用岛津超高效液相色谱 LC-40 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用测定猪尿中 160 种兽药的检测方法。该方法可在 30 min 内完成对待测物的检测，160 种兽药在 1.0 ~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性良好，校准曲线线性相关系数 r 在 0.996 以上，且精密度和回收率实验结果良好。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于畜禽尿液中多兽药的定量检测。

LCMS-Q-TOF 筛查尿液中 150 种兽药

摘要：本文利用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱仪，建立了尿液中 150 种兽药的鉴别和确认方法。LabSolutions insight 建立了 150 种兽药的高分辨二级质谱库，根据保留时间及精确质量数进行鉴别，二级质谱库及典型二级碎片离子丰度比进行确认。100 ng/mL 浓度的加标样品，其中 113 个化合物的回收率在 50-120%之间。本方法适用于畜禽尿液中多兽药残留的筛查。

关键词：LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱 尿液 兽药

农业农村部2019年8月，发布了第197号-9-2019公告《畜禽血液和尿液中150种兽药及其它化合物鉴别和确认 液相色谱-高分辨串联质谱法》，规定了猪血、牛血、羊血和鸡血以及猪尿、牛尿、羊尿中150种兽药及其他化合物的液相色谱-高分辨串联质谱鉴别和确认方法。150种兽药包括磺胺类、喹诺酮类、咪唑与苯并咪唑类、苯并咪唑类、聚醚类、大环内酯类、甾体类、 β 受体激素、精神类、兴奋剂、中枢神经类、抗组胺类、抗真菌类、非甾体类等。标准于2020年1月1日起正式实施，是首个动物养殖中检测跨类多残留的国家标准，极大的提高了对非标注成分的监测能力和效率。

本文参考农业农村部197-9-2019号标准，利用岛津LCMS-9030超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱仪，建立了一种150种兽药的鉴别与确认方法。本方法简便、快速、准确、灵敏度高，供相关检测人员参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，具体配置为：

输 液 泵	:LC-30AD×2	系 统 控 制 器	:CBM-20Alite
自 动 进 样 器	:SIL-20AC	飞 行 时 间 质 谱 仪	:LCMS-9030
柱 温 箱	:CTO-20AC	色 谱 工 作 站	:LabSolutions Ver. 5.98
在 线 脱 气 机	:DGU-20A5R		LabSolutions Insight Ver. 3.7

1.2 分析条件

液相色谱条件

- 色 谱 柱 : Shim-pack GIST-HP C18-AQ 150 mm I.D.× 2.1 mm I.D., 1.9 μ m (岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30807-03)
- 流 动 相 : A相-0.2%甲酸水+2 mM 乙酸铵; B相-0.2%甲酸甲醇
- 洗 针 模 式 : 进样前后洗针, External only (进样针外壁清洗), Rinse Port
- 流 速 : 0.25 mL/min 柱 温 : 40°C
- 进 样 体 积 : 2 μ L 洗 针 液 : 甲醇/水=1:1 (v:v)
- 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B相初始浓度为5%, 时间程序见表1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	泵	B.Conc	5
3.00	泵	B.Conc	15
10.00	泵	B.Conc	40
18.00	泵	B.Conc	100
23.00	泵	B.Conc	100
23.10	泵	B.Conc	5
26.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子源：ESI+ 加热模块温度：400°C
 雾化气流速：3.0 L/min DL 温度：250°C
 加热气流速：10.0 L/min 接口温度：300°C
 干燥气流速：10.0 L/min 扫描模式：MS Scan(m/z 50 -1300)& DDA
 MS/MS (m/z 50 -1000)
 校准方法：外标法(NaI)，分辨率>30000 (m/z 1972)，质量误差<2 ppm

1.3 试剂

甲醇、甲酸（纯度 98%）、乙酸铵（纯度 99%）：色谱级，室温保存。

实验用水：由 Milli-Q Plus 水净化系统经去离子与二次净化制得。

EDTA-McIlvaine 缓冲液：分别称取无水磷酸氢二钠 10.9 g，乙二胺四乙酸钠(EDTA-Na₂)3 g,柠檬酸 12.9 g，加水溶解并定容至 1000 mL。

1.4 样品前处理

参考农业农村部 197-9-2019 公告《畜禽血液和尿液中 150 种兽药及其他化合物鉴别和确认 液相色谱-高分辨串联质谱法》，取 2 mL 尿液至 50 mL 离心管中，加入 3 mL EDTA-McIlvaine 缓冲液，涡旋混匀，再加入 10.0 mL 乙腈，涡旋 1 min 后加入 4 g 硫酸钠、1 g 氯化钠，静置 10 min 盐析分层，9500 r/min 条件下离心 10.0 mL，准确量取 8 mL 上清液于 15 mL 离心管，40°C 下氮吹至 2 mL，上机测定。

2. 结果与讨论

2.1 准确质量数提取结果

150 种兽药提取离子流色谱图 (EIC) 如图 1 所示。

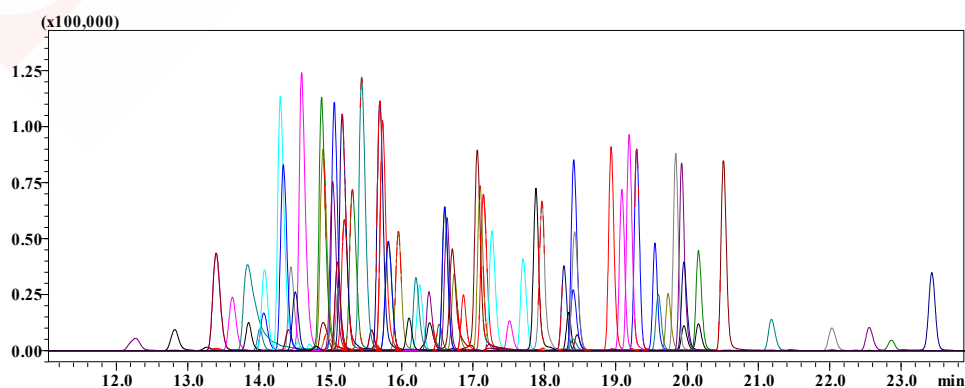


图 1. 150 种兽药提取离子流色谱图 EIC 图 (100 ng/mL)

2.2 方法检出限

配制浓度 100 ng/mL 的 150 种兽药混合标准样品，上机进行测定，150 种兽药的方法检出限（ASTM，S/N=3）为 0.03~39.5 mg/L，满足法规要求。150 种兽药品种信息、中英文名、CAS、一级精确质荷比、典型二级碎片离子、保留时间、检出限等结果见表 2。



表 2. 150 种兽药检出限

分 组	编 号	中文名称	英文名称	分子式	CAS 号	理论精确质 量数	典型二级碎 片离子 1	典型二级碎 片离子 2	典型二级碎 片离子 3	保留时间 (RT)min	仪器检出 限 ng/mL	法规检 出限 ng/mL
A 组	1	苯甲酰磺胺	Sulfabenzamide	C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O ₃ S	127-71-9	277.0641	156.0114	108.0444	92.0495	16.0	3.4	10
	2	磺胺嘧啶	Sulfadiazine	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	68-35-9	251.0597	156.0114	108.0444	185.0822	13.6	0.1	50
	3	磺胺间二甲氧嘧啶	Sulfadimethoxine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	122-11-2	311.0809	156.0114	108.0431	92.0495	16.5	0.3	10
	4	磺胺二甲基嘧啶	Sulfamethazine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	57-68-1	279.091	186.0332	156.0114	92.0495	15.0	0.7	50
	5	磺胺邻二甲氧嘧啶	Sulfadoxine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	2447-57-6	311.0809	156.0114	108.0431	92.0495	15.8	0.4	50
	6	磺胺甲基嘧啶	Sulfamerazine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	127-79-7	265.0754	156.01	110.0713	199.0978	14.4	0.3	50
	7	磺胺甲噻二唑	Sulfamethizole	C ₉ H ₁₀ N ₄ O ₂ S ₂	144-82-1	271.0318	156.0114	108.0431	92.0495	14.8	0.1	50
	8	磺胺甲氧吡嗪	Sulfamethoxypyridazine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	80-35-3	281.0703	156.0114	108.0444	215.0927	15.0	0.2	50
	9	磺胺苯吡唑	Sulfaphenazole	C ₁₅ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	526-08-9	315.091	160.0869	222.0332	108.0444	16.1	0.3	5
	10	磺胺吡唑	Sulfapyrazole	C ₁₆ H ₁₆ N ₄ O ₂ S	852-19-7	329.1069	173.0947	156.0114	108.0444	16.5	0.3	10
	11	磺胺吡啶	Sulfapyridine	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₂ S	144-83-2	250.0645	156.0114	184.0869	108.0444	14.0	0.2	50
	12	磺胺喹恶啉	Sulfaquinolaxine	C ₁₄ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	59-40-5	301.0754	156.0114	108.0444	92.0495	16.7	1.5	50
	13	磺胺噻唑	Sulfathiazole	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ S ₂	72-14-0	256.0209	156.0114	92.0495	65.0386	13.8	0.2	10
	14	磺胺二甲异嘧啶	Sulfisomidine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ NaO ₂ S	515-64-0	279.091	124.0869	186.0332	156.01	13.4	0.7	50
	15	甲氧苄氨嘧啶	Trimethoprim	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	738-70-5	291.1452	230.1162	123.0665	261.0982	14.4	0.2	50
B 组	1	西诺沙星	Cinoxacin	C ₁₂ H ₁₀ N ₂ O ₅	28657-80-9	263.0663	245.0557	217.0608	189.0295	16.6	0.5	5
	2	达氟沙星	Danofloxacin	C ₁₉ H ₂₀ FN ₃ O ₃	112398-08-0	358.1562	340.1456	314.1663	96.0808	14.9	0.6	10
	3	双氟沙星	Difloxacin	C ₂₁ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃	98106-17-3	400.1467	382.1362	356.1569	299.0979	15.2	0.6	10
	4	恩诺沙星	Enrofloxacin	C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₃	93106-60-6	360.1718	342.1612	316.182	245.1073	14.9	0.6	5
	5	氟甲喹	Flumequine	C ₁₄ H ₁₂ FNO ₃	42835-25-6	262.0874	244.0768	202.0288	174.0338	17.8	0.4	5
	6	加替沙星	Gatifloxacin	C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₄	112811-59-3	376.1673	358.1562	332.1769	289.1347	15.4	0.2	10
	7	洛美沙星	Lomefloxacin	C ₁₇ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃ · HCl	98079-51-7	352.1467	334.1362	308.1569	265.1167	15.0	0.5	10

	8	麻保沙星	Marbofloxacin	C ₁₇ H ₁₉ FN ₄ O ₄	115550-35-1	363.1463	72.0781	345.1357	320.1041	14.3	0.2	10
	9	莫西沙星	Moxifloxacin	C ₂₁ H ₂₄ FN ₃ O ₄	186826-86-8	402.1824	384.1718	358.1925	261.1022	15.7	0.4	10
	10	萘啶酸	Nalidixic acid	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₃	389-08-2	233.0921	215.0815	187.0502	159.0553	17.7	0.5	5
	11	氧氟沙星	Ofloxacin	C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₄	82419-36-1	362.1511	318.1612	261.1022	344.1405	14.6	0.3	5
	12	奥比沙星	Orbifloxacin	C ₁₉ H ₂₀ F ₃ N ₃ O ₃	113617-63-3	396.153	352.1631	378.1424	295.1053	15.1	0.3	10
	13	恶喹酸	Oxolinic acid	C ₁₃ H ₁₁ NO ₅	14698-29-4	262.071	244.0604	160.0393	216.0291	16.9	0.2	5
	14	沙拉沙星	Sarafloxacin	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₃ O ₃	98105-99-8	386.1311	368.1205	342.1412	299.0980	15.3	0.6	10
	15	司帕沙星	Sparfloxacin	C ₁₉ H ₂₂ F ₂ N ₄ O ₃	110871-86-8	393.1733	375.1627	349.1834	292.1256	15.7	0.3	10
	16	妥舒沙星	Tosufloxacin tosylate	C ₂₆ H ₂₃ F ₃ N ₄ O ₆ S	1400591-39-0	405.1169	387.1063	314.0900	56.0495	16.0	0.1	50
	1	阿苯达唑	Albendazole	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₂ S	54965-21-8	266.0958	234.0696	209.1159	99.0411	18.1	2.1	5
	2	阿苯达唑-2-氨基砒	Albendazole-2-aminosulfone	C ₁₀ H ₁₃ N ₃ O ₂ S	80983-34-2	240.0801	198.0332	133.0635	72.0444	14.0	0.1	50
	3	阿苯达唑亚砒	Albendazole-sulfoxide	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₃ S	54029-12-8	282.0911	240.0437	159.0427	43.0532	16.2	17.2	50
	4	氨基甲苯咪唑	Mebendazoleamine	C ₁₄ H ₁₁ N ₃ O	52329-60-9	238.0975	105.0335	77.0386	51.0229	16.2	0.3	5
	5	噻苯达唑	Thiabendazole	C ₁₀ H ₇ N ₃ S	148-79-8	202.0433	175.0324	131.0604	92.0495	15.1	0.2	5
	6	二甲硝咪唑	Dimetridazole	C ₅ H ₇ N ₃ O ₂	551-92-8	142.0611	96.0682	81.0447	54.0338	13.3	0.1	50
C	7	芬苯达唑	Fenbendazole	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₂ S	43210-67-9	300.0801	268.0539	159.0427	190.0049	19.0	0.3	5
组	8	氟苯达唑	Flubendazole	C ₁₆ H ₁₂ FN ₃ O ₃	31430-15-6	314.0936	282.0673	123.0240	195.0292	18.2	0.4	10
	9	羟基异丙硝唑	Hydroxyipronidazole	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₃	35175-14-5	186.0873	168.0768	122.0839	82.0526	15.6	0.3	50
	10	异丙硝唑	Ipronidazole	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₂	14885-29-1	170.0924	124.0995	109.0760	96.0682	16.4	0.1	5
	11	甲苯咪唑	Mebendazole	C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	31431-39-7	296.103	264.0768	105.0335	77.0386	18.1	0.1	10
	12	噻苯咪唑酯	Cambendazole	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	26097-80-3	303.091	261.0441	217.0524	243.0335	16.9	0.4	5
	1	5-羟基噻苯咪唑	5-Hydroxythiabendazole	C ₁₀ H ₇ N ₃ OS	948-71-0	218.0383	191.0274	147.0553	81.0335	14.5	0.3	5
D	2	左旋咪唑	Levamisole	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ S	14769-73-4	205.0794	178.0685	123.0263	91.0542	14.1	0.6	10
组	3	甲硝唑	Metronidazole	C ₆ H ₉ N ₃ O ₃	443-48-1	172.0717	128.0455	82.0526	45.0335	12.5	0.1	50
	4	奥芬达唑	Oxfendazole	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	53716-50-0	316.075	191.0689	284.0488	1590427	17.1	0.2	10

	5	丙氧苯咪唑	Oxibendazole	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₃	20559-55-1	250.1186	218.0924	176.0455	148.0505	17.0	0.2	5
	6	罗硝唑	Ronidazole	C ₆ H ₈ N ₄ O ₄	7681-76-7	201.0618	140.0455	55.0417	110.0475	13.2	0.7	50
	7	塞克硝唑	Secnidazole	C ₇ H ₁₁ N ₃ O ₃	3366-95-8	186.0885	128.0455	59.0491	111.0427	14.5	39.5	50
	8	替硝唑	Tinidazole	C ₇ H ₃ N ₂ O ₃	19387-91-8	248.07	121.0318	202.0771	93.0005	14.2	0.0	50
	9	三氯苯达唑	Triclabendazole	C ₁₄ H ₉ Cl ₃ N ₂ O ₅	68786-66-3	358.9574	343.9339	273.9962	198.0008	20.5	0.4	10
E	1	尼日利亚菌素	Nigericin	C ₄₀ H ₆₇ NaO ₁₁	28380-24-7	747.4661	501.3195	237.1086	168.4700	22.8	0.4	5
组	2	甲基盐霉素	Narasin	C ₄₃ H ₇₂ O ₁₁	55134-13-9	787.4982	431.2404	531.3292	179.1567	23.4	0.3	5
	1	克林霉素	Clindamycin	C ₁₈ H ₃₃ ClN ₂ O ₅ S	18323-44-9	425.1872	126.1277	377.1838	70.0651	16.7	0.2	5
	2	多拉菌素	Doramectin	C ₅₀ H ₇₄ O ₁₄	117704-25-3	921.4963	777.4185	449.2510	183.0628	22.1	0.0	50
	3	依普菌素	Eprinomectin	C ₅₀ H ₇₅ NO ₁₄	123997-26-2	936.509	490.2773	352.1728	382.3535	21.2	0.2	50
F	4	伊维菌素	Ivermectin	C ₄₈ H ₇₄ O ₁₄	70288-86-7	897.4963	753.4185	183.0628	329.2087	22.6	0.1	50
组	5	柱晶白霉素	Sineptina	C ₄₀ H ₆₇ NO ₁₄	1392-21-8	786.4633	174.1125	109.0648	558.3273	17.9	1.0	50
	6	螺旋霉素	Spiramycin	C ₄₃ H ₇₄ N ₂ O ₁₄	8025-81-8	843.5213	174.1125	540.3167	699.4368	15.7	0.5	50
	7	替米考星	Tilmicosin	C ₄₆ H ₈₀ N ₂ O ₁₃	108050-54-0	869.5733	174.1125	696.4681		16.4	0.1	50
	8	泰乐菌素	Tylosin	C ₄₆ H ₇₇ NO ₁₇	1401-69-0	916.5264	174.1125	772.4451	598.3559	17.4	0.1	50
	9	维吉尼霉素 M1	Virginiamycin M1	C ₂₈ H ₃₅ N ₃ O ₇	21411-53-0	526.2551	355.1289	508.2442	133.0648	18.3	0.1	5
	1	倍氯米松	Beclomethasone	C ₂₂ H ₂₉ ClO ₅	4419-39-0	409.1778	391.1671	355.1904	279.1744	18.3	0.1	50
	2	倍氯米松双丙酸酯	Beclomethasone dipropionate	C ₂₈ H ₃₇ ClO ₇	5534-09-8	521.2315	503.22	319.1693	411.2166	20.1	0.2	5
	3	倍他米松双丙酸酯	Betamethasone dipropionate	C ₂₈ H ₃₇ FO ₇	5593-20-4	505.2596	411.2166	319.1693	279.1744	19.9	0.2	5
	4	倍他米松戊酸酯	Betamethasone valerate	C ₂₇ H ₃₇ FO ₆	2152-44-5	477.2647	355.1904	279.2744	337.1798	19.7	0.1	50
G	5	醋酸氯地孕酮	Chlormadinone acetate	C ₂₃ H ₂₉ ClO ₄	302-22-7	405.1837	345.1616	309.1849	301.1354	19.7	0.2	5
组	6	氯倍他索丙酸酯	Clobetasol-17 propionate	C ₂₅ H ₃₂ ClFO ₅	25122-46-7	467.1995	355.1471	373.1577	279.1755	19.5	0.0	10
	7	氯倍他松丁酸酯	Clobetasone butyrate	C ₂₆ H ₃₂ ClFO ₅	25122-57-0	479.1995	343.1459	279.138	371.1408	19.9	0.2	10
	8	可的松	Cortisone	C ₂₁ H ₂₈ O ₅	53-06-5	361.201	163.1117	121.0648	343.1904	17.6	0.1	50
	9	地夫可特	Deflazacort	C ₂₅ H ₃₁ NO ₆	14484-47-0	442.2224	424.2119	382.2013	400.2119	18.8	0.1	5
	10	地塞米松	Dexamethasone	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅	50-02-2	393.2072	355.1904	373.2010	337.1798	18.2	0.3	5

11	二氟拉松双醋酸酯	Diflorasone Diacetate	C ₂₆ H ₃₂ F ₂ O ₇	33564-31-7	495.2189	317.1536	335.1642	395.1853	19.0	0.0	50
12	表睾酮	Epitestosterone	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	481-30-1	289.2173	97.0648	109.0648	253.1951	19.5	0.2	5
13	氟氢可的松	Fludrocortisone	C ₂₁ H ₂₉ FO ₅	127-31-1	381.2072	325.181	239.1442	343.1915	17.7	0.2	50
14	氟米松	Flumethasone	C ₂₂ H ₂₈ F ₂ O ₅	2135-17-3	411.1978	253.1223	391.1519	335.1642	18.0	0.1	10
15	特戊酸氟米松	Flumethasone pivalate	C ₂₇ H ₃₆ F ₂ O ₆	2002-29-1	495.2553	57.071	335.1642	253.1223	19.7	0.03	50
16	氟轻松	Fluocinolone acetonide	C ₂₄ H ₃₀ F ₂ O ₆	67-73-2	453.2083	413.1959	433.2021	337.1434	18.4	0.1	50
17	氟氢缩松	Flurandrenolide	C ₂₄ H ₃₃ FO ₆	1524-88-5	437.2334	361.181	341.1759	323.1653	18.7	0.1	50
18	氟米龙	Fluorometholone	C ₂₂ H ₂₉ FO ₄	426-13-1	377.2123	279.1744	339.1955	321.1849	18.5	0.2	5
19	氟替卡松丙酸酯	Fluticasone propionate	C ₂₅ H ₃₁ F ₃ O ₅ S	80474-14-2	501.1917	313.1598	293.1536	205.0659	19.5	0.1	10
20	哈西奈德	Halcinonide	C ₂₄ H ₃₂ ClFO ₅	3093-35-4	455.1995	359.1408	377.1514	435.1933	19.7	0.2	10
21	氢化可的松	Hydrocortisone	C ₂₁ H ₃₀ O ₅	50-23-7	363.2166	327.1955	121.0648	309.1849	17.9	0.1	5
22	甲地孕酮	Megestrol acetate	C ₂₄ H ₃₂ O ₄	3562-63-8	343.2267	325.2162	267.1744	224.1559	19.6	0.2	5
23	醋酸美伦孕酮	Melengestrol acetate	C ₂₅ H ₃₂ O ₄	2919-66-6	397.2373	337.2162	279.1744	187.1117	19.9	0.2	5
24	甲基泼尼松龙	Methylprednisolone	C ₂₂ H ₃₀ O ₅	83-43-2	375.2166	357.2060	339.1955	161.0961	18.4	0.1	5
25	莫米他松糠酸酯	Mometasone furoate	C ₃₂ H ₃₂ Cl ₂ O ₈	83919-23-7	521.1492	503.1386	355.1459	279.1744	19.6	0.1	50
26	泼尼卡酯	Prednicarbate	C ₂₇ H ₃₆ O ₈	73771-04-7	489.2483	381.2060	289.1587	115.0390	19.7	0.2	5
27	睾丸酮	Testosterone	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	58-22-0	289.2162	97.0648	109.0648	289.2162	19.2	0.1	5
28	曲安奈德	Triamcinolone acetonide	C ₂₄ H ₃₁ FO ₆	76-25-5	435.2177	415.2115	397.2010	399.1591	18.4	0.3	5
1	班布特罗	Bambuterol hydrochloride	C ₁₈ H ₂₉ N ₃ O ₅	81732-46-9	368.218	294.1448	312.1554	72.0444	16.0	0.2	10
2	羟甲基克仑特罗	Hydroxymethyl clenbuterol	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O ₂	38339-18-3	293.0818	275.0713	203.0132	132.0682	14.9	0.0	10
3	克伦塞罗	Clencyclohexerol hydrochloride	C ₁₄ H ₂₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	1435934-75-0	319.0975	301.0869	203.0132	81.0670	14.6	0.2	5
4	(暂无中文名)	Clenhexerol	C ₁₄ H ₂₂ Cl ₂ N ₂ O	38339-23-0	305.1183	203.0132	132.0682	85.1012	16.7	0.3	10
5	异克伦潘特	Clenisopenterol hydrochloride	C ₁₃ H ₂₁ Cl ₃ N ₂ O	1435935-00-4	291.1027	273.0920	217.0289	188.0024	16.4	0.4	5
6	克伦潘特	Clenpenterol hydrochloride	C ₁₃ H ₂₁ Cl ₃ N ₂ O	37158-47-7	291.1026	203.0137	273.0920	132.0682	16.1	0.3	10
7	克伦普罗	Clenproperol	C ₁₁ H ₁₆ Cl ₂ N ₂ O	38339-11-6	263.0713	245.0607	203.0132	132.0682	15.0	3.2	10

	8	非诺特罗	Fenoterol hydrobromide	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	13392-18-2	304.1543	135.0804	286.1438	107.0491	13.8	0.1	5
	9	福莫特洛	Formoterol fumaratedihydrate	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₄	183814-30-4	345.1809	327.1703	149.0961	121.0608	15.5	0.1	5
	10	保泰松乙酸酯	Pirbuterol acetate	C ₁₄ H ₂₄ N ₂ O ₅	65652-44-0	241.1546	167.0815	149.0709	122.0600	11.9	0.5	5
	11	莱克多巴胺	Ractopamine hydrochloride	C ₁₈ H ₂₃ NO ₃	90274-24-1	302.1751	284.1645	121.0648	91.0542	14.8	0.3	10
	12	利托君	Ritodrine hydrochloride	C ₁₇ H ₂₁ NO ₃	23239-51-2	288.1594	270.1489	121.0648	150.0913	14.1	0.0	5
	13	沙美特罗	Salmeterol	C ₂₅ H ₃₇ NO ₄	89365-50-4	416.2795	398.2690	380.2584	232.1696	18.1	0.1	5
	14	索他洛尔	Sotalol hydrochloride	C ₁₂ H ₂₀ N ₂ O ₃ S	959-24-0	273.1267	255.1162	213.0692	133.0760	12.3	0.5	10
	15	特布他林	Terbutaline hemisulfate salt	C ₁₂ H ₁₉ NO ₃	23031-32-5	226.1438	152.0706	170.0812	208.1332	12.5	0.1	10
	16	妥布特罗	Tulobuterol	C ₁₂ H ₁₈ ClNO	41570-61-0	228.115	154.0413	172.0524	118.0651	15.8	0.2	5
I 组	1	对乙酰氨基酚	Acetaminophen	C ₈ H ₉ NO ₂	103-90-2	152.0706	110.0600	93.0330	65.0386	13.2	4.7	50
	2	氯丙嗪	Chlorpromazine	C ₁₇ H ₁₉ ClN ₂ S	50-53-3	319.103	86.0964	58.0651	246.0139	18.2	0.4	5
	3	氯羟吡啶	Clopidol	C ₇ H ₇ Cl ₂ NO	2971-90-6	191.9977	101.0153	51.0229	101.0153	14.8	0.2	10
	4	氨苯砜	Dapsone	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₂ S	80-08-0	249.0692	156.0114	108.0444	92.0495	15.0	0.1	10
	5	卡巴氧 (卡巴多)	Carbadox	C ₁₁ H ₁₀ N ₄ O ₄	6804-07-5	263.0775	231.0513	145.0396	90.0338	15.6	0.0	10
	6	氟哌啶醇	Haloperidol	C ₂₁ H ₂₃ ClFNO ₂	52-86-8	376.1474	165.0710	358.1368	123.0241	17.1	0.3	5
	7	氮哌醇	Azaperol	C ₁₉ H ₂₄ FN ₃ O	2804-05-9	330.1987	121.0760	312.1870	192.1183	14.6	0.2	5
	8	氮哌酮	Azaperone	C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O	1649-18-9	328.182	165.0699	121.0760	147.0917	15.2	0.9	5
	9	丙酰丙嗪	Propionylpromazin-hydrochloride	C ₂₀ H ₂₅ ClN ₂ OS	7681-67-6	341.1686	86.0964	58.0651	268.0791	18.0	0.3	5
	10	甲苯噻嗪	Xylazine	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ S	7361-61-7	221.1107	90.0372	164.0528	58.0651	15.4	0.7	5
J 组	1	卡马西平	Carbamazepine	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	298-46-4	237.1022	194.0964	220.0757	179.0730	17.9	0.2	5
	2	苯海拉明	Diphenhydramine	C ₁₇ H ₂₁ NO	58-73-1	256.1696	167.0855	152.0621	141.0699	16.9	0.5	5
	3	氟西汀	Fluoxetine	C ₁₇ H ₁₈ F ₃ NO	549910-89-3	310.1413	44.0495	148.1121		17.8	0.2	5
	4	丙咪嗪	Imipramine	C ₁₉ H ₂₄ N ₂	50-49-7	281.2012	86.0964	58.0651	208.1121	17.7	0.4	5

K 组	5	舒必利	Sulpiride	C ₁₅ H ₂₃ N ₃ O ₄ S	15676-16-1	342.1482	112.1121	214.0162	58.0651	12.6	0.7	10
	6	吡唑坦	Zolpidem	C ₁₉ H ₂₁ N ₃ O	82626-48-0	308.1757	235.123	263.1179	92.0495	15.9	0.4	5
	1	咖啡因	Caffeine	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	58-08-2	195.0877	138.0662	110.0713	69.0447	14.9	1.1	5
L 组	2	可待因	Codeine	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	76-57-3	300.1594	165.0699	199.0754	58.0651	13.5	0.4	10
	3	1,7-二甲基黄嘌呤	1,7-Dimethylxanthine	C ₇ H ₈ N ₄ O ₂	611-59-6	181.072	124.0505	96.0556	55.0291	13.9	0.2	50
	1	氯普鲁卡因	Chloroprocaine	C ₁₃ H ₁₉ ClN ₂ O ₂	133-16-4	271.121	100.1121	154.0049	198.0316	14.3	0.7	10
M 组	2	辛可卡因	Cinchocaine	C ₂₀ H ₂₉ N ₃ O ₂	85-79-0	344.2333	271.1441	215.0815	74.0964	17.9	0.3	5
	3	利多卡因	Lidocaine	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O	137-58-6	235.1805	86.0964	58.0651		15.0	0.6	10
	4	普鲁卡因胺	Procainamide	C ₁₃ H ₂₁ N ₃ O	51-06-9	236.1757	163.0866	120.0444	92.0495	11.7	2.3	5
N 组	5	普鲁卡因	Procaine	C ₁₃ H ₂₀ N ₂ O ₂	59-46-1	237.1598	100.1121	120.0444	164.0706	13.2	1.2	5
	6	丁卡因	Tetracaine	C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O ₂	94-24-6	265.1911	176.107	72.0808	220.1332	16.8	0.7	5
	1	溴苯那敏	Brompheniramine	C ₁₆ H ₁₉ BrN ₂	86-22-6	319.0804	274.0226	167.0730	194.0964	16.6	0.2	10
	2	西替利嗪	Cetirizine	C ₂₁ H ₂₅ ClN ₂ O ₃	83881-51-0	389.1627	201.0465	187.1077	166.0777	18.1	0.2	10
	3	氯苯那敏	Chlorpheniramine	C ₁₆ H ₁₉ ClN ₂	132-22-9	275.1313	230.0731	167.0730	202.0418	16.4	0.5	10
	4	氟奋乃静	Fluphenazine	C ₂₂ H ₂₆ F ₃ N ₃ OS	69-23-8	438.1821	171.1492	143.1179	280.0402	18.6	0.5	10
	5	羟嗪	Hydroxyzine	C ₂₁ H ₂₇ ClN ₂ O ₂	68-88-2	375.1834	201.0465	173.1284	166.0777	17.8	0.2	10
O 组	6	异丙嗪	Promethazine	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ S	60-87-7	285.142	86.0964	198.0372	240.0842	17.5	0.1	50
	7	特非那定	Terfenadine	C ₃₂ H ₄₁ NO ₂	50679-08-8	472.321	454.3105	436.2300	57.0699	18.6	0.2	10
	1	联苯苄唑	Bifonazole	C ₂₂ H ₁₈ N ₂	60628-96-8	311.1543	243.1168	165.0699	91.0542	18.1	0.5	5
	2	益康唑	Econazole	C ₁₈ H ₁₅ Cl ₃ N ₂ O	27220-47-9	381.0323	125.0153	193.0522	69.0447	18.6	0.5	5
	3	灰黄霉素	Griseofulvin	C ₁₇ H ₁₇ ClO ₆	126-07-8	353.0786	165.0546	215.0106	285.0524	18.3	0.2	5
0 组	4	酮康唑	Ketoconazole	C ₂₆ H ₂₈ Cl ₂ N ₄ O ₄	65277-42-1	531.156	82.0526	489.1455	255.0082	17.6	0.2	5
	5	萘替芬	Naftifine	C ₂₁ H ₂₁ N	65472-88-0	288.1747	117.0699	141.0699	170.0964	17.5	0.3	5
	1	氟尼辛	Flunixin	C ₃₈ H ₅₀ N ₆ O ₅	42461-84-7	297.0845	279.074	264.0505	239.0615	19.7	0.3	5
	2	酮替芬	Ketotifen	C ₁₉ H ₁₉ NOS	34580-13-7	310.126	96.0808	82.0651	68.0495	16.1	0.3	5
0 组	3	氯诺昔康	Lornoxicam	C ₁₃ H ₁₀ ClN ₃ O ₄ S ₂	70374-39-9	371.9874	95.0604	121.0415	164.0818	18.1	0.2	50
	4	美利曲辛	Melitracen	C ₂₁ H ₂₅ N	5118-29-6	292.206	247.1481	232.1247	84.0808	18.1	0.3	10

5	奥沙普秦	Oxaprozin	C ₁₈ H ₁₅ NO ₃	21256-18-8	294.1125	276.1019	103.0542	234.0913	19.5	0.2	10
6	安替比林	Antipyrine	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O	60-80-0	189.1022	56.0495	77.0386	104.0495	15.7	0.3	5



2.3 二级高分辨质谱库建立

配制 100 ng/mL 150 种兽药混合标准样品溶液，按照前述条件进行前处理，上机分析。进行一级 MS 扫描，以及 MS/MS(DDA)扫描，获得不同碰撞能 (10V、20V、30V、40V、50V、60V) 下的二级质谱图，使用 LabSolutions insight 软件进行二级质谱库的建立。150 种兽药高分辨二级质谱库收录了 1507 张二级质谱图，以及化合物的中英文名、分子式、保留时间、色谱条件，一级高分辨质荷比等信息。

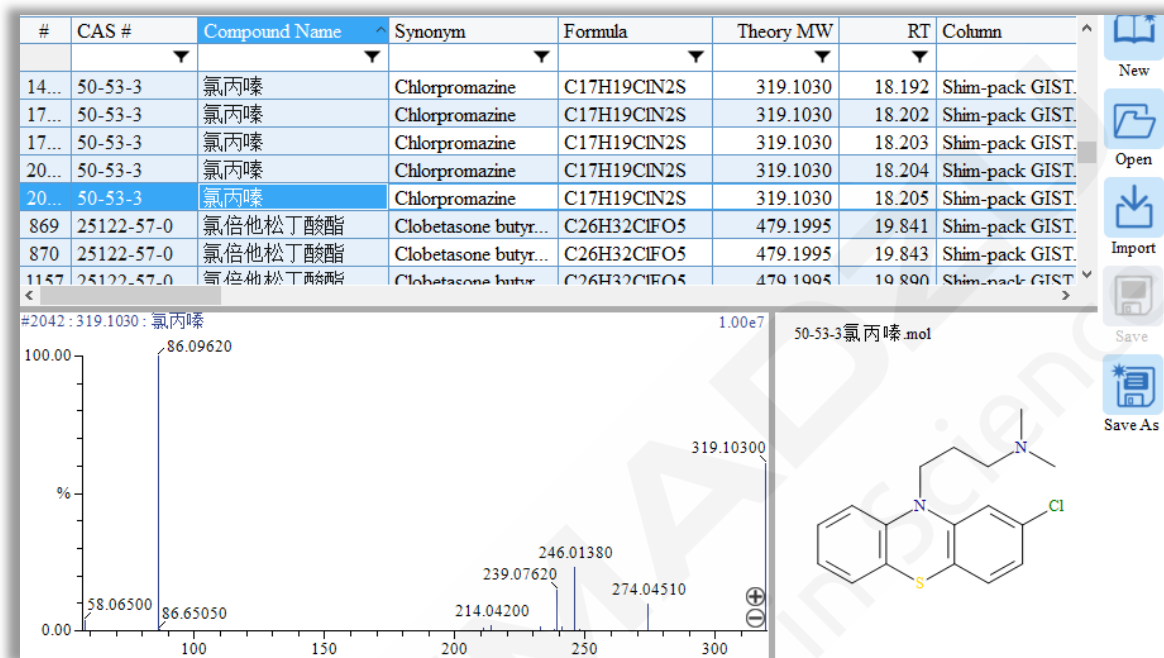


图 2. 150 种兽药二级质谱库预览

2.4 尿液样品加标鉴别与确认

按照前述分析条件，制备 100 ng/mL 尿液加标样品（样品编号“qc80_008”），根据保留时间及精确质量数进行鉴别，二级质谱库或典型二级碎片离子丰度比进行确认。以氟奋乃静为例演示加标样品的定性过程，基质混标中氟奋乃静 m/z 438.1821 色谱出峰时间 $RT=18.433$ min，加标样品中 m/z 438.1821 色谱出峰时间 $RT=18.014$ min，可初步判定加标样含有氟奋乃静。利用岛津 LabSolutions Insight Explore 的谱库检索功能，对 m/z 438.1821 的二级质谱图进行谱库匹配，相似度得分 97 分如图 4 所示。典型碎片离子 m/z 143.1174、 m/z 171.1489、 m/z 280.0404 与标准谱库中质量偏差小于 5ppm，优于标准要求 10 ppm，如表 3 所示。

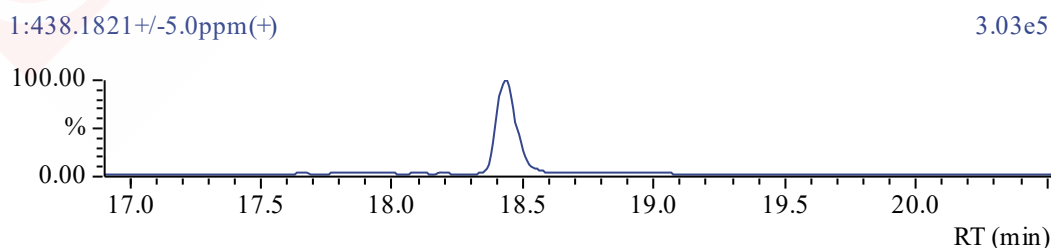


图 3. m/z 438.1821 提取离子流图

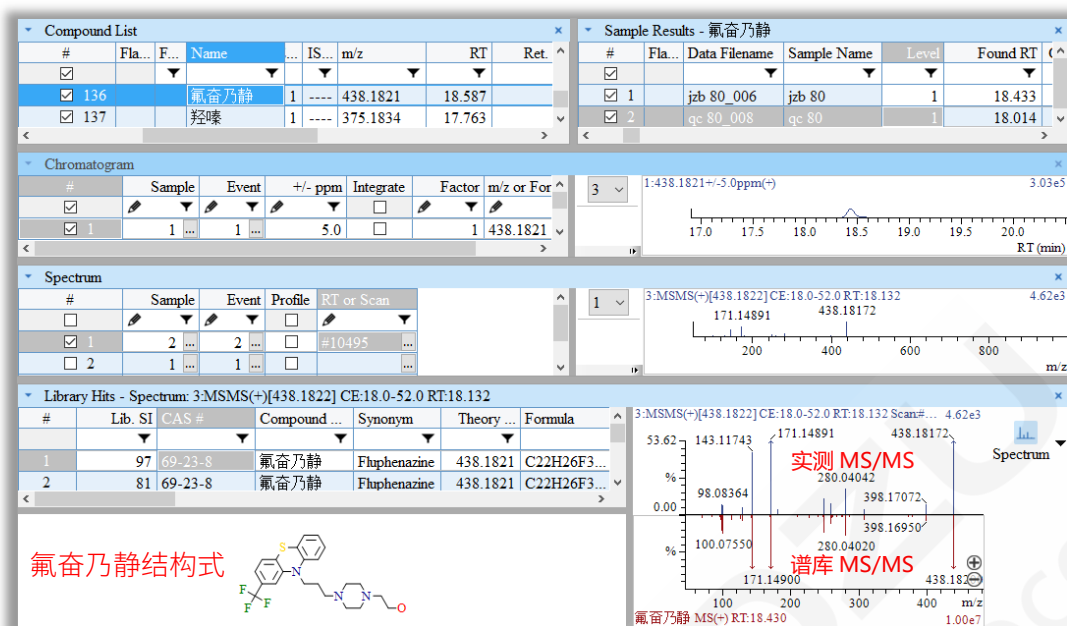


图 4. m/z 438.1821 二级质谱图谱库检索结果

表 3. m/z 438.1821 二级质谱图典型碎片离子质量偏差

化合物	典型二级碎片离子 1	典型二级碎片离子 2	典型二级碎片离子 3
标准谱库	143.1179	171.1492	280.0402
加标样品	143.1174	171.1489	280.0404
质量偏差	3.49 ppm	1.75 ppm	0.71 ppm

2.5 加标回收率

100 ng/mL 尿液加标样品进行计算加标回收率，回收率结果如图 5 所示，106 个化合物的加标回收率在 70%-120%之间，35 个化合物回收率>120%，7 个化合物回收率在 50-70%之间，仅 2 个化合物（塞克硝唑、保泰松乙酸酯）回收率低于 50%。

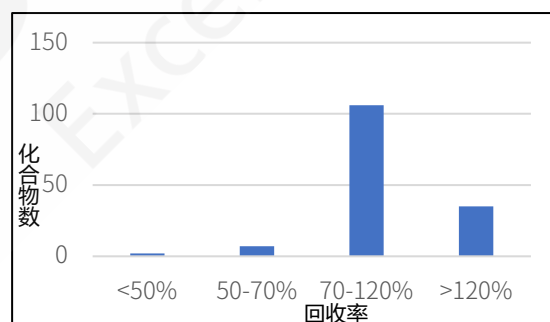


图 5. 回收率结果

3. 结论

本文采用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，建立了尿液中 150 种兽药鉴别与确认的方法，同时创建了二级质谱库。方法检出限为 0.03 ~39.5 ng/mL，灵敏度高。一级质谱质量数准确度误差小于 5.0 ppm，二级质谱库匹配度好。该方法简便、灵敏、定性筛查准确性好，适用于尿液中多兽药残留的快速定性筛查。

LC-MS/MS 测定鸡肉中的四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留

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测定鸡肉中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的方法, 三类化合物在 2 µg/L~500.0 µg/L 浓度范围内线性良好, 相关系数 r 均在 0.998 以上。在高、中、低三个浓度下, 基质标样保留时间和峰面积的 RSD% 分别在 0.03%~0.20% 和 0.38%~6.23% 之间, 仪器精密度良好。加标浓度为 10、100 和 500 µg/kg 的样品, 回收率在 62.3~104.2% 之间。该方法灵敏度高, 分析时间短, 结果准确, 可用于鸡肉中的四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物多残留的准确定量检测。

关键词: 三重四极杆液质联用仪 鸡肉 四环素类 磺胺类 喹诺酮类

四环素类、磺胺类和喹诺酮类抗生素均为广谱抗生素, 且作为兽药使用已有多年历史, 耐药性严重程度不容忽视。这些抗生素的不合理使用, 将会为食品安全带来隐患。GB 31650-2019 《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》中对牛、猪、家禽和鱼中的四环素类(土霉素、四环素、金霉素和强力霉素)、牛/羊、家禽、猪等动物基质中的喹诺酮类(恩诺沙星、达氟沙星、沙拉沙星、二氟沙星等) 抗生素最大残留限量(MRLs) 都有明确规定, 而磺胺类抗生素在所有食品动物基质的MRLs均为100 µg/kg。

为了保障人们的食品安全, 农业农村部首次发布了《GB 31658.17-2021 动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》, 该方法也是国标中首次跨种类多残留同时检测方法, 对兽残检测通量的提高具有积极的意义。

本文参考该标准, 建立了鸡肉中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留的检测方法, 试样中残留药物, 用Mcllvaine-Na₂EDTA缓冲液提取, 亲水亲脂平衡型固相萃取柱净化, 液相色谱-串联质谱法测定, 外标法定量。方法快速灵敏, 准确度高, 可适用于动物性食品中这三类抗生素的同时检测。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 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-40DX3×2	质谱仪:	LCMS-8050
柱温箱:	CTO-40C	色谱工作站:	LabSolutions Ver. 5.99
在线脱气机:	DGU-405		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱: Shim-pack GIST-HP C18-AQ (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 µm) 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30807-02

流动相: A相-0.1%甲酸水溶液, B相-0.1%甲酸甲醇溶液

柱温: 35 °C

流 速： 0.3 mL/min
进样体积： 1 μ L
洗脱方式： 梯度洗脱，初始浓度为 B 相 15%，时间程序见表 1

表 1. 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	30
5.00	Pumps	Pump B Conc.	40
7.00	Pumps	Pump B Conc.	95
8.50	Pumps	Pump B Conc.	95
8.51	Pumps	Pump B Conc.	15
12.00	Controller	Stop	

质谱条件

离 子 源 : ESI, 正离子模式 D L 管 温 度 : 250°C
接 口 电 压 : 0.5 kV 加 热 模 块 温 度 : 400°C
雾 化 气 : 氮气 3.0 L/min 接 口 温 度 : 300°C
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 M R M 参 数 : 见表 2
碰 撞 气 : 氩气 (230kPa)

2. 标准品溶液的配制及样品前处理

标准工作溶液配制:

参考《GB 31658.17-2021 动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》中标准溶液的制备方法配制标准储备液及工作液。

样品前处理:

参考《GB 31658.17-2021 动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》中样品的提取及净化方法。

基质匹配校准曲线溶液的制备:

精密量取混合标准工作液适量，分别加入 6 份经提取和净化的空白试样残渣中，45°C 氮气吹干，加入复溶液 1 mL 涡旋溶解，配制成浓度为 2、10、50、100、250 和 500 μ g/L 的基质匹配系列标准工作曲线溶液，微孔滤膜过滤后上机测定。

表 2. MRM 参数

No.	中文名称	英文名称	分子式	CAS No.	分子量	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	乙酰磺胺	Sulfacetamide	C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₃ S	144-80-9	214.2	215.1	108.1*	-13.0	-19.0	-20.0
							156.0	-13.0	-11.0	-29.0
2	磺胺二甲异嘧啶	Sulfisomidine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	515-64-0	278.3	279.1	124.1*	-18.0	-22.0	-25.0
							186.0	-10.0	-17.0	-12.0
3	磺胺嘧啶	Sulfadiazine	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	68-35-9	250.3	251.1	92.0*	-16.0	-26.0	-17.0
							156.0	-16.0	-16.0	-30.0
4	磺胺噻唑	Sulfathiazole	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ S ₂	72-14-0	255.3	256.0	92.0*	-16.0	-26.0	-17.0
							156.0	-16.0	-15.0	-16.0
5	磺胺吡啶	Sulfapyridine	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₂ S	144-83-2	249.3	250.1	108.1*	-16.0	-24.0	-20.0
							156.0	-15.0	-16.0	-10.0
6	麻保沙星	Marbofloxacin	C ₁₇ H ₁₉ FN ₄ O ₄	115550-35-1	362.4	363.1	72.1*	-13.0	-23.0	-27.0
							320.0	-13.0	-17.0	-22.0
7	磺胺甲嘧啶	Sulfamerazine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	127-79-7	264.3	265.0	92.0*	-16.0	-29.0	-17.0
							156.0	-16.0	-16.0	-15.0
8	依诺沙星	Enoxacin	C ₁₅ H ₁₇ FN ₄ O ₃	74011-58-8	320.3	321.1	234.1*	-11.0	-22.0	-25.0
							303.1	-11.0	-15.0	-21.0
9	氧氟沙星	Ofloxacin	C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₄	82419-36-1	361.4	362.1	261.1*	-12.0	-27.0	-18.0
							318.1	-13.0	-20.0	-22.0
10	培氟沙星	Pefloxacin	C ₁₇ H ₂₀ FN ₃ O ₃	70458-92-3	333.4	334.1	290.1*	-20.0	-19.0	-20.0
							316.0	-12.0	-21.0	-22.0
11	四环素	Tetracycline	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	60-54-8	444.4	445.1	410.1*	-15.0	-21.0	-29.0
							427.1	-10.0	-15.0	-30.0
12	诺氟沙星	Norfloxacin	C ₁₆ H ₁₈ FN ₃ O ₃	70458-96-7	319.3	320.1	233.1*	-11.0	-24.0	-25.0
							302.1	-11.0	-20.0	-21.0

13	磺胺甲氧哒嗪	Sulfamethoxypyridazine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	80-35-3	280.3	281.1	92.0*	-10.0	-29.0	-17.0
							156.0	-10.0	-17.0	-30.0
14	土霉素	Oxytetracycline	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₉	79-57-2	460.4	461.1	426.1*	-10.0	-20.0	-30.0
							443.1	-10.0	-14.0	-16.0
15	磺胺甲噻二唑	Sulfamethizole	C ₉ H ₁₀ N ₄ O ₂ S ₂	144-82-1	270.3	271.1	92.0*	-12.0	-26.0	-17.0
							156.0	-10.0	-14.0	-10.0
16	磺胺二甲嘧啶	Sulfamethazine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	57-68-1	278.3	279.1	92.0*	-10.0	-31.0	-17.0
							186.0	-10.0	-18.0	-12.0
17	环丙沙星	Ciprofloxacin	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	85721-33-1	331.3	332.1	231.0*	-21.0	-35.0	-25.0
							314.1	-11.0	-20.0	-22.0
18	磺胺对甲氧嘧啶	Sulfameter	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	651-06-9	280.3	281.1	92.0*	-10.0	-30.0	-17.0
							156.0	-10.0	-17.0	-16.0
19	恩诺沙星	Enrofloxacin	C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₃	93106-60-6	359.4	360.1	245.1*	-12.0	-27.0	-17.0
							316.1	-12.0	-20.0	-22.0
20	达氟沙星	Danofloxacin	C ₁₉ H ₂₀ FN ₃ O ₃	112398-08-0	357.4	358.1	96.1*	-12.0	-25.0	-18.0
							340.1	-13.0	-23.0	-24.0
21	洛美沙星	Lomefloxacin	C ₁₇ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃	98079-51-7	351.4	352.1	265.1*	-12.0	-24.0	-18.0
							308.1	-12.0	-18.0	-21.0
22	磺胺氯哒嗪	Sulfachloropyridazine	C ₁₀ H ₉ ClN ₄ O ₂ S	80-32-0	284.7	285.0	92.0*	-10.0	-27.0	-17.0
							156.0	-10.0	-15.0	-16.0
23	二氟沙星	Difloxacin	C ₂₁ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃	98106-17-3	399.4	400.1	299.1*	-14.0	-28.0	-21.0
							356.1	-14.0	-21.0	-25.0
24	磺胺甲噁唑	Sulfamethoxazole	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	723-46-6	253.3	254.1	92.0*	-16.0	-28.0	-17.0
							156.0	-16.0	-16.0	-16.0
25	沙拉沙星	Sarafloxacin	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₃ O ₃	98105-99-8	385.4	386.1	299.1*	-13.0	-29.0	-21.0
							342.1	-13.0	-20.0	-24.0
26	磺胺二甲异噁唑	Sulfisoxazole	C ₁₁ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	127-69-5	267.3	268.1	92.0*	-17.0	-28.0	-25.0

							156.0	-17.0	-14.0	-30.0
27	磺胺间甲氧嘧啶	Sulfamonomethoxine	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	1220-83-3	280.3	281.1	92.0*	-10.0	-29.0	-17.0
							156.0	-10.0	-17.0	-29.0
28	磺胺邻二甲氧嘧啶	Sulfadoxine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	2447-57-6	310.3	311.10	92.0*	-19.0	-32.0	-17.0
							156.0	-11.0	-19.0	-30.0
29	金霉素	Chlortetracycline	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₂ O ₈	57-62-5	478.9	479.1	444.0*	-16.0	-23.0	-16.0
							462.1	-10.0	-17.0	-17.0
30	苯甲酰磺胺	Sulfabenzamide	C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O ₃ S	127-71-9	276.3	277.1	108.0*	-17.0	-22.0	-20.0
							156.0	-18.0	-12.0	-16.0
31	酞磺胺噻唑	Phthalylsulfathiazole	C ₁₇ H ₁₃ N ₃ O ₅ S ₂	85-73-4	403.4	404.0	149.0*	-14.0	-29.0	-28.0
							256.0	-14.0	-15.0	-17.0
32	磺胺苯吡唑	Sulfaphenazole	C ₁₅ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	526-08-9	314.4	315.0	92.0*	-11.0	-36.0	-17.0
							158.1	-11.0	-30.0	-16.0
33	磺胺间二甲氧嘧啶	Sulfadimethoxine	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	2447-57-6	310.3	311.1	92.0*	-19.0	-32.0	-17.0
							156.0	-11.0	-21.0	-16.0
34	多西环素	Doxycycline	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	564-25-0	444.4	445.1	154.1*	-10.0	-28.0	-29.0
							428.1	-10.0	-19.0	-30.0
35	噁啉酸	Oxolinic acid	C ₁₃ H ₁₁ NO ₅	14698-29-4	261.2	262.1	216.0*	-17.0	-29.0	-23.0
							244.0	-16.0	-30.0	-17.0
36	氟甲喹	Flumequine	C ₁₄ H ₁₂ FNO ₃	42835-25-6	261.3	262.1	202.0*	-16.0	-27.0	-21.0
							244.0	-16.0	-30.0	-17.0

*表示定量离子

3. 结果与讨论

3.1 四环素、磺胺及喹诺酮标准溶液谱图

配制的 2 ng/mL 混合标准溶液，上机分析，得到 36 种四环素、磺胺及喹诺酮标准溶液的 MRM 色谱图，详见图 1，色谱峰形良好，通道无干扰。

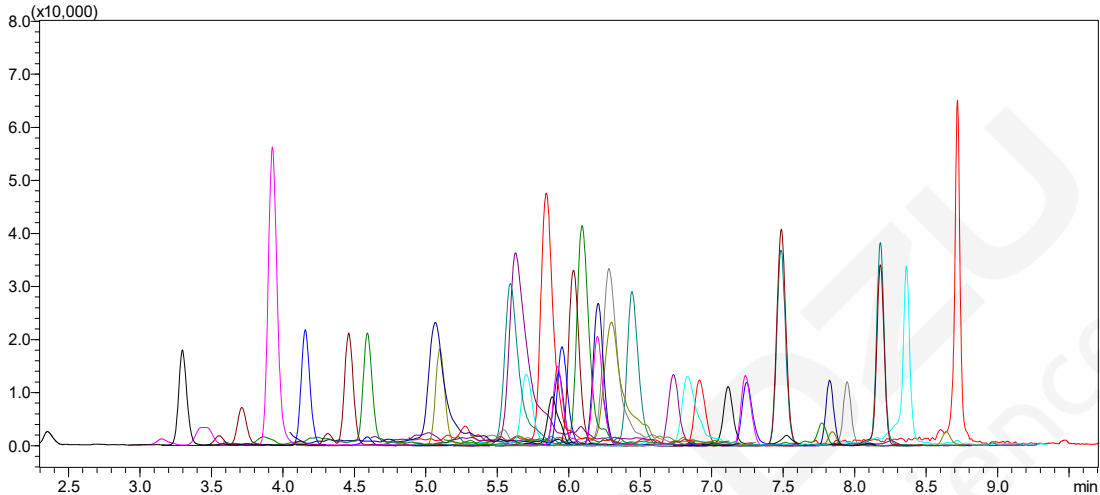


图 1. 2 ng/mL 36 种四环素、磺胺及喹诺酮标液的 MRM 色谱图

3.2 线性关系

将 2、10、50、100、250 和 500 $\mu\text{g/L}$ 的基质混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示（部分）。四环素、磺胺及喹诺酮校准曲线及检测限、定量限的结果见表 3。

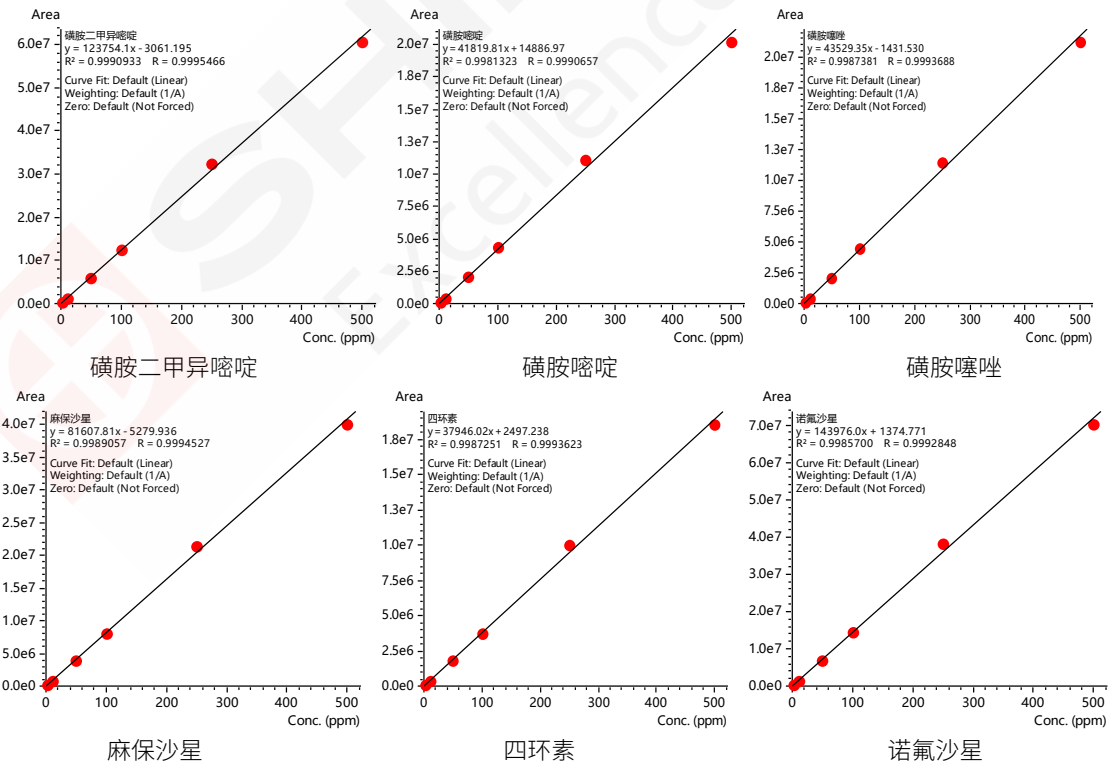


图 2. 36 种四环素、磺胺及喹诺酮校准曲线

表 3. 36 种四环素、磺胺及喹诺酮校准曲线及检测限、定量限

编号	化合物	校准曲线	相关系数 R	准确度%	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
1	乙酰磺胺	$Y = (34215.3)X + (10413.7)$	0.9990	89.7~107.4	0.07	0.20
2	磺胺二甲异噁啉	$Y = (123754)X + (-3061.19)$	0.9995	97.8~105.4	0.15	0.45
3	磺胺嘧啶	$Y = (41819.8)X + (14887.0)$	0.9991	88.8~107.1	0.26	0.78
4	磺胺噻唑	$Y = (43529.3)X + (-1431.53)$	0.9994	95.9~106.2	0.03	0.09
5	磺胺吡啶	$Y = (44262.1)X + (11916.6)$	0.9990	90.7~107.6	0.29	0.86
6	麻保沙星	$Y = (81607.8)X + (-5279.94)$	0.9995	95.4~104.9	0.31	0.93
7	磺胺甲噁啉	$Y = (36805.0)X + (17820.6)$	0.9988	91.3~107.2	0.05	0.14
8	依诺沙星	$Y = (114288)X + (30682.6)$	0.9987	89.5~107.5	0.57	1.72
9	氧氟沙星	$Y = (103346)X + (49520.5)$	0.9985	83.3~109.3	0.06	0.20
10	培氟沙星	$Y = (162706)X + (14369.2)$	0.9992	90.5~107.3	0.28	0.83
11	四环素	$Y = (37946.0)X + (2497.24)$	0.9994	93.7~107.6	0.19	0.56
12	诺氟沙星	$Y = (143976)X + (1374.77)$	0.9993	97.1~106.1	0.18	0.55
13	磺胺甲氧吡嗪	$Y = (34610.2)X + (12869.7)$	0.9993	90.5~105.8	0.05	0.17
14	土霉素	$Y = (27978.1)X + (2602.01)$	0.9995	88.1~107.7	0.15	0.47
15	磺胺甲噻二唑	$Y = (49595.4)X + (-2624.08)$	0.9992	96.9~106.2	0.06	0.19
16	磺胺二甲噁啉	$Y = (82445.6)X + (13146.9)$	0.9990	92.5~107.1	0.03	0.10
17	环丙沙星	$Y = (129676)X + (-13828.2)$	0.9992	96.3~106.5	0.14	0.43
18	磺胺对甲氧吡啶	$Y = (64216.5)X + (29170.6)$	0.9985	85.5~107.7	0.04	0.12
19	恩诺沙星	$Y = (66875.0)X + (82884.6)$	0.9993	85.8~112.1	0.20	0.61
20	达氟沙星	$Y = (134665)X + (-29033.4)$	0.9996	94.2~105.0	0.13	0.40
21	洛美沙星	$Y = (86893.5)X + (-10470.1)$	0.9994	95.4~105.8	0.14	0.43
22	磺胺氯吡嗪	$Y = (34767.4)X + (955.326)$	0.9991	95.9~107.3	0.14	0.42
23	二氟沙星	$Y = (53107.6)X + (-2452.48)$	0.9994	92.8~106.7	0.29	0.87
24	磺胺甲噁唑	$Y = (30504.4)X + (3200.24)$	0.9991	96.3~106.6	0.05	0.17
25	沙拉沙星	$Y = (27307.0)X + (-1978.41)$	0.9991	94.6~106.0	0.15	0.47
26	磺胺二甲异噁唑	$Y = (33647.0)X + (706.782)$	0.9989	94.9~106.9	0.05	0.16
27	磺胺间甲氧吡啶	$Y = (31679.2)X + (5365.68)$	0.9993	91.3~105.9	0.04	0.13
28	磺胺邻二甲氧吡啶	$Y = (92175.1)X + (17811.5)$	0.9989	89.3~107.0	0.03	0.08
29	金霉素	$Y = (11831.5)X + (-5528.24)$	0.9995	92.4~111.0	0.20	0.60
30	苯甲酰磺胺	$Y = (22821.9)X + (1318.69)$	0.9992	92.6~106.9	0.01	0.02
31	酞磺胺噻唑	$Y = (5390.01)X + (-602.739)$	0.9993	95.8~106.9	0.12	0.37
32	磺胺苯吡唑	$Y = (21282.5)X + (11444.5)$	0.9982	84.0~107.5	0.06	0.19
33	磺胺间二甲氧吡啶	$Y = (71374.8)X + (5593.66)$	0.9994	95.9~106.1	0.02	0.06
34	多西环素	$Y = (24425.1)X + (50766.2)$	0.9999	87.0~116.1	0.06	0.19
35	噁喹酸	$Y = (78764.2)X + (82889.8)$	0.9989	82.2~106.2	0.03	0.08
36	氟甲喹	$Y = (67376.8)X + (47990.8)$	0.9990	89.5~106.4	0.05	0.14

3.3 精密度

浓度为 2、50 和 250 $\mu\text{g/L}$ 基质标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度。不同浓度样品中待测物保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.03%~0.20%和 0.38%~6.23%之间，仪器精密度良好。

3.4 回收率

取空白鸡肉 1 g，加入混标工作液，使加标浓度为 10、100 和 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，样品经提取与净化后，按照 1.2 中的分析条件测定四环素、磺胺和喹诺酮的加标回收率，平行测定 3 次。结果显示，高、中、低三个浓度水平的加标回收率均满足标准 GB 31658.17-2021 中关于回收率在 60%~110%之间的要求，具体结果见表 4。

表 4. 四环素、磺胺及喹诺酮药物的回收率结果

药物种类	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$		100 $\mu\text{g}/\text{kg}$		500 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
	回收率%	RSD%	回收率%	RSD%	回收率%	RSD%
喹诺酮类	76.6~97.6	3.7~8.5	82.6~104.2	0.2~5.6	83.8~103.0	0.1~2.3
四环素	62.3~71.3	2.7~12.9	67.7~68.3	2.8~4.9	64.9~80.9	1.9~3.9
磺胺类	65.6~94.8	1.1~8.7	63.2~97.0	0.4~3.5	67.3~99.3	1.2~4.3

4 结论

依据国家标准《GB 31658.17-2021 动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的测定 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同时测定鸡肉中四环素、磺胺和喹诺酮药物多残留的方法。四环素类抗生素易光解，在酸及碱性条件下都不够稳定，且易与金属离子反应，在实验中进样小瓶建议选择 PP 材质的样品瓶。这三类抗生素在 2 $\mu\text{g}/\text{L}$ ~500.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性良好，相关系数 r 均在 0.998 以上。在高、中、低三个浓度下，基质标样的峰面积的 RSD%在 0.38%~6.23%之间，仪器精密度良好。加标浓度为 10、100 和 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品，回收率在 62.3~104.2%之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于鸡肉中的四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物多残留的准确定量检测。

LCMS-8050 测定猪肉中 64 种兽药残留

摘要：本文使用岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱仪 LCMS-8050，建立了动物源性食品中 64 种兽药残留的测定方法。参考《T/FDSA 007-2019 动物源性食品中多兽药残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》团体标准，猪肉样品经 QuEChERS 前处理提取净化，进行了方法的线性、准确度及精密度的考察。结果显示该方法线性良好，标准曲线相关系数均大于 0.990，低、中、高三个浓度的加标回收率在 60-120%之间，加标回收率相对标准偏差<15%。该方法可满足样品中兽药残留的快速、初步筛查。

关键词：LCMS-8050 兽药 猪肉

2019年10月，GB31650-2019 《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》发布，替代原有的农业部公告第235号中的相应部分。标准制定更加科学严谨，涵盖的品种和限量数量大大增加，其中新增兽药品种76项，限量值643项。新国标的颁布，对动物性食品中兽药残留的判定具有指导意义，检测机构初次检出了动物性食品中存在兽药残留，需要进行复检，根据大于方法检出限(LOQ)的复检结果查询GB 31650-2019后进行判定。而农业部发布的现行动物性食品兽药残留检测方法标准，多按照兽药类别、样品基质来分类。检测机构在执行依法检测时，同一份样品往往需要采用多种前处理、多次上机分析，以实现多种兽药残留的筛查。前处理耗时，分析通量低。

本文参考《T/FDSA 007-2019 动物源性食品中多兽药残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》团体标准，建立了基于LCMS-8050的动物源性食品中64种兽药多残留的测定方法，涵盖了喹诺酮类、磺胺类、硝基咪唑类、四环素类、氯霉素类等兽药。更适合检测机构用于样品中兽药残留的快速、初步筛查。

1 实验部分

1.1 仪器

岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8050。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A _{5R}
输液泵：	LC-30AD×2	自动进样器：	SIL-30ACMP
柱温箱：	CTO-30A	检测器：	LCMS-8050
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.91		

1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱	: Shim-pack GIST C18 (2.1 mm I.D. × 150 mm L., 3.5 μm)
流动相	: 流动相 A-0.1%甲酸水溶液 流动相 B-乙腈
流速	: 0.3 mL/min
柱温	: 35°C
进样量	: 10 μL
洗脱方式	: 梯度洗脱，B相初始浓度为 5%，时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	5
2.00	Pumps	Pump B Conc.	50
6.00	Pumps	Pump B Conc.	50
6.50	Pumps	Pump B Conc.	90
8.00	Pumps	Pump B Conc.	90
8.10	Pumps	Pump B Conc.	5
10.00	Controller	Stop	

质谱条件:

分析仪器	: LCMS-8050	加热模块温度	: 400°C
离子源	: ESI (+/-)	DL 温度	: 200°C
雾化气流速	: 3.0 L/min	离子源温度	: 400°C
加热气流速	: 10.0 L/min	扫描模式	: 多反应监测(MRM)
干燥气流速	: 10.0 L/min	MRM 参数	: 见表 2

表 2. MRM 参数

序号	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE	Q3 Pre Bias (V)
1	恩诺沙星	360.3	342.2*	-18	22	-25
			316.2	-14	20	-23
2	沙拉沙星	386.2	368.1*	-19	23	-27
			299.1	-15	27	-21
3	环丙沙星	332.2	314.1*	-17	21	-23
			231.0	-17	35	-25
4	氧氟沙星	362.2	318.2*	-18	19	-23
			261.1	-14	26	-29
5	诺氟沙星	320.2	302.1*	-17	21	-22
			231.1	-17	-38	-26
6	依诺沙星	321.2	303.1*	-16	21	-22
			203.9	-16	-41	-21
7	洛美沙星	352.2	265.0*	-18	-22	-28
			308.2	-18	-17	-22
8	达氟沙星	358.2	340.1*	-18	22	-25
			255.0	-18	40	-27
9	司帕沙星	393.0	349.0*	-29	-21	-26
			292.0	-15	-26	-21
10	双氟沙星	400.0	356.0*	-15	-20	-27
			299.0	-20	-27	-22
11	氟罗沙星	370.0	326.0*	-14	-20	-24
			269.0	-14	-27	-28
12	培氟沙星	334.2	316.2*	-17	-21	-23
			290.1	-17	-18	-30

13	氟甲喹	262.1	244.1*	-20	18	-27
			202.0	-14	-31	-21
14	萘啶酸	233.1	215.1*	-18	-14	-23
			187.0	-17	-23	-19
15	吡哌酸	304.2	286.1*	-16	-20	-20
			215.1	-15	-33	-23
16	噁喹酸	262.1	244.1*	-14	-18	-27
			216.0	-14	30	-15
17	磺胺胍	215.0	156.0*	-17	10	-30
			108.0	-16	19	-22
18	甲氧苄啶	290.8	230.1*	-15	23	-16
			261.1	-15	25	-19
19	磺胺苯酰	277.1	156.1*	-15	13	-16
			108.1	-14	23	-21
20	磺胺喹噁啉	301.0	92.1*	-15	30	-18
			156.0	-15	16	-16
21	磺胺间甲氧嘧啶	281.0	156.0*	-21	16	-16
			108.0	-21	25	-20
22	磺胺甲噻二唑	271.0	156.0*	-14	14	-16
			108.0	-14	23	-21
23	磺胺甲基嘧啶	265.0	156.0*	-20	17	-29
			92.1	-21	27	-18
24	磺胺二甲嘧啶	279.0	186.0*	-21	16	-20
			92.1	-11	28	-17
25	磺胺恶唑	268.1	156.1*	-14	14	-30
			113.1	-14	16	-22
26	磺胺邻二甲氧嘧啶	311.0	156.0*	-12	20	-30
			108.0	-12	26	-21
27	磺胺间二甲氧嘧啶	311.0	156.0*	-12	20	-30
			92.1	-16	31	-18
28	磺胺吡啶	250.0	156.0*	-13	15	-16
			92.1	-13	27	-18
29	磺胺对甲氧嘧啶	281.1	156.1*	-15	17	-17
			108.1	-15	25	-21
30	磺胺噻唑	256.0	156.0*	-10	14	-29
			92.1	-14	28	-18
31	磺胺嘧啶	251.0	156.0*	-19	15	-30
			92.1	-13	27	-19
32	磺胺苯吡唑	315.1	158.1*	-12	28	-30
			156.1	-24	20	-17
33	磺胺甲噁唑	254.0	156.0*	-19	15	-17
			92.0	-20	25	-19
34	磺胺甲氧哒嗪	281.0	156.0*	-11	17	-30

			92.1	-15	29	-18
35	磺胺氯哒嗪	285.0	156.0*	-21	15	-16
			92.1	-21	27	-18
36	磺胺醋酰	215.0	156.0*	-16	10	-16
			92.0	-16	23	-18
37	特布他林	226.1	125.2*	-12	24	-24
			152.2	-11	16	-11
38	塞布特罗	234.1	143.1*	-12	24	-28
			160.2	-12	14	-17
39	溴布特罗	366.8	293.0*	-18	18	-21
			349.0	-18	13	-26
40	马布特罗	311.0	237.1*	-16	17	-17
			293.1	-15	12	-21
41	克伦特罗	277.0	203.1*	-14	16	-15
			259.1	-10	11	-19
42	西马特罗	220.1	202.2*	-11	10	-14
			143.1	-11	23	-15
43	莱克多巴胺	302.1	164.2*	-15	16	-12
			107.1	-15	32	-22
44	沙丁胺醇	240.1	148.1*	-12	18	-15
			222.2	-12	10	-16
45	溴代克伦特罗	322.9	249.0*	-16	18	-18
			168.1	-16	28	-12
46	孔雀石绿	329.2	313.2*	-20	40	-23
			208.1	-30	35	-16
47	结晶紫	372.3	356.2*	-40	22	-15
			251.2	-35	37	-21
48	林可霉素	407.4	126.3*	-21	26	-24
			359.4	-21	19	-18
49	红霉素	734.6	158.3*	-22	-29	-17
			576.5	-22	-20	-22
50	替米考星	869.7	174.3*	-26	46	-19
			696.6	-20	-42	-26
51	地西洋	284.8	193.1*	-11	-33	-14
			154.1	-11	-26	-17
52	氯丙嗪	319.1	86.2*	-17	22	-15
			58.2	-17	-37	-21
53	甲硝唑	172.0	82.1*	-13	-24	-18
			128.0	-19	16	-27
54	地美硝唑	142.0	96.0*	-12	14	-21
			81.0	-15	-28	-20
55	洛硝哒唑	201.2	140.2*	-11	-11	-15
			55.1	-10	22	-23

56	羟基甲硝唑	188.0	123.1*	-28	19	-14
			126.6	-22	-40	-16
57	羟甲基甲硝咪唑	158.0	140.2*	-19	-15	-30
			55.2	-11	18	-21
58	四环素	445.0	410.1*	-13	20	-16
			427.5	-13	-14	-17
59	金霉素	479.0	444.1*	-11	22	-17
			154.2	-11	28	-11
60	土霉素	461.0	426.1*	-13	20	-16
			443.2	-13	14	-17
61	多西环素	445.0	428.1*	-13	18	-16
			154.1	-13	-28	-11
62	氯霉素	320.7	152.1*	15	17	15
			257.2	15	11	16
63	甲砒氯霉素	353.7	185.3*	17	21	12
			290.1	17	12	19
64	氟甲砒霉素	355.7	336.0*	17	10	16
			185.2	17	20	18

1.3 样品及标准曲线配制

样品制备

参考《T/FDSA 007-2019 动物源性食品中多兽药残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》标准前处理方法：称取 2 g 试样（精确至 0.01g）于一支 50 mL 离心管（离心管 A）中，加入超高惰性分散子 2-4 个，加入 10 mL 乙腈（含 0.1% 甲酸），快速用力振摇 5 s，然后在多通道涡旋振荡器上或振荡器充分混合 10 min。再加入 5 mL 乙腈饱和的正己烷涡旋 2 min，以 5000 r/min 离心 5 min，将乙腈层和正己烷层均转移到另一支 50 mL 离心管（离心管 B）中。剩余残渣再加入 10 mL 酸化乙腈，在多通道涡旋振荡器上或振荡器充分混合 10 min，以 5000 r/min 离心 5 min，将乙腈层也转移到离心管 B 中，混合两次提取液，待分层后弃去正己烷层。

取一支 15 mL 离心管（离心管 C）加入 Dis-Adsorp 兽药残留专用净化管中的填料，转移离心管 B 中乙腈提取液 10 mL 到离心管 C 中，涡旋混匀 2 min，以 5000 r/min 离心 5 min。

取 5 mL 净化后的上清液于另一支 15 mL 离心管（离心管 D）中，用氮吹仪将离心管 D 中的溶液吹至近干，准确加入 1 mL 初始流动相溶解残渣，过 0.22 μm 有机滤膜后，用液相色谱-串联质谱仪测定。

标准曲线配制

空白基质为溶剂，配制浓度为 0.05、0.1、0.25、0.5、1.0、2.0、5.0、10、20、50、100、200 μg/L 的混标基质标准工作液。

2 结果与讨论

2.1 MRM 色谱图

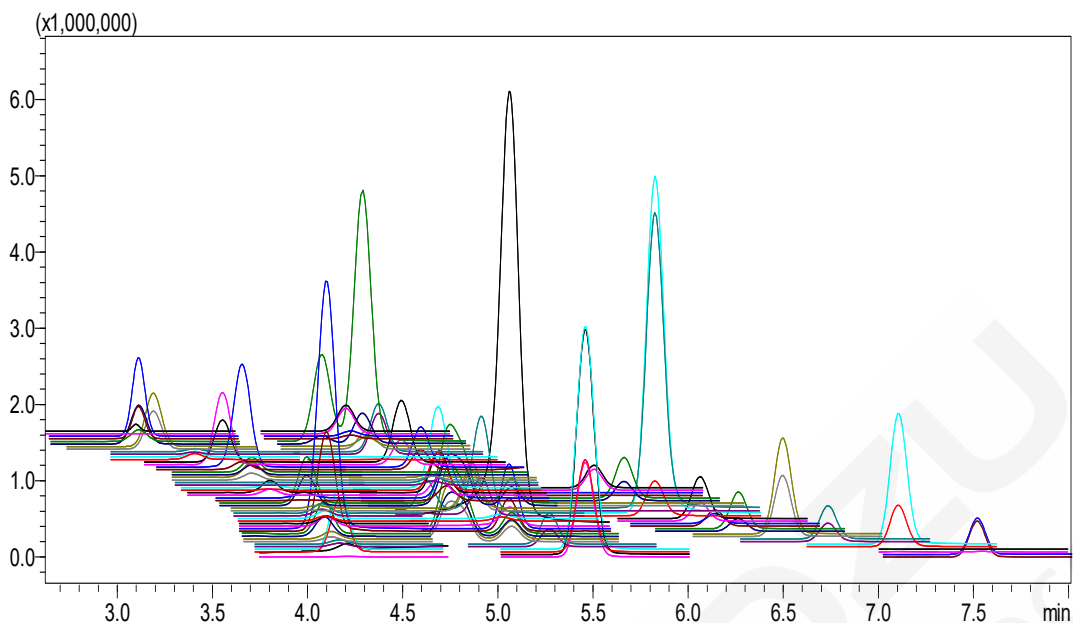


图 1. 混标 (25 µg/L) 色谱图

2.2 线性关系及定量限

喹诺酮类、磺胺类、四环素等为限量使用的兽药，而 β -受体激动剂、氯霉素属于禁用化学品，不同种类的兽药及相关化学品设定符合限量值的线性范围。对系列混合基质标准曲线分析，以面积为纵坐标，浓度为横坐标，建立基质标准曲线。根据信噪比 $S/N=10$ 确定仪器定量限，再根据前处理稀释倍数折算为方法定量限。结果如表 3 所示。结果显示，64 种目标物在 0.05-200 µg/L 范围内，线性良好，线性相关系数均 >0.990 ，定量限为 0.5~20 µg/kg。

表 3. 标准曲线及定量限结果

序号	中文名称	线性范围 (µg/L)	线性方程	相关系数 r	定量限 (µg/kg)
1	恩诺沙星	0.5~10	$f(x)=542868*x-42314$	0.999	1
2	沙拉沙星	0.5~10	$f(x)=226381*x+70478.1$	0.999	1
3	环丙沙星	0.5~10	$f(x)=569222*x-347392$	0.996	1
4	氧氟沙星	0.5~10	$f(x)=231570*x+65078.8$	0.995	1
5	诺氟沙星	0.5~10	$f(x)=384779*x-115988$	0.998	1
6	依诺沙星	0.5~10	$f(x)=679894*x-299667$	0.995	1
7	洛美沙星	0.5~10	$f(x)=68818.1*x-56054.0$	0.996	1
8	达氟沙星	0.5~10	$f(x)=764180*x+327672$	0.996	1
9	司帕沙星	0.5~10	$f(x)=140160*x+30787.7$	0.999	1
10	双氟沙星	0.5~10	$f(x)=153222*x-117925$	0.998	1
11	氟罗沙星	0.5~10	$f(x)=173049*x+93809.2$	0.993	1
12	培氟沙星	0.5~10	$f(x)=597988*x+32336.6$	0.997	1
13	氟甲喹	0.5~10	$f(x)=801175*x+429751$	0.999	1
14	萘啶酸	0.5~10	$f(x)=357219*x-105330$	0.998	1
15	吡哌酸	0.5~10	$f(x)=35459.0*x+5317.85$	0.995	1
16	噁唑酸	0.5~10	$f(x)=1.51985e+006*x+90725.6$	0.997	1

