

动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的分析方法

付尧

应用及技术服务部

天津博纳艾杰尔科技有限公司, 天津开发区西区南大街179号, 300462

概述

本实验重现了GB 31658.17-2021食品安全国家标准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, 使用Cleanert PEP-2固相萃取结合液相色谱串联质谱的检测方法对牛肉、猪肝和鸡肉等样品进行了测试。样品经缓冲液提取后, Cleanert PEP-2固相萃取柱净化, Kinetex PS C18液相色谱柱进行检测, 采用外标法定量。结果表明, 添加水平的相对回收率在60% ~ 110%之间, 能够满足检测要求。

关键词

GB 31658.17-2021; Cleanert PEP-2; LC-MS/MS; Kinetex PS C18

化合物信息

中文名称	英文名称	CAS号	分子式	分子量
四环素	tetracycline	60-54-8	$C_{22}H_{24}N_2O_6$	444.45
金霉素	chlortetracycline	57-62-5	$C_{22}H_{23}ClN_2O_6$	478.88
土霉素	oxytetracycline	79-57-2	$C_{22}H_{24}N_2O_6$	460.43
多西环素	doxycycline	564-25-0	$C_{22}H_{24}N_2O_6$	444.43
乙酰磺胺	sulfacetamide	144-80-9	$C_8H_{10}N_2O_3S$	214.24
磺胺吡啶	sulfapyridine	144-83-2	$C_{11}H_{11}N_3O_2S$	249.29
磺胺嘧啶	sulfadiazine	68-35-9	$C_{10}H_{10}N_4O_2S$	250.28
磺胺甲恶唑	sulfamethoxazole	723-46-6	$C_{10}H_{11}N_3O_3S$	253.28
磺胺噻唑	sulfathiazole	72-14-0	$C_9H_9N_3O_2S_2$	255.32
磺胺甲噻唑	sulfamerazine	127-79-7	$C_{11}H_{12}N_4O_2S$	264.30
磺胺二甲异噻唑	sulfisoxazole	127-69-5	$C_{11}H_{13}N_3O_3S$	267.30
磺胺甲噻二唑	sulfamethizole	144-82-1	$C_9H_{10}N_4O_2S_2$	270.33

苯甲酰磺胺	sulfabenzamide	127-71-9	$C_{13}H_{12}N_2O_3S$	276.31
磺胺二甲异嘧啶	sulfisomidine	515-64-0	$C_{12}H_{14}N_4O_3S$	278.33
磺胺二甲嘧啶	sulfamethazine	57-68-1	$C_{12}H_{14}N_4O_3S$	278.33
磺胺间甲氧嘧啶	sulfamonomethoxine	1220-83-3	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	280.30
磺胺甲氧哒嗪	sulfamethoxyimidazine	80-35-3	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	280.30
磺胺对甲氧嘧啶	sulfameter	651-06-9	$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	280.3
磺胺氯哒嗪	sulfachloropyridazine	80-32-0	$C_{10}H_8ClN_4O_3S$	284.72
磺胺邻二甲氧嘧啶	sulfadoxine	2447-57-6	$C_{12}H_{14}N_4O_4S$	310.33
磺胺间二甲氧嘧啶	sulfadimethoxine	122-11-2	$C_{12}H_{14}N_4O_4S$	310.33
磺胺苯吡唑	sulfaphenazole	526-08-9	$C_{15}H_{14}N_4O_3S$	314.36
酞磺胺噻唑	phthalylsulfathiazole	85-73-4	$C_{17}H_{13}N_3O_5S_2$	403.43
恶喹酸	oxolinic acid	14698-29-4	$C_{13}H_{11}NO_5$	261.23
氟甲喹	flumequine	42835-25-6	$C_{14}H_{12}FN_3O_3$	261.25
诺氟沙星	norfloxacin	70458-96-7	$C_{16}H_{18}FN_3O_3$	319.33
依诺沙星	enoxacin	74011-58-8	$C_{15}H_{17}FN_4O_3$	320.32
环丙沙星	ciprofloxacin	85721-33-1	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$	331.34
培氟沙星	pefloxacin	70458-92-3	$C_{17}H_{16}FN_3O_3$	333.36
洛美沙星	lomefloxacin	98079-51-7	$C_{17}H_{19}F_2N_3O_3$	351.35
达氟沙星	danofloxacin	112398-08-0	$C_{19}H_{20}FN_3O_3$	357.38
恩诺沙星	enrofloxacin	93106-60-6	$C_{19}H_{22}FN_3O_3$	359.4
氧氟沙星	ofloxacin	82419-36-1	$C_{18}H_{20}FN_3O_4$	361.36
麻保沙星	marbofloxacin	115550-35-1	$C_{17}H_{19}FN_4O_4$	362.36
沙拉沙星	sarafloxacin	98105-99-8	$C_{20}H_{17}F_2N_3O_3$	385.36
二氟沙星	difloxacin	98106-17-3	$C_{21}H_{19}F_2N_3O_3$	399.39

