

实验技术与方法

稳定同位素内标-超高压液相色谱-串联质谱法
同时测定动物源性食品中 8 种抗生素残留

刘柏林, 谢继安, 赵紫微, 韦莹, 单晓梅

(安徽省疾病预防控制中心, 安徽 合肥 230601)

摘要:目的 建立超高压液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)测定动物源性食品中 8 种抗生素药物残留的方法。方法 待测物经乙酸乙酯提取,采用电喷雾电离,正负离子扫描,多反应监测模式(MRM),基质匹配内标标准曲线法定量。结果 在最佳试验条件下,8 种抗生素残留物在 0.05 ~ 50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的浓度范围内线性良好,相关系数 r^2 均大于 0.995,检出限范围为 0.05 ~ 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,平均回收率为 56.8% ~ 108.2%,相对标准偏差(RSD)小于 15.4%。结论 本方法的样品前处理过程简单,净化效果好,灵敏度高,有效解决了基质效应问题,适用于大批量食品中抗生素残留的快速定量分析。

关键词:超高压液相色谱-串联质谱; 动物源性食品; 硝基呋喃代谢物; 氯霉素; 甲硝唑; 兽药残留; 抗生素; 违禁药物

中图分类号:R155 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2016)04-0461-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2016.04.011

Simultaneous determination of eight antibiotics residues in animal food by ultra
pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry with
stable isotope-labelled internal standards

LIU Bo-lin, XIE Ji-an, ZHAO Zi-wei, WEI Ying, SHAN Xiao-mei

(Anhui Provincial Center for Disease Control and Prevention, Anhui Hefei 230601, China)

Abstract: Objective A method for the determination of eight antibiotic residues in animal food by the ultra pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was established. **Methods** The analytes were extracted by ethyl acetate, and the identification was achieved by electrospray ionization in positive and negative mode (ESI +/ESI -) using multiple reaction monitoring (MRM). The quantifications were performed by the matrix matched internal standards. **Results** Under the optimum experimental conditions, the calibration curves of the eight analytes showed a good linearity in the concentrations of 0.05-50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ with r^2 above 0.995. Recoveries were between 56.8% and 108.2% with RSD less than 15.4%. The limits of detection were 0.05-0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$. **Conclusion** The method had the advantages of simple pretreatment, high sensitivity, and lower matrix effects, which was suitable for rapid, high-throughput quantitative food analysis.

Key words: Ultra pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry; animal tissues food; nitrofurantol metabolites; chloramphenicol; metronidazole; residue of veterinary drug; antibiotic; forbidden drug

近年来,抗生素中的硝基呋喃类、氯霉素类及甲硝唑作为抗菌药物被广泛应用于畜禽、水产养殖行业中,用于治疗疾病,促进生长。使用药物治疗后,药物的原形或其代谢产物可能蓄积、储存在动物的细胞、组织或器官中,形成药物残留。长期食用这些残留超标的食物,会导致慢性中毒,甚至致癌、致畸、致突变,对人体健康极为不利^[1]。由此引

起的食物安全问题,一直被人们广泛关注,是国内外重点检测和监控的对象,我国已经明令禁止在饲料中添加甲硝唑。

目前,用于测定这些药物的方法主要是高效液相色谱法^[2-4]、高效液相色谱-串联质谱法^[5-14],由于液相色谱-串联质谱法具有快速、准确、高灵敏度等优点,已成为食品安全检测的主要方法。我国现行的标准方法,动物源性食品中硝基呋喃类代谢物、氯霉素类与甲硝唑都采用了液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)进行测定^[15-17]。但是,使用液相色谱-串联质谱法测定这 3 类药物,是按照药物种类建立

收稿日期:2015-11-27

作者简介:刘柏林 男 检验师 研究方向为食品安全理化检验

E-mail:liubolin087@163.com

检测方法,不同种类则需要调整流动相与提取方法,这样不但加大了工作量,而且延长了分析时间。现有的方法中,仅为数较少的2篇文献测定的是硝基呋喃原药与氯霉素^[18-19]。在动物源性食品中采用同位素标记的内标物进行内标法定量分析,同时测定4种硝基呋喃类代谢物、3种氯霉素类药物及甲硝唑的方法尚未见报道。