17	磺胺胍	0.5~10	$f(x)=32325.9*x-9137.34$	1.000	1
18	甲氧苄啶	0.5~10	$f(x)=386526*x-4219.54$	0.999	1
19	磺胺苯酰	0.5~10	$f(x)=93137.7*x+12834.5$	1.000	1
20	磺胺喹噁啉	0.5~10	$f(x)=91842.0*x+186372$	0.994	1
21	磺胺间甲氧嘧啶	0.5~10	$f(x)=321904*x+264797$	0.997	1
22	磺胺甲噻二唑	0.5~10	$f(x)=146882*x+192910$	0.999	1
23	磺胺甲基嘧啶	0.5~10	$f(x)=110811*x+31150.4$	0.993	1
24	磺胺二甲嘧啶	0.5~10	$f(x)=304515*x+105766$	1.000	1
25	磺胺恶唑	0.5~10	$f(x)=119166*x+53259.9$	1.000	1
26	磺胺邻二甲氧嘧啶	0.5~10	$f(x)=513325*x+495146$	0.999	1
27	磺胺间二甲氧嘧啶	0.5~10	$f(x)=553970*x+842919$	0.995	1
28	磺胺吡啶	0.5~10	$f(x)=358189*x+78791.4$	0.996	1
29	磺胺吡啶	0.5~10	$f(x)=358189*x+78791.4$	0.996	1
30	磺胺噻唑	0.5~10	$f(x)=208040*x+25073.3$	0.999	1
31	磺胺嘧啶	0.5~10	$f(x)=16877.3*x+6658.30$	0.995	1
32	磺胺苯吡唑	0.5~10	$f(x)=204767*x+262869$	0.996	1
33	磺胺甲噁唑	0.5~10	$f(x)=71163.2*x+88936.0$	0.998	1
34	磺胺甲氧哒嗪	0.5~10	$f(x)=509597*x+206547$	1.000	1
35	磺胺氯哒嗪	0.5~10	$f(x)=89147.3*x+139141$	0.997	1
36	磺胺醋酰	0.5~10	$f(x)=33285.2*x-14160.5$	0.999	1
37	特布他林	0.25~5	$f(x)=168637*x+10680.0$	1.000	0.5
38	塞布特罗	0.25~5	$f(x)=532364*x-91653.3$	0.998	0.5
39	溴布特罗	0.25~5	$f(x)=707653*x-105407$	0.999	0.5
40	马布特罗	0.25~5	$f(x)=1.62706e+006*x-297046$	1.000	0.5
41	克伦特罗	0.25~5	$f(x)=809696*x-347890$	0.999	0.5
42	西马特罗	0.25~5	$f(x)=591686*x-83028.8$	0.999	0.5
43	莱克多巴胺	0.25~5	$f(x)=381402*x+18755.2$	0.996	0.5
44	沙丁胺醇	0.25~5	$f(x)=601737*x-89192.7$	0.999	0.5
45	溴代克伦特罗	0.25~5	$f(x)=571141*x+71904.4$	0.997	0.5
46	孔雀石绿	0.25~5	$f(x)=188460*x-116343$	0.998	0.5
47	结晶紫	0.25~5	$f(x)=208532*x-250126$	0.991	0.5
48	林可霉素	0.5~10	$f(x)=98986.5*x+42525.2$	0.994	1
49	红霉素	0.5~10	$f(x)=75244.5*x-128070$	0.994	1
50	替米考星	0.5~10	$f(x)=16923.7*x-13080.9$	0.991	1
51	地西洋	0.5~10	$f(x)=399156*x+111763$	1.000	1
52	氯丙嗪	0.5~10	$f(x)=657513*x+109500$	1.000	1
53	甲硝唑	0.5~10	$f(x)=119548*x+1998.58$	1.000	0.5
54	地美硝唑	0.5~10	$f(x)=38439.3*x-5722.45$	0.999	1
55	洛硝哒唑	0.5~10	$f(x)=201038*x-7806.74$	0.999	1
56	羟基甲硝唑	0.5~10	$f(x)=14294.7*x-4801.67$	0.998	1
57	羟甲基甲硝咪唑	0.5~10	$f(x)=31650.3*x-9103.83$	0.999	1
58	四环素	10~200	$f(x)=68910.2*x-1.03532e+006$	0.999	20
59	金霉素	10~200	$f(x)=30990.8*x-1.19198e+006$	0.994	20

60	土霉素	10~200	$f(x)=46967.4*x-1.27196e+006$	0.996	20
61	多西环素	10~200	$f(x)=75696.0*x-2.12727e+006$	0.995	20
62	氯霉素	0.05~5.0	$f(x)=10697.3*x-845.056$	0.997	0.1
63	甲砒氯霉素	0.05~5.0	$f(x)=4176.18*x-841.327$	0.996	0.1
64	氟甲砒霉素	0.05~5.0	$f(x)=38707.4*x-5960.00$	0.996	0.1

2.3 加标回收率考察

在猪肉空白样品上进行三个浓度（1 LOQ、2 LOQ 和 10 LOQ）的加标回收试验。结果见表 4，回收率均在 60~120%之间，回收率 RSD 均小于 15%。

表 4. 猪肉加标回收率结果

序号	中文名称	低水平 (LOQ) 浓度		中水平 (2LOQ) 浓度		高水平 (10LOQ) 浓度	
		加标回收率 /%	重复性/%	加标回收率 /%	重复性/%	加标回收率 /%	重复性/%
1	恩诺沙星	85.9	7.5	88.1	1.6	85.6	4.0
2	沙拉沙星	94.0	7.7	83.7	6.0	79.8	4.1
3	环丙沙星	93.8	9.5	93.9	3.3	85.2	6.9
4	氧氟沙星	94.8	10.5	92.5	1.8	88.9	1.3
5	诺氟沙星	72.5	4.9	87.6	3.6	93.4	8.3
6	依诺沙星	81.7	5.7	90.7	3.7	82.2	5.5
7	洛美沙星	90.3	2.4	93.3	8.5	77.2	7.7
8	达氟沙星	75.0	8.4	93.2	3.6	94.2	1.7
9	司帕沙星	80.1	1.4	83.8	6.8	88.8	4.2
10	双氟沙星	89.6	6.3	70.6	6.8	77.5	5.5
11	氟罗沙星	80.7	5.6	72.2	7.7	87.9	8.0
12	培氟沙星	90.7	2.4	76.9	7.0	91.8	6.6
13	氟甲喹	82.4	1.5	91.5	8.9	74.6	6.2
14	萘啶酸	94.9	4.3	78.8	4.7	85.7	10.4
15	吡哌酸	76.8	3.1	82.5	6.3	86.3	11.5
16	噁喹酸	75.0	2.0	78.9	4.6	91.0	5.6
17	磺胺胍	93.9	3.6	83.7	6.1	71.3	6.8
18	甲氧苄啶	90.4	1.2	78.1	3.2	86.2	6.0
19	磺胺苯酰	85.6	7.7	80.6	5.0	79.7	7.2
20	磺胺喹噁啉	85.9	6.9	86.2	7.3	70.2	1.2
21	磺胺间甲氧嘧啶	88.5	9.1	90.4	3.6	78.1	7.0
22	磺胺甲噻二唑	78.3	4.5	74.8	6.8	82.5	3.2
23	磺胺甲基嘧啶	79.1	11.3	77.3	10.3	91.9	7.6
24	磺胺二甲嘧啶	74.7	11.8	94.3	4.7	90.6	11.7
25	磺胺恶唑	86.2	11.5	76.7	5.6	86.5	11.4
26	磺胺邻二甲氧嘧啶	79.4	2.6	86.5	10.0	87.6	10.2
27	磺胺间二甲氧嘧啶	72.1	2.8	85.6	10.2	93.9	4.7

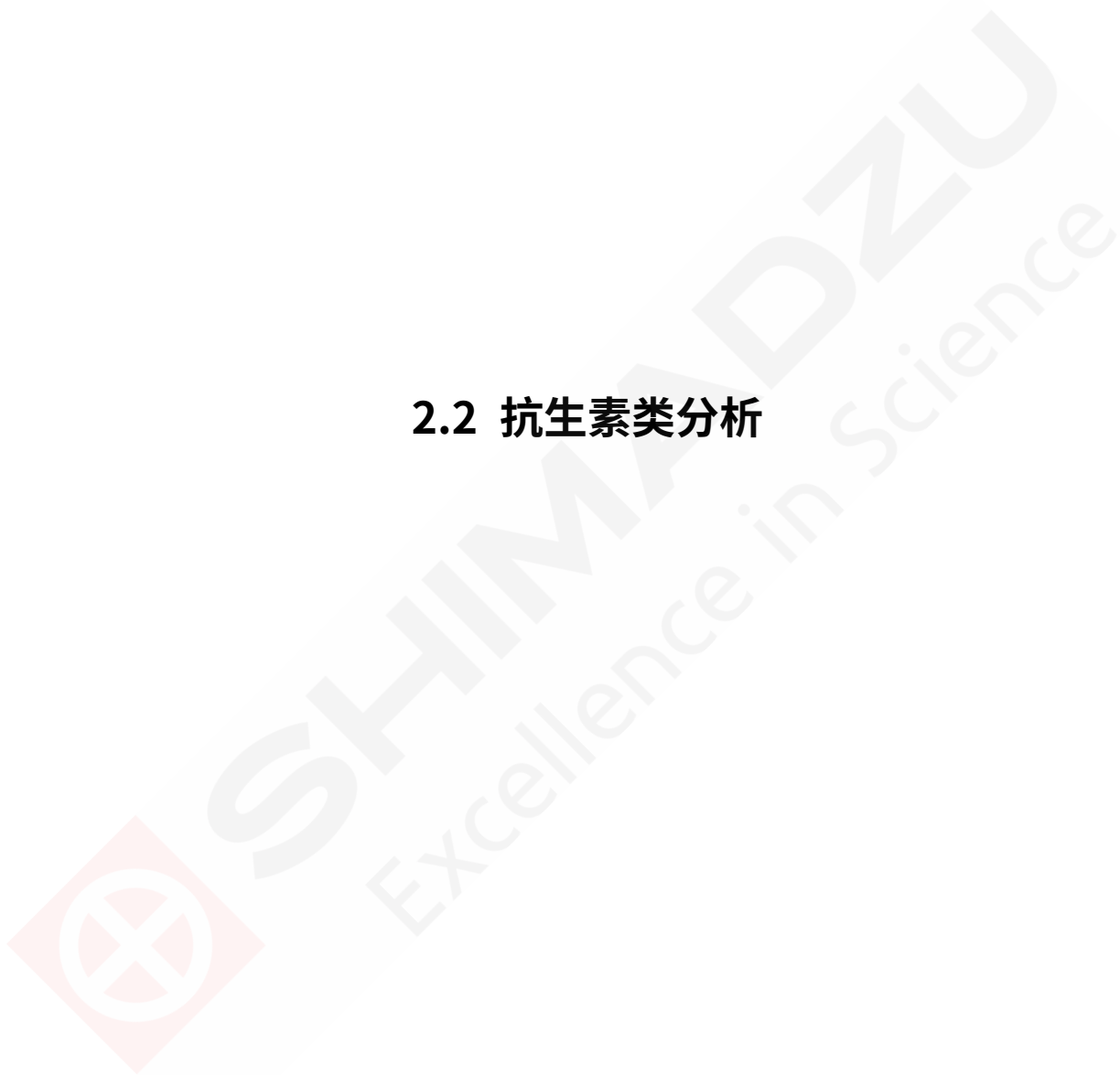
28	磺胺吡啶	93.4	7.4	83.9	8.3	78.6	1.9
29	磺胺对甲氧嘧啶	79.7	8.0	71.6	4.0	86.1	7.5
30	磺胺噻唑	94.6	5.9	92.7	6.6	79.1	2.7
31	磺胺嘧啶	82.6	3.3	77.2	3.6	89.9	7.3
32	磺胺苯吡唑	85.1	9.7	90.1	2.5	72.2	6.7
33	磺胺甲噁唑	94.4	5.1	79.1	8.0	75.5	5.0
34	磺胺甲氧哒嗪	86.7	8	94.9	2.0	87.2	3.5
35	磺胺氯哒嗪	71.9	4.0	88.4	11.1	80	8.9
36	磺胺醋酰	73.7	5.1	78	2.6	89	4.7
37	特布他林	87.4	4.5	84.6	2.4	74.3	8.5
38	塞布特罗	87.5	10.9	73	10.8	76.7	6.9
39	溴布特罗	89.1	7.5	89.2	10.5	73.1	6.4
40	马布特罗	92.1	4.2	78.7	9.7	79.4	5.2
41	克伦特罗	86.7	5.3	84.5	9.5	92.8	4.6
42	西马特罗	73.1	6.6	83.5	3.0	90.1	5.0
43	莱克多巴胺	71.5	1.3	79.2	7.9	91.8	2.9
44	沙丁胺醇	73.7	5.0	73.7	6.5	71.6	1.7
45	溴代克伦特罗	93.6	2.1	90.5	10.4	88.2	5.3
46	孔雀石绿	74.9	7.7	91.6	2.9	81.4	10
47	结晶紫	76.1	6.3	79.3	11.1	80.8	4.1
48	林可霉素	77.1	9.3	94.2	7.5	77.9	7.1
49	红霉素	70.4	7.4	89.6	1.7	71.0	12
50	替米考星	77.9	10.9	75.4	11	76.2	11.8
51	地西洋	94.8	3.7	89.5	8.9	91.4	9.9
52	氯丙嗪	85.7	8.0	82.6	7.0	88.4	7.6
53	甲硝唑	83.7	11.9	83.3	11.6	73	7.4
54	地美硝唑	78.4	5.5	77.7	10.4	70.7	7.5
55	洛硝哒唑	80.4	3.2	77.3	11.1	70.1	3.5
56	羟基甲硝唑	94.6	8.1	73.3	5.4	89.2	3.6
57	羟甲基甲硝咪唑	75.2	2.2	74.9	6.1	93.9	11.7
58	四环素	66.0	9.3	69.5	12.6	68.0	12.2
59	金霉素	72.1	11.1	72.2	7.4	74.1	9.1
60	土霉素	65.7	11.5	66.3	7.2	73.2	10.5
61	多西环素	68.8	12.9	71.9	7.0	66.7	12.2
62	氯霉素	76.7	9.0	77.9	6.2	86.5	11.9
63	甲矾氯霉素	88.4	9.7	89.6	11.5	95.0	3.1
64	氟甲矾霉素	71.4	8.1	87.2	5.6	78.5	9.4

3 结论

本文使用岛津岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱仪 LCMS-8050，建立了动物源性食品中 64 种兽药残留的测定方法。该方法前处理简单，单次分析时间短，通量高，适合检测机构动物源样品中兽药残留的快速、初步筛查。



2.2 抗生素类分析



LCMS-8050 测定鸡肉中氯霉素的含量

摘要: 本文使用岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱仪 LCMS-8050, 建立了鸡肉中氯霉素的定量分析方法。参考《ISO/AWI 13493: 肉与肉制品中氯霉素含量的检测方法》标准, 鸡肉样品经乙酸乙酯提取, 氮吹浓缩, 流动相初始比例溶液复溶, 正己烷萃取, 液相色谱-串联质谱测定, 内标法定量。结果显示氯霉素线性良好, 标准曲线相关系数 ≥ 0.9999 , 准确度在 97.3~106.4%之间。0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度的加标回收率在 91.1~93.81%之间。该方法可满足鸡肉样品中氯霉素的定性定量测定。

关键词: LCMS-8050 兽药残留 鸡肉 氯霉素

氯霉素 (chloramphenicol, CAP) 是由委内瑞拉链丝菌产生的一种光谱抗生素, 抑菌效果好、价格低廉, 曾广泛应用于各类动物源性食品生产过程中。但是氯霉素对造血系统有毒性反应, 长期食用氯霉素残留超标食品可能导致消化机能紊乱、再生障碍性贫血和血小板减少、肝损伤等健康危害。因此, 美国、日本等许多国家都将氯霉素列为违禁药品, 我国也规定氯霉素在动物源性食品中不得检出。

目前用于氯霉素监测的方法有气相色谱法、竞争性ELISA法、高效液相色谱串联质谱法, 为了提高检测的准确度和灵敏度, 越来越多的检测中心逐步开发出用于氯霉素药物浓度监测的高效液相色谱串联质谱法。

本文参考《ISO/AWI 13493: 肉与肉制品中氯霉素含量的检测方法》标准, 建立了基于岛津LCMS-8050的鸡肉中氯霉素的测定方法。该方法快速、稳定, 适合动物性食品中氯霉素的测定。

1 实验部分

1.1 仪器

岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8050。具体配置为:

系统控制器:	CBM-20A _{CL}	脱气机:	DGU-20A _{5RCL}
输液泵:	LC-30AD _{CL} × 2	自动进样器:	SIL-30AC _{MPCL}
柱温箱:	CTO-30A _{CL}	检测器:	LCMS-8050
色谱工作站:	LabSolutions Ver. 5.81		

1.2 分析条件

液相色谱条件:

色谱柱	: Shimadzu Shim-pack GIST C18 (150 mm × 2.1 mm I.D., 5 μm) Shimadzu SGLC, P/N: 227-30014-07
流动相	: 流动相 A-水 流动相 B-乙腈
流速	: 0.3 mL/min
柱温	: 30°C
进样量	: 2.0 μL
洗脱方式	: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 10%, 时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2	Pumps	Pump B Conc.	10
6	Pumps	Pump B Conc.	80
7	Pumps	Pump B Conc.	80
7.1	Pumps	Pump B Conc.	10
10	Controller	Stop	

质谱条件:

离子源	: ESI-	加热模块温度	: 400°C
雾化气流速	: 3.0 L/min	DL 温度	: 250°C
加热气流速	: 10.0 L/min	扫描模式	: 多反应监测(MRM)
干燥气流速	: 10.0 L/min	MRM 参数	: 见表 2

表 2. MRM 参数

序号	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE	Q3 Pre Bias (V)
1	氯霉素	321.05	152.10*	12	17	14
			257.05	25	11	27
2	氯霉素-D5	326.10	157.15	16	18	26

*定量离子对

1.3 标准品及试剂

标准品: 氯霉素 (chloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, CAS号: 56-75-7, 浓度1mg/ml), 上海市质量监督检验技术研究院提供、氯霉素-D5 (chloramphenicol-D5, $C_{11}H_7Cl_2D_5N_2O_5$, CAS号: 202480-68-0, 浓度100 $\mu\text{g/L}$), 上海市质量监督检验技术研究院提供。

乙酸乙酯: 色谱级, 室温保存。

正己烷: 色谱级, 室温保存。

乙腈: 质谱级, 室温保存。

实验用水: 由 Milli-Q Plus 水净化系统经去离子与二次净化制得。

1.4 样品及标准曲线配制**1.4.1 样品制备**

参考《ISO/AWI 13493: 肉与肉制品中氯霉素含量的检测方法 液相色谱-串联质谱法》标准前处理方法: 取待测样品鸡肉干粉 1 g (准确至 $\pm 0.0001\text{g}$), 于 50 mL 离心管中, 取样品量 4 倍质量的超纯水复溶冻干粉, 冻干粉复水膨胀约 10 分钟后, 加 0.1 mL (5.0 $\mu\text{g/L}$) 的内标工作液, 加入乙酸乙酯 25 mL, 涡旋振荡 5 min, 离心 5 分钟, 取上清液转移至另外一个离心管中, 再次加入乙酸乙酯 15 mL, 重复上述操作, 合并两次上清液。氮吹上清液至近干, 加入流动相初始比例溶液 1.0 mL 使溶解, 再加入正己烷 10 mL, 充分混合, 离心, 弃去正己烷, 再次加入正己烷 4 mL, 重复上述处理, 最后取下层溶液, 过 0.22 μm 滤膜, 液相色谱-串联质谱仪测定。

1.4.2 标准曲线配制

分别取氯霉素标准品溶液适量，用初始比例流动相溶液稀释成氯霉素浓度为 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 $\mu\text{g/L}$ 系列混合标准工作液，其中含氯霉素-D5 的浓度分别为 0.5 $\mu\text{g/L}$ ，待上机分析。

2 结果与讨论

2.1 标品色谱图

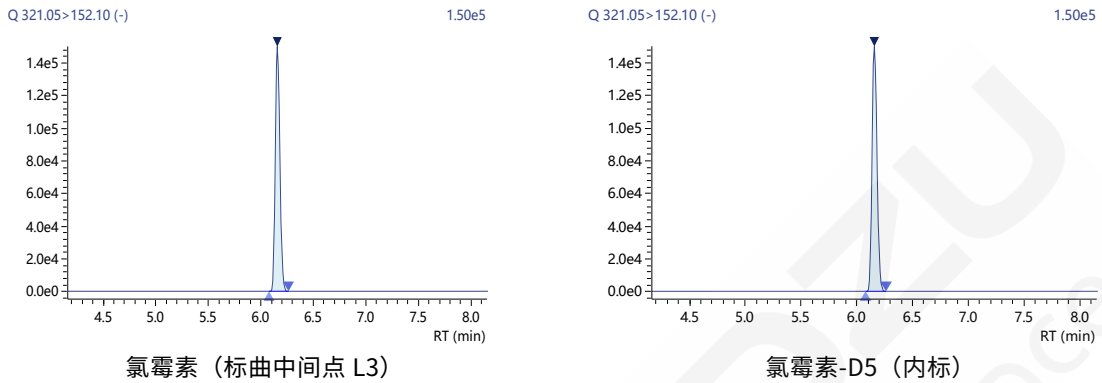


图 1. 氯霉素及相应内标色谱图

2.2 线性关系

对系列混合标准曲线溶液进行分析，以面积比为纵坐标，浓度比为横坐标，进行线性拟合。结果如图 2 所示，氯霉素在 0.25-10 $\mu\text{g/L}$ 范围内，线性良好，线性相关系数均 >0.9999 ，准确度在 97.3-106.4% 之间。

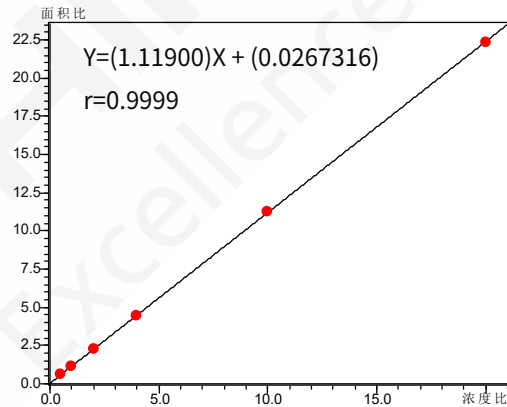


图 2. 氯霉素标准曲线

2.3 重复性考察

对 0.25、1、10 $\mu\text{g/L}$ 的标准溶液连续分析 6 次，计算保留时间和峰面积的 RSD。结果见表 3，氯霉素的保留时间 $\text{RSD} < 0.05\%$ ，峰面积的 $\text{RSD} < 1.2\%$ 。仪器稳定性良好。

表 3. 保留时间和面积 RSD

中文名称	浓度 ($\mu\text{g/L}$)	保留时间 RSD(%)	面积 RSD (%)
氯霉素	0.25	0.05	1.11
	1	0.05	0.16
	10	0.05	0.47

2.4 加标回收率考察

在鸡肉冻干粉样品上进行低、高水平 (0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 的加标回收试验。结果见表 4，氯霉素平均回收率在 92.4~92.8%之间。

表 4. 鸡肉冻干粉加标回收率结果

中文名称	加标回收率/%	
	低水平 (0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	高水平 (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)
氯霉素	92.4	92.75

2.5 实际样品测定

采用上述方法测定某鸡肉冻干粉，样品中检出氯霉素，结果如表 5 所示。

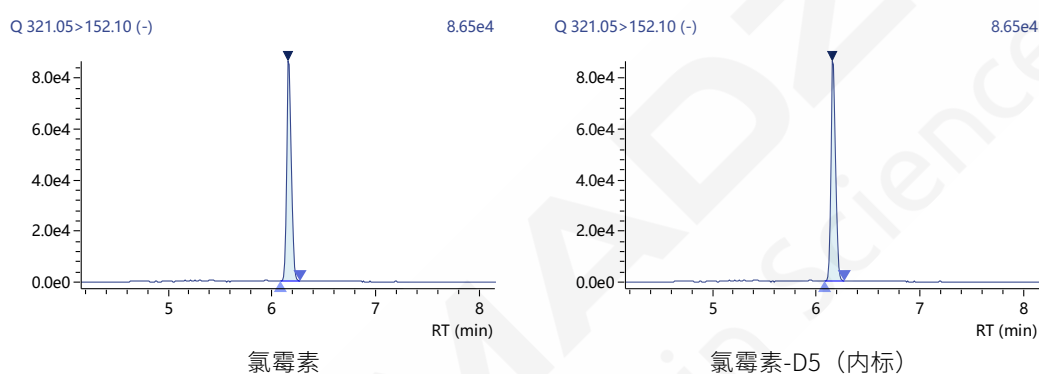


图 3. 鸡肉冻干粉氯霉素及相应内标色谱图

表 5. 鸡肉冻干粉检测结果

中文名称	测定 1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	测定 2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均值 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
氯霉素	0.174	0.176	0.175

3 结论

本文使用岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱仪 LCMS-8050，参考《ISO/AWI 13493：肉与肉制品中氯霉素含量的检测方法 液相色谱-串联质谱法》标准，建立了鸡肉中氯霉素的测定方法。该方法可供相关行业参考。

LCMS-8050 测定进出口食用动物中新霉素药物的残留量

摘要： 本文利用岛津 LCMS-8050 液质联用仪，建立了进出口食用动物中新霉素药物残留的超快速分析检测方法。该方法在 5 min 内完成样品的分析检测，目标物和其他组分色谱峰分离效果良好，在 0.5~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度范围内建立标准曲线，线性关系良好，相关系数 R^2 大于 0.999；在 0.6 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、1.2 $\mu\text{g}/\text{g}$ 和 2.4 $\mu\text{g}/\text{g}$ 的加标量下，新霉素的回收率分布在 83.78%~89.60%之间，该方法适用于食用动物尿液中新霉素药物的准确定量分析；连续 6 针进样，新霉素保留时间的 RSD 分布在 0.14%~0.26%的范围，峰面积的 RSD 分布在 2.26%~3.53%的范围，仪器精密度良好；新霉素物质的灵敏度 LOD=0.055 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (11.0 ng/g)，LOQ=0.170 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (34.0 ng/g)，测试结果表明仪器灵敏度良好，满足《进出口食用动物中新霉素药物残留测定 液相色谱-质谱/质谱法》灵敏度 LOQ=100 ng/g 的要求。经验证该方法操作简捷、灵敏度高、分析速度快，适合大批量样品的定性定量分析，也可为相关从业人员分析兽药残留提供参考。

关键词： LCMS-8050 液质联用仪 食用动物 新霉素

新霉素属于氨基糖苷类抗生素，是畜牧养殖常用兽药。它由弗氏链霉菌产生，对革兰氏阳性和阴性菌类皆有效，其中对葡萄球菌、棒状杆菌属、大肠埃希菌、克雷伯菌、变形杆菌等肠杆菌科细菌有着良好的抗菌作用；但是新霉素对人体有着显著的肾毒性和耳毒性副作用。滥用兽药极易造成动物源食品中有害物质的残留，这不仅会对人体健康造成直接危害，而且对畜牧业的发展和生态环境也会造成极大破坏。兽药残留是影响动物源性食品安全的重要因素之一。动物饲养过程中大量、频繁地使用抗生素，可使食用动物机体中存在药物残留，而且抗生素药物的残留会使人体中的细菌产生耐药性，这种毒副作用将会扰乱人体的微生态系统。随着人们对动物源食品由需求型向质量型的转变，动物源食品中的兽药残留已逐渐成为全世界关注的焦点。食品添加剂和污染物联合专家委员会从20世纪60年代起就开始评价有关兽药残留的毒性问题，为广人民认识兽药残留的危害及其控制提供了科学的依据。如今为了增大市场的监管力度及范围，2019年9月3日，由中华人民共和国海关总署发布了进出口食用动物中新霉素药物残留的检测方法，并规定了采用高效液相色谱串联质谱法对食用动物中新霉素药物残留量进行分析测定。

本文采用岛津LCMS-8050三重四极杆液相色谱质谱联用仪，参照中华人民共和国海关总署发布的《进出口食用动物中新霉素药物残留测定 液相色谱-质谱/质谱法》，建立了食用动物中新霉素残留量的检测方法。该方法快速准确、灵敏度高，可以用于食用动物中新霉素药物的筛查和准确测定。

1 实验部分

1.1 仪器配置

岛津 LCMS-8050 三重四极杆液质联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A5
输液泵：	LC-30AD×2	自动进样器：	SIL-30AC
柱温箱：	CTO-20AC	检测器：	LCMS-8050
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.97		

1.2 分析条件

液相色谱条件:

色谱柱: InertSustain AQ-C18 色谱柱 (2.1 mm I.D.×100 mm L, 1.9 μm, 岛津 (上海) 实验器材有限公司 P/N: 5020-89939)

流动相: A相 0.1%甲酸水溶液, B相 乙腈

流速: 0.2 mL/min 柱温: 40°C

进样量: 5 μL 洗脱方式: 梯度洗脱

初始浓度: B相初始浓度为 3.0% 时间程序: 见表 1

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	50
4.00	Pumps	Pump B Conc.	90
4.10	Pumps	Pump B Conc.	3
5.00	Controller	Stop	

LCMS-8050 质谱条件:

离子源: ESI (+) 雾化气流速: 3.0 L/min

加热气流速: 10.0 L/min 干燥气流速: 10.0 L/min

接口温度: 300°C DL 温度: 250°C

扫描模式: 多反应监测(MRM) MRM 参数: 见表 2

表 2. 新霉素 MRM 参数

名称	CAS#	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
新霉素	1405-10-3	615.50	161.15*	-32	-32	-17
			163.20	-32	-33	-30
			293.20	-32	-24	-14

注: *表示定量离子

1.3 标准溶液的配置

标准储备液的配制: 精确称取新霉素标准品 10 mg 至 10 mL 容量瓶中, 加入纯水溶解并定容至刻度, 得到 1.0 mg/mL 的新霉素储备液。

基质匹配标准曲线的配制: 取 1 mL 标准储备液于 10 mL 容量瓶中, 用纯水定容至刻度, 得到 100 μg/mL 混合标准中间液; 用 1.4 前处理后的样品基质空白为溶剂, 将混合标准中间液逐级稀释成浓度为 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 μg/mL 的基质匹配标准工作溶液, 待上机分析。

1.4 样品前处理方法

准确称取 5.0 g 食用动物的尿液样品至 50 mL 离心管中, 加入 12 mL 提取液 1*, 混匀震荡 15 min, 以 10000 r/min 离心 10 min, 将上清液移至另一新的 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 正己烷, 振荡混匀 10 min, 再以 8000 r/min 离心 5 min, 弃去上层液体, 准确移取全部下层提取液至一新的 50 mL 离心管中, 用提取液 2* 调节 pH=4.0~4.5, 待过柱净化。

提前用 5 mL 甲醇和 5 mL 纯水活化 SPE 柱，再将调节好 pH 的提取液加入贮液器中以小于等于 3 mL/min 的流速过 SPE 柱，待液体完全流出后，用 5 mL 水淋洗小柱，弃去所有流出液，正压吹干，最后用 5 mL 甲醇洗脱小柱，收集洗脱液至 15 mL 聚四氟乙烯圆底离心管，40°C 水浴氮气吹干，用 1 mL 流动相定容后，过 0.22 μm 滤膜至进样小瓶，待上机分析测定。

注：*提取液 1：磷酸盐缓冲液（含 50mM 庚烷磺酸钠、25mM 磷酸钠），磷酸调至 pH=2.0。

*提取液 2：磷酸盐缓冲液（含 50mM 庚烷磺酸钠、25mM 磷酸钠）。

2 结果与讨论

2.1 线性范围

如图 1 所示，为新霉素标准物质的 MRM 色谱图。将新霉素按照 1.3 配制成标准溶液，再以新霉素目标物的浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，以外标法绘制标准曲线，新霉素标准曲线如图 2 所示，该标准曲线线性关系良好，相关系数 R^2 大于 0.999。线性方程情况见表 3。

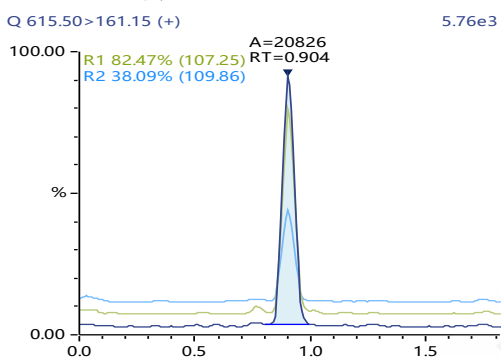


图 1. 新霉素标准品色谱图 (0.5 μg/mL)

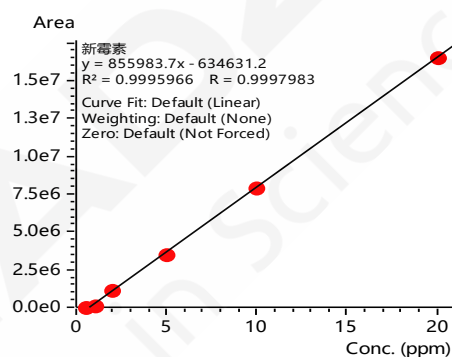


图 2. 新霉素标准曲线

表 3. 新霉素标准曲线参数

名称	校准曲线	线性范围 (μg/mL)	相关系数 R^2	精确度%
新霉素	$Y=855983.7X-634631.2$	0.5~20	0.9996	90.7~102.9

2.2 精密度实验

取低、中、高三个浓度的标准溶液，连续进样 6 次，考察分析方法保留时间和峰面积的重复性。结果表明，新霉素保留时间的 RSD 在 0.14%~0.26% 的范围，峰面积的 RSD 在 2.26%~3.53% 的范围，以上数据表明仪器的精密度良好。

表 4. 标准品溶液精密度测试的结果 (n=6)

序号	1 μg/mL		5 μg/mL		10 μg/mL	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	0.891	101742	0.873	3758733	0.871	8375753
2	0.891	102079	0.876	3582612	0.873	8342098
3	0.886	103143	0.874	3930733	0.869	8755579
4	0.888	109864	0.874	3932204	0.868	8749644
5	0.887	108445	0.874	3806734	0.871	8647376
6	0.891	104651	0.873	3896736	0.870	8751999
RSD%	0.26	3.25	0.14	3.53	0.18	2.26

2.3 样品加标实验

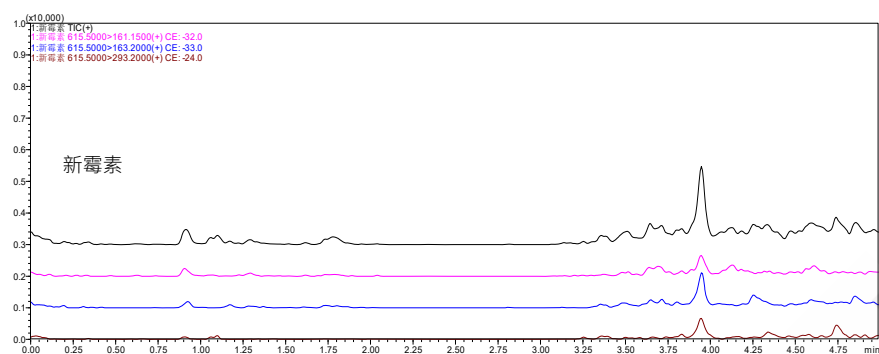


图3. 空白样品色谱图

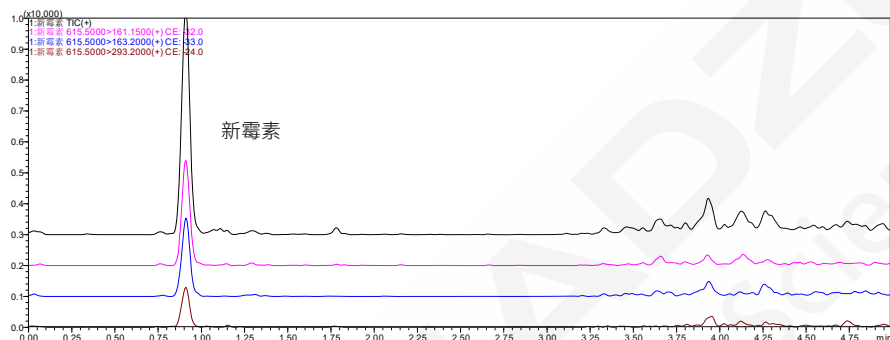


图4. 样品加标色谱图

取动物尿样，按照 1.4 步骤制备样品和加标样品，三个水平加标浓度如下表 5 所示，各样品平行测定 6 次。测试结果显示，新霉素成分的低中高三个梯度的加标回收率分别在 84.23%~89.17%、83.78%~89.60%、84.77%~88.06%之间，加标回收率 RSD 在 1.25%~2.40%之间，均满足该检测方法的条件要求。

表 5. 样品加标实验结果

序号	物质名称	样品含量平均值 ($\mu\text{g/g}$)	样品加标回收率 (%)		
			0.6 $\mu\text{g/g}$	1.2 $\mu\text{g/g}$	2.4 $\mu\text{g/g}$
1	新霉素	N.D.	84.23	87.22	84.77
2			87.90	85.98	86.01
3			87.87	84.82	85.92
4			84.60	87.48	85.68
5			85.40	83.78	88.06
6			89.17	89.60	86.20
回收率 RSD (%)			2.36	2.40	1.25

2.4 灵敏度实验

将最低浓度为 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 的新霉素基质标准溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定。通过软件计算得检出限和定量限；新霉素的检出限和定量限如下表 6 所示。在上述条件下，新霉素物质的 LOD=0.055 $\mu\text{g/mL}$ (11.0 ng/g)，LOQ=0.170 $\mu\text{g/mL}$ (34.0 ng/g)，测试结果表明仪器灵敏度良好，满足《进出口食用动物中新霉素药物残留测定 液相色谱-质谱/质谱法》的测定低限 LOQ=100 ng/g 的要求。

表 6. 检出限和定量限

名称	检出限 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	定量限 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
新霉素	0.055	0.170

3 结论

本实验使用岛津LCMS-8050液质联用仪,参照中华人民共和国海关总署发布的《进出口食用动物中新霉素药物残留测定 液相色谱-质谱/质谱法》,建立了针对食用动物产品中新霉素残留量的超快速检测方法。该检测方法表明,新霉素在 $0.5\sim 20\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 的范围内线性良好;精密度实验中,新霉素保留时间的RSD分布在 $0.14\%\sim 0.26\%$ 的范围,峰面积的RSD分布在 $2.26\%\sim 3.53\%$ 的范围,仪器精密度良好;样品三个梯度的加标回收率分布在 $83.78\%\sim 89.60\%$ 之间,满足方法要求;新霉素物质的灵敏度 $\text{LOD}=0.055\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ($11.0\ \text{ng}/\text{g}$), $\text{LOQ}=0.170\ \mu\text{g}/\text{mL}$ ($34.0\ \text{ng}/\text{g}$),测试结果表明仪器灵敏度良好,满足《进出口食用动物中新霉素药物残留测定 液相色谱-质谱/质谱法》的灵敏度 $\text{LOQ}=100\ \text{ng}/\text{g}$ 的要求。岛津LCMS-8050液质联用仪具有分析速度快、稳定性好、结果准确度高等特点,满足《进出口食用动物中新霉素药物残留测定 液相色谱-质谱/质谱法》的方法需求,也适用于多种相关行业的质量控制及分析检验工作。

LCMS-8045 检测鱼肉中大环内酯类抗生素

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用快速测定鱼肉中大环内酯类抗生素的方法。鱼肉样品经处理后, 经 LCMS-8045 分析, 9 种大环内酯类抗生素在 1-1000 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好, 标准曲线的相关系数均在 0.997 以上; 对 1 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 和 250 $\mu\text{g/L}$ 混合基质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相对标准偏差分别在 0.02%~0.20%和 0.72%~9.41 %之间, 仪器精密度良好。加标浓度在 5 $\mu\text{g/kg}$ 的鱼肉样品, 回收率在 76.3%~96.7%之间。

关键词: 大环内酯类抗生素 三重四极杆质谱 兽药残留

大环内酯类抗生素(Macrolide anti-biotics, MALs)是由放线杆菌或小单孢菌产生的一类抗生素。MALs 已经成为全世界需求量和销售速度增长最快的抗生素之一。由于 MALs 具有广谱抗菌作用, 可抵抗革兰氏阳性菌、支原体和部分革兰氏阴性菌, 因此被广泛应用于治疗猪、牛、羊、虾及家禽的呼吸性和倡导传染性疾病, 或在低剂量下作为饲料添加剂促进动物生长发育。大环内酯类药物残留可引起过敏反应和导致携带耐药因子的菌株扩散。和其他兽药一样, 大环内酯类药物在动物源性食品中的残留监测与控制已经受到许多国家包括我国政府的高度重视。《GB 31650-2019 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》规定, 红霉素在鱼和其它动物组织中的最大残留限量(MRL)为 40~200 $\mu\text{g/kg}$; 吉他霉素、螺旋霉素、替米考星和泰乐菌素在动物组织的 MRL 分别为 200 $\mu\text{g/kg}$ 、200~800 $\mu\text{g/kg}$ 、50-2400 $\mu\text{g/kg}$ 和 100-300 $\mu\text{g/kg}$ 。

本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用, 参考《GB 31660.1-2019 水产品中大环内酯类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》建立了测定鱼肉中 9 种大环内酯类抗生素(竹桃霉素、红霉素、克拉霉素、阿奇霉素、吉他霉素、交沙霉素、螺旋霉素、替米考星、泰乐菌素)的分析方法, 该方法分析速度快、重复性好、灵敏度高, 可供相关检测人员参考。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 X3 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:	CBM-40	自动进样器:	SIL-40C X3
输液泵:	LC-40B X3	质谱仪:	LCMS-8045
柱温箱:	CTO-40S	色谱工作站:	LabSolutions Ver. 5.97

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱:	Shim-pack GIS C18 (150 mm×2.1 mm I.D., 4 μm , 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30097-07)		
流动相:	A—0.1%甲酸水溶液; B—乙腈		
流速:	0.3 mL/min	进样体积:	2 μL
柱温:	40°C	洗脱方式:	梯度洗脱, B 相初始浓度为 15%。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time (min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	15
6.00	Pumps	Pump B Conc.	65
6.50	Pumps	Pump B Conc.	95
7.50	Pumps	Pump B Conc.	95
7.51	Pumps	Pump B Conc.	15
10.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源	: ESI, 正离子模式	D L 管温度	: 250°C
离子源接口电压	: 1.0 kV	加热模块温度	: 400°C
雾化气	: 氮气 3.0 L/min	接口温度	: 300°C
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	M R M 参数	: 见表 2
碰撞气	: 氦气	驻留时间	: 3~25 ms

表 2. MRM 参数

编号	名称	英文名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	螺旋霉素	Spiramycin	8025-81-8	843.5	174.1*	-24.0	-36.0	-12.0
					142.2	-24.0	-34.0	-15.0
2	替米考星	Tilmicosin	108050-54-0	869.6	174.2	-24.0	-45.0	-19.0
					696.6*	-24.0	-42.0	-26.0
3	竹桃霉素	Oleandomycin	7060-74-4	688.5	158.1	-20.0	-28.0	-17.0
					544.4*	-20.0	-17.0	-20.0
4	泰乐菌素	Tylosin	1401-69-0	916.6	174.2*	-26.0	-39.0	-12.0
					772.6	-26.0	-31.0	-30.0
5	克拉霉素	Clarithromycin	81103-11-9	748.5	158.1*	-32.0	-25.0	-12.0
					590.4	-32.0	-16.0	-20.0
6	阿奇霉素	Azithromycin	83905-01-5	749.5	158.1*	-22.0	-36.0	-30.0
					591.4	-22.0	-29.0	-22.0
7	红霉素	Erythromycin	114-07-8	734.4	158.2	-26.0	-32.0	-29.0
					576.3*	-26.0	-21.0	-28.0
8	交沙霉素	Josamycin	16846-24-5	828.5	109.1	-24.0	-35.0	-21.0
					174.2*	-24.0	-33.0	-18.0
9	吉他霉素	Sineptina	1392-21-8	772.5	109.1	-22.0	-41.0	-22.0
					174.1*	-22.0	-32.0	-12.0

*表示定量离子

1.3 样品制备

标准溶液配制:

精密量取含竹桃霉素、红霉素、克拉霉素、阿奇霉素、吉他霉素、交沙霉素、螺旋霉素、替米考星、泰乐菌素 9 种标准物质的 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准贮备液 1 mL, 于 10 mL 棕色量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 配制成浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 大环内酯类药物混合标准工作液。

精密量取混合标准工作液适量, 用空白样品提取液溶解稀释, 配制成大环内酯类药物浓度为 1 ng/mL、5 ng/mL、20 ng/mL、100 ng/mL、250 ng/mL、500 ng/mL 和 1000 ng/mL 的系列基质标准工作溶液, 现配现用。

样品前处理方法:

鱼肉样品的提取和净化参照《GB 31660.1-2019 食品安全国家标准 水产品中大环内酯类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》。

2 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

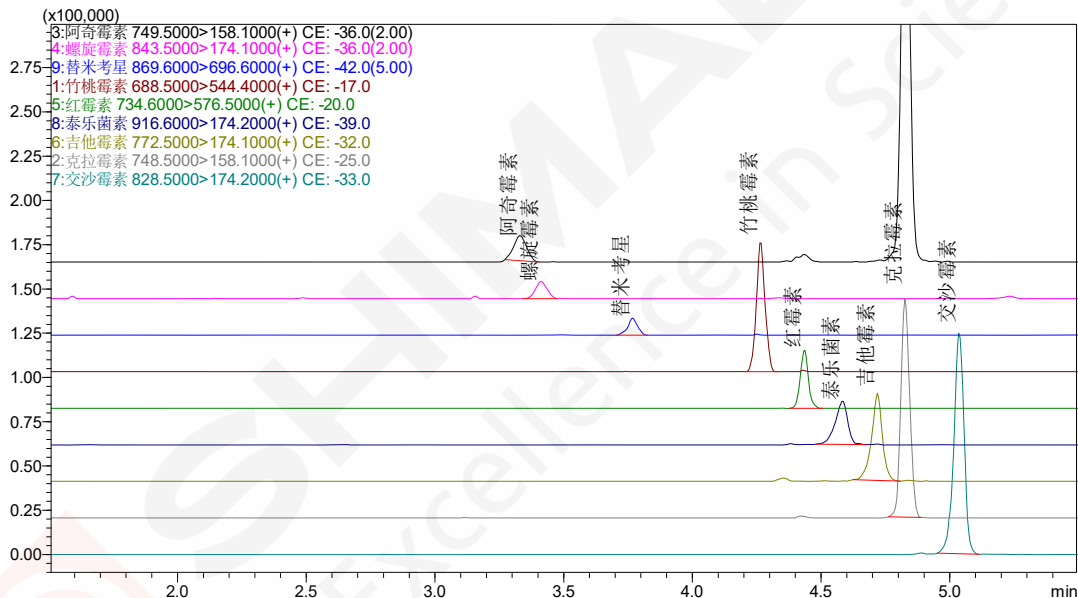


图 1. 大环内酯类抗生素基质标准样品的 MRM 色谱图 (5 ng/mL)

2.2 线性关系

精密量取混合标准工作液适量, 用空白样品提取液溶解稀释, 配成浓度为 1、5、20、100、250、500 和 1000 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的系列标准工作溶液, 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, 绘制校准曲线如图 2 所示。9 种大环内酯化合物在 1-1000 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性良好, 线性方程、相关系数见表 3。以 1 ng/mL 大环内酯类抗生素的 MRM 色谱图结果, 根据检出限 $\text{MDL}=3.3 \text{ S/N}$, 定量限 $\text{LOQ}=10 \text{ S/N}$, 计算检出限和定量限, 结果见表 3。

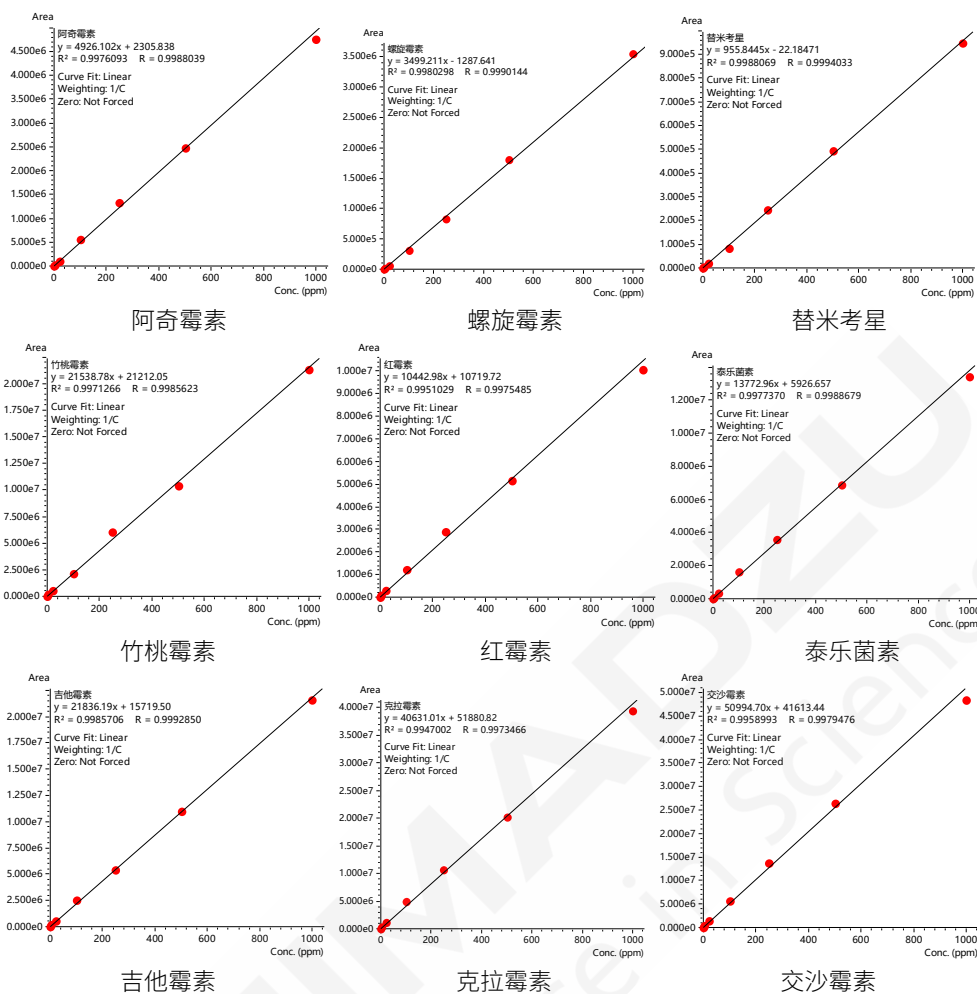


图 2.9 种大环内酯类抗生素的标准工作曲线

表 3.9 种大环类抗生素的校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	相关系数 r	准确度%	检出限 (µg/L)	定量限 (µg/L)
1	阿奇霉素	$Y = (4926.10)X + (2305.84)$	0.9988	77.9~112.3	0.081	0.271
2	螺旋霉素	$Y = (3499.21)X + (-1287.64)$	0.9990	82.6~115.7	0.193	0.642
3	替米考星	$Y = (955.844)X + (-22.1847)$	0.9994	88.4~114.7	0.235	0.784
4	竹桃霉素	$Y = (21538.8)X + (21212.1)$	0.9986	71.8~117.4	0.002	0.005
5	红霉素	$Y = (10443.0)X + (10719.7)$	0.9975	75.3~116.7	0.020	0.067
6	泰乐霉素	$Y = (13773.0)X + (5926.66)$	0.9989	79.0~115.5	0.029	0.096
7	吉他霉素	$Y = (21836.2)X + (15719.5)$	0.9993	77.6~114.3	0.025	0.083
8	克拉霉素	$Y = (40631.0)X + (51880.8)$	0.9973	74.6~119.4	0.005	0.017
9	交沙霉素	$Y = (50994.7)X + (41613.4)$	0.9979	85.6~124.7	0.011	0.037

2.3 精密度实验

对 1 µg/L、20 µg/L 和 250 µg/L 混合基质标准溶液连续 6 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 4 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 0.02% ~0.20% 和 0.72% ~9.41 % 之间，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% (1 µg/L)		RSD% (20 µg/L)		RSD% (250 µg/L)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
阿奇霉素	0.18	7.84	0.07	3.82	0.06	1.52
螺旋霉素	0.20	7.20	0.07	2.42	0.07	1.57
替米考星	0.09	9.41	0.06	4.40	0.05	1.98
竹桃霉素	0.04	6.13	0.05	4.01	0.09	1.46
红霉素	0.05	5.01	0.03	1.22	0.06	0.72
泰乐霉素	0.11	3.35	0.02	2.04	0.06	1.95
吉他霉素	0.06	5.04	0.04	1.64	0.05	0.97
克拉霉素	0.04	6.68	0.05	2.62	0.06	1.66
交沙霉素	0.04	4.59	0.04	1.63	0.05	1.03

2.4 实际样品分析及基质加标实验

取市售鱼肉样品, 平行制备两份, 上机测定, 样品未检出大环内酯类抗生素。为了考察方法的准确度, 在空白鱼肉基质中加标, 加标浓度为 5 µg/kg, 平行测定 3 次, 然后再按照 1.3 中样品制备方法提取净化的鱼肉基质样品后分析, 其回收率在 76.3%~96.7%之间, 具体数据见表 5。

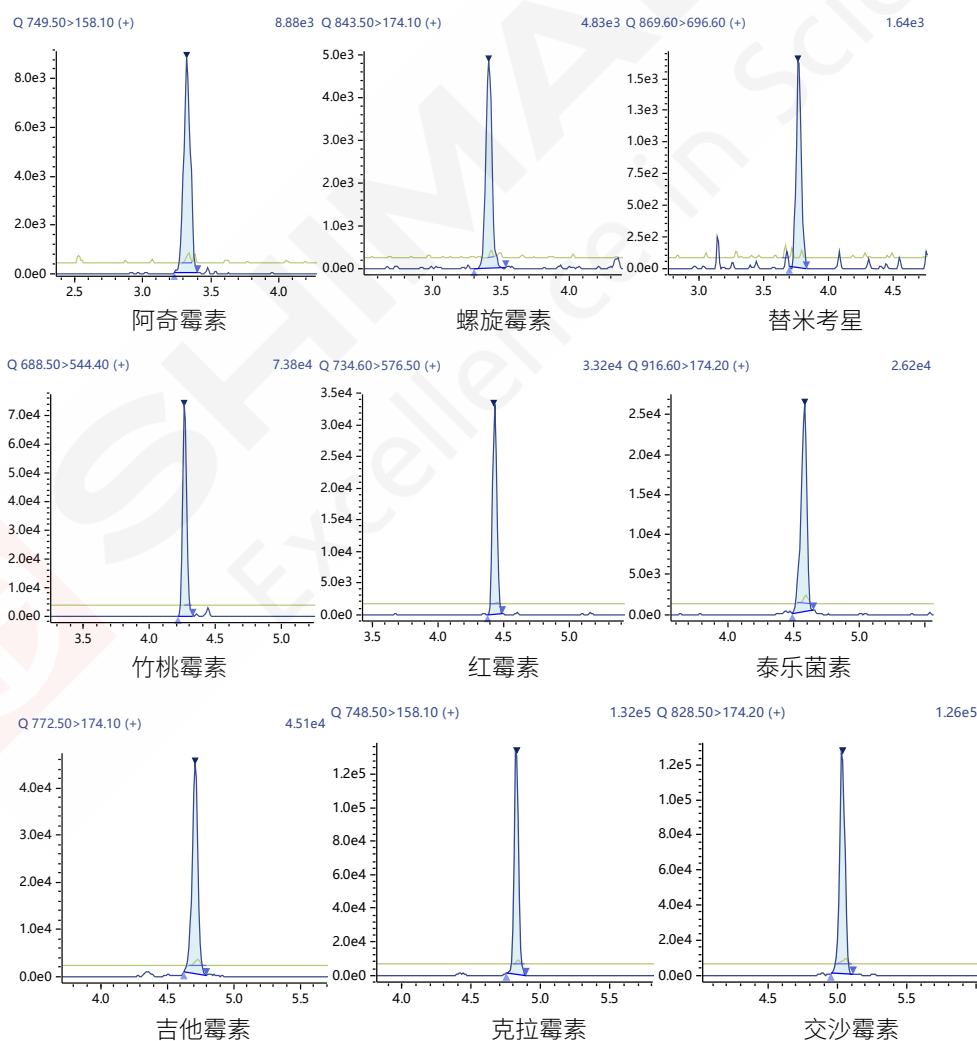


图 3. 实际空白鱼肉样品及加标样品 MRM 重叠色谱图
(绿线和蓝线分别为空白鱼肉和加标鱼肉样品)

表 5. 鱼肉加标回收率结果 (n=3)

	阿奇 霉素	螺旋 霉素	替米 考星	竹桃 霉素	红霉 素	泰乐 霉素	吉他 霉素	克拉 霉素	交沙 霉素
回收率%	84.5	82.7	76.3	93.0	89.6	79.5	95.4	94.3	96.7
重复性%	8.65	9.77	11.44	4.37	8.46	7.87	6.83	6.40	5.49

3 结论

建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定鱼肉中 9 种大环内酯类抗生素的方法。该方法分析速度快,灵敏度高,精密度良好;竹桃霉素、红霉素、克拉霉素、阿奇霉素、吉他霉素、交沙霉素、螺旋霉素、替米考星、泰乐菌素在 1-1000 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好,所有样品的标准曲线的相关系数均在 0.997 以上。对 1 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 和 250 $\mu\text{g/L}$ 混合基质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相对标准偏差分别在 0.02% ~0.20%和 0.72% ~9.41 %之间,加标浓度为 5 $\mu\text{g/kg}$ 的鱼肉样品,其回收率在 76.3%~96.7%之间。

LCMS-8050 测定牛奶中的粘菌素残留

摘要：本文建立了一种使用岛津液相色谱串联质谱 LCMS-8050 测定牛奶中粘菌素的方法。市售牛奶样品经三氯乙酸-乙腈溶液提取后，使用 WCX 固相萃取柱净化，三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050 正离子模式检测，外标法定量。粘菌素在 5 $\mu\text{g/L}$ ~500 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好，标准曲线的相关系数 R 为 0.9999；对 5、50 和 200 $\mu\text{g/L}$ 低中高不同浓度的基质标准工作液连续测定 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.04%~0.12%和 0.59%~7.79%；添加浓度为 20、50 和 100 $\mu\text{g/kg}$ 牛奶样品，回收率在 82.7%~93.4% 之间，该方法可适用于牛奶样品中粘菌素的残留测定。

关键词：牛奶 粘菌素 三重四极杆质谱

粘菌素 (Colistin) 是从多黏芽孢杆菌抗 敌素变异株培养液中获得的一种碱性多肽类抗生素，对多重耐药性革兰氏阴性致病菌具有特效抗性。粘菌素是 30 多种成分的混合物，其中粘菌素 A 和粘菌素 B 为主要成分。由于粘杆菌素抗菌作用强、残留低，不易产生耐药性，中国、美国、欧盟和日本等许多国家批准其作为饲料添加剂或兽药，临床常用其硫酸盐。但随着其在养殖业中应用的日益增多，动物性食品中硫酸粘杆菌素的残留毒性问题逐步受到各国的重视，许多国家都对其制定了残留限量标准，我国 GB 31650-2019《食品中兽药最大残留限量》中规定了粘菌素在动物可食用组织中的最高残留限量标准，其中肌肉、脂肪和肝的最高残留限量为 150 $\mu\text{g/kg}$ 、肾、蛋和奶最高残留限量分别为 200 $\mu\text{g/kg}$ 、300 $\mu\text{g/kg}$ 和 50 $\mu\text{g/kg}$ 。

目前，粘菌素的检测方法主要有酶联免疫分析法 (ELISA)、高效液相色谱法 (HPLC) 以及液相色谱串联质谱法 (HPLC-MS/MS)。本文根据 SN/T 5142-2019《进出口动物源性食品中粘菌素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，建立了高灵敏度、高选择性的液相色谱-串联质谱方法，用于测定牛奶中粘菌素的残留，供广大分析检测人员参考使用。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 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-40DX3×2	质谱仪：	LCMS-8050
柱温箱：	CTO-40C	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.99
在线脱气机：	DGU-405		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱： Shim-pack Arata C18 (100 mm×2.0 mm I.D., 2.2 μm , 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-32801-03)

流动相： A 相-0.02 mmol/L 乙酸铵-0.1%甲酸水溶液；B 相-乙腈

柱温：35℃ 流速：0.30 mL/min
 进样体积：5 µL 洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 10%

表 1. 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	5
2.10	Pumps	Pump B Conc.	15
5.50	Pumps	Pump B Conc.	20
5.60	Pumps	Pump B Conc.	90
8.00	Pumps	Pump B Conc.	90
8.10	Pumps	Pump B Conc.	5
11.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源：ESI, 正离子模式 D L 管温度：150℃
 离子源接口电压：2 kV 加热模块温度：450℃
 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 M R M 参数：见表 2
 碰撞气：氩气 驻留时间：147 ms

表 2. MRM 参数

化合物名称	英文名称	CAS No.	分子式	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
粘菌素 A	Colistin A	1264-72-8	C ₅₂ H ₉₈ N ₁₆ O ₁₃	386.1	101.1 ⁺	-11	-22	-10
					380.3	-21	-12	-30
粘菌素 B	Colistin B	1264-72-8	C ₅₃ H ₁₀₀ N ₁₆ O ₁₃	391.2	101.1 ⁺	-14	-19	-11
					385.1	-19	-12	-28

*表示定量离子

1.3 标准品溶液的配制及样品前处理

基质标准工作溶液配制：

吸取适量粘菌素标准溶液（100 µg/mL，天津阿尔塔科技有限公司），用 0.2%甲酸水溶液稀释成 10 µg/mL 的粘菌素中间标准溶液。

吸附适量的粘菌素的中间标准溶液，用相应基质的空白样品提取液配成浓度为 5、10、20、50、100、200 和 500 ng/mL 的基质标准工作溶液，使用前配制。

牛奶样品前处理：

称取试样 2 g（精确到 0.01 g），置于 100 mL 聚丙烯离心管中，加入 10 mL 10% 三氯乙酸水溶液-乙腈，用振荡器振摇提取 20 min 后，5000 r/min 离心 5 min，转移上清液至另一离心管中，重复提取一次，合并两次上清液，用氨水调 pH=9 备用。将净化液以小于 2 mL/min 的流速通过分别用 3 mL 甲醇和 3 mL 水预处理的 WCX 固相萃取柱（60 mg, 3 mL），依次取 5 mL 水、3 mL 甲醇清洗 SPE 小柱，弃去全部流出液。在 65 kPa 的负压下，减压抽至近干。SPE 小柱用 5 mL 甲酸-甲醇（1+4, v/v）洗脱，在 45℃ 下氮气吹至约 1 mL，用水定容至 2.0 mL，涡旋混匀，过 0.22 µm 滤膜，供 LC-MS/MS 测定。

2 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

图 1 为 1 μg/L 粘菌素基质标样的 MRM 色谱图。

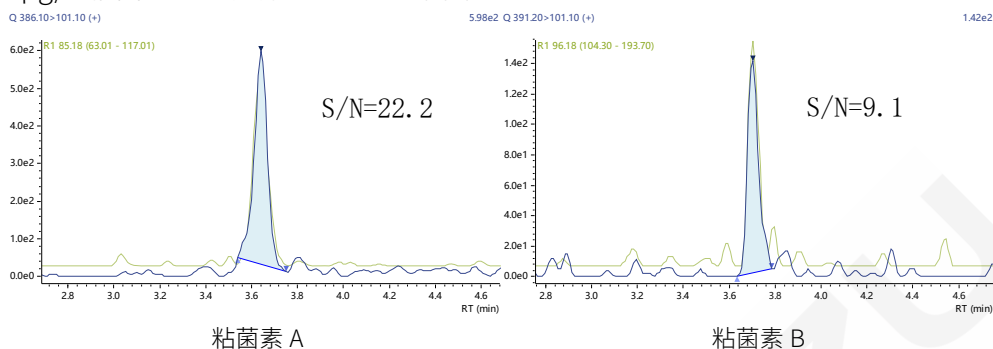


图 1. 1 μg/L 粘菌素基质标样 MRM 色谱图

2.2 线性关系

将 5、10、20、50、100、200 和 500 ng/mL 不同浓度的基质标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。由于粘菌素为粘菌素 A 和粘菌素 B 的混合物，采用粘菌素 A 和粘菌素 B 的峰面积加和，使用组校准的方式进行定量分析。以浓度为横坐标，峰面积加和为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示；所得校准曲线线性关系良好，线性方程为 $Y = (3630.066)X + (6297.501)$ ；相关系数 $R^2 = 0.9998$ 。

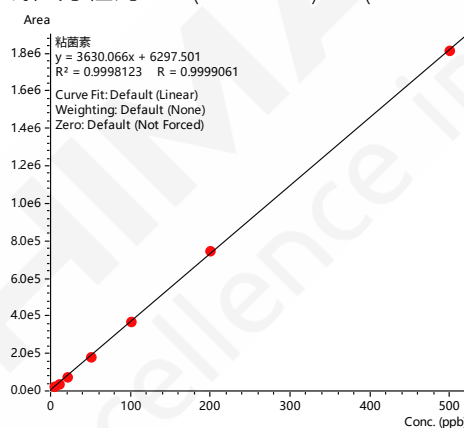


图 2. 粘菌素校准曲线（组校准方式）

2.3 精密度试验

对 5 μg/L、50 μg/L 和 200 μg/L 三个浓度基质标准工作液连续测定 6 次，考察仪器精密度。结果显示：不同浓度下粘菌素 A、B 的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.04%~0.12%和 0.59%~7.79%之间，粘菌素 A 和 B 加合的峰面积 RSD%在 0.56%~2.79%之间，仪器精密度良好。

表 3. 粘菌素保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

Conc. (μg/L)	粘菌素 A		粘菌素 B		粘菌素 (A+B) RSD%(Area)
	RSD% (R.T.)	RSD%(Area)	RSD% (R.T.)	RSD%(Area)	
5	0.10	2.37	0.04	7.79	2.65
50	0.11	3.01	0.12	1.45	2.79
200	0.11	0.59	0.12	1.45	0.56

2.4 基质加标实验

取空白牛奶样品 2 g，加入少量粘菌素标准工作液，使加标浓度为 20、50 和 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，样品经提取与净化后，按照 1.2 中的分析条件测定粘菌素的加标回收率，回收率在 82.7~93.4%之间。图 3 为空白牛奶和加标浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的牛奶样品 MRM 色谱图。

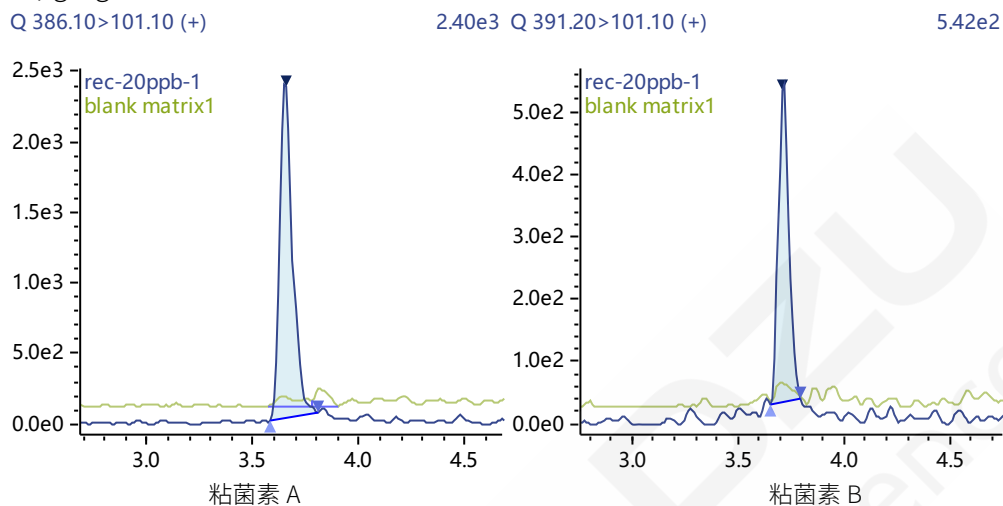


图 3. 空白牛奶和加标浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的牛奶样品 MRM 色谱图

3 结论

建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 测定牛奶中粘菌素残留的方法。牛奶样品经提取和净化后，用超高效液相色谱 LC-40 进行分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 进行定性和定量分析。粘菌素在 5 $\mu\text{g}/\text{L}$ ~500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性良好，相关性系数 R^2 为 0.9998；对不同浓度的基质标准工作液连续测定 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.04%~0.12%和 0.59%~7.79%之间。添加浓度为 20、50 和 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 牛奶样品，回收率在 82.7%~93.4%之间。本方法灵敏度高、方法准确，完全可以满足标准中牛奶的测定低限 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的要求。

LC-MS/MS 测定鸡肉中泰万菌素及 3-乙酰泰乐菌素残留量

摘要: 本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用系统同时测定鸡肉中泰万菌素及 3-乙酰泰乐菌素残留量的方法。泰万菌素及 3-乙酰泰乐菌素在优化后的色谱及质谱条件下, 采用正离子模式进行电离, 通过多反应监测(MRM)模式对目标化合物进行测定。结果表明: 使用外标法定量, 泰万菌素及 3-乙酰泰乐菌素在各自线性范围内峰面积与其质量浓度线性关系良好, 所得校准曲线线性相关系数均在 0.999 以上, 各校准点准确度分别在 93.7% ~ 104.0%和 91.2% ~ 110.0%之间, 且精密度和回收率实验结果良好。

关键词: 三重四极杆质谱 鸡肉 泰万菌素 3-乙酰泰乐菌素

泰万菌素(Tylvalosin)是一种新型大环内酯类畜禽专用的抗生素。它能与敏感细菌的核蛋白体 50S 亚基结合, 通过对转肽作用和对 mRNA 位移的阻断, 抑制肽链的合成和延长, 影响细菌蛋白质的合成从而抑制细菌的繁殖, 其在中国已被注册批准用于治疗猪、鸡支原体感染和猪赤痢螺旋体以及其他敏感细菌的感染。在实际生产中, 由于对用药量、使用次数和休药期认识不足或忽视, 容易导致泰万菌素在畜禽可食性下游产品中残留。泰万菌素经过代谢后以原药和 3-乙酰泰乐菌素(3-O-acetyltylosin)的形式残留在畜禽体内。我国《GB 31650-2019 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》规定: 泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素在猪和家禽肌肉、皮脂、肝和肾中的最大残留限量(MRL)之和不得超过 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

近年来, 高效液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法由于具有检测灵敏度高、结果选择性好的特点, 已成为食品类复杂基质中痕量物质检测的主流方法。本文基于岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用技术, 建立了同时测定鸡肉中泰万菌素及 3-乙酰泰乐菌素残留量的方法。该方法样品前处理过程简单, 且准确度高, 可用于鸡肉中泰万菌素及 3-乙酰泰乐菌素残留量的快速测定, 供相关检测人员参考。

1 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用系统。具体配置为:

系统控制器:	CBM-20A	脱气机:	DGU-20A _{5R}
输液泵:	LC-30AD×2	自动进样器:	SIL-30AC
柱温箱:	CTO-20AC	检测器:	LCMS-8045
色谱工作站:	LabSolutions Ver. 5.99		

1.2 分析条件

液相条件	: Shim-pack GIST C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 2 μm) (P/N: 227-30001-04, 岛津(上海)实验器材有限公司)		
流动相	: A相-0.1%甲酸水溶液;	B相-乙腈	
流速	: 0.35 mL/min		
进样体积	: 2 μL		
柱温	: 40°C		

洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为20%，时间程序见表1。

表 1. 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
4.00	Pumps	Pump B Conc.	80
6.00	Pumps	Pump B Conc.	80
6.10	Pumps	Pump B Conc.	20
8.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源	: ESI, 正离子模式	脱溶剂管温度	: 200°C
离子源接口电压	: 4.0 kV	加热模块温度	: 400°C
雾化气	: 氮气 3.0L/min	接口温度	: 300°C
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	驻留时间	: 100 ms

表 2. MRM 参数

化合物名称	英文名称	CAS No.	监测离子对	Q1 pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
泰万菌素	Tylvalosin	63409-12-1	1042.6>109.1*	-16.0	-55.0	-26.0
			1042.6>174.1	-16.0	-46.0	-18.0
3-乙酰泰乐菌素	3-Acetyltylosin	63409-10-9	958.5>174.1*	-18.0	-43.0	-30.0
			958.5>772.3	-30.0	-32.0	-14.0

注：*表示定量离子对

1.3 样品前处理方法

取试样2g (准确至±0.02g) 于50 mL离心管, 加水5.0 mL、乙腈5.0 mL, 涡旋混匀。加入正己烷10 mL, 振荡5 min, 再加入无水硫酸镁与氯化钠各2g, 振荡5 min, 8000 r/min离心5 min, 移取中间乙腈层清液于另一离心管, 备用。准确移取备用液、0.02 mol/L酒石酸溶液各0.5 mL, 再加入酸性氧化铝0.2g, 涡旋混匀30秒, 10000 r/min离心5 min, 取上层清液, 过0.22 μm微孔滤膜, 置于棕色进样瓶, 供液相色谱-串联质谱仪测定。

1.4 基质标准曲线的制备

取空白试样2g (准确至±0.02g) 于50 mL离心管, 按1.4样品前处理方法操作后获得空白试样的基质溶液。精密量取标准工作液适量, 用空白试样基质溶液配制成泰万菌素及3-乙酰泰乐菌素浓度为分别0.5、1.0、2.0、5.0、10、20 ng/mL的系列标准工作液, 上机测定。以定量特征离子质量色谱峰面积为纵坐标, 标准溶液浓度为横坐标, 绘制标准曲线。

2 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

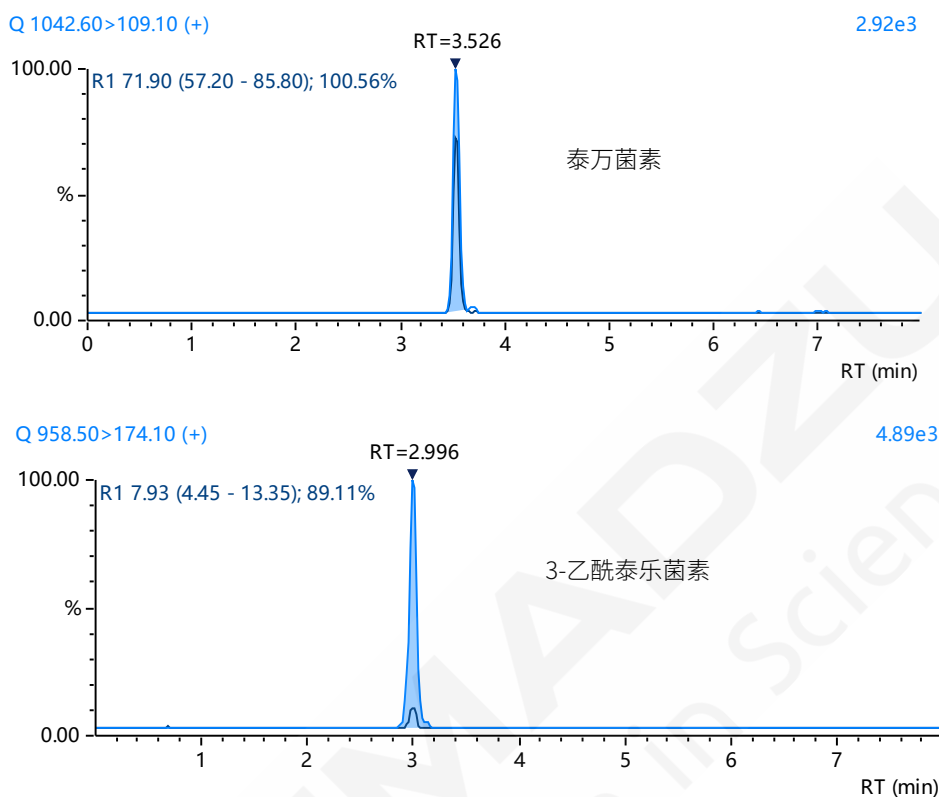


图 1. 泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素(2 ng/mL)的 MRM 图谱

2.2 线性范围与检出限

将不同浓度的泰万菌素及 3-乙酰泰乐菌素基质匹配标准工作液，按照 1.2 中的分析条件进行测定，使用外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示。所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。

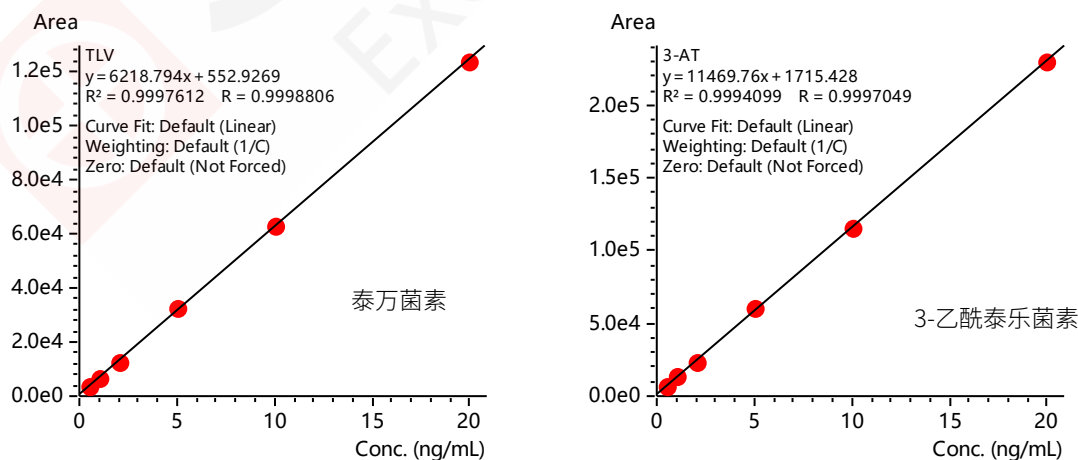


图 2. 泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素的校准曲线

表 3. 标准曲线与检出限信息

化合物名称	校准曲线	r	线性范围 (ng/mL)	准确度(%)	检出限 (ng/mL)
泰万菌素	Y=6218.8X+552.9	0.9998	0.5~20	93.7~104.0	0.17
3-乙酰泰乐菌素	Y=11469.8X+1715.4	0.9997	0.5~20	91.2~110.0	0.17

2.3 精密度实验

对不同浓度的泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素混合标准工作液连续测定 6 次, 考察仪器的精密度, 保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示: 不同浓度样品溶液中泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.08%~0.19%和 0.94%~3.29%之间, 显示仪器精密度良好。

表 4. 保留时间(R. T.)和峰面积(Aera)重复性结果(n=6)

名称	Conc.(ng/mL)	RSD% (R.T.)	RSD%(Area)
泰万菌素	2.5	0.19	3.05
	5	0.08	1.38
	10	0.10	1.22
3-乙酰泰乐菌素	2.5	0.19	3.29
	5	0.09	0.94
	10	0.09	2.62

2.4 加标回收率实验

准确称取 2 g 鸡肉样品, 加入少量泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素的标准储备液, 使得泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素加标浓度分别为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。加标样品经过 1.3 样品前处理操作后, 测定泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素的加标回收率, 加标回收率在 60%~110%之间, 结果见表 5。由结果可知, 该方法简便, 且准确率高。

表 5. 泰万菌素和 3-乙酰泰乐菌素的加标回收率结果(n=3)

名称	加标水平($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率(%)
泰万菌素	5	103.2
	25	73.8
	50	79.6
3-乙酰泰乐菌素	5	90.4
	25	103.9
	50	101.3

3 结论

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-8045 联用同时测定测定鸡肉中泰万菌素及 3-乙酰泰乐菌素残留量的方法。使用外标法定量, 泰万菌素及 3-乙酰泰乐菌素在各自线性范围内峰面积与其质量浓度线性关系良好, 所得校准曲线线性相关系数均在 0.999 以上, 各校准点准确度分别在 93.7%~104.0%和 91.2%~110.0%之间, 且精密度和回收率实验结果良好。方法学结果表明, 本方法操作简便, 且准确度高, 可用于鸡肉中泰万菌素及 3-乙酰泰乐菌素残留量的快速测定。

LCMSMS 法分析水产品中青霉素类药物多残留

摘要: 本文利用岛津三重四极杆液质联用仪建立了水产品中 11 种青霉素类抗生素残留量的测定方法。样品经乙腈水提取，固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱法测定。结果显示该方法在 2~300 ng/mL 浓度范围内建立标准曲线，线性相关系数均大于 0.999，线性良好；精密度考察中各物质保留时间 RSD 分布在 0.02%~0.04%，峰面积 RSD 分布在 0.83%~4.41%之间；11 种青霉素类抗生物质质的灵敏度检出限在 0.001~0.49 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间，定量限在 0.003~1.64 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间，表明仪器灵敏度良好。该方法分析速度快，灵敏度高，准确度好适用于鱼虾等水产品中 11 种青霉素类抗生素的含量测定，也可为相关从业人员分析检测提供参考。