实验部分

3.1 仪器、试剂与材料

3.1.1 主要仪器设备

液相色谱串联质谱仪 (AB SCIEX API 5500+) ,
配有电喷雾离子源 (ESI) ;

3.1.2 试剂材料

甲醇、乙腈、水、乙酸乙酯为色谱纯; 浓氨水、甲酸为分析纯;

Cleanert PEP-2 (CAT: PE2006-2) ;

微孔滤膜 (NY) : 13 mm×0.22 μm;

3.1.3 样品基质

实验采用的基质为牛肉、猪肝和鸡肉, 牛肉、猪肝和鸡肉均质后于-18 °C条件下保存;

3.1.4 溶液配制

0.05 mol/L磷酸二氢钠溶液: 取磷酸二氢钠·二水 7.8 g, 用水溶解并稀释至1000 mL。

0.05 mol/L磷酸氢二钠溶液: 取磷酸氢二钠·十二水 17.9 g, 用水溶解并稀释至1000 mL。

磷酸盐缓冲液: 取0.05 mol/L磷酸二氢钠溶液 190 mL, 用0.05 mol/L磷酸氢二钠溶液稀释至1000 mL。

1 mol/L氢氧化钠溶液: 取氢氧化钠 4 g, 用水溶解并稀释至100 mL。

Mcllvaine-Na2EDTA缓冲液: 取柠檬酸·一水 12.9 g、磷酸氢二钠·十二水 10.9 g、乙二胺四乙酸二钠·二水 39.2 g, 加水 900 mL, 用1 mol/L的氢氧化钠溶液调 pH值至5.0±0.2, 用水稀释至1000 mL。

洗脱液: 取甲醇 150 mL, 加乙酸乙酯 150 mL、浓氨水 6 mL, 混匀。

复溶液: 取水 40 mL, 加甲醇 5 mL、乙腈 5 mL、甲酸 0.05 mL, 混匀。

20%甲醇水溶液: 取甲醇 200 mL, 用水稀释至 1000 mL。

四环素类混合标准溶液 (100 mg/L) : 外购。混合标准溶液避光0~4°C保存, 有效期1年。

磺胺类混合标准溶液 (100 mg/L) : 外购。混合标准溶液避光0~4°C保存, 有效期1年。

喹诺酮混合标准溶液 (100 mg/L) : 外购。混合标准溶液避光0~4°C保存, 有效期1年。

混合标准溶液 (10 mg/L) : 准确吸取3类混标各100μL, 用甲醇稀释成1 mL。

混合标准溶液 (1 mg/L) : 准确吸取混合标准溶液 (10 mg/L) 100 μL, 用甲醇稀释成1 mL。

基质标准工作曲线: 单点定量。准确量取混合标准工作液 (10 mg/L) 20 μL, 加入经提取和净化的空白试样残渣中, 45 °C水浴氮气吹干, 加入复溶液 1.0 mL涡旋溶解残余物, 配制成浓度为200 μg/L的基质匹配系列混合标准溶液, 微孔滤膜过滤, 液相色谱-串联质谱仪测定。

3.1.5 分析步骤

样品提取

称取试料1 g (准确至±0.01 g), 加入100 μL混合标准溶液 (1 mg/L), 加入Mcllvaine-Na2EDTA缓冲液 8 mL, 涡旋1 min, 超声20 min, 冰浴5 min、10 000 r/min离心5 min, 收集上清液。残渣中加磷酸盐缓冲液 8 mL, 重复提取一次, 合并两次提取液, 混匀, 得备用液。

样品净化

Cleanert PEP-2固相萃取柱 (CAT: PE2006-2) 依次用甲醇 5 mL和水 5 mL活化, 取备用液过柱, 依次用水 5 mL和20%甲醇水溶液 5 mL淋洗, 抽干, 用洗脱液 10 mL洗脱。收集洗脱液, 45 °C水浴氮气吹干。加入复溶液 1.0 mL, 涡旋1 min溶解残余物, 12000 r/min离心5 min, 微孔滤膜过滤, 液相色谱-串联质谱测定。