本研究在已有方法的基础上,对样品前处理方法进行了优化,采用超高压液相色谱-串联质谱技术(UPLC-MS/MS)建立了动物源性食品中硝基呋喃类代谢物、氯霉素类与甲硝唑同时检测的方法。与标准方法相比,该方法简化了样品前处理步骤,不需要进行固相萃取柱(SPE)净化,一定程度上避免了SPE过程中由于萃取小柱、操作技术水平等导致方法重复性差的问题,改善了方法的精密度,另外,5 min内可将4种硝基呋喃代谢物、3种氯霉素类药物及甲硝唑完全分离并测定,最低检出限为0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$,弥补了已有方法灵敏度低、测定时间长等方面的不足,此方法满足大批量动物源性食品中微量硝基呋喃代谢物、氯霉素类与甲硝唑残留同时测定的要求。

1 材料与amp;方法

1.1 主要仪器与试剂

ACQUITY™ UPLC 超高压液相色谱仪、ZEVO TQ MS 串联质谱仪、8010G 样品均质杯均购自美国 Waters, Milli-Q 超纯水系统,漩涡混匀器, pH 计。

3-氨基-2-恶唑烷基酮(AOZ, CAS: 80-65-9)、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮(AMOZ, CAS: 43056-63-9)、1-氨基-乙内酰脲(AHD, CAS: 2827-56-7)、氨基脲(SCA, CAS: 563-41-7)、氯霉素(CAP, CAS: 56-75-7)、甲砒霉素(TAP, CAS: 15318-45-3)、AOZ-d₄(CAS: 1188331-23-8)、AMOZ-d₅(CAS: 1017793-94-0)、AHD-¹³C₃(CAS: 957509-31-8)、SCA-¹³C-¹⁵N₂(CAS: 1173020-16-0)均购自美国 Sigma-Aldrich; CAP-d₅(CAS: 202480-68-0)、氟甲砒霉素(FF, CAS: 76639-94-6)、甲硝唑(MNZ, CAS: 443-48-1)购自加拿大 Dr. Ehrenstorfer; MNZ-d₄(加拿大 TRC); 邻硝基苯甲醛(2-NBA)、乙酸铵、甲醇、乙腈、甲酸、乙酸乙酯均为色谱纯; 氢氧化钠与二甲亚砜均为分析纯。

衍生试剂制备:称取1.5 g 2-NBA,用二甲亚砜溶解并定容至100 ml,配制成0.1 mol/L 溶液。流动相A的制备:称取0.385 g 乙酸铵,纯水溶解后,加入500 μl 甲酸,并定容至1 000 ml,制备5 mmol/L 乙酸铵溶液(含0.05% 甲酸, V/V = 1:2 000)。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液的制备

标准储备液:分别称取适量的 AMOZ、SCA、AHD、AOZ、CAP、TAP、FF、MNZ、AOZ-d₄、AMOZ-d₅、AHD-¹³C₃、SCA-¹³C-¹⁵N₂、CAP-d₅、MNZ-d₄ 标准物质,用甲醇溶解,并定容至刻度,配制成100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的标准储备液,避光保存于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱。

混合标准工作液:分别准确移取上述标准储备液(AMOZ、SCA、AHD、AOZ、CAP、TAP、FF、MNZ) 10 μl 至10 ml 容量瓶中,用10% 甲醇水溶液(含0.05% 甲酸)稀释至刻度,混匀,配制成100 ng/ml 的混合标准工作液;分别准确移取上述标准储备液(AOZ-d₄、AMOZ-d₅、AHD-¹³C₃、SCA-¹³C-¹⁵N₂、CAP-d₅、MNZ-d₄) 10 μl 至10 ml 容量瓶中,用10% 甲醇水溶液(含0.05% 甲酸)稀释至刻度,混匀,配制成100 ng/ml 的内标混合标准工作液,现配现用。

标准应用液系列:分别准确移取上述代谢物混合标准工作溶液(100 ng/ml) 5、10、50、100、200、500、1 000 与5 000 μl 到10 ml 容量瓶中,加入500 μl 内标混合标准工作液,用10% 甲醇水溶液(含0.05% 甲酸)定容至刻度,配制成0.05、0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 与50.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的标准系列。

1.2.2 样品处理

采集超市与农贸市场猪肉的瘦肉、猪肝、鸡肉、淡水鱼类和牛肉、牛肝(淡水鱼类样品除去鱼鳞与内脏,猪肉与鸡肉样品取其肌肉部分)。各类样品分别称取500 g 于样品均质杯中,充分绞碎混匀,分成2份,放在干净的保鲜盒内并作标记,-20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存,1份用于检测,1份用于留样。