关键词: 三重四极杆液相色谱质谱联用仪 水产品 青霉素类抗生素

青霉素类抗生素因结构含有 β 内酰胺环，也称 β 内酰胺类抗生素。青霉素是第一种应用于人类疾病治疗的抗生素，弗莱明教授也因为发现青霉素而获得 1945 年诺贝尔奖。常见的青霉素类药物包括青霉素 G、青霉素 V、阿莫西林、氨苄西林等，除青霉素 G 外，属于部分合成抗生素。青霉素价格低廉、抗菌性强，在水产养殖上被广泛用于鱼、虾细菌感染的治疗。此类抗生素的不合理使用，为食品安全带来隐患。GB 31650-2019 《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》中规定，在鱼虾中青霉素 G、阿莫西林、氨苄西林残留限量 (MRLs) 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，氯唑西林、苯唑西林 MRLs 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

此前，GB/T 22952-2008 《河豚鱼和鳗鱼中阿莫西林、氨苄西林、哌拉西林、青霉素 G、青霉素 V、苯唑西林、氯唑西林、萘夫西林、双氯西林残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》规定了河豚鱼和鳗鱼中 9 种青霉素类化合物残留的测定方法。近期，《GB 31656.12-2021 水产品中青霉素类药物多残留的测定 液相色谱-串联质谱法》对 GB/T 22952-2008 标准进行了更新，修改了标准适用范围，增加了阿洛西林和甲氧西林，并增加了固相萃取和超滤管离心的净化步骤，修改了方法的检出限和定量限。

本文采用岛津三重四极杆液相色谱质谱联用仪，参照《GB 31656.12-2021》，建立了水产品中 11 种青霉素类抗生素残留的检测方法。该方法快速、准确、灵敏度高，可以用于水产品中青霉素类抗生素药物的筛查和准确测定。

1 实验部分

1.1 仪器配置

岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8045。具体配置为：

输液泵	:LC-20AD _{XR} ×2	系统控制器	:CBM-20A
自动进样器	:SIL-30ACMP	三重四极杆质谱仪	:LCMS-8045
柱温箱	:CTO-20AC	色谱工作站	:LabSolutions Ver. 5.97

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST (100 mm x 2.1 mm I.D., 2 μ m) , SGLC, P/N:227-30001-04

流 动 相 : A 相-0.1%甲酸水溶液; B 相-乙腈

流 速 : 0.3 mL/min 进 样 量 : 1 μ L

柱 温 : 40°C 洗 针 模 式 : R0, 甲醇/水=1:1

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 30%, 时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	2
7.00	Pumps	Pump B Conc.	100
10.00	Pumps	Pump B Conc.	100
10.10	Pumps	Pump B Conc.	2
12.00	Controller	Stop	

质谱条件

质 谱 仪 : LCMS-8045 脱 溶 剂 管 温 度 : 250°C
离 子 源 : ESI+ 加 热 模 块 温 度 : 400°C
雾 化 气 : 氮气 3 L/min 接 口 温 度 : 300°C
干 燥 气 : 氮气 10 L/min 扫 描 模 式 : MRM
加 热 气 : 空气 10 L/min M R M 参 数 : 见表 2

表 2. MRM 参数

序号	物质名称	保留时间 (min)	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	CE (V)
1	阿莫西林	4.12	366.0	208.0*	-14
			366.0	349.1	-10
2	氨苄西林	4.43	349.9	106.1*	-19
			350.0	192.0	-17
3	青霉素 G	6.05	334.9	160.0	-12
			335.0	176.1*	-15
4	青霉素 V	6.27	350.9	160.0*	-12
			350.9	192.0	-14
5	苯唑西林	6.43	401.9	243.1*	-14
			402.0	160.0	-13
6	氯唑西林	6.63	436.0	277.0*	-15
			436.0	160.0	-14
7	萘夫西林	6.72	415.0	199.0*	-15
			415.0	171.0	-39
8	双氯西林	6.91	469.9	311.0*	-16
			469.9	160.0	-16
9	哌拉西林	5.81	518.0	143.1*	-20
			518.0	160.0	-13
10	阿洛西林	5.51	462.0	218.1*	-23

			461.9	246.1	-13
11	甲氧西林	5.84	381.0	165.0*	-20
			381.0	222.0	-17

* 定量离子对

1.3 标准溶液制备

标准储备液的配制：分别精确称取表 3 中各组分标准品约 1 mg 至 10 mL 容量瓶中，加入 30%乙腈水溶液溶解并定容至刻度，得到 0.1 mg/mL 的各标准物储备液，-18°C 避光，有效期 5 天。分别取适量各标准储备液于 10 mL 容量瓶中，用 30%乙腈水溶液进行稀释定容，得到 1 μg/mL 混合标准中间液；再将混合标准中间液逐级稀释成浓度为 2、5、20、50、200、300 ng/mL 的标准工作曲线，待上机分析。

表 3. 青霉素类抗生素药物的化合物信息

序号	中文名称	英文名称	CAS#	分子式
1	阿莫西林	Amoxicilin	61336-70-7	C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₅ S
2	氨苄西林	Ampicillin	7177-48-2	C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₄ S
3	青霉素 G	Penicillin G	113-98-4	C ₁₆ H ₁₇ N ₂ O ₄ S
4	青霉素 V	Penicillin V	132-98-9	C ₁₆ H ₁₇ N ₂ O ₅ S
5	苯唑西林	Oxacillin	7240-38-2	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₅ S
6	氯唑西林	Cloxacillin	7081-44-9	C ₁₉ H ₂₀ ClN ₃ O ₆ S
7	双氯西林	Dicloxacillin	13412-64-1	C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₅ S
8	萘夫西林	Nafcillin	7177-50-6	C ₂₁ H ₂₄ N ₂ O ₆ S
9	哌拉西林	Piperacillin	61477-96-1	C ₂₃ H ₂₇ N ₅ O ₇ S
10	阿洛西林	Azlocillin	37091-66-0	C ₂₀ H ₂₃ N ₅ O ₆ S
11	甲氧西林	Methicillin	7246-14-2	C ₁₇ H ₂₃ N ₂ O ₇ S

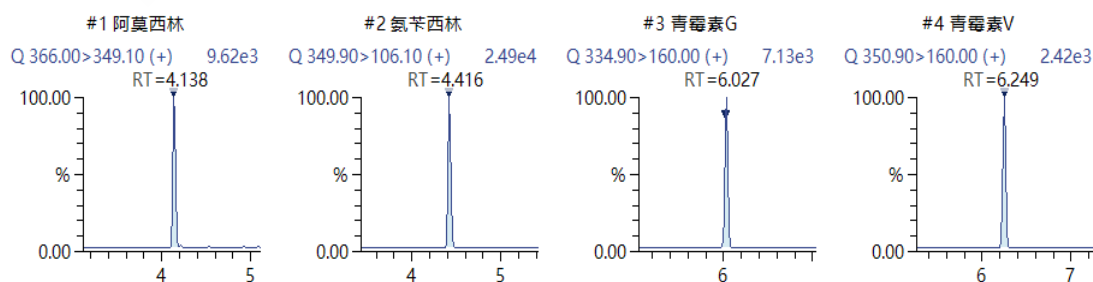
1.4 样品前处理

准确称取样品 2.5 g，置于 50 mL 离心管中，准确加入 5 mL 80%乙腈提取液，涡旋 60 s，分散均匀，超声提取 10 min，再以 8000 r/min 转速离心 5 min，吸取上清液于 50 mL 离心管中，加入 4 mL 80%乙腈提取液重复提取，合并上清，80%乙腈提取液稀释至 10.0 mL 备用。取备用液 2 mL，过 SHIMSEN Styra HLB (200 mg/6 mL, P/N:5010-81976) 固相萃取柱，氮吹至 <0.5 mL，加水至 0.5 mL，10 kDa 超滤管离心 10 min，待测。

2 结果与讨论

2.1 11 种标准物质的 MRM 色谱图

按照 1.3 配制的 2 ng/mL 混合标准溶液，上机分析，得到 11 种青霉素类抗生素药物的 MRM 色谱图，详见图 1，色谱峰形良好，通道无干扰。



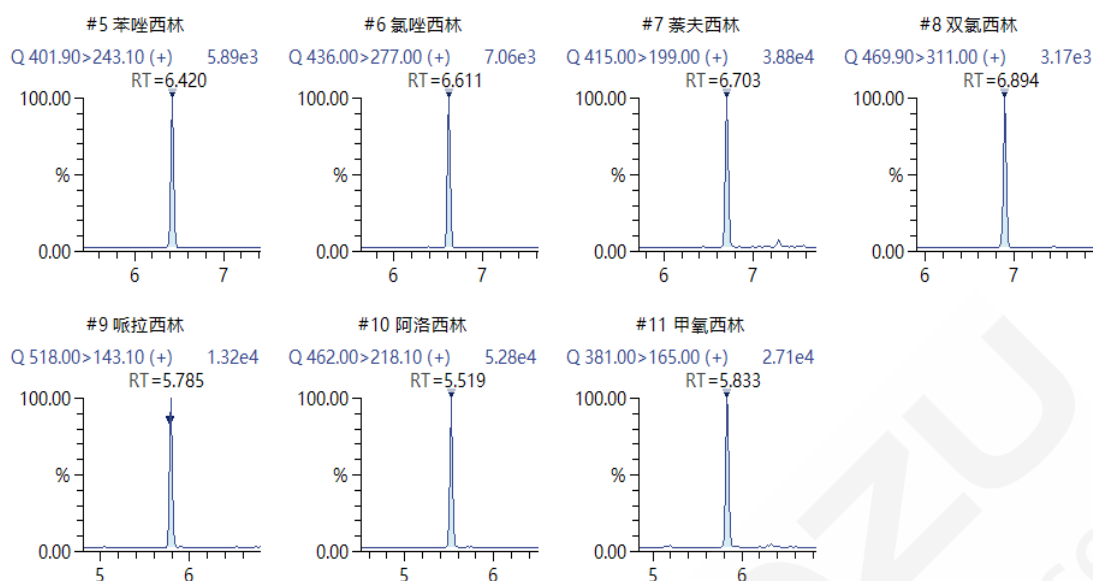


图 1.11 11 种青霉素类抗生素标准溶液的 MRM 色谱图 (2 ng/mL)

2.2 标准曲线线性范围

按照 1.3 方法配制标准系列溶液，上机分析得出各化合物的线性范围和线性关系，详见表 4。11 种青霉素类抗生素在 2~300 ng/mL 范围内，线性良好，相关系数 R 均大于 0.999。11 种青霉素类抗生素标准曲线见图 2。

表 4.11 11 种青霉素类抗生素药物的线性关系

序号	化合物	线性方程	相关系数 R	准确度 (%)
1	阿莫西林	$Y = (8713.78)X + (1292.49)$	0.9992	94.6~107.2
2	氨苄西林	$Y = (22829.3)X + (4977.90)$	0.9998	96.8~103.1
3	青霉素 G	$Y = (7352.52)X + (-117.144)$	0.9996	92.7~110.9
4	青霉素 V	$Y = (3091.83)X + (-392.223)$	0.9996	95.6~105.9
5	苯唑西林	$Y = (8017.91)X + (-2505.56)$	0.9997	94.1~108.3
6	氯唑西林	$Y = (6853.66)X + (60.9161)$	0.9996	89.9~110.9
7	萘夫西林	$Y = (47564.7)X + (-829.499)$	0.9996	95.6~104.6
8	双氯西林	$Y = (3883.88)X + (-384.622)$	0.9992	90.6~107.7
9	哌拉西林	$Y = (15194.6)X + (-1554.21)$	0.9993	96.1~104.7
10	阿洛西林	$Y = (59687.1)X + (-9896.88)$	0.9996	96.5~103.9
11	甲氧西林	$Y = (34011.6)X + (-8198.74)$	0.9997	95.3~106.0

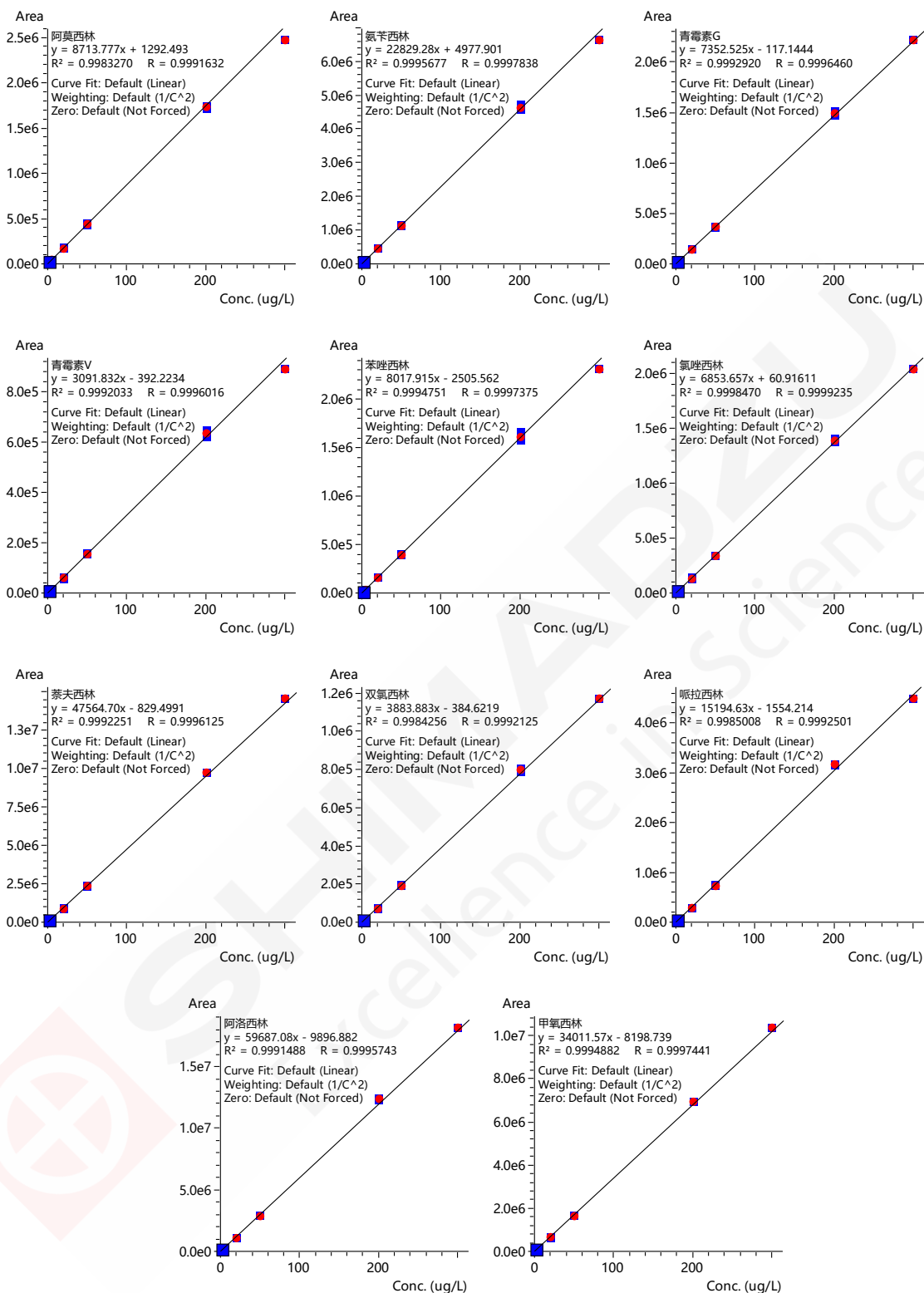


图 2.11 种青霉素类抗生素的校准曲线

2.3 精密度考察

取 20 ng/mL 的标准溶液，注入液相色谱串联质谱仪，平行测定 6 次，计算保留时间 (RT) 和峰面积 (Area) 两者的 RSD%。结果显示各物质的保留时间 (RT) 的 RSD 在 0.02%~0.04%之间，峰面积 (Area) 的 RSD 在 0.83%~4.41%之间，实验结果表明精密度满足实验需求。具体结果详见表 5。

表 5. 精密度考察结果 (n=6)

序号	物质名称	RSD%		序号	物质名称	RSD%	
		RT	Area			RT	Area
1	阿莫西林	0.04	4.41	7	萘夫西林	0.02	1.55
2	氨苄西林	0.04	1.04	8	双氯西林	0.02	3.44
3	青霉素 G	0.03	1.98	9	哌拉西林	0.03	1.83
4	青霉素 V	0.04	4.11	10	阿洛西林	0.03	1.20
5	苯唑西林	0.02	2.74	11	甲氧西林	0.03	0.83
6	氯唑西林	0.03	3.26				

2.4 检出限和定量限

取 2 ng/mL 的标准溶液, 注入液相色谱串联质谱仪, 根据信噪比, 计算其检出限 (S/N=3) 和定量限 (S/N=10)。结果如表 6 显示, 11 种青霉素类化合物的检出限在 0.001~0.49 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围之内。11 种青霉素类化合物的定量限在 0.003~1.64 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围之内。检出限、定量限符合 MRLs 和标准报批稿的要求。

表 6. 检出限和定量限

序号	物质名称	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	序号	物质名称	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	阿莫西林	0.49	1.64	7	双氯西林	0.02	0.06
2	氨苄西林	0.001	0.003	8	萘夫西林	0.012	0.04
3	青霉素 G	0.01	0.03	9	哌拉西林	0.08	0.26
4	青霉素 V	0.05	0.18	10	阿洛西林	0.00	0.01
5	苯唑西林	0.02	0.06	11	甲氧西林	0.02	0.07
6	氯唑西林	0.02	0.05				

2.5 样品测定结果

对市售南美白虾进行分析, 未检出抗生素成分, 并且在出峰区域无明显杂峰干扰, 样品色谱图见图 3; 南美白虾质控样品 (加标 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 的 MRM 色谱图见图 4。

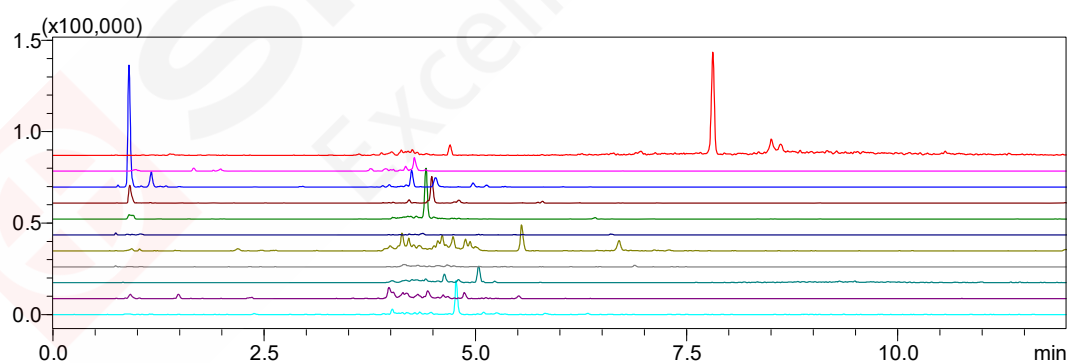
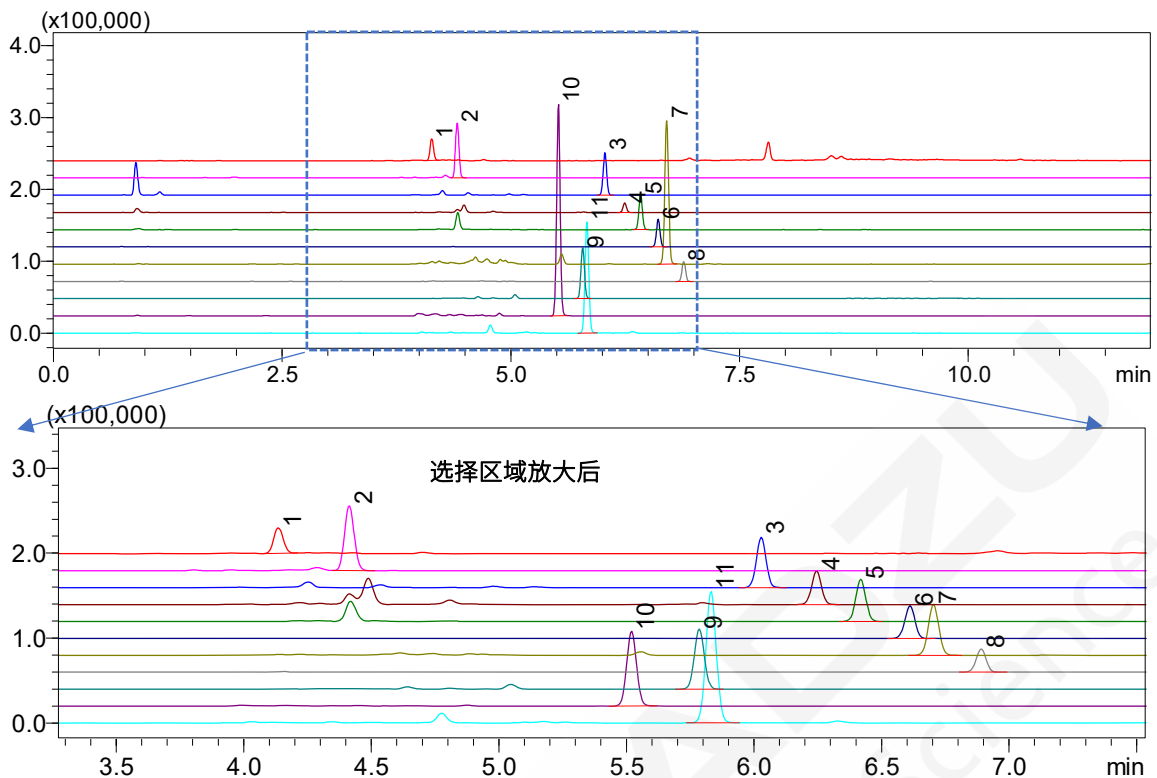


图 3. 南美白虾样品的 MRM 色谱图



1. 阿莫西林; 2. 氨苄西林; 3. 青霉素 G; 4. 青霉素 V; 5. 苯唑西林; 6. 氯唑西林; 7. 萘夫西林; 8. 双氯西林; 9. 哌拉西林; 10. 阿洛西林; 11. 甲氧西林。

图 4. 南美白虾质控样品（加标 $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ）的 MRM 色谱图

3 结论

本实验使用岛津LCMS-8045液质联用系统，参照《GB 31656.12-2021 水产品中青霉素类药物多残留的测定 液相色谱-串联质谱法》，建立了南美白虾中11种青霉素类抗生素含量的检测方法。实验结果表明，11种青霉素类抗生素在2~3000 ng/mL的范围内线性良好；精密度实验中，11种青霉素类抗生素保留时间的RSD分布在0.02%~0.04%之间，峰面积的RSD分布在0.83%~4.41%之间，仪器精密度良好；并且11种青霉素类抗生素物质的灵敏度LOD在0.001~0.49 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间，LOQ在0.003~1.64 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间，测试结果表明仪器灵敏度良好；符合GB 31650-2019关于青霉素类抗生素的MRLs要求，同时也符合标准中灵敏度LOD=2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，LOQ=5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的要求。

LC-MS/MS 测定动物性食品中氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量

摘要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪测定动物性食品中氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量的方法，该方法可在 5 min 内完成对目标物的检测。氟苯尼考及氟苯尼考胺在 10.0 ng/mL~1000.0 ng/mL 浓度范围内线性良好，校准曲线线性相关系数 r 在 0.99 以上，且精密度和回收率实验结果均符合标准要求。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氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量的快速检测。

关键词：三重四极杆质谱 猪肉 氟苯尼考 氟苯尼考胺

氟苯尼考，又称氟甲砜霉素，是一种氯霉素类动物专用广谱抗生素，氟苯尼考以其广谱、高效、迅速吸收、分布广泛等特点，在国内外畜牧上迅速获得广泛的应用。但由于人们长期食用含有此类药物的食品易引起中毒而被要求限量使用。

氟苯尼考在动物体内有多种代谢物。其中，氟苯尼考胺是氟苯尼考在机体内的主要代谢产物。目前已有许多国家将氟苯尼考胺作为氟苯尼考的残留标志物。

本文参照《GB 31658.5-2021 食品安全国家标准 动物性食品中氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量的测定液相色谱-串联质谱法》，建立了使用岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用测定动物性食品中氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量的测定方法。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氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量的快速检测。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验使用超高效液相色谱仪 LC-40B X3 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	: CBM-40	自动进样器	: SIL-40C X3
输液泵	: LC-40B X3 × 2	质谱仪	: LCMS-8045
柱温箱	: CTO-40S	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-水; B相-乙腈	流速	: 0.40 mL/min
柱温	: 40°C	进样体积	: 3.0 μL
洗脱方式	: 梯度洗脱, 初始浓度为 B相 5%, 洗脱程序见表 1.		

表 1. 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	5
1.50	Pumps	Pump B Conc.	100
2.60	Pumps	Pump B Conc.	100
2.70	Pumps	Pump B Conc.	5
4.50	Controller	Stop	

质谱条件

离子源:	ESI (±)	DL 管温度:	250°C
离子源接口电压:	4.0 kV	加热模块温度:	400°C
雾化气	氮气 3.0 L/min	接口温度:	300°C
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)	驻留时间:	93 ms

表 2. MRM 参数

#	化合物名称	监测离子对	Q1 pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
1	氟苯尼考	356.00>336.00*	26.0	10.0	16.0
		356.00>185.00	25.0	19.0	20.0
2	氟苯尼考胺	248.10>230.05*	-10.0	-12.0	-24.0
		248.10>130.20	-10.0	-25.0	-23.0
3	D5-CAP	326.10>157.05	12.0	17.0	16.0

注: *表示定量离子对

1.3 标准溶液的配制

取市售浓度为 100 µg/mL 氟苯尼考以及氟苯尼考胺混合标准溶液适量, 用乙腈稀释至刻度, 制成浓度为 10 µg/mL 混合标准工作液。2~8°C 保存, 有效期 1 个月。

1.4 样品前处理方法

参考《食品安全国家标准 动物性食品中氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》报批稿, 样品照如下流程处理。

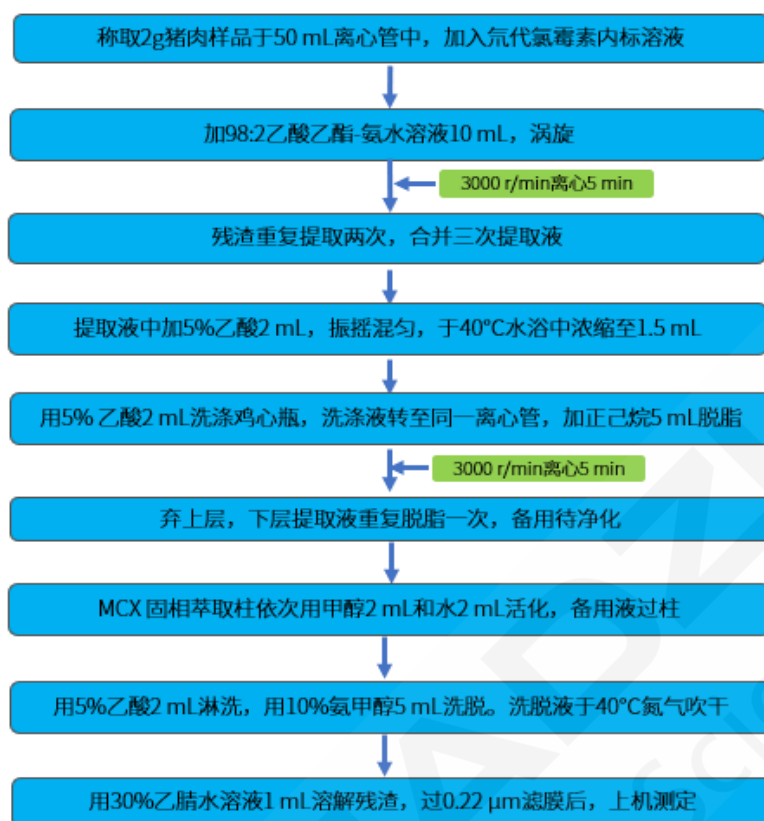


图1. 样品前处理流程

2 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

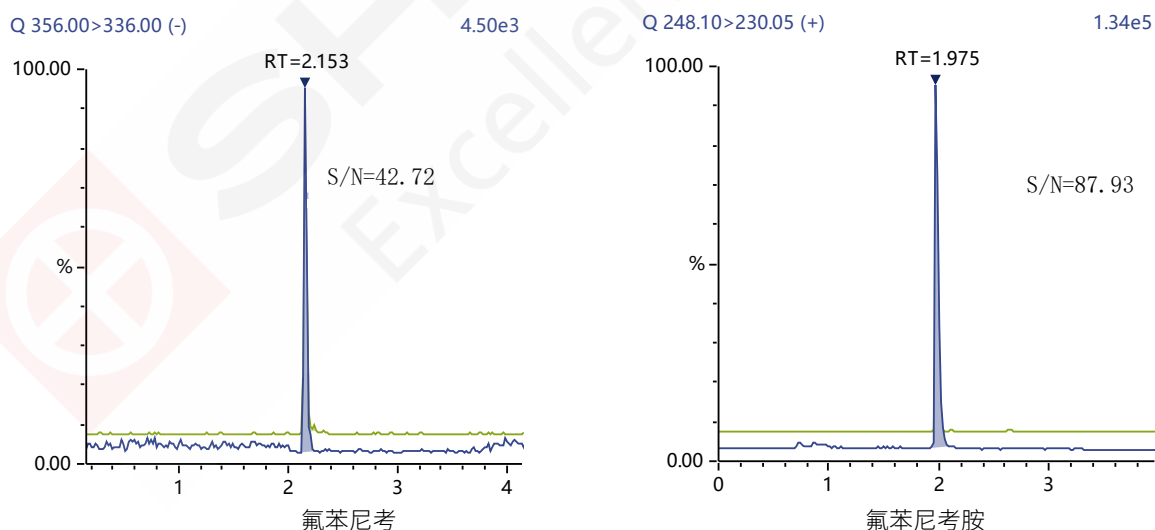


图2. 标准品 MRM 色谱图 (浓度 5 ng/mL)

2.2 线性范围与检出限

精密量取 10 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准工作液适量，依次加入 6 份经提取和净化处理的空白猪肉样品中，同时分别加入 100 ng/mL 氘代氯霉素内标溶液 100 μL ，加 30%乙腈水溶液溶解并稀释至 1.0 mL，配制成浓度为 10、50、100、200、500 和 1000 ng/mL 的基质匹配系列标准溶液。以待测物特征离子峰面积为纵坐标，

标准溶液浓度为横坐标，外标法绘制校准曲线，所得校准曲线线性关系良好，如图 3 所示。根据 MDL=3.3 S/N 计算检出限，线性方程及相关系数见表 3。

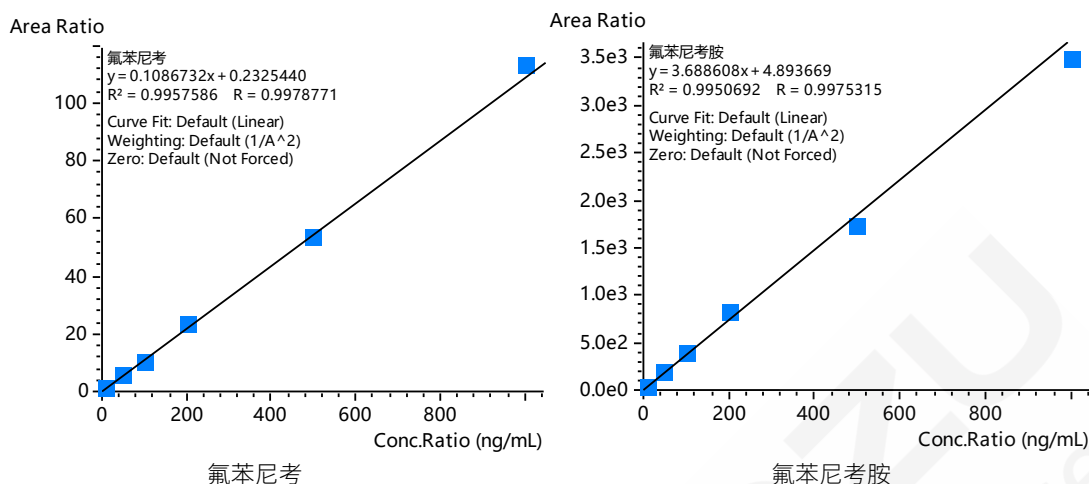


图 3. 校准曲线

表 3. 校准曲线与检出限信息

#	化合物	R	线性范围(ng/mL)	检出限(μg/kg)	准确度 (%)
1	氟苯尼考	0.9978	10.0~1000.0	0.193	90.5-104.3
2	氟苯尼考胺	0.9975	10.0~1000.0	0.093	93.4-111.5

2.3 精密度

对浓度为 10 ng/mL 的氟苯尼考以及氟苯尼考胺标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：氟苯尼考以及氟苯尼考胺保留时间 RSD< 0.2%，峰面积的 RSD< 5.0%，仪器精密度良好。

2.4 回收率

称取空白猪肉样品，加入氟苯尼考以及氟苯尼考胺标准溶液，使加标浓度为 0.060 mg/kg。按照 1.4 样品前处理方法提取净化后，测定氟苯尼考以及氟苯尼考胺的加标回收率。空白猪肉样品和加标猪肉样品 MRM 色谱图如图 4 所示，加标回收率结果见表 4。

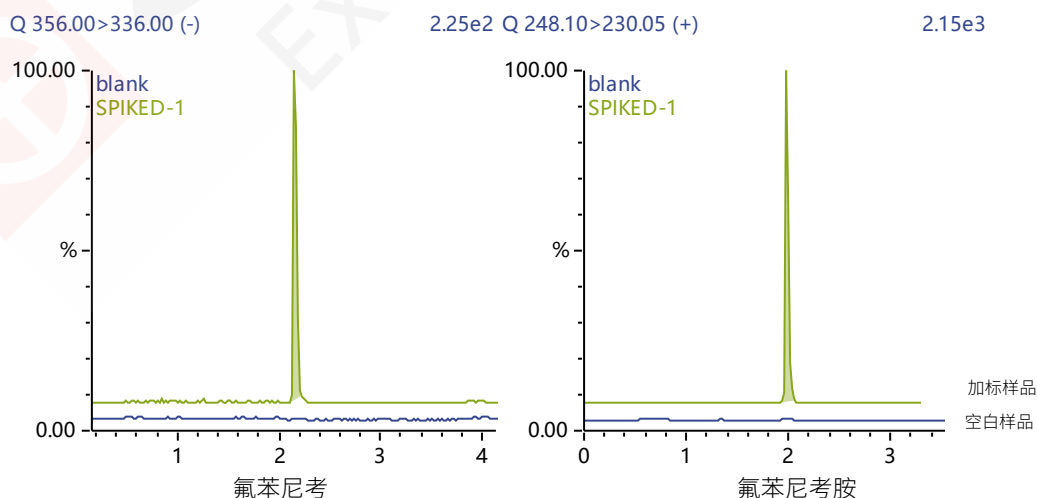


图 4. 空白猪肉样品和加标浓度为 0.060 mg/kg 猪肉样品 MRM 色谱图

表 4. 重复性和回收率结果

#	中文名称	保留时间 RSD(%)	面积 RSD (%)	平均回收率%	回收率 RSD(%)
1	氟苯尼考	0.11	4.63	102.3	0.50
2	氟苯尼考胺	0.12	1.47	93.27	4.42

*重复性 n=6, 回收率 n=3

3 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪测定动物性食品中氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量的方法,该方法可在5 min内完成对目标物的检测。氟苯尼考及氟苯尼考胺在10.0 ng/mL~1000.0 ng/mL 浓度范围内线性良好,校准曲线线性相关系数 r 在 0.99 以上,氟苯尼考以及氟苯尼考胺保留时间 $RSD < 0.2\%$,峰面积的 $RSD < 5.0\%$,精密度和回收率实验结果均符合标准要求。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氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量的快速检测。

LC-MS/MS 法分析水产品中四环素类药物残留

摘要: 本文利用岛津三重四极杆液质联用仪,建立了水产品中 5 种四环素类抗生素残留量的测定方法。样品经 Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲液提取,固相萃取柱净化,液相色谱-串联质谱法测定。结果显示该方法在 5~200 ng/mL 浓度范围内建立标准曲线,线性相关系数均大于 0.999,线性良好;精密度考察中各物质保留时间 RSD 分布在 0.13%~0.21%之间,峰面积 RSD 分布在 1.06%~2.82%之间;5 种四环素类抗生素物质的检出限在 0.03~0.37 μg/kg 范围之间,定量限在 0.08~1.13 μg/kg 之间,表明仪器灵敏度良好,50 μg/kg 加标回收率 70.4%~105.1%之间。该方法分析速度快,灵敏度高,准确度高,适用于鱼虾等水产品中 5 种四环素类抗生素的含量测定,也可为相关从业人员分析检测提供参考。

关键词: 三重四极杆液质联用仪 水产品 四环素类抗生素

四环素类抗生素 (Tetracyclines, TCs) 为广谱抗生素,青霉素类抗生素因结构含有β内酰胺环,也称β内酰胺类抗生素。对革兰氏阳性和阴性细菌、立克次氏体等均有抑菌作用,其作用机理主要是和 30S 核糖体的末端结合,干扰细菌蛋白质的合成。常用的四环素类抗生素有:四环素、金霉素、土霉素、强力霉素、去甲基金霉素等。四环素类药物进入兽用领域已有多年,病原菌对四环素类已产生耐药性,且耐药性严重程度不容忽视。此类抗生素的不合理使用,为食品安全带来隐患。GB 31650-2019 《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》中规定,在鱼虾中土霉素、四环素、金霉素最大残留限量 (MRLs) 200 μg/kg,强力霉素 MRLs 100 μg/kg。

此前,GB/T 22961-2008《河豚鱼、鳗鱼中土霉素、四环素、金霉素、强力霉素残留量的测定 液相色谱-紫外检测法》规定了河豚鱼和鳗鱼中 4 种青霉素类化合物残留的测定方法。近期,《GB 31656.11-2021 水产品中土霉素、四环素、金霉素和多西环素残留量的测定》对 GB/T 22961-2008 标准进行了更新,修改了标准适用范围,修改了方法的检测器,由紫外检测器改为荧光检测器;增加了增加液相色谱-串联质谱测定方法。

四环素类抗生素易光解,且易与金属离子反应生产不溶性络合物,在前处理和三重四极杆液相色谱质谱联用仪测定方面面临诸多挑战,本文参照《GB 31656.11-2021 水产品中土霉素、四环素、金霉素和多西环素残留量的测定》,增加了去甲基金霉素,解决了四环素类化合物系统残留问题,建立了水产品中 5 种四环素类抗生素残留的检测方法。该方法快速、准确、灵敏度高,可以用于水产品中四环素类抗生素药物的准确测定。

1 实验部分

1.1 仪器配置

岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8045。具体配置为

输液泵	:LC-20AD _{XR} ×2	系统控制器	:CBM-20A
自动进样器	:SIL-30ACMP	三重四极杆质谱仪	:LCMS-8045
柱温箱	:CTO-20AC	色谱工作站	:LabSolutions Ver. 5.97

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GISS[Metal free] (100 mm x 2.1 mm I.D., 3 μ m) , 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N:227-30924-02

流 动 相 : A相-0.1%甲酸水溶液; B相-乙腈

流 速 : 0.3 mL/min 进 样 量 : 5 μ L

柱 温 : 40°C

洗针模式 : R0->R3,均为 0.1%甲酸水: 甲醇: 乙腈: 异丙醇 (1: 1: 1: 1)

洗脱方式 : 梯度洗脱, B相初始浓度为 20%, 时间程序见表 1。

样 品 瓶 : PP 材质样品瓶或采用惰性化处理的玻璃样品瓶

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
5.00	Pumps	Pump B Conc.	35
5.60	Pumps	Pump B Conc.	90
6.50	Pumps	Pump B Conc.	90
6.60	Pumps	Pump B Conc.	20
9.00	Controller	Stop	

质谱条件

质 谱 仪 : LCMS-8045

脱溶剂管温度 : 250°C

离 子 源 : ESI+

加热模块温度 : 400°C

雾 化 气 : 氮气 3 L/min

接 口 温 度 : 300°C

干 燥 气 : 氮气 10 L/min

扫 描 模 式 : MRM

加 热 气 : 空气 10 L/min

M R M 参 数 : 见表 2

表 2. MRM 参数

序号	化合物	保留时间 (min)	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	CE (V)
1	去甲金霉素 DMCTC	2.67	465.00	154.10*	-31.0
			465.00	448.00	-18.0
2	金霉素 CTC	3.52	479.20	444.10*	-24.0
			479.20	154.10	-28.0
3	强力霉素 DC	4.08	445.20	428.20*	-16.0
			445.20	154.10	-34.0
4	四环素 TC	2.08	445.20	410.20*	-22.0
			445.20	427.00	-16.0
5	土霉素 OTC	1.77	461.20	426.00*	-18.0
			461.20	443.10	-14.0

* 定量离子对

1.3 样品前处理

准确称取样品 2.0 g，置于 50 mL 离心管中，准确加入 Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲液 6 mL，醋酸铅溶液 2 mL，涡旋 60 s，分散均匀，超声提取 10 min，再以 8000 r/min 转速离心 5 min，吸取上清液于 50 mL 离心管中，加入 5 mL Na₂EDTA-McIlvaine 缓冲液重复提取 2 次，合并三次上清，待用。上清液加正己烷 10 mL，混匀，静置，取下层溶液，加入 Na₂EDTA-McIlvaine 定容至 20.0 mL，取 10.0 mL 过 HLB 小柱净化，甲醇-乙酸乙酯 5 mL 洗脱，氮吹至近干，初始流动相定容至 1.0 mL，上机。

1.4 标准溶液制备

基质标准系列工作液的配制：取空白样品，按照前处理净化，氮吹至近干，分别准确加入混合标准中间工作液适量，初始流动相定容至 1.0 mL，配制成浓度为 5、10、20、50、100、200 ng/mL 的标准工作曲线，待上机分析。

2 结果与讨论

2.1 色谱柱筛选

已有研究表明，四环素类化合物分析时，流动相中添加三氟乙酸，可有效抑制二次保留，改善峰形，但三氟乙酸易在质谱系统残留，抑制负离子模式信号。为避免出现此不良情况，本试验采用了内壁涂层为 PEEK 材质的色谱柱，Shim-pack GISS+PEEK (100 mm x 2.1 mm I.D., 3 μm) 色谱柱进行分析，在甲酸做添加剂的条件下，获得了更加对称的峰形，色谱峰无拖尾，同时避免了柱上残留。5 种四环素在 Shim-pack GISS (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 μm) 和 Shim-pack GISS+PEEK (100 mm x 2.1 mm I.D., 3 μm) 色谱柱上保留行为如图 1 所示，以土霉素 OTC 为例，同等条件下 GISS 色谱柱上拖尾因子为 1.45，而 GISS+PEEK 色谱柱上拖尾因子为 1.05，色谱峰形良好，通道无干扰。因此，最终以 Shim-pack GISS+PEEK 作为色谱柱进行分析。

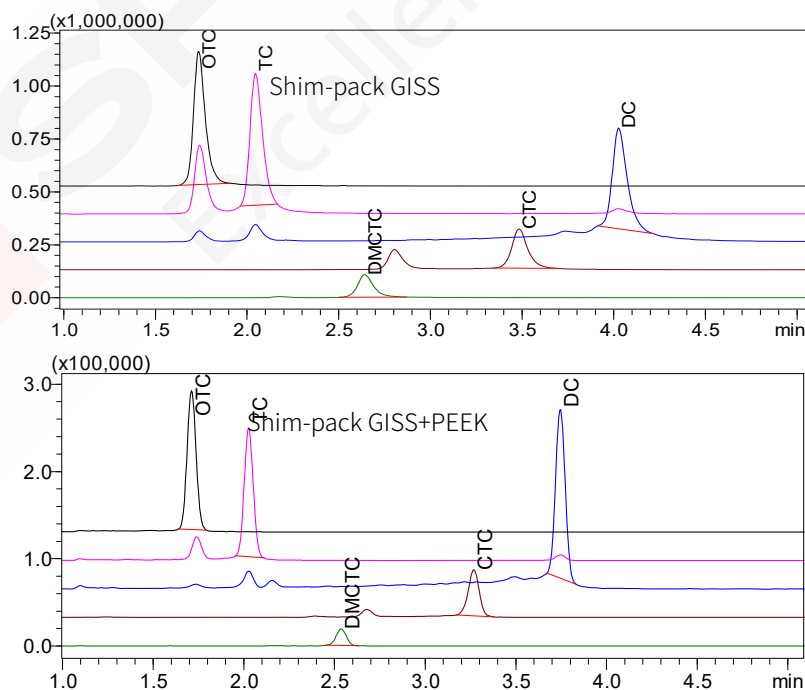


图 1. 5 种四环素类抗生素标准溶液的 MRM 色谱图

2.2 标准曲线线性范围

按照 1.4 方法配制标准系列溶液，上机分析得出各化合物的线性范围和线性关系，对比了普通玻璃样品瓶、pp 材质样品瓶和惰性化处理玻璃样品瓶的吸附情况。结果表明，普通玻璃瓶配制的标准曲线，判定系数 <0.99 ，而 pp 材质样品瓶和惰性化处理玻璃样品瓶线性良好，详见表 3。5 种四环素类抗生素在 5~200 ng/mL 范围内，线性良好，判定系数 R^2 均 >0.999 ，准确度 95.4%~106.5%之间。5 种四环素类抗生素标准曲线见图 2。

表 3. 5 种四环素类抗生素的线性关系

序号	化合物	线性方程	判定系数 R^2	准确度 (%)
1	去甲金霉素 DMCTC	$Y = (32669.2)X + (23923.6)$	0.9996	95.6~106.5
2	金霉素 CTC	$Y = (10303.5)X + (5181.24)$	0.9993	95.6~108.8
3	强力霉素 DC	$Y = (29940.6)X + (19922.0)$	0.9995	95.4~104.8
4	四环素 TC	$Y = (39566.6)X + (26427.0)$	0.9995	97.2~104.3
5	土霉素 OTC	$Y = (33009.4)X + (11861.2)$	0.9996	96.3~104.2

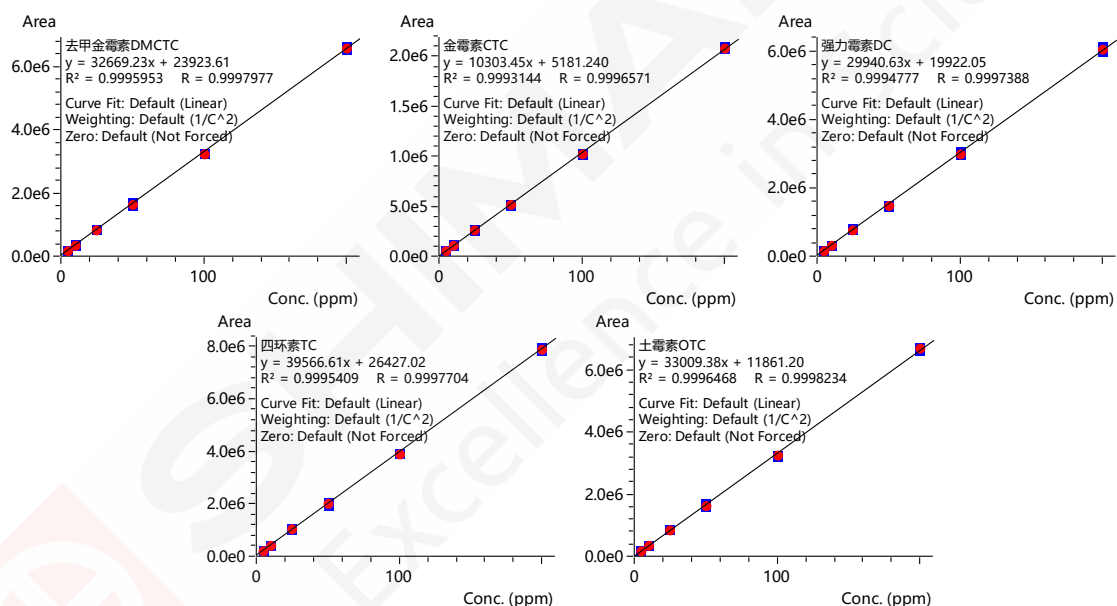


图 2. 5 种四环素类抗生素的校准曲线

2.3 精密度考察

取 10 ng/mL 的基质标准溶液，注入液相色谱串联质谱仪，平行测定 6 次，计算保留时间 (R.T.) 和峰面积 (Area) 的 RSD%。结果显示各物质的保留时间 (R.T.) 的 RSD 在 0.13%~0.21%之间，峰面积 (Area) 的 RSD 在 1.06%~2.82%之间，实验结果表明精密度满足实验需求。具体结果详见表 4。

表 4. 精密度考察结果 (n=6)

序号	化合物	RSD%	
		R.T.	Area
1	去甲金霉 DMCTC	0.21	1.86
2	金霉素 CTC	0.13	2.72
3	强力霉素 DC	0.15	2.82
4	四环素 TC	0.19	1.06
5	土霉素 OTC	0.15	1.32

2.4 检出限和定量限

取 5 ng/mL 的基质标准溶液, 注入液相色谱串联质谱仪, 根据信噪比, 计算其检出限 (S/N=3) 和定量限 (S/N=10)。结果如表 5 显示, 5 种四环素类抗生素的检出限在 0.03~0.37 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围之间。5 种四环素类抗生素的定量限在 0.08~1.13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围之间。检出限、定量限符合 MRLs 和标准的要求。

表 5. 检出限和定量限

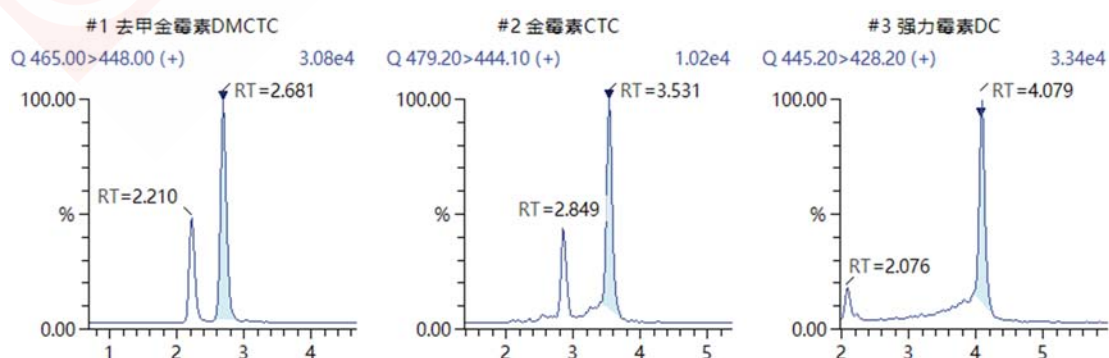
序号	化合物	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	去甲金霉 DMCTC	0.03	0.08
2	金霉素 CTC	0.06	0.19
3	强力霉素 DC	0.37	1.13
4	四环素 TC	0.06	0.17
5	土霉素 OTC	0.02	0.05

2.5 加标回收率

对市售南美白虾进行分析, 未检出四环素抗生素成分, 添加 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 四环素混合标准溶液, 按照前述前处理方式处理, 上机测定, 以外标法定量, 计算回收率。5 种四环素类加标回收率 70.4%~105.1%之间, 符合公示稿要求。

表 6. 回收率

序号	化合物	回收率 (%)
1	去甲金霉 DMCTC	95.5
2	金霉素 CTC	89.7
3	强力霉素 DC	73.8
4	四环素 TC	105.1
5	土霉素 OTC	70.4



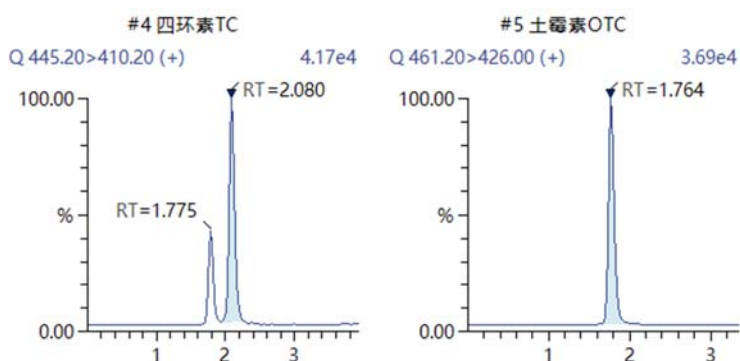


图3. 南美白虾质控样品（加标 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）的MRM 色谱图

3 结论

本实验使用岛津LCMS-8045液质联用系统，参照《GB 31656.11-2021 水产品中土霉素、四环素、金霉素和多西环素残留量的测定》，建立了南美白虾中5种四环素类抗生素含量的检测方法。实验结果表明，5种四环素类抗生素在5-200 ng/mL 的范围内线性良好；精密度实验中，5种四环素类抗生素保留时间的RSD分布在0.13%~0.21%之间，峰面积的RSD在1.06%~2.82%之间，仪器精密度良好；并且5种四环素类抗生素物质的灵敏度LOD在0.03~0.37 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围之间，LOQ在0.08~1.13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间，测试结果表明仪器灵敏度良好；符合GB 31650-2019关于四环素类抗生素的MRLs要求，同时也符合标准中灵敏度LOD=5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，LOQ=10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的要求。

LC-MS/MS 检测猪肉中酰胺醇类药物及其代谢物残留

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测定猪肉中酰胺醇类药物及其代谢物残留的方法。4 种化合物在 0.2 $\mu\text{g/L}$ ~40.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好，相关系数 r 均在 0.998 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 0.06%~0.26% 和 1.10%~10.27% 之间，仪器精密密度良好。加标浓度为 0.2、1 和 10 $\mu\text{g/kg}$ 的样品，回收率在 87.0~116.3% 之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于猪肉中酰胺醇类药物及其代谢物残留的准确定量检测。

关键词：三重四极杆液质联用仪 猪肉 酰胺醇类 代谢物

技术特点：

- ❖ 甲砒霉素、氟苯尼考及氟苯尼考胺的灵敏度远高于标准要求。
- ❖ 相较《GB 31658.20-2022》，各化合物具有更宽的线性范围。

酰胺醇类药物又称氯霉素类抗生素，属于广谱抗生素，对革兰氏阳性菌和阴性菌均有抑制作用，常见的该类物质主要包括氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考等。由于氯霉素会严重干扰动物造血功能，引起粒细胞及血小板生成减少，导致不可逆性再生障碍性贫血等，中华人民共和国农业农村部公告第250号已明确将其列入《食品动物中禁止使用的药品及其他化合物清单》。

甲砒霉素为氯霉素类衍生物，GB 31650-2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》规定了甲砒霉素在牛、羊和猪的肌肉、肝、肾等组织的最大残留限量（MRLs）为50 $\mu\text{g/kg}$ ；而氟苯尼考是新一代氯霉素类抗生素，氟苯尼考胺是其主要代谢产物，《GB 31650-2019》规定残留标志物是氟苯尼考和和氟苯尼考胺之和，在猪不同组织中的MRLs为300~2000 $\mu\text{g/kg}$ 。

为了保障人们的食品安全，农业农村部首次发布了《GB 31658.20-2022 食品安全国家标准 动物性食品中酰胺醇类药物及其代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，本文参考标准，建立了猪肉中酰胺醇类药物残留的检测方法。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 X3 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	质谱仪：	LCMS-8050
柱温箱：	CTO-40S	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.114
在线脱气机：	DGU-405		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱： Shim-pack Scepter C18-120 (100 mm×2.1 mm I.D, 1.9 μm) 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-31012-05
流动相： A相-10 mM 甲酸铵水溶液, B相-乙腈
柱温： 35 °C 流速： 0.3 mL/min
进样体积： 5 μL
洗脱方式： 梯度洗脱, 初始浓度为 B 相 5%, 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.	5
3.50	Pumps	Pump B Conc.	60
4.50	Pumps	Pump B Conc.	60
4.51	Pumps	Pump B Conc.	5
6.50	Controller	Stop	

质谱条件

离子源： ESI, 正+负离子模式 D L 管温度： 250°C
接口电压： 0.5 kV 加热模块温度： 400°C
雾化气： 氮气 3.0 L/min 接口温度： 300°C
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 M R M 参数： 见表 2
碰撞气： 氩气 (230kPa)

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	氯霉素	C ₁₁ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₅	56-75-7	321.0	152.1* 257.0	20.0 19.0	16.0 10.0	15.0 17.0
2	甲砒霉素	C ₁₂ H ₁₅ Cl ₂ NO ₅ S	15318-45-3	354.0	185.1* 290.0	22.0 12.0	21.0 12.0	18.0 20.0
3	氟苯尼考	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₂ FNO ₄ S	73231-34-2	356.0	185.1 336.0*	12.0 12.0	18.0 10.0	12.0 23.0
4	氟苯尼考胺	C ₈ H ₁₀ D ₅ N ₃ O ₃	76639-93-5	248.1	130.2 230.1*	-18.0 -18.0	-19.0 -12.0	-12.0 -25.0
5	氯霉素D ₅	C ₁₁ H ₇ D ₅ Cl ₂ N ₂ O ₅	/	326.0	157.0*	20.0	17.0	29.0
6	甲砒霉素D ₃	C ₁₂ H ₁₂ D ₃ Cl ₂ NO ₅ S	/	359.0	295.0*	25.0	12.0	14.0
7	氟苯尼考D ₃	C ₁₂ H ₁₁ D ₃ Cl ₂ FNO ₄ S	/	361.0	341.0*	18.0	10.0	25.0
8	氟苯尼考胺D ₃	C ₁₀ H ₁₁ D ₃ FNO ₃ S	/	251.1	233.1*	-16.0	-12.0	-30.0

*表示定量离子

2 样品前处理

参考《GB 31658.20-2021 食品安全国家标准 动物性食品中酰胺醇类药物及其代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》中 7.1 和 7.2 样品提取与净化的方法。

3 结果与讨论

3.1 酰胺醇类标准溶液谱图

图 1 为 0.2 ng/mL 4 种酰胺醇类药物及代谢物的 MRM 色谱图，色谱峰分离良好，通道无干扰。

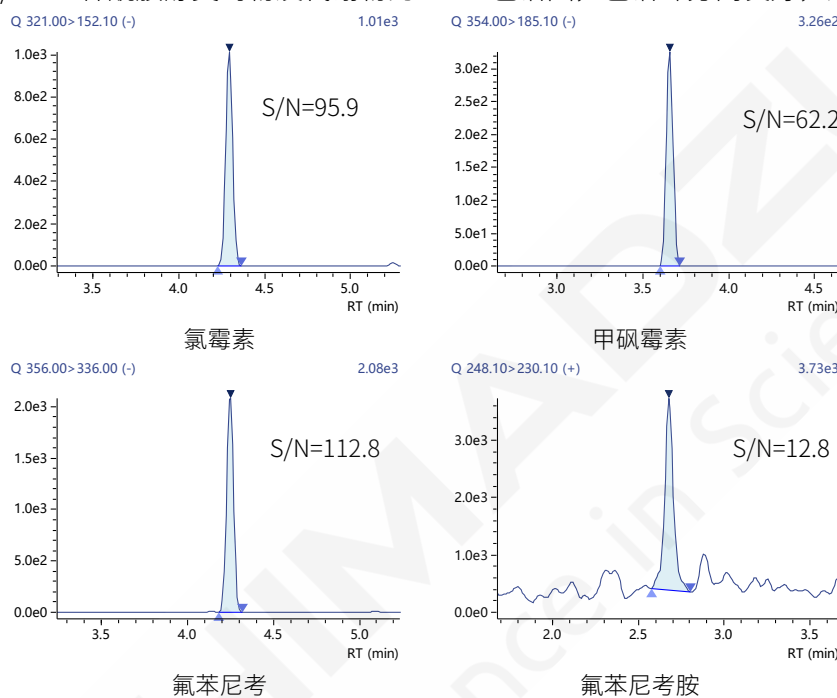
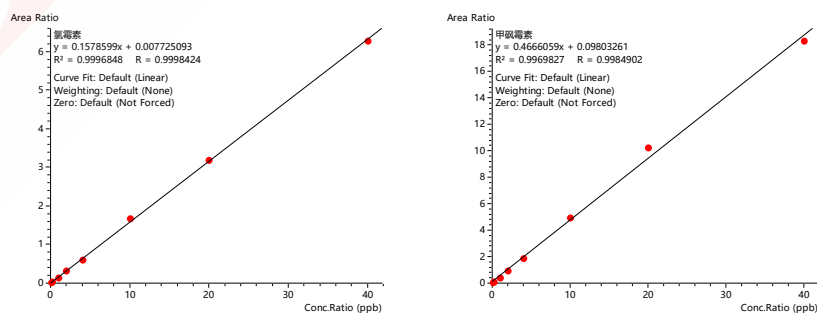


图 1. 4 种酰胺醇类药物及代谢物标准品溶液质量色谱图 (0.2 $\mu\text{g/L}$)

3.2 校准曲线和检出限

使用 20% 甲醇溶液稀释混合标准溶液，配制成四种目标物浓度为 0.2、0.4、1、2、4、10、20 和 40 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准溶液，其中同位素内标的浓度均为 5 $\mu\text{g/L}$ ，以定量离子峰面积比为纵坐标，浓度比为横坐标，绘制校准曲线如图 2 所示。根据 0.2 $\mu\text{g/L}$ 标样数据，以 3 倍信噪比计算 4 种酰胺醇类药物的方法检出限，各化合物检出限以及线性相关系数如表 3 所示。



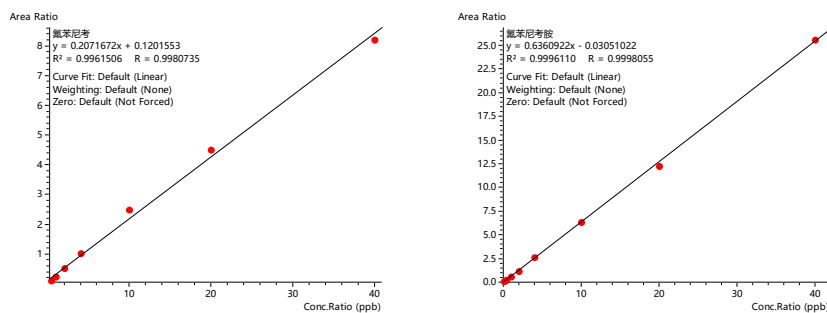


图 2. 酰胺醇类药物及代谢物标准曲线

表 3. 4 种酰胺醇类药物及代谢物校准曲线及检出限

编号	组分名称	校准曲线	相关系数 R	准确度%	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
1	氯霉素	$Y=(0.1578599)X+(0.007725093)$	0.9998	92.4~109.7	0.01	0.02
2	甲矾霉素	$Y=(0.4666059)X+(0.09803261)$	0.9985	85.4~118.2	0.01	0.03
3	氟苯尼考	$Y=(0.2071672)X+(0.1201553)$	0.9981	88.5~117.3	0.01	0.02
4	氟苯尼考胺	$Y=(0.6360922)X-(0.03051022)$	0.9998	83.0~112.5	0.04	0.13

3.3 重复性实验

取0.2、2和40 $\mu\text{g/L}$ 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. 酰胺醇类药物及代谢物保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

编号	化合物	RSD% (0.2 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (2 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (40 $\mu\text{g/L}$)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	氯霉素	0.08	7.97	0.06	5.00	0.09	1.18
2	甲矾霉素	0.16	9.76	0.09	5.88	0.13	1.10
3	氟苯尼考	0.08	8.45	0.07	2.75	0.09	2.21
4	氟苯尼考胺	0.18	10.27	0.20	4.75	0.26	2.15

3.4 加标回收率

取空白猪肉 2 g，加入混标工作液，使加标浓度为 0.2、1 和 10 $\mu\text{g/kg}$ ，样品经提取及净化后，按照 1.2 中的分析条件测定 4 种酰胺醇类药物及代谢物的加标回收率，平行测定 3 次。4 个化合物的回收率在 87.0~116.3%之间，具体结果见表 5。

表 5. 4 种酰胺醇类药物及代谢物回收率结果(n=3)

编号	化合物	加标浓度 0.2 $\mu\text{g/kg}$		加标浓度 1 $\mu\text{g/kg}$		加标浓度 10 $\mu\text{g/kg}$	
		回收率%	RSD%	回收率%	RSD%	回收率%	RSD%
1	氯霉素	87.0	10.8	96.6	7.3	96.2	6.4
2	甲矾霉素	101.0	12.2	116.3	1.26	106.4	10.8
3	氟苯尼考	113.5	4.3	110.4	4.0	115.8	2.1
4	氟苯尼考胺	102.5	12.5	94.3	4.5	98.5	4.8

4 结论

依据国家标准《GB 31658.20-2022 食品安全国家标准 动物性食品中酰胺醇类药物及其代谢物残留量的测定 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猪肉中酰胺醇类药物及代谢物残留的方法。4 种化合物在 0.2 $\mu\text{g}/\text{L}$ ~40.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性良好，相关系数 r 均在 0.998 以上。加标浓度为 0.2、1 和 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品，回收率在 87.0~116.3%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酰胺醇类药物及其代谢物残留量的准确检测。



LC-MS/MS 测定牛奶中利福昔明残留量的方法

摘要：本文利用岛津液相色谱-串联质谱仪，建立一种简便、快速、准确检测牛奶中利福昔明残留量的分析方法，以应对 GB 31659.5-2022《食品安全国家标准 牛奶中利福昔明残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》的检测。结果表明，利福昔明保留时间和峰面积重复性良好。加标回收实验中，各物质回收率在 78.87%~95.31% 之间。该方法操作简捷，为牛奶中的利福昔明残留量检测提供很好的参考。

关键词：三重四极杆液质联用仪 利福昔明 牛奶

技术特点：

- ❖ 可应对《食品安全国家标准 牛奶中利福昔明残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》。
- ❖ 使用 HLB 亲水/亲脂型固相萃取柱富集净化，有较好回收率。

利福昔明系利福霉素衍生物，是第一个非氨基糖苷类肠道抗生素。研究表明，利福昔明对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌及粪链球菌等革兰氏阳性菌和沙门氏菌属、大肠杆菌、志贺氏菌属、小肠结肠炎耶尔森氏菌、球菌等革兰氏阴性菌都具有高度抗菌活性。欧盟规定利福昔明在牛奶中的残留标示物为原型药物，其最高残留限量（MRL）为60 μ g/kg，奶牛干乳期使用后产犊泌乳时的休药期为零。依据MRL制定药物在牛奶中的休药期，可以为广大养殖户科学合理用药提供依据，为确保动物性食品质量安全提供保证。

本文参考GB 31659.5-2022，旨在利用LC-MS/MS法对利福昔明在牛奶中的残留量进行研究，建立牛奶中利福昔明残留量检测的方法，供检测人员参考。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津 LCMS-8050 液相色谱串联质谱仪。具体配置为：

系统控制器	： CBM-20A	自动进样器	： SIL-30AC _{MP}
柱温箱	： CTO-20AC	输液泵	： LC-30AD \times 2
脱气机	： DGU-20A _{5R}	质谱检测器	： LCMS-8050
色谱工作站	： LabSolutions Ver. 6.102		

1.2 分析条件

液相色谱条件：

- 色谱柱：XBridge BEH Shield RP18,130A (50 mm \times 2.1 mm, 5 μ m)
- 流动相：A相-0.1%甲酸溶液；B相-0.1%甲酸乙腈溶液
- 流速：0.3 mL/min
- 柱温：10 μ L
- 进样体积：30 $^{\circ}$ C
- 洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为 30%，详见表 1

表 1. 梯度洗脱程序

时间(min)	单元	处理命令	值
0	泵	B Conc	30
3.0	泵	B Conc	80
4.5	泵	B Conc	80
4.6	泵	B Conc	30
6.0	控制器	STOP	

质谱条件:

离子源	: ESI(+)	接口电压	: 4.5 kV
雾化气流速	: 3 L/min	加热模块温度	: 350°C
加热气流速	: 5.0 L/min	D L 温度	: 250°C
干燥气流速	: 5.0 L/min	接口温度	: 300°C
扫描模式	: 多反应监测(MRM)	MRM 参数	: 详见表 2

表 2. 利福昔明 MRM 参数

化合物名称	英文名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
利福昔明	Rifaximin	80621-81-4	786.50	754.40*	-20.0	-23.0	-22.0
				151.15	-20.0	-36.0	-17.0

注: *表示定量离子

1.3 样品前处理方法

按下图所示流程进行样品前处理。

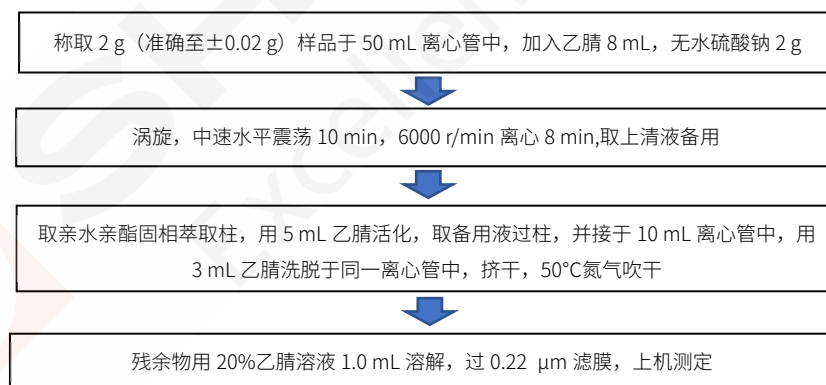


图1. 前处理流程图

1.4 标准溶液的配置

在空白试料经提取、净化、氮气吹干后的残余物中, 依次加入用 20% 乙腈溶液配制的浓度为 10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL 系列标准溶液, 充分溶解, 过滤, 上机测定。

2 结果与讨论

2.1 标准溶液色谱图

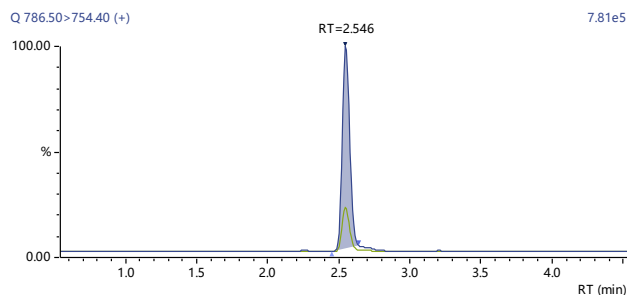


图 2. 利福昔明标准溶液色谱图

2.2 线性范围、检测限和定量限

按照 1.4 配制各浓度标准溶液，以目标物峰面积为纵坐标，基质匹配标准溶液浓度为横坐标，绘制校准曲线。线性范围在 10~200 ng/mL 间，线性相关系数大于 0.999，准确度为 99.2-102.9%，校准曲线如下图。由计算所得其检测限为 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、定量限为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

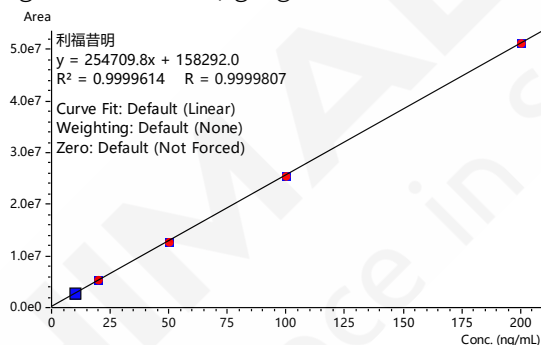


图 3. 利福昔明校准曲线

2.3 重复性考察

按照 1.4 步骤配制低、中、高三个浓度标准溶液，连续进样 6 次，考察分析方法保留时间和峰面积的重复性。结果表明：各组分保留时间的 RSD% 在 0.05%-0.12% 之间，峰面积的 RSD% 在 1.93%-3.41% 之间，方法重复性良好，仪器精密度良好。结果见表 3。

表 3. 重复性测试 (n=6)

化合物名称	RSD%(10 ng/mL)		RSD%(50 ng/mL)		RSD%(100 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
利福昔明	0.05	1.93	0.10	3.41	0.12	3.19

2.4 加标回收实验

按照 1.3 步骤中制备样品和加标样品，三个水平加标浓度分别对应 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 这三个浓度点，结果如下表 4 所示。测试结果显示：各水平的加标回收率在 78.87%~95.31% 之间，相对标准偏差 RSD% 在 2.34%~2.98% 之间。

表 4. 样品加标实验结果 (n=6)

名称	样品浓度 (ng/mL)	加标(10 µg/kg)		加标 (50 µg/kg)		加标(100 µg/kg)	
		回收率%	RSD%	回收率%	RSD%	回收率%	RSD%
利福昔明	N.D.	82.16	2.49	88.53	2.98	93.27	2.34

注: N.D.表示未检出。

3 结论

本文使用岛津液相色谱-串联质谱仪 LCMS-8050, 参考 GB 31659.5-2022 《食品安全国家标准 牛奶中利福昔明残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》征求意见稿, 建立了一种牛奶中利福昔明残留量分析的测定方法。该方法简单方便, 能有效检测牛奶中的利福昔明残留量。

2.3 抗寄生虫类药物分析



LC-MS/MS 检测猪肉中的阿维菌素类药物含量

摘要： 本文参照 GB 31658.16-2021《食品安全国家标准 动物性食品中阿维菌素类药物残留量的测定 高效液相色谱法和液相色谱-串联质谱法》，建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪测定猪肉中阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素含量的方法。均质后的样品以乙腈提取，C18 固相萃取柱净化后，以 LC-MS/MS 检测，外标法定量。结果表明：该方法灵敏度高，重复性好，校准曲线线性良好，适合用作检测猪肉中的阿维菌素类药物含量。

关键词： LC-MS/MS 猪肉 阿维菌素

阿维菌素类药物是一类十六元大环内酯类抗生素，其具有优异的驱虫性，使用广泛。该类物质与有机磷农药的毒性相仿，属高毒农药，常见的包括阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素等。

2022年2月开始实施的GB 31658.16-2021《食品安全国家标准 动物性食品中阿维菌素类药物残留量的测定 高效液相色谱法和液相色谱-串联质谱法》规定了使用HPLC和LC-MS/MS检测猪肉等动物性食品中阿维菌素类药物的检测方法。

本文参照该标准第二法，使用 LCMS-8045 建立了猪肉样品中阿维菌素类药物的检测方法。

1 实验部分

1.1 仪器

系统控制器：CBM-40
脱气机：DGU-405
输液泵：LC-40B X3
自动进样器：SIL-40C X3
柱温箱：CTO-40S
质谱检测器：LCMS-8045
色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.114

1.2 分析条件

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 与 LCMS-8045 联用系统，具体配置为：

液相条件：

色谱柱：Shim-pack GIST C18 (50 mm x 2.1 mm I.D., 2 μm) P/N:227-30001-02, 岛津（上海）实验器材有限公司
流动相：A相-0.1%甲酸水溶液；B相-0.1%甲酸乙腈溶液
洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为75%，洗脱程序见表1
流速：0.3 mL/min 柱温：35 °C
进样体积：10 μL

表 1. 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.40	泵	B.Conc	75
2.40	泵	B.Conc	100
3.00	泵	B.Conc	100
3.10	泵	B.Conc	75
4.50	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器	: LCMS-8045	离子化模式	: ESI+
接口电压	: 5.0 kV	雾化气	: 氮气 3.0 L/min
干燥气	: 氮气 10.0 L/min	加热气	: 空气 10.0 L/min
碰撞气	: 氦气	接口温度	: 400°C
DL 温度	: 250°C	加热模块温度	: 500°C
扫描模式	: 多反应监测 (MRM)	MRM 参数	: 见表 2

表 2. MRM 优化参数

No.	化合物	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE(V)	Q3 Pre Bias (V)
1	阿维菌素 (Avermectin)	65195-55-3	895.50	751.40*	-20	-47	-34
				183.10	-34	-60	-11
2	伊维菌素 (Ivermectin)	71827-03-7	897.50	753.40*	-20	-47	-24
				183.10	-20	-58	-17
3	多拉菌素 (Doramectin)	117704-25-3	921.40	777.40*	-34	-47	-20
				183.10	-34	-59	-17
4	乙酰氨基阿维菌素 (Eprinomectin)	123997-26-2	936.50	490.30*	-22	-56	-17
				352.20	-22	-62	-12

注: *表示定量离子

1.3 样品前处理

(1) 提取: 准确称取均质后的猪肉样品 2 g, 于 50 mL 离心管中, 加乙腈 8 mL, 涡旋 2 min, 4000 r/min 离心 5 min. 收集上清液, 残渣中加入乙腈 8 mL, 重复提取 1 次。合并 2 次提取液, 混匀。取提取液 4 mL, 加水 6 mL 和三乙胺 10 μ L, 混匀, 备用。

(2) 净化: C18 固相萃取柱(500 mg/6 mL)依次用乙腈、洗涤剂(乙腈/水/三乙胺=80:120:0.2)各 4 mL 活化, 取备用液过柱, 依次用洗涤剂 5 mL、水 3 mL 淋洗, 抽干, 以正己烷 4 mL 淋洗, 抽干, 乙腈 8 mL 洗脱。收集洗脱液, 40 °C 水浴氮气吹干。加入 50%乙腈水溶液 0.5 mL, 涡旋 1 min 溶解, 0.22 μ m 滤膜过滤即得。

2. 结果与讨论

2.1 灵敏度和专属性

1 ng/mL 加标样品和空白样品的 MRM 色谱图如图 1 所示, 空白样品无干扰, 各目标组分在该浓度下(方法要求定量限)信噪比均在 18.1 以上, 以 S/N=10 对应的浓度计算定量限, 均可满足标准要求。

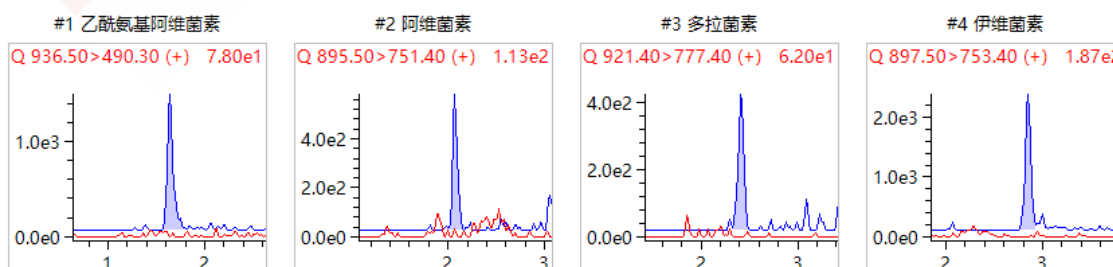


图 1. 1 ng/mL 加标样品 (蓝) 和空白样品 (红) MRM 色谱图

2.2 校准曲线

参照 GB 31658.16-2021 中“18.3 基质匹配标准曲线的制备”，制备浓度分别为 1、5、10、50、100、200 ng/mL 的基质加标溶液，外标法建立校准曲线如图 2 所示，线性方程、相关系数和准确度如表 3 所示。

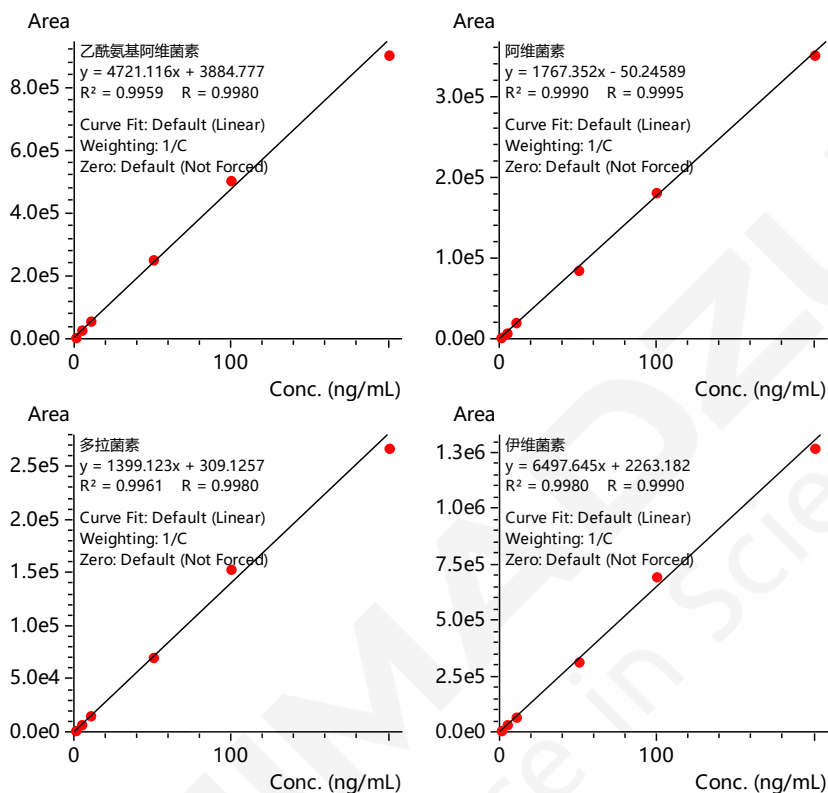


图 2. 校准曲线

表 3. 校准曲线信息

No.	化合物	线性范围 (ng/mL)	线性方程	相关系数 r	准确度 (%)
1	乙酰氨基阿维菌素	1~200	$Y=4721.1X + 3884.7$	0.9980	85.7~114.5
2	阿维菌素	1~200	$Y=1767.3X - 50.2$	0.9995	87.4~112.1
3	多拉菌素	1~200	$Y=1399.1X + 309.1$	0.9980	88.5~111.0
4	伊维菌素	1~200	$Y=6497.6X + 2263.1$	0.9990	93.6~109.5

