LC-MS/MS 法测定茶叶中 4 种农用抗生素杀菌剂的残留量

LCMSMS-1111

摘要： 本文使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045RX，参考《GB 23200.125-2026 食品安全标准 植物源性食品中春雷霉素、井岗霉素、宁南霉素、多抗霉素残留量的测定》，建立测定茶叶中 4 种农用抗生素杀菌剂的分析方法。前处理采用甲酸水提取，固相萃取小柱净化，外标法定量，在 0.001~0.2 mg/L 浓度范围内线性关系良好，相关系数 r 在 0.9997 以上。高、中、低三个浓度的标准溶液，连续 6 次进样，4 种目标化合物的峰面积 RSD 在 0.19%~5.00% 之间，保留时间 RSD 在 0.09 %-0.56% 之间，仪器精密度良好。在基质加标回收率测试中，不同加标量的回收率在 86.8% ~ 110.0% 之间。方法同时考察了目标化合物在仪器上的长期进样稳定性，0.05 mg/kg 加标量的基质加标样 70 针连续进样，4 种化合物峰面积的相对标准偏差均不大于 7.09%，仪器长期稳定性良好。

关键词： 三重四极杆液质联用仪　茶叶　农用抗生素杀菌剂

技术特点：

- 春雷霉素等 4 种化合物在茶叶基质中的方法定量限均优于参考标准《GB23200.125-2026》中的春雷霉素、井冈霉素的定量限（0.02 mg/kg），宁南霉素、多抗霉素的定量限（0.05 mg/kg）。
- 0.05 mg/kg 加标量的基质加标样 70 针连续进样，4 种化合物峰面积的相对标准偏差均不大于 7.09%，仪器长期稳定性良好。

农用抗生素杀菌剂，是从微生物中提取的具有杀菌作用的活性物质，对农业病害有着较为明显的防治作用，其作用机制主要是通过特异性干扰病原菌的生化过程，影响其细胞的结构和功能，使其失去正常生理活动或生长繁殖的能力，从而达到抑菌与杀菌的作用。常见的农用抗生素杀菌剂有井冈霉素、宁南霉素、多抗霉素、和春雷霉素等。

茶叶是世界三大饮料之一，需求量极大，为保证茶叶产量和品质，需要有效防止病虫害。多项研究表明多抗霉素、春雷霉素和宁南霉素对茶树病害具有明显的抑菌作用。

尽管农用抗生素具有高效、易降解的特点，但仍需要对其在植物源性食品中的残留限量进行监管，以此规范农用抗生素的合理使用。

本方案参考《GB 23200.125-2026 食品安全标准 植物源性食品中春雷霉素、井岗霉素、宁南霉素、多抗霉素残留量的测定》，采用 LCMS-8045RX 建立了茶叶中上述 4 种农用抗生素杀菌剂的分析方法。该方法灵敏度高、特异性良好，可为相关检测人员与行业从业者提供技术参考

实验部分

1.1 仪器

本实验使用超高效液相色谱系统和三重四极杆质谱 LCMS-8045RX，具体配置为：

输　液　泵：LC-40B X3　　系　统　控　制　器：SCL-40
自动进样器：SIL-40C X3　　三重四极杆质谱仪：LCMS-8045RX
柱　温　箱：CTO-40C
色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.135；LabSolutions Insight Ver. 4.2

1.2 分析条件

液相色谱条件

色　谱　柱：Shim-pack GIST Amide (50 mm×2.1 mm I.D., 3 μm)
（岛津（上海）实验器材有限公司 , P/N: 227-30850-01）
流　动　相：A 相 -0.1% 甲酸水溶液；B 相 -0.1% 甲酸乙腈
流　　速：0.4 mL/min
进样体积：5 μL　　柱　　温：40℃
洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 70%，洗脱程序见表 1。

表 1　梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	Command	Value
1.00	泵	B.Conc	70.0
3.00	泵	B.Conc	55.0
5.00	泵	B.Conc	55.0
5.10	泵	B.Conc	70.0
7.00	控制器	stop	

质谱条件

离　子　源：ESI+　　加热块温度：300℃
雾化气流速：3.0 L/min　　DL　温　度：150℃
加热气流速：5.0 L/min　　接　口　温　度：400℃
干燥气流速：15.0 L/min　　聚　焦　电　压：2 kV
接　口　电　压：4 kV　　MRM 参数：见表 2