称取均质后的动物肌肉组织1.0 g(精确至0.001 g)于50 ml 离心管中,加入10 ml 0.2 mol/L 盐酸溶液,再依次加入50 μl 内标混合标准工作液(100 ng/ml)和200 μl 邻硝基苯甲醛溶液(0.1 mol/L),漩涡混匀1 min,置于37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴或37 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中避光过夜反应16 h。取出样品,冷却至室温,用氢氧化钠溶液调pH至7.2~7.6,10 000 r/min 离心10 min,将上清液转入另一个50 ml 离心管中,加入10 ml 乙酸乙酯,漩涡混匀提取1 min,10 000 r/min 离心10 min,收集乙酸乙酯层。残留物用10 ml 乙酸乙酯再提取一次,合并乙酸乙酯层。收集液在40 $^{\circ}\text{C}$ 下用N₂ 吹干,准确加入1.0 ml 10% 甲醇水溶液(含0.05% 甲酸),漩涡混匀30 s,4 $^{\circ}\text{C}$ 10 000 r/min 离心5 min,取上清液过0.22 μm 滤膜供UPLC-MS/MS测定。

1.2.3 仪器条件

色谱条件:色谱柱为 Waters Acquity™ UPLC BEH C₁₈ 柱(2.1 mm \times 100 mm, 1.7 μm),柱温

40 ℃;样品室温度 10 ℃,进样体积 10 μl;流动相 A 为 5mmol/L 乙酸铵(含 0.05% 甲酸),流动相 B 为乙腈;流速 0.4 ml/min。梯度洗脱条件见表 1。

质谱条件:离子源为电喷雾离子源;电离模式:正负离子模式(ESI + /ESI -);检测方式:多反应监测(MRM);毛细管电压:ESI + 模式为 3.0 kV,ESI - 模式为 2.50 kV;离子源温度 150 ℃;脱溶剂气温度 500 ℃;脱溶剂气流量 800 L/h;碰撞气流量 0.13 ml/min。药物的母离子、子离子及对应的碰撞

表 1 UPLC 梯度洗脱条件

时间/min	流速/(ml/min)	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	0.40	90.0	10.0
3.00	0.40	60.0	40.0
3.50	0.40	15.0	85.0
4.00	0.40	10.0	90.0
4.50	0.40	90.0	10.0
5.00	0.40	90.0	10.0

能量、锥孔电压见表 2。

表 2 8 种待测物及内标物的质谱分析参数

Table 2 MS/MS conditions for the analysis of eight compounds and internal standards

分析物	保留时间/min	母离子/(m/z)	子离子/(m/z)	碰撞能量/eV	锥孔电压/V
AMOZ	1.90	335.0	291.2,128.0,262.2*	12,24,18	30
AMOZ-d ₅	1.85	340.0	296.2,265.2*	12,18	30
SCA	2.36	209.0	192.0,149.0,166.0*	12,14,10	30
SCA- ¹³ C- ¹⁵ N ₂	2.36	212.0	168.0*,195.0	10,12	30
AHD	2.41	249.0	178.0,104.0,134.0*	15,24,13	36
AHD- ¹³ C ₃	2.41	252.0	134.0*,104.0	13,24	36
AOZ	2.74	236.0	192.1,134.0,104.0*	11,13,23	36
AOZ-d ₄	2.74	240.0	134.0,104.0*	13,23	36
CAP	2.63	321.1	257.1,151.9*	12,19	38
CAP-d ₅	2.63	326.1	262.1,157.0*	12,17	38
TAP	1.67	354.1	240.0,185.0,290.1*	16,16,16	38
FF	2.40	356.1	185.0,119.0,336.1*	22,32,9	38
MNZ	1.40	172.1	128.1*,82	14,22	30
MNZ-d ₄	1.40	176.1	128.1*,82	16,26	30

注:*为定量离子

1.2.4 工作曲线与加标试验

分别称取已搅碎均匀的阴性样品 1.0 g(精确到 0.001 g)于 8 个 50 ml 离心管中,分别加入标准应用液系列各 1.0 ml(标准应用液系列的浓度为 0.05、0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、50.0 μg/L,内含 5.0 μg/L 的混合内标),其余步骤同 1.2.2 中样品提取方法。

