

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定水产品中的三甲氧苄氨嘧啶残留

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用快速测定水产品中三甲氧苄氨嘧啶的方法。水产品经处理后, 用超高效液相色谱 LC-30A 分离, 三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行分析。三甲氧苄氨嘧啶在 0.1-100 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好, 标准曲线的相关系数为 0.9993; 对 1 $\mu\text{g/L}$ 、5 $\mu\text{g/L}$ 和 10 $\mu\text{g/L}$ 三甲氧苄氨嘧啶标准溶液进行精密度实验, 连续 6 次进样保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.31% 和 3.95% 以下, 系统精密度良好。

关键词: 三甲氧苄氨嘧啶 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱

三甲氧苄氨嘧啶 (TMP), 是一种磺胺增效剂。常与多种抗生素合用, 也可产生协同作用, 增强疗效, 可以成倍增加部分抗菌药的疗效。抗菌谱与磺胺药基本类似, 但抗菌作用弱, 且易产生耐药性。和磺胺类、四环素、青霉素、红霉素、庆大霉素、粘菌素等合用可以增强抗菌作用。

目前我国对磺胺类及其增效剂的使用有比较明确的规定。农业部 NY 5034 - 2005 中规定禽肉类产品中磺胺类总量不得超过 100 $\mu\text{g/kg}$; NY5070 - 2002 中规定磺胺类在水产品中总量不得超过 100 $\mu\text{g/kg}$, 增效剂磺胺三

甲氧苄氨嘧啶限量不得超过 50 $\mu\text{g/kg}$ 。日本肯定列表中将动物源性食品的最低限量定为 20 $\mu\text{g/kg}$ 。

《SN/T 2538-2010 进出口动物源性食品中二甲氧苄氨嘧啶, 三甲氧苄氨嘧啶和二甲氧甲基苄氨嘧啶残留量的检测方法液相色谱质谱/质谱法》规定, 三甲氧苄氨嘧啶的检测下限为 5.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用, 建立了一种测定水产品中三甲氧苄氨嘧啶的方法, 供检测人员参考。

1. 实验部分

1.1 仪器配置

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为: LC-30AD \times 2 (输液泵), DGU-20A₅ (在线脱气机), SIL-30AC (自动进样器), CTO-30A (柱温箱), CBM-20A (系统控制器), LCMS-8040 (三重四极杆质谱仪), LabSolutions Ver. 5.53 (色谱工作站)。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统

色 谱 柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS III （2.0 mm I.D.×50 mm L., 1.6 μm）

流 动 相：A—0.1 %甲酸水溶液；B—甲醇

流 速：0.3 mL/min

进样体积：10 μL

Time(min)	Module	Command	Value
0.01	Pumps	Pump B Conc.	20
0.50	Pumps	Pump B Conc.	50
0.60	Pumps	Pump B Conc.	50
0.61	Pumps	Pump B Conc.	20
1.50	Controller	Stop	

柱 温：40℃

洗脱方式：梯度洗脱

梯度条件：见表 1

表 1. 梯度条件

质谱条件

分析仪器：LCMS-8040

离子源：ESI，正离子扫描

离子源接口电压：ESI(+), 4.5kV

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 15 L/min

碰撞气：氩气

脱溶剂管温度：250℃

加热模块温度：400℃

扫描模式：多反应监测（MRM）

驻留时间：100 ms

延迟时间：3 ms

MRM 参数：见表 2

表 2. MRM 参数

编号	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	三甲氧苄氨	291	230.15*	-20.0	-22.0	-25.0
	嘧啶		123.15	-20.0	-23.0	-13.0

*表示定量离子

1.3 样品制备

标准溶液配制：准确称取适量三甲氧苄氨嘧啶标准物质，用乙腈配制 1000 mg/L 的混合标准储备溶液，用流动相稀释成浓度为 0.1、1、2、5、10、20、50、100 μg/L 的标准工