表 2　MRM 参数

No.	化合物	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	春雷霉素	6980-18-3	380.10	111.85*	-27	-20	-18
				200.10	-27	-10	-21
2	井岗霉素	37248-47-8	498.20	178.05*	-19	-28	-17
				336.15	-25	-22	-22
				141.90	-19	-36	-26

3	宁南霉素	156410-09-2	444.10	333.10*	-16	-13	-15
				315.10	-22	-17	-21
4	多抗霉素	19396-06-6	508.10	490.15*	-26	-13	-17
				366.05	-26	-19	-26
				102.10	-38	-39	-18

注：* 表示定量离子

1.3 样品前处理

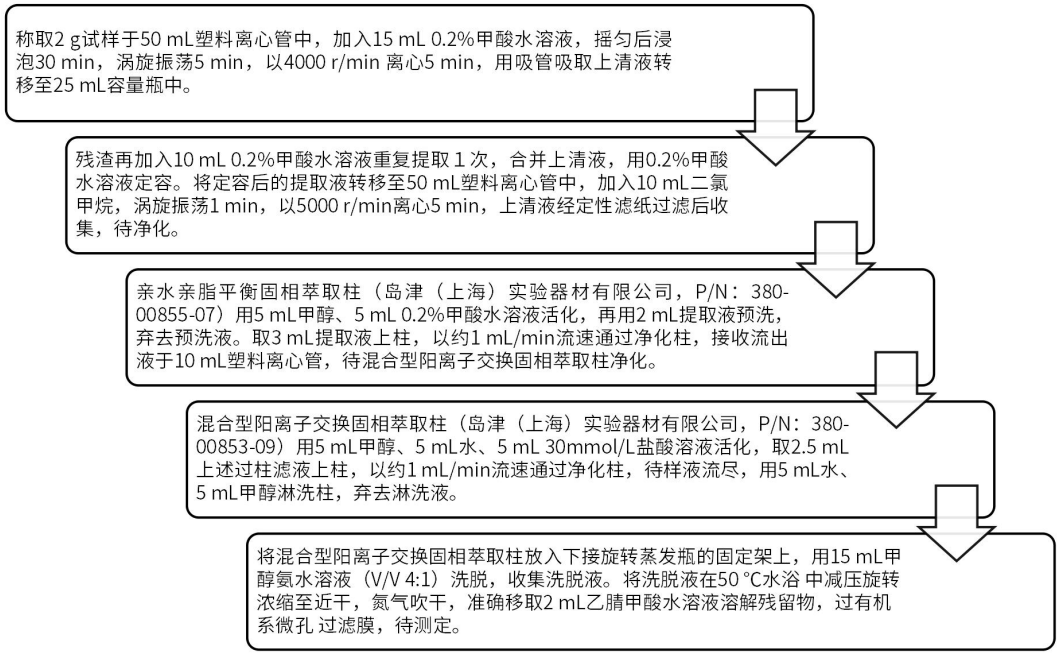


图 1　前处理操作流程图

1.4 基质匹配标准曲线溶液配制

选择不含目标化合物的茶叶，参照 1.3 所述前处理操作制备得到的空白茶叶基质溶液，分别吸取适量混合标准溶液，用空白茶叶基质溶液稀释，配制成浓度为 0.001 mg/L、0.002 mg/L、0.005 mg/L、0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.1 mg/L、和 0.2 mg/L 基质混合标准溶液。