加标试验:分别称取已搅碎均匀的阴性样品 1.0 g(精确到 0.001 g)于 4 个 50 ml 离心管中,分别按检出限、0.5、2.0、5.0 μg/L 准确添加 8 种抗生素混和标准工作液,提取步骤同 1.2.2 样品前处理。

2 结果与分析

2.1 标准溶液溶剂的选取

配制标准储备液时,比较了甲醇与乙腈作为溶剂,市售的硝基咪唑代谢物标准物质 SCA 与 AHD 是盐酸盐,不易溶于乙腈,溶解时要加入少量的水,但是含水的储备液在 -20 ℃ 保存时易冻结,故选用甲醇作为储备液、混合标准储备液的溶剂。同时,试验还比较了标准应用液的溶剂,使用 10% 甲醇-甲酸水溶液作溶剂时 8 种分析物的峰型对称且尖锐,故选择 10% 甲醇水(含 0.05% 甲酸)作为标准

应用液的溶剂。

2.2 衍生反应的影响

动物体内的硝基咪唑代谢物残留以结合态存在,提取前需经水解使结合态代谢物游离出来,然后与 2-NBA 进行衍生反应,使之形成一个具有较好质谱特性的化合物。试验考察了水解衍生对药物回收率的影响,水解衍生使硝基咪唑代谢物生成了脞类化合物,在质谱上有较好的响应,且回收率较好,同时,甲硝唑及氯霉素类药物的回收率稳定,衍生反应不影响甲硝唑与氯霉素类的测定。

2.3 流动相条件的优化

考察不同流动相对 8 种抗生素药物回收率的影响。比较了甲醇-水和乙腈-水流动相。结果表明,甲醇-水对抗生素药物色谱峰分离信号响应优于乙腈-水。同时,水相采用乙酸铵缓冲液,考察不同浓度的乙酸铵对 8 种抗生素的保留时间、分离度、色谱峰形、灵敏度、检出限等的影响。结果表明,5 mmol/L 的乙酸铵为流动相时效果最佳。试验发现在水相中加入少量的甲酸能够提高硝基咪唑代谢物衍生物及甲硝唑的离子化效率,增加灵敏度,这与先前报道的一致^[20]。但是甲酸的加入会影响负离子离子化效率,本试验优化了甲酸的浓度,比较了不同

浓度的甲酸对8种物质峰面积的影响,发现0.05%甲酸并没有对氯霉素类产生明显影响,故本试验采用甲醇-5 mmol/L 乙酸铵(含0.05%甲酸)为流动相。

2.4 线性范围、相关系数与检出限

称取阴性样品各1.0 g,分别加入标准应用液系列各1.0 ml,制成浓度为0.05、0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、50.0 μg/L的标准系列,然后按照1.2.2中样品提取步骤操作,用UPLC-MS/MS测定。采用内标法进行定量,以浓度(μg/L)为横坐标(x),代谢物峰面积与内标物峰面积比值为纵坐标(y)绘制标准工作曲线;甲砒霉素与氟甲砒霉素采用氯霉素的内标物进行校正。试验结果表明,4种硝基咪唑代谢物、甲硝唑、氯霉素、氟甲砒霉素浓度在0.05~50.0 μg/L范围内与其峰面积比值呈良好的线性关系,甲砒霉素浓度在0.1~50.0 μg/L范围内与峰面积呈良好的线性关系,相关系数 r^2 均达到了0.995以上。根据3倍信噪比($S/N \geq 3$)的方法确定方法检出限(LOD)、线性方程、相关系数见表3。图1是基质匹配标准与同位素内标的谱图,采用分段扫描方式,实现了8种待测物5.0 min内完全基线分离,待测物与同位素内标同时出峰,且待测物出峰处没有发现干扰峰,基质匹配标准曲线避免了基质效

应。图1(a)为加入了同位素内标的阴性样品图谱,图1(b)为基质匹配标准与同位素内标图谱(添加标准浓度为5.0 μg/L)。

表3 8种待测物的线性方程、相关系数及检出限

Table 3 Linear relation, correlation coefficient and LOD for eight analytes

分析物	线性方程	相关系数 r^2	检出限/(μg/kg)
AMOZ	$y = 0.271x + 0.00591$	0.998	0.05
SCA	$y = 0.271x + 0.0295$	0.998	0.1
AHD	$y = 0.456x + 0.0713$	0.999	0.1
AOZ	$y = 0.138x - 0.00233$	0.998	0.05
CAP	$y = 0.1558x + 0.00813$	0.997	0.05
TAP	$y = 0.0307x + 0.00574$	0.997	0.1
FF	$y = 0.2278x + 0.0171$	0.995	0.05
MNZ	$y = 0.172x + 0.002088$	0.999	0.05