3.2 仪器检测条件

3.2.1 色谱条件

色谱柱: Kinetex PS C18 (2.6 μm, 100 Å, 2.1 × 30 mm) P/N: 00A-4780-AN

流动相: A: 0.1%甲酸水溶液; B: 甲醇:乙腈 (2:8, 含0.1%甲酸, v/v) 溶液

流速: 0.3 mL/min;

柱温: 35 °C;

进样量: 10 μL

梯度:

时间 (min)	流速 (mL/min)	A (%)	B (%)
0.0	0.3	95	5
2.0	0.3	95	5
5.0	0.3	85	15
8.0	0.3	60	40
9.0	0.3	5	95
9.1	0.3	95	5
10.0	0.3	95	5

3.2.2质谱条件

离子源类型：电喷雾离子源

扫描方式：正离子扫描

电喷雾电压：正源4500 V

离子源温度：450 °C

雾化气：50

辅助加热气：50

气帘气：20

多反应监测：每种兽药的保留时间、定量离子对、定性离子对和离子对质谱参数，参见表1：

表1. 36种兽残质谱参数

物质名称	Q1	Q3	DP/V	CE/V
四环素	445.1	410.2*	118	27
	445.1	427.2	118	20
金霉素	479.1	444.2*	124	29
	479.1	462.2	124	25
土霉素	461.1	426.2*	118	28
	461.1	443.2	118	19
多西环素	445.1	428.2*	122	27
	445.1	410.2	122	24
乙酰磺胺	215	156*	103	17
	215	108	103	30
磺胺吡啶	250	156*	116	25
	250	108	116	36
磺胺嘧啶	251	156*	107	22
	251	92	107	38
磺胺甲恶唑	254	92*	104	38
	254	156	104	22
磺胺噻唑	256	156*	101	21
	256	92	101	36
磺胺甲噁唑	265	156*	115	24
	265	92	115	40
磺胺二甲异噁唑	268	156*	112	21
	268	92	112	37
磺胺甲噻二唑	271	92	98	38
	271	156*	98	21
苯甲酰磺胺	277	156*	107	20
	277	108	107	33
磺胺二甲异噁唑	279	124*	128	33
	279	186	128	24

磺胺二甲噻唑	279	186*	124	23
	279	92	124	45
磺胺间甲氧噻唑	281	156*	124	24
	281	92	124	39
磺胺甲氧哒嗪	281	156*	121	24
	281	92	121	38
磺胺对甲氧噻唑	281	156*	122	26
	281	92	122	41
磺胺氯哒嗪	285	156*	99	21
	285	92	99	36
磺胺邻二甲氧噻唑	311	156*	135	28
	311	92	135	43
磺胺间二甲氧噻唑	311	156*	125	28
	311	92	125	46
磺胺苯吡唑	315	158*	122	42
	315	92	122	55
酞磺胺噻唑	404	256*	157	21
	404	149	157	44
恶喹酸	262	244*	135	28
	262	216	135	40
氟甲喹	262	202	133	46
	262	244*	133	26
诺氟沙星	320.1	302*	159	28
	320.1	233	159	34
依诺沙星	321.1	303*	121	30
	321.1	234	121	32
环丙沙星	332.1	231.1	31	38
	332.1	314.1*	31	22
培氟沙星	334.1	316.1*	140	30
	334.1	290.1	140	26
洛美沙星	352.1	265.1*	151	34
	352.1	308.1	151	24
达氟沙星	358.2	340.2*	160	35
	358.2	96	160	32
恩诺沙星	360.2	316.1*	149	27
	360.2	245	149	39
氧氟沙星	362.1	318.1*	153	28
	362.1	261.1	153	38
麻保沙星	363.1	320*	135	23
	363.1	72	135	28
沙拉沙星	386.2	299.1*	151	37
	386.2	342.1	151	28
二氟沙星	400.2	356.1*	153	30
	400.2	299	153	40