作液。

样品前处理方法：水产品的制备、净化、提取参照《SN/T 2538-2010 进出口动物源性食品中二甲氧苄氨嘧啶,三甲氧苄氨嘧啶和二甲氧甲基苄氨嘧啶残留量的检测方法液相色谱质谱/质谱法》。

2. 结果讨论

2.1 标准样品的一级质谱图和产物离子扫描质谱图

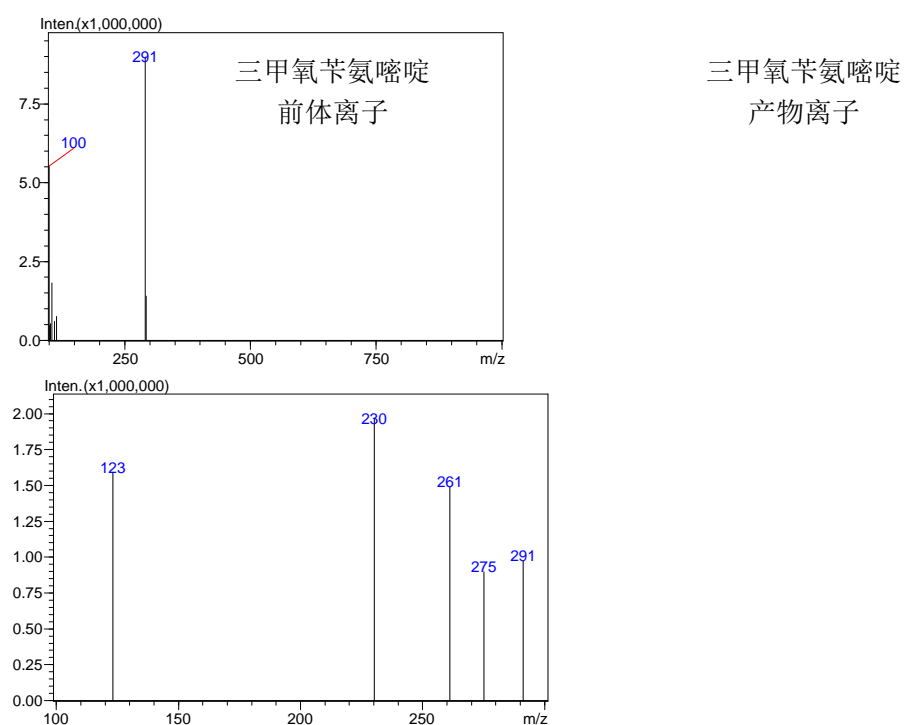


图 1. 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

图 2 为 1.0 $\mu\text{g/L}$ 标准样品的 MRM 色谱,三甲氧苄氨嘧啶在 1.5 min 内得到了快速检测。

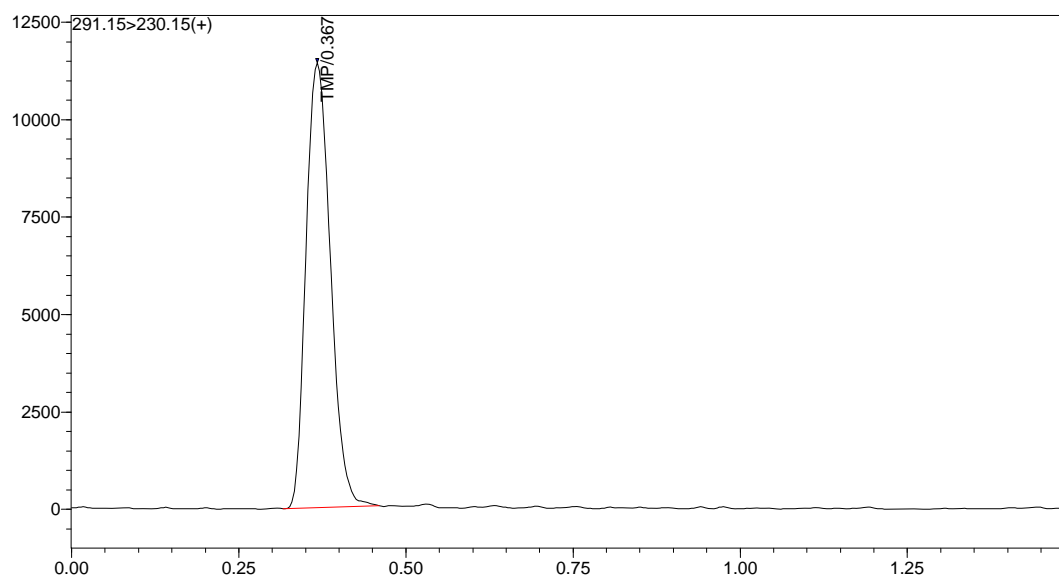


图 2. 三甲氧苄氨嘧啶 1.0 $\mu\text{g/L}$ 标准样品的 MRM 色谱图

2.3 线性关系

将浓度为 0.1、1、2、5、10、20、50、100 µg/L 的混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 3 所示。三甲氧苄氨嘧啶在 0.1 ~ 100 µg/L 浓度范围内线性良好。线性方程、相关系数见表 3。

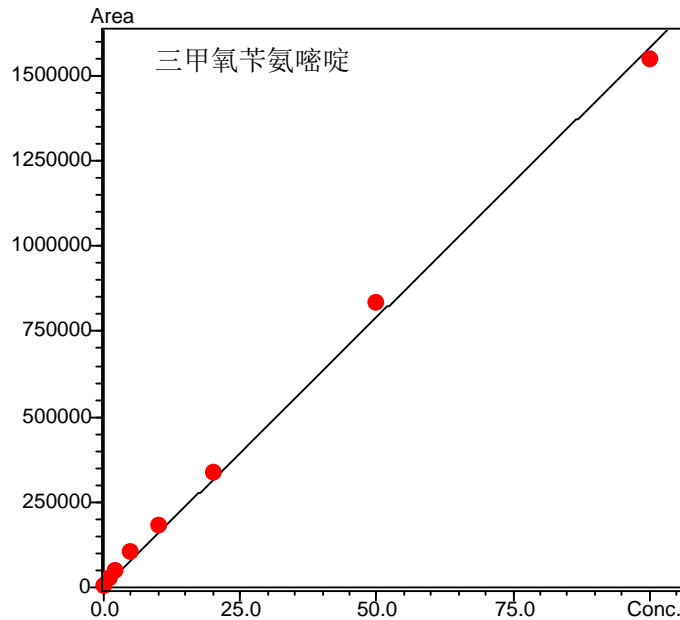


图 3. 三甲氧苄氨嘧啶的标准工作曲线

表 3. 三甲氧苄氨嘧啶的校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	相关系数 r	线性范围
1	三甲氧苄氨嘧啶	Y = 15820.5X	0.9993	0.1-100

2.4 检出限和定量限