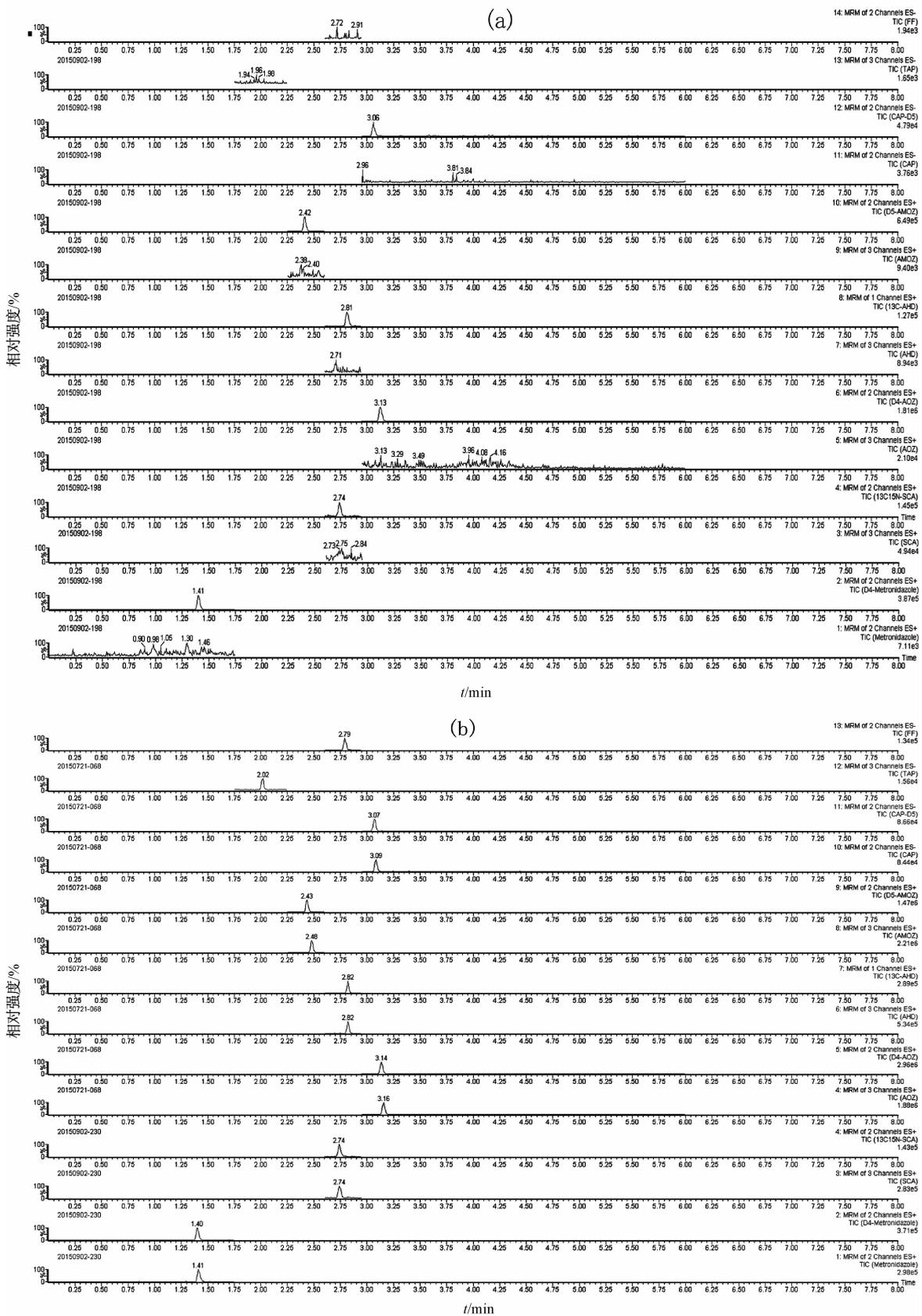
2.5 回收率及精密度

准确称取3份动物肌肉阴性样品进行添加回收率和精密度试验,添加混合标准溶液适量,相当于0.5、2.0、5.0 ng的浓度水平,每个浓度水平做3个平行试验,结果见表4。从表4中回收率及精密度数据可以看出,本方法平均回收率为56.8%~108.2%,3次平行试验测定结果的RSD在0.19%~15.4%之间。由此可见该方法的回收率、精密度以及准确度良好,适用于动物源性食品中硝基咪唑代谢物的测定。