注：“*”为定量离子。

3.3实验谱图

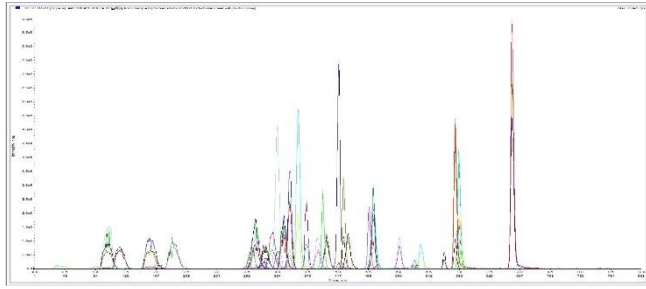


图1. 0.20 mg/kg鸡肉基质加标LC-MS/MS色谱图

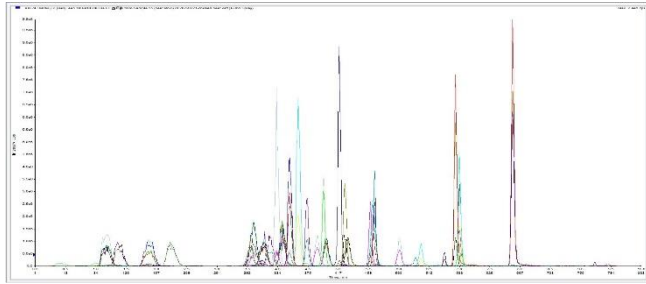


图2. 0.20 mg/kg牛肉基质加标LC-MS/MS色谱图

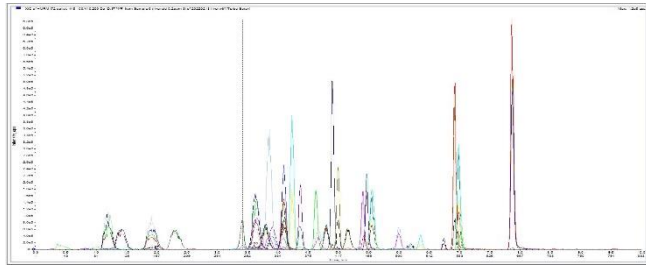


图3. 0.20 mg/kg猪肝基质加标LC-MS/MS色谱图

3.4实验结果

由表2~4可知，采用Cleanert PEP-2固相萃取结合液相色谱串联质谱的方法检测鸡肉、牛肉和猪肝中36种兽残，加标回收率在60% ~ 110%之间，能够满足检测要求。由图可知，用Kinetex PS C18色谱柱检测多兽残，峰形良好，且保留时间稳定。

表2. 猪肝中36种兽残加标回收实验结果 (添加水平0.1 mg/kg)

化合物	回收率%	RSD%	化合物	回收率%	RSD%
四环素	77.13	1.43	乙酰磺胺	107.00	2.47
金霉素	68.53	0.75	磺胺吡啶	100.63	2.09
土霉素	79.67	1.76	磺胺嘧啶	76.53	3.60
多西环素	69.10	1.29	磺胺甲恶唑	87.53	3.15
磺胺噻唑	81.27	3.32	酞磺胺噻唑	76.03	2.17
磺胺甲噁唑	102.00	1.96	恶喹酸	89.43	3.91
磺胺二甲异噁唑	85.63	0.75	氟甲喹	78.60	8.13

磺胺甲噻二唑	89.47	0.74	诺氟沙星	79.03	5.57
苯甲酰磺胺	73.90	0.62	依诺沙星	75.77	2.40
磺胺二甲异噁唑	102.00	0.98	环丙沙星	76.87	0.87
磺胺二甲噻唑	100.67	4.72	培氟沙星	100.57	1.68
磺胺间甲氧嘧啶	94.30	4.89	洛美沙星	90.83	2.53
磺胺甲氧哒嗪	93.50	0.98	达氟沙星	70.27	2.75
磺胺对甲氧嘧啶	91.33	2.89	恩诺沙星	81.07	0.40
磺胺氯哒嗪	86.90	3.13	氧氟沙星	87.60	1.01
磺胺邻二甲氧嘧啶	86.27	1.92	麻保沙星	94.50	1.30
磺胺间二甲氧嘧啶	96.57	2.58	沙拉沙星	79.77	2.31
磺胺苯吡唑	80.87	0.89	二氟沙星	92.50	1.62

表3. 牛肉中36种兽残加标回收实验结果 (添加水平0.1 mg/kg)