结果与讨论

2.1 灵敏度和专属性

0.002 mg/L 的基质混合对照品工作溶液上机分析，4 种化合物 MRM 色谱图如图 2 所示，与基质空白样品相比，化合物保留时间处无干扰。

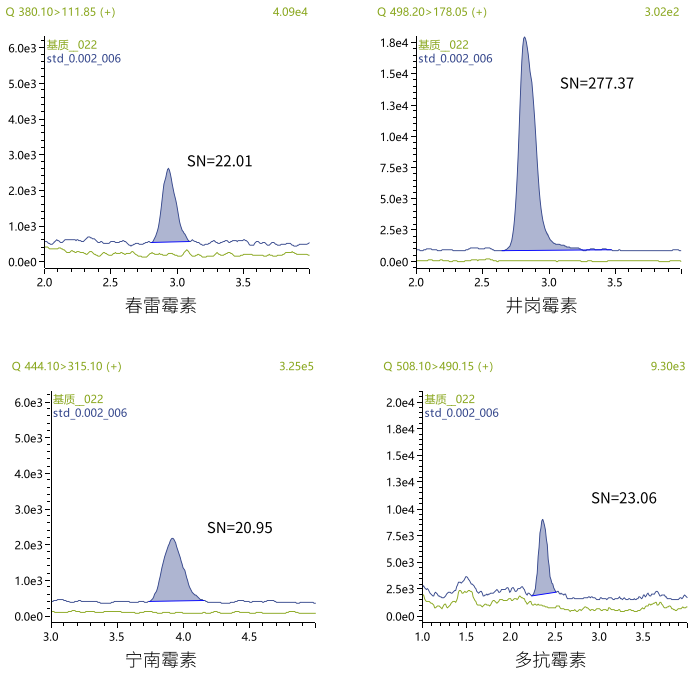


图 2　化合物的 MRM 色谱图（浓度为 0.002 mg/L）

2.2 校准曲线

将配制的一系列的基质标准工作溶液上机分析，采用外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积比为纵坐标，绘制校准曲线如图 3 所示，4 种化合物在 0.001~0.2 mg/L 的浓度范围内所得曲线线性关系良好。各化合物的线性范围、相关系数 r、仪器定量限（根据线性最低浓度点计算）见表 3。

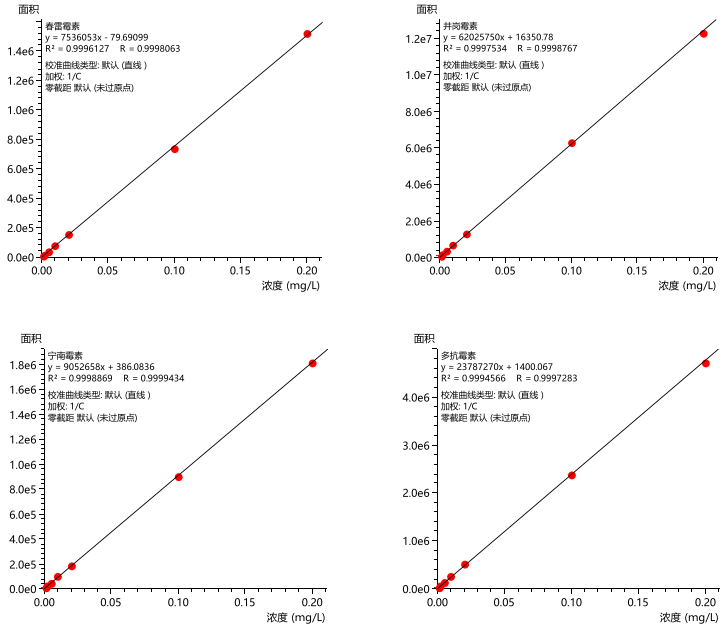


图 3　校准曲线及相关信息

表 3　校准曲线（0.001-0.2 mg/L）结果（加权 1/C）

序号	化合物名称	校准曲线	相关系数 r	准确度 (%)	定量限 (mg/kg)
1	春雷霉素	y = 07536053 x – 79.69099	0.9998	96.7~104.4	0.016
2	井岗霉素	y = 62025750 x + 16350.78	0.9998	87.0~105.2	0.004
3	宁南霉素	y = 9052658 x + 386.0835	0.9999	95.8~104.5	0.017
4	多抗霉素	y = 23787270 x + 1400.067	0.9997	89.5~107.8	0.018

2.3 精密度

取浓度为 0.002、0.02 和 0.2 mg/L 基质标准品溶液，连续进样 6 次，考察仪器的精密度，测定结果见表 4。低、中、高浓度下，4 种化合物的峰面积 RSD 在 0.19%~5.00% 之间，保留时间 RSD 在 0.09 %-0.56% 之间，仪器精密度良好。

表 4　低、中、高浓度精密度 (n=6)

序号	化合物	RSD%（0.002 mg/L）		RSD%（0.02 mg/L）		RSD%（0.2 mg/L）	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	春雷霉素	0.37	2.70	0.14	1.32	0.09	0.78
2	井岗霉素	0.39	4.55	0.12	3.01	0.09	0.59
3	宁南霉素	0.50	3.15	0.10	1.52	0.13	0.19
4	多抗霉素	0.56	5.00	0.10	1.01	0.11	0.35

2.4 加标回收率

选择茶叶空白样品，进行 0.02 和 0.05 mg/kg 含量加标回收试验，4 种化合物回收率在 86.8% ~ 110.0% 之间，满足 GB/T 27417-2017 中浓度水平在小于 0.1 mg/kg 时，回收率范围在 60%~120% 的要求，具体结果见表 5。

