

LC-MS/MS 测定牛奶中利福昔明残留量的方法

LCMSMS-776

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 31660.x-2021《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 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，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，为确保动物性食品安全提供保证。

本文参考 GB 31660.x-2021，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。

■ 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 μm)		
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	进样体积：	10 μL
柱温：	10 μL		
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* 151.15	-20.0	-23.0 -36.0	-22.0 -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。

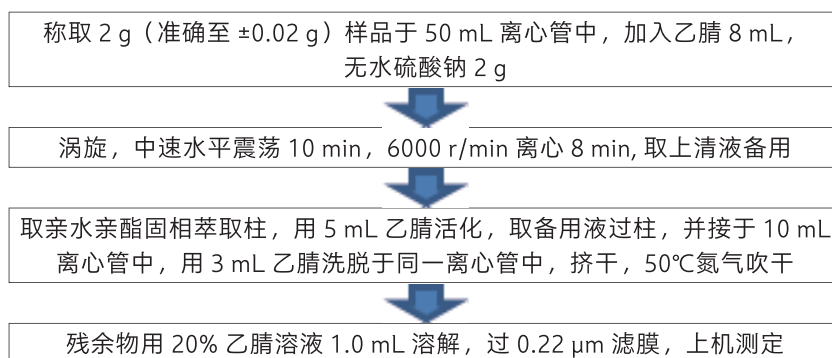


图 1 前处理流程图

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。

■ 结果与讨论

2.1 标准溶液色谱图

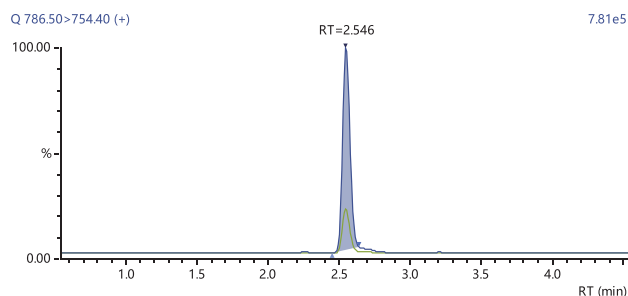


图 2 利福昔明标准溶液色谱图

2.2 线性范围、检测限和定量限

按照 1.4 配制成各浓度标准溶液，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 μg/kg、定量限为 10 μg/kg。

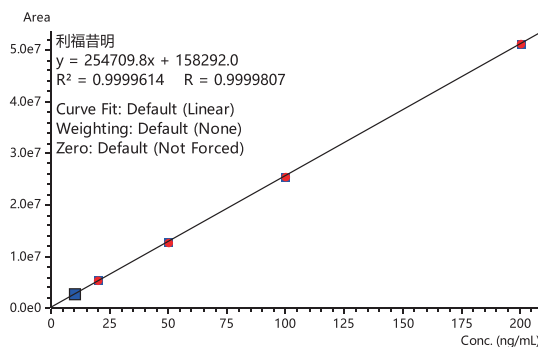


图 3 利福昔明校准曲线

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 μg/kg、50 μg/kg、100 μg/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。

■ 结论

本文使用岛津液相色谱 - 串联质谱仪 LCMS-8050, 参考 GB 31660.x-2021 《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。

岛津应用云