表4 不同样品中8种抗生素的加标回收率及精密度($n=3, \%$)

Table 4 Recoveries and the relative standard deviation of eight analytes in the actual samples

食品名称	分析物	添加量(检出限)*		添加量0.5 ng		添加量2.0 ng		添加量5.0 ng	
		回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD
鸡肉	AMOZ	89.0	5.61	98.7	3.71	105.3	1.41	101.9	1.07
	SCA	56.8	9.54	99.7	6.42	90.2	0.96	92.6	3.09
	AHD	61.3	8.96	66.8	7.78	84.0	7.02	96.9	5.08
	AOZ	87.9	4.56	100.9	1.46	104.2	0.19	99.8	1.66
	CAP	92.5	5.92	100.8	3.67	106.4	0.82	101.6	0.51
	TAP	59.3	9.89	92.9	15.4	91.7	5.37	93.2	5.99
	FF	67.0	10.2	99.2	5.30	108.2	0.53	100.7	0.61
	MNZ	98.6	4.58	98.0	4.12	75.0	1.67	79.8	1.54
鱼肉	AMOZ	78.6	6.38	95.6	2.72	101.2	2.68	96.9	4.27
	SCA	61.2	10.5	92.5	11.6	87.5	11.0	86.8	2.26
	AHD	67.3	9.87	77.0	5.36	84.6	6.86	94.0	5.11
	AOZ	87.4	4.78	100.5	2.01	104.3	4.32	103.0	1.35
	CAP	78.9	6.66	102.1	4.62	103.2	3.84	101.2	3.15
	TAP	69.4	8.79	103.6	5.20	103.3	5.71	81.6	6.07
	FF	68.5	9.78	95.8	11.5	105.5	1.59	97.7	7.97
	MNZ	89.6	3.45	90.0	4.1	85.0	1.12	79.8	1.23
猪肉	AMOZ	78.3	5.98	101.6	1.02	102.7	2.25	100.8	0.91
	SCA	77.4	6.12	96.7	7.59	95.5	7.62	84.9	5.26
	AHD	71.9	9.17	88.1	8.29	96.6	4.94	98.1	1.16
	AOZ	81.2	4.69	99.6	3.88	105.2	1.21	101.4	0.92
	CAP	79.6	6.89	100.5	1.40	102.8	1.50	99.9	1.57
	TAP	60.9	9.89	90.6	5.20	103.9	4.50	99.7	1.56
	FF	60.7	9.69	84.2	4.90	97.1	6.41	99.1	7.96
	MNZ	86.1	1.56	72.0	4.20	84.0	3.40	75.6	0.89



注: a 为阴性样品图谱; b 为基质匹配图谱(添加 5.0 μg/L)

图 1 基质匹配标准及内标图谱

Figure 1 Matrix matching and internal standard spectra

续表4

食品名称	分析物	添加量(检出限)*		添加量0.5 ng		添加量2.0 ng		添加量5.0 ng	
		回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD
牛肉	AMAZ	94.1	4.56	102.4	0.85	103.8	2.70	102.9	3.38
	SCA	61.2	9.45	91.1	7.08	84.9	3.25	84.0	1.31
	AHD	59.6	9.78	67.4	3.50	87.3	13.9	100.4	1.57
	AOZ	63.9	11.5	98.7	4.98	104.4	2.26	102.8	1.53
	CAP	59.6	10.8	92.0	8.48	95.9	12.2	101.6	1.08
	TAP	58.7	7.89	106.8	4.10	96.3	9.58	71.9	9.22
	FF	67.2	11.6	87.6	6.56	100.6	5.65	84.8	11.7
	MNZ	89.2	3.56	100.0	0.97	89.0	3.56	86.9	4.50
牛肝	AMAZ	78.2	6.69	95.7	1.15	105.9	2.86	100.7	0.74
	SCA	56.8	10.2	91.7	10.3	97.2	10.7	87.7	3.37
	AHD	63.5	5.89	87.0	3.6	90.0	3.26	97.7	4.21
	AOZ	76.3	6.92	100.3	3.86	104.0	0.87	101.0	1.11
	CAP	65.3	8.12	99.9	8.21	106.7	2.20	101.4	2.22
	TAP	64.9	9.56	96.1	2.39	74.9	9.91	96.7	7.12
	FF	75.3	6.56	95.4	12.0	89.3	5.14	102.2	8.17
	MNZ	86.9	4.12	96.0	2.30	78.8	3.79	72.6	4.31
猪肝	AMAZ	74.2	3.45	96.4	6.03	101.4	2.51	99.2	3.74
	SCA	62.8	4.89	95.9	2.61	98.7	8.14	93.4	5.57
	AHD	66.9	9.45	60.4	6.61	83.3	7.57	85.9	1.51
	AOZ	74.2	8.96	98.3	2.59	105.2	0.86	98.6	1.14
	CAP	72.3	11.3	99.7	2.34	103.9	1.19	101.2	1.26
	TAP	65.8	13.2	81.1	9.12	64.9	5.32	65.6	4.55
	FF	62.7	7.56	94.7	3.91	83.1	2.33	105.8	9.83
	MNZ	85.2	1.89	78.0	4.23	76.6	1.98	77.7	4.34