2.3 残留考察

ULOQ 基质加标样品进样后，空白样品进样分析所得色谱图如图 3 所示，各目标组分保留时间处无明显色谱峰。

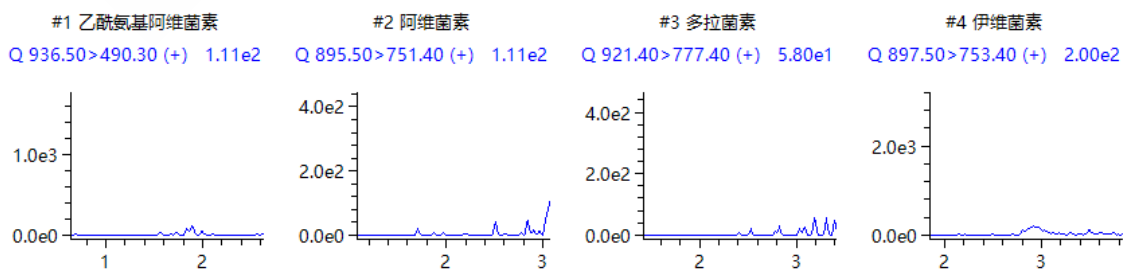


图 3. 残留考察

2.4 重复性考察

对浓度分别为 5 ng/mL 和 100 ng/mL 的基质加标样品分别连续分析 6 次，计算保留时间和峰面积的 RSD。结果见表 4，保留时间 RSD 均不高于 0.14%，峰面积 RSD 均不高于 7.10%。

表 4. 重复性考察

No.	目标物	浓度(ng/mL)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD (%)
1	乙酰氨基阿维菌素	5	0.07	5.08
		100	0.07	1.52
2	阿维菌素	5	0.14	4.75
		100	0.09	1.31
3	多拉菌素	5	0.14	7.10
		100	0.13	2.14
4	伊维菌素	5	0.11	2.81
		100	0.10	1.65

2.5 加标回收率

空白样品中加入浓度分别为 5 ng/mL 和 50 ng/mL 的混标，各浓度平行处理 2 份样品，进样分析后计算方法的回收率。结果如表 5 所示，不同浓度加标回收率分别在 73.2%~92.1%和 78.9%~93.2%之间，满足标准关于回收率在 60~120%之间的要求。

表 5. 加标回收率

No.	目标物	样品检测浓度 (ng/mL)	加标浓度 (ng/mL)	加标后检测浓度 (ng/mL)	加标回收率 (%)
1	乙酰氨基阿维菌素	N.D.	5	4.18	83.6
			50	44.1	88.2
2	阿维菌素	N.D.	5	3.85	77.1
			50	39.5	78.9
3	多拉菌素	N.D.	5	3.66	73.2
			50	39.6	79.1
4	伊维菌素	N.D.	5	4.61	92.1
			50	46.6	93.2

注：N.D.表示未检出

3 结论

本文参照 GB 31658.16-2021《食品安全国家标准 动物性食品中阿维菌素类药物残留量的测定 高效液相色谱法和液相色谱-串联质谱法》，建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045 测定猪肉中阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素和乙酰氨基阿维菌素含量的方法。均质后的样品以乙腈提取，C18 固相萃取柱净化后，以 LC-MS/MS 检测，外标法定量。结果表明：该方法灵敏度高，重复性好，校准曲线线性良好，适合用作检测猪肉中的阿维菌素类药物含量。

LCMS-8045 测定牛奶中氮氨基菲啶残留量

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-8045 联用测定牛奶中氮氨基菲啶残留量的方法。结果表明: 该方法在 4 min 内完成对氮氨基菲啶的检测。氮氨基菲啶在 20 ng/mL ~1000 ng/mL 浓度范围内线性良好, 校准曲线线性相关系数 r 在 0.999 以上, 且精密度和回收率实验结果良好。此方法灵敏度高, 分析时间短, 结果准确, 且操作简单, 可用于牛奶中氮氨基菲啶残留量的快速检测。

关键词: 三重四极杆质谱 牛奶 氮氨基菲啶

氮氨基菲啶(isometamidium, ISM)是目前国内外应用最广泛的治疗锥虫感染的药物之一。由于氮氨基菲啶可有效抑制锥虫细胞内的 RNA 和 DNA 聚合酶活性, 干扰锥虫核酸的合成, 常被用于牛羊等动物寄生虫病的预防和治疗。在养殖过程中, 由于对治疗用量、使用次数和休药期认识不足或忽视, 容易导致氮氨基菲啶药物在动物可食性下游产品中残留, 进而随着食物链进入人体, 对公众的健康造成潜在威胁。近年来, 食品安全问题引起了全社会的广泛关注, 而兽药残留问题是影响动物源食品安全的主要因素之一。我国《GB 31650—2019 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》规定: 牛肉和牛奶中氮氨基菲啶的最大残留限量值为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

目前, 国内外关于氮氨基菲啶残留检测的报道较少, 主要测定方法有高效液相色谱法(HPLC)和高效液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)等。其中, LC-MS/MS 法具有很高的选择性和灵敏度, 适合于复杂基体中的痕量物质分析, 且准确度高。本文参照国家标准检测方法 GB 31660.8-2019《食品安全国家标准 牛可食性组织及牛奶中氮氨基菲啶残留量的测定》, 采用乙腈和甲酸铵-甲醇溶液提取, 正己烷脱脂, 使用岛津超高效液相色谱与 LCMS-8045 质谱仪联用系统对牛奶中氮氨基菲啶残留量进行测定。该方法灵敏度高, 分析时间短, 结果准确, 可用于牛奶中氮氨基菲啶残留量的快速测定。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验使用超高效液相色谱仪 LC-30A 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:	CBM-20A	脱气机:	DGU-20A _{5R}
输液泵:	LC-30AD×2	自动进样器:	SIL-30AC
柱温箱:	CTO-20AC	检测器:	LCMS-8045
色谱工作站:	LabSolutions Ver. 5.99		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱:	SHIMADZU Shim-pack GISS-HP C18 (50 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm) (P/N: 227-30048-01)
流动相:	A 相-0.1%甲酸水溶液; B 相-0.1%甲酸乙腈溶液
流速:	0.50 mL/min
进样体积:	1 μL
洗脱方式:	梯度洗脱, 初始浓度为 B 相 20%, 时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
3.00	Pumps	Pump B Conc.	90
3.50	Pumps	Pump B Conc.	90
3.60	Pumps	Pump B Conc.	20
4.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式	: ESI+	接口温度	: 300 °C
接口电压	: 4.0 kV	加热气	: 空气 10 L/min
雾化气流速	: 氮气 3.0 L/min	干燥气流速	: 氮气 10 L/min
加热模块温度	: 400 °C	碰撞气	: 氦气
脱溶剂管温度	: 250 °C	扫描模式	: 多反应监测(MRM)
MRM 参数	: 见表2	驻留时间	: 100 ms

表 2. MRM 参数

化合物名称	CAS No.	监测离子对	Q1 pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
氮氨菲啶	4174-69-0	460.2>298.1*	-34	-54	-22
		460.2>313.1	-34	-45	-24

注: *表示定量离子对

1.3 样品前处理方法

参考 GB 31660.8-2019《食品安全国家标准 牛可食性组织及牛奶中氮氨菲啶残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》。

1.4 基质标准溶液的配制

精密量取 10 µg/mL 氮氨菲啶标准工作溶液适量, 于经提取蒸干后的空白牛奶样品残余物中, 用适量 80%甲醇溶液溶解并稀释至 2.0 mL, 使氮氨菲啶浓度为 20、50、100、250、500、1000 ng/mL, 滤过, 制成系列基质匹配标准工作溶液, 供液相色谱-串联质谱仪测定。以定量离子峰面积为纵坐标, 对应的标准溶液浓度为横坐标, 绘制标准曲线。

2 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

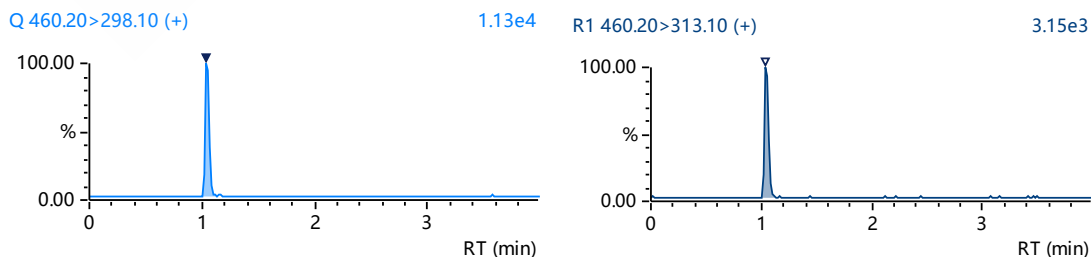


图 1. 氮氨菲啶基质匹配标准样品的 MRM 色谱图(20 ng/mL)

2.2 线性范围与检出限

将不同浓度的氮氨基喹啉基质匹配标准工作液，按 1.2 中的分析条件进行测定，使用外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示。所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。

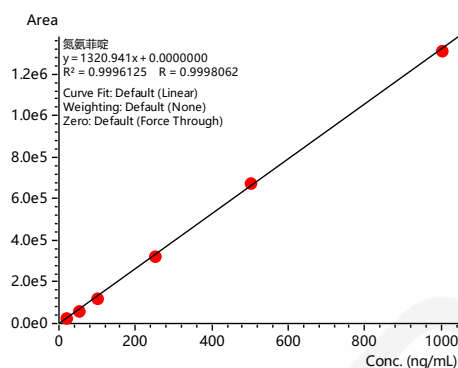


图 2. 氮氨基喹啉校准曲线

表 3. 标准曲线与检出限信息

化合物	校准曲线	r	线性范围 (ng/mL)	准确度	定量限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
氮氨基喹啉	$Y = (1320.94)X$	0.9998	20~1000	90.2-102.5%	8	2.5

2.3 精密度实验

对 50 ng/mL、100 ng/mL 和 200 ng/mL 不同浓度的氮氨基喹啉基质标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：不同浓度样品中氮氨基喹啉保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.24%~0.39%和 0.80%~1.03%之间，仪器精密度良好。

表 4. 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

Conc.(ng/mL)	RSD% (R.T.)	RSD%(Area)
50	0.37	0.80
100	0.24	1.03
200	0.39	0.92

2.4 回收率实验

称取空白牛奶样品，加入少量氮氨基喹啉标准溶液，使加标浓度分别为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。按照 1.3 样品前处理方法提取净化后，测定氮氨基喹啉的加标回收率。空白牛奶样品 MRM 色谱图如 3 所示，10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标样品 MRM 色谱图如 4 所示，加标回收率结果见表 5。由结果可知，该方法灵敏度高，准确率高，可以满足国家标准检测方法 GB 31660.8—2019《食品安全国家标准 牛可食性组织及牛奶中氮氨基喹啉残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》检测要求。

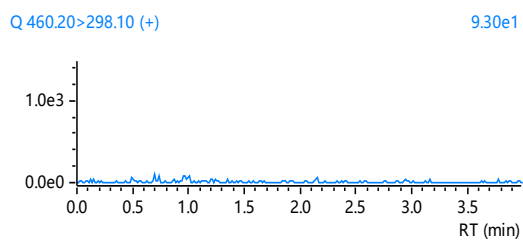


图 3. 空白牛奶样品 MRM 图谱

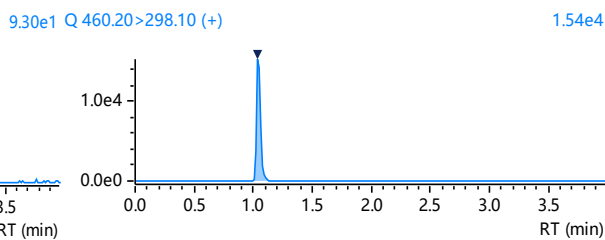


图 4. 氮氨菲啶的加标样品 MRM 图谱(10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

表 5. 氮氨菲啶的加标回收率结果(n=3)

名称	加标水平($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率%
氮氨菲啶	10	103.4
	40	91.4
	80	88.2

3 结论

采用 LC-MS/MS 法测定牛奶中氮氨菲啶残留量, 具有定性定量结果准确、灵敏度高的优点, 在食品安全检测领域得到了越来越多的应用。本研究建立了一种使用岛津超高效液相色谱 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定牛奶中氮氨菲啶残留量的方法。该方法使用 Shim-pack GISS C18 色谱柱, 在 4min 内完成对氮氨菲啶的检测。氮氨菲啶在 20 ng/mL~1000 ng/mL 浓度范围内线性良好, 校准曲线线性相关系数 r 在 0.999 以上, 且精密度和回收率实验结果良好。该方法灵敏度高, 分析时间短, 结果准确, 且操作简单, 可用于牛奶中氮氨菲啶的快速分析。

LCMSMS 测定鱼肉中的氯硝柳胺含量

摘要：本文参照《GB 31656.7-2021 食品安全国家标准 水产品中氯硝柳胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，使用岛津三重四极杆液质联用仪，建立了鱼肉中氯硝柳胺的分析方法。鱼肉样品按照标准规定前处理步骤提取和净化后，进样分析。结果表明：氯硝柳胺在样品中的定量限低于 0.05 ng/mL，满足标准要求；处理后的空白样品中加入系列浓度氯硝柳胺，在 0.5-20 ng/mL 的线性范围内，外标法各校准点浓度准确度分别在 90.2-112.3%之间，R 为 0.9979；残留考察结果表明 ULOQ 加标样品进样后无明显系统残留；空白样品添加不同浓度氯硝柳胺后进行处理，回收率在 80.1~83.4%，满足标准要求。该方法灵敏度和准确度高，适合鱼肉中的氯硝柳胺检测。

关键词：LCMSMS 鱼肉 氯硝柳胺

氯硝柳胺是一种人工合成的高效灭绦虫药，也可用作杀鳃剂和灭螺剂，为水杨酰胺类衍生物。氯硝柳胺在水产行业主要用来防治血吸虫，其在鱼肉中存在富集风险，且可能通过食物链富集从而影响食用者的身体健康。

本文参照《GB 31656.7-2021 食品安全国家标准 水产品中氯硝柳胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，使用岛津三重四极杆液质联用仪，建立了鱼肉中氯硝柳胺的分析方法。该方法灵敏度和准确度高，适合鱼肉中氯硝柳胺残留量的检测。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40B X3 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：	CBM-40	自动进样器：	SIL-40C X3
输液泵：	LC-40B X3	质谱仪：	LCMS-8045
柱温箱：	CTO-40S	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.99 SP2

1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱	: Shim-pack VP-ODS, 150 mm×2.0 mm I.D., 5 μm (岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 228-34937-94)
流动相	: A-水; B-乙腈
流速	: 0.30 mL/min
柱温	: 35 °C
进样量	: 5 μL
洗脱方式	: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 50%

表 1. 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	50
2.50	Pumps	Pump B Conc.	90
7.00	Pumps	Pump B Conc.	90
7.10	Pumps	Pump B Conc.	50
10.00	Controller	Stop	

质谱条件:

分析仪器	: LCMS-8045	加热模块温度	: 300°C
离子源	: ESI-	DL 温度	: 250°C
雾化气流速	: 3.0 L/min	离子源温度	: 400°C
加热气流速	: 10.0 L/min	扫描模式	: 多反应监测(MRM)
干燥气流速	: 10.0 L/min	MRM 参数	: 见表 2

表 2. MRM 参数

序号	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE	Q3 Pre Bias (V)
1	氯硝柳胺	324.90	288.90*	22.0	17.0	30.0
			170.95	16.0	28.0	18.0

*定量离子对

1.3 样品前处理

参照《食品安全国家标准 水产品中氯硝柳胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》（报批稿）中“7.1 提取”和“7.2 净化”部分，过程如图 1 所示。



图 1. 前处理过程

2 结果讨论

2.1 专属性和灵敏度

空白样品和空白加标 0.05 ng/mL 样品(方法定量限浓度的 1/10)的 MRM 色谱图如图 2 所示, 空白样品无干扰。

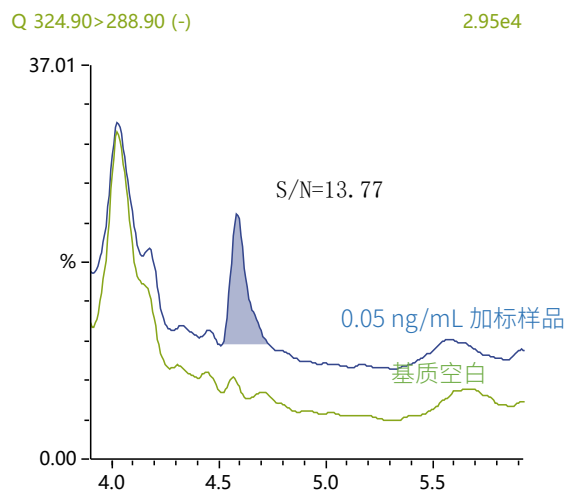


图 2. 空白样品和 0.05 ng/mL 加标样品 MRM 色谱图

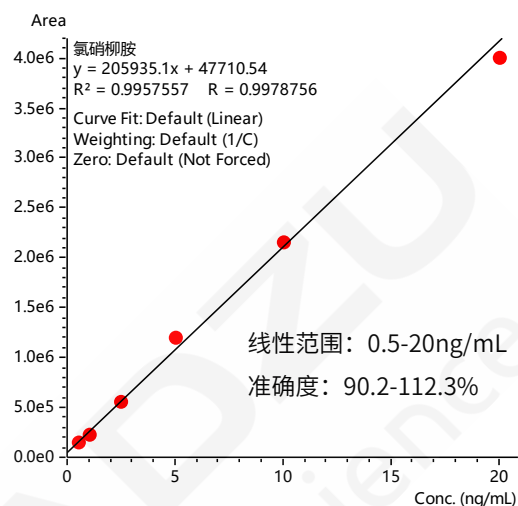


图 3. 校准曲线

2.2 校准曲线

处理后的空白样品中添加氯硝柳胺, 得浓度分别为 0.5、1、2.5、5、10、20 ng/mL 的基质匹配标准溶液, 外标法建立校准曲线如图 3 所示。

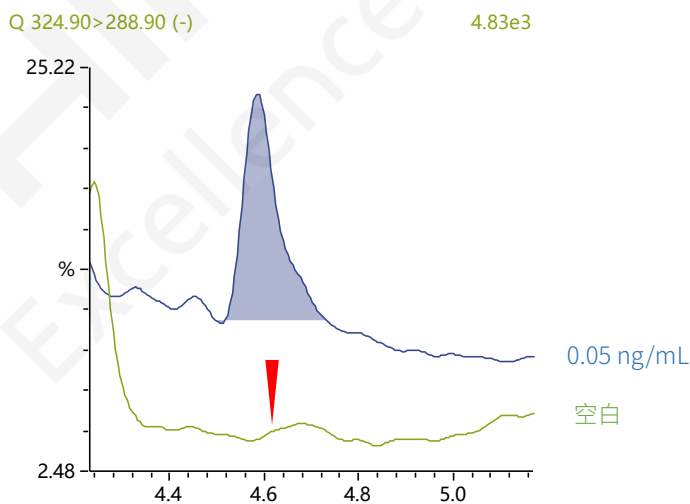


图 4. 残留考察

2.3 残留考察

ULOQ 加标样品进样后, 空白样品进样分析所得色谱图如图 4 所示 (黄线), 氯硝柳胺保留时间处无明显色谱峰。

2.4 重复性考察

对不同浓度的基质加标样品分别连续分析 6 次，计算保留时间和峰面积的 RSD. 结果见表 3，保留时间 RSD 均不高于 0.26%，峰面积 RSD 均不高于 2.02%。

表 3. 保留时间和面积 RSD (n=6)

名称	进样浓度(ng/mL)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD (%)
基质加标样品	0.5	0.26	2.02
	2.5	0.12	0.65
	500	0.10	0.37

2.5 回收率考察

空白样品中添加不同浓度的氯硝柳胺后进行前处理，上机测定，考察回收率。两浓度加标样品回收率分别为 80.1%和 83.4%，符合标准中关于回收率在 70~110%的要求。

表 4. 回收率

No.	样品名称	检测值	加标浓度 (ng/mL)	加标测定值 (ng/mL)	回收率 (%)
1	鱼肉	N.D.	-	-	-
2	鱼肉加标 1	-	0.8	0.65	80.1
3	鱼肉加标 2	-	10	8.34	83.4

注：N.D.代表未检出

3 结论

本文参照《GB 31656.7-2021 食品安全国家标准 水产品中氯硝柳胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，使用岛津三重四极杆液质联用仪，建立了鱼肉中氯硝柳胺的分析方法。该方法灵敏度和准确度高，满足标准要求，适合鱼肉中的氯硝柳胺检测。

LC-MS/MS 测定牛肉中抗虫药氨丙啉残留量

摘要：本文建立了使用岛津三重四极杆液质联用系统测定牛肉中抗虫药氨丙啉残留量的方法。氨丙啉在优化后的色谱及质谱条件下，采用正离子模式进行电离，通过多反应监测(MRM)模式进行测定。结果表明：使用外标法定量，氨丙啉在 5 ng/mL~1000 ng/mL 浓度范围内峰面积与其质量浓度线性关系良好，所得校准曲线线性相关系数在 0.999 以上，各校准点准确度在 87.8%~116.2%之间，且精密度和回收率实验结果良好。

关键词：牛肉 抗虫药 氨丙啉 三重四极杆质谱

氨丙啉(Amprolium)，别名“安保安”，是一种抗寄生虫药，主要用于预防和治疗球虫病。氨丙啉的化学结构与硫胺类似，可竞争性抑制球虫对硫胺的摄取，阻碍虫体细胞内的糖代谢过程，进而抑制了球虫的生长发育。由于氨丙啉具有高效、安全，不易引起球虫耐药性的特点，长期以来被世界各国广泛应用于鸡、兔、犊牛、羔羊等球虫病的防治。氨丙啉虽然毒性较低，但长期高浓度使用容易造成药物在肉及蛋类产品中残留，对人体健康造成潜在危害。我国食品安全标准《GB 31650-2019 食品中兽药最大残留限量》中明确规定氨丙啉在牛肌肉、牛肝和牛肾中的最大残留限量为 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

当前，对于动物组织中氨丙啉残留量的分析方法多用高效液相色谱法和高效液相色谱-质谱法。采用高效液相色谱分析时，由于氨丙啉极性较强，出峰时间较短，很难排除样品中基质的干扰。高效液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法由于具有灵敏度高、特异性强和结果准确性好的特点，已成为食品类复杂基质中痕量物质分析的主要方法。本文基于岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用技术，建立了测定牛肉中氨丙啉残留量的方法。该方法样品前处理过程简单，且准确度高，可用于牛肉中氨丙啉残留量的快速测定，供相关从业人员参考使用。

1 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A _{5R}
输液泵：	LC-30AD×2	自动进样器：	SIL-30AC
柱温箱：	CTO-20AC	检测器：	LCMS-8045
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.99		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：	InertSustain AQ-C18 (150 mm×2.1 mm I.D., 3 μm , Shimadzu SGLC P/N: 5020-89924)		
流动相：	A相-0.1%甲酸水溶液；	B相-甲醇	
流速：	0.3 mL/min		
进样体积：	2 μL		
柱温：	30°C		

洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为10%，时间程序见表1。

表 1. 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
3.50	Pumps	Pump B Conc.	10
4.50	Pumps	Pump B Conc.	90
5.50	Pumps	Pump B Conc.	90
6.50	Pumps	Pump B Conc.	10
10.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式	: ESI+	接口温度	: 350°C
接口电压	: 4.0 kV	D L 温度	: 250°C
雾化气流速	: 氮气 3.0 L/min	加热块温度	: 400°C
加热气流速	: 空气 10 L/min	驻留时间	: 200 ms
干燥气流速	: 氮气 10 L/min	扫描模式	: 多反应监测(MRM)
碰撞气	: 氩气 270 kPa	M R M 参数	: 见表2

表 2. MRM 参数

化合物	英文名称	CAS No.	监测离子对	Q1 pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
氨丙啉	Amprolium	137-88-2	243.1>150.1*	-26.0	-15.0	-30.0
			243.1>93.9	-26.0	-15.0	-20.0

注：*表示定量离子对

1.3 样品前处理方法

参照《GB 31613.1-2021 牛可食性组织中氨丙啉残留量的测定 液相色谱-串联质谱法和高效液相色谱法》第一法。

1.4 基质校准曲线的制备

取空白试样 2 g (准确至±0.02 g) 于 50 mL 离心管，按 1.3 样品前处理方法操作后，加入不同浓度的标准工作溶液，制成氨丙啉浓度为分别 5、20、50、200、500、1000 µg/L 的系列基质匹配标准溶液，供液相色谱-串联质谱仪测定。以定量特征离子质量色谱峰面积为纵坐标，基质匹配标准溶液浓度为横坐标，绘制校准曲线。

2 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

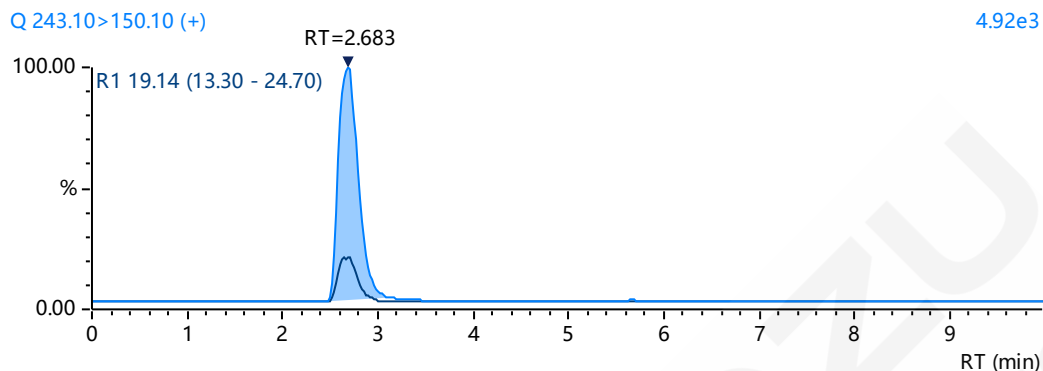


图 1. 氨丙啉(20 $\mu\text{g/L}$)的 MRM 图谱

2.2 线性范围与检出限

将 5、20、50、200、500、1000 $\mu\text{g/L}$ 不同浓度的氨丙啉基质匹配标准工作液，按照 1.2 中的分析条件进行测定，使用外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示。所得校准曲线线性回归方程为 $Y = 4387.23X - 8481.62$ ，且线性关系良好（R 值大于 0.999），各校准点准确度在 87.8% ~ 116.2%之间。以信噪比（ $S/N=3$ ）计算检出限，所得氨丙啉检出限值为 1.6 $\mu\text{g/L}$ 。

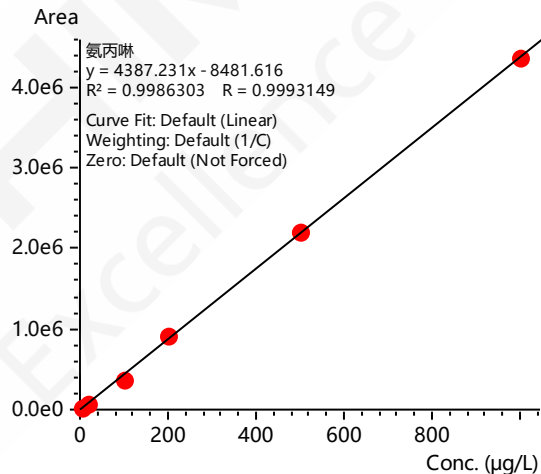


图 2. 氨丙啉的校准曲线

2.3 精密度实验

对不同浓度的氨丙啉基质标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：不同浓度样品溶液中氨丙啉的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.22% ~ 0.47%和 0.67% ~ 1.51%之间，显示仪器精密度良好。

表 4. 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

化合物	Conc.($\mu\text{g/L}$)	RSD% (R.T.)	RSD%(Area)
氨丙啉	20	0.22	1.51
	50	0.47	0.79
	200	0.26	0.67

2.4 加标回收率实验

准确称取 2 g (准确至 ± 0.02 g) 空白试样, 加入少量氨丙啉的标准储备溶液, 使得氨丙啉的加标浓度分别为 250 $\mu\text{g/kg}$ 、500 $\mu\text{g/kg}$ 和 750 $\mu\text{g/kg}$ 。加标样品经过 1.3 样品前处理操作后, 测得氨丙啉的加标回收率在 70% ~ 110%之间, 加标回收率结果见表 5。

表 5. 氨丙啉的加标回收率结果(n=3)

化合物	加标水平($\mu\text{g/kg}$)	平均回收率(%)
氨丙啉	250	82.3
	500	100.8
	750	99.7

3 结论

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-8045 联用测定牛肉中杀虫药氨丙啉残留量的方法。使用外标法定量, 氨丙啉在 5 $\mu\text{g/L}$ ~1000 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内峰面积与其质量浓度线性关系良好, 所得校准曲线线性相关系数在 0.999 以上, 各校准点准确度在 87.8% ~ 116.2%之间, 且精密度和回收率实验结果良好。方法学结果表明, 本方法操作简便, 且准确度高, 能够满足现行兽药残留分析的要求。

LC-MS/MS 法测定鸡肉中氯苯胍残留量

摘要: 本文使用岛津三重四极杆液质联用系统建立了一种测定鸡肉中氯苯胍残留量的方法。该方法可在 7 min 快速完成样品的分析检测, 氯苯胍在 5~500 ng/mL 浓度范围内均具有较好的线性关系, 线性相关系数大于 0.996, 各校准点准确度为 89.9~111.2%, 所有组分保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.066~0.083%和 0.717~1.314%之间, 加标回收率在 85.4%~91.0%之间。氯苯胍残留物的 LOD 为 0.02 ng/mL, LOQ 为 0.07 ng/mL。该方法操作简捷、灵敏度高、分析速度快, 满足动物性食品中氯苯胍残留物的定性定量分析。

关键词: 三重四极杆串联质谱 鸡肉 氯苯胍

氯苯胍 (Robenidine) 是一种人工合成的抗球虫药, 分子式为 $C_{15}H_{14}ClN_5$, 属胍基衍生物, 临床上主要使用的是其盐酸盐—盐酸氯苯胍 (Robenidine hydrochloride)。盐酸氯苯胍能有效抑制球虫病和促进畜禽生长, 且毒性小, 具有促进营养吸收的作用, 被广泛用于治疗和预防畜禽球虫病及弓形虫病。目前, 中国允许盐酸氯苯胍在动物饲料中添加使用, 要求休药期 5~7 天, 产蛋禽禁用。然而, 部分养殖户不遵守规定, 长期滥用药、误用药, 导致寄生虫产生了较严重的耐药性, 使其疗效大受影响。并且, 若长期食用含药物残留的动物源性食品, 还会危害人类的身体健康。

中国农业农村部第 235 号公告, 明确规定了氯苯胍的最大残留限量: 鸡脂肪和皮为 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 可食组织为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。而欧盟对鸡、火鸡和兔子中氯苯胍的最大残留限量要求更为严格: 肝脏、肾脏、脂肪和皮为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 禽蛋为 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 其他可食组织为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。因此, 为保障畜禽产品的质量和资源环境的可持续发展, 有必要对动物源性食品中氯苯胍及其代谢物的残留进行严格监管。

本文参考食品安全国家标准 GB 31658.13-2021《动物性食品中氯苯胍残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》, 以为动物源食品中氯苯胍类药物残留的风险评估提供参考。

1 实验部分

1.1 仪器

使用岛津超高效液相色谱-三重四极杆液质联用仪, 具体配置为:

输 液 泵	: LC-30AD×2	系 统 控 制 器	: CBM-20A
脱 气 机	: DGU-20A _{SR}	检 测 器	: LCMS-8050 三重四极杆质谱仪
自 动 进 样 器	: SIL-30AC	色 谱 工 作 站	: LabSolutions Ver. 5.99
柱 温 箱	: CTO-20A		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱	: Shim-pack GIST-HP C18-AQ 2.1 mm I.D.×100 mm L., 1.9 μm , (P/N: 227-30807-02, 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	进 样 体 积	: 5 μL
流 速	: 0.3 mL/min		
柱 温	: 30°C		

洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为20%，时间程序见表1。

表1. 时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	20
5.00	Pumps	Pump B Conc.	80
6.00	Pumps	Pump B Conc.	80
6.10	Pumps	Pump B Conc.	20
7.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源	: ESI (+)	接口温度	: 300 °C
接口电压	: +3.0 kV	D L 温度	: 250 °C
雾化气	: 氮气 3.0 L/min	加热块温度	: 400 °C
干燥气	: 氮气 10.0 L/min	扫描模式	: MRM
加热气	: 空气 10.0 L/min	MRM 参数	: 见表2

表2. MRM 优化参数

中文名	英文名	CAS. No.	离子对	Q1 Pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
氯苯胍	Robenidine	25875-50-7	334.2>110.8*	-17.0	-44.0	-18.0
	hydrochloride		334.2>137.8	-17.0	-24.0	-14.0
氯苯胍-D ₈	Robenidine-D ₈	1173097-77-2	342.0>115.0*	-13.0	-45.0	-12.0
	hydrochloride		342.0>142.0	-26.0	-25.0	-29.0

注：*表示定量离子

1.3 标准品与材料

氯苯胍和氯苯胍-D₈标准品：购于上海安谱，于-20°C冰箱保存，备用；

HLB 固相萃取柱：200 mg/6 mL，购于岛津（上海）实验器材有限公司，P/N: 380-00855-10；

中性氧化铝固相萃取柱：500 mg/3 mL，购于岛津（上海）实验器材有限公司，P/N: 380-00865-02。

1.4 标准品配制

氯苯胍标准储备液：称取标准品适量，用甲醇溶解稀释成 100 µg/mL，-18°C以下保存，有效期 6 个月；

氯苯胍标准工作液：将氯苯胍标准储备液用甲醇溶解稀释成 10 µg/mL，2~8°C保存，有效期 3 个月；

氯苯胍-D₈内标储备液：称取标准品适量，用甲醇溶解稀释成 100 µg/mL，-18°C以下保存，有效期 6 个月；

氯苯胍-D₈内标中间溶液：将氯苯胍-D₈内标储备液用甲醇溶解稀释成 10 µg/mL，2~8°C保存，有效期 1 个月；

氯苯胍-D₈内标工作溶液：将氯苯胍-D₈内标中间溶液用甲醇溶解稀释成 1 µg/mL，现用现配；

标准溶液：精密量取氯苯胍标准工作溶液、氯苯胍-D₈内标工作溶液适量，用 50%乙腈甲酸水溶液稀释，配制成氯苯胍浓度为 5、10、20、50、100、200、500 ng/mL 和氯苯胍-D₈内标均为 100 ng/mL 的系列标准溶液，供液相色谱-串联质谱测定。

1.5 样品前处理

1.5.1 提取

取试料 2 g (准确至±0.02 g)，于 50 mL 离心管，准确加入氯苯胍-D₈内标工作液 100 μL，加 0.1%甲酸乙腈溶液 5 mL，涡旋混匀，中速振荡 10 min，8000 r/min 离心 10 min，取上清液，再加水 1 mL，混匀，作为备用液 1。

1.5.2 净化

称取中性氧化铝固相萃取柱，用乙腈 2 mL 活化，取备用液 1 过柱，收集全部流出液于 10 mL 试管中，用 85%乙腈溶液 2 mL 淋洗，合并流出液，于 40 °C 氮气吹至体积小于 2 mL，再加水 8 mL，混匀，作为备用液 2。

取 HLB 固相萃取柱，依次用甲醇 3 mL、水 3 mL 活化，取备用液 2 过柱，用水 3 mL 淋洗，抽干 30 s，正己烷 3 mL 淋洗，抽干 10 min，甲醇 5 mL 洗脱，收集洗脱液，于 40 °C 氮气吹干，用 50%乙腈甲酸水溶液 1.0 mL 溶解残余物，涡旋，尼龙微孔滤膜过滤，供液相色谱-串联质谱测定。

2. 结果与讨论

2.1 标准溶液 MRM 色谱图

按照 1.2 分析条件，分析浓度为 5 ng/mL 的标准溶液，色谱图如图 1 所示。

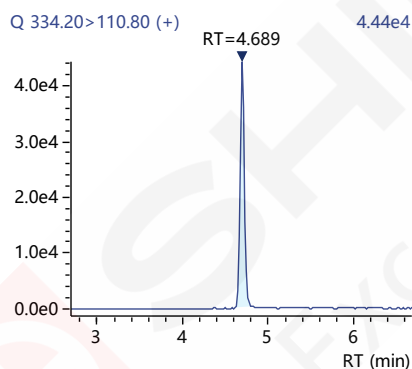


图 1. 氯苯胍标准溶液色谱图 (5 ng/mL)

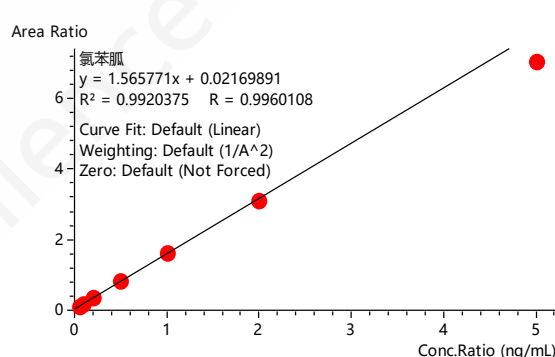


图 2. 氯苯胍校准曲线

2.2 线性范围和灵敏度

将不同浓度的标准系列溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，所有化合物均采用内标法定量，以标准系列溶液中目标组分与内标物的质量浓度 (ng/mL) 比值为横坐标，以其对应的峰面积与内标物峰面积的比值为纵坐标，绘制校准曲线。绘制校准曲线。结果如图 2 所示，氯苯胍在 5~500 ng/mL 浓度范围内，具有较好的线性关系，线性相关系数大于 0.996，具体结果见表 3。

表 3. 校准曲线参数

化合物	标准曲线	相关系数 r	准确度 (%)	线性范围 (ng/mL)	检出限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
氯苯胍	$Y = 1.56577X + 0.0216989$	0.996	89.9~111.2	5~500	0.02	0.07

2.3 精密度实验

将浓度分别为 5 ng/mL、50 ng/mL 和 500 ng/mL 的标准溶液参照分析条件连续进样 6 次，用于考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果见表 4。结果显示，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.066~0.083%和 0.717~1.314%之间，仪器精密度良好。

表 4. 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

化合物	RSD% (5 ng/mL)		RSD% (50 ng/mL)		RSD% (500 ng/mL)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
氯苯胍	0.077	1.314	0.066	0.717	0.083	0.982

2.4 样品测试和加标回收实验

按照 1.3 中样品前处理方法对某农贸市场购买的新鲜鸡肉样品进行处理，上机分析，鸡肉待测样品中未检测到氯苯胍残留。对空白样品进行加标回收实验，加标量为 5、25、250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，按照 1.2 分析条件进行测试，重复实验 3 次，计算平均回收率。空白溶液和基质前加标色谱图如下图 3 所示。计算结果显示，氯苯胍的平均回收率在 85.4%~91.0%之间，具体结果见表 5。

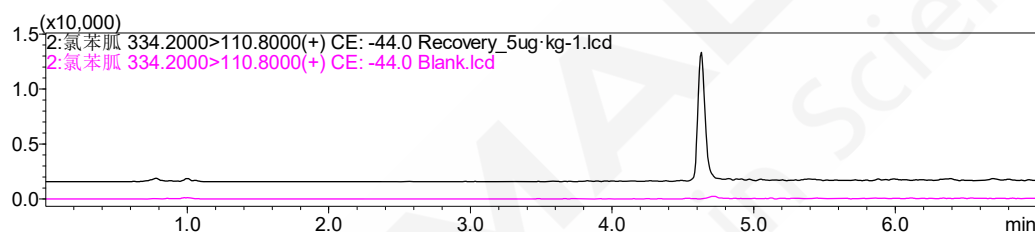


图 3. 空白溶液和基质前加标样品色谱图 (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

表 5. 回收率结果 (n=3)

化合物	某鸡肉样品 浓度 (mg/kg)	加标量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均加标回收率 (%)
氯苯胍	N.D.	5	91.0
		25	95.4
		250	85.4

注：N.D.代表未检出。

3 结论

本文参照食品安全国家标准 GB 31658.13-2021，采用岛津 LCMS-8050 三重四极杆液质联用仪建立了鸡肉中氯苯胍的定量分析方法。结果表明，氯苯胍在 5~500 ng/mL 浓度范围内均具有较好的线性关系，线性相关系数大于 0.996，准确度在 89.9~111.2%。选 5、50 和 500 ng/mL 三个浓度水平，连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差在 0.066~0.083%和 0.717~1.314%之间，系统精密度良好。同时考察了空白基质加标，回收率在 85.4%~91.0%之间。该方法准确可靠，灵敏度高，重现性强，满足食品安全国家标准 GB 31658.13-2021 的检测需求，可供相关分析人员参考。

LC-MS/MS 法分析鸡肉中抗球虫药二硝托胺及代谢物的残留量

摘要：采用岛津三重四极杆液质联用仪，建立了鸡肉中抗球虫药二硝托胺残留量的测定方法。样品经磷酸缓冲液提取，HLB 固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱法测定。结果显示该方法在 5~200 ng/mL 浓度范围内建立校准曲线，线性相关系数均大于 0.999，线性良好；10 ng/mL 二硝托胺及代谢物 3-ANOT 保留时间 RSD 均为 0.07%，峰面积 RSD 为 4.0%、3.0%；二硝托胺及代谢物 3-ANOT 的检出限分别为 1.6 µg/kg、4.8 µg/kg，定量限分别为 4.85 µg/kg、14.6 µg/kg，100 µg/kg 加标回收率分别为 65%、67%。该方法分析速度快，灵敏度高，适用于鸡肉中二硝托胺的残留量测定。

关键词：三重四极杆液质联用仪 二硝托胺 鸡肉 抗球虫药

技术特点：

- ❖ 二硝托胺及 3-ANOT 灵敏度高，检出限<5 µg/kg，优于 GB 31613.3-2021 标准要求。
- ❖ 岛津串联质谱正负极性切换速度快，适合同时正负同时采集。

二硝托胺 (Nitromid)，又称球痢灵，是一种既有预防又有治疗效果的抗球虫药物。对鸡多种艾美耳球虫有效，尤其对毒害艾美耳球虫和柔嫩艾美耳球虫作用较强。二硝托胺在肉鸡、蛋鸡、火鸡养殖中广泛使用，按照《GB-31650 2019 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》规定，二硝托胺及其代谢物在鸡肉、脂肪、肝脏、肾脏中残留限量分别是 3、2、6、6mg/kg。

目前，二硝托胺的检测方法以液相色谱-串联质谱法、液相色谱法为主。本文参考标准《GB 31613.3-2021 食品安全国家标准 鸡可食性组织中二硝托胺残留量的测定》建立了二硝托胺及其代谢物的液相色谱-串联质谱法测定方法。对回收率、基质效应等进行了研究，该方法快速、准确、灵敏度高，供相关行业参考。

1 实验部分

1.1 仪器配置

岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8045。具体配置为

输 液 泵	:LC-40D XR×2	系 统 控 制 器	:CBM-40
自 动 进 样 器	:SIL-40C XR	三 重 四 极 杆 质 谱 仪	:LCMS-8045
柱 温 箱	:CTO-40C	色 谱 工 作 站	:LabSolutions Ver. 5.113

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱	: Shim-pack GISS-HP (100 mm x 2.1 mm I.D., 3 µm)，岛津（上海）实验器材有限公司，P/N: 227-30084-02
流 动 相	: A 相-0.1%甲酸水溶液；B 相-乙腈
流 速	: 0.3 mL/min
柱 温	: 35°C
进 样 量	: 5 µL
洗 针 液	: 水/乙腈 (1: 1)

洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为20%，时间程序见表1。

表1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	20
2.50	Pumps	Pump B Conc.	80
3.10	Pumps	Pump B Conc.	20
5.00	Controller	Stop	

质谱条件

质谱仪：LCMS-8045	脱溶剂管温度：250°C
离子源：ESI+/(1.5kV)	加热模块温度：400°C
雾化气：氮气 3 L/min	接口温度：300°C
干燥气：氮气 10 L/min	扫描模式：MRM
加热气：空气 10 L/min	M R M 参数：见表2

表2. MRM 参数

序号	名称	CAS号	前体离子 (m/z)	产物离 (m/z)	CE (V)
1	二硝托胺	148-01-6	224.00	181.10*	24
				77.10	20
				150.8	10
2	3-ANOT	3572-44-9	196.00	107.20*	-17
				133.00	-19

* 定量离子对

1.3 样品前处理

准确称取样品 2.0 g，参考标准《GB 31613.3-2021 食品安全国家标准 鸡可食性组织中二硝托胺残留量的测定》进行前处理。

1.4 标准溶液制备

基质标准系列工作液的配制：取空白样品，按照前处理净化，分别准确加入混合标准中间工作液适量，配制成浓度为 5、10、25、50、100、200 ng/mL 的标准工作曲线，待上机分析。

2 结果与讨论

2.1 质谱条件优化

二硝托胺是硝基苯酰胺化合物，属于两性化合物，在正负模式均有电离，但负离子模式响应更高，因此选择 ESI-模式，连接色谱柱，扫描二级质谱图。如下图 1 所示，m/z 181.1 响应良好，作为定量离子，响应优于标准推荐的 m/z 77.0。3-ANOT 易受到背景离子干扰，连接色谱柱扫描，可准确获得碎片离子 m/z 107.05、m/z 133.10。

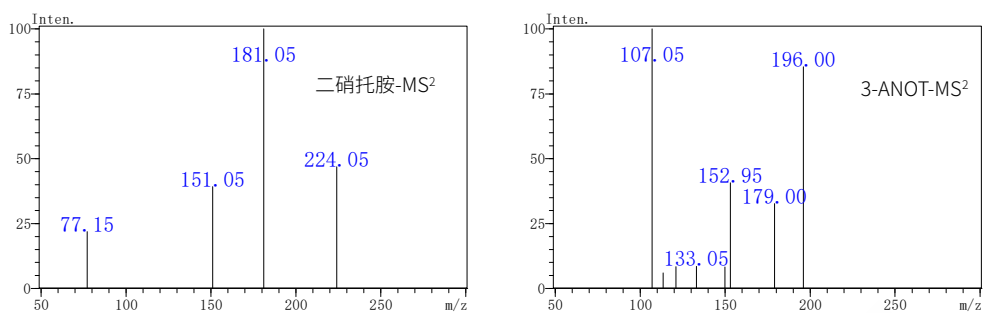


图 1. 二硝托胺、3-ANOT 二级质谱图(CE 分别为 15 eV 和-15 eV)

2.2 色谱条件优化

二硝托胺及代谢物色谱分离良好，通道干扰可分离，系统无残留。5 ng/mL 基质标如下图 2 所示。

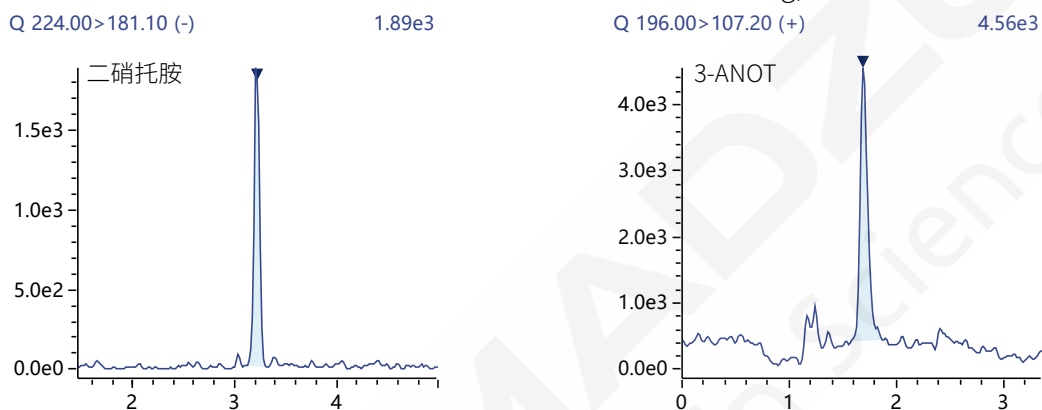


图 2. 5 ng/mL 基质加标的 MRM 色谱图

2.3 基质效应

基质中共流出组分影响离子化效率，对目标物测定产生一定影响，称为绝对基质效应。绝对基质效应 (ME) = 样品提取后添加/纯的标准溶液。当 ME 介于 80%~120%之间时，通常认为不存在明显的基质增强或基质抑制效应，当超出此范围时表明存在较强基质效应，须进行基质效应补偿。对比净化前后的基质效应，结果显示，净化后，二硝托胺基质效应得到明显的改善，如下表 3，可以采用溶液标定量。为了匹配标准的要求，本文采用基质匹配外标曲线法定量。

表 3. 基质效应

目标物	净化前	净化后
二硝托胺	18%	117%
3-ANOT	92%	96%

2.4 线性及灵敏度

按照 1.4 方法配制标准系列溶液，上机分析得出二硝托胺、3-ANOT 在鸡肉基质中线性范围和线性关系。结果表明，二硝托胺、3-ANOT 在 5~200 ng/mL 范围内，线性良好，相关系数 R 均 >0.999 ，准确度 90.8%~108.2% 之间。二硝托胺基质校准曲线见图 3。根据信噪比，计算其检出限 ($S/N=3$) 和定量限 ($S/N=10$)。

表 4. 二硝托胺基质校准曲线的线性关系

化合物	线性方程	相关系数 R	准确度 (%)	检出限 μg/kg	定量限 μg/kg
二硝托胺	$Y = (1589.49)X + (-1294.90)$	0.9994	95.9~106.1	4.8	14.6
3-ANOT	$Y = (3276.92)X + (2669.55)$	0.9992	90.8~108.2	1.6	4.85

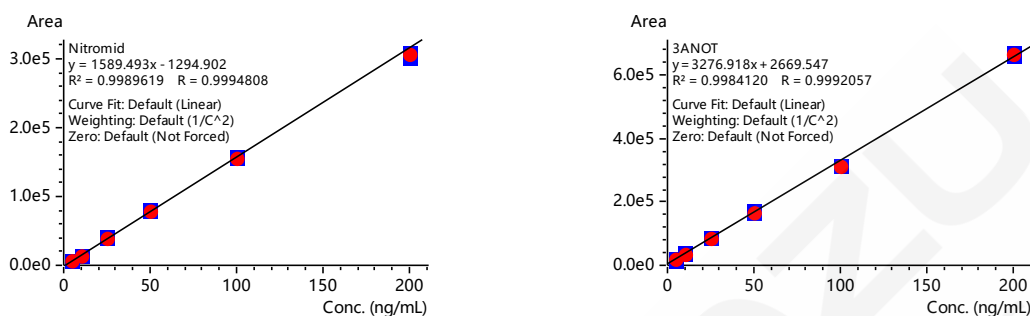


图 3. 二硝托胺、3-ANOT 基质校准曲线

2.5 精密度考察

取 10 ng/mL 的标准溶液，平行测定 6 次，计算保留时间和峰面积的 RSD。二硝托胺及代谢物 3-ANOT 保留时间 RSD 均为 0.07%，峰面积 RSD 为 4.0%、3.0%，仪器稳定性良好。

2.6 加标回收率

选择不含二硝托胺及代谢物的空白鸡肉，进行 100 μg/kg 浓度的加标回收试验，经计算，二硝托胺、3-ANOT 加标回收率在分别为 65%、67%，符合标准要求。

3 结论

本实验使用岛津LCMS-8045液质联用系统，开发了鸡肉中二硝托胺及代谢物残留量的检测方法。实验结果表明，在5~200 ng/mL浓度范围内建立基质匹配校准曲线，线性相关系数均大于0.999，线性良好；10 ng/mL二硝托胺及代谢物3-ANOT保留时间RSD均为0.07%，峰面积RSD为4.0%、3.0%；二硝托胺及代谢物3-ANOT的检出限分别为1.6 μg/kg、4.8 μg/kg，定量限分别为4.85、14.6 μg/kg，100 μg/kg加标回收率分别为 65%、67%，满足定量要求。

LC-MS/MS法测定动物性食品中左旋咪唑残留量

摘要: 本文建立了使用岛津三重四极杆液质联用技术测定动物性食品中左旋咪唑残留量的方法。采用外标法建立基质匹配校准曲线, 在 0.5~50 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性关系良好, 相关系数大于 0.999。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 0.26~0.58% 和 0.72~2.12% 之间, 仪器精密度良好。对空白样品进行了 1、5、10 $\mu\text{g/kg}$ 三个浓度水平的加标回收实验, 回收率在 79.7~92.7% 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左旋咪唑残留的准确定量检测。

关键词: 三重四极杆液质联用仪 动物性食品 左旋咪唑

技术特点:

- ❖ 左旋咪唑灵敏度远高于标准 GB 31658.21-2022 的要求。
- ❖ 分析速度快, 3.5 分钟完成分析, 优于标准方法。

左旋咪唑是一种常用的驱肠虫药物, 主要用于控制牛、羊、猪、鸡等动物胃肠道和肺脏中的线虫, 具有广谱、高效、性质稳定等优点; 同时又是一种免疫调节剂, 能提高细胞免疫功能, 增强机体抗感染的作用, 对某些急慢性病有良好的辅助治疗作用, 在我国畜牧养殖业中具有十分广泛的用途。如果不当使用, 容易造成在动物产品中的残留, 对处于食物链末端的人类的身体健康造成不良影响。

我国 GB 31650-2019 《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》中规定, 牛、羊、猪、家禽(泌乳期禁用、产蛋期禁用) 肌肉、脂肪、肾中左旋咪唑的最大残留限量为 10 $\mu\text{g/kg}$, 肝中为 100 $\mu\text{g/kg}$ 。因此, 为保障畜禽产品的质量安全和资源环境的可持续发展, 有必要对动物性食品中左旋咪唑的残留进行严格监管。

本文使用岛津三重四极杆液质联用仪, 参考 GB 31658.21-2022 《食品安全国家标准 动物性食品中左旋咪唑残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》中的方法, 建立了一种快速准确测定动物性食品中左旋咪唑的方法。

1 实验部分

1.1 仪器

岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050, 配置信息如下:

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A 5R
输液泵	: LC-30AD×2	柱温箱	: CTO-20AC
自动进样器	: SIL-30AC	质谱仪	: LCMS-8050
色谱工作站	: Labsolutions Ver. 5.109		

2 样品前处理



图 1. 样品前处理步骤图

3 结果与讨论

3.1 标准溶液谱图

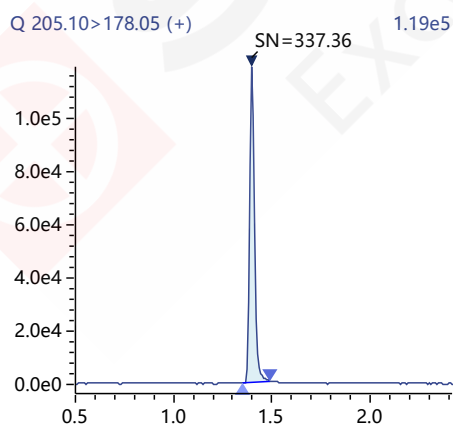


图 2. 猪肉基质匹配标准溶液 MRM 色谱图 (0.5 $\mu\text{g/L}$)

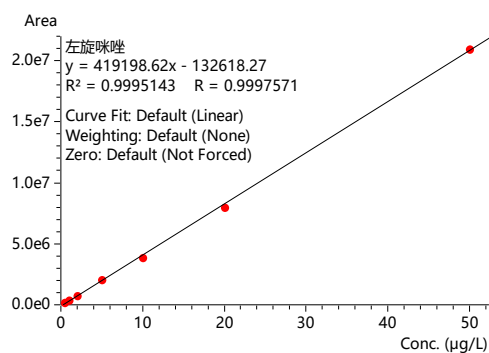


图 3. 校准曲线

3.2 校准曲线和灵敏度

分别配制0.5、1、2、5、10、20、50 $\mu\text{g/L}$ 的左旋咪唑猪肉基质匹配标准溶液，取1 μL 进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标做标准曲线，校准曲线如图3所示。根据0.5 $\mu\text{g/L}$ 基质标样数据，以3倍信噪比计算仪器检出限为0.0044 $\mu\text{g/L}$ ，10倍信噪比计算定量限为0.0148 $\mu\text{g/L}$ 。

3.3 重复性实验

取0.5、10和50 $\mu\text{g/L}$ 左旋咪唑猪肉基质匹配标准溶液，连续进样6次，考察仪器的重复性，测定结果见表3。

表 3. 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

化合物	RSD% (0.5 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (10 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (40 $\mu\text{g/L}$)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
左旋咪唑	0.58	2.12	0.43	1.73	0.26	0.72

3.4 加标回收率

将猪肉空白样品进行低、中、高三档浓度水平加标，按照上述前处理方法处理后上机，每个水平重复测定4次，平均回收率在79.7~92.7%之间，具体结果见表4。

表 4. 添加回收率结果 (n=4)

名称	低浓度 (1 $\mu\text{g/kg}$)		中浓度 (5 $\mu\text{g/kg}$)		高浓度 (10 $\mu\text{g/kg}$)	
	平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
左旋咪唑	92.7	7.10	85.7	2.00	79.7	6.16

4 结论

本文参考标准方法 GB 31658.21-2022《食品安全国家标准 动物性食品中左旋咪唑残留量的测定 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检测动物性食品中左旋咪唑残留量的方法。在0.5~50 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好，相关系数 r 在 0.999 以上。加标浓度为 1、5 和 10 $\mu\text{g/kg}$ 的样品，回收率在 79.7%~92.7%之间。该分析方法灵敏度高，重复性好，准确度高，稳定可靠。可供相关行业检测人员参考使用。

LC-MS/MS 测定牛肉中抗球虫药盐霉素残留量

摘要：使用岛津三重四极杆液质联用系统建立了测定牛肉中抗球虫药盐霉素残留量的方法。盐霉素在优化后的色谱及质谱条件下，采用正离子模式进行电离，通过多反应监测(MRM)模式进行测定。结果表明：使用外标法定量，盐霉素在 0.075 ng/mL~25 ng/mL 浓度范围内峰面积与其质量浓度线性关系良好，所得校准曲线线性相关系数在 0.999 以上，各校准点准确度在 97.6%~104.1%之间，且精密度和回收率实验结果良好。

关键词：牛肉 抗球虫药 盐霉素 三重四极杆质谱

技术特点：

- ❖ 样品前处理操作简单，适合高通量分析。
- ❖ 盐霉素分析干扰小、灵敏度高，盐霉素检出限值为 0.025 μg/L，优于标准要求。

盐霉素(salinomycin)属于聚醚类一元羧酸，由白色链霉菌发酵产生，具有特殊的环状结构，是典型的离子载体抗生素，它对细胞中的阳离子有较强的亲和力，通过影响细胞内外离子的传递从而起到杀菌的作用，常用于防治畜禽的球虫病。近年来，一些畜牧业主为了追求高效益而大量使用抗生素，甚至在休药期还滥用抗生素，非法使用违禁药物导致食品中抗生素残留超标的现象越来越多，严重影响了自然环境和人类身体健康。我国食品安全标准《GB 31650-2019 食品中兽药最大残留限量》中明确规定盐霉素在鸡肉中的最大残留限量为 600 μg/kg。

当前，对于动物组织中盐霉素残留量的分析方法多为高效液相色谱柱后衍生化法、柱前衍生化法、液相色谱-质谱法、微生物法和分光光度法等。食品安全检测工作正面临样品基质复杂，样本数量大和检出限要求低等诸多挑战。高效液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法由于具有灵敏度高、特异性强和结果准确性好的特点，已成为食品中痕量物质分析的主要方法。本文基于岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用技术，建立了测定牛肉中盐霉素残留量的方法。该方法样品前处理过程简单、快速，且准确度高，可用于牛肉中盐霉素残留量的快速测定，供相关从业人员参考使用。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A _{5R}
输液泵：	LC-30AD×2	自动进样器：	SIL-30AC
柱温箱：	CTO-20AC	检测器：	LCMS-8045
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.113		

2 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

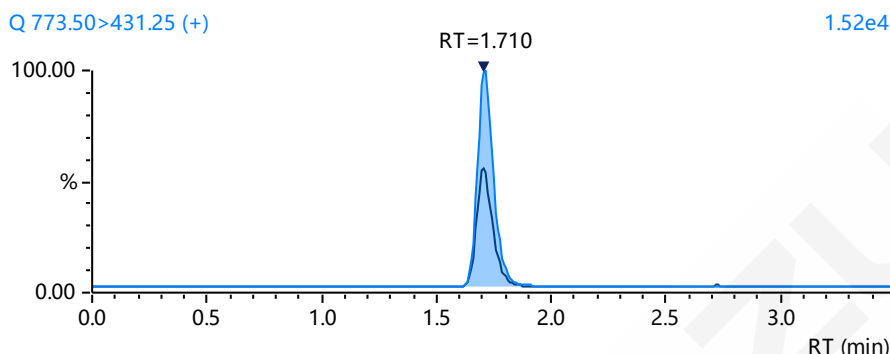


图 1. 盐霉素(1.0 µg/L)的 MRM 图谱

2.2 线性范围与检出限

将 0.075、0.25、1.0、2.5、10 和 25 µg/L 不同浓度的盐霉素基质匹配标准工作液，按照 1.2 中的分析条件进行测定，使用外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示。所得校准曲线线性回归方程为 $Y = 70073.8X + 446.4$ ，且线性关系良好（R 值大于 0.999），各校准点准确度在 97.6% ~ 104.1% 之间。以信噪比（S/N=3）计算检出限，所得盐霉素检出限值为 0.025 µg/L。

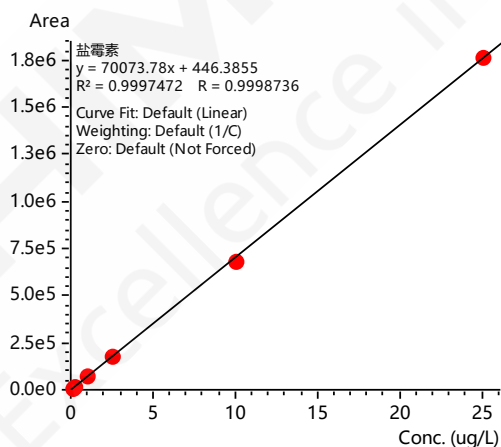


图 2. 盐霉素的校准曲线

2.3 精密度实验

对不同浓度的盐霉素基质标准工作溶液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 2 所示。结果显示：不同浓度样品溶液中盐霉素的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.04% ~ 0.16% 和 1.02% ~ 3.29% 之间，显示仪器精密度良好。

表 2. 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

化合物	Conc.(µg/L)	RSD% (R.T.)	RSD%(Area)
盐霉素	0.25	0.16	3.29
	1.0	0.04	1.43
	2.5	0.06	1.02

2.4 加标回收率实验

准确称取 5 g (准确至±0.02 g) 空白试样, 加入少量盐霉素的标准储备溶液, 使得盐霉素的加标浓度分别为 5 µg/kg、10 µg/kg 和 20 µg/kg。加标样品经过 1.3 样品前处理操作后, 测得盐霉素的加标回收率在 92.4% ~ 100.5%之间, 加标回收率结果见表 3。

表 3. 盐霉素的加标回收率结果(n=3)

化合物	加标水平(µg/kg)	平均回收率(%)
盐霉素	5	93.2
	10	92.4
	20	100.5

3 结论

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-8045 联用测定牛肉中抗球虫药盐霉素残留量的方法。该方法样品前处理过程操作简单, 分析时间短, 能够实现高通量的样品分析。方法学研究结果表明, 该方法灵敏度高、精密度好, 且结果准确, 可用于牛肉中盐霉素残留的快速筛查和定量分析。

LC-MS/MS 法检测鱼肉中甲苯咪唑及其代谢物残留量

摘要：本文建立了使用三重四极杆液质联用法测定鱼肉中甲苯咪唑及其代谢物羟基甲苯咪唑和氨基甲苯咪唑残留量的方法。各目标组分检出限在 0.008~0.05 ng/mL 之间；在 0.5 ng/mL~100 ng/mL 浓度范围内，内标法校准曲线相关系数 R 在 0.9998~1.0000 之间，准确度在 94.6~112.3%之间；在高、中、低三个浓度下，化合物的保留时间和峰面积的 RSD 值分别在 0.04%~0.13%和 0.63%~3.08%之间；加标浓度为 10 和 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品，回收率在 77.0%~108.5%之间，满足标准 70~120%的要求。该方法灵敏度高，重复性好，准确度高，可满足鱼肉中甲苯咪唑及其代谢物残留量的检测要求。

关键词：三重四极杆液质联用仪 鱼肉 甲苯咪唑

技术特点：

- ❖ 相较《GB 31656.15-2022》，本方法检测甲苯咪唑及其代谢物的灵敏度更高。
- ❖ 进样时使用更小的进样体积，可减少样品基质对仪器的污染。

甲苯咪唑是一种高效广谱的抗蠕虫药，在水产养殖中被广泛使用。其用于海水养殖鱼类时可治疗由双麟盘吸虫、贝尼登氏吸虫引发的病症，用于淡水养殖鱼类时可治疗由指环虫、三代虫、粘孢子虫引发的寄生虫病。甲苯咪唑对哺乳动物毒性较低，但如果长期频繁使用，会使病原产生耐药性，而且水域环境中的一些浮游动物对这些药品的耐受能力也会不断提高。

本文参照《GB 31656.15-2022 食品安全国家标准 水产品中甲苯咪唑及其代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，使用岛津 LCMS-8045 建立了鱼肉中甲苯咪唑及其主要代谢物羟基甲苯咪唑和氨基甲苯咪唑的检测方法。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津三重四极杆液质联用仪，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-40S	色谱工作站	： LabSolutions Ver. 5.114
在线脱气机	： DGU-405		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack Velox SP-C18 (100 mm \times .2.1 mm I.D, 2.7 μm) 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-32003-03

流 动 相 : A相-0.1%甲酸水溶液, B相-甲醇
 柱 温 : 30 °C
 流 速 : 0.3 mL/min
 进 样 体 积 : 5 μL
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, 初始浓度为 B 相 45%, 时间程序见表 1

表 1. 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
5.00	Pumps	Pump B Conc.	65
5.50	Pumps	Pump B Conc.	95
6.50	Pumps	Pump B Conc.	95
6.60	Pumps	Pump B Conc.	45
10.00	Controller	Stop	

质谱条件

离 子 源 : ESI, 正离子模式 D L 管 温 度 : 250°C
 接 口 电 压 : -3 kV 加 热 模 块 温 度 : 400°C
 雾 化 气 : 氮气 3.0 L/min 接 口 温 度 : 300°C
 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 M R M 参 数 : 见表 2
 碰 撞 气 : 氩气 (230kPa)

表 2. MRM 参数

编号	化合物	CAS No.	前体离 子	产物 离子	Q1 Pre Bais(V)	CE (V)	Q3 Pre Bais(V)
1	甲苯咪唑	31431-39-7	296.10	104.95*	-11.0	-34.0	-18.0
				77.10	-20.0	-49.0	-28.0
2	羟基甲苯咪唑	60254-95-7	298.10	160.00*	-11.0	-35.0	-30.0
				266.05	-11.0	-23.0	-29.0
3	氨基甲苯咪唑	52329-60-9	238.10	105.05*	-17.0	-25.0	-19.0
				77.05	-17.0	-36.0	-13.0
4	D3-甲苯咪唑	1173021-87-8	299.10	105.00	-11.0	-34.0	-18.0
5	D3-羟基甲苯咪唑	1173020-86-4	301.20	266.05	-11.0	-22.0	-30.0

*表示定量离子

2. 样品前处理

参考《GB 31656.15-2022 食品安全国家标准 水产品中甲苯咪唑及其代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》中“8.1 提取”和“8.2 净化”部分对鱼肉样品进行处理。

3. 结果与讨论

3.1 专属性

空白样品和 0.5 ng/mL 标准溶液（含内标 D3-甲苯咪唑和 D3-羟基甲苯咪唑，浓度分别为 2.5 ng/mL 和 0.5 ng/mL）的 MRM 色谱图如图 1 所示，色谱峰分离良好，通道无干扰。

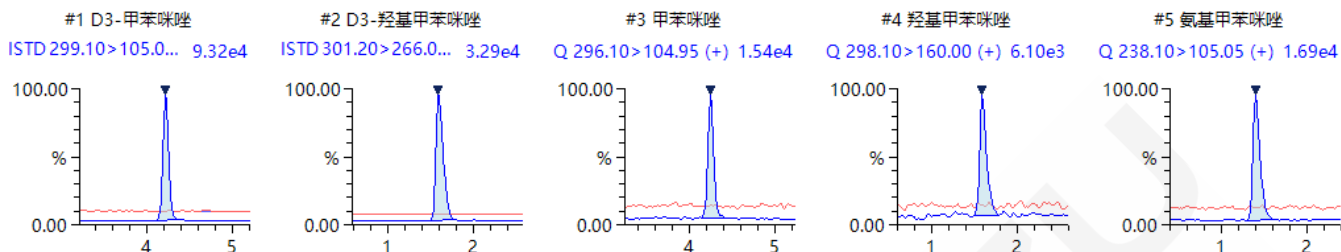


图 1. 空白样品和 0.5 ng/mL 标准溶液的 MRM 色谱图

3.2 灵敏度

0.05 ng/mL 混合标准溶液，甲苯咪唑及其代谢物定量离子色谱峰的 S/N 为 3~17，定性离子色谱峰的 S/N 均大于 3，计算可得其检出限为 0.008~0.05 ng/mL，灵敏度优于标准要求 (0.5 ng/mL)。

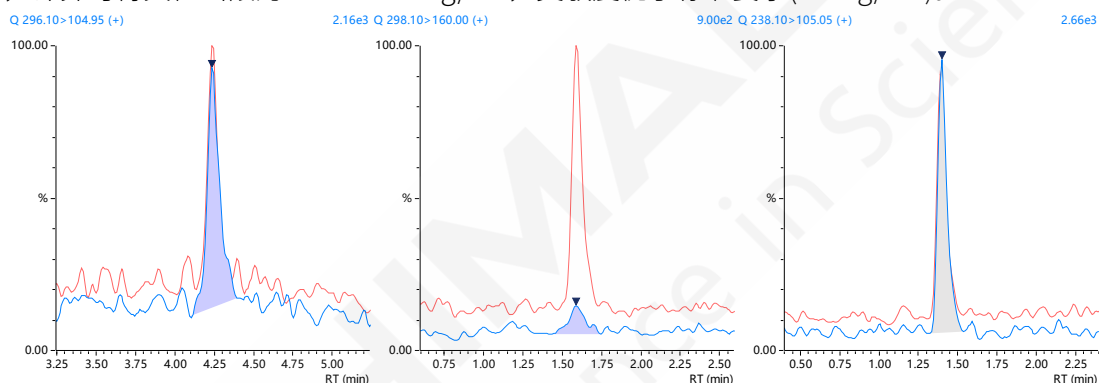


图 2. 0.05 ng/mL 混合标准溶液 MRM 色谱图（蓝：定量离子，红：定性离子）
（左：甲苯咪唑，中：羟基甲苯咪唑，右：氨基甲苯咪唑）

3.3 校准曲线

按照标准要求，配制浓度分别为 0.5、1、2、5、10、20、50、100 ng/mL 的混合标准溶液（含内标 D3-甲苯咪唑和 D3-羟基甲苯咪唑，浓度分别为 2.5 ng/mL 和 0.5 ng/mL），建标曲线，其结果如表 3 和图 3 所示。

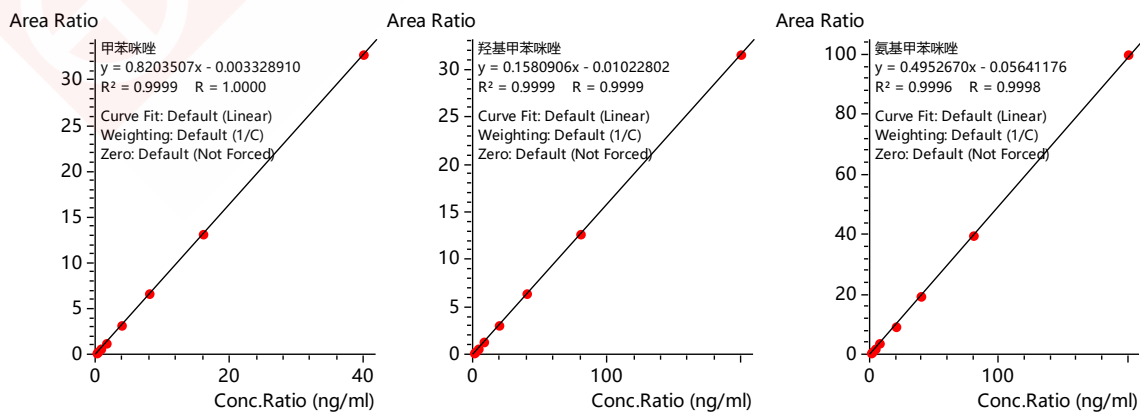


图 3. 校准曲线

表3. 校准曲线信息

编号	化合物	内标	线性方程	相关系数 R	准确度(%)
1	甲苯咪唑	D3-甲苯咪唑	$Y=0.820X-0.003$	1.0000	96.7~108.4
2	羟基甲苯咪唑	D3-羟基甲苯咪唑	$Y=0.158X-0.010$	0.9999	94.6~110.4
3	氨基甲苯咪唑	D3-羟基甲苯咪唑	$Y=0.495X-0.056$	0.9998	95.7~112.3

3.4 重复性实验

以1、10和100 ng/mL标准溶液，各连续进样6次，考察仪器的重复性，保留时间和峰面积RSD值分别在0.04~0.13%和0.63~3.08%之间，测定结果见表4。

表 4. 标准溶液保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

编号	化合物	浓度(ng/mL)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)
1	甲苯咪唑	1	0.05	2.95
		10	0.04	0.63
		100	0.09	0.88
2	羟基甲苯咪唑	1	0.12	3.08
		10	0.06	1.10
		100	0.13	1.57
3	氨基甲苯咪唑	1	0.08	1.54
		10	0.07	0.78
		100	0.11	0.72

3.5 回收率

空白样品分别加标 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，前处理后进样分析，考察方法的回收率，结果在77.0~108.5%之间，具体如表 5 所示。

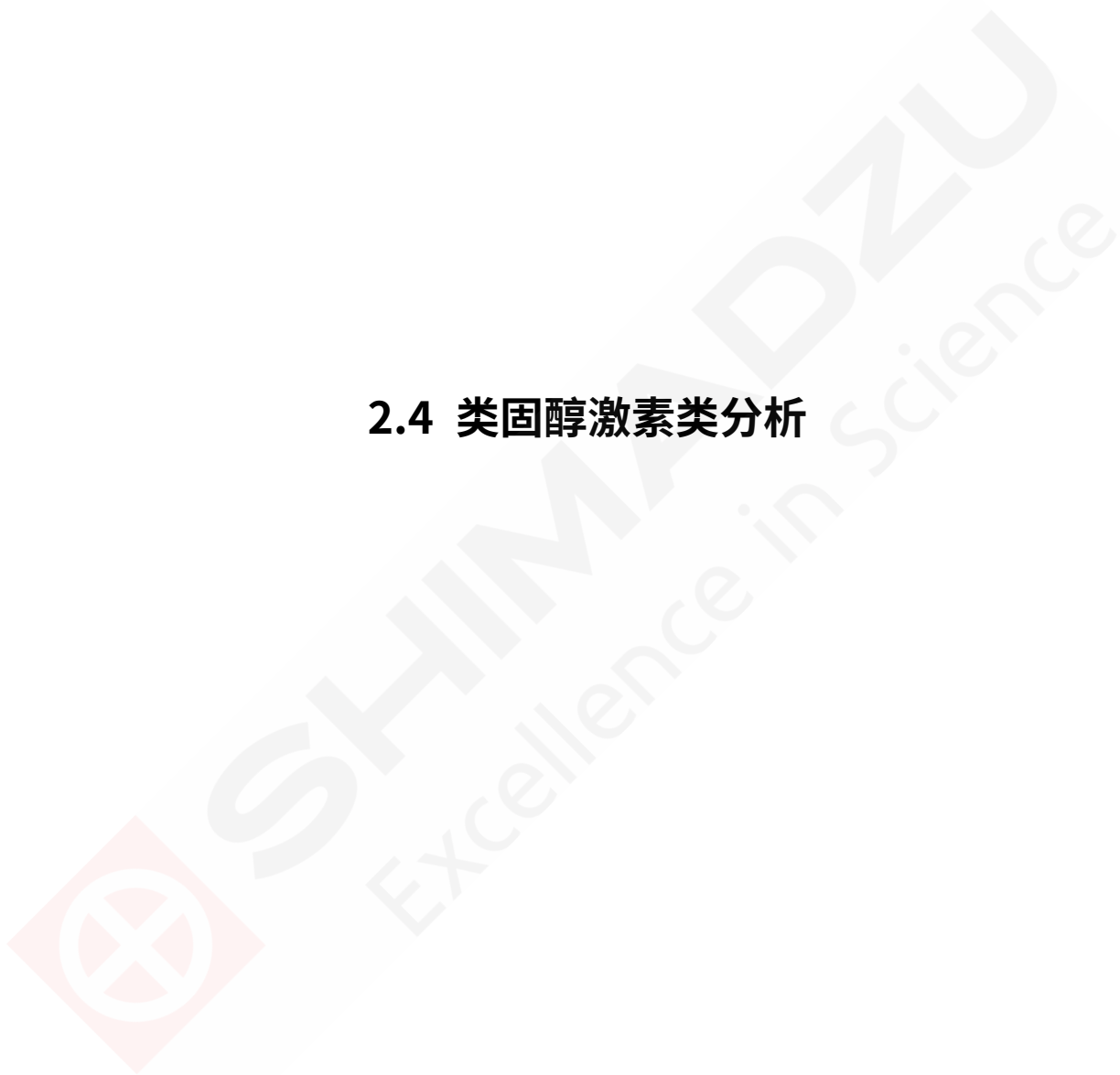
表 5. 回收率

编号	化合物	加标浓度($\mu\text{g}/\text{kg}$)	检测浓度($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率(%)
1	甲苯咪唑	10	7.7	77.0
		100	79.2	79.2
2	羟基甲苯咪唑	10	8.3	83.0
		100	92.5	92.5
3	氨基甲苯咪唑	10	10.3	103.0
		100	108.5	108.5

4 结论

本文参照《GB 31656.15-2022 食品安全国家标准 水产品中甲苯咪唑及其代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，使用岛津 LCMS-8045 建立了鱼肉中甲苯咪唑及其主要代谢物羟基甲苯咪唑和氨基甲苯咪唑的检测方法。该方法灵敏度高，重复性好，准确度高，可满足鱼肉中甲苯咪唑及其代谢物残留量的检测要求。

2.4 类固醇激素类分析



LC-MS/MS 测定牛肉中异丙嗪残留量

摘要: 本文建立了使用岛津三重四极杆液质联用系统测定牛肉中异丙嗪残留量的方法。异丙嗪在优化后的色谱及质谱条件下,采用正离子模式进行电离,通过多反应监测(MRM)模式进行测定。结果表明:使用外标法定量,异丙嗪在 0.5 ng/mL~20 ng/mL 浓度范围内峰面积与其质量浓度线性关系良好,所得校准曲线线性相关系数均在 0.999 以上,各校准点准确度在 96.7%~113.1%之间,且精密度和回收率实验结果良好。

