LC-MS/MS 法测定葡萄中 4 种农用抗生素杀菌剂的残留量

LCMSMS-1112

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》，建立测定葡萄中 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 0.002~0.2 mg/L 浓度范围内线性关系良好，相关系数 r 在 0.9995 以上。高、中、低三个浓度的标准溶液，连续 6 次进样，4 种化合物的峰面积 RSD 在 0.86%~7.83% 之间，保留时间 RSD 在 0.18 %-0.95% 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 64.4% ~ 75.5 % 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 2.72%-9.63%，仪器长期稳定性良好。

关键词： 三重四极杆液质联用仪　葡萄　农用抗生素杀菌剂

技术特点：

- 春雷霉素等 4 种化合物在葡萄基质中的定量限均小于 0.02 mg/kg，且校准曲线最低点（0.004 mg/kg）仅为参考标准《GB23200.125-2026》方法定量限的 2/25~1/5。
- 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小于 9.63%，仪器长期稳定性良好。

在我国，葡萄是作为农民增收、区域经济发展和消费市场不可缺少的大宗水果，但葡萄霜霉病却常导致葡萄减产和果实品质降低。目前已有研究表明，采用春雷霉素和多抗霉素等农用抗生素杀菌剂能有效的对葡萄霜霉病起到预防的治疗的作用。

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。

尽管农用抗生素具有高效、易降解的特点，但仍需要对其在葡萄中的残留限量进行监管，以此规范农用抗生素杀菌剂的合理使用。且在《GB 2763-2026》中明确规定在葡萄水果中多抗霉素和井岗霉素的最大残留限量分别不超过 10 mg/kg 和 0.2 mg/kg。

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 建立了葡萄中上述 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