注: * 添加量(检出限):AMAZ、AOZ、CAP、FF、MNZ 添加量为 0.05 ng;SCA、AHD、TAP 添加量为 0.1 ng

3 小结

本文建立了超高压液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)测定动物源性食品中4种硝基咪唑代谢物、甲硝唑与3种氯霉素类药物残留的检测方法。样品中的硝基咪唑代谢物在酸性条件下水解后,加入邻硝基苯甲醛进行衍生,衍生物、甲硝唑与氯霉素类药物用乙酸乙酯提取,40℃下用N₂吹干,残留物用10%的甲醇水溶液定容后上机测定。该方法的优点是省去了样品净化步骤,降低了试验成本,同时待测物内标的使用补偿了前处理过程对最后定量结果的影响,结果准确可靠、适用范围广。该方法可以满足动物源性食品如猪肉、猪肝、鸡肉、鱼肉、牛肉及牛肝中硝基咪唑类代谢物、甲硝唑与氯霉素类残留的快速准确测定。

参考文献

- [1] 李晓东,赵颖,刘瑜,等.超高效液相色谱串联质谱法同时分析饲料中29种兽药[J].现代仪器,2012,18(5):78-81.
- [2] 戴华,王美玲,李拥军,等.饲料中氯霉素、甲砒霉素和氟甲砒霉素含量的HPLC测定方法[J].光谱实验室,2006,23(6):1208-1212.
- [3] Chumanee S, Sutthivaiyakit S, Sutthivaiyakit P. New reagent for trace determination of protein-bound metabolites of nitrofurans in shrimp using liquid chromatography with diode array detector [J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(5): 1752-1759.
- [4] 胡海燕,徐倩,孙雷.鸡肉组织中硝基咪唑类药物及代谢物多残留检测高效液相色谱法研究[J].中国兽药杂志,2008,42(8):9-12.
- [5] Barbosa J, Freitas A, Mourão J L, et al. Determination of furaltadone and nifursol residues in poultry eggs by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(17): 4227-4234.
- [6] 杨奕,邵兵.超高压液相色谱-串联质谱法测定虾中硝基咪唑代谢物[J].食品安全质量检测学报,2013,4(1):135-140.
- [7] 王荣艳,贾丽,贾东芬,等.UPLC-MS/MS法快速测定水产品中硝基咪唑类代谢物残留[J].分析实验室,2010,29(5):368-370.
- [8] 陈小霞,岳振峰,吉彩霓,等.高效液相色谱-电喷雾电离三级四极杆质谱测定鸡肉中氯霉素、甲砒霉素和氟甲砒霉素的残留量[J].色谱,2005,23(1):92-95.
- [9] 彭涛,李淑娟,储晓刚,等.高效液相色谱/串联质谱法同时测定虾中氯霉素、甲砒霉素和氟甲砒霉素残留量[J].分析化学,2005,33(4):463-466.
- [10] 王志杰,冷凯良,孙伟红,等.水产品中氯霉素、甲砒霉素和氟甲砒霉素残留量高效液相色谱-串联质谱内标测定方法的研究[J].渔业科学进展,2009,309(2):115-119.
- [11] 潘晓东,吴平谷,姜维.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定鱼肉中氯霉素、甲砒霉素和氟甲砒霉素[J].中国食品卫生杂志,2014,26(6):572-574.
- [12] 权伍英,栾燕,谷晶,等.鸡蛋中甲硝唑残留的液相色谱-串联质谱检测方法研究[J].中国卫生检验杂志,2007,17(2):231-232.
- [13] 刘永明,曹彦忠,李金,等.液相色谱-串联质谱法快速测定蜂蜜中3种硝基咪唑类药物残留[J].色谱,2010,28(6):

596-600.