关键词: 牛肉 异丙嗪 三重四极杆质谱

随着现代养殖业不断发展,为了加快猪、牛、羊等畜类动物生长、提高生产效率,兽药已被广泛应用。然而,盲目追求经济效益、缺乏科学知识,兽药滥用现象时有发生,产生了严重的兽药残留问题,既危害了人民群众的身体健康,又阻碍了畜牧业的健康发展。异丙嗪(Promethazine)是一种吩噻嗪类的抗组胺类药物,是对中枢神经系统有抑制作用的镇定剂,临床上可用于镇吐、抗晕眩、晕动症以及镇静催眠,以及腹泻、哮喘、食物过敏等症状的治疗。在饲料中添加此类药物,不但可间接起到催肥作用,还能降低动物在运输过程中的死亡率。吩噻嗪类的镇定剂可引起过敏反应,对人的内分泌、运动和循环等系统以及肝脏器官造成不良影响。我国农村农业部第 176 号公告规定,盐酸异丙嗪禁止在饲料和动物饮用水中使用。

当前,吩噻嗪类的镇定剂检测方法主要有酶联免疫法、高效液相色谱法、气相色谱-质谱法、液相色谱-质谱法和红外光谱法等。高效液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法由于具有检测灵敏度高、结果选择性好的特点,已成为食品类复杂基质中痕量物质检测的主流方法。本文基于岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用技术,建立了测定牛肉中异丙嗪残留量的方法。该方法样品前处理过程简单,且准确度高,可用于牛肉中异丙嗪残留量的快速测定,供相关检测人员参考。

1 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用系统。具体配置为:

系统控制器:	CBM-20A	脱气机:	DGU-20A _{5R}
输液泵:	LC-30AD×2	自动进样器:	SIL-30AC
柱温箱:	CTO-20AC	检测器:	LCMS-8045
色谱工作站:	LabSolutions Ver. 5.99		

1.2 分析条件

液相条件

- 色谱柱 : Shim-pack GIST C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 2 μm), P/N: 227-30001-04, 岛津(上海)实验器材有限公司
- 流动相 : A相-0.1%甲酸水溶液; B相-乙腈
- 流速 : 0.4 mL/min
- 进样体积 : 2 μL

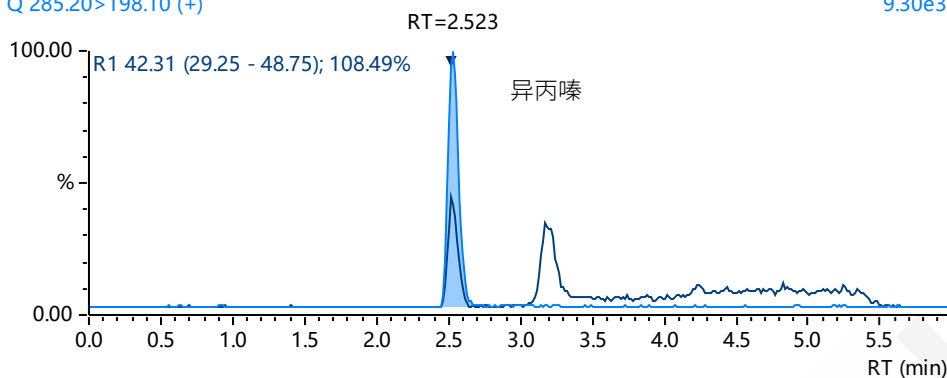


图 1. 异丙噻(1 ng/mL)的 MRM 图谱

2.2 线性范围与检出限

将不同浓度的异丙噻基质匹配标准工作液，按照 1.2 中的分析条件进行测定，使用外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示。所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。

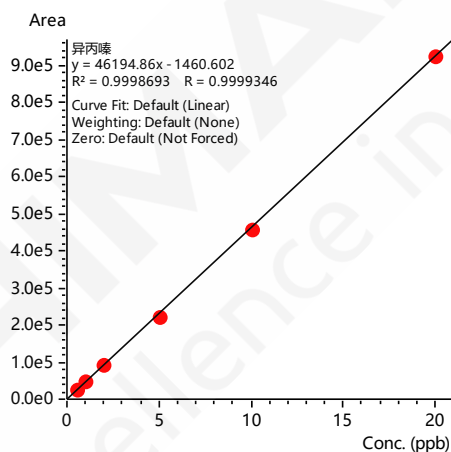


图 2. 异丙噻的校准曲线

化合物	校准曲线	r	线性范围 (ng/mL)	准确度(%)	检出限 (ng/mL)
异丙噻	$Y = (46194.9)X + (-1460.60)$	0.9999	0.5~20	96.7% ~ 113.1%	0.17

表 3. 校准曲线与检出限信息

2.3 精密度实验

对不同浓度的异丙噻基质标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：不同浓度样品溶液中异丙噻的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.09% ~ 0.18%和 0.87% ~ 1.36%之间，显示仪器精密度良好。

表 4. 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

化合物	Conc.(ng/mL)	RSD% (R.T.)	RSD%(Area)
异丙嗪	2	0.18	1.36
	5	0.09	0.91
	10	0.13	0.87

2.4 加标回收率实验

准确称取 2 g 阴性试样，加入少量异丙嗪的标准工作溶液，使得异丙嗪的加标浓度分别为 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。加标样品经过 1.3 样品前处理操作后，测得异丙嗪的加标回收率在 80.6% ~ 84.1% 之间，加标回收率结果见表 5。

表 5. 异丙嗪的加标回收率结果(n=3)

化合物	加标水平($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率(%)
异丙嗪	4	81.1
	7	84.1
	10	80.6

3 结论

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-8045 联用同时测定测定牛肉中异丙嗪残留量的方法。使用外标法定量，异丙嗪在 0.5 ng/mL ~20 ng/mL 浓度范围内峰面积与其质量浓度线性关系良好，所得校准曲线线性相关系数均在 0.999 以上，各校准点准确度在 96.7% ~ 113.1% 之间，且精密度和回收率实验结果良好。方法学结果表明，本方法操作简便，且准确度高，可用于牛肉中异丙嗪残留量的快速测定。

LCMS-8050测定猪肉中醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮残留

摘要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用测定猪肉中醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮残留量的方法，该方法可在 4 min 内完成对待测物的检测。醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮在 1.0 µg/L~100.0 µg/L 浓度范围内线性良好，校准曲线线性相关系数 r 在 0.999 以上，且精密度和回收率实验结果良好。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于猪肉中醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮残留的快速检测。

关键词：三重四极杆质谱 猪肉 醋酸甲地孕酮 醋酸甲羟孕酮

食用动物饲养中促生长性激素的滥用已成为全球性的食品安全问题。醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮都是人工合成的甾体药物，能促进畜禽生长，提高饲料转化率，有利于蛋白质沉积。但该类激素在动物食品中的残留可能会危害消费者健康，甚至具有潜在的致畸性与致癌性。有研究表明儿童性早熟、妇女乳腺癌和子宫癌发病率上升也与食品中性激素残留有关。我国农业农村部早在 2002 年发布的第 235 号文件中就规定醋酸甲地孕酮不得在动物性食品中检出。

目前检测性激素的前处理方法主要有固相萃取法、QuEChERS 法、液液萃取法等。固相萃取法由于方法可靠、操作简单、成本低，是目前最普遍采用的前处理方法。

本文参照国家标准检测方法 GB 31660.4-2019《食品安全国家标准 动物性食品中醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮的测定 液相色谱-串联质谱法》，试样经乙腈提取，正己烷除脂，混合阳离子柱净化，甲醇洗脱后使用岛津 LCMS-8050 液质联用系统测定，内标法定量。此方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于猪肉中醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮残留的快速检测。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验使用超高效液相色谱仪 LC-40 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置为：

输 液 泵	: LC-40D X3 ×2	系统控制器	: SCL-40
脱 气 机	: DGU-405	检 测 器	: LCMS-8050 三重四极杆质谱仪
自动进样器	: SIL-40C X3	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.99
柱 温 箱	: CTO-40C		

1.2 分析条件

液相条件

- 色 谱 柱 : Shim-pack GISS C18 (50 mm×2.1 mm I.D., 1.9 µm, SGLC, P/N: 227-30048-01)
- 流 动 相 : A 相-0.1%甲酸水溶液; B 相-0.1%甲酸乙腈溶液
- 流 速 : 0.30 mL/min
- 进样体积 : 10 µL
- 洗脱方式 : 梯度洗脱, 初始浓度为 B 相 20%, 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.	20
1.50	Pumps	Pump B Conc.	90
2.00	Pumps	Pump B Conc.	90
2.50	Pumps	Pump B Conc.	50
3.00	Pumps	Pump B Conc.	20
4.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源	: ESI+	加热模块温度	: 300°C
离子源接口电压	: 3.5 kV	DL 温度	: 250°C
雾化气流速	: 3.0 L/min	离子源温度	: 400°C
加热气流速	: 10.0 L/min	扫描模式	: 多反应监测(MRM)
干燥气流速	: 10.0 L/min	MRM 参数	: 见表 2
碰撞气	: 氦气	驻留时间	: 47 ms

表 2. MRM 参数

化合物名称	英文名称	化学式	CAS No.	监测离子对	Q1	Q3
					pre (V)	CE Pre (V)
醋酸甲地孕酮	Megestrol acetate	C ₂₄ H ₃₂ O ₄	595-33-5	385.40>267.30*	-11.0	-19.0
				385.40>325.40	-11.0	-15.0
醋酸甲羟孕酮	Medroxyprogesterone acetate	C ₂₄ H ₃₄ O ₄	71-58-0	387.40>327.40*	-11.0	-13.0
				387.40>285.40	-11.0	-19.0
氘代醋酸甲地孕酮	Megestrol acetate-D3	C ₂₄ H ₂₉ D ₃ O ₄	-	388.40>270.40*	-11.0	-18.0

注: *表示定量离子对

1.3 样品前处理方法

取试样 2 g (准确到±20 mg) 于 50 mL 离心管中, 加内标工作液(1 µg/mL)40 µL, 加 0.2 mol/L 乙酸铵缓冲液 4 mL, 涡旋混匀后加入β-盐酸葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶 40 µL, 于 37°C 下避光水浴低速振荡, 酶解 12 h。试样经酶解后, 加乙酸乙酯 10 mL, 于旋涡振荡器上剧烈振荡 10 min, 4000 r/min 离心 5 min, 取上清液至梨形瓶中。残渣加乙酸乙酯 10 mL 重复提取 1 次, 合并上清液, 50°C 旋转蒸发至干。加乙腈 10 mL、正己烷 5 mL 使溶解, 转至 50 mL 离心管中, 低速涡旋 10 s, 3000 r/min 离心 2 min, 弃正己烷层, 下层液于 50°C 旋转蒸发至干, 加 30% 甲醇水溶液 3 mL, 溶解, 备用。混合阳离子固相萃取柱用甲醇、水各 3 mL 活化, 取备用液过柱, 依次用水、50% 甲醇溶液各 3 mL 淋洗, 抽干。用甲醇 5 mL 洗脱, 洗脱液于 50°C 下氮气吹干。用 0.2 mL 初始流动相溶液溶解残余物, 涡旋混匀, 15000 rpm 高速离心 10 min, 取上清液上机测定。

1.4 标准溶液的配制

精密量取适量混合标准工作液及内标标准工作液，用流动相稀释配制成浓度为 1、2、5、25、50 和 100 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准溶液（内标均为 20 $\mu\text{g/L}$ ）。以待测物与内标的特征离子质量色谱峰面积比为纵坐标，标准溶液浓度比为横坐标，内标法绘制标准曲线。

2 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

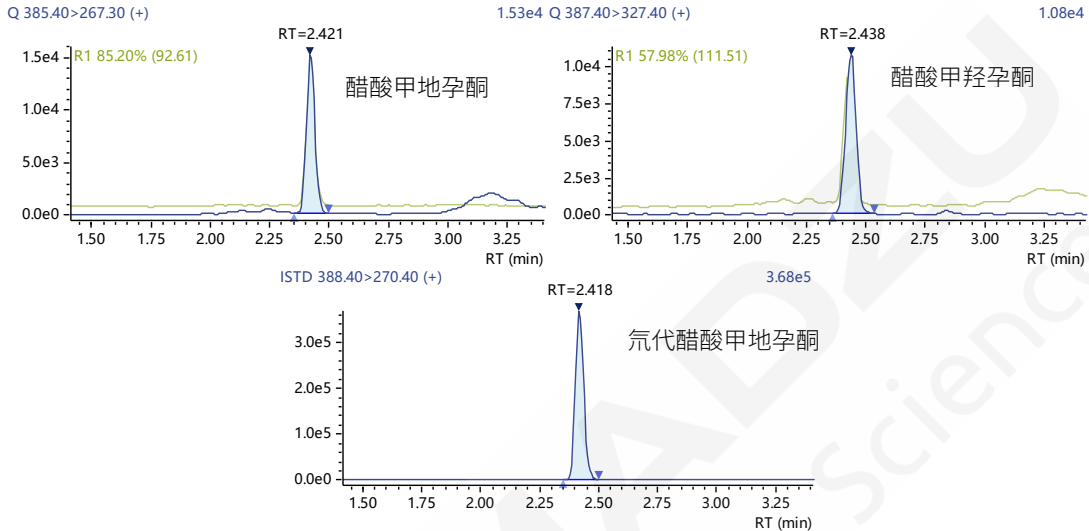


图 1.1 $1\ \mu\text{g/L}$ 醋酸甲地孕酮、醋酸甲羟孕酮 MRM 色谱图 (内标 $20\ \mu\text{g/L}$)

2.2 线性范围与检出限

将浓度为 2、5、25、50 和 100 $\mu\text{g/L}$ 的醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮标准工作液 (内标浓度为 20 $\mu\text{g/L}$)，按 1.2 中的分析条件进行测定。以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，制作标准曲线，内标法定量，绘制校准曲线如图 2 所示。所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。图 3 为 0.2 $\mu\text{g/L}$ 醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮的 MRM 色谱图。根据检出限 $\text{MDL}=3.3\ \text{S/N}$ ，定量限 $\text{LOQ}=10\ \text{S/N}$ 计算检出限和定量限，结果见表 3。

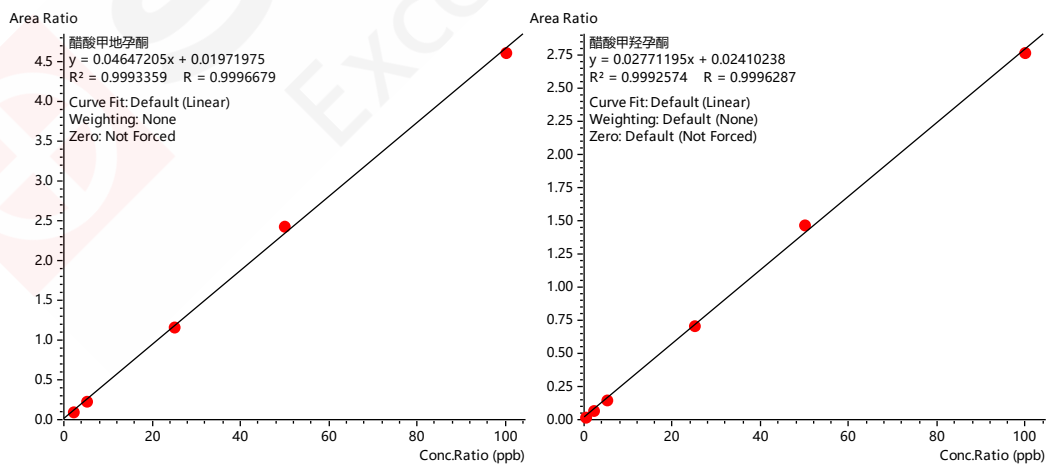


图 2. 醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮校准曲线

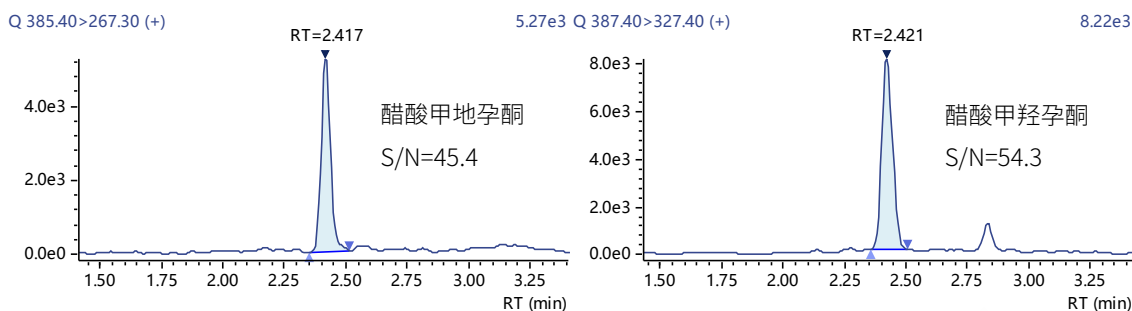


图 3. 0.2 µg/L 醋酸甲地孕酮、醋酸甲羟孕酮标样 MRM 色谱图

表 3. 标准曲线与检出限信息

化合物	校准曲线	R	线性范围 (µg/L)	准确度	定量限 (µg/L)	检出限 (µg/L)
醋酸甲地孕酮	Y=0.0464X+0.0197	0.9997	2.0~100	87.3-104.4%	0.04	0.01
醋酸甲羟孕酮	Y=0.0278X+0.0241	0.9996	2.0~100	86.6-104.4%	0.04	0.01

2.3 精密度实验

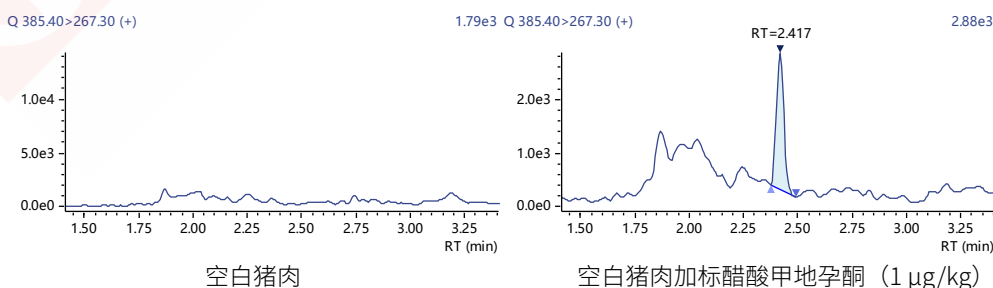
对浓度为 0.2 µg/L、2 µg/L 和 25 µg/L 的醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：不同浓度样品中待测物保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.10%~0.18%和 1.25%~5.19%之间，仪器精密度良好。

表 4. 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

	0.2 µg/L		2 µg/L		25 µg/L	
	RSD%	RSD%	RSD%	RSD%	RSD%	RSD%
	(R.T.)	(Area)	(R.T.)	(Area)	(R.T.)	(Area)
醋酸甲地孕酮	0.18	5.19	0.13	2.50	0.10	1.85
醋酸甲羟孕酮	0.13	3.25	0.14	1.71	0.11	1.25

2.4 回收率实验

称取空白猪肉样品，加入醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮标准溶液，使加标浓度分别为 1 µg/kg，5 µg/kg 和 20 µg/kg。按照 1.3 样品前处理方法提取净化后，测定醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮的加标回收率。空白猪肉样品和加标浓度为 1 µg/kg 猪肉样品 MRM 色谱图如 3 所示，加标回收率结果见表 5。由结果可知，该方法灵敏度高，准确率好，可以满足猪肉中醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮残留的快速检测。



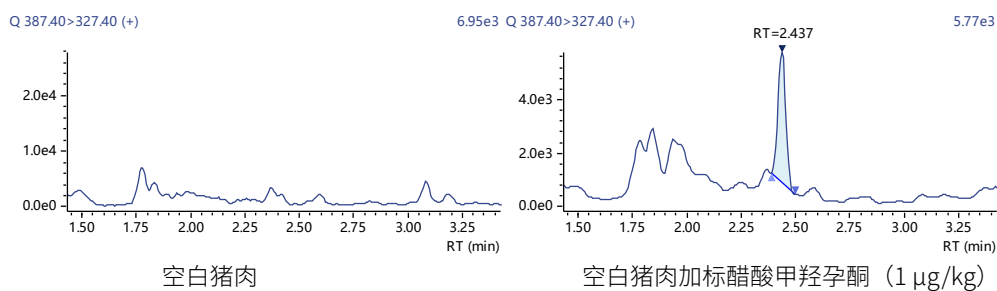


图 3. 空白猪肉及加标浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 猪肉样品 MRM 图谱

表 5. 醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮的加标回收率结果(n=3)

	平均回收率%		
	1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	20 $\mu\text{g}/\text{kg}$
醋酸甲地孕酮	82.2	90.6	97.7
醋酸甲羟孕酮	81.7	85.8	89.2

3 结论

本文根据 GB 31660.4 -2019 《食品安全国家标准 动物性食品中醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮的测定》建立了使用岛津超高效液相色谱 LC-40 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用测定猪肉中醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮残留量的方法。该方法使用 Shim-pack GISS C18 色谱柱，可在 4 min 内完成对待测物的检测。醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮在 1.0 ~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性良好，校准曲线线性相关系数 r 在 0.999 以上，且精密度和回收率实验结果良好。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于猪肉中醋酸甲地孕酮和醋酸甲羟孕酮残留量的快速分析。

LCMS-8050 测定猪肉中 5 种 α_2 -受体激动剂

摘要：本文使用岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱仪 LCMS-8050，建立了动物源性食品中替扎尼定等 5 种 α_2 -受体激动剂的测定方法。参考《GB 31660.6-2019 动物性食品中 5 种 α_2 -受体激动剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》食品安全国家标准，猪肉样品经用碳酸钠缓冲溶液、乙酸乙酯提取，SHIMSEN Styra MCX (岛津实验器材有限公司, P/N: 380-00853-01)固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱测定，外标法定量。结果显示该方法线性良好，标准曲线相关系数均 ≥ 0.995 ，5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标回收率在 69.6%~91.8%之间，相对标准偏差(RSD) $< 5.7\%$ 。该方法可满足猪肉样品中 α_2 -受体激动剂的定量。

关键词：LCMS-8050 兽药残留 猪肉 α_2 -受体激动剂

社会各界对“瘦肉精”食品安全问题的关注，促使了 β_2 -受体激动剂的检测技术得到了飞速发展，从而有效遏止了 β_2 -受体激动剂在动物养殖中的非法使用。而 α_2 -受体激动剂作为一种新型的具有促进生长及提高瘦肉率作用的药物也在逐步引起关注，且在饲料行业中已有非法添加使用的趋势。早在 2010 年，农业部 1519 号公告已明确把可乐定、赛庚啶等列入了农业部《禁止在饲料和动物饮水中使用的物质》清单。《GB 31650-2019 食品中兽药最大残留限量》规定，仅赛拉嗪可用于非产奶期的牛、马等动物，其他 α_2 -受体激动剂均禁止用于畜禽养殖，且不得检出。《GB 31660.6-2019 动物性食品中 5 种 α_2 -受体激动剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》食品安全国家标准，提供了替扎尼定、赛拉嗪、溴莫尼定、安普乐定和可乐定在猪、鸡肌肉及内脏中残留检测方法，该标准已于 2020 年 4 月 1 日正式实施。

本文参考《GB 31660.6-2019 动物性食品中 5 种 α_2 -受体激动剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》食品安全国家标准，建立了基于 LCMS-8050 的猪肉中 5 种 α_2 -受体激动剂的测定方法。该方法快速、稳定，适合动物性食品中替扎尼定等 5 种 α_2 -受体激动剂的测定。

1 实验部分

1.1 仪器

岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8050。具体配置为：

输液泵	: LC-30AD $\times 2$	系统控制器	: CBM-20A
脱气机	: DGU-20A _{5R}	检测器	: LCMS-8050 三重四极杆质谱仪
自动进样器	: SIL-30ACMP	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.91
柱温箱	: CTO-30A		

1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱	: Shim-pack Velox C18 (100 mm \times 2.1 mm I.D., 1.8 μm) Shimadzu SGLC, P/N: 227-32010-04
流动相	: 流动相 A-0.2%甲酸水溶液 流动相 B-乙腈
流速	: 0.3 mL/min

超纯水：蒸馏水由 Milli-Q Plus 水净化系统经去离子与二次净化制得。

甲酸：色谱级，纯度 98%，室温保存。

碳酸钠缓冲溶液：取无水碳酸钠 10.6 g，用水溶解并稀释至 100 mL，为 A 液；取碳酸氢钠 8.4 g，用水溶解并稀释至 100 mL，为 B 液。取 A 液 90 mL、B 液 10 mL，混匀，现用现配。

1.4 样品及标准曲线配制

1.4.1 样品制备

参考《GB 31660.6-2019 动物性食品中 5 种 α_2 -受体激动剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》标准前处理方法：取试料 2 g（准确至 ± 20 mg），于 50 mL 离心管中，加碳酸钠缓冲液 5 mL，振荡混匀，加乙酸乙酯 10 mL，充分振荡，于 8000 r/min 离心 5 min，取上清液于鸡心瓶中，下层溶液中加乙酸乙酯 10 mL 重复提取一次，合并两次上清液。于 55 $^{\circ}$ C 旋转蒸发至干，加初始流动相溶液 4.0 mL 溶解残余物，备用。SHIMSEN Styra MCX (SGLC 货号，380-00853-01) 固相萃取柱依次用甲醇、水各 3 mL 活化。取备用液过柱，用水 3 mL、甲醇 3 mL 分别淋洗，抽干，5% 氨水甲醇溶液 6 mL 洗脱，收集洗脱液，并用 5% 氨水甲醇定容至 6 mL，上机。

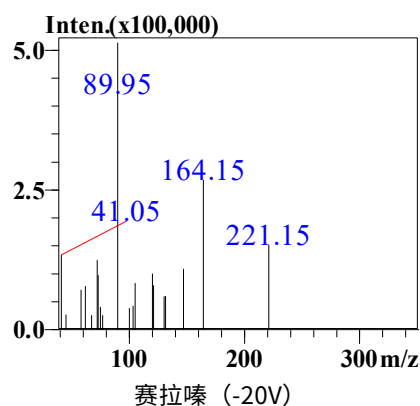
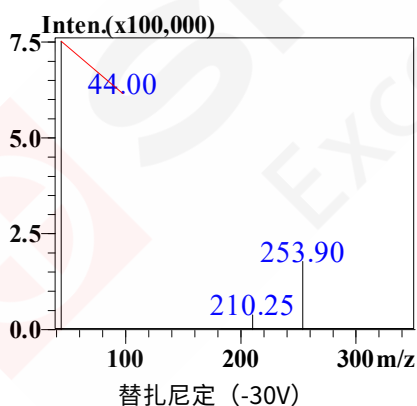
1.4.2 标准曲线制备

分别精密量取混合标准工作液适量，用初始比例流动相稀释配制成浓度为 0.5、1、2、10、50 和 100 μ g/L 系列混合标准工作液，临用现配。

2 结果与讨论

2.1 标品质谱图与色谱图

将 100 μ g/L 混标溶液进样分析，采用产物离子扫描模式确认替扎尼定等 5 种 α_2 -受体激动剂的碎片离子，如下图 1 所示，可找到标准推荐的产物离子。对空白溶剂和 0.5 μ g/L 混标溶液分析，MRM 色谱图如图 2 所示，空白溶剂无干扰，且 5 种 α_2 -受体激动剂在 4 min 内实现了良好分离。



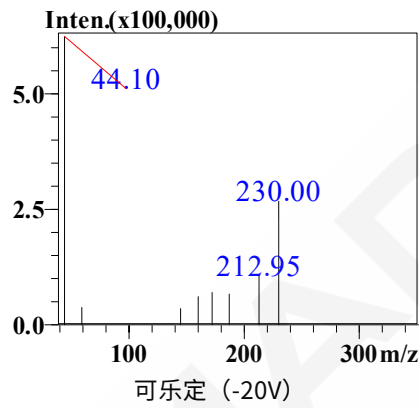
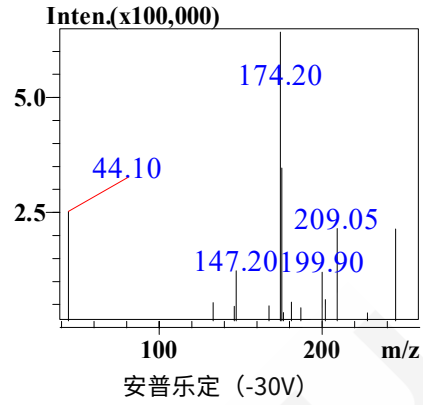
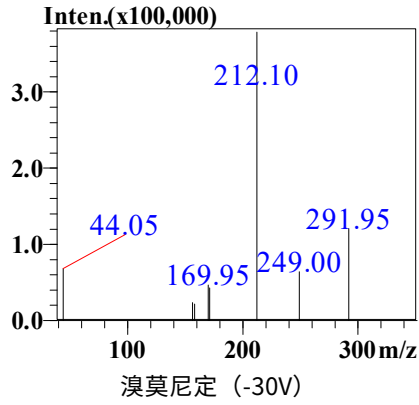


图 1.5 种 α_2 -受体激动剂 MS2 质谱图

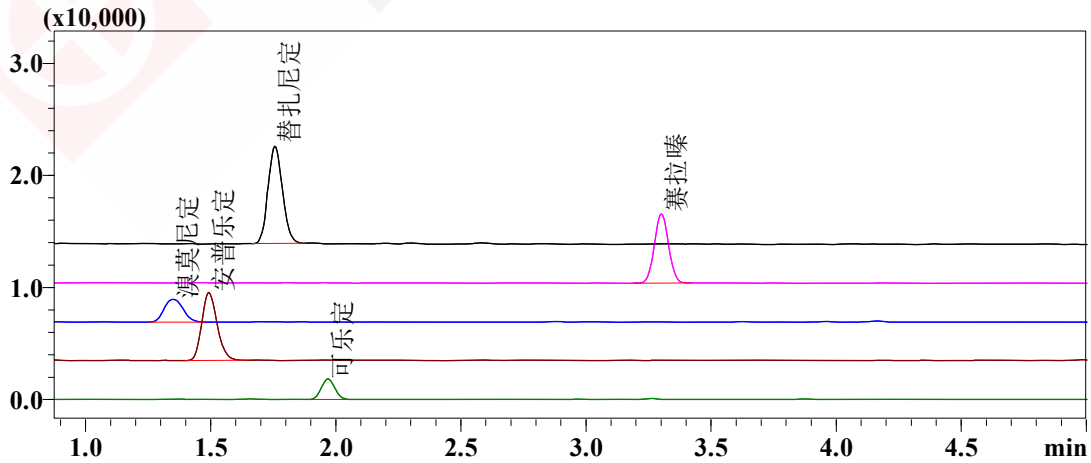
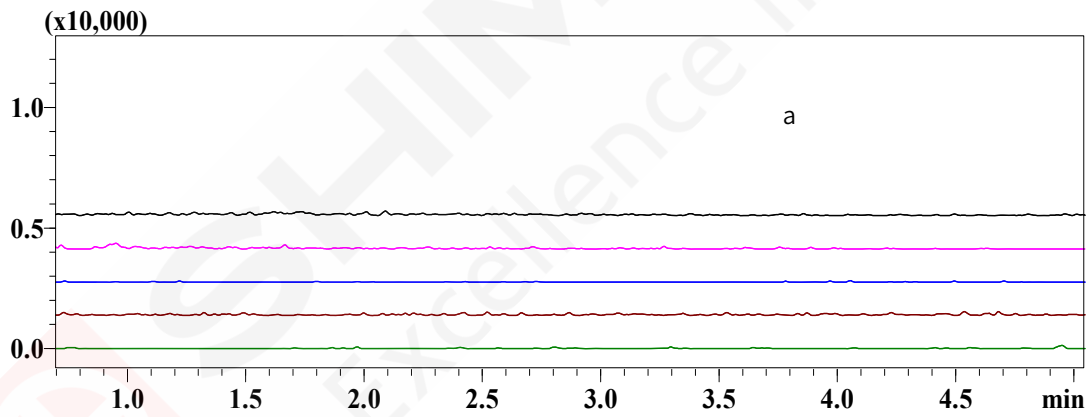


图 2. 空白溶剂 (a)、0.5 $\mu\text{g/L}$ 混标 (b) 色谱图

2.2 线性关系及检出限、定量限

对系列混合标准曲线溶液进行分析，以面积为纵坐标，浓度为横坐标，进行线性拟合。结果如表 3 和图 3 所示，替扎尼定等 5 种目标物在 0.5-100 $\mu\text{g/L}$ 范围内，线性良好，线性相关系数均 ≥ 0.995 。以 0.5 $\mu\text{g/L}$ 数据为依据，根据信噪比 $S/N=3$ 、 $S/N=10$ 计算检出限 (LOD)、定量限(LOQ)，检出限和定量限均低于 0.44 $\mu\text{g/kg}$ ，满足标准要求。

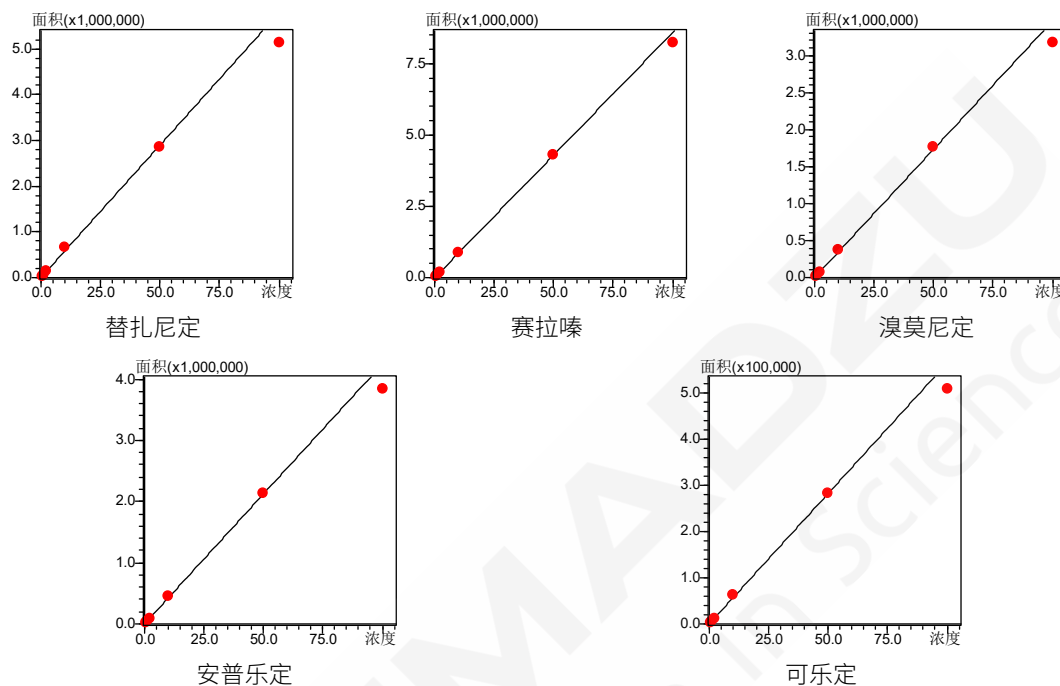


图 3. 标准曲线

表 3. 标准曲线、检出限及定量限

序号	中文名称	线性方程	相关系数 r	准确度 (%)	检出限 ($\mu\text{g/kg}$)	定量限 ($\mu\text{g/kg}$)
1	替扎尼定	$Y = (58001.0)X + (8238.45)$	0.995	89.0-111.4	0.04	0.10
2	赛拉嗪	$Y = (85806.3)X + (6096.82)$	0.999	95.7-104.2	0.02	0.06
3	溴莫尼定	$Y = (34668.4)X + (3641.28)$	0.998	91.7-107.6	0.04	0.12
4	安普乐定	$Y = (42533.9)X + (4399.56)$	0.997	90.7-108.8	0.06	0.18
5	可乐定	$Y = (5687.90)X + (666.671)$	0.997	90.7-110.3	0.14	0.44

2.3 重复性考察

对 1 $\mu\text{g/L}$ 的标准溶液连续分析 6 次，计算保留时间和峰面积的 RSD。结果见表 4，保留时间 $RSD < 0.27\%$ ，峰面积的 $RSD < 4.86\%$ 。仪器稳定性良好。

表 4. 保留时间和面积 RSD

序号	中文名称	保留时间 RSD(%)	面积 RSD (%)
1	替扎尼定	0.08	1.69
2	赛拉嗪	0.05	1.91
3	溴莫尼定	0.17	4.05
4	安普乐定	0.27	4.86
5	可乐定	0.08	4.81

2.4 加标回收率考察

在空白猪肉样品上进行 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的加标回收试验，平行 3 份。结果见表 5，替扎尼定等 5 种目标物平均回收率在 69.6%~91.8%之间，RSD 均 $<5.7\%$ 。完全满足标准对于回收率的要求(60%~100%)。

表 5. 猪肉加标回收率结果

序号	中文名称	低水平 (2 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	
		加标回收率/%	重复性/%
1	替扎尼定	87.2	3.3
2	赛拉嗪	78.7	2.7
3	溴莫尼定	81.9	3.5
4	安普乐定	69.6	2.7
5	可乐定	91.8	5.6

3 结论

本文使用岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱仪 LCMS-8050，参考 GB 31660.6-2019 标准，建立了猪肉中 5 种 α_2 -受体激动剂测定方法。该方法可供相关行业参考。

LCMS-8045 测定猪肉中赛庚啶和可乐定

摘要：本文使用岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱仪 LCMS-8045，建立了动物源性食品中赛庚啶和可乐定分析方法。参考《GB 31660.7-2019 猪组织和尿液中赛庚啶和可乐定残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》食品安全国家标准，猪肉样品经酸性乙腈提取，氮吹浓缩，流动相初始比例溶液复溶，液相色谱-串联质谱测定，内标法定量。结果显示赛庚啶和可乐定线性良好，标准曲线相关系数均 ≥ 0.995 ，1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度的加标回收率在 70.6~97.6%之间，加标回收率相对标准偏差(RSD) $< 5.6\%$ 。该方法可满足猪肉样品中赛庚啶和可乐定的定性定量测定。

关键词：LCMS-8045 兽药残留 猪肉 可乐定 赛庚啶

赛庚啶是一种H1受体拮抗剂，临床上用于荨麻疹、湿疹、过敏性和接触性皮炎，同时，赛庚啶具有抗5-羟色胺的作用，可抑制下丘脑饱觉中枢而刺激食欲增加体重，用于畜禽养殖可以促进生长。可乐定是一种 α_2 受体激动剂，属于咪唑啉衍生物，在临床上，具有显著促进激素水平升高的作用，在畜禽养殖中使用可促进腺垂体生长激素分泌，提高生长性能，改善胴体品质。这两种化合物是市场上发现的新型违禁添加物。

早在2010年，农业部1519号公告已明确把可乐定、赛庚啶等列入了农业部《禁止在饲料和动物饮水中使用的物质》清单。2019年10月发布了《GB 31650-2019 食品中兽药最大残留限量》，将“不再收载禁止药物及化合物清单”，2020年4月1日起执行。这表明，赛庚啶和可乐定均不得用于动物养殖，且不应在动物性产品中检出。

本文参考《GB 31660.7-2019 猪组织和尿液中赛庚啶和可乐定残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》食品安全国家标准，建立了基于岛津LCMS-8045的猪肉中赛庚啶和可乐定的测定方法。该方法快速、稳定，适合动物性食品中赛庚啶和可乐定的测定。

1 实验部分

1.1 仪器

岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8045。具体配置为：

输 液 泵	:LC-20ADXR×2	系 统 控 制 器	:CBM-20A
自 动 进 样 器	:SIL-30ACMP	三 重 四 极 杆 质 谱 仪	:LCMS-8045
柱 温 箱	:CTO-20AC	色 谱 工 作 站	:LabSolutions Ver. 5.97
在 线 脱 气 机	:DGU-20A _{5R}		

1.2 分析条件

液相色谱条件：

色 谱 柱	: Shimadzu Shim-pack Velox C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 1.8 μm) Shimadzu SGLC, P/N: 227-32010-04
流 动 相	: 流动相 A-0.1%甲酸水溶液 流动相 B-乙腈
流 速	: 0.3 mL/min

参考《GB 31660.7-2019 猪组织和尿液中赛庚啶和可乐定残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》标准前处理方法：取试料 2 g（准确至±20 mg），于 50 mL 离心管中，加 50 μ L 混合内标工作液，加 C18 粉 0.5 g，振荡混匀，加 1%甲酸乙腈 10 mL，充分振荡，于 8000 r/min 离心 5 min，取上清液，于离心管中，50 $^{\circ}$ C 水浴氮气吹干。加流动相初始比例溶液 1.0 mL 使溶解，0.22 μ m 滤膜滤过，液相色谱-串联质谱仪测定。

1.4.2 标准曲线配制

1.4.2.1 标准储备液（1 mg/mL）

取盐酸赛庚啶、盐酸可乐定、盐酸二苯拉林和盐酸可乐定-D4 标准品各约 10 mg，精密称定，分别于 10 mL 量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，配制成浓度分别为 1 mg/mL 的盐酸赛庚啶、盐酸可乐定、盐酸二苯拉林和盐酸可乐定-D4 标准储备液。4 $^{\circ}$ C 下保存，有效期 6 个月。

1.4.2.2 混合标准工作液（10 μ g/mL）

分别精密量取盐酸赛庚啶和盐酸可乐定标准储备液各 1 mL，于 100 mL 量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，制成浓度为 10 μ g/mL 的盐酸赛庚啶和盐酸可乐定标准工作液。4 $^{\circ}$ C 下保存，有效期 3 个月。

1.4.2.3 混合内标中间液

分别精密量取盐酸二苯拉林储备液 100 μ L、盐酸可乐定-D4 储备液 1 mL，于 100 mL 量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配制成含盐酸二苯拉林 1 μ g/mL 和盐酸可乐定-D4 10 μ g/mL 的混合内标中间液。于 4 $^{\circ}$ C 下保存，有效期 1 个月。

1.4.2.4 混合内标工作液

精密量取混合内标中间液 1 mL，于 10 mL 量瓶中，用乙腈-0.1%甲酸溶液稀释至刻度，配制成含盐酸二苯拉林 100 ng/mL 和盐酸可乐定-D4 1 μ g/mL 的混合内标工作液，临用现配。

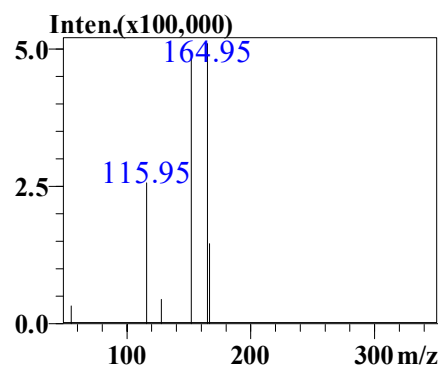
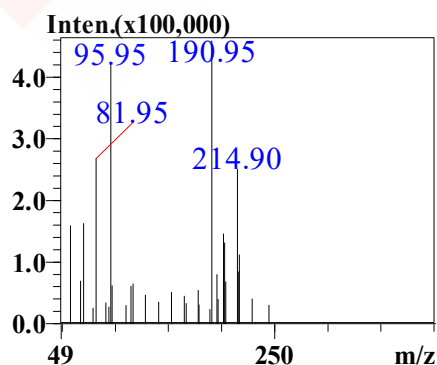
1.4.2.5 标准曲线制备

精密量取混合标准工作液和混合内标工作液适量，用乙腈-0.1%甲酸溶液稀释成赛庚啶和可乐定浓度为 0.5、1、5、10、50 和 100 μ g/L 系列混合标准工作液，其中含盐酸二苯拉林的浓度和盐酸可乐定-D4 的浓度分别为 5 μ g/L 和 50 μ g/L，临用现配。

2 结果与讨论

2.1 标品质谱图与色谱图

对 100 μ g/L 混标溶液进行分析，采用产物离子扫描模式确认赛庚啶、可乐定及其内标的碎片离子，如下图所示。对空白溶剂和 0.5 μ g/L 混标溶液分析，MRM 色谱图如图 2 所示，色谱响应高，空白溶剂无干扰，赛庚啶和可乐定在 4.5 min 内实现了良好分离。



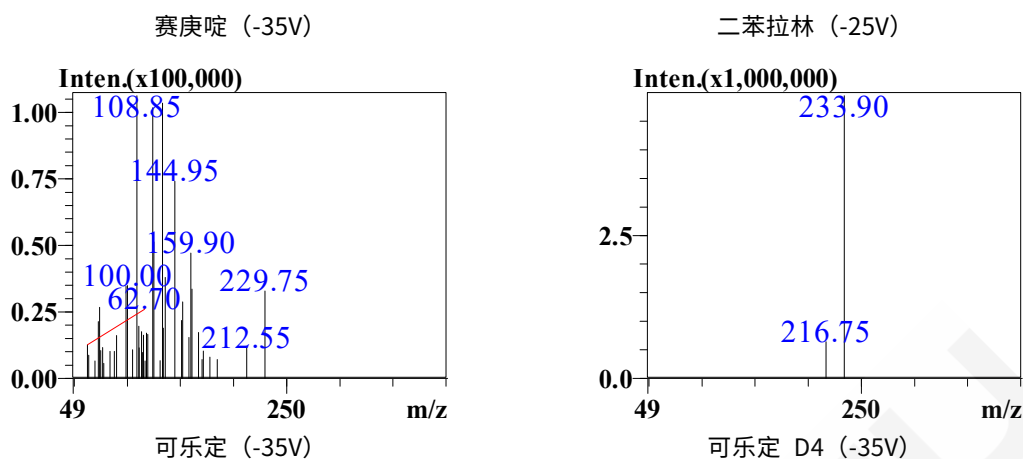


图 1. 赛庚啉和可乐定及相应内标 MS2 质谱图

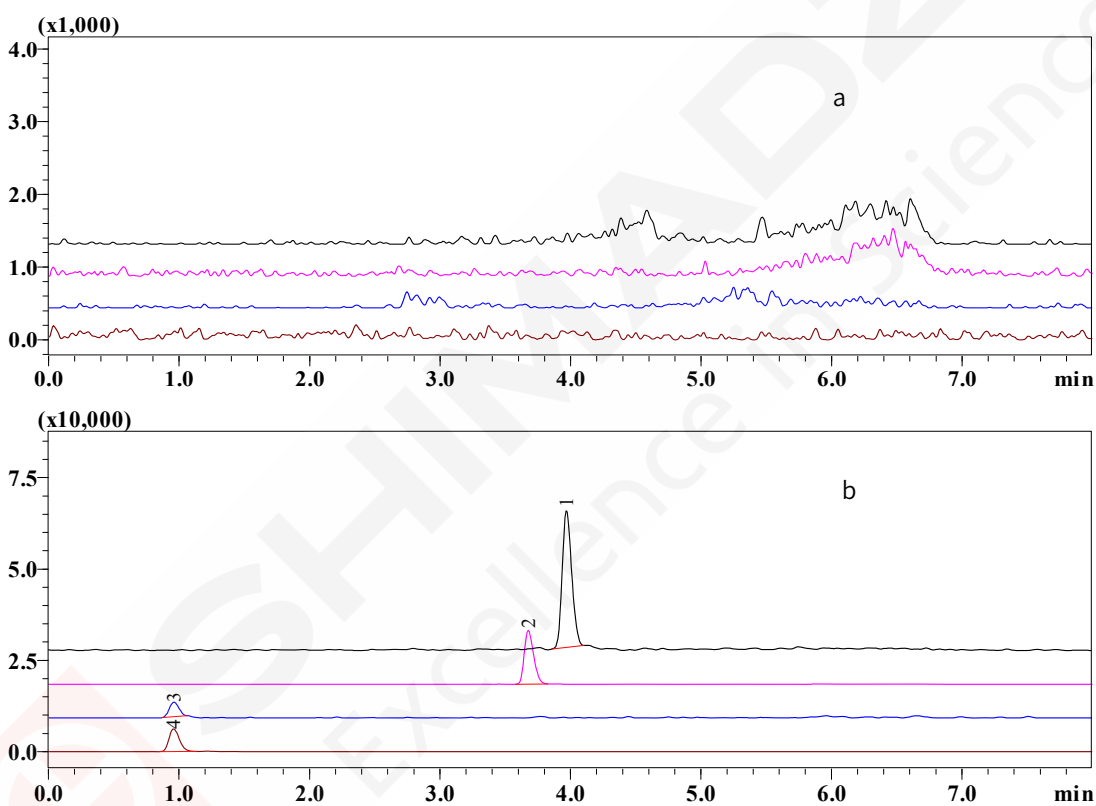


图 2. (a) 空白溶剂

(b) 0.5 µg/L 混标色谱图 (1、赛庚啉, 2、二苯拉林, 3、可乐定, 4、可乐定-D4)

2.2 线性关系及检出限、定量限

对系列混合标准曲线溶液进行分析, 以面积比为纵坐标, 浓度比为横坐标, 进行线性拟合。结果如表 3 所示, 赛庚啉及可乐定在 0.5-100 µg/L 范围内, 线性良好, 线性相关系数均 > 0.995。以 0.5 µg/L 数据为依据, 根据信噪比 S/N=3、S/N=10 计算检出限 (LOD)、定量限 (LOQ), 检出限和定量限均低于 0.5 µg/kg, 完全满足标准要求。

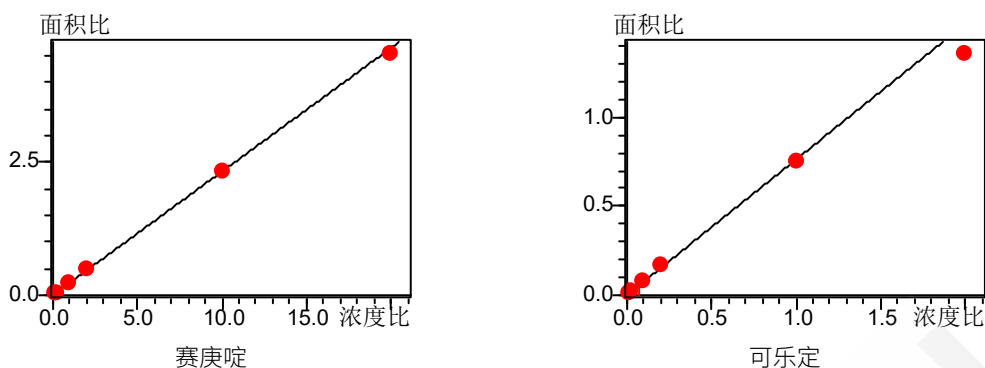


图 3. 赛庚啉和可乐定标准曲线

表 3. 标准曲线、检出限及定量限

中文名称	线性方程	相关系数 r	准确度 (%)	检出限 (μg/kg)	定量限 (μg/kg)
赛庚啉	$Y = (0.232364)X + (0.004906)$	0.999	96.7-104.7	0.01	0.03
可乐定	$Y = (0.760552)X + (0.00230698)$	0.997	90.4-108.2	0.12	0.36

2.3 重复性考察

对 5 μg/L 的标准溶液连续分析 6 次，计算保留时间和峰面积的 RSD。结果见表 4，赛庚啉、可乐定的保留时间 RSD < 0.2%，峰面积的 RSD < 4.1%。仪器稳定性良好。

表 4. 保留时间和面积 RSD

序号	中文名称	保留时间 RSD (%)	面积 RSD (%)
1	赛庚啉	0.08	0.81
2	二苯拉林(内标)	0.10	0.75
3	可乐定	0.19	4.05
4	可乐定-D4(内标)	0.12	1.17

2.4 加标回收率考察

在空白猪肉样品上进行低、高水平 (1 μg/kg、10 μg/kg) 的加标回收试验，每个浓度平行 3 次。结果见表 5，赛庚啉及可乐定平均回收率在 70.6~97.6% 之间，RSD 均小于 5.6%。

表 5. 猪肉加标回收率结果

中文名称	低水平 (1 μg/kg)		高水平 (10 μg/kg)	
	加标回收率/%	重复性/%	加标回收率/%	重复性/%
赛庚啉	70.9	1.7	70.6	4.3
可乐定	97.6	5.6	95.4	4.8

2.5 实际样品测定

取 2 份猪肉样品，各平行制备两份，上机测定，两份样品均未检出赛庚啉和可乐定，如图 4 所示。

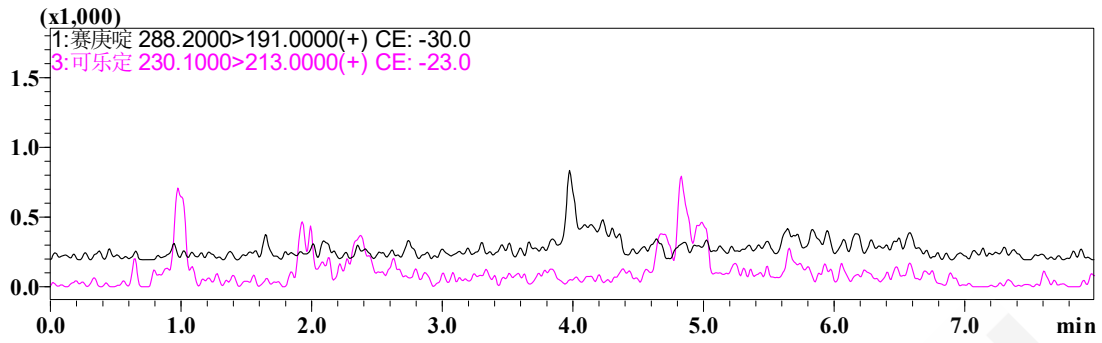


图 4. 猪肉样品色谱图

3 结论

本文使用岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱仪 LCMS-8045，参考《GB 31660.7-2019 猪组织和尿液中赛庚啉和可乐定残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》食品安全国家标准，建立了猪肉中赛庚啉和可乐定的测定方法。该方法可供相关行业参考。

LCMS-8045 分析动物毛发中赛庚啉

摘要: 本文使用岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱仪 LCMS-8045, 建立了动物毛发中赛庚啉的测定方法。毛发样品经 β -葡萄糖苷酶/芳基硫酸酯酶酶解, 酸性乙腈提取, SHIMSEN Styra MCX 固相萃取柱净化浓缩, 液相色谱-串联质谱测定, 以二苯拉林为内标, 定量测定。结果显示该方法线性良好, 标准曲线相关系数 0.999, 1.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标回收率为 105.7%。该方法可用于毛发样品中赛庚啉的定量。

关键词: LCMS-8045 兽药残留 毛发 α -受体激动剂 赛庚啉

赛庚啉是一种H1受体拮抗剂, 临床上用于荨麻疹、湿疹、过敏性和接触性皮炎, 同时, 赛庚啉具有抗5-羟色胺的作用, 可抑制下丘脑饱觉中枢而刺激食欲增加体重, 用于畜禽养殖可以促进生长。早在2010年, 农业部1519号公告已明确把可乐定、赛庚啉等列入了农业部《禁止在饲料和动物饮水中使用的物质》清单。农业农村部197-8-2019号公告《动物毛发中赛庚啉残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》, 规定了赛庚啉的含量测定方法。

本文参考197-8-2019公告, 使用LCMS-8045的建立了毛发中赛庚啉的测定方法。该方法灵敏度高、稳定, 适用于养殖过程监管。

1 实验部分

1.1 仪器

岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8045。具体配置为

输 液 泵	:LC-20ADXR×2	系 统 控 制 器	:CBM-20A
自 动 进 样 器	:SIL-30ACMP	三 重 四 极 杆 质 谱 仪	:LCMS-8045
柱 温 箱	:CTO-20AC	色 谱 工 作 站	:LabSolutions Ver. 5.97

1.2 分析条件

液相色谱条件:

色 谱 柱	: Shim-pack GIST (100 mm×2.1 mm I.D., 2.0 μm)
	岛津(上海)实验器材有限公司 P/N: 227-30001-04
流 动 相	: 流动相 A-0.1%甲酸水溶液 流动相 B-甲醇
流 速	: 0.3 mL/min
柱 温	: 40°C
进 样 量	: 5 μL
洗 针 模 式	: 甲醇/水=1:1
洗 脱 方 式	: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 30%, 时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
4.00	Pumps	Pump B Conc.	95
5.50	Pumps	Pump B Conc.	95
5.60	Pumps	Pump B Conc.	10
8.00	Controller	Stop	

质谱条件:

分 析 仪 器	: LCMS-8045	加 热 模 块 温 度	: 300°C
离 子 源	: ESI+(1.5kV)	DL 温 度	: 150°C
雾 化 气 流 速	: 3.0 L/min	离 子 源 温 度	: 400°C
加 热 气 流 速	: 10.0 L/min	扫 描 模 式	: 多反应监测(MRM)
干 燥 气 流 速	: 10.0 L/min	MRM 参 数	: 见表 2

表 2. MRM 参数

序号	化合物名称	英文名	前体离子	产物离子	CE
1	赛庚啉	Cyproheptadine	288.20	191.00	-30
			288.20	96.10*	-28
			288.20	215.00	-51
2	二苯拉林 (内标)	Apraclonidine	282.20	116.10	-32
			282.20	167.00*	-25

*定量离子对

1.3 标准品及试剂

标准品: 盐酸赛庚啉 (Cyproheptadine hydrochloride, $C_{21}H_{21}N \cdot HCl$, CAS 号:969-33-5) 含量 \geq 98.0%, 购自中检院。盐酸二苯拉林 (Diphenylpyraline, $C_9H_{13}NO \cdot HCl$, CAS 号:61-76-7) 含量 \geq 98%, 购自 TRC 公司。

试剂: SHIMSEN Styra MCX(岛津 (上海) 实验器材有限公司 PN: 380-00853-01)固相萃取柱, 室温保存。

甲醇: 色谱级, 室温保存。

超纯水: 蒸馏水由 Milli-Q Plus 水净化系统经去离子与二次净化制得。

甲酸: 色谱级, 纯度 98 %, 室温保存。

0.2M 乙酸铵缓冲溶液: 取 15.4 g 乙酸铵, 至 1000 mL 水中, 乙酸调节 pH 至 5.2

β -葡萄糖苷酶/芳基硫酸酯酶: sigma

1.4 样品及标准曲线配制**1.4.1 样品制备**

取毛发 0.2 g (准确至 ± 0.1 mg), 于 50 mL 离心管中, 加 25 μ L 二苯拉林内标工作液, 混匀。再加入 0.2M 乙酸铵缓冲溶液 5 mL, 加入 40 μ L β -葡萄糖苷酶/芳基硫酸酯酶, 混匀, 37°C 恒温孵育 16 h, 备用。

在酶解液中加入 500 μ L 5M 盐酸溶液, 终止酶解。再加入 5 mL 乙腈/0.1M 盐酸水 (9: 1, v/v) 提取液, 混匀, 离心。取上清液, 用 SHIMSEN Styra MCX(岛津 (上海) 实验器材有限公司, PN: 380-00853-01)固相萃

取柱净化浓缩。具体为: SHIMSEN Styra MCX 依次用甲醇、水各 3 mL 活化。取全部备用液过柱, 用水 3 mL、甲醇 3 mL 分别淋洗, 抽干, 5%氨水甲醇溶液 5 mL 洗脱, 收集洗脱液, 50°C氮吹至干, 500 μ L 流动相初始溶液复溶, 过 0.22 μ m 尼龙滤膜, 上机。

1.4.2 标准曲线配制

1.4.2.1 标准储备液 (1 mg/mL)

取盐酸赛庚啉、盐酸二苯拉林标准品各约 10 mg, 精密称定, 分别于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 配制成浓度分别为 1 mg/mL 的盐酸赛庚啉和盐酸二苯拉林标准贮备液。4°C下保存, 有效期 6 个月。

1.4.2.2 标准工作液 (10 μ g/mL)

精密量取盐酸赛庚啉标准贮备液各 10 μ L, 于 100 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 制成浓度为 100 ng/mL 的盐酸赛庚啉标准工作液。4°C下保存, 有效期 1 个月。

1.4.2.3 内标工作液

精密量取盐酸二苯拉林储备液 10 μ L, 于 100 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 配制成含盐酸二苯拉林 100 ng/mL 内标中间液。于 4°C下保存, 有效期 1 个月。

1.4.2.4 标准曲线制备

精密量取标准工作液和内标工作液适量, 用乙腈-0.1%甲酸溶液稀释成赛庚啉浓度为 0.1、0.2、0.5、1、5 和 10 ng/mL 系列标准工作液, 其中含盐酸二苯拉林的浓度的浓度均为 5 ng/mL, 临用现配。

2 结果与讨论

2.1 标品质谱图与色谱图

将 100 ng/mL 赛庚啉和二苯拉林溶液进样分析, 采用产物离子扫描模式确认碎片离子, 如下图 1 所示, 产物离子清晰可辨。对 0.1 ng/mL 标准溶液分析, MRM 色谱图如图 2 所示, 赛庚啉响应良好, S/N=40.25, 无通道干扰。

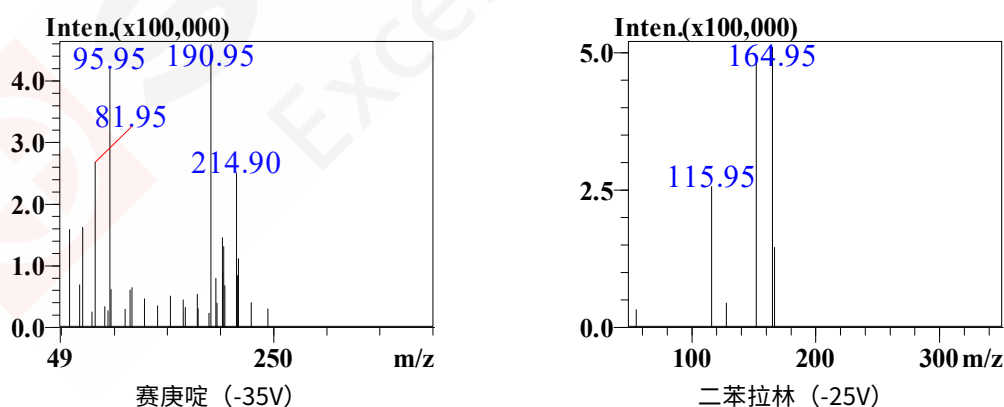


图 1. 赛庚啉和二苯拉林 MS² 质谱图

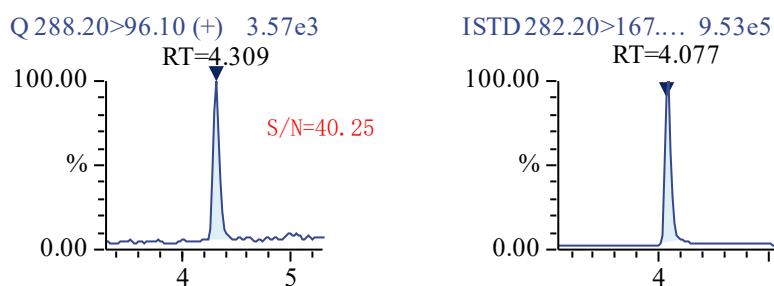


图 2. 0.5 ng/mL 赛庚啶和二苯拉林混标色谱图

2.2 线性关系及检出限、定量限

对系列标准曲线溶液进行分析，以面积比为纵坐标，浓度比为横坐标，进行线性拟合。结果如表 3 和图 3 所示，赛庚啶在 0.1-10 ng/mL 范围内，线性良好，线性相关系数 0.999。以 0.1 ng/mL 数据为依据，根据信噪比 S/N=3、S/N=10 计算检出限 (LOD)、定量限(LOQ)，检出限和定量限均低于 0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，满足测定需求。

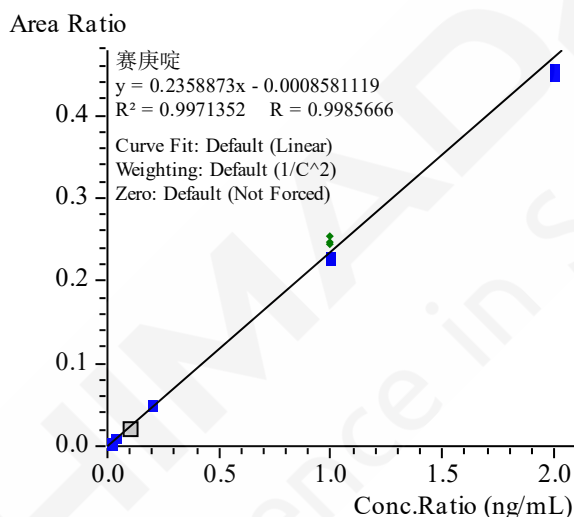


图 3. 标准曲线

表 3. 标准曲线、检出限及定量限

中文名称	线性方程	相关系数 r	准确度 (%)	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
赛庚啶	$Y = (0.2358873)X + (-0.00085811119)$	0.999	91.4-108.2	0.025	0.075

2.3 重复性考察

对 0.5 ng/mL 的标准溶液连续分析 6 次，计算保留时间和峰面积的 RSD。结果见表 4，保留时间 RSD=0.14%，峰面积的 RSD=1.92%。仪器稳定性良好。

表 4. 保留时间和面积 RSD

中文名称	保留时间 RSD(%)	面积 RSD (%)
赛庚啶	0.14	1.92

2.4 加标回收率考察

在空白毛发样品上进行 1.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的加标回收试验，平行 3 份。赛庚啶回收率 105.7%之间，RSD=3.43%。满足测定需要。

表 5. 饲料加标回收率结果

样品名称	加标浓度 (1.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	加标回收率/%	平均值%	RSD/%
加标 1	103.3		
加标 2	103.6	105.7	3.43
加标 3	109.7		

3 结论

本文使用岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱仪 LCMS-8045, 建立了毛发中赛庚啶测定方法。方法检出限 0.025 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限 0.075 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 在 0.1-10 ng/mL 范围内, 线性相关系数 0.999。该方法灵敏度高, 线性良好, 加标回收率高, 定量准确。该方法可供农口相关行业参考。

LCMSMS测定猪尿中巴氯酚残留

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测定猪尿中巴氯酚残留量的方法，该方法可在 8 min 内完成对待测物的检测。巴氯酚在 0.1 $\mu\text{g/L}$ ~50.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好，校准曲线线性相关系数 r 在 0.999 以上，且精密度和回收率实验结果良好。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于猪尿中的巴氯酚残留的快速检测。

关键词：三重四极杆质谱 猪尿 巴氯酚

巴氯酚 (Baclofen)，化学名4-氨基-3-(4-氯苯基)-丁酸 (结构式见图1)，是一种人用处方药，广泛应用于痉挛症的治疗，也是一种中枢神经镇静剂。研究表明，它具有安定、抗惊厥、促进生长激素分泌等作用。在动物上非法使用，具有抗热应激、增加采食量、促进动物生长及提高瘦肉率等功效。目前，巴氯酚并未被批准为饲料添加剂使用，动物性食品中的巴氯酚残留将对消费者造成较大危害。

本文参照国家标准检测方法《猪尿中巴氯酚残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》征求意见稿，试料中残留的巴氯酚，经酸化、提取，固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱法测定，内标法定量。此方法可从养殖源头监测兽药残留情况，另外具有灵敏度高，分析时间短，结果准确的特点，可应用于猪尿中的巴氯酚检测。

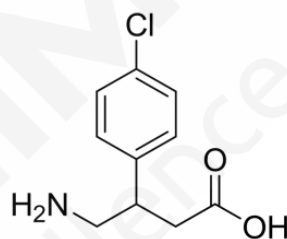


图 1. 巴氯酚的结构式

1 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 X3 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-40BX3	质谱仪：	LCMS-8050
柱温箱：	CTO-40S	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.99
在线脱气机：	DGU-405		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 2 μm , 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30001-04)

流动相：A 相-0.1%甲酸水溶液，B 相-甲醇

流 速：0.25mL/min

柱 温：35 °C

进样体积：5 μ L

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 20%，时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
3.00	Pumps	Pump B Conc.	50
4.00	Pumps	Pump B Conc.	90
4.50	Pumps	Pump B Conc.	90
5.00	Pumps	Pump B Conc.	20
8.00	Controller	Stop	

质谱条件

离 子 源	: ESI, 正离子模式	D L 管 温 度	: 250°C
离子源接口电压	: 0.5 kV	加 热 模 块 温 度	: 400°C
雾 化 气	: 氮气 3.0 L/min	接 口 温 度	: 300°C
干 燥 气	: 氮气 10.0 L/min	扫 描 模 式	: 多反应监测(MRM)
加 热 气	: 空气 10 L/min	M R M 参 数	: 见表 2
碰 撞 气	: 氩气 (230kPa)		

表 2. MRM 参数

化合物名称	英文名称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
巴氯芬	Baclofen	1134-47-0	214.0	151.0 179.0	-16	-18	-29
巴氯芬-D4	D4- Baclofen	/	218.0	155.1	-16	-19	-30

*表示定量离子

2 标准品溶液的配制及样品前处理

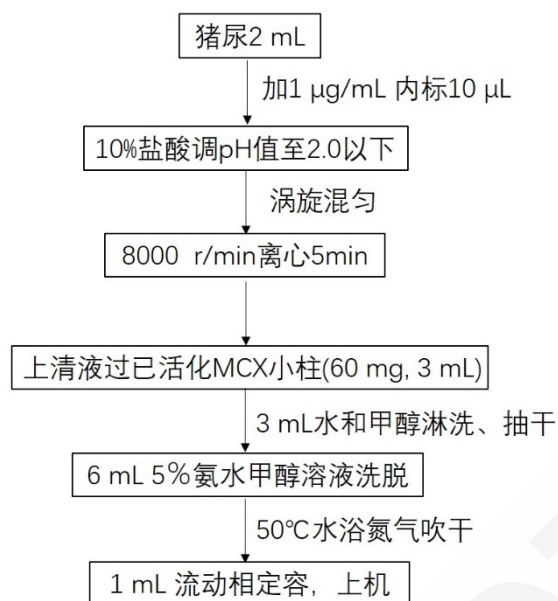
标准工作溶液配制:

巴氯芬标准贮备液 (1 mg/mL) : 取巴氯芬标准品约 10 mg, 精密称定, 于 10 mL 容量瓶中, 加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 1 mL 使溶解, 用甲醇稀释至刻度。

巴氯芬-D4 贮备液 (1 mg/mL) : 取巴氯芬-D4 对照品约 10mg, 精密称定, 于 10 mL 容量瓶中, 加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 1 mL 使溶解, 用甲醇稀释至刻度。

混合标准工作液: 分别精密量取巴氯芬和巴氯芬-D4 溶液适量, 用 0.2%甲酸-乙腈溶液 (8:2) 配制成含巴氯芬-D4 10 ng/mL, 含巴氯芬分别为 1.0、2.0、5.0、10.0、25.0 和 50.0 ng/mL 的系列混合标准工作液。

样品前处理:



3 结果与讨论

3.1 巴氯酚标准溶液谱图

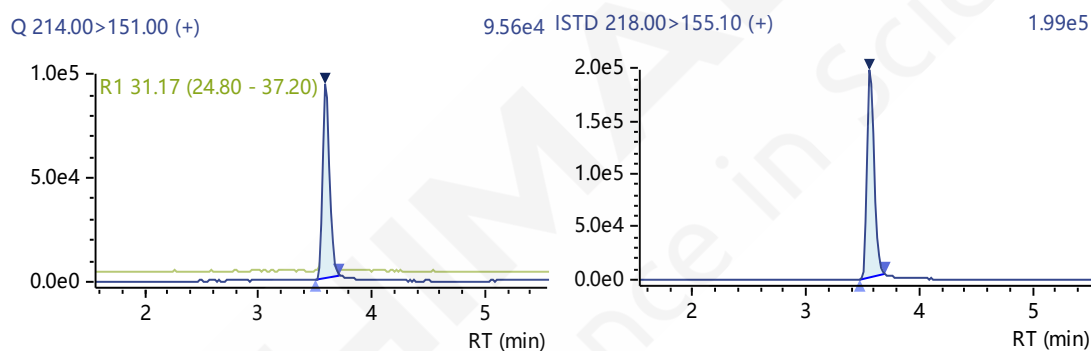


图 2. 1 ng/mL 巴氯酚标准品溶液质量色谱图 (内标巴氯酚-D₄ 10 ng/mL)

3.2 线性关系

将 1.0、2.0、5.0、10.0、25.0 和 50.0 ng/mL 的系列混合标准工作液 (内标 10 ng/mL) 按 1.2 中的分析条件进行测定, 内标法定量。以浓度比为横坐标, 峰面积比为纵坐标, 绘制校准曲线如图 3 所示; 所得校准曲线线性关系良好, 线性方程为 $Y = (0.4619613)X + (-0.03947536)$, 相关系数 $R^2 = 0.9994$, 准确度在 95.8~117.4% 之间。

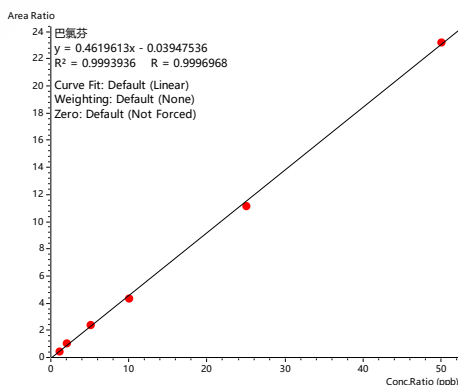


图 3. 巴氯酚校准曲线

3.3 精密度

对 1 µg/L、10 µg/L 和 50 µg/L 三个浓度标准工作液连续测定 6 次，考察仪器精密度。结果显示：不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05%~0.07%和 0.40%~2.84%之间，仪器精密度良好。

表 3. 巴氯酚保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

Conc.(µg/L)	RSD% (R.T.)	RSD%(Area)
1.0	0.06	2.84
10.0	0.07	0.40
50.0	0.05	1.30

3.4 专属性和灵敏度

图 4 和图 5 分别为空白样品和 0.05 µg/L 巴氯酚 MRM 色谱图，可见空白样品无干扰。根据检出限 MDL=3.3 S/N，定量限 LOQ=10 S/N 计算检出限和定量限，分别为 8.21 和 24.9 ng/L。

Q 214.00>151.00 (+)

9.91e2 Q 214.00>151.00 (+)

5.62e3

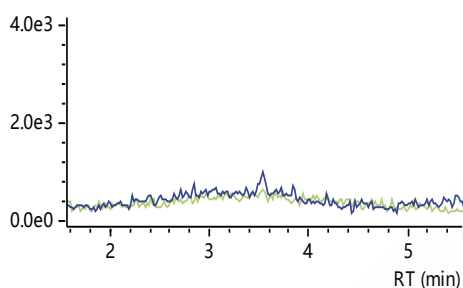


图 4. 空白样品 MRM 色谱图

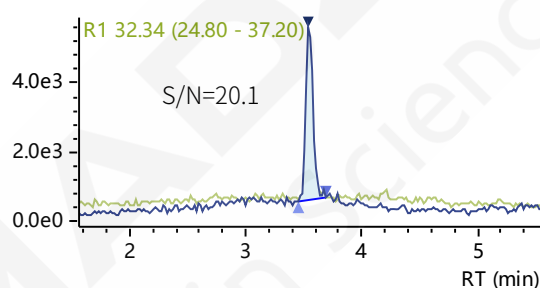


图 5. 0.05 µg/L 巴氯酚标样 MRM 色谱图

3.5 回收率

取空白猪尿样品 2 mL，加入少量巴氯酚标准工作液，使加标浓度为 1、5 和 25 ng/mL，样品经提取与净化后，按照 1.2 中的分析条件测定巴氯酚的加标回收率，平行测定 3 次。巴氯酚的回收率在 99.5~109.4% 之间，具体结果见表 4。

表 4. 巴氯酚保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

加标浓度(ng/mL)	回收率 (%)	RSD(%)
1.0	99.5	5.13
5	105.3	3.13
25	109.4	2.60

4 结论

依据国家标准《猪尿中巴氯酚残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》征求意见稿，建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪测定猪尿中巴氯酚残留的方法。猪尿经提取和净化后，用超高效液相色谱 LC-40 进行分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 进行定性和定量分析。巴氯酚在 1 µg/L~50 µg/L 浓度范围内线性良好；对不同浓度的标准工作液连续测定 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05%~0.07%和 0.40%~2.84%之间。添加浓度为 1、5 和 25 ng/mL 尿液样品，回收率在 99.5~109.4%之间。本方法操作简单，可用于猪尿中巴氯酚的快速高灵敏度检测。

LC-MS/MS测定牛奶中的雌激素残留

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测定牛奶中雌激素残留量的方法，8种雌激素在1 µg/L~200.0 µg/L浓度范围内线性良好，相关系数 r 均在0.999以上。在高、中、低三个浓度下，标样保留时间和峰面积的RSD%分别在0.04%~0.16%和1.13%~7.40%之间，仪器精密度良好。加标浓度为1、5和20 µg/kg的样品，回收率在81.9~122.6%之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于牛奶中雌激素的准确检测。

关键词：三重四极杆液质联用仪 牛奶 雌激素

雌激素是一类化学结构相似、具有生物活性的类固醇激素，具有影响动物性别分化、缩短动物生长周期的效应。雌激素在奶牛养殖业被广泛使用，以提高奶牛的产奶量，使得雌激素在牛奶中残留。近年来，已经有大量研究证明：雌激素通过食物链进入人体可能会诱发乳腺、子宫、睾丸、骨、肾和其他一些组织的癌症。中华人民共和国农业农村部公告第250号已明确将己二烯雌酚、己烯雌酚、己烷雌酚及其盐、酯列入食品动物中禁止使用的药品及其他化合物清单中。考虑到牛奶的主要消费对象为新生儿和青春期前儿童，他们处于生长发育的关键时期且对雌激素高度敏感。因此牛奶中各种类固醇类雌激素的分析和检测意义十分重要。

为了保障人们的食品安全，农业农村部首次发布了《GB 31658.9-2021 动物性食品及尿液中雌激素类药物残留的测定 液相色谱-串联质谱法》，本文参考该标准，建立了牛奶中雌激素残留的检测方法，试样中残留的药物经酶解后用乙腈提取，固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱仪测定，内标法定量。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 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-40DX3×2	质谱仪：	LCMS-8050
柱温箱：	CTO-40C	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.99
在线脱气机：	DGU-405		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：	Shim-pack Velox SP-C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.8 µm) 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-32001-03
流动相：	A相-水, B相-乙腈
柱温：	40 °C
流速：	0.4 mL/min

进样体积： 10 μ L
 洗脱方式： 梯度洗脱，初始浓度为 B 相 20%，时间程序见表 1

表 1.梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	20
7.00	Pumps	Pump B Conc.	55
8.00	Pumps	Pump B Conc.	55
8.10	Pumps	Pump B Conc.	20
10.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源	: ESI, 负离子模式	D L 管 温 度	: 250°C
接口电压	: -3.5 kV	加 热 模 块 温 度	: 400°C
雾化气	: 氮气 3.0 L/min	接 口 温 度	: 300°C
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	M R M 参 数	: 见表 2
碰撞气	: 氩气 (230kPa)		

表 2. MRM 参数

编号	化合物名称	英文名称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	雌三醇	Estriol	50-27-1	287.2	145.1*	19.0	37.0	30.0
					171.2	14.0	37.0	11.0
2	17 β -雌二醇	17 β -estradiol	50-28-2	271.2	145.1*	19.0	42.0	27.0
					183.1	13.0	40.0	17.0
3	17 α -雌二醇	17 α -estradiol	57-91-0	271.2	145.1*	10.0	40.0	14.0
					183.1	19.0	37.0	18.0
4	炔雌醇	Ethinylestradiol	57-63-6	295.2	145.1*	19.0	41.0	14.0
					159.1	13.0	43.0	12.0
5	雌酮	Estrone	53-16-7	269.2	145.1*	10.0	38.0	16.0
					159.2	10.0	34.0	18.0
6	己烯雌酚	Diethylstilbestrol	6898-97-1	267.2	237.1*	10.0	28.0	16.0
					251.2	12.0	24.0	17.0
7	己二烯雌酚	Dienestrol	84-17-3	265.2	93.1*	13.0	27.0	13.0
					249.2	13.0	26.0	17.0
8	己烷雌酚	Hexestrol	84-16-2	269.2	134.1*	10.0	15.0	13.0
					119.1	10.0	40.0	23.0
9	雌三醇-D3	Estriol-D3	/	290.2	173.2	20.0	38.0	11.0
10	17 β -雌二醇-D2	17 β -estradiol-D2	/	273.2	147.1	19.0	41.0	16.0
11	雌酮-D2	Estrone-D2	/	271.2	145.1	13.0	38.0	14.0
12	己烯雌酚-D8	Diethylstilbestrol-D8	/	275.2	259.1	10.0	27.0	12.0
13	己烷雌酚-D4	Hexestrol-D4	/	273.2	136.1	13.0	16.0	26.0

*表示定量离子

2. 标准品溶液的配制及样品前处理

标准工作溶液配制：

参考《GB 31658.9-2021 动物性食品及尿液中雌激素类药物多残留的测定 液相色谱—串联质谱法》中标准溶液的制备方法配制标准储备液及工作液。

校准曲线溶液的制备：使用 40%乙腈溶液将混合标准中间液逐级稀释成浓度为 1.0、2.0、5.0、20、50 和 200 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准工作曲线溶液，每一标准工作溶液含各内标浓度均为 5.0 $\mu\text{g/L}$ 。样品前处理：