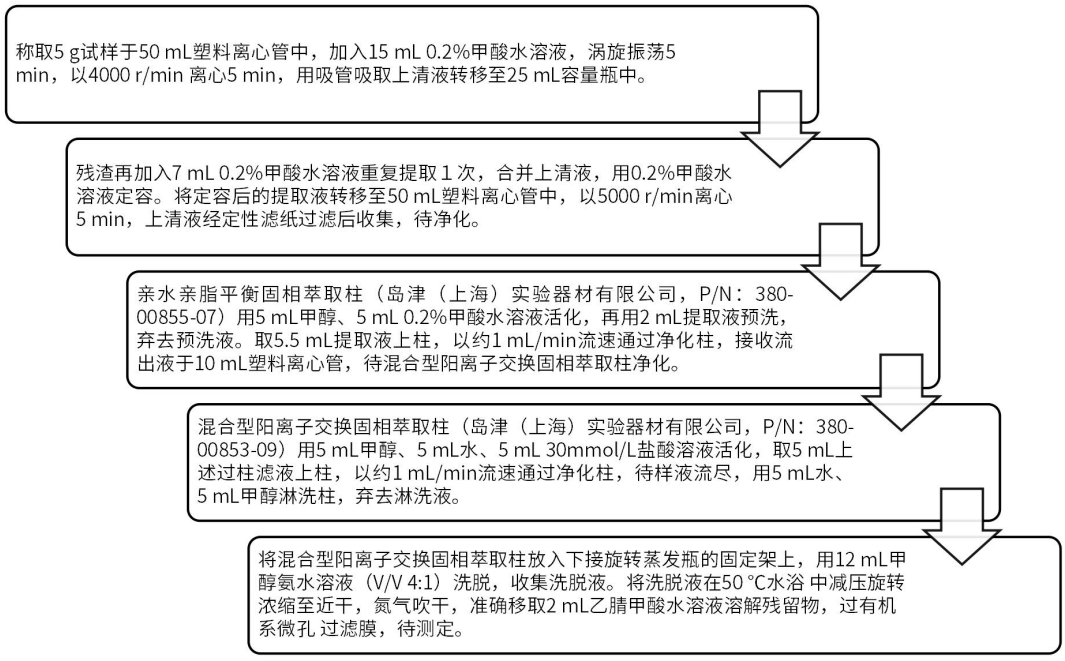


图 1　前处理操作流程图

1.4 基质匹配标准曲线溶液配制

选择不含目标化合物的葡萄，参照 1.3 所述前处理操作制备得到的空白葡萄基质溶液，分别吸取适量混合标准溶液，用空白葡萄基质溶液稀释，分别配制成浓度为 0.002 mg/L、0.005 mg/L、0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05mg/L、0.1 mg/L、和 0.2 mg/L 基质混合标准溶液，即目标化合物含量依次为 0.004 mg/kg、0.01 mg/kg、0.02 mg/kg、0.04 mg/kg 、0.1 mg/kg、0.2 mg/kg、0.4 mg/kg。

■ 结果与讨论

2.1 灵敏度和专属性

0.005 mg/L 的基质混合标准溶液工作溶液上机分析，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。

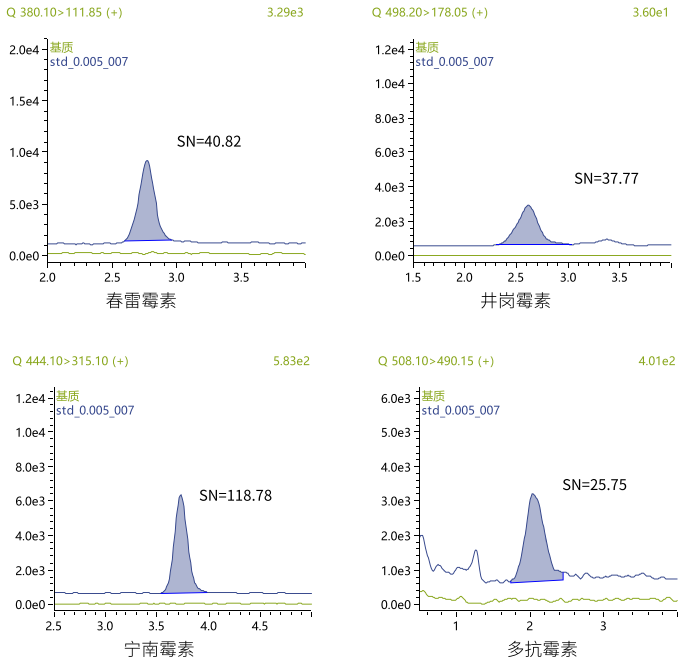


图 2　化合物的 MRM 色谱图（浓度为 0.005 mg/L）

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 0.002~0.2 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。

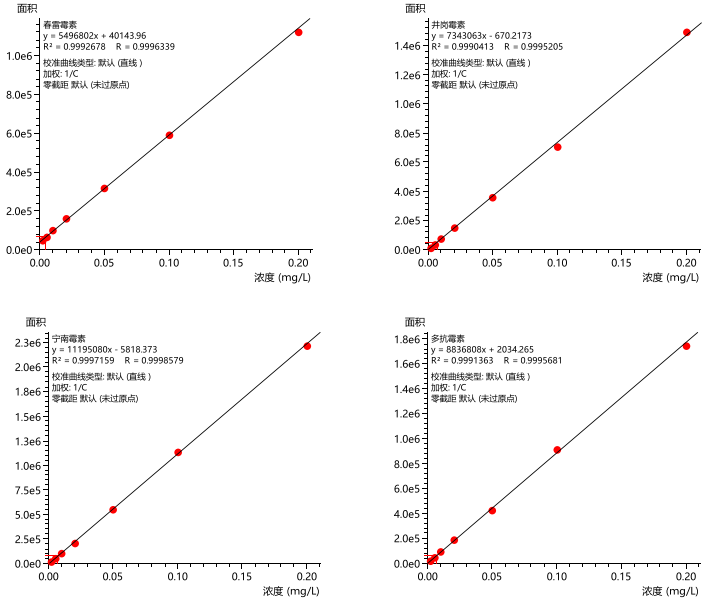


图 3　校准曲线及相关信息

表 3　校准曲线（0.002-0.2 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 = 5496802 x + 4014396	0.9996	87.8~107.9	0.00079
2	井岗霉素	y = 7343063 x – 670.2173	0.9995	95.0~105.7	0.0026
3	宁南霉素	y = 11195080 x – 5818.373	0.9998	96.4~103.1	0.00052
4	多抗霉素	y = 8836808 x + 2034.265	0.9995	91.1~104.1	0.0039