配制浓度为 0.1 µg/L 标样，直接进样分析，对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算其标准偏差 S，此时检出限 MDL=3.14×S，定量限 LOQ=4×MDL。测定结果如表 4 所示：

表 4 三甲氧苄氨嘧啶的检出限和定量限

No.	名称	标准偏差(S)	检出限(µg/L)	定量限(µg/L)
1	三甲氧苄氨嘧啶	0.009	0.028	0.1

2.5 精密度实验

对 1 µg/L、2 µg/L 和 10 µg/L 三甲氧苄氨嘧啶标准溶液连续 6 次进样，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 5 所示。3 个浓度标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.29%~0.90%和 1.23%~2.14%之间，仪器精密度良好。

表 5 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% (1 µg/L)		RSD% (2 µg/L)		RSD% (10 µg/L)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area

三甲氧苄氨嘧啶	0.90	2.14	0.34	1.23	0.29	1.72
---------	------	------	------	------	------	------

2.6 基质加标实验

为了考察方法的灵敏度，在空白鱼肉基质样品中添加浓度为 1.0 μg/kg 的三甲氧苄氨嘧啶标样，空白基质样与空白基质加标样经过 1.3 步骤前处理制备过程后，上机测试得到，鱼肉基质空白色谱图如图 4 所示，鱼肉基质加标样品色谱图如图 5 所示。基质加标样品在 1.0 μg/kg 上均有很好的响应。基质样品加标回收率如表 6 所示，三甲氧苄氨嘧啶基质加标回收率为 82.2%。