参考《GB 31658.9-2021 动物性食品及尿液中雌激素类药物多残留的测定 液相色谱—串联质谱法》样品前处理方法。

3 结果与讨论

3.1 雌激素标准溶液谱图

配制的 1 ng/mL 混合标准溶液，上机分析，得到 8 种雌激素药物的 MRM 色谱图，详见图 1，色谱峰形良好，通道无干扰。

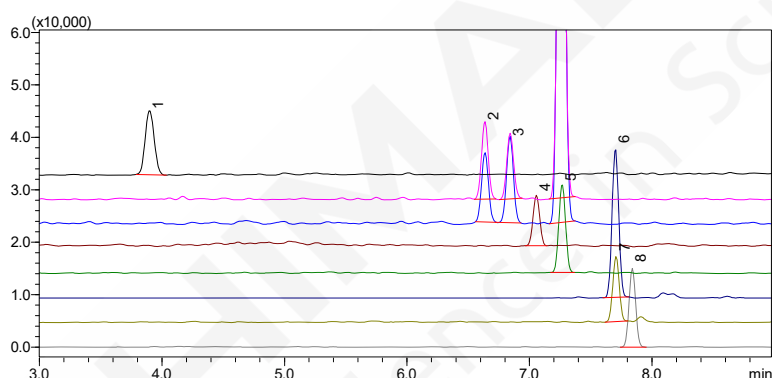
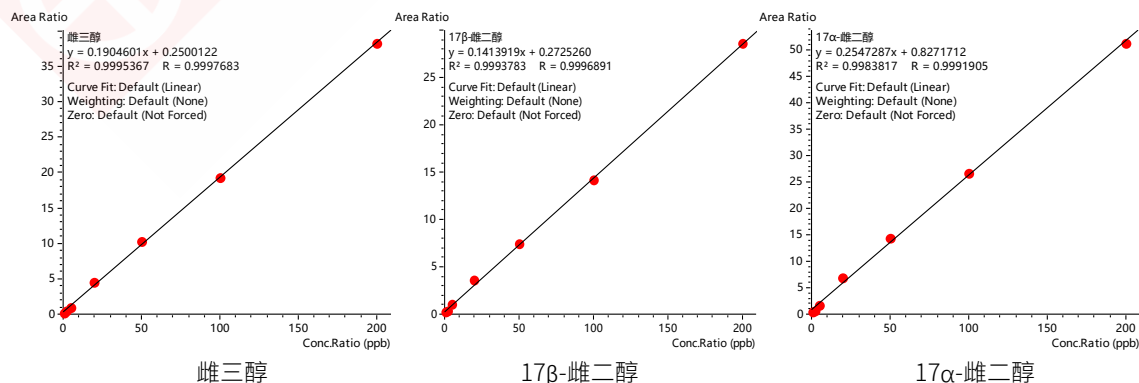


图 1. 1 ng/mL 8 种雌激素标准品溶液 MRM 色谱图

(1、雌三醇；2、17 β -雌二醇；3、17 α -雌二醇；4、炔雌醇；5、雌酮；6、己烯雌酚；7、己二烯雌酚；8、己烷雌酚)

3.2 线性关系

将 1.0、2.0、5.0、20、50、100 和 200 $\mu\text{g/L}$ 的系列混合标准工作液（内标 5 $\mu\text{g/L}$ ）按 1.2 中的分析条件进行测定，内标法定量。以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示。雌激素校准曲线及检测限、定量限的结果见表 3。



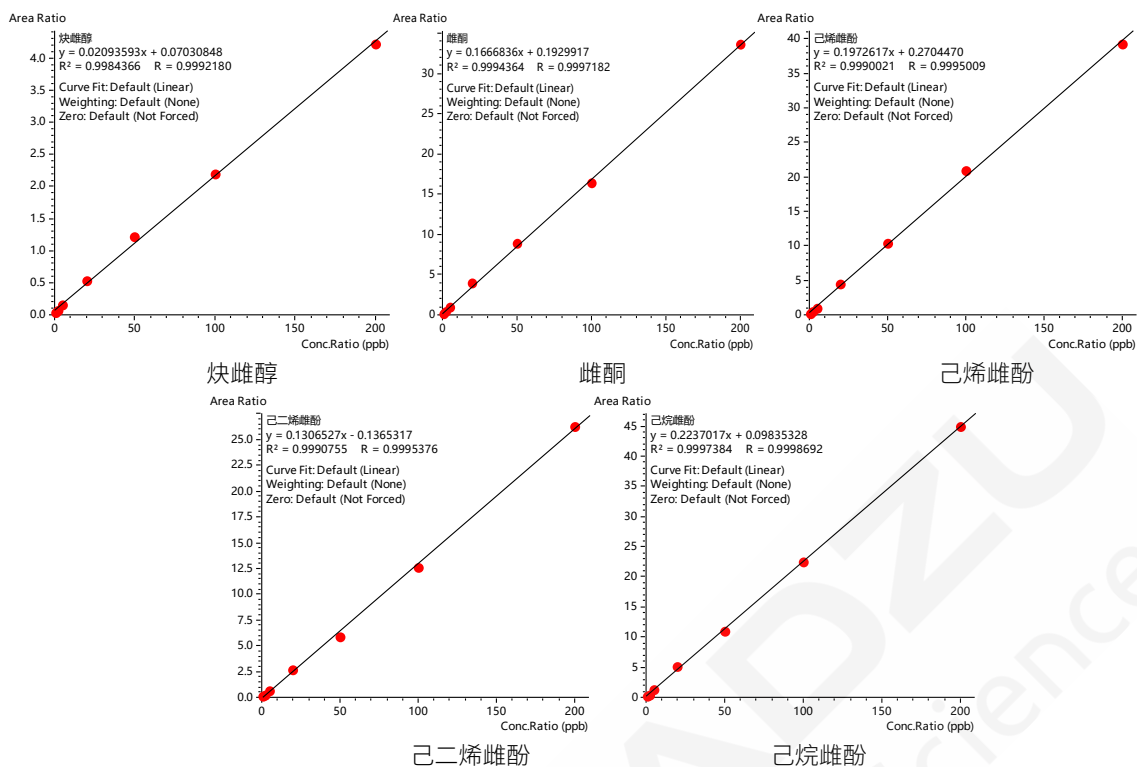


图 2. 雌激素校准曲线

表 3. 8 种雌激素校准曲线及检测限、定量限

编号	化合物	校准曲线	相关性系数 R	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
1	雌三醇	$Y = (0.190460)X + (0.250012)$	0.9998	0.10	0.33
2	17β-雌二醇	$Y = (0.141392)X + (0.272526)$	0.9997	0.07	0.25
3	17α-雌二醇	$Y = (0.254729)X + (0.827171)$	0.9992	0.05	0.17
4	炔雌醇	$Y = (0.0209359)X + (0.0703085)$	0.9992	0.09	0.31
5	雌酮	$Y = (0.166684)X + (0.192992)$	0.9997	0.02	0.07
6	己烯雌酚	$Y = (0.197262)X + (0.270447)$	0.9995	0.02	0.05
7	己二烯雌酚	$Y = (0.130653)X + (-0.136532)$	0.9995	0.05	0.18
8	己烷雌酚	$Y = (0.223702)X + (0.0983533)$	0.9999	0.01	0.02

3.3 精密度

对 1 μg/L、20 μg/L 和 200 μg/L 三个浓度标准工作液连续测定 6 次，考察仪器精密度。结果显示：不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.04%~0.16%和 1.13%~7.40%之间，仪器精密度良好。

表 4. 雌激素保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

编号	化合物	RSD% (1 μg/L)		RSD% (20 μg/L)		RSD% (200 μg/L)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	雌三醇	0.08	4.58	0.16	2.70	0.04	1.78
2	17β-雌二醇	0.04	7.40	0.09	3.70	0.04	3.76
3	17α-雌二醇	0.05	5.30	0.09	1.13	0.04	2.58
4	炔雌醇	0.04	5.90	0.09	2.12	0.04	1.89

5	雌酮	0.05	5.32	0.08	2.99	0.04	2.86
6	己烯雌酚	0.05	3.75	0.08	2.63	0.04	1.41
7	己二烯雌酚	0.05	5.49	0.08	1.50	0.04	1.78
8	己烷雌酚	0.04	6.88	0.08	2.17	0.04	2.42

3.4 回收率

取空白牛奶 5 g，加入少量雌激素标准工作液，使加标浓度为 1、5 和 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，样品经提取与净化后，按照 1.2 中的分析条件测定雌激素的加标回收率，平行测定 3 次。8 种雌激素的回收率在 81.9~122.6% 之间，具体结果见表 5。

表 5. 雌激素回收率结果(n=3)

编号	化合物	加标浓度 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$		加标浓度 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$		加标浓度 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
		回收率%	RSD%	回收率%	RSD%	回收率%	RSD%
1	雌三醇	88.6	4.30	91.9	0.90	98.7	2.42
2	17 β -雌二醇	99.0	7.21	110.8	1.72	103.8	1.69
3	17 α -雌二醇	102.5	6.81	97.3	5.31	98.9	2.41
4	炔雌醇	98.2	7.01	103.7	7.31	96.2	3.31
5	雌酮	97.4	3.63	100.9	1.86	91.5	1.05
6	己烯雌酚	81.9	5.59	87.7	6.97	93.3	2.85
7	己二烯雌酚	122.6	2.77	110.6	8.50	104.6	3.25
8	己烷雌酚	93.4	2.28	92.7	4.52	89.9	1.71

4 结论

依据国家标准《GB 31658.9-2021 动物性食品及尿液中雌激素类药物多残留的测定 液相色谱-串联质谱法》，建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪测定牛奶中雌激素残留的方法。样品经酶解后用乙腈提取，固相萃取柱净化，三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 进行检测，内标法定量。8 种雌激素在 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ ~200.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性良好，相关系数 r 均在 0.999 以上。加标浓度为 1、5 和 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品，回收率在 81.9~122.6% 之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于牛奶中雌激素的准确检测。

LC-MS/MS 测定牛奶中的 α -群勃龙和 β -群勃龙药物残留

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测定牛奶中 α -群勃龙和 β -群勃龙药物残留量的方法。两个化合物在 2 $\mu\text{g/L}$ ~100.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好, 相关系数 r 均在 0.999 以上。在高、中、低三个浓度下, 基质标样保留时间和峰面积的 RSD% 分别在 0.04%~0.07% 和 1.14%~2.33% 之间, 仪器精密度良好。加标浓度为 1 和 5 $\mu\text{g/kg}$ 的样品, 回收率在 73.0~79.8% 之间。该方法灵敏度高, 分析时间短, 结果准确, 可用于牛奶中的 α -群勃龙和 β -群勃龙药物残留的准确定量检测。

关键词: 三重四极杆液质联用仪 牛奶 α -群勃龙 β -群勃龙

群勃龙 (Trenbolone) 的化学名称为去甲雄三烯醇酮, 是广泛应用的甾类同化激素, 具有促进畜禽生长、提高饲料转化率等功能, 能促进动物体内蛋白的沉积, 在养殖业中普遍使用。但是激素的滥用会对动物、人及生态环境带来危害, 长期摄入同化甾体激素会导致动物机体代谢紊乱、发育异常, 甚至肿瘤。中华人民共和国农业农村部公告第250号已明确将群勃龙列入《食品动物中禁止使用的药品及其他化合物清单》。为了保障人们的食品安全, 农业农村部首次发布了《GB 31658.14-2021 动物性食品中 α -群勃龙和 β -群勃龙残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》。

本文参考该标准, 建立了牛奶中 α -群勃龙和 β -群勃龙残留量的测定的方法。试料中残留的 α -群勃龙和 β -群勃龙在弱酸性条件下酶解, 用叔丁基甲醚提取, 正己烷除脂, HLB和氨基固相萃取柱净化, 液相色谱-串联质谱法上机测定, 方法灵敏度高, 定量准确。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 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-40DX3 \times 2	质谱仪	: LCMS-8050
柱温箱	: CTO-40C	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.99
在线脱气机	: DGU-405		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱 : Shim-pack GIST C18 (100 mm \times 2.1 mm I.D., 2 μm)
岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30001-04

流动相 : A 相-水, B 相-乙腈

柱温 : 40 $^{\circ}\text{C}$

流速 : 0.3 mL/min

进样体积 : 2 μL

洗脱方式 : 梯度洗脱, 初始 45%B, 时间程序见表 1

表 1. 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
2.50	Pumps	Pump B Conc.	45
3.50	Pumps	Pump B Conc.	90
3.51	Pumps	Pump B Conc.	90
6.50	Controller	Stop	

质谱条件

离子源	: ESI, 正离子模式	D L 管温度	: 250°C
接口电压	: 2 kV	加热模块温度	: 400°C
雾化气	: 氮气 3.0 L/min	接口温度	: 300°C
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	: 氦气 (230kPa)		

表 2. MRM 参数

No.	中文名称	英文名称	化学式	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	α -群勃龙	17 α -	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	80657-17-6	271.2	199.2*	-10.0	-24.0	-21.0
		Trenbolone				253.2	-10.0	-21.0	-17.0
2	β -群勃龙	17 β -	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	10161-33-8	271.2	199.2*	-10.0	-24.0	-21.0
		Trenbolone				253.2	-10.0	-21.0	-17.0

*表示定量离子

2 标准品溶液的配制及样品前处理

标准工作溶液配制:

取 α -群勃龙及 β -群勃龙浓度为 1 mg/mL 的标准储备液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 配制成浓度为 100 μ g/mL 的混合标准中间液。分别精密量取混合标准中间液适量, 用甲醇稀释配制成浓度分别为 20、50、100、200、500 和 1000 ng/mL 的混合标准工作液。

样品前处理:

参考 GB 31658.14-2021《动物性食品中 α -群勃龙和 β -群勃龙残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》中试样的处理与净化方法。

基质加标校准曲线溶液的制备:

准确量取混合标准工作液适量, 分别加入 6 份空白试料中, 添加浓度分别为 0.4、1、2、4、10 和 20 μ g/kg, 充分混匀。按酶解、提取和净化步骤操作, 制成浓度分别为 2、5、10、20、50 和 100 ng/mL 的系列基质添加标准溶液。

3 结果与讨论

3.1 α -群勃龙及 β -群勃龙标准溶液谱图

图 1 为 2 ng/mL α -群勃龙及 β -群勃龙标准溶液的 MRM 色谱图, 色谱峰分离良好, 通道无干扰。

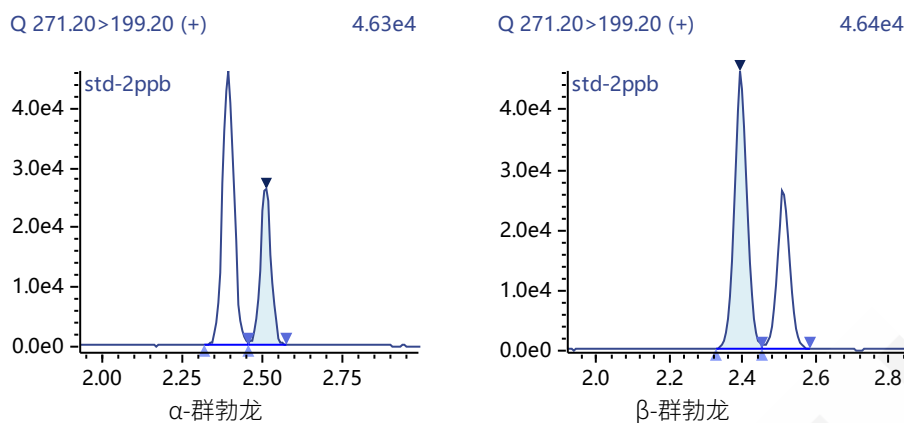


图 1. 2 ng/mL α -群勃龙及 β -群勃龙标准溶液 MRM 色谱图

3.2 线性关系

将 2、5、10、20、50 和 100 ng/mL 的基质混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示。 α -群勃龙及 β -群勃龙校准曲线及在基质中的检测限、定量限的结果见表 3。

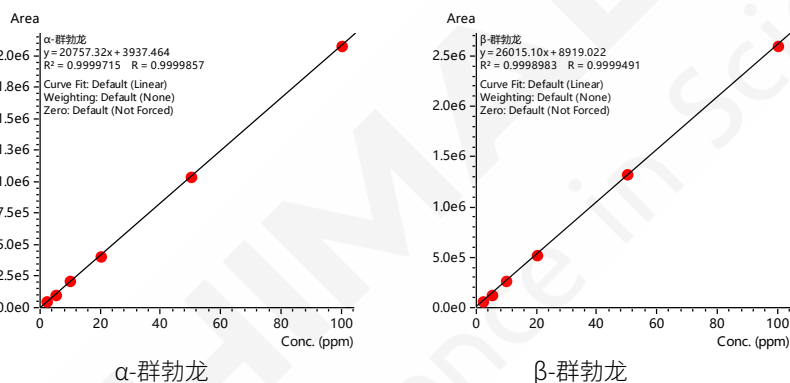


图 2. α -群勃龙及 β -群勃龙校准曲线

表 3. α -群勃龙及 β -群勃龙校准曲线及检测限、定量限

编号	化合物	校准曲线	相关性系数 R	准确度%	检测限 ng/mL	定量限 ng/mL
1	α -群勃龙	$Y = (20757.3)X + (3937.46)$	0.9999	96.8~105.8	0.21	0.63
2	β -群勃龙	$Y = (26015.1)X + (8919.02)$	0.9999	94.1~102.4	0.19	0.56

3.3 精密度

浓度为 2、10 $\mu\text{g/L}$ 和 100 $\mu\text{g/L}$ 基质标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度。不同浓度样品中待测物保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.04%~0.07%和 1.14%~2.33%之间，仪器精密度良好。

表 4. α -群勃龙及 β -群勃龙保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

编号	化合物	RSD% (2 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (10 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (100 $\mu\text{g/L}$)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	α -群勃龙	0.07	1.78	0.04	2.23	0.04	1.14
2	β -群勃龙	0.05	2.33	0.04	2.05	0.04	1.74

3.4 回收率

取空白牛奶 5 g，加入混标工作液，使加标浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，样品经提取与净化后，按照 1.2 中的分析条件测定 α -群勃龙及 β -群勃龙的加标回收率，平行测定 3 次。两个化合物的回收率在 73.0~79.8% 之间，具体结果见表 5。

表 5. α -群勃龙及 β -群勃龙回收率结果(n=3)

编号	化合物	加标浓度 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$		加标浓度 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
		回收率%	RSD%	回收率%	RSD%
1	α -群勃龙	73.0	8.84	75.4	4.30
2	β -群勃龙	75.2	6.45	79.8	2.63

4 结论

依据国家标准《GB 31658.14-2021 动物性食品中 α -群勃龙和 β -群勃龙残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪测定牛奶中 α -群勃龙和 β -群勃龙残留的方法。样品经酶解后用叔丁基甲醚提取，HLB 和氨基 SPE 小柱净化，三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 进行检测。 α -群勃龙和 β -群勃龙在 2 $\mu\text{g}/\text{L}$ ~100.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性良好，相关系数 r 均在 0.999 以上。加标浓度为 1 和 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品，回收率在 73.0~79.8% 之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于牛奶中群勃龙残留的准确检测。

LC-MS/MS 法测定动物性食品中赛拉嗪及代谢物 2,6-二甲基苯胺的残留量

摘要: 本文利用岛津 LCMS-8050 液相色谱-质谱联用仪, 参考食品安全国家标准 GB 31658.15-2021《动物性食品中赛拉嗪及代谢物 2,6-二甲基苯胺残留量的测定 液相色谱图-串联质谱法》建立测定方法。该方法分析灵敏度高, 赛拉嗪及代谢物 2,6-二甲基苯胺的仪器定量限值分别为 0.04 和 0.12 ng/mL, 大大低于标准限值; 在 0.2-50 ng/mL 校准浓度范围内, 线性关系良好, 线性相关系数均大于 0.9990。在精密度上, 赛拉嗪和 2,6-二甲基苯胺的标准溶液连续进样 6 针的保留时间和峰面积的相对标准偏差均小于 0.07% 和 2.04%, 加标回收率范围也分别在 105.4%~110.7% 和 78.50%~87.9% 之间, 回收率高。该分析方法灵敏度高, 准确可靠, 可作为相关行业检测参考。

关键词: LCMS-8050 赛拉嗪 2,6-二甲基苯胺 动物性食品

技术特点:

- ❖ 该方法分析灵敏度高, 仪器定量限值低, 灵敏度高于标准方法。
- ❖ 分析速度快, 7 分钟完成分析, 优于标准方法。

赛拉嗪 (Xylazine) 是一种高效的 α_2 -肾上腺素兴奋剂, 可激发中枢神经 α_2 -肾上腺素受体, 减少中枢神经系统中去甲肾上腺素和多巴胺的释放而起到镇静、肌肉松弛和痛感降低的作用, 但同时会出现呼吸系统抑制、心动过缓和低血压等症状。因其良好的麻醉作用, 赛拉嗪被广泛用于人, 甚至猪、牛、羊等动物的镇静与镇痛药, 在人或动物服用赛拉嗪后, 会在体内吸收、代谢或快速分解, 其中主要代谢物为 2,6-二甲基苯胺 (2,6-Dimethylaniline, DMA), 因 DMA 具有基因毒性及致癌作用, 已被明禁限量使用。

在赛拉嗪测试方法上, 有液相色谱法、气相色谱法、气质联用和液质联用法, 但是赛拉嗪与其代谢物 DMA 一同测试的方法仅有液质联用法。

本文使用岛津 LCMS-8050 三重四极杆液质联用仪, 参考食品安全国家标准 GB 31658.15-2021《动物性食品中赛拉嗪及代谢物 2,6-二甲基苯胺残留量的测定 液相色谱图-串联质谱法》建立测定方法, 供相关行业检测人员参考使用。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050, 配置信息如下:

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A 5R
输液泵	: LC-30AD×2	柱温箱	: CTO-20AC
自动进样器	: SIL-30AC	质谱仪	: LCMS-8050
色谱工作站	: Labsolutions Ver.5.99		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST AQ-C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 μ m, 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N:227-30807-02)

流 动 相 : A-0.1%甲酸水; B-乙腈

进 样 体 积 : 5 μ L 柱 温 : 40 $^{\circ}$ C

流 速 : 0.3 mL/min 洗 针 液 : 甲醇/水=1:1 (v:v)

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 20%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

时间(min)	单元	处理命令	值
3.10	泵	B Conc	60
3.20	泵	B Conc	90
4.20	泵	B Conc	90
4.30	泵	B Conc	20
7.00	控制器	STOP	

质谱条件

离子化模式 : ESI+

雾化气流速 : 3.0 L/min

接口电压 : 0.5 kV

干燥气流速 : 10.0 L/min

接口温度 : 300 $^{\circ}$ C

加热气流速 : 10.0 L/min

D L 温度 : 150 $^{\circ}$ C

碰撞气 : 氦气

加热模块温度 : 300 $^{\circ}$ C

扫描模式 : 多反应监测(MRM)

M R M 参 数 : 见表2

表 2. MRM 参数

序号	中文名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE	Q3 Pre Bias (V)
1	赛拉嗪	221.15	90.10*	-11.0	-23.0	-10.0
			164.10	-11.0	-27.0	-29.0
2	2,6-二甲基苯胺	122.15	105.10*	-14.0	-20.0	-11.0
			77.10	-13.0	-28.0	-30.0

*代表定量离子对。

2. 样品前处理

2.1 标液配制

储备溶液 (1 mg/mL): 分别精密称定赛拉嗪和 2,6-二甲基苯胺固体粉末, 使用乙腈溶解于棕色瓶中, 配制成浓度为 1 mg/mL 的储备溶液, 置于-18 $^{\circ}$ C保存备用。

校准曲线溶液配制: 使用乙腈溶剂, 分别取赛拉嗪和 2,6-二甲基苯胺的储备溶液, 混合, 再稀释, 配制获得浓度分别为 0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10、20 和 50 ng/mL 的系列标准工作液。

2.2 样品处理

提取：首先将样本捣碎，称取试样 5 g（准确至±1%）于 50 mL 离心管中，加无水硫酸钠 2 g、乙腈 10 mL，涡旋混匀，振荡 10 min，4°C、10000 r/min 离心 10 min（脂肪试样加 5%氨水乙腈溶液 10 mL，于 4°C、8000 r/min 离心 10 min），移取上清液。重复提取一次，合并上清液。40°C 氮吹近干，加 1.0 mL 乙腈溶解，再次涡旋混匀备用。

净化：取备用液，加乙腈饱和的正己烷 0.5 mL，涡旋混匀，4°C、10000 r/min 离心 5 min，取下层溶液 200 μL，于 5 mL 离心管中，加水 800 μL，涡旋混匀，4°C、10000 r/min 离心 5 min，取溶液，0.22 μm 滤膜过滤，供测定。

3 结果与讨论

3.1 MRM 色谱图

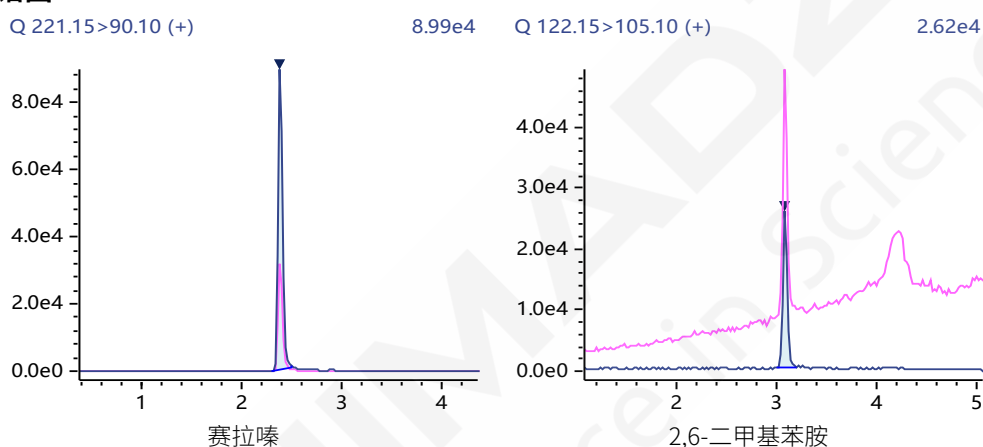


图 1. 标准品溶液 MRM 色谱图 (0.5 ng/mL)

3.2 校准曲线

对校准曲线溶液按 1.2 条件进行分析，外标法制作校准曲线。赛拉嗪和 2,6-二甲基苯胺在校准曲线浓度范围内线性良好，相关系数分别为 0.9996 和 0.9992，准确度分别在 96.3%~103.4%和 96.0%~105.7%之间。根据 S/N=10 计算定量限 (ASTM 法)，赛拉嗪和 2,6-二甲基苯胺的定量限分别为 0.04 ng/mL 和 0.12 ng/mL。具体结果见图 2 及表 3。

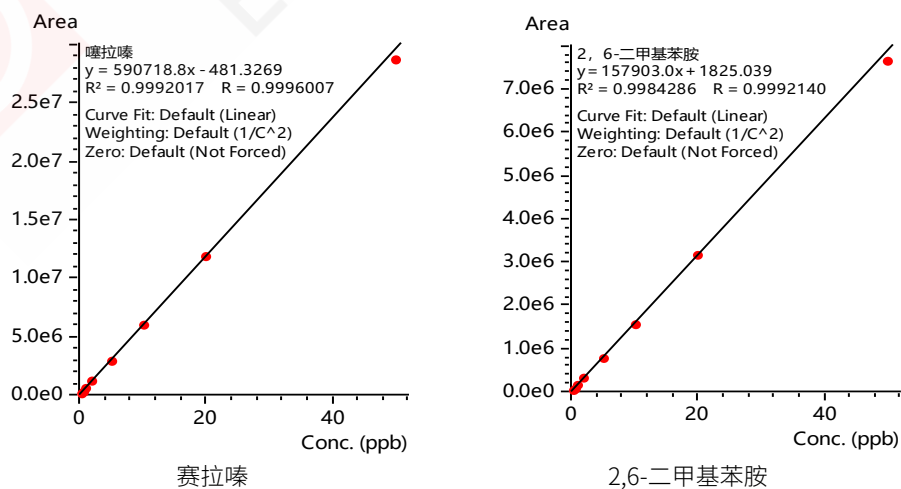


图 2. 校准曲线 (权重 $1/c^2$)

表 3. 相关系数及检出限

编号	中文名称	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度(%)	定量限 (ng/mL)
1	赛拉嗪	0.5~50.0	0.9996	96.3~103.4	0.04
2	2,6-二甲基苯胺	0.5~50.0	0.9992	96.0~105.7	0.12

3.3 重复性实验

分别取三个不同浓度的标准工作溶液连续平行测定 6 次, 考察仪器精密度。结果显示, 赛拉嗪和 2,6-二甲基苯胺保留时间的相对标准偏差分别在 0.06%~0.14%和 0.04%~0.07%之间, 峰面积的相对标准偏差分别在 0.44%~1.31%和 1.11%~2.04%之间, 仪器精密度良好(见表 4)。

表 4. 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

编号	中文名称	0.2 ng/L (RSD%)		0.5 ng/L (RSD%)		20 ng/L (RSD%)	
		R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	赛拉嗪	0.06	1.31	0.06	0.84	0.14	0.44
2	2,6-二甲基苯胺	0.04	1.54	0.05	2.04	0.07	1.11

3.4 加标回收率

按照 1.2 分析条件和 2.2 前处理条件, 对猪肉的实际样品与样品加标进行前处理。根据标准限值要求, 选择 3 个加标浓度 (溶液浓度分别为 0.2 ng/mL、1.0 ng/mL 和 5.0 ng/mL), 每个浓度平行测试 3 个。猪肉样本未检出, 赛拉嗪和 2,6-二甲基苯胺的平均回收率范围分别在 105.4%~110.7%和 78.50%~87.9%之间。具体结果图 3-4 和表 5。

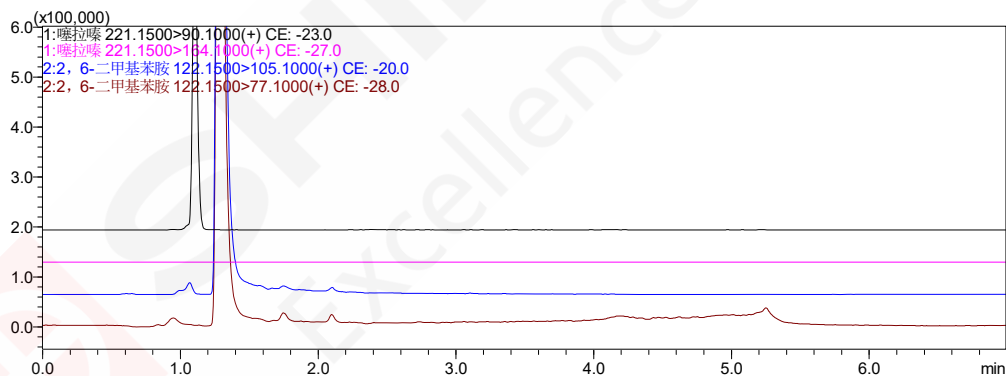


图 3. 猪肉样品的色谱图 (未检出)

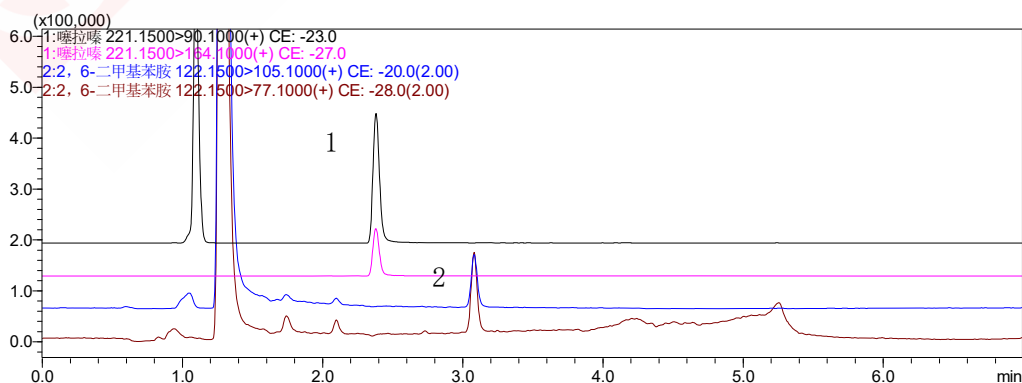


图 4. 1.0 ng/mL 加标样品的色谱图

表 5. 各组分添加回收率结果

编号	化合物名称	平均回收率 (%)		
		加标浓度 0.2 ng/mL	加标浓度 1.0 ng/mL	加标浓度 5.0 ng/mL
1	赛拉嗪	105.4	108.3	110.7
2	2,6-二甲基苯胺	78.5	84.2	87.9

4 结论

本文参考标准方法 GB 31658.15-2021《动物性食品中赛拉嗪及代谢物 2,6-二甲基苯胺残留量的测定 液相色谱图-串联质谱法》，采用岛津 LCMS-8050 三重四极杆液质联用仪，建立检测猪肉中赛拉嗪和 2,6-二甲基苯胺的分析方法。该分析方法灵敏度高，重复性好，准确度高，稳定可靠。可供相关行业检测人员参考使用。

LC-MS/MS检测牛奶中氯前列醇残留

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测定牛奶中氯前列醇残留量的方法。氯前列醇在 0.2 µg/L~100.0 µg/L 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 0.05%~0.12% 和 0.53%~4.24% 之间, 仪器精密度良好。加标浓度为 1、10 和 100 µg/kg 的样品, 回收率在 95.7%~102.7% 之间。该方法灵敏度高, 分析时间短, 结果准确, 可用于牛奶中氯前列醇残留量的准确定量检测。

关键词: 三重四极杆液质联用仪 牛奶 氯前列醇

技术特点:

- ❖ 相较《GB 31659.6-2022》, 本方法中氯前列醇灵敏度更高, 并具有更宽的线性范围。
- ❖ 使用自动进样器的同时注入预处理功能配制基质匹配标准曲线。

氯前列醇是一种生殖激素, 可诱导调控奶牛的发情周期。为提高奶牛生产性能, 借助外源性激素作用于母牛卵巢, 可使其按人为设定的预定要求发生变化, 经过孕激素处理的母牛卵巢机能都处于相同阶段, 从而达到发情同期化, 集中妊娠、集中分娩。但牛奶中的残留性激素对人体的生殖系统和生殖功能造成严重影响, 食用残留性激素的牛奶或其制品, 显著增加患前列腺癌或更年期乳腺癌的几率。

为了保障人们的食品安全, 农业农村部首次发布了《GB 31659.6-2022 食品安全国家标准 牛奶中氯前列醇残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》。本文参考标准, 建立了牛奶中氯前列醇药物残留的检测方法, 该方法快速、简单、灵敏, 可实现对牛奶中氯前列醇的有效检测。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 X3 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	质谱仪	: LCMS-8050
柱温箱	: CTO-40S	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.114
在线脱气机	: DGU-405		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱	: Shim-pack Scepter C18-120 (100 mm × .2.1 mm I.D, 1.9 µm) 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-31012-05		
流动相	: A相-5 mM 甲酸铵水溶液, B相-乙腈		
柱温	: 35 °C	流速	: 0.3 mL/min

进样体积：5 μL

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 10%，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
3.00	Pumps	Pump B Conc.	90
4.00	Pumps	Pump B Conc.	90
4.01	Pumps	Pump B Conc.	10
7.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源	: ESI, 负离子模式	D L 管温度	: 250°C
接口电压	: 0.5 kV	加热模块温度	: 400°C
雾化气	: 氮气 3.0 L/min	接口温度	: 300°C
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	M R M 参数	: 见表 2
碰撞气	: 氩气 (230kPa)		

表 2. MRM 参数

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)
氯前列醇	C ₂₂ H ₂₉ ClO ₆	40665-92-7	423.1	127.0*	12.0	28.0	24.0
				295.0	15.0	17.0	21.0

*表示定量离子

2 样品前处理

参考《GB 31659.6-2022 食品安全国家标准 牛奶中氯前列醇残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》中 7.1 和 7.2 样品提取与净化的方法。

3 结果与讨论

3.1 专属性

空白样品和 0.2 ng/mL 氯前列醇药物的 MRM 色谱图如图 1 所示，色谱峰分离良好，通道无干扰。

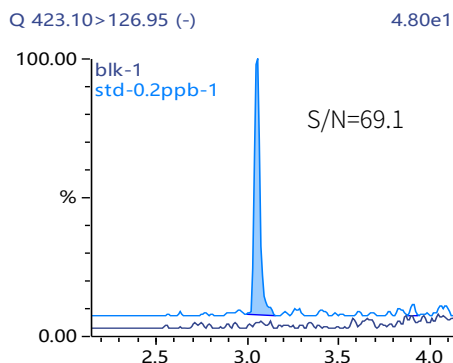


图 1. 空白样品和 0.2 ng/mL 氯前列醇药物的 MRM 色谱图

3.2 校准曲线和检出限

校准曲线分析采用自动进样器的同时注入预处理功能，吸出5 μL经前处理的空白样品萃取液作为基质溶液，之后吸出等量5 μL的各浓度混合标准溶液（0.2、1、4、10、20、40、100 ng/mL），同时注入两种溶液，供液相色谱-串联质谱测定。自动进样器的同时注入方式设置如图2所示。



图 2. 自动进样器的同时注入方式设置

以特征离子质量色谱峰面积为纵坐标，对应的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。根据0.2 μg/L标样数据，以3倍信噪比计算氯前列醇的方法检出限，各化合物检出限以及线性相关系数如表3所示。

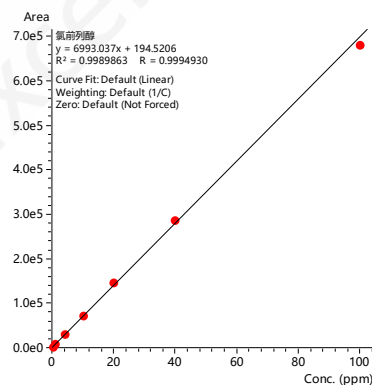


图 3. 氯前列醇标准曲线

表 3. 氯前列醇的校准曲线及检出限

化合物	校准曲线	相关系数 R	准确度%	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
氯前列醇	$Y=(6993.037)X+(194.5206)$	0.9995	82.2~109.3	0.01	0.03

3.3 重复性实验

取0.2、10和100 $\mu\text{g/L}$ 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. 氯前列醇保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

化合物	RSD% (0.2 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (10 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (100 $\mu\text{g/L}$)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
氯前列醇	0.05	4.24	0.10	0.82	0.12	0.53

3.4 加标回收率

取空白牛奶 2 g，加入混标工作液，使加标浓度为 1、10 和 100 $\mu\text{g/kg}$ ，样品经提取及净化后，按照 1.2 中的分析条件测定氯前列醇的加标回收率，实际样品分析同样采用自动进样器的同时注入预处理功能，吸取 5 mM 乙酸铵:乙腈=7: 3 (v/v) 溶液替代混合标准溶液，平行测定 3 次，其回收率在 95.7~102.7%之间。基质空白样品与加标浓度为 1 $\mu\text{g/kg}$ 的样品对比图见图 4，具体结果见表 5。

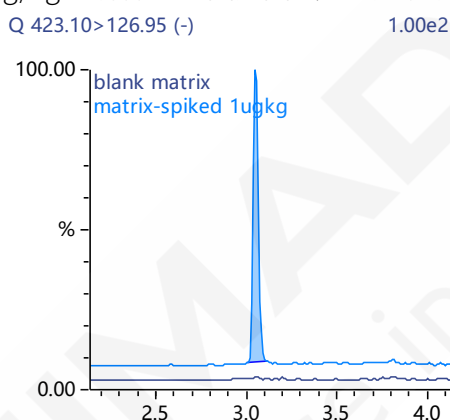


图 4. 基质空白样品与加标浓度为 1 $\mu\text{g/kg}$ 的样品对比色谱图

表 5. 氯前列醇回收率结果(n=3)

化合物	加标浓度 1 $\mu\text{g/kg}$		加标浓度 10 $\mu\text{g/kg}$		加标浓度 100 $\mu\text{g/kg}$	
	回收率%	RSD%	回收率%	RSD%	回收率%	RSD%
氯前列醇	96.8	3.27	95.7	3.93	102.7	0.72

4 结论

依据国家标准《GB 31659.6-2022 食品安全国家标准 牛奶中氯前列醇残留量的测定 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牛奶中氯前列醇残留的方法，该方法灵敏度高，远优于标准中检出限为 1.5 $\mu\text{g/kg}$ 的要求。氯前列醇在 0.2 $\mu\text{g/L}$ ~100.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好，相关系数 r 在 0.999 以上。加标浓度为 1、10 和 100 $\mu\text{g/kg}$ 的样品，回收率在 95.7%~102.7%之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于牛奶中氯前列醇残留量的准确检测。

LC-MSMS测定动物性食品中阿托品、东莨菪碱、山莨菪碱、利多卡因、普鲁卡因残留量

摘要：依据 GB 31658.19-2022《食品安全国家标准 动物性食品中阿托品、东莨菪碱、山莨菪碱、利多卡因、普鲁卡因残留量的测定 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技术测定动物性食品中阿托品、东莨菪碱、山莨菪碱、利多卡因、普鲁卡因残留量的方法。采用外标法建立基质匹配校准曲线，在 0.1~10 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性关系良好，相关系数大于 0.999。在 0.1、1、10 $\mu\text{g/L}$ 三个浓度下，各化合物的保留时间和峰面积的 RSD% 分别在 0.09~0.16% 和 1.28~6.51% 之间，仪器精密度良好。对空白猪肉样品进行了 0.5、1、5 $\mu\text{g/kg}$ 三个浓度水平的加标回收实验，回收率在 78.0-102% 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阿托品、东莨菪碱、山莨菪碱、利多卡因、普鲁卡因残留量的快速检测。

关键词：LC-MS/MS 动物性食品 阿托品 东莨菪碱 山莨菪碱 利多卡因 普鲁卡因

技术特点：

- ❖ 阿托品、东莨菪碱、山莨菪碱、利多卡因、普鲁卡因灵敏度远高于标准要求。
- ❖ 分析速度快，4 分钟完成分析，优于标准方法。

畜肉注水通常是活体注入，利用机械泵等强行向猪、牛、羊等体内灌水，此时由于外部的刺激，动物体就会由于疼痛而产生应激反应，在这种条件下宰杀的畜肉品质较差的肉，大大影响肉的销售质量。为了提高肉的质量，确保肉的感官状态良好，同时躲避监管及处罚，不法商贩对注水方式进行改良，在注水的同时，为动物注射一些保水药物和消炎药物，便于肌肉蓄积大量水分，并缓解其疼痛感。目前报道的用于保水剂的药物有阿托品、东莨菪碱、山莨菪碱、利多卡因和普鲁卡因等。残留的药物毒性较大，会引起如反应迟顿、精神衰颓、昏迷、口干、瞳孔放大等症状。因此，为保障畜禽产品的质量安全和资源环境的可持续发展，有必要对动物性食品中阿托品、东莨菪碱、山莨菪碱、利多卡因和普鲁卡因的残留进行严格监管。

本文依据 GB 31658.19-2022《食品安全国家标准 动物性食品中阿托品、东莨菪碱、山莨菪碱、利多卡因、普鲁卡因残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，使用岛津三重四极杆液质联用仪，建立了动物性食品中阿托品、东莨菪碱、山莨菪碱、利多卡因、普鲁卡因残留量的检测方法，可为相关从业人员提供参考。

1 实验部分

1.1 仪器

岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050，配置信息如下：

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A 5R
输液泵	: LC-30AD×2	柱温箱	: CTO-20AC
自动进样器	: SIL-30AC	质谱仪	: LCMS-8050

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱 : Shim-pack GIST C18-AQ HP (50 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 μ m, 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N:227-30807-01)

流动相 : A-0.1%甲酸水+2 mM 甲酸铵溶液; B-0.1%甲酸乙腈

进样体积 : 1 μ L 柱温 : 40°C

流速 : 0.3 mL/min 洗针液 : 甲醇/水=1:1 (v:v)

洗脱方式 : 梯度洗脱, B相起始浓度为 5%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

时间(min)	单元	处理命令	值
0.50	泵	B Conc	5
1.00	泵	B Conc	30
1.50	泵	B Conc	90
2.50	泵	B Conc	90
2.51	泵	B Conc	5
4.00	控制器	STOP	

质谱条件

离子化模式 : ESI+

雾化气流速 : 3.0 L/min

接口电压 : 4 kV

干燥气流速 : 10.0 L/min

接口温度 : 300 °C

加热气流速 : 10.0 L/min

D L 温度 : 250 °C

碰撞气 : 氦气

加热模块温度 : 400 °C

扫描模式 : 多反应监测(MRM)

M R M 参数 : 见表2

表 2. MRM 参数

序号	中文名称	英文名	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	阿托品	Atropine	51-55-8	290.10	93.05	-10	-31	-17
					124.10*	-10	-24	-24
2	东莨菪碱	Scopolamine	51-34-3	304.10	138.05*	-11	-24	-26
					156.05	-11	-17	-16
3	山莨菪碱	Anisodamine	17659-49-3	306.20	122.05	-11	-29	-24
					140.05*	-11	-25	-27
4	利多卡因	Lidocaine	137-58-6	235.20	58.00	-11	-37	-10
					86.05*	-12	-20	-30
5	普鲁卡因	Procaine	59-46-1	237.20	100.10*	-14	-17	-19
					164.05	-10	-18	-28

*代表定量离子对

2. 样品前处理

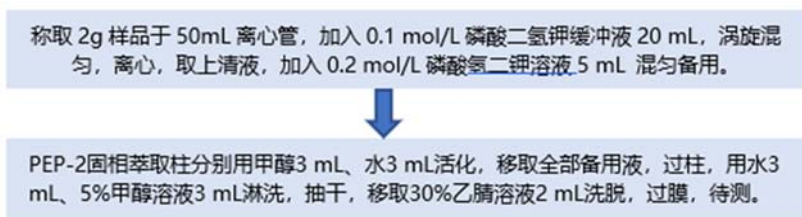


图 1. 样品前处理步骤

3. 结果与讨论

3.1 标准样品谱图

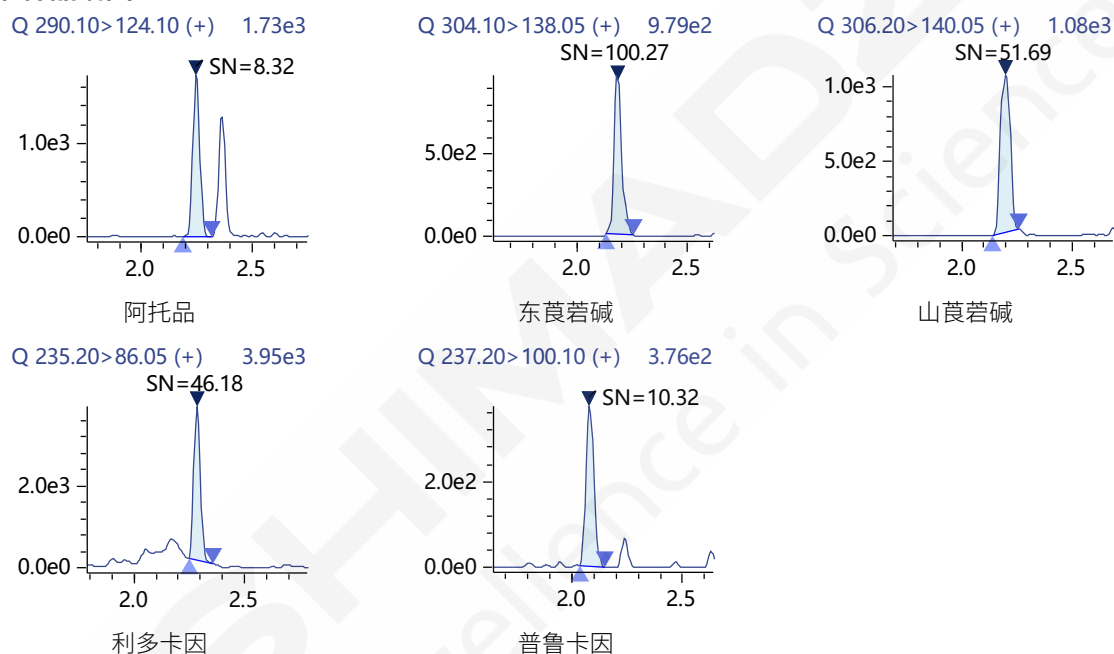


图 3. 0.1 µg/L 猪肉基质标准溶液的 MRM 色谱图

3.2 校准曲线和灵敏度

分别配制 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10 µg/L 的猪肉基质匹配标准溶液按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线。根据 0.1 µg/L 标样数据，以 3 倍信噪比、10 倍信噪比计算检出限、定量限。各化合物线性方程、相关系数、检出限以及定量限如表 3 所示。

表 3. 线性方程及灵敏度

序号	化合物	校准曲线	相关系数 r	检出限(µg/L)	定量限(µg/L)
1	阿托品	Y=44348X-2042	0.9999	0.036	0.120
2	东莨菪碱	Y=21661X-326	0.9999	0.003	0.010
3	山莨菪碱	Y=39108X-1851	0.9996	0.006	0.019
4	利多卡因	Y=105773X-5810	0.9998	0.006	0.022
5	普鲁卡因	Y=11180X-781	0.9996	0.029	0.097

3.3 重复性实验

取0.1、1和10 $\mu\text{g/L}$ 猪肉基质匹配混合标准溶液，连续进样6次，考察仪器的重复性，测定结果见表4。

表 4. 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

序号	化合物	RSD% (0.1 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (1 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (10 $\mu\text{g/L}$)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	阿托品	0.10	4.81	0.10	2.03	0.14	2.04
2	东莨菪碱	0.12	5.94	0.09	2.62	0.14	3.48
3	山莨菪碱	0.17	6.51	0.10	3.90	0.15	1.28
4	利多卡因	0.12	5.66	0.10	2.08	0.14	2.08
5	普鲁卡因	0.12	3.28	0.14	5.00	0.16	1.82

3.4 加标回收率

将猪肉空白样品进行低、中、高三个浓度水平加标，按照上述前处理方法处理后上机，每个水平重复测定3次。结果如表5所示：平均回收率在78.0-102%之间，RSD在1.12~8.31%之间。

表 5. 添加回收率结果 (n=4)

序号	化合物	低浓度(0.5 $\mu\text{g/kg}$)		中浓度(1 $\mu\text{g/kg}$)		高浓度(5 $\mu\text{g/kg}$)	
		平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	阿托品	102	4.49	98.1	4.90	88.2	1.49
2	东莨菪碱	86.2	6.87	84.2	4.02	90.8	3.15
3	山莨菪碱	99.2	6.45	90.8	8.31	83.3	4.18
4	利多卡因	96.7	5.30	90.8	1.93	78.0	1.12
5	普鲁卡因	101	5.28	95.6	5.14	80.7	4.28

4 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪测定动物性食品中阿托品、东莨菪碱、山莨菪碱、利多卡因、普鲁卡因残留量的方法。各化合物在线性范围在 0.1~10 $\mu\text{g/L}$ 间，相关系数 $R > 0.999$ 。在猪肉基质中添加低、中、高三个浓度 (0.5、1、5 $\mu\text{g/kg}$) 的混标，回收率在 78.0-102%之间，RSD 在 1.12~8.31%之间。该分析方法灵敏度高，重复性好，准确度高，稳定可靠。可供相关行业检测人员参考使用。

LC-MS/MS 测定水产品中安眠酮残留量

摘要: 本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立了水产品中安眠酮测定的方法。实验结果表明, 在 0.1-100 ng/mL 浓度范围内, 方法线性良好, 线性相关系数 R 为 0.9994, 曲线各浓度点准确度在 94.2%-104.4% 之间。0.4 ng/mL 浓度对照品溶液, 连续进样 6 次, 保留时间和峰面积的相对标准偏差(RSD%)分别为 0.12% 和 1.52%。0.2、2.5 和 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 三个不同浓度加标回收率在 89.7%-91.9% 之间, 平行三份样品的相对标准偏差(RSD%)在 2.14%-3.63% 之间。该方法简单, 稳定, 准确, 供相关人员参考。

关键词: 三重四极杆液质联用仪 水产品 安眠酮

技术特点:

- ❖ 满足 GB 31656.5-2021 食品安全国家标准要求, 灵敏度更高。
- ❖ 使用 Shim-pack Velox C18 色谱柱, 6 min 完成一针分析, 简单快速。

安眠酮, 又名甲喹酮, 被列入第一类精神药品管控, 主要作用于大脑皮层, 具有镇静和催眠作用, 临床上用于失眠、神经衰弱及麻醉前给药。此药物的副作用主要包括头昏嗜睡, 皮疹, 口、舌、四肢发麻及短暂的精神失常等, 个别患者会有心悸、恶心、呕吐、全身无力等症状, 过量中毒可引起呼吸抑制, 长期使用本品可产生耐受性和依赖性。

近年来, 随着人们生活水平的提高, 对水产品的需求量逐年递增, 一些不法分子在经济利益的驱动下, 为达到保活、保重以及增加捕获量的目的, 在水产品养殖、运输和捕捞过程中擅自在饲料中非法添加安眠酮, 导致该药物在水产品中残留, 给人民群众身体健康带来安全隐患。我国农业农村部在 2020 年 1 月 6 日发布的农业农村部公告第 250 号明确规定, 食品动物中禁止使用安眠酮药物。

目前安眠酮的检测方法主要有气相色谱-质谱联用法、光谱法、液相色谱法和超高效液相色谱-质谱联用法等。本文参考 GB 31656.5-2021 食品安全国家标准, 采用岛津三重四极杆液质联用仪, 建立了水产品中安眠酮测定的方法, 该方法简单, 稳定, 灵敏度高, 抗假阳性能力强, 供相关检测人员参考。

1 实验部分

1.1 仪器

系统控制器:	CBM-40	脱气机:	DGU-405
输液泵:	LC-40B X3	自动进样器:	SIL-40C X3
柱温箱:	CTO-40S	色谱工作站:	LabSolutions Ver. 6.108
质谱检测器:	LCMS-8060NX		

1.2 分析条件

液相色谱条件:

色谱柱: Shim-pack Velox C18 (100 mm \times 2.1 mm I.D., 2.7 μm), P/N: 227-32009-03,
岛津(上海)实验器材有限公司

流 动 相 : A相-0.1%甲酸水溶液; B相-甲醇
 流 速 : 0.3 mL/min 进 样 体 积 : 1 μ L
 柱 温 : 40°C 进 样 器 温 度 : 15°C
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B相初始浓度为50%, 时间程序见表1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	50
2.00	Pumps	Pump B Conc.	95
3.00	Pumps	Pump B Conc.	95
3.10	Pumps	Pump B Conc.	50
6.00	Controller	Stop	

质谱条件:

离 子 源 : IonFocus (+) D L 温 度 : 250°C
 接 口 电 压 : 1 kV 加 热 模 块 温 度 : 400°C
 聚 焦 电 压 : 2 kV 接 口 温 度 : 400°C
 雾 化 气 流 速 : 3.0 L/min 碰 撞 气 : 氦气
 加 热 气 流 速 : 15.0 L/min 扫 描 模 式 : 多反应监测(MRM)
 干 燥 气 流 速 : 3.0 L/min M R M 参 数 : 见表 2

表 2. MRM 参数

序号	名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	安眠酮	72-44-6	251.1	91.2*	-17.0	-42.0	-17.0
				132.1	-12.0	-26.0	-26.0
2	安眠酮-D ₇	136765-41-8	258.1	139.1	-13.0	-28.0	-27.0

注: *表示定量离子

1.3 标准品及样品制备

标准中间液: 精密量取安眠酮标准溶液适量, 用甲醇稀释配制浓度为 200 ng/mL 标准中间液。置-18°C 以下避光保存。

内标工作液: 精密量取安眠酮-D₇ 标准溶液适量, 用甲醇稀释配制成浓度为 200 ng/mL 内标工作液。置-18°C 以下避光保存。

校准工作曲线: 分别精密量取安眠酮标准中间液和内标工作液适量, 用 50%甲醇溶液稀释制成含同位素内标物浓度为 4 ng/mL, 安眠酮浓度为 0.1 ng/mL、0.4 ng/mL、1.0 ng/mL、5.0 ng/mL、25 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL 的系列标准工作液。

样品制备: 取试样 5 g 于 50 mL 离心管中, 加内标工作液 50 μ L、水 3 mL, 涡旋 30 s, 加正己烷 15 mL, 振荡提取 3 min, 超声 5 min, 4500 r/min 离心 7 min, 取正己烷层至 25 mL 容量瓶; 残渣再加正己烷 8 mL, 重复提取一次, 合并正己烷提取液, 并用正己烷稀释定容至刻度, 备用。取硅胶固相萃取柱, 依次用丙酮 5 mL、正己烷 5 mL 活化。量取备用液 10 mL 过柱, 用 20%乙醚-正己烷淋洗液 5 mL 淋洗。用 50%乙醚-正己烷混合溶液 8 mL 洗脱, 收集洗脱液, 40°C 氮气吹干。准确加入 50%甲醇溶液 1 mL 溶解残余物, 用水相针式过滤器过滤至进样小瓶中, 上机测定。

2 结果讨论

2.1 色谱图

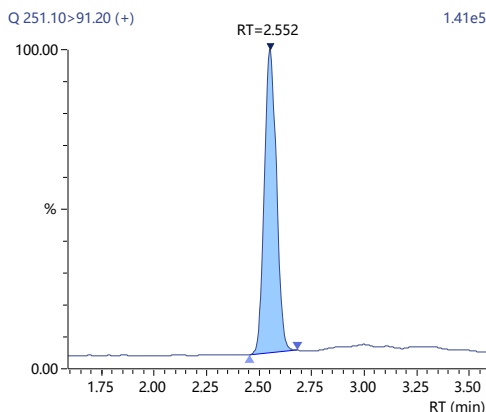


图 1. 安眠酮标准品溶液 MRM 色谱图 (1.0 ng/mL)

2.2 校准曲线结果

按照 1.3 制备 0.1、0.4、1.0、5.0、25、50、100 ng/mL 标准系列工作溶液，使用内标法拟合工作曲线，校准曲线见图 2，相关系数 $R = 0.9994$ 。各浓度点线性回归的准确度、信噪比、定量限等结果见表 3。曲线各标点准确度在 94.2%-104.4%，0.1 ng/mL 标准溶液的 S/N 为 51.42。

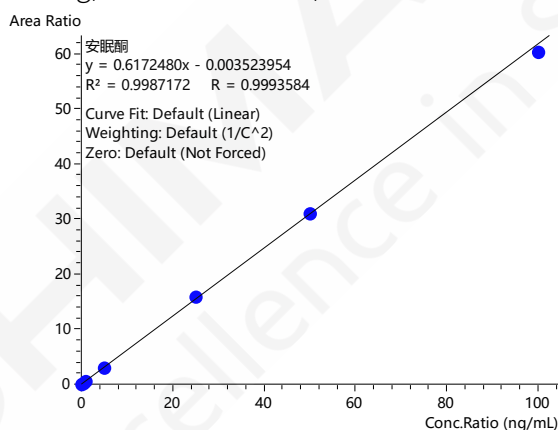


图 2. 安眠酮校准曲线

表 3. 校准曲线结果

Data#	数据文件名	保留时间	面积	浓度 (ng/mL)	标准浓度	精确度%	S/N	定量限
1	0.1ppb.lcd	2.555	53,500	0.099	0.1	98.8	51.42	0.02
2	0.4ppb.lcd	2.550	216,703	0.418	0.4	104.4	167.65	0.02
3	1ppb.lcd	2.552	553,264	1.018	1	101.8	517.66	0.02
4	5ppb.lcd	2.558	2,690,525	4.711	5	94.2	2,015.09	0.02
5	25ppb.lcd	2.558	13,641,953	25.551	25	102.2	27,791.86	0.01
6	50ppb.lcd	2.561	27,260,915	50.173	50	100.3	19,851.12	0.03
7	100ppb.lcd	2.559	49,985,970	98.206	100	98.2	56,882.11	0.02

2.3 重复性考察

0.4 ng/mL 浓度对照品溶液，连续进样 6 次，考察保留时间和峰面积的重复性，结果如表 4 所示。保留时间和峰面积的相对标准偏差(RSD%)分别为 0.12%和 1.52%，方法精密度良好。

表 4. 0.4 ng/mL 安眠酮标准溶液连续 6 针重复性结果

编号	峰面积	保留时间
1	211056	2.559
2	207665	2.553
3	210489	2.553
4	208364	2.552
5	210079	2.552
6	216703	2.550
平均值	210726	2.553
RSD%	1.52	0.12

2.4 加标回收率及重复性考察

取鱼肉空白基质，按照 1.3 前处理方法，对样品进行低、中、高三个浓度水平加标回收率考察。每个浓度平行制备三份样品，进行重复性考察。低、中、高三个加标浓度分别为 0.2、2.5 和 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。三水平加标回收率及重复性结果见表 5。

表 5. 回收率结果 (n=3)

No.	0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标回收率 (%)	2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标回收率 (%)	25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标回收率 (%)
1	92.4	94.8	89.0
2	88.6	91.2	86.8
3	91.2	89.6	93.2
平均值	90.7	91.9	89.7
RSD%	2.14	2.90	3.63

3 结论

本文参考 GB 31656.5-2021 食品安全国家标准，使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8060NX 建立了水产品中安眠酮测定的方法。在 0.1-100 ng/mL 浓度范围内，方法线性良好，线性相关系数 R 为 0.9994，曲线各浓度点准确度在 94.2%-104.4%之间。对样品进行 0.2、2.5 和 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 三个浓度加标回收实验，回收率在 89.7%-91.9%之间。该方法灵敏度高，准确度高，简单快速，适用于水产品中安眠酮药物的检测。

LC-MS/MS检测水产品中的地西洋残留

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测定水产品中的地西洋残留的方法。地西洋在 0.2 $\mu\text{g/L}$ ~50.0 $\mu\text{g/L}$ 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 0.04%~0.06% 和 0.66%~4.65% 之间, 仪器精密度良好。加标浓度为 0.5~2 $\mu\text{g/kg}$ 的样品, 回收率在 83.8%~93.5% 之间。该方法灵敏度高, 分析时间短, 结果准确, 可用于水产品中地西洋残留量的准确定量检测。

关键词: 三重四极杆液质联用仪 水产品 地西洋

技术特点:

- ❖ 相较《SN/T 3235-2012》, 本方法检测地西洋的灵敏度更高。
- ❖ 标准曲线的线性范围更宽, 可适用于不同残留水平的水产品分析。

地西洋 (Diazepam, $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}$) 属于苯二氮卓类镇静剂, 具有镇静、抗惊厥等作用, 畜牧生产中经常被用作动物生长促进剂, 以达到镇静催眠、促进生长和增重催肥的目的。

近年来, 一些不法商贩擅自在水产动物捕捞和运输过程中非法使用地西洋, 导致其在水产品中残留, 人体长期摄入这类水产品, 中枢神经系统会受到严重干扰, 被许多国家列为水产动物捕捞和运输过程中禁用药物。我国《水产养殖用药明白纸2022年1号》规定在水产养殖过程中不得使用地西洋, 《GB 31650-2019 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》中也规定地西洋不得在动物性食品中检出。

为了保障人们的食品安全, 我们参考标准《SN/T 3235-2012 出口动物源食品中多类禁用药物残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》, 建立了水产品中地西洋残留的检测方法。样品中残留的地西洋, 分别用氨化乙腈和酸化乙腈提取, QuEChERS 吸附剂净化后, 采用液相色谱-串联质谱仪检测, 外标法定量。该方法快速、简单、灵敏度高, 可实现对水产品中地西洋的有效检测。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 X3 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	质谱仪	: LCMS-8045
柱温箱	: CTO-40S	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.114
在线脱气机	: DGU-405		

1.2 分析条件

液相条件

色 谱 柱 : Shim-pack Scepter C18-120 (100 mm × .2.1 mm I.D, 1.9 μm)
岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-31012-05

流 动 相 : A 相-0.1%甲酸水溶液, B 相- 0.1%甲酸-甲醇溶液。

柱 温 : 35 °C 流 速 : 0.25 mL/min

进 样 体 积 : 10 μL

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, 初始浓度为 B 相 5%, 时间程序见表 1

表 1. 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
4.00	Pumps	Pump B Conc.	55
5.00	Pumps	Pump B Conc.	95
8.00	Pumps	Pump B Conc.	95
8.01	Pumps	Pump B Conc.	5
13.00	Controller	Stop	

质谱条件

离 子 源 : ESI, 正离子模式 D L 管 温 度 : 250°C

接 口 电 压 : 3.5 kV 加 热 模 块 温 度 : 400°C

雾 化 气 : 氮气 3.0 L/min 接 口 温 度 : 300°C

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 M R M 参 数 : 见表 2

碰 撞 气 : 氩气 (230kPa)

表 2. MRM 参数

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)
地西洋	C ₁₆ H ₁₃ ClN ₂ O	439-14-5	285.1	193.1*	-11.0	-31.0	-19.0
				154.1	-11.0	-27.0	-28.0

*表示定量离子

2 样品前处理

参考《SN/T 3235-2012 出口动物源食品中多类禁用药物残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》中 7.1 和 7.2 样品提取与净化的方法。

3 结果与讨论

3.1 专属性

空白样品和 0.2 ng/mL 地西洋药物的 MRM 色谱图如图 1 所示, 色谱峰分离良好, 通道无干扰。

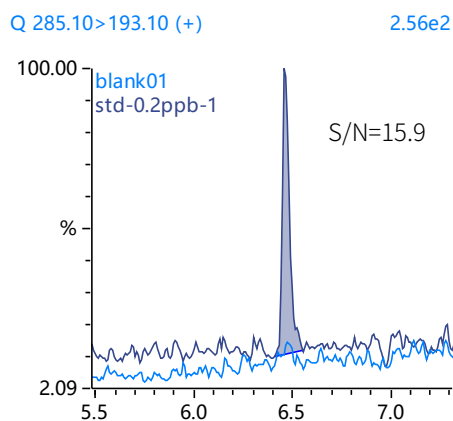


图 1. 空白样品和 0.2 ng/mL 地西洋药物的 MRM 色谱图

3.2 校准曲线和检出限

选取空白样品按照标准中 7.1 和 7.2 样品的前处理步骤获取空白基质液，再用空白基质液稀释标准中间液配制成各浓度的基质校准曲线（0.2、0.5、1、2、5、10、20、50 ng/mL），液相色谱-串联质谱测定。以特征离子质量色谱峰面积为纵坐标，对应的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。根据 0.2 μg/L 标样数据，以 3 倍信噪比计算地西洋的方法检出限，其结果如表 2 所示。

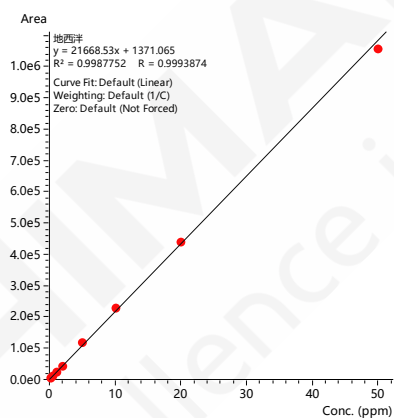


图 2. 地西洋标准曲线

表 3. 地西洋的校准曲线及检出限

化合物	校准曲线	相关系数 R	准确度%	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
地西洋	$Y=(21668.53)X+(1371.065)$	0.9994	83.8~113.8	0.03	0.11

3.3 重复性实验

取 0.5、5 和 50 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. 地西洋保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

化合物	RSD% (0.5 μg/L)		RSD% (5 μg/L)		RSD% (50 μg/L)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
地西洋	0.06	4.65	0.06	0.66	0.04	0.92

3.4 加标回收率

取空白鱼肉 2 g, 加入混标工作液, 使加标浓度为 0.5~2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 样品经提取及净化后, 按照 1.2 中的分析条件测定地西洋的加标回收率, 平行测定 3 次, 其回收率在 83.8%~93.5%之间。基质空白样品与加标浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品对比图见图 3, 具体结果见表 5。

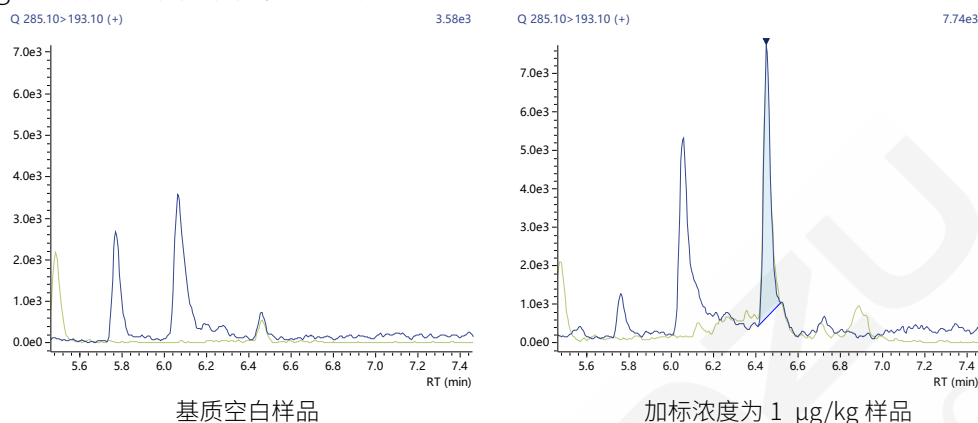


图 3. 基质空白样品与加标浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品对比色谱图

表 5. 地西洋回收率结果 (n=3)

化合物	加标浓度 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$		加标浓度 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$		加标浓度 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
	回收率%	RSD%	回收率%	RSD%	回收率%	RSD%
地西洋	83.8	8.86	89.4	5.90	93.5	6.41

4 结论

依据国家标准《SN/T 3235-2012 出口动物源食品中多类禁用药物残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪测定鱼肉中地西洋残留的方法。地西洋在 0.2 $\mu\text{g}/\text{L}$ ~50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性良好, 相关系数 r 在 0.999 以上。加标浓度为 0.5~2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品, 回收率在 83.8%~93.5% 之间。该方法灵敏度高, 分析时间短, 结果准确, 可用于水产品中地西洋残留量的准确检测。

LC-MS/MS 检测鱼肉中的 27 种性激素残留

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测定鱼肉中 27 种性激素残留量的方法。性激素在 2.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ ~100.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性良好，相关系数 r 在 0.997 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 0.03%~0.32% 和 0.33%~9.85% 之间，仪器精密度良好。加标浓度为 2 和 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品，85% 以上的化合物回收率在 60%~120% 之间且重复性良好。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于水产品中性激素残留量的准确定量检测。

关键词：三重四极杆液质联用仪 鱼肉 性激素

技术特点：

- ❖ 一针法可同时分析水产品中的雌激素、孕激素和雄激素
- ❖ 使用自动进样器的同时注入预处理功能配制基质匹配标准曲线。

性激素是性腺分泌的一类甾体激素，包括雌激素、孕激素和雄激素，激素类药物可促进动物生长、有利于蛋白质的积淀、增加产量。水产品饲养中使用促进其生长的性激素行为已经成为全球性的食品安全问题，长期使用添加性激素的水产品会造成内分泌失调、肝功能紊乱、胆结石等，甚至有致癌的风险。《中华人民共和国农业农村部公告 第 250 号》已将己二烯雌酚、己烯雌酚、己烷雌酚、甲基睾酮、群勃龙等激素列入食品动物中禁止使用的药品及其他化合物清单。

为了保障人们的食品安全，农业农村部首次发布了《GB 31656.14-2022 食品安全国家标准 水产品中 27 种性激素残留量的测定》。样品中残留的性激素用乙酸乙酯-甲基叔丁基醚混合溶剂和乙酸乙酯依次提取，提取液经浓缩、 C_{18} 固相萃取柱净化，用液相色谱-串联质谱仪测定，内标法定量。本文参考标准，建立了鱼肉中 27 种性激素的检测方法，该方法快速、简单、灵敏，可实现对水产品中 27 种性激素的有效检测。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 X3 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	质谱仪	： LCMS-8045
柱温箱	： CTO-40S	色谱工作站	： LabSolutions Ver. 5.114
在线脱气机	： DGU-405		

表 2. MRM 参数

No.	中文名称	英文名称	内标物	分子式	CAS No.	分子量	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	己二烯雌酚	Dienestrol	己烯雌酚-D ₈	C ₁₈ H ₁₈ O ₂	84-17-3	266.3	265.1	236.1*	10.0	18.0	24.0
								249.1	19.0	23.0	28.0
2	己烯雌酚	Diethylstilbestrol		C ₁₈ H ₂₀ O ₂	56-53-1	268.4	267.1	237.1*	18.0	28.0	25.0
								251.1	15.0	25.0	27.0
3	己烷雌酚	Hexestrol	雌酮-D ₂	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	84-16-2	270.4	269.1	134.1*	18.0	14.0	13.0
									119.1	18.0	37.0
4	雌酮	Estrone		C ₁₈ H ₂₂ O ₂	53-16-7	270.4	269.1	145.1*	16.0	38.0	27.0
								159.2	16.0	34.0	18.0
5	雌二醇	β-Estradiol		C ₁₈ H ₂₄ O ₂	50-28-2	272.4	271.2	183.2*	20.0	42.0	19.0
								145.1	19.0	43.0	26.0
6	雌三醇	Estriol	雌二醇- ¹³ C ₂	C ₁₈ H ₂₄ O ₃	50-27-1	288.4	287.2	145.1*	20.0	43.0	25.0
								171.1	20.0	37.0	17.0
7	炔雌醇	Ethinyl Estradiol		C ₂₀ H ₂₄ O ₂	57-63-6	296.4	295.2	159.1*	19.0	38.0	29.0
								145.1	19.0	42.0	27.0
8	苯甲酸雌二醇	β-Estradiol 3-benzoate		C ₂₅ H ₂₈ O ₃	50-50-0	276.5	377.2	135.1*	-27.0	-16.0	-25.0
								105.1	-14.0	-21.0	-18.0
9	17-α羟基孕酮	17A-acetoxypregesterone	甲羟孕酮-D ₃	C ₂₃ H ₃₂ O ₄	302-23-8	372.5	373.2	109.1*	-14.0	-33.0	-19.0
								97.1	-25.0	-28.0	-18.0
10	21-α羟基孕酮	Desoxycorticosterone		C ₂₁ H ₃₀ O ₃	64-85-7	330.5	331.2	109.1*	-23.0	-26.0	-20.0
								97.1	-12.0	-25.0	-18.0
11	醋酸甲羟孕酮	Medroxyprogesterone Acetate	甲羟孕酮-D ₃	C ₂₄ H ₃₄ O ₄	71-58-9	386.5	387.3	123.1*	-14.0	-29.0	-21.0
								327.3	-14.0	-13.0	-22.0

12	醋酸氯地孕酮	Chlormadinone Acetate		C ₂₃ H ₂₉ ClO ₄	302-22-7	404.9	405.2	309.3*	-15.0	-16.0	-21.0
								301.2	-11.0	-22.0	-20.0
13	醋酸甲地孕酮	Megestrol Acetate		C ₂₄ H ₃₂ O ₄	51154-23-5	384.5	385.3	267.2*	-14.0	-19.0	-18.0
								224.2	-14.0	-26.0	-23.0
14	左炔诺孕酮	Levonorgestre		C ₂₁ H ₂₈ O ₂	797-63-7	312.5	313.2	109.1*	-11.0	-27.0	-18.0
								245.2	-12.0	-18.0	-27.0
15	甲羟孕酮	Medroxyprogesterone		C ₂₂ H ₃₂ O ₃	520-85-4	344.5	345.3	97.1*	-13.0	-24.0	-17.0
								123.1	-13.0	-24.0	-22.0
16	诺龙	Nandrolone		C ₁₈ H ₂₆ O ₂	434-22-0	274.4	275.2	257.2*	-20.0	-16.0	-17.0
								239.2	-20.0	-16.0	-25.0
17	苯丙酸诺龙	Nandrolone phenylpropionate		C ₂₇ H ₃₄ O ₃	62-90-8	406.6	407.2	257.2*	-15.0	-17.0	-17.0
			甲基睾酮-D ₃					105.2	-15.0	-28.0	-19.0
18	睾酮	Testosterone		C ₁₉ H ₂₈ O ₂	58-22-0	288.4	289.2	97.2*	-21.0	-23.0	-18.0
								109.1	-10.0	-26.0	-19.0
19	勃地酮	Boldenone		C ₁₉ H ₂₆ O ₂	846-48-0	286.4	287.2	121.1*	-10.0	-22.0	-21.0
								135.2	-10.0	-15.0	-13.0
20	孕酮	Progesterone	孕酮-D ₉	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	57-83-0	314.5	315.2	109.1*	-12.0	-24.0	-21.0
								97.1	-11.0	-23.0	-17.0
21	群勃龙	Trenbolone		C ₁₈ H ₂₂ O ₂	10161-33-8	270.4	271.2	199.1*	-19.0	-23.0	-20.0
			甲基睾酮-D ₃					253.2	-19.0	-20.0	-17.0
22	甲基睾酮	17-Methyltestosterone		C ₂₀ H ₃₀ O ₂	58-18-4	302.5	303.2	109.1*	-12.0	-28.0	-20.0
								97.1	-11.0	-25.0	-17.0
23	雄烯二酮	Androstenedione		C ₁₉ H ₂₆ O ₂	63-05-8	286.4	287.2	109.1*	-20.0	-25.0	-19.0
			甲基睾酮-D ₃					97.1	-10.0	-24.0	-18.0
24	美雄酮	Methandrostenolone		C ₂₀ H ₂₈ O ₂	72-63-9	300.4	301.2	149.2*	-12.0	-15.0	-28.0

								121.1	-12.0	-26.0	-21.0
25	炔诺酮	Norethindrone		C ₂₀ H ₂₆ O ₂	68-22-4	298.4	299.2	231.2*	-20.0	-19.0	-15.0
			甲羟孕酮-D ₃					109.1	-11.0	-28.0	-19.0
26	康力龙	Stanozolol		C ₂₁ H ₃₂ N ₂ O	10418-03-8	328.5	329.3	121.1*	-12.0	-39.0	-21.0
								81.1	-12.0	-50.0	-29.0
27	丙酸睾酮	Testosterone propionate	甲基睾酮-D ₃	C ₂₂ H ₃₂ O ₃	57-85-2	344.5	345.3	97.1*	-13.0	-23.0	-17.0
								109.1	-13.0	-30.0	-19.0
28	己烯雌酚-D ₈	Diethylstilbestrol-d ₈		C ₁₈ H ₁₂ D ₈ O ₂	91318-10-4	276.4	275.2	259.4*	19.0	26.0	17.0
29	雌酮-D ₂	Estrone-d ₂		C ₁₈ H ₂₀ D ₂ O ₂	56588-58-0	272.4	271.2	145.1*	19.0	40.0	27.0
30	雌二醇- ¹³ C ₂	Estradiol- ¹³ C ₂		¹³ C ₂ C ₁₆ H ₂₄ O ₂	82938-05-4	274.4	273.2	147.1*	19.0	41.0	28.0
31	甲羟孕酮-D ₃	Medroxyprogesterone-d ₃		C ₂₄ H ₃₁ D ₃ O ₄	162462-69-3	347.5	348.3	126.2*	-13.0	-27.0	-22.0
32	孕酮-D ₉	Progesterone-d ₉		C ₂₁ H ₂₁ D ₉ O ₂	15775-74-3	323.5	324.3	100.2*	-12.0	-23.0	-18.0
33	左炔诺孕酮-D ₆	Levonorgestrel-d ₆		C ₂₁ H ₂₂ D ₆ O ₂	-	318.5	319.3	251.2*	-11.0	-18.0	-27.0
34	甲基睾酮-D ₃	Methyltestosterone-d ₃		C ₂₀ H ₂₇ D ₃ O ₂	96425-03-5	305.5	306.2	109.2*	-11.0	-27.0	-20.0

*表示定量离子

2. 样品前处理和标准溶液配制

2.1 样品前处理

参考《GB 31656.14-2022 食品安全国家标准 水产品中 27 种性激素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》中 8.1 和 8.2 样品提取与净化的方法。

2.2 标准溶液配制

准确量取各标准储备液 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 适量, 用甲醇稀释成 A 组 (己二烯雌酚、己烯雌酚、雌酮、群勃龙、诺龙、雄烯二酮、勃地酮、睾酮、美雄酮、甲基睾酮、苯丙酸诺龙、丙酸睾酮、孕酮、 21α -羟基孕酮、 17α -羟基孕酮、甲羟孕酮、醋酸甲地孕酮、醋酸氯地孕酮和醋酸甲羟孕酮) 浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$; B 组 (己烷雌酚、雌二醇、左炔诺孕酮、炔诺酮、苯甲酸雌二醇和康力龙) 浓度为 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$; C 组 (雌三醇和炔雌醇) 浓度为 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准中间液。