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 0.86%~7.83% 之间，保留时间 RSD 在 0.18 %-0.95% 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	0.42	5.00	0.21	4.00	0.36	3.22
2	井岗霉素	0.44	6.89	0.29	3.39	0.31	1.91
3	宁南霉素	0.47	5.05	0.31	1.07	0.18	1.36
4	多抗霉素	0.95	7.83	0.62	2.35	0.46	0.86

2.4 加标回收率

选择葡萄空白样品，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 64.4% ~ 75.5 % 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	72.6	2.30	75.5	1.73
2	井岗霉素	70.1	2.86	71.5	3.78
3	宁南霉素	74.7	4.84	75.5	3.70
4	多抗霉素	64.4	1.55	66.4	2.19

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在 2.72%-9.63% 之间，仪器长期稳定性良好，具体见图 4~5。

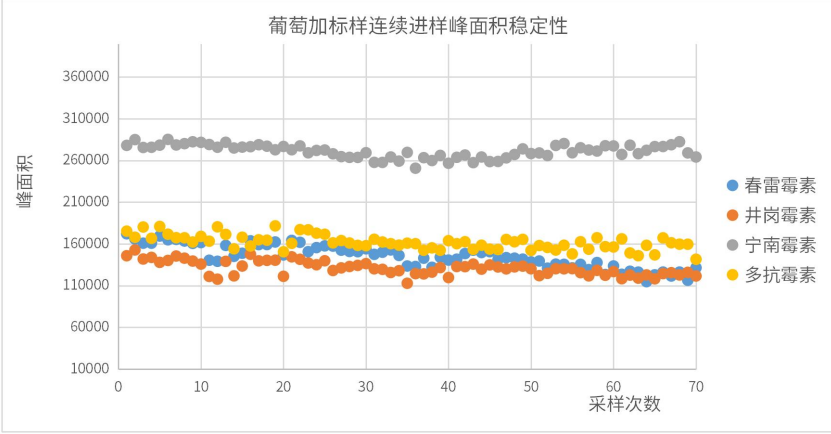


图 4　葡萄加标样连续进样峰面积散点图（加标量 0.05 mg/kg）

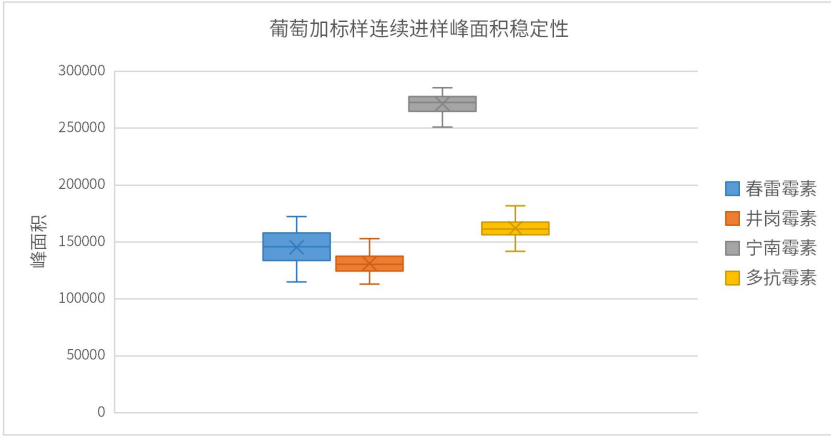


图 5　葡萄加标样连续进样峰面积箱形图（加标量 0.05 mg/kg）

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》，建立了葡萄中 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。

岛津应用云

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