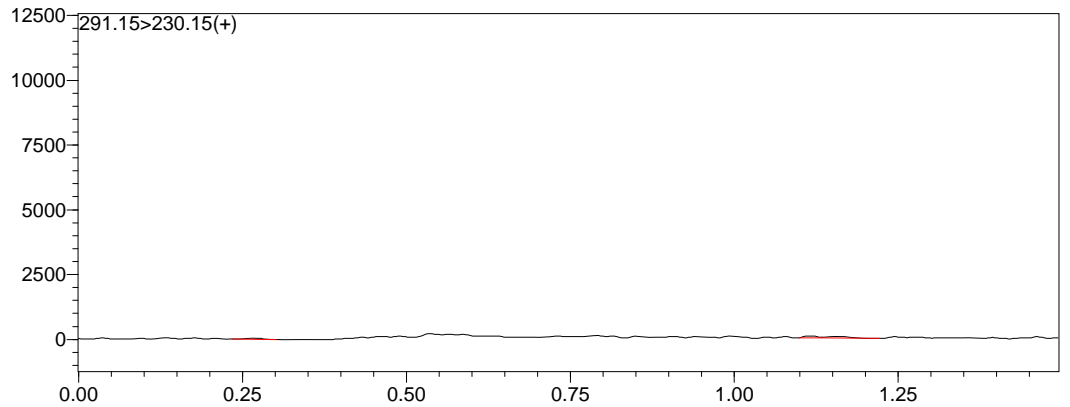


图 4. 鱼肉空白基质色谱图

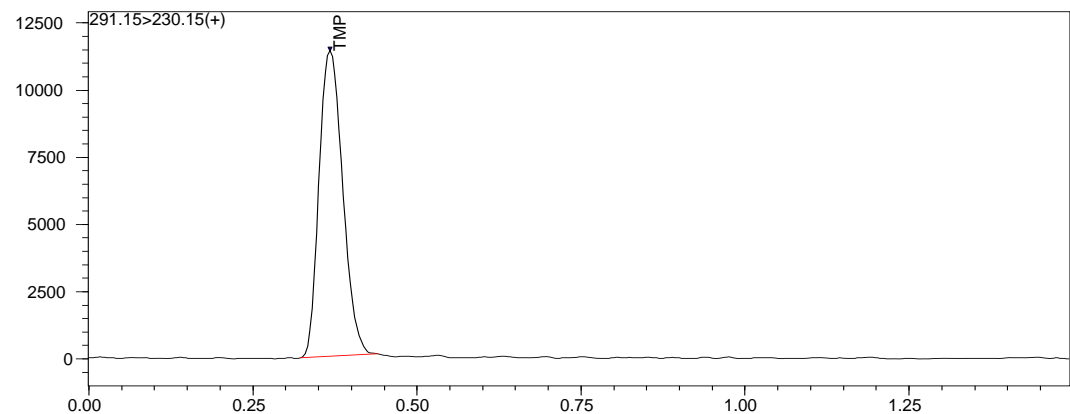


图 5. 鱼肉空白基质加标样品的色谱图

表 6 鱼肉基质样品加标 1.0 μg/kg 回收率

样品名称	基质样品含量（μg/L）	基质加标（1μg/kg）	回收率（%）
三甲氧苄氨嘧啶	——	0.822	82.2

3. 结论

建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定水产品中三甲氧苄氨嘧啶的方法。该方法灵敏度高，精密度良好。三甲氧苄氨嘧啶在 0.1-100 μg/L 浓度范围内线性良好，标准曲线的相关系数为 0.9993。在经样品前处理后的水产品空白基质中添加 1.0 μg/kg 标样，基质加标样品有很好的响应。本方法线性范围宽，定量限远低于标准规定的 5.0 μg/kg，可以用于水产品中三甲氧苄氨嘧啶残留量的检测。