表 5　加标实验结果（n=3）

序号	化合物	加标量 0.02 mg/kg		加标量 0.05 mg/kg	
		回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%
1	春雷霉素	107.7	7.12	110.0	2.64
2	井岗霉素	99.8	2.39	98.5	1.86
3	宁南霉素	86.8	4.64	91.5	2.59
4	多抗霉素	96.4	3.85	93.4	2.78

2.5 仪器长期稳定性

选取 2.4 中加标量为 0.05 mg/kg 的加标样，同个样品重复连续进样 70 针，测试本方法的长期仪器稳定性，4 种化合物峰面积的相对标准偏差均不大于 7.09%，仪器长期稳定性良好，具体见图 4~5。

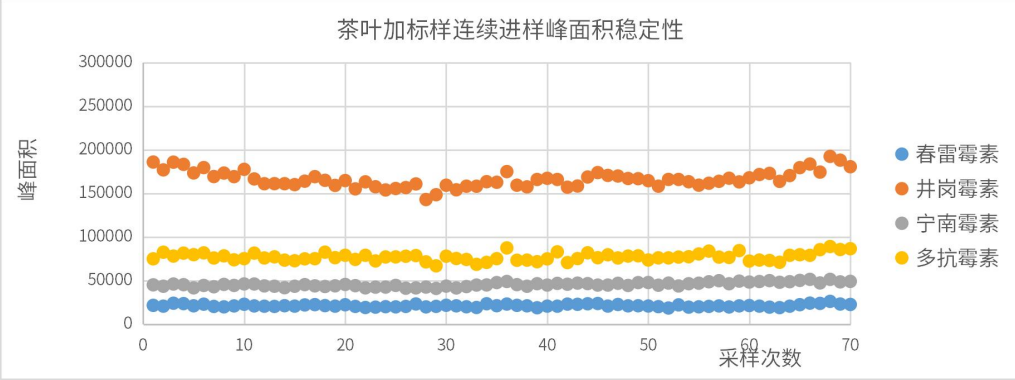


图 4　茶叶加标样连续进样峰面积散点图（加标量 0.05 mg/kg）

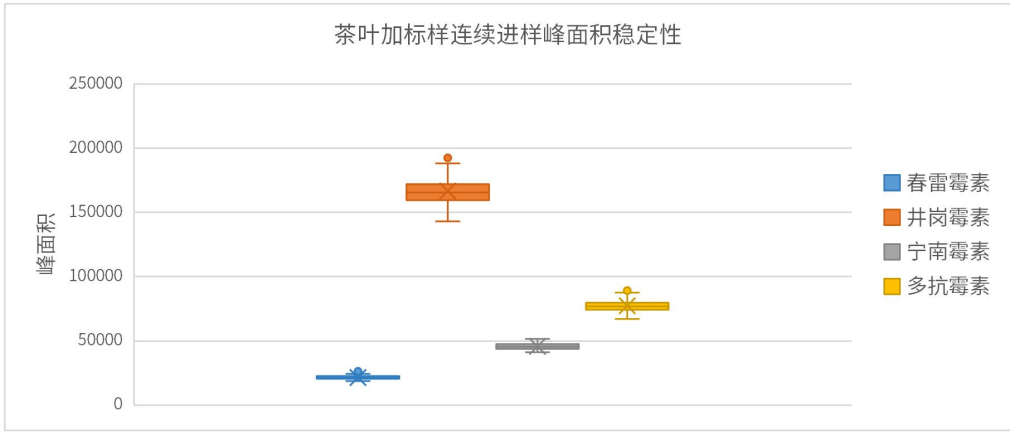


图 5　茶叶加标样连续进样峰面积箱形图（加标量 0.05 mg/kg）

结论

本方案使用岛津三重四极杆质谱 LCMS-8045RX，参考《GB 23200.125-2026 食品安全标准 植物源性食品中春雷霉素、井岗霉素、宁南霉素、多抗霉素残留量的测定》，建立了茶叶中 4 种农用抗生素杀菌剂的分析方法。该方法灵敏度高、特异性良好，且稳定性好，可供相关人员参考。

岛津企业管理（中国）有限公司 –分析中心
Shimadzu (China) Co., LTD. – Analytical Applications Center
Email: dr_jin@shimadzu.com.cn　Tel: 86(21)34193983　http://www.shimadzu.com.cn