准确量取内标储备液 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 适量, 用甲醇稀释配制浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合内标溶液。

3. 结果与讨论

3.1 27 种性激素标准溶液谱图

配制 2 ng/mL 的性激素混合标准溶液 (以 A 组浓度计, 内标浓度为 30 ng/mL), 上机分析, 得到 27 种性激素标准溶液的 MRM 色谱图, 详见图 1, 色谱峰形良好, 通道无干扰。

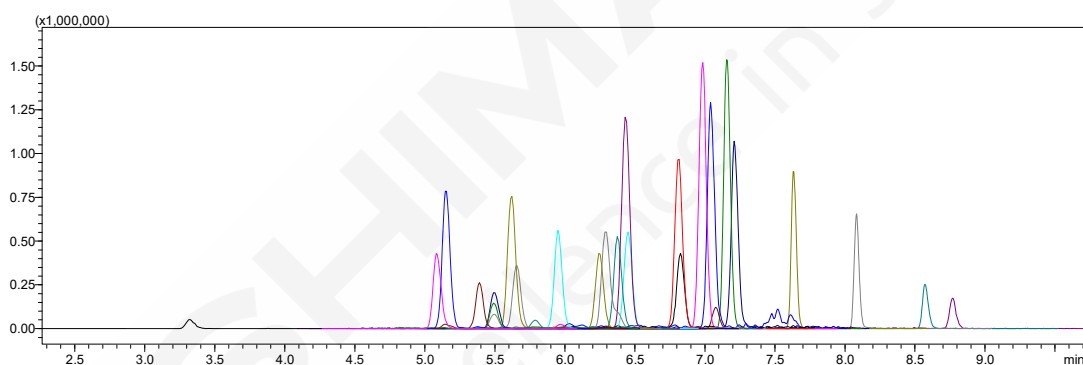
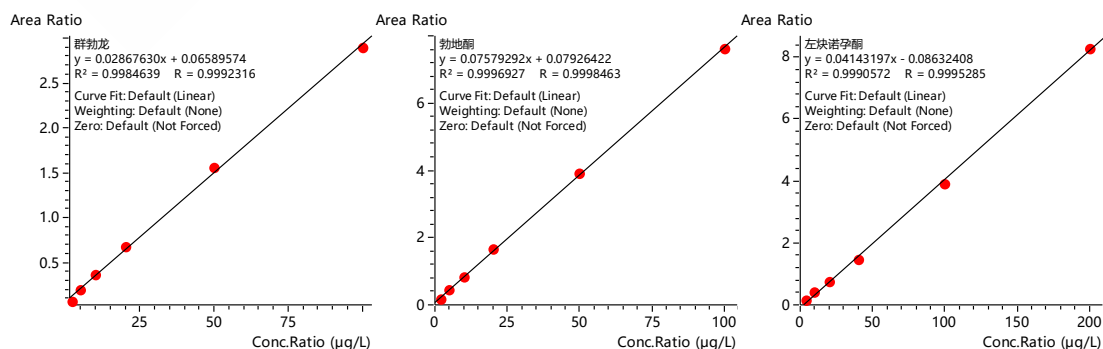


图 1. 2 ng/mL 27 种性激素标液的 MRM 色谱图 (以 A 组计, 内标浓度为 30 ng/mL)

3.2 校准曲线和检出限

校准曲线分析采用自动进样器的同时注入预处理功能 (Co-injection), 进样时自动进样器先吸出 5 μL 经前处理的空白样品萃取液作为基质溶液, 之后吸出等量 5 μL 的各浓度混合标准溶液 (2、5、10、20、50 和 100 $\mu\text{g}/\text{L}$), 同时注入两种溶液, 供液相色谱-串联质谱测定, 内标法定量。以浓度比为横坐标, 峰面积比为纵坐标, 绘制校准曲线如图 2 所示 (部分)。27 种性激素校准曲线及检测限、定量限的结果见表 3。



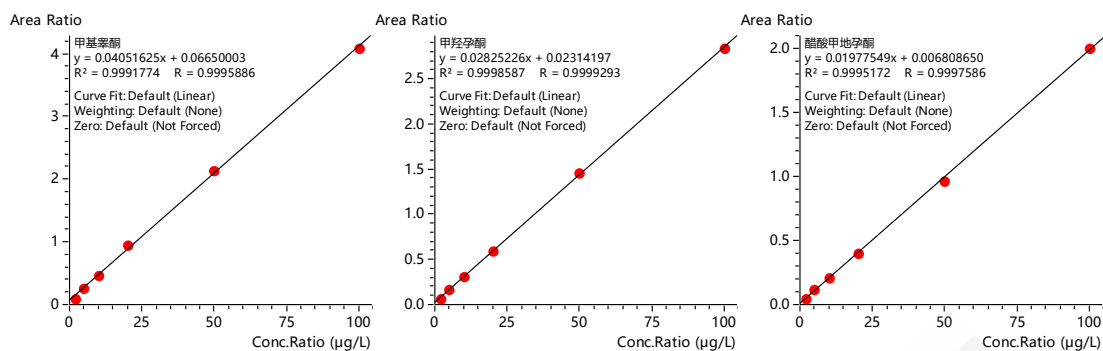


图 3. 部分性激素的标准曲线

表 3. 27 种性激素校准曲线及检测限、定量限

编号	化合物	校准曲线	相关系数 R	准确度%	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
1	群勃龙	$Y = (0.0286763)X + (0.0658957)$	0.9992	75.8~115.8	0.02	0.06
2	勃地酮	$Y = (0.0757929)X + (0.0792642)$	0.9998	81.5~109.8	0.07	0.21
3	雄烯二酮	$Y = (0.0581034)X + (0.116352)$	0.9992	78.9~109.6	0.05	0.15
4	诺龙	$Y = (0.0134754)X + (0.0125211)$	0.9994	84.5~107.2	0.35	1.07
5	炔诺酮	$Y = (0.0116608)X + (0.0199124)$	0.9987	82.6~120.5	0.41	1.25
6	美雄酮	$Y = (0.0757432)X + (0.215163)$	0.9979	71.5~113.6	0.03	0.10
7	21-a 羟基孕酮	$Y = (0.0200874)X + (0.0676297)$	0.9992	80.1~111.5	1.14	3.45
8	睾酮	$Y = (0.0610936)X + (0.105638)$	0.9990	80.2~110.2	0.06	0.17
9	左炔诺孕酮	$Y = (0.0414320)X + (-0.0863241)$	0.9995	90.6~111.0	0.93	2.83
10	17-a 羟基孕酮	$Y = (0.0146499)X + (0.0261651)$	0.9998	79.0~112.5	0.14	0.43
11	甲基睾酮	$Y = (0.0405162)X + (0.0665000)$	0.9996	80.6~108.6	0.07	0.21
12	甲羟孕酮	$Y = (0.0282523)X + (0.0231420)$	0.9999	85.7~106.8	0.26	0.78
13	醋酸甲地孕酮	$Y = (0.0197755)X + (0.00680865)$	0.9998	88.9~112.8	0.09	0.28
14	醋酸氯地孕酮	$Y = (0.0109172)X + (0.0108099)$	0.9999	79.2~110.6	0.23	0.69
15	醋酸甲羟孕酮	$Y = (0.0228917)X + (0.0140802)$	0.9999	86.7~115.1	0.10	0.29
16	孕酮	$Y = (0.0329618)X + (0.294889)$	0.9997	72.3~103.7	0.62	1.87
17	康力龙	$Y = (0.00787695)X + (0.0499746)$	0.9991	88.1~113.3	0.24	0.73
18	丙酸睾酮	$Y = (0.0124907)X + (0.00848029)$	0.9999	91.7~109.0	1.07	3.23
19	苯甲酸诺龙	$Y = (0.0718706)X + (-0.0108243)$	0.9998	79.3~114.0	0.03	0.09
20	苯甲酸雌二醇	$Y = (0.00318960)X + (-0.00164131)$	0.9996	94.2~113.2	0.36	1.10
21	雌三醇	$Y = (0.0130318)X + (-0.161255)$	0.9983	78.0~119.6	0.43	1.30
22	雌酮	$Y = (0.0246571)X + (0.0355047)$	0.9998	72.4~112.3	0.06	0.19
23	炔雌醇	$Y = (0.00987936)X + (0.0848164)$	0.9998	79.3~116.3	0.21	0.65
24	雌二醇	$Y = (0.0162429)X + (0.0666055)$	0.9997	74.3~114.2	0.18	0.53
25	己烯雌酚	$Y = (0.0644922)X + (-0.0526971)$	0.9997	86.1~113.0	0.04	0.12
26	己二烯雌酚	$Y = (0.0299950)X + (-0.0629520)$	0.9998	84.3~125.5	0.15	0.47
27	己烷雌酚	$Y = (0.112934)X + (0.211375)$	0.9994	79.6~124.8	0.01	0.02

3.3 重复性实验

取2、20和100 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. 27 种性激素保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

编号	化合物	RSD% (2 µg/L)		RSD% (20 µg/L)		RSD% (100 µg/L)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	群勃龙	0.07	2.66	0.06	1.16	0.13	0.72
2	勃地酮	0.07	2.41	0.05	1.26	0.13	0.56
3	雄烯二酮	0.07	3.13	0.05	1.09	0.10	0.69
4	诺龙	0.08	4.22	0.05	2.16	0.09	1.09
5	炔诺酮	0.07	3.87	0.05	1.22	0.10	0.61
6	美雄酮	0.05	2.03	0.05	1.39	0.08	1.69
7	21-a 羟基孕酮	0.06	2.84	0.05	1.78	0.09	0.33
8	睾酮	0.07	2.40	0.05	1.62	0.07	0.84
9	左炔诺孕酮	0.06	3.09	0.06	1.47	0.05	1.95
10	17-a 羟基孕酮	0.05	4.86	0.05	1.96	0.06	1.16
11	甲基睾酮	0.06	3.59	0.05	0.81	0.06	1.04
12	甲羟孕酮	0.05	2.75	0.05	1.86	0.05	0.83
13	醋酸甲地孕酮	0.06	3.18	0.04	1.52	0.05	2.13
14	醋酸氯地孕酮	0.05	4.04	0.04	1.76	0.05	1.11
15	醋酸甲羟孕酮	0.05	1.84	0.05	1.67	0.05	1.52
16	孕酮	0.06	1.65	0.04	1.25	0.04	1.00
17	康力龙	0.03	1.67	0.04	1.23	0.03	1.00
18	丙酸睾酮	0.04	2.01	0.04	0.93	0.05	1.76
19	苯甲酸诺龙	0.03	0.85	0.04	2.22	0.04	0.95
20	苯甲酸雌二醇	0.03	2.79	0.05	1.18	0.03	1.29
21	雌三醇	0.15	3.37	0.08	1.06	0.32	1.85
22	雌酮	0.05	7.68	0.05	3.60	0.06	1.37
23	炔雌醇	0.09	8.75	0.07	2.69	0.06	1.11
24	雌二醇	0.08	3.32	0.06	2.74	0.05	2.05
25	己烯雌酚	0.10	5.73	0.05	3.40	0.05	2.47
26	己二烯雌酚	0.09	9.84	0.06	3.05	0.05	2.21
27	己烷雌酚	0.04	4.76	0.05	3.10	0.05	1.89

3.4 加标回收率

取空白鱼肉 5 g，加入混标工作液，使加标浓度为 2 和 50 µg/kg（以 A 组化合物计），样品经提取及净化后，按照 1.2 中的分析条件测定各种性激素的加标回收率，实际样品分析同样采用自动进样器的同时注入预处理功能，吸取水:甲醇=15: 85 (v/v) 溶液替代混合标准溶液，平行测定 3 次。即使在 2 µg/kg 的加标浓度下，85%以上的化合物回收率在 60%~120%之间。具体加标回收率结果及相对标准偏差见图 4 所示。由结果可知，该方法灵敏度高，准确率好，可以满足 27 种性激素的快速检测。

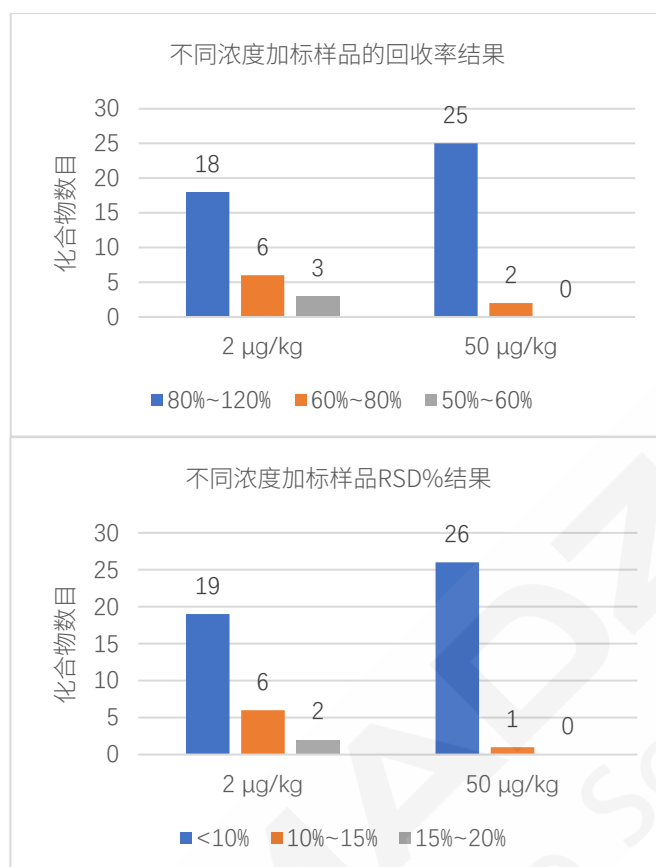


图 4. 性激素的加标回收率及相对标准偏差结果

4 结论

依据国家标准《GB 31656.14-2022 食品安全国家标准 水产品中 27 种性激素残留量的测定 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鱼肉中性激素残留的方法。27 种性激素在 2 µg/L~100 µg/L 浓度范围内线性良好，相关系数 r 在 0.999 以上。在 2、20 和 100 µg/L 三个浓度下，连续六针进样，化合物的保留时间和峰面积的 RSD% 分别在 0.03%~0.32% 和 0.33%~9.85% 之间，仪器精密度良好。加标浓度为 2 和 50 µg/kg 的样品，85% 以上的化合物回收率在 60%~120% 之间且重复性良好。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于水产品中性激素残留量的准确检测。

2.5 其它类分析



LC-MS/MS 测定南美白虾中的硝基呋喃代谢物残留

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测定南美白虾中硝基呋喃代谢物残留量的方法。4种化合物在 0.5 µg/L~20.0 µg/L 浓度范围内线性良好，相关系数 r 均在 0.999 以上。在高、中、低三个浓度下，硝基呋喃代谢物的衍生物保留时间和峰面积的 RSD% 分别在 0.08%~0.13% 和 0.89%~9.28% 之间，仪器精密度良好。加标浓度为 1、5 和 10 µg/kg 的样品，回收率在 82.3~112.7% 之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于水产品中硝基呋喃代谢物残留的准确定量检测。

关键词：三重四极杆液质联用仪 南美白虾 硝基呋喃代谢物

硝基呋喃类药物是一种广谱抗生素，常见有呋喃唑酮、呋喃它酮、呋喃妥因和呋喃西林4种。硝基呋喃类药物对大多数真菌和病毒具有较好的杀灭作用，且价格低廉，被广泛用于水产养殖业中，主要治疗由大肠杆菌或沙门氏菌所引发的疾病。硝基呋喃类原型药在体内迅速代谢，并与蛋白质结合后，形成具有致癌、致畸副作用的代谢产物3-氨基-2-噁唑烷基酮(AOZ)，5-吗啉甲基-3-氨基-2-噁唑烷基酮(AMOZ)，1-氨基-乙内酰脲(AHD)，氨基脲(SEM)。中华人民共和国农业农村部公告第250号已明确将硝基呋喃类物质（呋喃西林、呋喃妥因、呋喃它酮、呋喃唑酮和呋喃苯烯酸钠）列入《食品动物中禁止使用的药品及其他化合物清单》。为了保障人们的食品安全，农业农村部首次发布了《GB 31656.13-2021 水产品中硝基呋喃类代谢物多残留的测定 液相色谱—串联质谱法》。

本文参考该标准，建立了南美大虾中硝基呋喃类代谢物多残留的方法。试料中残留的硝基呋喃类蛋白结合态代谢物在酸性条件下水解，经2-硝基苯甲醛衍生化，用乙酸乙酯液萃取，高速离心净化，液相色谱-串联质谱上机测定，内标法定量。该方法灵敏度高，定量准确。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 X3 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	: CBM-40	自动进样器	: SIL-40C X3
输液泵	: LC-40B	质谱仪	: LCMS-8045
柱温箱	: CTO-40S	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.99
在线脱气机	: DGU-405		

1.2 分析条件

液相条件

- 色谱柱 : Shim-pack GISS C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 µm) 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30048-02
- 流动相 : A相-0.002 mol/L 乙酸铵溶液, B相-甲醇
- 流速 : 0.35 mL/min

柱温 : 35 °C

进样体积 : 10 µL

洗脱方式 : 梯度洗脱, 初始 10%B, 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.	95
5.50	Pumps	Pump B Conc.	95
6.00	Pumps	Pump B Conc.	10
8.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源 : ESI, 正离子模式 D L 管温度 : 300°C
接口电压 : 1 kV 加热模块温度 : 450°C
雾化气 : 氮气 3.0 L/min 接口温度 : 400°C
干燥气 : 氮气 8 L/min 扫描模式 : 多反应监测(MRM)
加热气 : 空气 12 L/min M R M 参数 : 见表 2
碰撞气 : 氩气 (230kPa) 喷雾针位置 : 1 mm

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	AOZ	C ₃ H ₆ N ₂ O ₂	80-65-9	236.1	104.1* 134.1	-17 -11	-21 -10	-18 -13
2	AOZ-D ₄	C ₃ H ₂ D ₄ N ₂ O ₂	1188331-23-8	240.1	134.2*	-17	-9	-12
3	AMAZ	C ₈ H ₁₅ N ₃ O ₃	43056-63-9	334.9	262.1* 291.2	-17 -12	-17 -11	-17 -20
4	AMAZ-D ₅	C ₈ H ₁₀ D ₅ N ₃ O ₃	1017793-94-0	340.1	296.1*	-23	-12	-20
5	AHD	C ₃ H ₅ N ₃ O ₂ ·HCl	2827-56-7	249.1	104.0* 134.0	-17 -17	-21 -10	-17 -13
6	AHD- ¹³ C ₃	¹³ C ₃ H ₅ N ₃ O ₂	957509-31-8	252.1	133.9*	-19	-9	-24
7	SEM	CH ₅ N ₃ O·HCl	563-41-7	209.1	166.1* 192.0	-10 -10	-8 -10	-16 -12
8	SEM- ¹³ C, ¹⁵ N ₂	¹³ CH ₅ N ¹⁵ N ₂ O·HCl	1173020-16-0	212.1	168.1*	-10	-7	-17

*表示定量离子

1.2 标准品溶液的配制及样品前处理

标准工作溶液配制:

混合标准中间液: 取购买的 AOZ、AMAZ、AHD 及 SEM 的储备液 (100 µg/mL) 适量, 用甲醇逐级稀释, 配制成浓度为 1.0 µg/mL 混合标准中间液。

混合标准工作液: 分别准确量取混合标准中间液 1 mL 于 10 mL 和 100 mL 的棕色容量瓶, 用甲醇稀释至刻度, 配制成浓度为 100 和 10 µg/L 混合标准工作液, 现用现配。

混合内标标准工作液：取购买的 AOZ-D₄、AMOZ-D₅、AHD-¹³C₃ 及 SEM-¹³C¹⁵N₂ 的储备液（100 μg/mL）适量，用甲醇逐级稀释，配制成浓度为 100 μg/L 的混合内标标准工作液。

样品前处理：

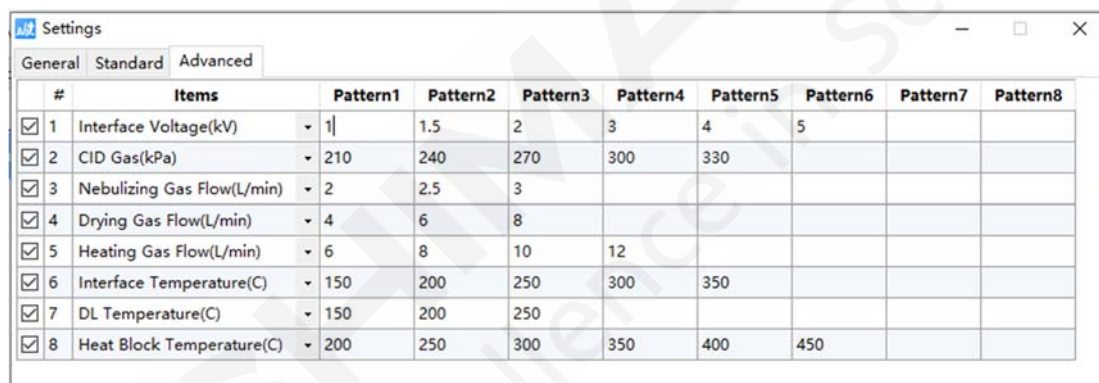
水解与衍生化：取试料 2 g（精确至 0.01 g）于 50 mL 离心管中，加入混合内标标准工作液 50 μL，涡旋 1 min，加 0.5 mol/L 盐酸溶液 5 mL，2-硝基苯甲醛溶液 150 μL，涡旋混合 1 min，于恒温振荡器中 37°C 避光振荡 16 h。

提取净化：取出离心管冷却至室温，用磷酸氢二钾溶液调 pH 至 7.0~7.5，加乙酸乙酯 8 mL，涡旋振荡 30 s，6000 r/min 离心 5 min，取上清液至 10 mL 玻璃离心管中，40°C 氮气吹干。5% 甲醇溶液 1.0 mL 溶解残留物，将溶液转移至 1.5 mL 离心管后 14000 r/min 离心 10 min，上清液过 0.22 μm 滤膜后上机分析。

3 结果与讨论

3.1 离子源参数的优化

离子源参数对于化合物质谱响应具有重要的影响，快速找到合理的参数是液质联用分析方法开发阶段的关键环节。一般在离子源部位有诸如雾化气流速、干燥气流速、离子源电压、离子源温度、ESI 喷针位置等因素可供调节和优化，由于参数种类多、可调节范围宽等因素，往往令初学者一时难以掌握。



#	Items	Pattern1	Pattern2	Pattern3	Pattern4	Pattern5	Pattern6	Pattern7	Pattern8
<input checked="" type="checkbox"/>	1 Interface Voltage(kV)	1	1.5	2	3	4	5		
<input checked="" type="checkbox"/>	2 CID Gas(kPa)	210	240	270	300	330			
<input checked="" type="checkbox"/>	3 Nebulizing Gas Flow(L/min)	2	2.5	3					
<input checked="" type="checkbox"/>	4 Drying Gas Flow(L/min)	4	6	8					
<input checked="" type="checkbox"/>	5 Heating Gas Flow(L/min)	6	8	10	12				
<input checked="" type="checkbox"/>	6 Interface Temperature(C)	150	200	250	300	350			
<input checked="" type="checkbox"/>	7 DL Temperature(C)	150	200	250					
<input checked="" type="checkbox"/>	8 Heat Block Temperature(C)	200	250	300	350	400	450		

图 1. LabSolutions MRM Connect 用于离子源参数优化的实验设计

LabSolutions MRM Connect 是岛津三重四极杆液质联用仪配套用于离子源参数优化软件，通过如图 1 的实验设计（DoE），可以实现对离子源参数的自动优化过程，进而找到最合理的离子源参数。

在本应用案例分析中，以四个目标物中质谱响应相对较低的 AHD 和 SEM 为例，进行离子源参数的优化。以下对比了接口电压、DL 温度和 ESI 喷针位置三个关键因素变化对质谱响应的影响。

3.1.1 接口电压的优化

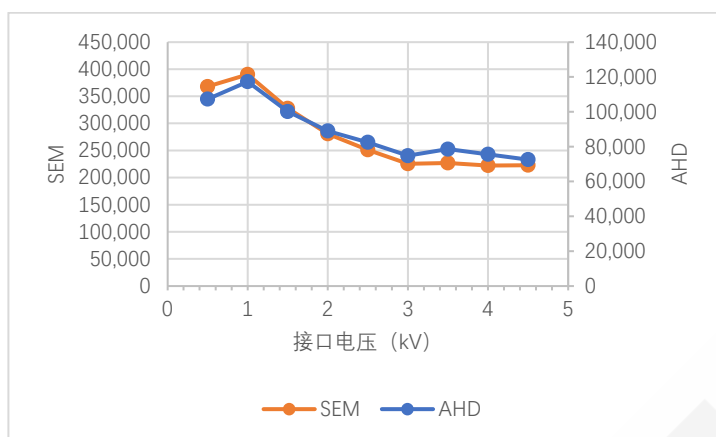


图 2. 接口电压优化结果

设置接口电压从 0.5~4.5kV，以 0.5 kV 为间隔进行优化，AHD 和 SEM 均在接口电压为 1 kV 时，灵敏度最高。

3.1.2 DL 温度的优化

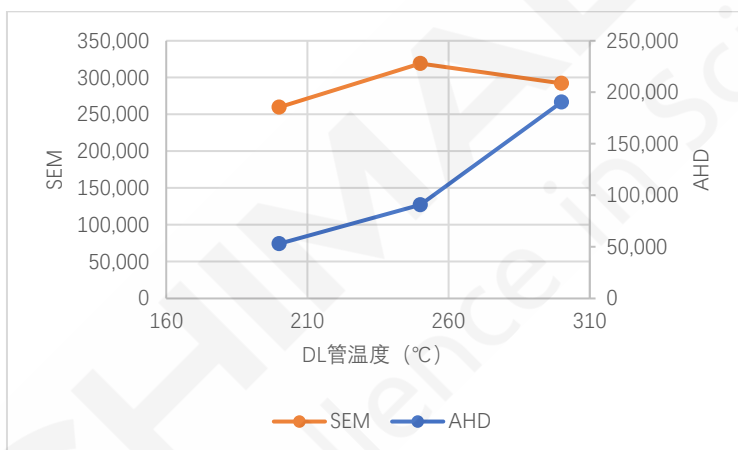


图 3. DL 管温度优化结果

设置 DL 管温度从 200~300°C，以 50°C 为间隔进行优化，AHD 和 SEM 分别在 300°C 和 250°C 时响应最高，鉴于 AHD 在 300°C 时灵敏度增幅非常明显，最终选择 DL 管温度为 300°C。

3.1.3 喷雾针位置的优化

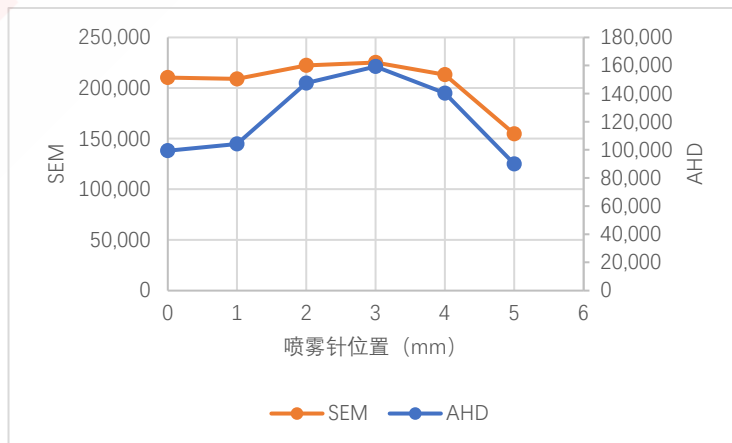


图 4. 喷雾针位置优化结果

调整喷雾针位置从 0~5 mm，以 1 mm 为间隔进行优化，SEM 和 AHD 均在 3 mm 时，响应最高。在本例中，喷雾针位置位于默认位置，灵敏度可以满足对应标准的要求。如需追求更高的灵敏度，可通过调整喷雾针位置至 3 mm 左右来实现。

3.2 硝基咪喃代谢物衍生物的灵敏度

图 5 为 0.5 ng/mL 4 种硝基咪喃代谢物经水解、衍生化及提取净化操作后的 MRM 色谱图，色谱峰分离良好，通道无干扰。

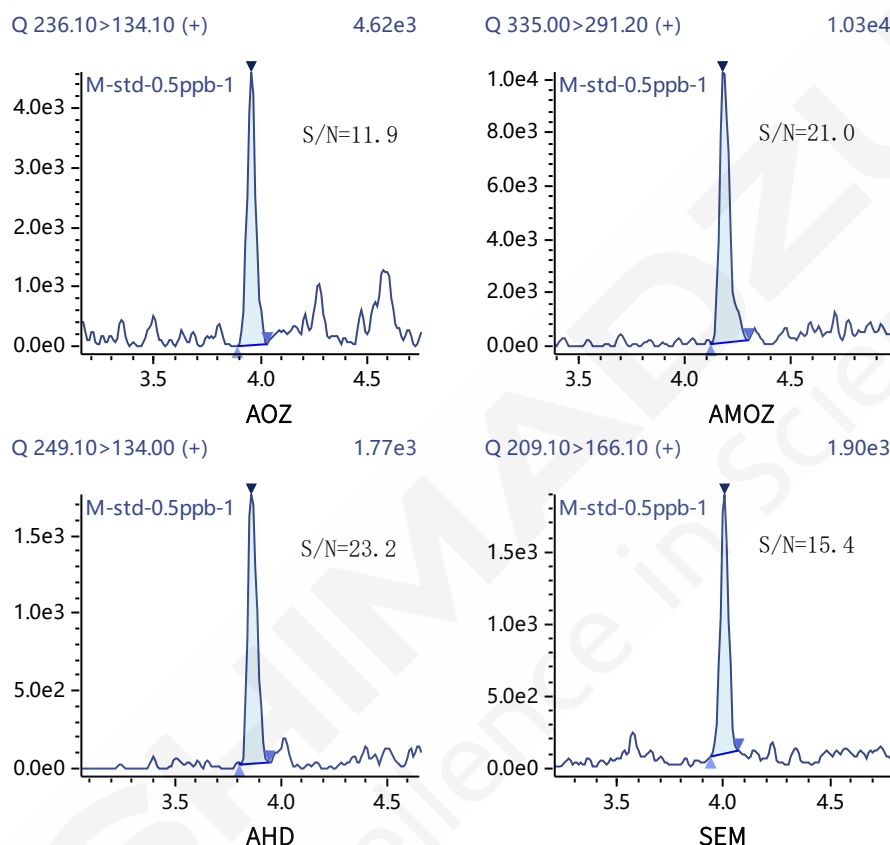


图 5. 0.5 ng/mL 4 种硝基咪喃代谢物衍生物的 MRM 色谱图

3.3 线性关系

分别准确移取 10 $\mu\text{g/L}$ 和 100 $\mu\text{g/L}$ 混合标准工作液各 0.05、0.1、0.2 mL 于 6 个 50 mL 离心管中，除不加试剂外，按试样水解与衍生化及提取净化方法操作，使最终浓度分别为 0.5、1.0、2.0、5.0、10 和 20 $\mu\text{g/L}$ ，按 1.2 条件进行测定。以测得特征离子质量色谱峰外标和内标峰面积比值为纵坐标，对应的标准溶液浓度为横坐标，绘制校准曲线如图 6 所示。4 种硝基咪喃代谢物衍生物校准曲线及检测限、定量限的结果见表 3。

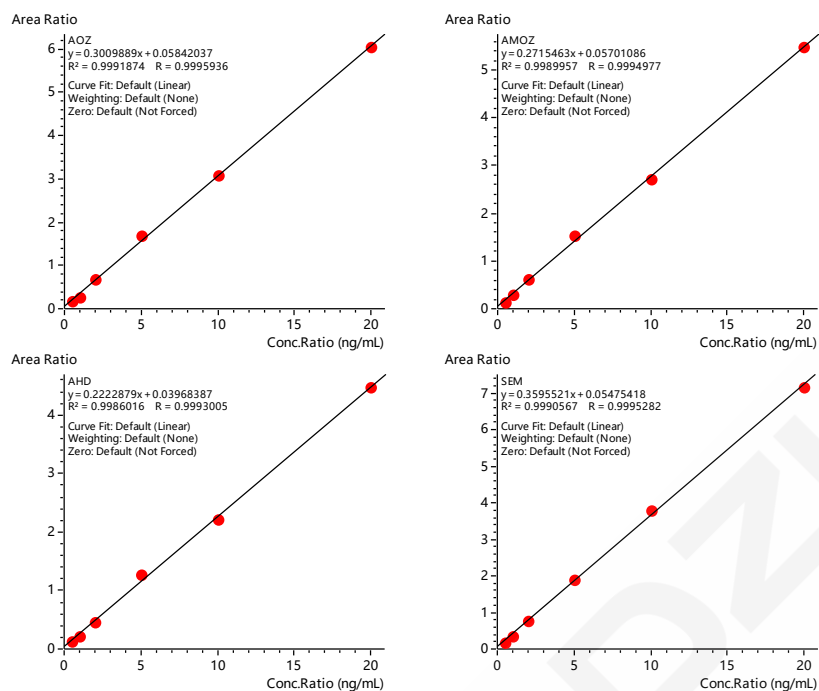


图 6.4 种硝基咪喃代谢物衍生物校准曲线

表 3.4 种硝基咪喃代谢物衍生物校准曲线及检测限、定量限

编号	化合物	校准曲线	相关系数 R	准确度% 准确度%	检测限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
1	AOZ	$Y = (0.300989)X + (0.0584204)$	0.9996	76.2~107.5	0.11	0.33
2	AMOZ	$Y = (0.271546)X + (0.0570109)$	0.9995	74.4~108.5	0.06	0.18
3	AHD	$Y = (0.222288)X + (0.0396839)$	0.9993	85.3~111.2	0.06	0.17
4	SEM	$Y = (0.359552)X + (0.0547542)$	0.9995	86.4~105.7	0.09	0.28

3.4 精密度

浓度为 0.5、2 $\mu\text{g/L}$ 和 20 $\mu\text{g/L}$ 硝基咪喃代谢物衍生物连续测定 6 次，考察仪器的精密度。不同浓度样品中待测物保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.08%~0.13%和 0.89%~9.28%之间，仪器精密度良好。

表 4.4 种硝基咪喃代谢物衍生物保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

编号	化合物	RSD% (0.5 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (2 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (20 $\mu\text{g/L}$)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	AOZ	0.19	5.77	0.09	3.75	0.08	1.90
2	AMOZ	0.11	6.04	0.09	4.11	0.08	0.89
3	AHD	0.10	9.28	0.08	4.40	0.08	1.99
4	SEM	0.13	4.06	0.08	2.82	0.08	1.07

3.5 回收率

取空白南美大虾 2 g，加入混标工作液，使加标浓度为 1、5 和 10 $\mu\text{g/kg}$ ，样品经水解与生化及提取净化方法后，按照 1.2 中的分析条件测定 4 种硝基咪喃代谢物的加标回收率，平行测定 3 次。4 个化合物的回收率在 82.3~112.7%之间，具体结果见表 5。

表 5.4 种硝基呋喃代谢物衍生物回收率结果(n=3)

编号	化合物	加标浓度 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$		加标浓度 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$		加标浓度 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
		回收率%	RSD%	回收率%	RSD%	回收率%	RSD%
1	AOZ	103.0	8.43	92.9	2.63	87.2	7.61
2	AMOZ	101.9	3.91	112.7	2.48	94.0	1.34
3	AHD	92.8	4.26	105.0	8.53	86.8	6.53
4	SEM	82.3	8.50	84.9	5.51	86.4	6.13

4 结论

依据国家标准《GB 31656.13-2021 水产品中硝基呋喃类代谢物多残留的测定 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南美大虾中硝基呋喃代谢物多残留的方法。样品经酸性条件水解和衍生后，乙酸乙酯萃取，高速离心净化，三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 进行检测，内标法定量。4 种硝基呋喃类代谢物在 0.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ ~20.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性良好，相关系数 r 均在 0.999 以上。加标浓度为 1、5 和 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品，回收率在 82.3~112.7%之间。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于水产品中硝基呋喃代谢物残留的准确检测。

LCMS-8045 测定鸡肉中金刚烷胺的残留

摘要：本文建立了一种使用岛津液相色谱串联质谱 LCMS-8045 测定鸡肉中金刚烷胺的方法。市售鸡肉样品经提取和净化后,用超高效液相色谱 LC-40 进行分离,三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 进行定性和定量分析。金刚烷胺在 2 µg/L~200 µg/L 浓度范围内线性良好,标准曲线的相关系数为 0.9999;对 2.0、10 和 100 µg/L 低中高不同浓度的标准工作液连续测定 6 次,保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06%~0.09%和 0.46%~1.56%之间;添加浓度为 2、10 和 100 µg/kg 鸡肉样品,回收率在 89.7~95.6%之间,该方法可适用于鸡肉样品中金刚烷胺残留测定。

关键词：鸡肉 金刚烷胺 三重四极杆质谱

金刚烷胺 (Amantadine) 是饱和三环癸胺的氨基衍生物,是首个被 FDA 批准的抗流感病毒药物,对动物禽流感等病毒性疾病预防效果。虽然许多国家禁止在家禽养殖中使用金刚烷胺,但随着畜禽规模化养殖,金刚烷胺仍被非法用于家禽(尤其是鸡)养殖中。被代谢的药物在鸡肉中残留通过食物链传递在人体内积蓄,造成机体的耐药性,我国已有 20% 的动物源性甲型流感病毒对金刚烷胺产生耐药性。2012 年 12 月,山东一些地方养鸡场被曝违规使用金刚烷胺等抗病毒兽药养殖“速成鸡”,并供给肯德基、麦当劳,引起了巨大的轰动效应。早在 2005 年,我国农业部曾发出《关于清查金刚烷胺等抗病毒药物的紧急通知》,明确要求立即停止生产、经营和使用金刚烷胺、金刚乙胺等,违者按生产、经营假兽药和使用禁用兽药处理。

目前,金刚烷胺的检测多为柱前衍生化后,采用 HPLC-荧光法或 GC 法测定,不仅操作繁琐、费时,而且灵敏度不高。本文根据 GB 31660.5-2019《动物性食品中金刚烷胺残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》,建立了高灵敏度、高选择性的液相色谱-串联质谱方法,用于测定鸡肉中金刚烷胺的残留,供广大分析检测人员参考使用。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 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	质谱仪	: LCMS-8045
柱温箱	: CTO-40S	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.114
在线脱气机	: DGU-405		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱	: Shim-pack GIST C18 (150 mm×2.1 mm I.D., 3 µm, SGLC, P/N: 227-30008-07)
流动相	: A 相-0.1%甲酸水溶液; B 相-甲醇
流速	: 0.30 mL/min

进样体积： 2 μ L

洗脱方式： 梯度洗脱，初始浓度为 B 相 10%，时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
1.50	Pumps	Pump B Conc.	10
2.00	Pumps	Pump B Conc.	90
5.00	Pumps	Pump B Conc.	90
5.10	Pumps	Pump B Conc.	10
10.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源	: ESI, 正离子模式	D L 管温度	: 250°C
接口电压	: 0.5 kV	加热模块温度	: 400°C
雾化气	: 氮气 3.0 L/min	接口温度	: 300°C
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 (230kPa)	驻留时间	: 74 ms

表 2. MRM 参数

化合物名称	英文名称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
金刚烷胺	Amantadine	768-94-5	152.1	135.2*	-10	-17	-24
				93.1	-10	-28	-16
D ₁₅ -金刚烷胺	D ₁₅ - Amantadine	/	167.1	150.2	-13	-19	-21

*表示定量离子

1.3 标准品溶液的配制及样品前处理

标准工作溶液配制:

用甲醇配制 1 mg/L 的金刚烷胺和 D₁₅-金刚烷胺的标准工作溶液,再用 50%乙腈水溶液稀释成 2 μ g/L、4 μ g/L、10 μ g/L、20 μ g/L、100 μ g/L 和 200 μ g/L 不同浓度的标准工作液, D₁₅-金刚烷胺的浓度均为 20 μ g/L。

鸡肉样品前处理:

称取试料 2 g (准确至 \pm 20 mg), 于 50 mL 离心管中, 加 D₁₅-金刚烷胺标准工作液 20 μ L, 加 1% 乙酸乙腈溶液 10 mL, 漩涡 2 min, 3000 r/min 离心 5 min, 上清液转入另一 50 mL 离心管中, 重复提取一次, 合并两次上清液, 备用。取备用液, 加无水硫酸钠 3g、正己烷 10 mL, 涡旋 1 min, 3000 r/min 离心 5 min, 弃去正己烷层, 剩余溶液转至 100 mL 鸡心瓶中, 40°C 水浴下旋转蒸干, 用 1.0 mL 甲醇溶解残渣。加入 PSA 50 mg, 涡旋 30 s, 取上清液过滤膜至 1.5 mL 试管中, 量取滤液 0.5 mL 于离心管中, 40°C 氮气吹干, 加入 50%乙腈水溶液 0.5 mL, 涡旋 30 s, 10000 r/min 离心 5 min, 取上清液供上机测定。

2 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

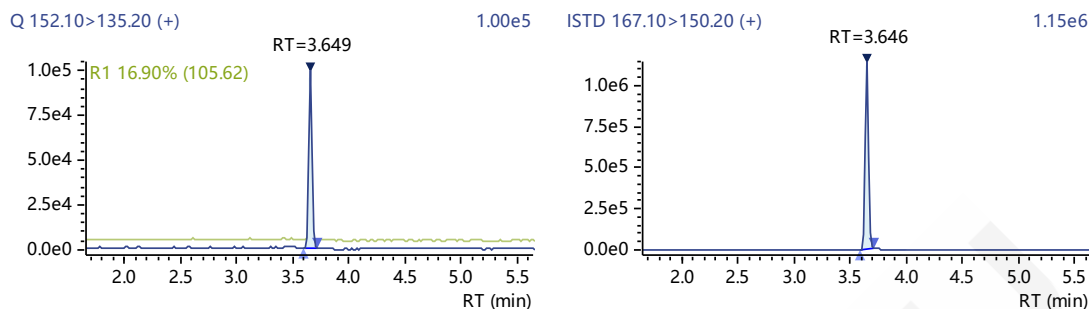


图 1. 2 $\mu\text{g/L}$ 金刚烷胺标准样品的色谱图 (内标 20 $\mu\text{g/L}$)

2.2 线性关系

将 2、4、10、20、100 和 200 $\mu\text{g/L}$ 不同浓度的标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，内标法定量。以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示；所得校准曲线线性关系良好，线性方程为 $Y = (0.0415)X - (0.0027)$ ；相关系数 $R^2 = 0.9999$ 。

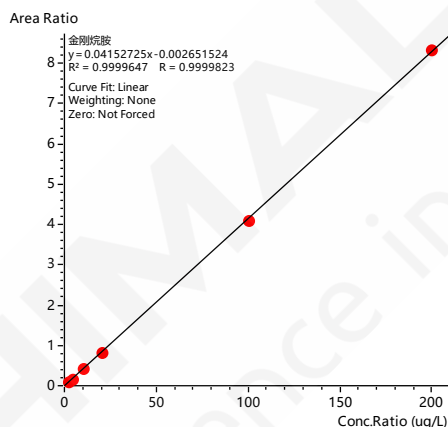


图 2. 金刚烷胺校准曲线

2.3 精密度试验

对 2 $\mu\text{g/L}$ 、10 $\mu\text{g/L}$ 和 100 $\mu\text{g/L}$ 三个浓度标准工作液连续测定 6 次，考察仪器精密度。结果显示：不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06%~0.09%和 0.46%~1.56%之间，仪器精密度良好。

表 3. 金刚烷胺保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

Conc.($\mu\text{g/L}$)	RSD% (R.T.)	RSD%(Area)
2.0	0.06	1.56
10	0.09	0.46
100	0.07	0.52

2.4 灵敏度实验

图 3 为 0.1 $\mu\text{g/L}$ 金刚烷胺的 MRM 色谱图。根据检出限 $\text{MDL} = 3.3 \text{ S/N}$ ，定量限 $\text{LOQ} = 10 \text{ S/N}$ 计算检出限和定量限，分别为 0.03 和 0.08 $\mu\text{g/L}$ 。

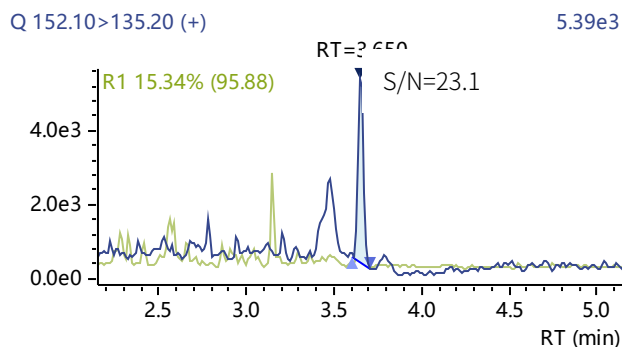


图 3. 0.1 µg/L 金刚烷胺标样 MRM 色谱图

2.5 基质加标实验

取空白鸡肉样品 2 g，加入少量金刚烷胺标准工作液，使加标浓度为 2、10 和 100 µg/kg，样品经提取与净化后，按照 1.2 中的分析条件测定金刚烷胺的加标回收率，回收率在 89.7~95.6%之间。图 4 为空白鸡肉的 MRM 色谱图，加标浓度为 2 µg/kg 样品 MRM 色谱图如 5 所示。

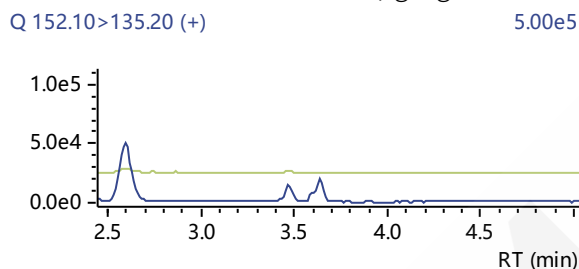


图 4. 空白鸡肉样品 MRM 色谱图

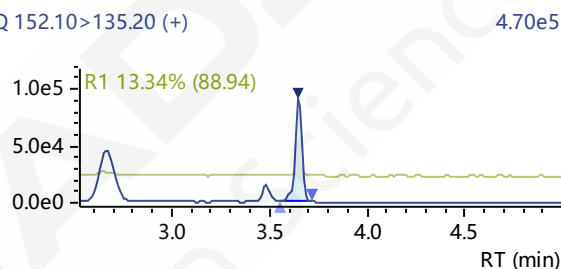


图 5. 2 µg/kg 加标样品 MRM 色谱图

3 结论

建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 测定鸡肉中金刚烷胺残留的方法。鸡肉样品经提取和净化后，用超高效液相色谱 LC-40 进行分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 进行定性和定量分析。金刚烷胺在 2 µg/L~200 µg/L 浓度范围内线性良好；对不同浓度的标准工作液连续测定 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06%~0.09%和 0.46%~1.56%之间。添加浓度为 2、10 和 100 µg/kg 鸡肉样品，回收率在 89.7~95.6%之间。本方法操作简单，可用于鸡肉中金刚烷胺的快速高灵敏度检测。

LC-MS/MS 法分析肉类中美度铵残留

摘要: 本文利用岛津三重四极杆液质联用仪,建立了肉类中美度铵残留量的测定方法。样品经碳酸氢铵-乙腈缓冲液提取,固相萃取柱净化,液相色谱-串联质谱法测定。结果显示该方法在 0.5~100 ng/mL 浓度范围内建立校准曲线,线性相关系数均大于 0.997,线性良好;0.5 ng/mL 美度铵保留时间 RSD 为 0.14%,峰面积 RSD 为 5.03%;猪肉、虾中美度铵的检出限分别为 0.2 和 0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限分别为 0.7 和 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,5、10、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标回收率在 81.8%~109.5%之间。该方法分析速度快,灵敏度高,准确度高,适用于肉类产品中美度铵的残留量测定,也可为相关从业人员分析检测提供参考。

关键词: 三重四极杆液质联用仪 美度铵 肉类 代谢调节剂 兴奋剂

技术特点:

- ❖ 提取液采用碳酸氢铵缓冲液,提取效率高,同时避免了溶剂效应的发生。
- ❖ 使用 Shim-pack Velox HILIC 色谱柱,提高美度铵与干扰的分离度,定量更准确。

美度铵 (Meldonium, Mildronate), 又称米屈胍,最初作为一种生长促进剂用于动物养殖,此外,作为左旋肉碱抑制剂,在欧洲作为批准药物用于治疗糖尿病、神经退行性疾病和支气管肺疾病。就运动表现而言,对运动员运动能力、耐力以及运动后恢复均有促进作用。因此,2016年,世界反兴奋剂中心(WADA)将美度铵列入禁用清单 S4. 激素及代谢调节剂。国家体育总局也于 2021 年发布了《大型赛事食源性兴奋剂防控工作指南》,要求大型赛事举办方对肉食品中食源性兴奋剂进行检测,其中美度铵参考检出限 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

目前,美度铵的检测方法包括液相色谱-串联质谱法、液相色谱-高分辨质谱法,仅尿液、血液、干血斑等基质有少量文献研究。但是食品基质的研究尚未见报道。

本文采用液相色谱-串联质谱,建立了猪肉、虾中美度铵残留的检测方法,对提取效率、基质效应等进行了研究,并进行了详细的方法学考察。该方法快速、准确、灵敏度高,供相关行业参考。

1 实验部分

1.1 仪器配置

岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8045。具体配置为

输液泵	:LC-40D XR×2	系统控制器	:CBM-40
自动进样器	:SIL-40C XR	三重四极杆质谱仪	:LCMS-8045
柱温箱	:CTO-40C	色谱工作站	:LabSolutions Ver. 5.113

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱 : Shim-pack Velox HILIC (50 mm x 2.1 mm I.D., 2.7 μm), 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-32025-02

流动相 : A相-10 mM 乙酸铵水溶液; B相-A:乙腈=5:95

流 速 : 0.3 mL/min 进 样 量: 1 μ L
 柱 温 : 35 $^{\circ}$ C 洗 针 模 式: 水: 乙腈 (1: 1)
 洗脱方式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 80%, 时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
6.00	Pumps	Pump B Conc.	72
6.50	Pumps	Pump B Conc.	50
7.50	Pumps	Pump B Conc.	50
8.00	Pumps	Pump B Conc.	80
11.00	Controller	Stop	

质谱条件

质 谱 仪 : LCMS-8045 脱溶剂管温度 : 250 $^{\circ}$ C
 离 子 源 : ESI+ 加热模块温度 : 400 $^{\circ}$ C
 雾 化 气 : 氮气 3 L/min 接 口 温 度 : 300 $^{\circ}$ C
 干 燥 气 : 氮气 10 L/min 扫 描 模 式 : MRM
 加 热 气 : 空气 10 L/min M R M 参 数 : 见表 2

表 2. MRM 参数

序号	中文名	英文名	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	CE (V)
1	美度铵	Meldonium	147.20	58.25*	-27.0
				59.25	-19.0
				42.10	-55.0

* 定量离子对

1.3 样品前处理

准确称取样品 1.0 g, 置于 50 mL 离心管中, 准确加入 50 mM 碳酸氢铵水: 乙腈 (3: 7) 缓冲液 10.0 mL, 涡旋 30 s, 超声提取 5 min, 17500 r/min 均质 30s, 加入 10 mL 正己烷, 轻轻混匀, 4000 r/min 离心 10 min, 弃去正己烷层, 吸取 2 mL 清液过 HLB 固相萃取柱, 收集上样液, 过 0.22 μ m 尼龙滤膜, 上机。

1.4 标准溶液制备

基质标准系列工作液的配制: 取空白样品, 按照前处理净化, 分别准确加入混合标准中间工作液适量, 配制成浓度为 0.5、1、2、5、20、100 ng/mL 的标准工作曲线, 待上机分析。

2 结果与讨论

2.1 质谱条件优化

美度铵是 β -氨基酸衍生物, 属于两性化合物, 季铵根离子在正离子模式下有很好的质谱响应, -20eV 和 -55eV 叠加二级质谱图如下图 1 所示。

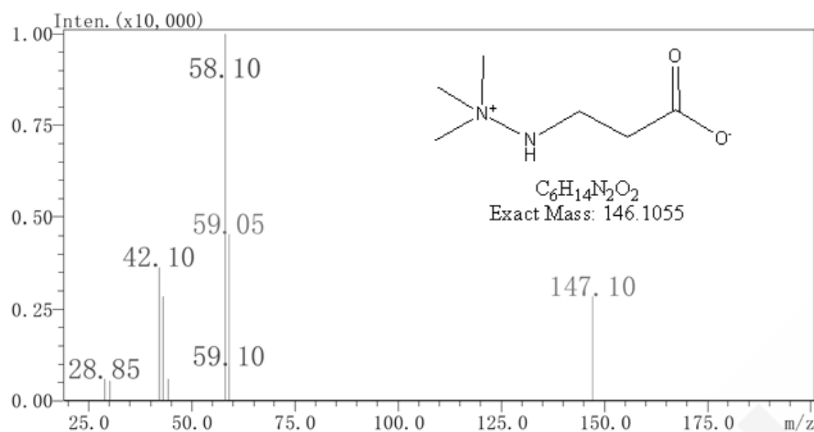


图 1. 美度铵二级质谱图(CE 为 -20 eV 和 -55 eV 叠加)

2.2 色谱条件优化

美度铵极性很强, logP 为 -1.4, 在反相 C8、C18 色谱柱上无保留。从结构上看, 采用烷基磺酸根离子对试剂, 可实现反相模式保留, 但离子对试剂的引入, 会给质谱分析带来离子残留、竞争离子化等新的挑战。而采用亲水作用色谱(HILIC)模式进行分析, 可实现质谱兼容的高灵敏度分析。本文对比了 Silica、Diol、Amide 等几种常见的 HILIC 固定性的保留分离能力, Shim-pack Velox HILIC (50 mm x 2.1 mm I.D., 2.7 μm)、PC HILIC (150 mm x 2.0 mm I.D., 3 μm)、Shim-pack Diol HILIC (50 mm x 2.1 mm I.D., 2.7 μm)、Inersil HILIC (150 mm x 2.1 mm I.D., 3 μm)、Inersil Amide (100 mm x 2.1 mm I.D., 5 μm)、Glycan BEH Amide (150 mm x 2.1 mm I.D., 1.7 μm)。其中, Diol 对于美度铵的保留较弱, 难以分离基质中的干扰峰; 两款 Amide 色谱柱对美度铵保留较好, 可以分离猪肉基质中的干扰峰, 但是虾基质中干扰峰更多, 即使是填料颗粒更小的 Glycan BEH Amide 也无法实现分离; Silica 固定相的色谱柱对美度铵干扰峰的保留分离效果更好; 对于猪肉、虾基质干扰均能实现较好分离的是 Shim-pack Velox HILIC、PC HILIC 两款色谱柱, Shim-pack Velox HILIC 采用的是实心球颗粒的高纯硅胶, 柱效高, 平衡快, 更适合质谱匹配的快速分析。

流动相添加剂对色谱峰形, 分离度有一定的影响, 对比了水相加 10 mM 乙酸铵、水相加 0.1% 甲酸、水相加 0.1% 甲酸+10 mM 乙酸铵三种添加剂体系, 添加甲酸导致色谱峰分叉, 且分离度下降, 无法将美度铵与基质干扰峰分离, 同时加甲酸对于质谱响应没有明显促进作用, 因此, 最终选择 10 mM 乙酸铵作为流动相添加剂, 结果见图 2。

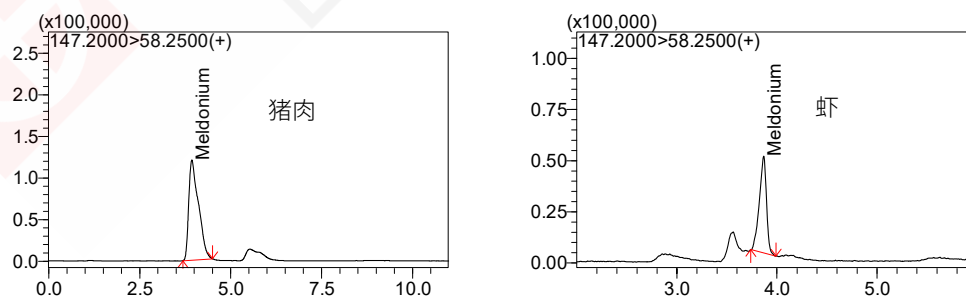


图 2. Velox HILIC 色谱图 (猪肉、虾基质)

2.3 前处理考察

美度铵分子量小, 极性很强, 水溶性好, 优先考虑使用含水比例高的提取试剂进行萃取, 此外, 肉类中蛋白质脂肪含量丰富, 特别是水溶性氨基酸对分离测定干扰较大, 需要一定的净化处理。本文对比了水/乙腈 (1:9)、1% 的甲酸水/乙腈 (1:9)、0.1M 磷酸缓冲液/乙腈 (1:9)、0.1M EDTA-Mcllavine 水溶液 (pH=4.0、

7.0、10.0)、50 mM 碳酸氢铵/乙腈 (3: 7) 提取效率。20 ng/g 单点基质标测定提取效率, 结果如下图所示, 水/乙腈 (1: 9) 提取效率 54%, 其他提取试剂均可以 80-105%的提取率。1%的甲酸水/乙腈 (1: 9) 的提取效率 90%, 但是样品溶液 pH 较低, 导致色谱分离度下降; 0.1M 磷酸缓冲液/乙腈 (1: 9)、0.1M EDTA-McIlvaine 水溶液在-pH=4.0、7.0、10.0 均可以实现较好的提取效率, 但含磷酸盐的缓冲液容易在质谱离子源处形成结晶堵塞喷针, 需要在净化过程中去除; 50 mM 碳酸氢铵/乙腈 (3: 7) 可以实现 101%的提取效率, 乙腈沉淀蛋白的同时, 缓冲盐溶液可以让肉分散, 让肉中的药物充分分散释放, 水相比例不高于 50%可以避免溶剂效应, 有利于 HILIC 模式分析。因此最终选择了挥发性的碳酸氢铵缓冲溶液提取。

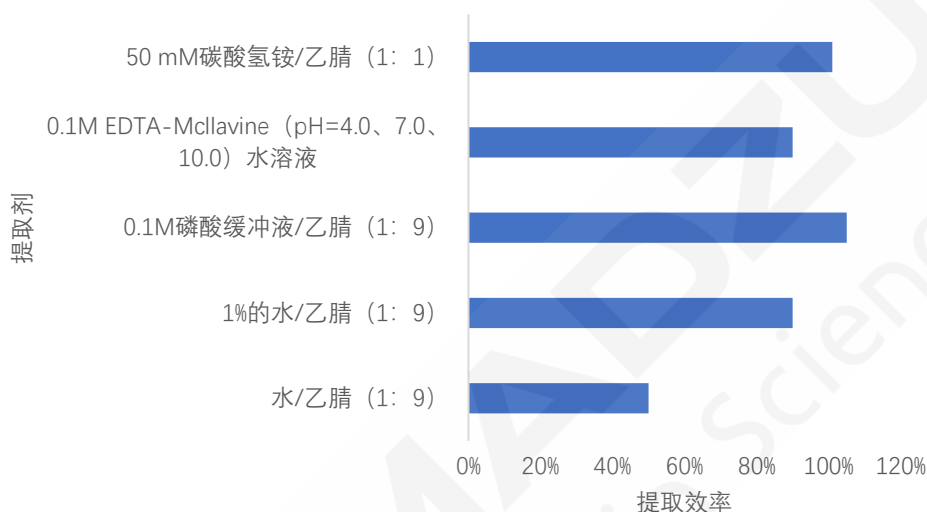


图 3. 不同提取剂的提取效率

根据提取的试剂不同, 采用两种类型的固相萃取净化方式: 1-0.1M EDTA-McIlvaine 提取, 净化时使用 styra MCX、SCX、WCX 固相萃取柱; 2-50 mM 碳酸氢铵/乙腈 (3: 7) 提取, HLB 固相萃取柱净化。pH=4.0 的麦氏溶剂提取后, 仅 SCX 有一定的保留, 当上样体积增大时, 美度铵被洗脱。HLB 净化时, 无需活化, 直接收集上样液, HLB 对美度铵没有保留, 可以实现对样品中弱极性至非极性组分净化。

2.4 基质效应

基质中共流出组分影响离子化效率, 对目标物测定产生一定影响, 称为基质效应, 基质效应 (ME) = 样品提取后添加/纯的标准溶液, 当 $ME > 1$ 时, 表现为基质增强效应; 当 $ME < 1$ 时, 表现为基质抑制效应; 且当 ME 介于 0.8~1.2 之间时, 通常认为不存在明显的基质增强或基质抑制效应, 当超出此范围时表明存在较强基质效应, 须进行基质效应补偿。配制系列浓度的溶剂校准曲线和基质校准曲线, 溶液校准曲线、猪肉基质曲线、虾基质曲线如图 4 所示, 结果显示, 猪肉基质效应在 59%, 虾基质效应在 27%, 均存在明显的基质抑制效应。为了平衡基质效应对定量准确性的影响, 本文采用基质匹配外标曲线法定量。

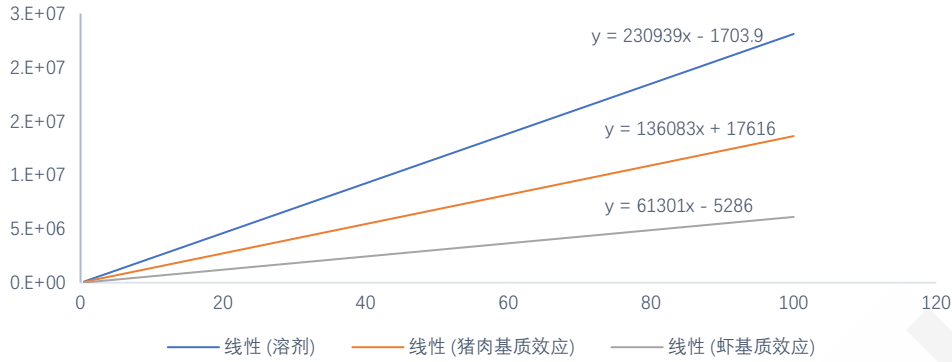


图 4. 猪肉、虾基质效应

2.5 线性

按照 1.4 方法配制标准系列溶液，上机分析得出美度铵在猪肉、虾基质中线性范围和线性关系。结果表明，美度铵在 0.5~100 ng/mL 范围内，线性良好，相关系数 R 均>0.997，准确度 94.7%~107.7%之间。美度铵基质校准曲线见图 5。

表 3. 美度铵基质校准曲线的线性关系

化合物	基质	线性方程	相关系数 R	准确度(%)
美度铵	猪肉	$Y=136318.3X+8170.1$	0.9994	97.4~104.2
	虾	$Y=34568.9X+9147.8$	0.9977	94.7~107.7

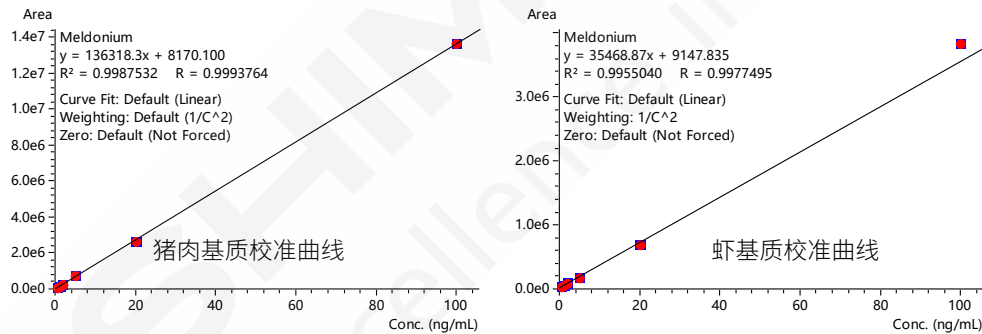


图 5. 美度铵基质校准曲线

2.6 精密度考察

取 0.5 ng/mL 的溶液标准溶液，注入液相色谱串联质谱仪，平行测定 6 次，计算保留时间 (R.T.) 和峰面积 (Area) 的 RSD%。结果显示美度铵的保留时间 (R.T.) 的 RSD 为 0.14%，峰面积 (Area) 的 RSD 为 5.03%，实验结果表明仪器条件稳定性良好。

2.7 检出限和定量限

取 0.5 ng/mL 的基质标准溶液，注入液相色谱串联质谱仪，根据信噪比，计算其检出限 (S/N=3) 和定量限 (S/N=10)。结果如表 5 显示，美度铵在猪肉、虾基质的检出限分别为 0.2、0.3 μg/kg，定量限分别为 0.7、1.0 μg/kg。检出限、定量限满足《大型赛事食源性兴奋剂防控工作指南》要求的 20 μg/kg。

2.8 加标回收率

选择空白猪肉、虾，进行 5、10、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度的加标回收试验，每个加标浓度 6 个平行，按照前述前处理方式处理，上机测定，以基质外标曲线法定量，计算回收率。美度铵加标回收率在 81.8%~109.5%之间，符合指南要求。

表 4. 美度铵加标回收率结果

基质	浓度	回收率 (%)	RSD (%)
猪肉	5	81.8	6
	10	88.6	5
	50	100.6	3
虾	5	88.9	15
	10	90.9	15
	50	109.5	12

3 结论

本实验使用岛津LCMS-8045液质联用系统，开发了肉中美度铵残留量的检测方法。实验结果表明，猪肉、虾基质效应分别为59%，27%，存在一定的基质抑制效应，因此采用基质匹配外标曲线定量。美度铵在猪肉、虾基质中0.5-100 ng/mL的范围内线性良好；精密度实验中，0.5 ng/mL美度铵保留时间RSD为0.14%，峰面积RSD为5.03%，仪器性能稳定；是猪肉、虾中美度铵的检出限在0.2、0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限在0.7、1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，5、10、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标回收率81.8%~109.5%之间，回收率良好。

LC-MS/MS 测定动物源性食品中氢氯噻嗪等 10 种利尿剂的残留量

摘要：本文参考国家出入境检验检疫行业发布的行业标准《SN/T 5167-2019 出口动物源食品中氢氯噻嗪等 10 种利尿剂残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》，使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050 建立快速分析方法。该方法采用基质匹配曲线外标法定量，线性关系良好，相关系数均大于 0.9969；仪器检出限在 0.06~0.32 ng/mL 之间，完全满足标准中对检测灵敏度的要求；不同浓度标液重复测试，其保留时间和峰面积的相对标准偏差 RSD 值分别在 0.05%~0.17%和 0.43%~4.12%之间，仪器精密度良好；平均加标回收率在 64.82%~83.78%之间，回收率良好。该方法灵敏可靠，可为相关行业人员参考使用。

关键词：三重四极杆质谱联用仪 动物源食品 利尿剂 氢氯噻嗪

噻嗪类利尿剂是一类促进体液从组织中排出的西药，主要有氯噻嗪、氢氯噻嗪、螺内酯、丙磺舒和氯噻酮等10种化合物，在临床上作为口服利尿药和降压药广泛使用。滥用此类利尿剂可影响肾脏代谢，引起低血钾和缺钾、脂肪代谢紊乱、糖代谢改变、肌肉血流改变甚至肌肉坏死。在体育运动中，个别运动员会在参赛体质检查前服用利尿剂，通过快速排尿来快速减轻身体质量；或在兴奋剂检查前服用利尿剂，用以增加尿液和禁用药物代谢速度，使药物随尿液排出体外，从而逃避药物检测。因此，国家体育总局在《2021年兴奋剂目录》中将利尿剂及其他具有相似化学结构的物质归属为禁用物质。由于运动员在日常饮食中需摄入肉类以提供足够的能量，若摄入的肉类中存在利尿剂残留，也可能导致尿检阳性，从而导致误检误判。因此，检测运动员膳食动物源性食品中利尿剂的残留量至关重要。

检测方法主要为高效液相色谱法、气相色谱-质谱法和液相色谱-质谱联用法。由于利尿剂类药物经动物吸收、代谢后，在肉组织等食品中的残留量很低，因此，需要有更高灵敏度和便捷性的检测方法。国家出入境检验检疫行业发布行业标准《SN/T 5167-2019 出口动物源食品中氢氯噻嗪等10种利尿剂残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》。

本文参考SN/T 5167-2019该行业标准，使用岛津三重四极杆液质联用仪LCMS-8050建立分析方法，供相关检测人员参考。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera-XR 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：	CBM-40A	自动进样器：	SIL-40C XR
输液泵：	LC-40D XR × 2	质谱仪：	LCMS-8050
柱温箱：	CTO-40C	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.99
在线脱气机：	DGU-405		

1.2 分析条件

液相色谱条件:

色 谱 柱 : Shim-pack GIST-HP C18-AQ (100 mm×2.1mm I.D., 1.9 μm) P/N: 227-30807-02,
 岛津(上海)实验器材有限公司
 流 动 相 : A相-水; B相-0.01%乙酸甲醇
 流 速 : 0.3 mL/min
 柱 温 : 40°C
 进 样 量 : 5 μL
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B相初始浓度为 10%, 时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time	Module	Command	Value
2.50	Pumps	Pump B Conc.	60
3.50	Pumps	Pump B Conc.	75
6.00	Pumps	Pump B Conc.	85
6.05	Pumps	Pump B Conc.	95
8.00	Pumps	Pump B Conc.	95
8.05	Pumps	Pump B Conc.	10
11.00	Controller	Stop	

质谱条件:

离 子 源 : ESI(±) D L 温 度 : 280°C
 雾 化 气 流 速 : 3.0 L/min 加 热 模 块 温 度 : 480°C
 加 热 气 流 速 : 10.0 L/min 接 口 温 度 : 380°C
 干 燥 气 流 速 : 10.0 L/min 扫 描 模 式 : 多 反 应 监 测(MRM)

表 2. MRM 参数

化合物名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
氨苯喋啶	396-01-0	254.10	237.10*	-10	-16	-17
			168.10	-13	-22	-18
丙磺舒	57-66-9	286.05	202.00*	-14	-15	-14
			121.10	-15	-26	-13
螺内酯	52-01-7	341.15	187.10*	-13	-21	-20
			107.10	-10	-30	-22
坎利酮	976-71-6	341.15	187.10*	-10	-22	-13
			107.10	-10	-30	-22
精磺胺	121-30-2	283.95	205.10*	13	20	21
			169.10	19	22	16
氯噻嗪	58-94-6	293.95	214.00*	20	18	24
			179.10	14	43	17
氢氯噻嗪	58-93-5	295.95	268.90*	14	18	29
			205.10	14	22	21
乙酰唑胺	59-66-5	221.05	83.10*	15	17	30
			58.00	15	14	21
氯噻酮	77-36-1	337.00	146.00*	12	18	28
			190.00	12	16	19
呋塞米	54-31-9	329.00	285.00*	11	13	13
			205.10	11	21	12

*表示定量离子

2 样品前处理及标准工作溶液的配制

2.1 样品前处理

2.1.1 样品提取

称取约2 g试样（精确至0.01 g）置于50 mL离心管中，加入10 mL乙腈和2 g磷酸二氢钾，振荡提取30 min，于0°C以9000 r/min转速离心5 min，取上清液，再加入10 mL乙腈重复提取1次，离心后合并上清液于50 mL离心管中，待净化。

2.1.2 净化

在待净化上清液中加入150 mg无水硫酸镁、50 mg PSA、50 mg C18、7.5 mg GCB，涡旋混合30 s，于0°C以9000 r/min离心5 min，取全部上清液，于45°C下氮吹至近干，准确加入2.0 mL 30%甲醇水溶液（含0.01%乙酸）溶解，过0.22 μm微孔滤膜，待测定。

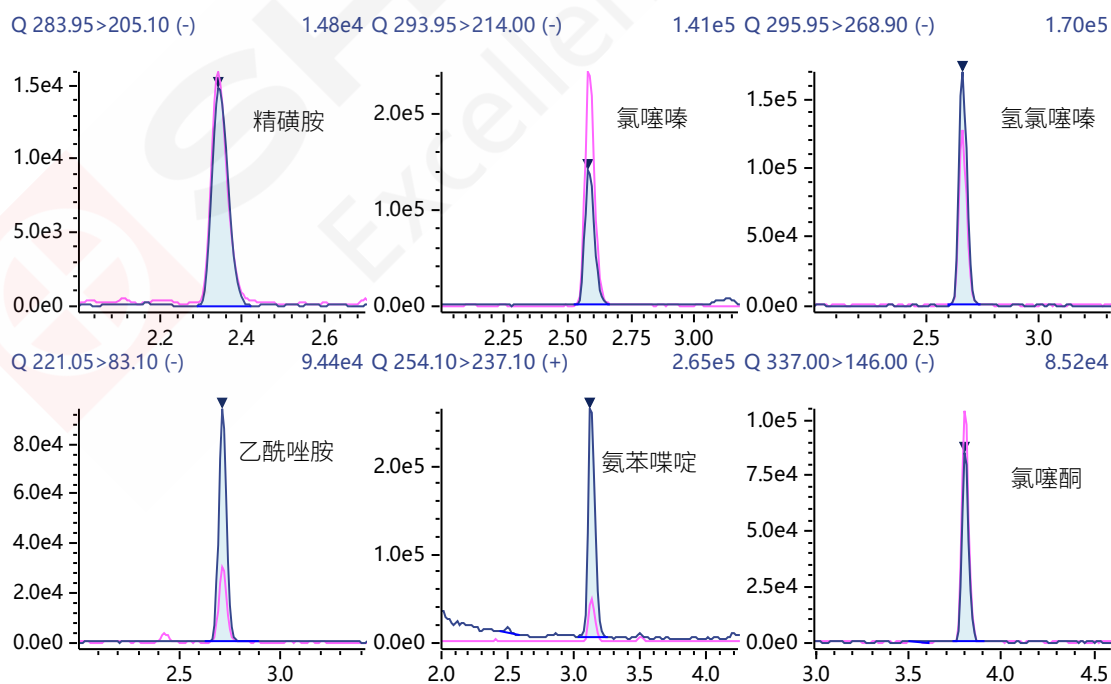
2.2 标准溶液的配制

标准储备溶液的配制：精密称取以上 10 种利尿剂固体标准品，甲醇溶解，获得 1.0 mg/mL 各储备溶液。

基质匹配校准工作溶液的配制：首先分别将各标准储备溶液混合，制得100 mg/L利尿剂混合溶液，再使用30%甲醇溶液（含0.01%乙酸）将该混合溶液稀释，制得浓度分别为20、40、100、200、400、1000、2000和4000 ng/mL纯标溶液，以待使用。取某空白样品，按照2.1法处理样品，制得空白基质溶液。分别取以上各纯标溶液，使用该空白基质溶液对应稀释，分别获得浓度分别为1、2、5、10、20、50、100和200 ng/mL基质匹配的利尿剂标准工作溶液。

3 结果与讨论

3.1 基质匹配校准溶液色谱图



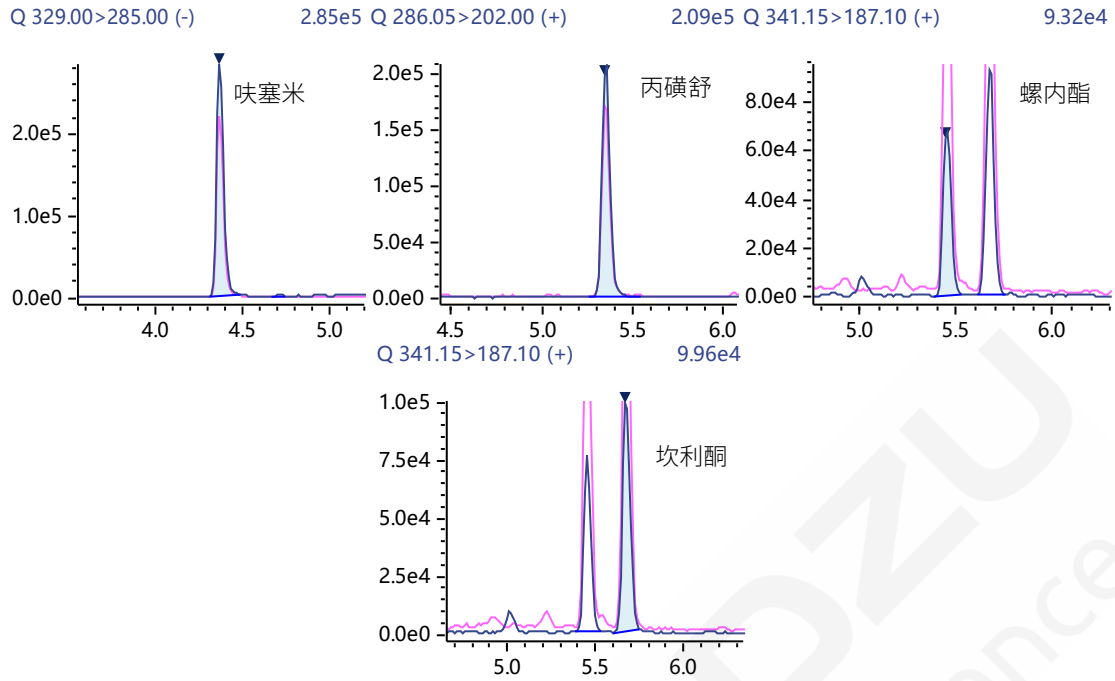
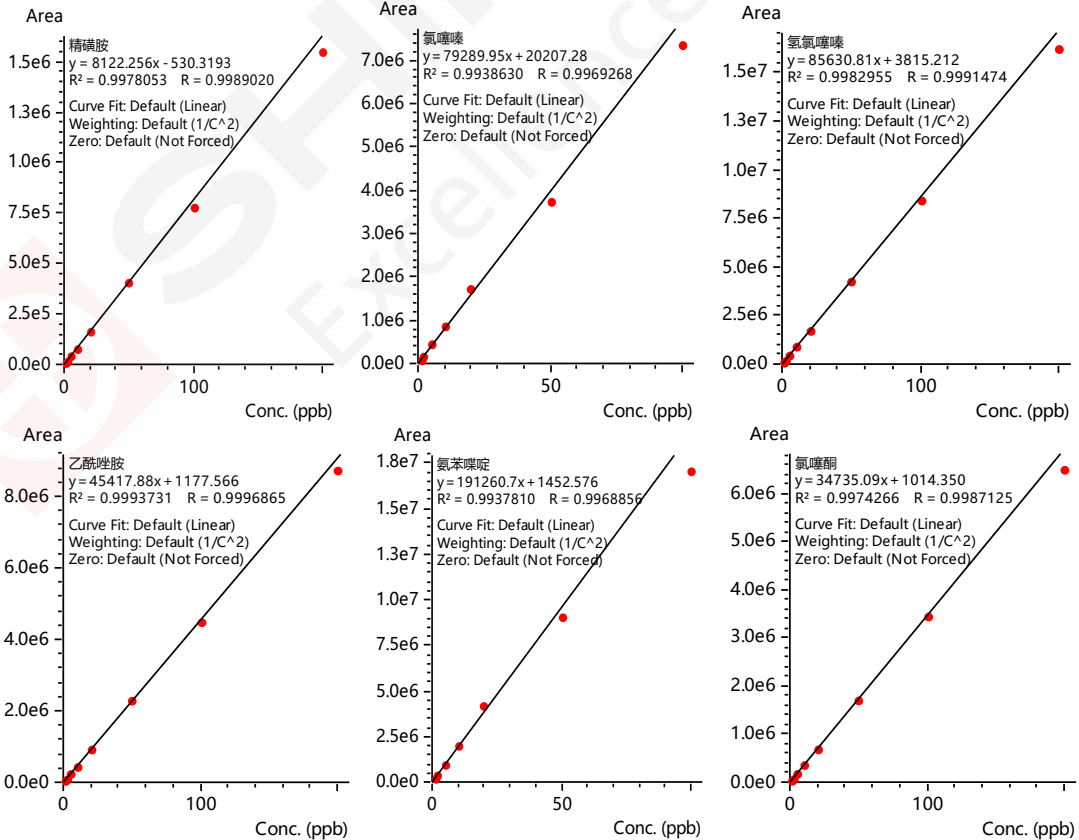


图1. 基质匹配校准溶液色谱图 (5 ng/mL)

3.2 校准曲线

将上述浓度分别为 1、2、5、10、20、50、100 和 200 ng/mL 基质匹配标准工作溶液，按 1.2 分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线，如图 2 所示；所得校准曲线线性关系良好，相关系数均大于 0.9969，线性回读精确度在 90.4~108.0%之间，仪器检出限 (ASTM 法) 在 0.06~0.32 ng/mL 之间，满足 SN/T 5167-2019 中规定的灵敏度要求。