- [14] 王浩, 杨红梅, 郭启雷, 等. 液相色谱-串联质谱法快速同时测定婴幼儿配方乳粉中氯霉素、三聚氰胺、甲硝唑和洛硝达唑[J]. 分析化学, 2013, 41(2): 283-287.
- [15] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21311—2007 动物源性食品中硝基呋喃类药物代谢物残留量检测方法 高效液相色谱-串联质谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [16] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 22338—2008 动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [17] 中华人民共和国农业部. 动物性食品中甲硝唑、地美硝唑及其代谢物残留检测 液相色谱-串联质谱法(农业部 1025 号公告-2—2008)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [18] 刘正才, 杨方, 余孔捷, 等. 兽药粉剂中氯霉素类和硝基呋喃类药物的液相色谱-串联质谱分析方法的研究[J]. 中国兽药杂志, 2011, 45(9): 40-43.
- [19] 张立坚, 张俊杰, 张良滔, 等. 液相色谱-质谱法检测渔业养殖水中硝基呋喃及氯霉素药物[J]. 质谱学报, 2011, 32(4): 207-210.
- [20] 赵善仓, 李增梅, 刘宾, 等. 超高效液相色谱串联质谱法测定畜产品中硝基呋喃类抗生素代谢物残留的研究[J]. 中国兽药杂志, 2008, 42(7): 17-21.

实验技术与方法

QuEChERS 净化-超高效液相色谱-串联质谱法 测定婴幼儿谷类辅助食品中 12 种真菌毒素

苏碧玲, 谢维平, 欧阳燕玲, 陈林刚

(泉州市疾病预防控制中心, 福建 泉州 362000)

摘要:目的 建立 QuEChERS 净化-超高效液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿谷类辅助食品中 12 种真菌毒素的方法。方法 样品用乙腈-水-乙酸(84:15:1, V/V)提取, 提取液经 QuEChERS 方法净化, 采用 Synergi 4 μ Fusion-RP C₁₈ 色谱柱(50 mm \times 2.0 mm, 4 μ m)进行分离, 用超高效液相色谱-串联质谱仪进行检测, 基质外标法定量。结果 12 种真菌毒素在各自的线性范围内线性关系良好, 相关系数(r)均不低于 0.999, 回收率在 80.5%~106.4%之间, 相对标准偏差在 5.3%~9.5%之间。结论 该方法快速简便, 可用于婴幼儿谷类辅助食品中真菌毒素多残留成分的检测。

关键词: QuEChERS; 超高效液相色谱-串联质谱法; 真菌毒素; 婴幼儿谷类辅助食品; 食品污染物; 检测

中图分类号: R155 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2016)04-0467-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2016.04.012

Determination of twelve mycotoxins in cereal-based complementary foods for infants and young children by ultra high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry using QuEChERS approach

SU Bi-ling, XIE Wei-ping, OUYANG Yan-ling, CHEN Lin-gang

(Quanzhou Center for Disease Control and Prevention, Fujian Quanzhou 362000, China)

Abstract: Objective A method was developed for the determination of twelve mycotoxins in cereal-based complementary foods for infants and young children by ultra high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry using QuEChERS approach. **Methods** Sample was extracted with acetonitrile-water-acetic acid (84:15:1, V/V). The extracted solution was purified by QuEChERS approach and separated by using Synergi 4 μ Fusion-RP C₁₈ (50 mm \times 2.0 mm, 4 μ m) chromatographic column, then was determined by ultra high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry. Matrix-matched calibration was used for the quantification. **Results** Twelve mycotoxins had good linear relationships in the certain correlation ranges with the correlation coefficients all above 0.999. The average recoveries of 12 mycotoxins at three spiked levels ranged from 80.5% to 106.4% with relative standard deviations of 5.3%-9.5%. **Conclusion** The method is rapid, simple and can be used for the determination of