化合物	回收率%	RS D%	化合物	回收率%	RSD%
四环素	64.23	1.09	磺胺二甲噻唑	93.17	1.61
金霉素	65.53	3.30	磺胺间甲氧嘧啶	97.47	3.37
土霉素	66.03	1.46	磺胺甲氧哒嗪	91.67	2.35
多西环素	62.07	1.07	磺胺对甲氧嘧啶	103.00	2.91
乙酰磺胺	102.77	2.96	磺胺氯哒嗪	81.70	1.83
磺胺吡啶	87.80	1.48	磺胺邻二甲氧嘧啶	82.57	7.27
磺胺嘧啶	101.00	0.00	磺胺间二甲氧嘧啶	108.67	1.41
磺胺甲恶唑	87.60	0.98	磺胺苯吡唑	64.73	2.59
磺胺噻唑	63.17	0.75	酞磺胺噻唑	77.07	4.66
磺胺甲噁唑	94.27	5.03	恶喹酸	90.57	3.66
磺胺二甲异噁唑	80.00	3.05	氟甲喹	97.50	4.95
磺胺甲噻二唑	88.33	1.73	诺氟沙星	83.67	5.92
苯甲酰磺胺	103.67	3.39	依诺沙星	88.30	2.38
磺胺二甲异噁唑	97.50	2.86	环丙沙星	79.80	2.39
培氟沙星	109.67	0.53	氧氟沙星	104.33	3.87
洛美沙星	93.23	2.31	麻保沙星	90.97	4.78
达氟沙星	86.27	6.33	沙拉沙星	74.70	6.91
恩诺沙星	86.93	2.53	二氟沙星	92.00	2.18

表4. 鸡肉中36种兽残加标回收实验结果 (添加水平0.1 mg/kg)

化合物	回收率%	RSD%	化合物	回收率%	RSD%
四环素	84.10	2.22	磺胺氯哒嗪	96.40	1.14
金霉素	62.93	1.70	磺胺邻二甲氧嘧啶	87.90	3.10
土霉素	91.90	6.31	磺胺间二甲氧嘧啶	102.00	1.96
多西环素	85.60	2.53	磺胺苯吡唑	82.83	3.13
乙酰磺胺	89.43	3.07	酞磺胺噻唑	77.93	3.02
磺胺吡啶	103.33	2.01	恶喹酸	91.77	4.41
磺胺嘧啶	102.67	1.49	氟甲喹	92.57	6.52
磺胺甲恶唑	88.37	2.62	诺氟沙星	96.10	3.72
磺胺噻唑	96.17	3.09	依诺沙星	104.67	4.52
磺胺甲噁唑	103.17	8.11	环丙沙星	85.23	2.05
磺胺二甲异噁唑	86.47	3.79	培氟沙星	109.33	0.53
磺胺甲噻二唑	89.23	3.84	洛美沙星	93.90	4.64
苯甲酰磺胺	84.53	3.42	达氟沙星	91.30	4.51
磺胺二甲异噻唑	99.80	4.70	恩诺沙星	87.80	2.51
磺胺二甲噻唑	100.00	2.82	氧氟沙星	91.93	3.36
磺胺间甲氧嘧啶	103.00	2.91	麻保沙星	98.57	4.42
磺胺甲氧哒嗪	99.03	0.99	沙拉沙星	82.10	3.04
磺胺对甲氧嘧啶	97.63	3.21	二氟沙星	90.57	1.96

结论

本实验重现了GB 31658.17-2021 食品安全国家标准 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，使用Cleanert PEP-2固相萃取结合液相色谱串联质谱的检测方法对鸡肉、牛肉及猪肝等样品进行了测试。实验表明，动物性食品中四环素类 磺胺类和喹诺酮类药物的添加回收率均在60% ~ 110%之间，RSD值均小于10%，平行性良好，能够满足实验要求。说明Cleanert PEP-2 固相萃取柱可用于GB 31658.17-2021 食品安全国家标准 动物性食品中四环素类 磺胺类和喹诺酮类药物残留量的检测。



Xccelerator 加速服务

探索分离, 使命加速

Mission to Accelerate Separation

在新药、仿制药研发和科学研究过程中, 抢占先机越来越多被大家提及, 同时在食品、环境、临床等行业的客户也都面临着项目周期压缩的压力。基于此, 我们成立了上海和天津两个方法开发服务中心, 为客户加快项目进度提供支持。

Xccelerator 以客户为中心, 以色谱技术为中心, 为药物研发和科学研究提供全方位加速服务。

三大研发中心

中国天津

地址: 天津市开发区西区南大街179号

电话: 400-606-8099

邮箱: cninfo@phenomenex.com

中国上海

地址: 上海市长宁区福泉北路518号1号楼1层

电话: 400-606-8099

邮箱: cninfo@phenomenex.com

美国总部

地址: 411 Madrid Avenue Torrance, CA 90501-1430, USA

Tel: +1 (310) 212-0555

Fax: +1 (310) 328-7768

Email: cninfo@phenomenex.com

仅用于研究目的, 不可用于临床诊断程序。

© 2022 天津博纳艾杰尔科技有限公司保留所有权利。



如果您对于本方法的执行有任何问题, 或想要了解更多信息,
请拨打400-606-8099 联系我们的技术专家, 我们很乐意为您提供帮助!

Confidential — Company Proprietary