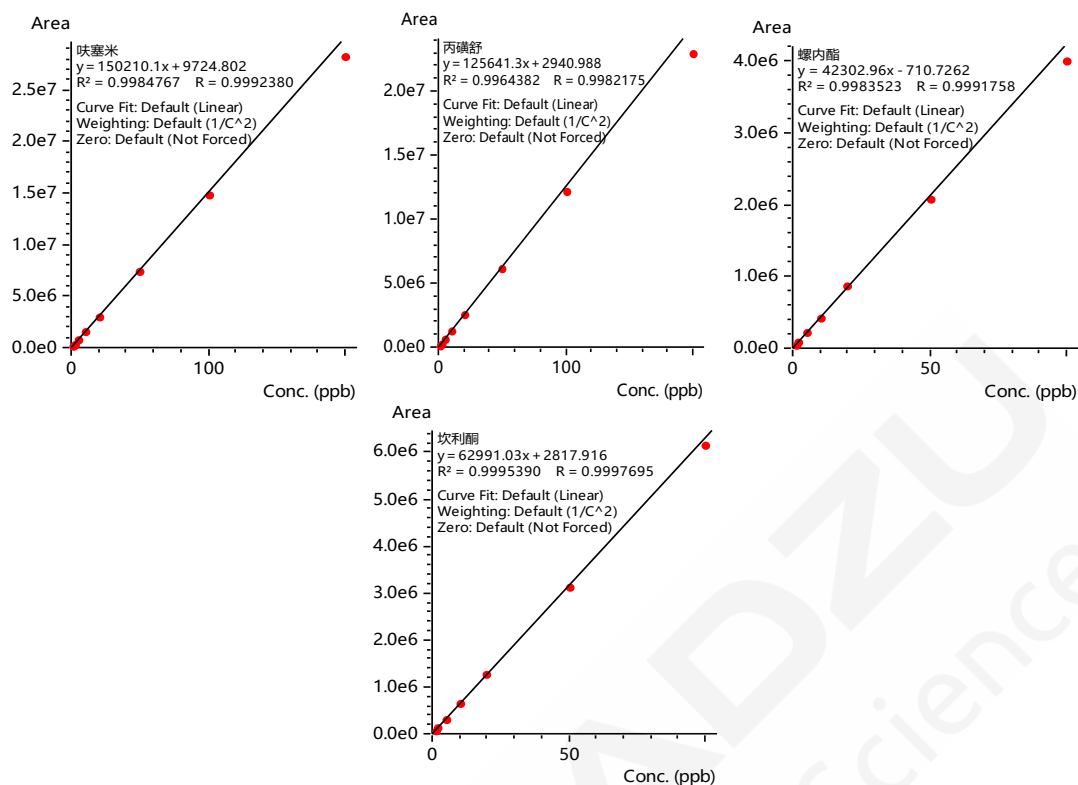


图 2. 利尿剂基质匹配校准曲线

表 3. 10 种利尿剂线性关系 (权重 $1/c^2$)

序号	化合物名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度%	检出限 (ng/mL)
1	氨苯喋啶	$Y = (191261)X + (1452.58)$	1~100	0.9969	90.4~105.3	0.32
2	丙磺舒	$Y = (125641)X + (2940.99)$	1~200	0.9982	91.3~105.8	0.06
3	螺内酯	$Y = (42303.0)X + (-710.726)$	1~100	0.9991	94.7~104.3	0.30
4	坎利酮	$Y = (62991.0)X + (2817.92)$	1~100	0.9998	97.7~103.7	0.31
5	精磺胺	$Y = (8122.26)X + (-530.319)$	1~200	0.9989	95.4~106.7	0.21
6	氯噻嗪	$Y = (79289.9)X + (20207.3)$	1~100	0.9969	92.6~108.0	0.10
7	氢氯噻嗪	$Y = (85630.8)X + (3815.21)$	1~200	0.9991	94.7~105.7	0.06
8	乙酰唑胺	$Y = (45417.9)X + (1177.57)$	1~200	0.9997	96.1~102.8	0.14
9	氯噻酮	$Y = (34735.1)X + (1014.35)$	1~200	0.9987	93.7~106.5	0.10
10	呋塞米	$Y = (150210)X + (9724.80)$	1~200	0.9992	94.1~105.4	0.10

3.3 精密度

对不同浓度标准工作液连续测定 6 次, 考察仪器精密度, 保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示不同浓度下, 各化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05%~0.17%和 0.43%~4.12% 之间, 仪器精密度良好。

表 4. 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

序号	化合物名称	RSD% (2 ng/mL)		RSD% (5 ng/mL)	
		R.T.	Area	R.T.	Area
1	氨苯喋啶	0.07	2.93	0.10	1.97

2	丙磺舒	0.11	2.35	0.07	1.81
3	螺内酯	0.10	4.12	0.07	2.86
4	坎利酮	0.09	3.23	0.07	0.43
5	精磺胺	0.14	3.36	0.17	2.93
6	氯噻嗪	0.07	3.33	0.16	3.07
7	氢氯噻嗪	0.08	1.36	0.16	1.11
8	乙酰唑胺	0.07	2.41	0.15	1.62
9	氯噻酮	0.05	3.12	0.13	4.01
10	呋塞米	0.09	1.61	0.09	0.81

3.4 回收率

根据行业标准 SN/T5167-2019 中所明确的样品类型，本实验选择其中一样品类型牛奶进行回收率实验。分别各取 6 份均为 2.00 g 的全脂牛奶样品，分为两组，每组中分别加入 10 μL 和 20 μL 的 1.0 mg/L 利尿剂混标溶液，使溶液的理论定容浓度分别为 5 ng/mL 和 10 ng/mL，按照 2.1 处理方法处理样品，后上机测定。扣除牛奶本底值后再计算各化合物的平均回收率，牛奶空白和牛奶前加标色谱图分别如下图 3-4。计算结果显示，10 种利尿剂化合物的平均回收率在 64.82%~83.78%之间，回收率良好，具体结果见表 5。

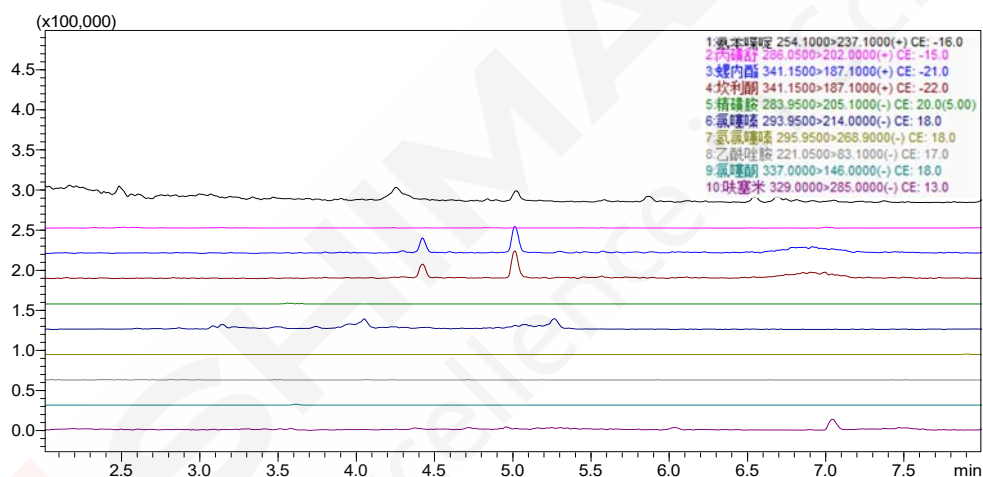


图 3.牛奶空白基质色谱图

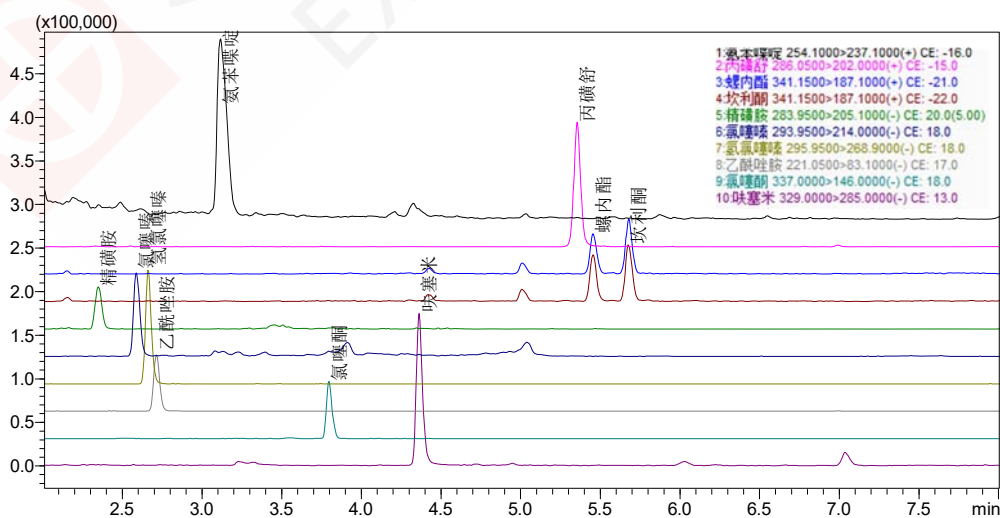


图 4.牛奶空白基质前加标色谱图 (5.0 ng/mL)

表 5. 回收率测试结果 (n=3)

序号	化合物名称	平均加标回收率	
		加标浓度 (5 ng/mL)	加标浓度 (10 ng/mL)
1	氨苯喋啶	80.98	83.78
2	丙磺舒	70.76	72.52
3	螺内酯	70.28	73.46
4	坎利酮	64.82	67.73
5	精磺胺	66.12	71.56
6	氯噻嗪	67.46	70.98
7	氢氯噻嗪	77.06	79.01
8	乙酰唑胺	67.36	71.38
9	氯噻酮	77.02	78.75
10	呋塞米	68.26	69.86

4 结论

本文参考检验检疫行业标准 SN/T 5167-2019, 建立使用岛津 LCMS-8050 在 11 min 内快速测定动物源食品中 10 种利尿剂残留的分析方法。该方法线性范围宽、重复性好、准确度高, 各化合物的仪器检出限 (ASTM 法) 在 0.06~0.32 ng/mL 之间, 完全满足标准中关于利尿剂的检测要求, 可以作为动物源食品中 10 种利尿剂残留量的监测方法。

LC-MS/MS 检测猪肉中曲美他嗪残留

摘要：本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪测定猪肉中曲美他嗪残留量的方法，考察了方法的专属性、基质效应、线性、灵敏度、精密度和回收率。结果显示曲美他嗪在 0.2 ng/mL~40 ng/mL 线性范围内线性良好，标准曲线相关系数大于 0.999，方法灵敏度及精密度均满足检测需求。该方法操作简单，特异性好，灵敏度高，分析速度快，可以为检测动物源性食品中曲美他嗪的残留量提供参考。

关键词：三重四极杆液质联用仪 兴奋剂 猪肉 曲美他嗪

技术特点：

- ❖ 参照《大型赛事食源性兴奋剂防控工作指南》中对肉制品中曲美他嗪检测限要求，该方法具有更低检出限和宽线性范围。
- ❖ 整个分析时间仅 5 min，分析时间短，且前处理简单。

曲美他嗪 (Trimetazidine) 是一种临床用于治疗冠脉功能不全、心绞痛、陈旧性心肌梗塞等疾病的药物，能促进心肌代谢及心肌能量的产生，降低心肌耗氧量及心肌能量的消耗，从而改善心肌氧的供需平衡。其对运动员而言，具有提高运动员心肌细胞能量储备,改善心脏功能，提高运动耐力的作用，在 2014 年 1 月 WADA 将其列入禁用清单。

国家体育总局也于 2021 年发布了《大型赛事食源性兴奋剂防控工作指南》，要求大型赛事举办方对肉食品中食源性兴奋剂进行检测，其中曲美他嗪参考检出限 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

目前，曲美他嗪的检测方法包括液相色谱-串联质谱法、液相色谱-轨道离子阱质谱法，仅尿液、血浆等基质有少量文献研究。但是动物源性食品基质的研究尚未见报道。

本文采用液相色谱-串联质谱，建立了猪肉中曲美他嗪残留的检测方法，该方法快速、准确、灵敏度高，可实现对肉制品中曲美他嗪残留的有效检测，为相关行业提供参考。

1. 实验部分

1.1 仪器配置

岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8050。具体配置为

输 液 泵	: LC-30AD×2	系 统 控 制 器	: CBM-20A
自 动 进 样 器	: SIL-30AC	质 谱 仪	: LCMS-8050
柱 温 箱	: CTO-20AC	色 谱 工 作 站	: LabSolutions Ver. 5.114

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GISS C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 μm) , 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30048-02

流 动 相 : A 相-0.1%甲酸水溶液; B 相-甲醇

流速 : 0.3 mL/min 进样量 : 1 μ L
柱温 : 40°C 洗脱方式 : 梯度洗脱, 初始 20%B, 时间程序见表 1

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	20
1.50	Pumps	Pump B Conc.	100
2.50	Pumps	Pump B Conc.	100
2.60	Pumps	Pump B Conc.	20
5.00	Controller	Stop	

质谱条件

质谱仪 : LCMS-8050 D L 管温度 : 250°C
离子源 : ESI+ 加热模块温度 : 400°C
雾化气 : 氮气 3 L/min 接口温度 : 300°C
干燥气 : 氮气 10 L/min 扫描模式 : MRM
加热气 : 空气 10 L/min M R M 参数 : 见表 2

表 2. MRM 参数

中文名	英文名	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
曲美他嗪	Trimetazidine	267.18	181.05* 166.00	-10.0 -10.0	-15.0 -28.0	-18.0 -17.0

* 表示定量离子对

1.3 样品前处理方法

准确称取 2 g 左右猪肉样品置于 50 mL 离心管中, 准确加入 10 mL 甲醇, 涡旋 1 min, 超声 30 min, 4000 r/min 离心 5 min, 取上清液过 0.22 μ m 有机滤膜, 上液相色谱串联质谱分析。

1.4 标准溶液的制备

基质标准系列工作液的配制: 取空白猪肉样品, 按照前处理净化得空白基质溶液。吸取适量混合标准中间工作液, 使用上述空白基质溶液稀释定容, 配制成浓度为 0.2、0.8、2、4、8、16、40 ng/mL 的标准工作溶液, 上液相色谱串联质谱分析。

2 结果与讨论

2.1 标准溶液的 MRM 色谱图

空白样品和 0.2 ng/mL 曲美他嗪标准品的 MRM 色谱图如图 1 所示, 色谱峰分离良好, 空白无干扰。

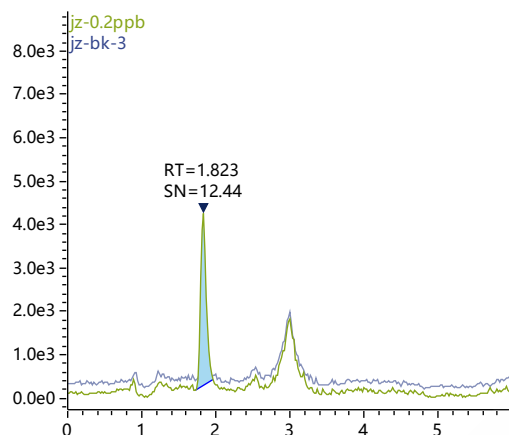


图 1. 空白样品和 0.2 ng/mL 曲美他嗪标准品的 MRM 色谱图

2.2 基质效应

基质是样品中被分析物以外的组分，常对分析物的分析有显著干扰，并影响分析结果的准确性，这些影响和干扰被称为基质效应，且有研究发现液相色谱串联质谱法普遍存在基质效应。目前，基质效应的评定主要为 2 种方法：柱后注射法和提取后添加法，其中后者在液相色谱串联质谱中使用最多，主要是通过比较 2 个不同条件下的信号峰面积平均值，其中，Set¹：纯的标准品溶液峰面积，Set²：样品基质提取后添加等浓度标准品的峰面积，则基质效应 (ME) = Set²/Set¹，要求各条件重复测定 5 次，这种考察方法可更全面、客观的量化评价基质效应。若比值小于 1.0，说明基质对待测物的响应产生抑制作用；若大于 1.0，说明基质的存在增强了待测物的响应；若等于 1.0，说明待测物的响应未受影响，这是最为理想的一种情况，也是建立检测方法时所追求的最高目标。但在实际中，很难得到这样的结果，一般相对比值在 0.85~1.15 之间则认为基质效应不明显。

表 3. 基质效应

测定次数	峰面积		ME
	Set ¹ (平均值)	Set ²	
1		538807	1.65
2		548520	1.68
3	326908	542823	1.66
4		546291	1.67
5		546182	1.67
平均值			1.67
RSD %			0.70

结果显示，基质效应 ME 为 1.67，存在明显的基质增强效应。为了平衡基质效应对定量准确性的影响，本文采用基质匹配外标曲线法定量。

2.3 线性范围和检出限

按照 1.4 方法配制标准系列溶液，上机分析得出曲美他嗪在猪肉基质中线性范围和线性关系。结果表明，曲美他嗪在 0.2~40 ng/mL 范围内，线性良好，相关系数 R>0.999，准确度 94.1%~106.4%之间，同时

通过 LabSolutions 软件依据信噪比(ASTM)自动计算, 曲美他嗪检出限 (S/N=3) 为 0.06 ng/mL, 定量限 (S/N=10) 为 0.17 ng/mL, 曲美他嗪基质校准曲线见图 2。

表 4. 曲美他嗪基质校准曲线的线性关系

化合物	基质	线性方程	相关系数 R	准确度 (%)	检出限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
曲美他嗪	猪肉	$Y = 133153.4X - 6955.740$	0.9999	94.1~106.4	0.06	0.17

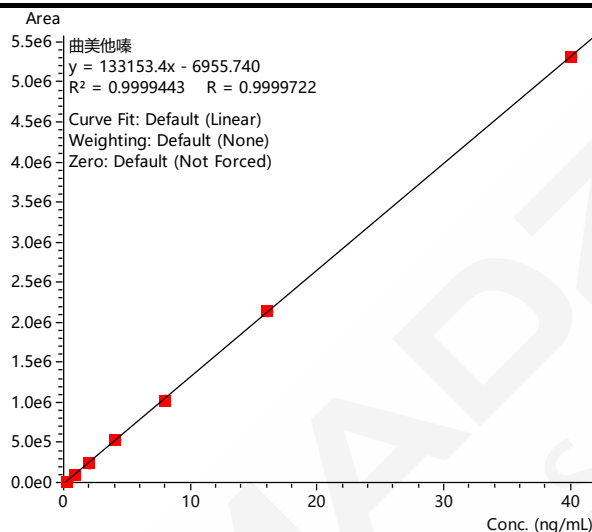


图 2. 曲美他嗪基质校准曲线

2.4 精密度考察

取 0.2、4、40 ng/mL 的标准溶液, 注入液相色谱串联质谱仪, 平行测定 6 次, 计算保留时间 (R.T.) 和峰面积 (Area) 的 RSD%。结果显示曲美他嗪的保留时间 (R.T.) 的 RSD 不大于 1.19%, 峰面积 (Area) 的 RSD 不大于 1.72%, 实验结果表明仪器条件稳定性良好。

表 5. 曲美他嗪保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

化合物	RSD% (0.2 ng/mL)		RSD% (4 ng/mL)		RSD% (40 ng/mL)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
曲美他嗪	1.19	1.72	0.38	0.42	0.64	0.70

2.5 加标回收率

选择空白猪肉, 进行 2、4、20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度的加标回收试验, 每个加标浓度 6 个平行, 按照前述前处理方式处理, 上机测定, 以基质外标曲线法定量, 计算回收率。曲美他嗪加标回收率在 89.0%~106.0% 之间, 符合《大型赛事食源性兴奋剂防控工作指南》要求。

表 6. 曲美他嗪加标回收率结果 (n=6)

基质	检出浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	加标浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	测得浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 (%)	RSD (%)
猪肉	N.D.	2	2.12	106.0	0.85
		4	3.56	89.0	2.38
		20	18.93	94.7	0.30

注释: N.D.表示未检出

3. 结论

本实验使用岛津LCMS-8050三重四极杆液质联用系统，建立了猪肉中曲美他嗪残留量的检测方法。实验结果表明，猪肉基质对曲美他嗪化合物存在一定的基质增强效应，因此采用基质匹配外标曲线定量。方法学实验结果显示，该方法操作简单，特异性好，灵敏度高，分析速度快，可以为检测动物源性食品中曲美他嗪的残留量提供参考。



LC-MS/MS 检测猪肉中卡拉胶含量

摘要： 本文参考中华人民共和国农业行业标准 NY/T 3876-2021《猪肉中卡拉胶的检测液相色谱-串联质谱法》，建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪检测猪肉中卡拉胶含量的方法。样品经盐酸溶液处理后，其中的卡拉胶降解生成特征性寡糖，以 LC-MS/MS 外标法定量检测特征性寡糖含量。实验结果表明：该方法灵敏度高，重复性好，校准曲线线性良好，适合用作检测猪肉中的卡拉胶。

关键词： 猪肉 卡拉胶 三重四极杆液质联用仪

卡拉胶(Carrageenan)是从麒麟菜、石花菜和鹿角菜等红藻类海草中提炼出来的一种亲水性胶体，其具有较强的保水性和增稠性等特点，少数不法分子将其注入猪肉等肉品中增重以便达到非法获利的目的。

2021年11月1日，中华人民共和国农业行业标准NY/T 3876-2021《猪肉中卡拉胶的检测液相色谱-串联质谱法》开始实施，该标准规定了猪肉中卡拉胶检测的制样和液相色谱-串联质谱测定方法。

本文参考该标准，利用岛津三重四极杆液质联用系统，建立了猪肉中卡拉胶的检测方法。该方法灵敏度高，重复性好，校准曲线线性良好，适合用作检测猪肉中的卡拉胶。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40B X3 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：	CBM-40	自动进样器：	SIL-40C X3
输液泵：	LC-40B X3	质谱仪：	LCMS-8045
柱温箱：	CTO-40S	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.99 SP2

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：	BEH Amide (100mm×2.1mm I.D., 1.7 μm)
流动相：	A相-5mM 乙酸铵水溶液；B相-乙腈
流速：	0.4 mL/min
柱温：	30 °C
进样量：	1 μL
洗脱方式：	梯度洗脱，B相初始浓度为 90%，洗脱程序见表 1

表 1. 洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.5	Pumps	Pump B Conc.	40
3.0	Pumps	Pump B Conc.	40
3.1	Pumps	Pump B Conc.	90
6.0	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式：	ESI-	雾化气：	氮气 3.0 L/min
干燥气：	氮气 10.0 L/min	加热气：	空气 10.0 L/min
接口温度：	300°C	加热模块温度：	400°C
D L 温度：	250°C	扫描模式：	多反应监测(MRM)

表 2. MRM 参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE	Q3 Pre Bias (V)
卡拉胶降解的特征性寡糖	403.10	96.70*	28.0	42.0	16.0
		241.00	29.0	32.0	11.0

*定量离子对

1.3 样品前处理

(1) 待测样品：参照 NY/T 3876-2021，称取 5 g 样品于 50 mL 离心管中，加入 20 mL 水，于 4°C 下 10000 r/min 匀浆 1 min。加入 2 mL 浓盐酸，涡旋 30 s，置于 80 °C 恒温振荡水浴锅振荡 2 h，取出后冷却至室温。依次加入 190 g/L 乙酸锌溶液 1.5 mL、150 g/L 亚铁氰化钾溶液 1.5 mL，涡旋 1 min 沉淀蛋白质。于 4°C 下 8000 r/min 离心 5 min，取上清液转移至 50 mL 容量瓶中，乙腈定容，0.22 μm 有机系滤膜过滤后待测。

(2) 标准样品：参照 NY/T 3876-2021，50 mL 离心管中加入适量标准储备液，再加入 23 mL 水和 2 mL 浓盐酸，涡旋 30 s，置于 80 °C 恒温振荡水浴锅振荡 2 h，取出后冷却至室温，转移至 50 mL 容量瓶中，乙腈定容，0.22 μm 有机系滤膜过滤后待测。

2 结果与讨论

2.1 灵敏度和专属性

0.05 μg/mL 卡拉胶标准样品降解后生成的特征性寡糖和空白样品的 MRM 色谱图如图 1 所示，空白样品无干扰，特征性寡糖在该浓度下信噪比为 21.9，以 S/N=10 对应的浓度计算定量限，可得其仪器定量限为 0.023 μg/mL。

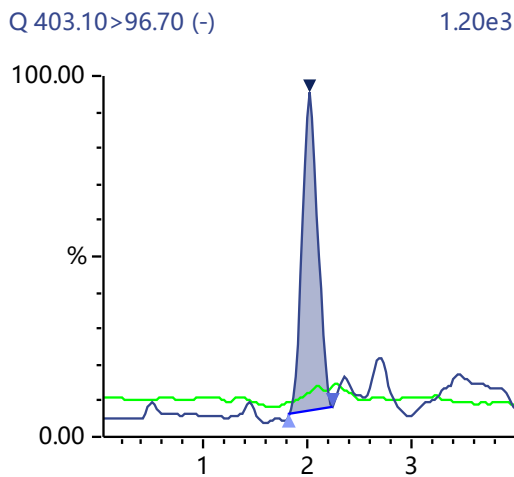


图 1. 特征性寡糖 (蓝色) 和空白样品 (绿色) MRM 色谱图

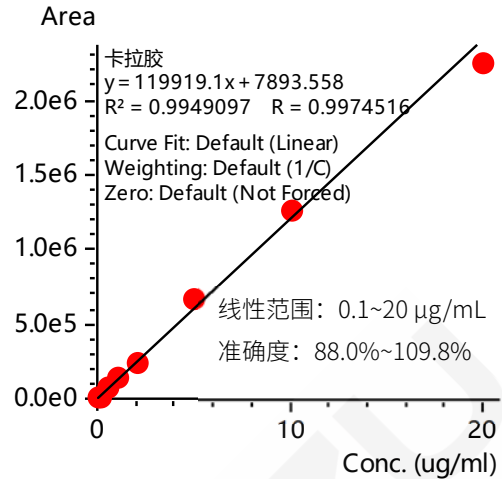


图 2. 校准曲线

2.2 校准曲线

制备浓度分别为 0.1、0.5、1、2、5、10、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液，外标法建立校准曲线如图 2 所示。结果显示，在 0.1~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内，线性相关系数为 0.997，准确度 88.0%~109.8%。

2.3 残留考察

ULOQ 标准样品进样后，空白样品进样分析所得色谱图如图 3 所示，目标组分保留时间处无明显色谱峰。

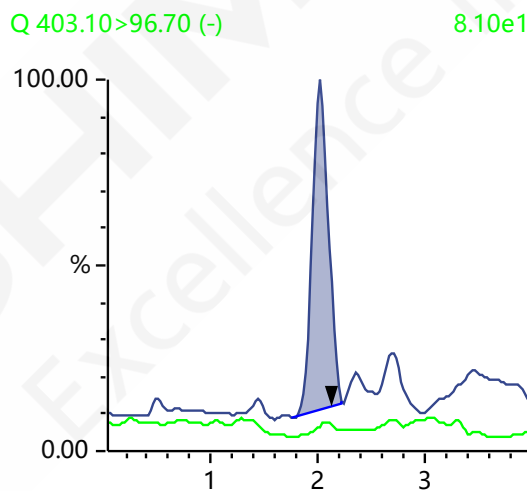


图 3. 残留考察

2.4 重复性考察

对不同加标浓度的样品分别连续分析 6 次，计算保留时间和峰面积的 RSD。结果见表 3，保留时间 RSD 均不高于 0.11%，峰面积 RSD 均不高于 5.41%。

表 3. 保留时间和面积 RSD

名称	浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD (%)
卡拉胶特征性寡糖	2	0.11	5.41
	20	0.07	3.33

2.5 加标回收率

浓度分别为 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的基质加标样品处理后进样分析，方法的回收率结果如表 4 所示，加标回收率分别在 88.6%~91.8%之间。

表 4. 加标回收率实验

序号	目标物	基质样品浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	加标浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	加标样品检测浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	加标回收率 (%)
1	卡拉胶特征性	N.D.	2	1.77	88.6
2	寡糖	N.D.	20	18.36	91.8

N.D.表示未检出

3 结论

本文参考中华人民共和国农业行业标准 NY/T 3876-2021《猪肉中卡拉胶的检测液相色谱-串联质谱法》，建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪检测猪肉中卡拉胶含量的方法。样品经盐酸溶液处理后，其中的卡拉胶降解生成特征性寡糖，以 LC-MS/MS 外标法定量检测特征性寡糖含量。实验结果表明：该方法灵敏度高，重复性好，校准曲线线性良好，适合用作检测猪肉中的卡拉胶。

LC-MS/MS 法测定动物源性食品中 13 种全氟化合物

摘要: 本文参考食品安全国家标准《动物性食品中全氟化合物残留的测定 液相色谱-串联质谱法》(报批稿), 使用岛津超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪测定动物性食品中 13 种全氟化合物残留的方法, 13 min 内完成 13 种全氟化合物的分析。该方法采用内标法校准, 线性关系好, 相关系数均在 0.9981 以上。仪器分析精密度高, 各化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07%~0.17% 和 0.80%~3.95% 之间。加标回收率方面, 13 种全氟化合物的回收率在 85.0~118.0% 之间。该方法具有灵敏度高、重复性好、准确度高特点, 可用于动物性食品中 13 种全氟化合物的残留检测。

关键词: 三重四极杆质谱 动物源性食品 全氟化合物

全氟化合物 (Perfluoroalkyl Substances, 简称 PFAS) 是指有机物分子中至少一个碳原子上结合的氢原子被氟原子取代, 其化学通式为 $F(CF_2)_n-R$, 属于这类化合物的主要有全氟羧酸类和全氟磺酸类。由于 PFAS 分子中 C-F 键非常稳定, 不易被水解、光解或生物降解, 可在环境中持久性存在、可长距离传输、可沿生物链累积放大, 它是国际上备受关注的新型有机污染物。近年来, 在全球生态环境系统、生物体、人体、食品等多种介质中均有 PFAS 检出。鉴于其广泛存在性以及具有神经毒性、生殖毒性和免疫毒性等特点, PFAS 可能对人健康带来危害, 已引起人们的广泛关注。人类膳食水产品、乳及乳制品、肉及肉制品、果蔬等均有不同程度 PFAS 污染, 这是人主要的膳食摄入风险, 但目前国内外关于食品中 PFAS 的检测及限量标准仍是空白。基于 PFAS 易与蛋白质结合而累积于生物体组织器官的富集特性, 膳食占比较大的动物源性食品, 特别是肝脏、肾脏、肌肉等蛋白质含量较高的器官组织中的富集现象较为普遍, 但整体含量较低 (通常在 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 级别)。因此, 建立快速、准确、灵敏的检测方法, 可以为食品中 PFAS 的风险评估提供重要技术支持。

本文参考《动物性食品中全氟化合物残留的测定 液相色谱-串联质谱法》(报批稿), 使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050, 建立了动物源性食品中 13 种全氟化合物的分析方法, 为相关行业人员作参考。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-40A 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	: CBM-40A	脱气机	: DGU-20A ₅
输液泵	: LC-40AD×2	自动进样器	: SIL-40AC
柱温箱	: CTO-40AC	质谱仪	: LCMS-8050
色谱工作站	: LabSolutions Ver.5.99		

1.2 分析条件

液相色谱条件

延迟柱 : Shim-pack XR-ODS II 75 mm. L×3.0 mm I.D., 2.2 μm (岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 228-41624-91)

色 谱 柱 : Shim-pack GIST C18-AQ 100 mm. L×2.1 mm I.D., 1.9 μm
(岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30807-02)

流 动 相 : A-10 mM 乙酸铵水溶液, B-甲醇

流 速 : 0.4 mL/min

柱 温 : 40 °C

进 样 体 积 : 10 μL

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始比例为10%, 时间程序见表1。

表 1. 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.50	Pumps	Pump B Conc.	60
6.00	Pumps	Pump B Conc.	85
710	Pumps	Pump B Conc.	100
9.00	Pumps	Pump B Conc.	100
9.10	Pumps	Pump B Conc.	10
13.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式 : ESI-

加热气流速 : 10 L/min

雾化气流速 : 3 L/min

干燥气流速 : 10 L/min

加热模块温度 : 400 °C

碰撞气 : 氩气 270 kPa

接口温度 : 300 °C

扫描模式 : 多反应监测(MRM)

D L 温度 : 250 °C

M R M 参数 : 见表2

表 2. MRM 质谱参数

No.	中文名称	英文简称	CAS No.	前体 离子	产物 离子	Q ₁ Pre Bias(V)	CE (V)	Q ₃ Pre Bias(V)
1	全氟丁烷羧酸	PFBA	375-22-4	212.80	169.20	10	10	16
2	全氟戊烷羧酸	PFPeA	2706-90-3	262.90	219.10	17	8	21
3	全氟己烷羧酸	PFHxA	307-24-4	313.00	269.00 119.10	11 11	9 21	12 12
4	全氟庚烷羧酸	PFHpA	375-85-9	362.90	319.00 169.10	17 17	9 16	15 16
5	全氟己烷磺酸钠	PFHxS	82382-12-5	398.85	80.10 99.10	14 11	44 35	11 10
6	全氟辛烷羧酸	PFOA	335-67-1	412.90	369.00 169.10	20 11	10 17	18 16
7	全氟辛烷磺酸钠	PFOS	4021-47-0	498.80	80.10 99.10	14 18	52 40	10 10
8	全氟壬烷羧酸	PFNA	375-95-1	462.85	419.10 219.10	13 13	11 16	20 22
9	全氟癸烷羧酸	PFDA	335-76-2	512.80	469.00	24	11	12

					219.20	24	17	13
10	全氟癸烷磺酸钠	PFDS	2806-15-7	598.75	80.10	22	55	10
					99.10	22	50	16
11	全氟十一烷羧酸	PFUdA	2058-94-8	562.80	518.90	28	12	26
					269.10	28	17	27
12	全氟十二烷羧酸	PFDoA	2058-94-8	612.80	568.90	22	12	30
					169.20	30	26	10
13	全氟十二烷磺酸钠	PFDOS	-	698.70	80.10	34	60	28
					99.00	20	55	12
14	¹³ C ₄ -全氟辛烷磺酸钠	MPFOS	-	502.80	79.85	24	53	12
					98.95	24	38	11
15	¹³ C ₄ -全氟辛烷羧酸	MPFOA	-	416.90	371.90	20	10	18

1.3 标准溶液的配制

将 13 种全氟化合物混合标准溶液 (2 µg/mL) 和 2 种内标溶液 (MPFOS 和 MPFOA, 浓度均为 50 µg/mL), 用甲醇稀释, 配制成浓度分别为 0.05 ng/mL、0.1 ng/mL、0.5 ng/mL、1 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL 和 10 ng/mL 混合标准工作液, 其中内标物 MPFOS 和 MPFOA 的浓度均为 2.0 ng/mL。

1.4 样品前处理方法

1.4.1 提取方法:

取试样 2 g (准确至±0.01 g), 于 50 mL 聚丙烯离心管, 准确加混合内标工作液 (2 µg/mL) 10 µL、水 2 mL, 涡旋 1 min; 加 0.2% 盐酸乙腈溶液 10 mL, 200 r/min 振荡 10 min, 加氯化钠 2 g, 200 r/min 再振荡 10 min, 5000 r/min 离心 5 min。取上清液至 15 mL 聚丙烯离心管, 40°C 氮吹至约 4 mL。

1.4.2 净化方法:

1.4.2.1 肌肉、肝脏、肾脏

在上述聚丙烯离心管中加 PSA 100 mg、C₁₈ 80 mg、GCB 30 mg, 涡旋 1 min, 200 r/min 振荡 10 min, 5000 r/min 离心 10 min。取上清液至另一个 15 mL 聚丙烯离心管中, 40°C 氮吹至近干, 加甲醇 1.0 mL 使溶解, 15000 r/min 离心 5 min, 取上清液待机测定。

1.4.2.2 脂肪类

在上述聚丙烯离心管中加 PSA 100 mg、C₁₈ 80 mg、GCB 30 mg, 涡旋 1 min, 200 r/min 振荡 10 min, 5000 r/min 离心 10 min。取上清液至另一个 15 mL 聚丙烯离心管中, 40°C 氮吹至近干, 加甲醇 1.0 mL 使溶解, 然后加 1 mL 乙腈饱和的正己烷, 涡旋 1 min, 15000 r/min 离心 5 min, 弃去上层正己烷, 取下层溶液供液相色谱-串联质谱测定。

2 结果与讨论

2.1 MRM 色谱图

13 种全氟化合物及其 2 个内标物的 MRM 色谱图如下图 1 所示。

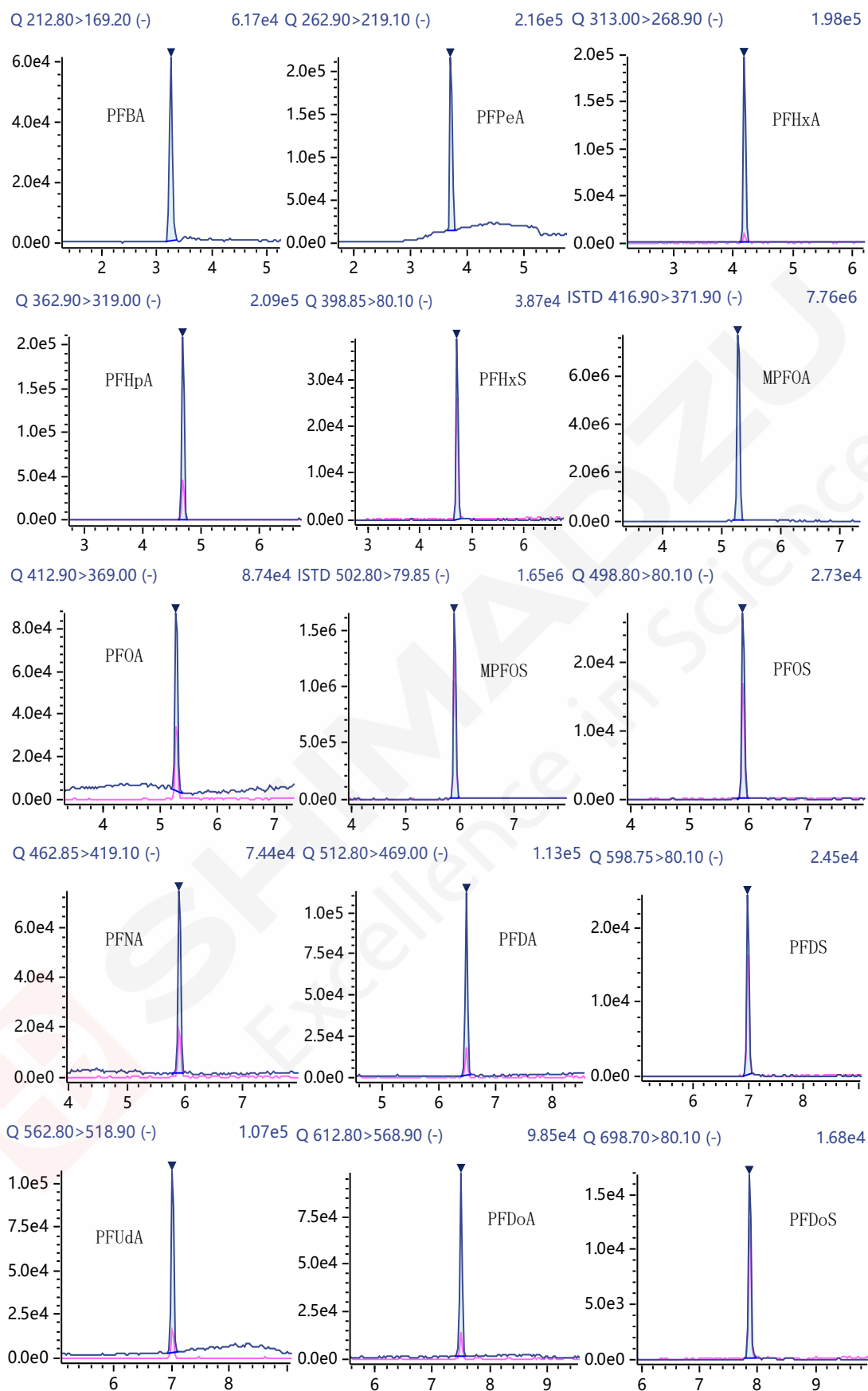


图 1. 13 种全氟化合物及内标物的 MRM 色谱图 (0.5 ng/mL)

2.2 线性关系

将上述 13 种全氟化合物校准工作溶液，按 1.2 条件进行测定，内标法定量，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线，部分校准曲线图如图 2 所示，所得校准曲线线性关系良好，相关系数均大于 0.9981，线性回读精确度在 89.4~109.3%之间（结果见表 3）。

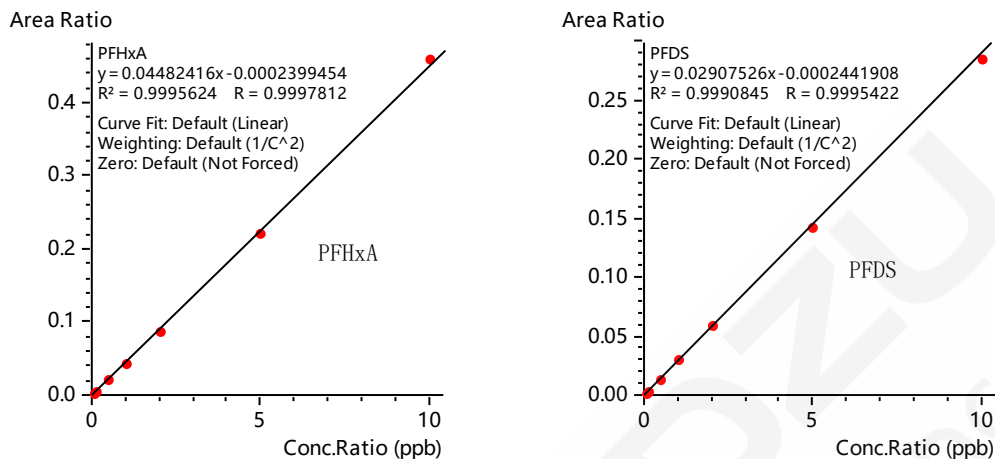


图 2. 部分化合物校准曲线图

表 3. 13 种全氟化合物线性范围（权重 1/C²）

序号	名称	校准曲线	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	相关系数 r	准确度 %
1	PFBA	$Y = 0.0200549X - 0.000149753$	0.05~10	0.9984	91.5~105.4
2	PFPeA	$Y = (0.0461087)X + (-0.000127913)$	0.05~10	0.9995	95.9~104.0
3	PFHxA	$Y = (0.0448242)X + (-0.000239945)$	0.05~10	0.9998	97.5~102.5
4	PFHpA	$Y = (0.0487403)X + (-0.000212494)$	0.05~10	0.9992	96.5~106.7
5	PFHxS	$Y = (0.0415425)X + (-0.000313071)$	0.05~10	0.9983	93.6~108.2
6	PFOA	$Y = (0.0218606)X + (9.97543e-005)$	0.05~10	0.9992	95.4~105.8
7	PFOS	$Y = (0.0334070)X + (-5.12636e-006)$	0.05~10	0.9981	91.0~105.6
8	PFNA	$Y = (0.0196191)X + (-1.14861e-005)$	0.05~10	0.9982	94.2~108.7
9	PFDA	$Y = (0.0269292)X + (7.86894e-006)$	0.05~10	0.9986	93.6~107.7
10	PFDS	$Y = (0.0290753)X + (-0.000244191)$	0.05~10	0.9995	96.2~104.3
11	PFUdA	$Y = (0.0245862)X + (-1.15510e-005)$	0.05~10	0.9990	89.4~108.7
12	PFDoA	$Y = (0.0235097)X + (9.12263e-005)$	0.05~10	0.9985	93.7~109.3
13	PFDoS	$Y = (0.0186516)X + (-8.88578e-005)$	0.05~10	0.9982	91.5~108.1

2.3 精密度

对不同浓度校准工作液连续测定 6 次，考察仪器精密度，结果见下表 4，各化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07%~0.17%和 0.80%~3.95%之间，仪器精密度良好。

表 4. 保留时间和峰面积重复性及灵敏度结果

No	样品名称	RSD% (0.5 ng/mL)		RSD% (2 ng/mL)	
		R.T.	Area	R.T.	Area
1	PFBA	0.12	2.31	0.09	1.09
2	PFPeA	0.13	1.94	0.08	1.42
3	PFHxA	0.11	1.43	0.08	1.75

4	PFHpA	0.10	2.07	0.08	1.48
5	PFHxS	0.10	2.84	0.08	0.80
6	PFOA	0.11	2.21	0.09	1.89
7	PFOS	0.13	2.85	0.15	1.16
8	PFNA	0.14	1.47	0.15	1.27
9	PFDA	0.17	1.39	0.15	2.21
10	PFDS	0.16	3.95	0.16	1.89
11	PFUdA	0.16	2.36	0.16	1.05
12	PFDoA	0.12	2.88	0.12	1.57
13	PFDoS	0.07	3.13	0.08	2.02

2.4 加标回收率测试

取猪瘦肉 2 g, 按照 1.4 样品制备方法, 考察方法的加标回收率, 根据标准中的方法限值为 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的要求, 设定实验加标浓度分别为 0 (空白)、0.2、0.5 和 2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 此时处理后的溶液样本的理论体积浓度分别为 0 (空白)、0.4、1.0 和 5.0 ng/mL , 每个浓度 3 个平行样。实验中发现, 猪瘦肉检出几个 PFAS 化合物, 其色谱图和测试结果见 2.6, 加标回收样品的色谱图见图 3, 回收率结果如下表 5 所示, 13 种全氟化合物的加标回收率在 85.0~118.0% 之间。

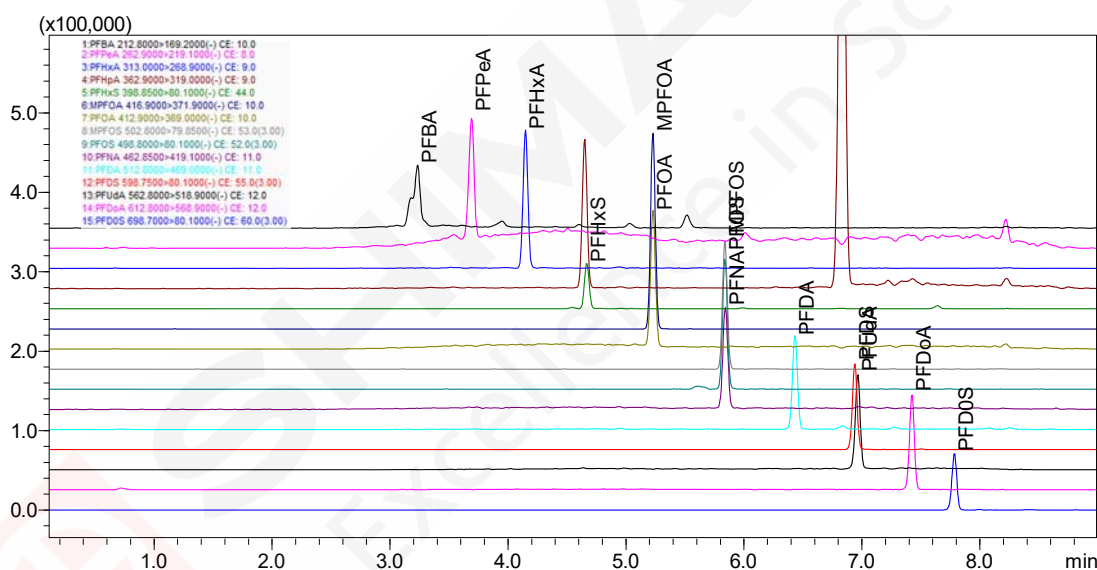


图 3. 猪瘦肉加标回收测试色谱图 (1.0 ng/mL)

表 5. 加标回收率结果

No	样品名称	加标浓度 (0.4 ng/mL)		加标浓度 (1.0 ng/mL)		加标浓度 (5.0 ng/mL)	
		检测值	回收率 (%)	检测值	回收率 (%)	检测值	回收率 (%)
1	PFBA	0.35	87.5	0.92	92.0	5.26	105.2
2	PFPeA	0.37	92.5	0.93	93.0	5.29	105.8
3	PFHxA	0.39	97.5	1.04	104.0	5.60	112.0
4	PFHpA	0.34	85.0	1.02	102.0	4.96	99.2
5	PFHxS	0.39	97.5	0.82	82.0	5.33	106.6
6	PFOA	0.49	122.5	1.05	105.0	5.30	106.0
7	PFOS	0.47	117.5	1.08	108.0	5.45	109.0
8	PFNA	0.44	110	0.97	97.0	5.69	113.8

9	PFDA	0.43	107.5	1.08	108.0	5.73	114.6
10	PFDS	0.38	95.0	1.04	104.0	5.62	112.4
11	PFUdA	0.45	112.5	1.11	111.0	5.75	115.0
12	PFDoA	0.45	112.5	1.13	113.0	5.90	118.0
13	PFDoS	0.39	97.5	1.04	104.0	5.51	110.2

2.5 样品测试

根据 2.5 在猪瘦肉中标回收率实验中的测试结果,发现有检出几个 PFAS 化合物,其色谱图见下图 4,测得该瘦肉样品中分别含有 PFBA 0.06 ng/mL, PFHxS 0.10 ng/mL, PFOA 0.08 ng/mL, PFOS 0.12 ng/mL。

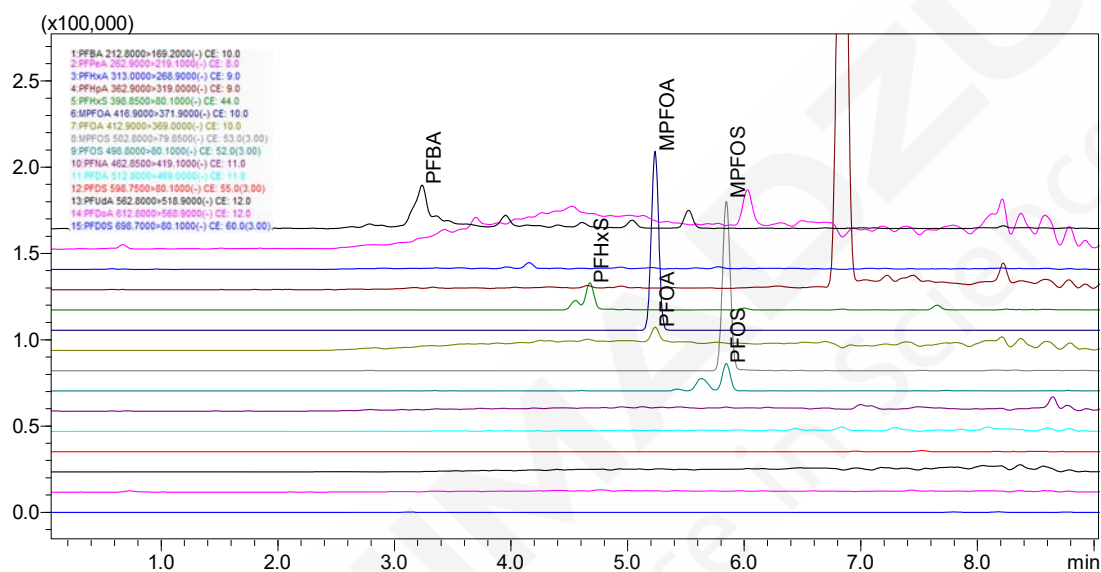


图 4. 猪瘦肉测试色谱图

3 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050 测定动物性食品中 13 种全氟化合物残留的方法。方法线性范围宽、前处理简单、灵敏度高、稳定可靠,适用于动物性食品中全氟化合物残留量的检测和监控。

LC-MS/MS 法测定虾肉中 21 种邻苯二甲酸酯类物质含量

摘要： 使用岛津三重四极杆液质联用系统建立了测定虾肉中 21 种邻苯二甲酸酯类物质含量的方法。虾肉样品中的邻苯二甲酸酯经乙腈提取，分散固相萃取净化，反相 C18 液相色谱柱分离。采用正离子模式进行电离，通过多反应监测模式对目标化合物进行测定。结果表明：使用外标法定量，邻苯二甲酸酯类物质在 0.5 ng/mL ~ 100 ng/mL 浓度范围内线性良好，所得校准曲线线性相关系数均在 0.995 以上，且精密度和加标回收率实验结果良好。

关键词： 三重四极杆质谱 虾肉 邻苯二甲酸酯

技术特点：

- ❖ 一针进样同时分析水产品中 21 种邻苯二甲酸酯，5 组同分异构体均得到较好地分离。
- ❖ 使用捕集柱能够有效去除系统中邻苯二甲酸酯干扰物。

邻苯二甲酸酯(Phthalic acid esters, PAEs)又称塑化剂，是塑料工业中常用的增塑剂之一，它能够增加产品的透明度、可塑性、膨胀性和柔韧性，并能够延长其使用寿命。因此，该类物质已被广泛的应用于玩具、化妆品、食品药品包装材料、纺织品等产品中。由于PAEs并未与塑料基质形成稳定的化学键，容易从塑料中迁移到外围环境，造成大气、水体、土壤和食品污染。PAEs的分子结构具有芳香族基团，有一定的类雌激素活性。PAEs在进入水环境后，因其较高的脂溶性，极易被水中生物吸收，且具有蓄积性，最终通过水产品进入人体，长期累积将对人体造成危害。

PAEs的测定可以采用气相色谱法、高效液相色谱法、气相色谱-质谱联用(GC-MS)法和高效液相色谱-串联质谱联用(LC-MS/MS)法等。由于水产样品基质复杂，污染物较多，色谱法根据保留时间进行定性分析经常受到基质化合物的干扰，容易造成假阳性。高效液相色谱-串联质谱联用法因具有灵敏度高、特异性强和结果准确性好的特点，已成为食品基质中痕量有机物分析的主要方法。本文基于岛津超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用技术，建立了21种邻苯二甲酸酯含量的测定方法。该方法简单、快速、准确，可为水产品中邻苯二甲酸酯含量的测定提供方法支持。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A _{5R}
输液泵：	LC-30AD×2	自动进样器：	SIL-30AC
柱温箱：	CTO-20AC	检测器：	LCMS-8045
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.113		

1.2 分析条件

液相条件

表2. MRM参数

No.	化合物名称	英文缩写	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais (V)	CE(V)	Q3 Pre Bais (V)
1	邻苯二甲酸二甲酯	DMP	194.7	163.0*	-23	-11	-17
				77.1	-23	-31	-14
2	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	DEMP	283.1	207.0*	-21	-6	-22
				149.0	-21	-28	-29
3	邻苯二甲酸二乙酯	DEP	223.1	149.0*	-30	-20	-30
				177.1	-30	-10	-18
4	邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯	DEEP	311.1	73.1*	-23	-13	-30
				221.1	-23	-6	-24
5	邻苯二甲酸二烯丙酯	DAP	247.1	189.1*	-28	-11	-20
				149.1	-28	-16	-27
6	邻苯二甲酸二异丙酯	DiPRP	251.1	149.0*	-30	-20	-30
				191.1	-30	-9	-20
7	邻苯二甲酸二丙酯	DPRP	251.1	149.0*	-30	-20	-30
				191.1	-30	-9	-20
8	邻苯二甲酸二苯酯	DPhP	319.1	225.0*	-23	-9	-24
				77.1	-23	-36	-30
9	邻苯二甲酸丁基苄基酯	BBP	313.1	91.1*	-30	-20	-17
				149.0	-30	-12	-16
10	邻苯二甲酸二异丁酯	DIBP	279.1	149.0*	-30	-20	-30
				205.1	-30	-8	-22
11	邻苯二甲酸二丁酯	DBP	279.1	149.0*	-30	-20	-30
				205.1	-30	-8	-22
12	邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	DBEP	367.1	101.1*	-27	-12	-19
				249.1	-27	-7	-27
13	邻苯二甲酸二戊酯	DPP	307.1	149.1*	-30	-20	-30
				219.1	-30	-7	-24
14	邻苯二甲酸二异戊酯	DIPP	307.1	149.1*	-30	-20	-30
				219.1	-30	-7	-24
15	邻苯二甲酸二环己酯	DCHP	331.1	149.1*	-30	-25	-28
				167.1	-30	-13	-18
16	邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯	BMPP	335.1	149.1*	-30	-25	-27
				167.0	-30	-11	-18
17	邻苯二甲酸二己酯	DHXP	335.2	149.1*	-30	-20	-30
				233.2	-30	-8	-25
18	邻苯二甲酸二庚酯	DHP	363.2	149.1*	-30	-20	-30
				247.2	-30	-8	-27
19	邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯	DEHP	391.3	149.1*	-30	-25	-30
				167.1	-30	-13	-17
20	邻苯二甲酸二正辛酯	DNOP	391.4	149.0*	-30	-20	-30
				261.1	-30	-8	-29
21	邻苯二甲酸二壬酯	DNP	419	149.0*	-30	-20	-30
				275.0	-30	-8	-29

注：*表示定量离子对

2. 结果与讨论

2.1 空白与标准样品的 MRM 色谱图

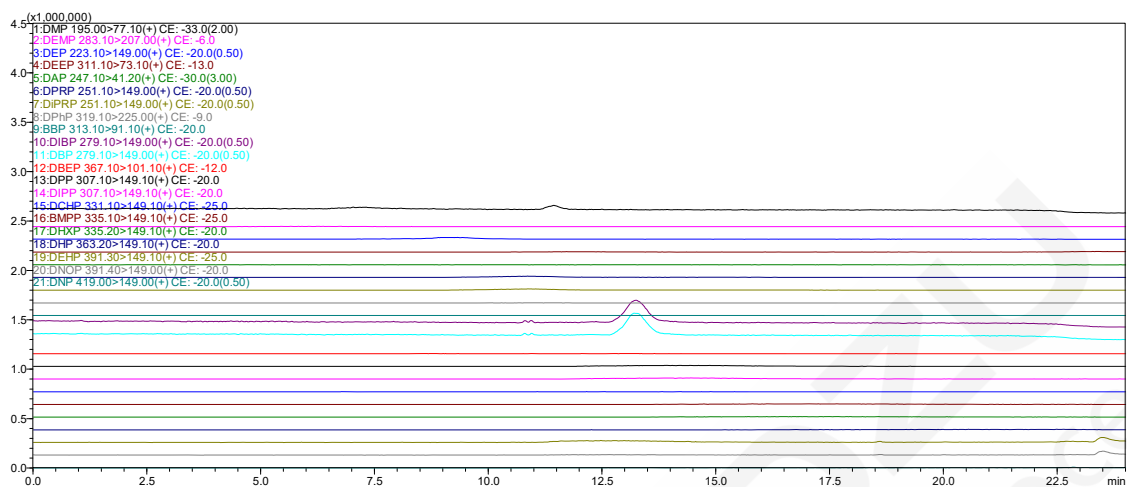


图 1. 空白样品的 MRM 图谱

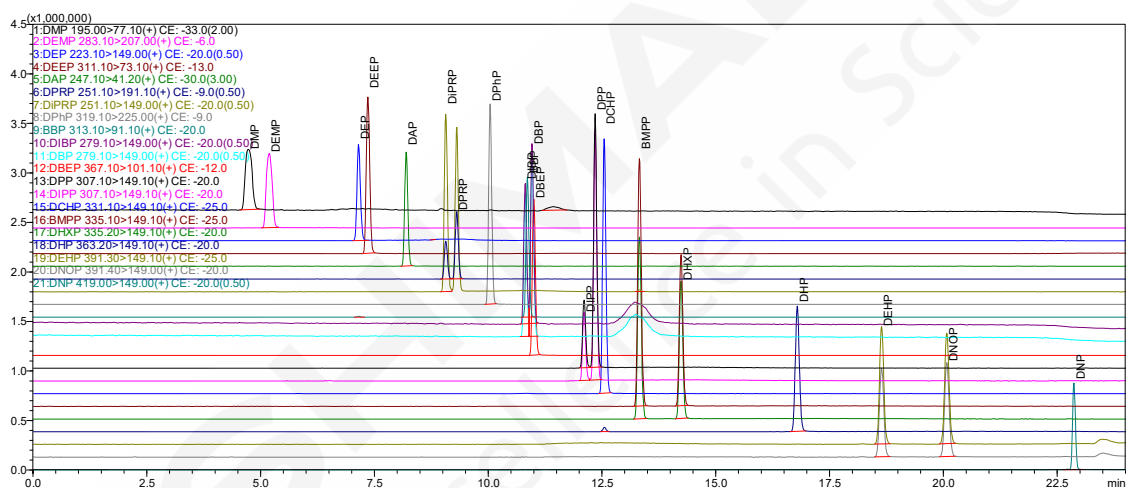
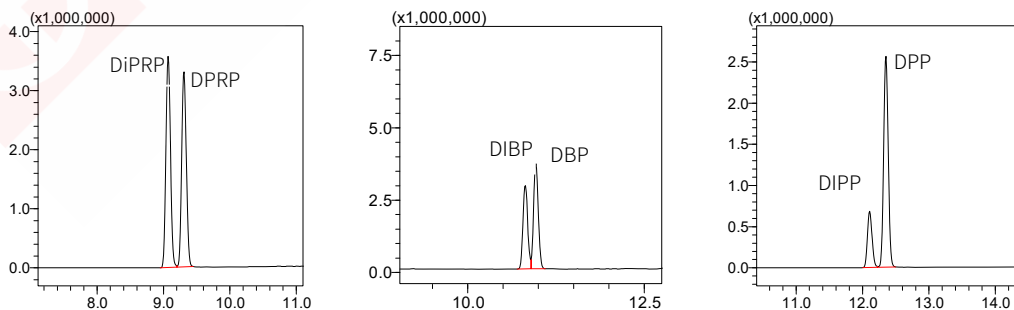


图 2. 21 种邻苯二甲酸酯(100 ng/mL)的 MRM 图谱

通过优化液相色谱条件，本文中DiPRP和DPRP、DIBP和DBP、DIPP和DPP、BMPP和DHXP、DEHP和DNOP，5组邻苯二甲酸酯类同分异构体均得到了较好地分离，具体结果见图3。



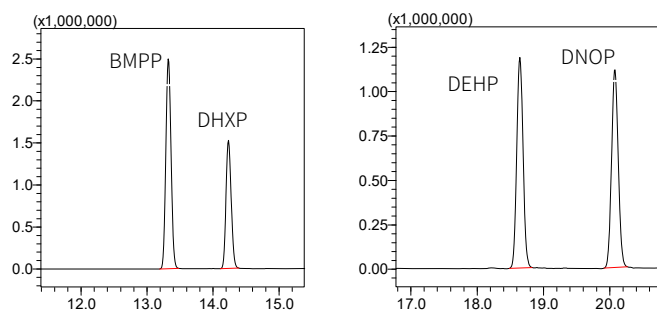


图 3.5 组邻苯二甲酸酯同分异构体分离图谱

在仪器分析过程中，使用 Inertsil® ODS-4 (50 mm×3.0 mm I.D., 2 μm) 作为捕集柱，样品中的邻苯二甲酸酯直接进入分析色谱柱，而液相系统中存在的邻苯二甲酸酯类物质则先有捕集柱捕获后再进入分析色谱柱。因此，可以实现来自系统的邻苯二甲酸酯类物质与样品中的目标物分离，从而有效地去除系统中的背景干扰，典型图谱见图 4。

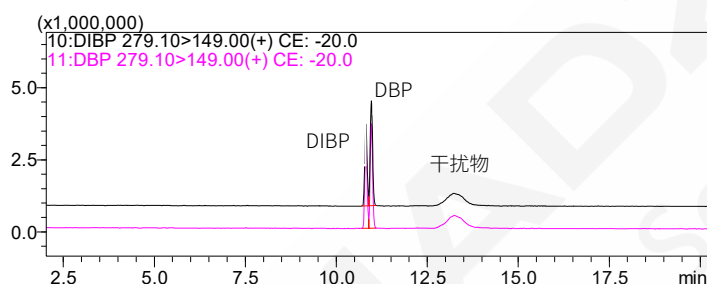
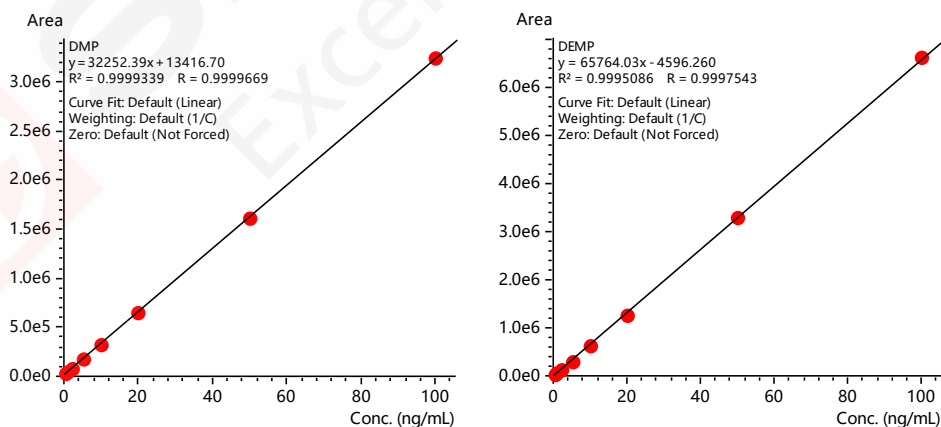


图 4. DIBP 和 DBP 与系统中干扰物分离的典型图谱

2.2 线性范围与检出限

将 0.5 ng/mL、1 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL 和 100 ng/mL 不同浓度的 21 种邻苯二甲酸酯基质匹配标准工作溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，使用外标法定量。以标准溶液浓度为横坐标，特征离子质量色谱图峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 5 所示。所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。



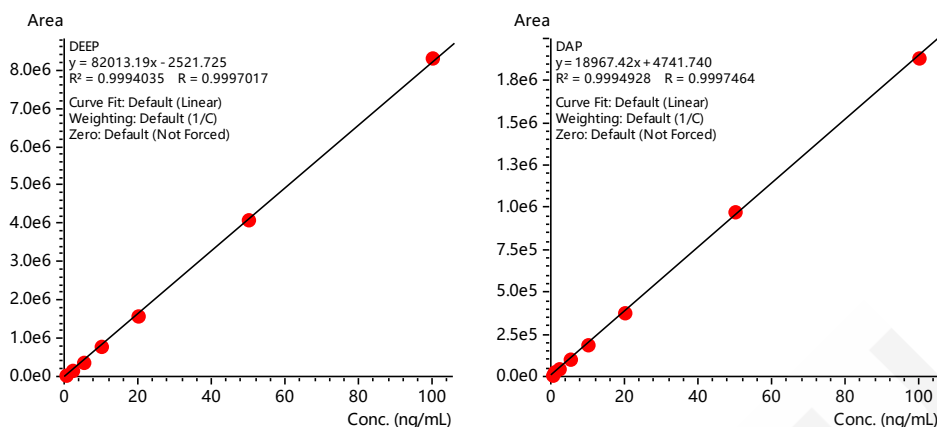


图 5. 部分邻苯二甲酸酯的校准曲线

表 3. 标准曲线与检出限信息

No.	化合物名称	校准曲线	相关系数 R	准确率(%)	检出限 (μg/kg)
1	邻苯二甲酸二甲酯	$Y = (32252.4)X + (13416.7)$	0.999	93.8~104.4	10
2	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	$Y = (65764.0)X + (-4596.26)$	0.999	95.1~108.4	10
3	邻苯二甲酸二乙酯	$Y = (101669)X + (191153)$	0.999	97.1~104.3	10
4	邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯	$Y = (82013.2)X + (-2521.72)$	0.999	93.0~113.2	10
5	邻苯二甲酸二烯丙酯	$Y = (18967.4)X + (4741.74)$	0.999	87.7~107.7	10
6	邻苯二甲酸二异丙酯	$Y = (37064.2)X + (10644.5)$	0.999	89.5~109.1	10
7	邻苯二甲酸二丙酯	$Y = (157458)X + (32482.4)$	0.999	96.5~106.2	10
8	邻苯二甲酸二苯酯	$Y = (89277.4)X + (2491.97)$	0.995	85.0~113.2	10
9	邻苯二甲酸丁基苄基酯	$Y = (65949.6)X + (12303.8)$	0.999	94.2~107.2	10
10	邻苯二甲酸二异丁酯	$Y = (127748)X + (349828)$	0.999	92.3~109.1	10
11	邻苯二甲酸二丁酯	$Y = (161196)X + (608096)$	0.999	88.6~108.8	10
12	邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	$Y = (74660.0)X + (-5378.07)$	0.999	92.0~110.7	10
13	邻苯二甲酸二戊酯	$Y = (32276.4)X + (10583.4)$	0.999	94.7~108.7	10
14	邻苯二甲酸二异戊酯	$Y = (121624)X + (12616.3)$	0.999	94.6~110.5	10
15	邻苯二甲酸二环己酯	$Y = (124514)X + (15820.9)$	0.999	94.0~112.8	10
16	邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯	$Y = (135965)X + (7618.44)$	0.999	94.3~105.6	10
17	邻苯二甲酸二己酯	$Y = (74423.5)X + (-13661.6)$	0.999	94.3~111.9	10
18	邻苯二甲酸二庚酯	$Y = (77961.8)X + (10208.5)$	0.999	86.0~115.0	10
19	邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯	$Y = (76618.3)X + (40978.4)$	0.999	91.0~110.7	10
20	邻苯二甲酸二正辛酯	$Y = (64571.3)X + (-10359.1)$	0.998	89.1~113.2	10
21	邻苯二甲酸二壬酯	$Y = (75872.3)X + (9746.44)$	0.999	93.2~111.6	10

2.3 精密度实验

对 10 ng/mL、20 ng/mL 和 50 ng/mL 不同浓度的 21 种邻苯二甲酸酯混合标准工作溶液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：21 种邻苯二甲酸酯类物质保留时间和峰面积的相对标准偏差不高于 0.70%和 8.17%，显示仪器精密度良好。

表 4. 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

No.	化合物名称	10 ng/mL		20 ng/mL		50 ng/mL	
		R. T. RSD/%	Aera RSD/%	R. T. RSD/%	Aera RSD/%	R. T. RSD/%	Aera RSD/%
1	邻苯二甲酸二甲酯	0.7	3.37	0.59	1.8	0.2	1.04
2	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	0.29	3.96	0.26	3.43	0.08	1.44
3	邻苯二甲酸二乙酯	0.06	7.6	0.08	2.47	0.06	1.13
4	邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯	0.03	7.24	0.07	0.7	0.05	5.34
5	邻苯二甲酸二烯丙酯	0.04	5.93	0.07	1.92	0.08	1.91
6	邻苯二甲酸二异丙酯	0.02	1.33	0.05	1.54	0.08	1.36
7	邻苯二甲酸二丙酯	0.01	1.73	0.06	3.03	0.08	2.23
8	邻苯二甲酸二苯酯	0.02	1.43	0.04	2.46	0.1	8.05
9	邻苯二甲酸丁基苄基酯	0.02	2.31	0.04	0.65	0.08	0.9
10	邻苯二甲酸二异丁酯	0.02	1.62	0.04	1.85	0.08	1.76
11	邻苯二甲酸二丁酯	0.02	0.91	0.04	1.73	0.07	0.74
12	邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	0.02	1.17	0.04	1.27	0.07	1.15
13	邻苯二甲酸二戊酯	0.02	3.43	0.03	1.4	0.06	1.58
14	邻苯二甲酸二异戊酯	0.01	1.32	0.04	1	0.07	1.13
15	邻苯二甲酸二环己酯	0.02	4.33	0.04	1.18	0.07	1.81
16	邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯	0.02	1.51	0.06	0.61	0.08	2.29
17	邻苯二甲酸二己酯	0.01	3.42	0.06	1.31	0.09	1.2
18	邻苯二甲酸二庚酯	0.02	2.09	0.07	2.74	0.09	2.2
19	邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯	0.02	3.05	0.09	2.41	0.08	1.16
20	邻苯二甲酸二正辛酯	0.04	2.94	0.08	3.93	0.08	0.98
21	邻苯二甲酸二壬酯	0.01	8.17	0.03	1.85	0.03	1.51

2.4 加标回收率实验

取空白虾肉样品，加入少量 21 种邻苯二甲酸酯混合标准品储备溶液，使虾肉样中添加浓度为分别为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，平行做 3 份。按照 1.3 样品前处理方法提取净化后，测定 21 种邻苯二甲酸酯的添加回收率，各化合物的平均加标回收率结果在 70.78% ~ 110.67% 之间（见表 5）。

表 5. 21 种邻苯二甲酸酯的加标回收率结果(n=3)

No.	化合物名称	添加浓度水平	
		100 $\mu\text{g}/\text{kg}$	200 $\mu\text{g}/\text{kg}$
1	邻苯二甲酸二甲酯	95.86%	88.43%
2	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	100.34%	98.64%
3	邻苯二甲酸二乙酯	75.92%	92.59%
4	邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯	101.46%	105.37%
5	邻苯二甲酸二烯丙酯	94.58%	97.74%
6	邻苯二甲酸二异丙酯	98.38%	102.77%
7	邻苯二甲酸二丙酯	104.96%	109.70%
8	邻苯二甲酸二苯酯	99.40%	103.33%
9	邻苯二甲酸丁基苄基酯	91.30%	95.42%

10	邻苯二甲酸二异丁酯	86.30%	92.56%
11	邻苯二甲酸二丁酯	91.76%	110.67%
12	邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	90.82%	95.10%
13	邻苯二甲酸二戊酯	93.16%	93.07%
14	邻苯二甲酸二异戊酯	93.12%	92.59%
15	邻苯二甲酸二环己酯	97.28%	94.62%
16	邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯	89.50%	92.48%
17	邻苯二甲酸二己酯	82.56%	85.80%
18	邻苯二甲酸二庚酯	95.76%	97.63%
19	邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯	90.62%	92.21%
20	邻苯二甲酸二正辛酯	94.78%	91.99%
21	邻苯二甲酸二壬酯	71.76%	70.78%

3 结论

本文使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A和三重四极杆质谱仪LCMS-8045联用系统建立了测定虾肉中21种邻苯二甲酸酯残留量的检测方法，其中5组同分异构体均得到较好地分离。该方法使用捕集柱能够有效去除系统中邻苯二甲酸酯类干扰物，方法灵敏度高、精密度好、结果准确，可为水产品中邻苯二甲酸酯类物质污染风险的监控提供参考方法。

附录 兽药残留检测项目和岛津仪器应对一览表

检测项目	类别	岛津应对仪器	参考标准	页码	
160 种兽药分析	/	LCMS-8040、LCMS-8045、LCMS-8050、LCMS-8060NX	农业部公告第 197 号-10-2019	13	
150 种兽药分析	/	LCMS-9030、LCMS-9050	农业部公告第 197 号-9-2019	33	
四环素、磺胺类、喹诺酮类	/	LCMS-8040、LCMS-8045、LCMS-8050、LCMS-8060NX	GB 31658.17-2021	45	
64 种兽药	/		T/FDSA 007-2019	53	
氯霉素	酰胺醇类		ISO/AWI 13493	64	
新霉素	氨基糖苷类		SN/T 5119-2019	68	
大环内酯类	大环内酯类		GB 31660.1-2019	72	
粘菌素	多肽类抗生素		SN/T 5142-2019	78	
泰万菌素、3-乙酰泰乐菌素	大环内酯类		GB 31613.2-2021	82	
青霉素	β 内酰胺类		GB 31656.12-2021	86	
氟苯尼考、氟苯尼考胺	酰胺醇类		GB 31658.5-2021	93	
四环素	四环素类		GB 31656.11-2021	98	
酰胺醇类	酰胺醇类		GB 31658.20-2022	104	
利福昔明	抗生素类		LCMS-8040、LCMS-8045、LCMS-8050、LCMS-8060NX	GB 31659.5-2022	109
阿维菌素	阿维菌素类		GB 31658.16-2021	113	
氮氨菲啶	杀虫药类		GB 31660.8-2019	117	
氯硝柳胺	杀虫药类		GB 31656.7-2021	121	
氯丙啉	杀虫药类		GB 31613.1-2021	125	
氯苯胍	杀虫药类		GB 31658.13-2021	129	
二硝托胺及代谢物	杀虫药类		GB 31613.3-2021	133	
左旋咪唑	杀虫药类		GB 31658.21-2022	137	
盐霉素	杀虫药、聚醚类抗生素		/	141	
甲苯咪唑及代谢物	苯并咪唑类		GB 31656.15-2022	145	
异丙嗪	抗组胺类		BJS 202005	150	
醋酸甲地孕酮、醋酸甲羟孕酮	雌激素		GB 31660.4 -2019	154	
α 2 受体激动剂	α 2 受体激动剂类		GB 31660.6-2019	159	

赛庚啉、可乐定	α_2 受体激动剂类	LCMS-8040、LCMS-8045、LCMS-8050、LCMS-8060NX	GB 31660.7-2019	165
赛庚啉	α_2 受体激动剂类		农业农村部公告第197-8-2019号	171
巴氯酚	镇静剂类		国标征求意见稿	176
雌激素	雌激素类		GB 31658.9-2021	180
α 群勃龙、 β 群勃龙	雄激素类		GB 31658.14-2021	185
赛拉嗪及代谢物	α_2 受体激动剂类		GB 31658.15-2021	189
氯前列醇	激素类		GB 31659.6-2022	194
阿托品、东莨菪碱、山莨菪碱、利多卡因、普鲁卡因	兴奋剂类、麻醉剂类		GB 31658.19-2022	198
安眠酮	镇静剂类		GB 31656.5-2021	202
地西洋	镇静剂类		SN/T 3235-2012	206
性激素	性激素类		GB 31656.14-2022	210
硝基咪喃代谢物	硝基咪喃代谢物		GB 31656.13-2021	220
金刚烷胺	抗病毒类		GB 31660.5-2019	227
美度铵	食源性兴奋剂类		《大型赛事食源性兴奋剂防控工作指南》	231
利尿剂	食源性兴奋剂类		SN/T 5167-2019	237
曲美他嗪	食源性兴奋剂类		《大型赛事食源性兴奋剂防控工作指南》	244
卡拉胶	其它类		NY/T 3876-2021	249
全氟化合物	环境污染物类		国标征求意见稿	253
邻苯二甲酸酯类	环境污染物类		国标征求意见稿	260



本公司三条工厂获得 ISO 认证

JQA-0376

⊕ 岛津企业管理 (中国) 有限公司/岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

北京

北京市朝阳区朝外大街16号中国人寿大厦14层
邮政编码: 100020
电话: (010)8525-2310/2312 传真: (010)8525-2531

沈阳

沈阳市青年大街167号北方国际传媒中心11层
邮政编码: 110016
电话: 024-23255577 传真: (024)2325-5577

西安

西安市锦业一路56号研祥城市广场A座501
邮政编码: 710065
电话: 029-62737878 传真: (029) 6273-7879

乌鲁木齐

乌鲁木齐市中山路339号中泉广场14H座
邮政编码: 830002
电话: (0991)230-6271/6272 传真: (0991)230-6273

郑州

郑州市中原路220号裕达国际贸易中心A座20层2011室
邮政编码: 450007
电话: (0371)8663-2981/2983 传真: (0371)8663-2982

上海

上海市徐汇区宜州路180号华鑫慧享城B2栋
邮政编码: 200233
电话: (021)3419-3888 传真: (021)3419-3666

成都

成都市锦江区创意产业商务区三色路38号博瑞·创意成都写字楼
B座12层
邮政编码: 610063
电话: (028)8619-8421/8422 传真: (028)8619-8420

南京

南京市鼓楼区汉中中路2号亚太商务楼27层B座
邮政编码: 210005
电话: (025)8689-0258 传真: (025)8689-0237

重庆

重庆市渝中区青年路38号重庆国贸中心1702座
邮政编码: 400010
电话: (023)6380-6068/6058 传真: (023)6380-6551

武汉

武汉市武昌区临江大道96号武汉万达中心31层3112室
邮政编码: 430060
电话: (027) 5908-0488 传真: (027) 5908-0470

广州

广州市天河区高唐路230号广电智慧大厦
邮政编码: 510656
电话: (020) 3718-3888 传真: (020) 3718-3804

昆明

昆明市青年路432号天恒大酒店 908室
邮政编码: 650021
电话: (0871)6315-2986/2987 传真: (0871)6315-2991

深圳

深圳市福田区天安数码城天展大厦1楼 F2.6-1C
邮政编码: 518040
电话: (0755)8340-2852 传真: (0755)8389-3100

长沙

湖南省长沙市芙蓉区解放西路188号国金中心T1大楼3115室
邮政编码: 410005

香港

香港九龙尖沙咀海洋中心1028室
SUITE 1028, OCEAN CENTRE, HARBOUR CITY,
TSIM SHA TSUI, KOW LOON, HONG KONG
电话: (00852)2375-4979 传真: (00852)2199-7438

用户服务热线电话: 800-8100439
400-6500439

本产品样本所宣传的内容, 以本版本为准
样本中的试验数据除注明外为本公司的试验数据

日本总公司工厂已通过ISO质量·环境管理体系的认证

注: 此样本所有信息仅供参考, 如有变动恕不另行通知