

气相色谱串联质谱法检测鱼肉中酰胺醇类兽药残留

朱小委

茂名市农业科技推广中心, 广东 茂名

收稿日期: 2024年9月13日; 录用日期: 2024年9月24日; 发布日期: 2024年11月14日

摘要

建立了同时检测鱼肉中氯霉素(CAP)、氟苯尼考(FF)、氟苯尼考胺(FAH)及甲砒霉素(TAP)兽药残留的气相色谱串联质谱法。通过优化气相色谱条件实现良好的分离条件, 对氯霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺及甲砒霉素的三甲基硅衍生物的一级离子碎片进行碰撞优化出对应的离子对作为定性定量的依据。采取2% 氯化乙酸乙酯提取, MCX固相小柱净化, 加入100 μ L BSTFA + TMCS (99 + 1) 硅烷化试剂, 在65 $^{\circ}$ C 反应 30 min。用EI源的GC-MS/MS法, 选择离子(MRM)进行定性定量, 相关系数 > 0.99, 线性范围1~1000 μ g/L, 草鱼肉糜试样中加标回收率在86.2%~94.4%之间, 相对标准偏差小于5%, 检出限为0.1 μ g/kg。

关键词

气相色谱串联质谱, 酰胺醇, 兽药残留

GC-MS Spectrometry for Detection of Amide Alcohol and Veterinary Drug Residues in Fish Meat

Xiaowei Zhu

Maoming Agricultural Science and Technology Promotion Center, Maoming Guangdong

Received: Sep. 13th, 2024; accepted: Sep. 24th, 2024; published: Nov. 14th, 2024

Abstract

A gas chromatography-mass spectrometry was established for the simultaneous detection of chloramphenicol (CAP), florfenicol (FF), florfenicol (FAH), and thiamethoxam (TAP) veterinary drug residues in fish meat. By optimizing the gas chromatography conditions to achieve good separation

conditions, collision optimization was performed on the primary ion fragments of chloramphenicol, florfenicol, florfenicoline, and trimethylsilyl derivatives of methicillin to obtain corresponding ion pairs as the basis for qualitative and quantitative analysis. Using 2% ammoniated ethyl acetate for extraction and MCX solid-phase column purification, 100 μ L of BSTFA + TMCS (99 + 1) silane reagent was added and reacted at 65°C for 30 minutes. The qualitative and quantitative analysis was performed by GC-MS/MS with an EI source, using multiple reaction monitoring (MRM) for ion selection. The correlation coefficient was greater than 0.99, with a linear range of 1 to 1000 μ g/L. The recovery rate of spiked grass carp minced meat samples was between 86.2% and 94.4%, with a relative standard deviation of less than 5%. The detection limit was 0.1 μ g/kg.

Keywords

GC-MS Spectrometry, Amide Alcohol, Veterinary Drug Residue

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

酰胺醇类又称氯霉素类抗生素，包括氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺。这类抗生素以其独特的抗菌机制和广谱的抗菌活性，成为治疗多种细菌感染性疾病的首选药物。然而，随着抗生素的广泛使用，细菌耐药性问题日益严重，该类抗生素不仅水溶性差，其毒性、耐药性也逐渐被发现。氯霉素可致人再生障碍性贫血，鉴于此，欧盟、美国等地已禁止在动物性食品中使用氯霉素(CAP) [1]。我国农业农村部第 250 号公告中也将氯霉素(CAP)列为禁用药物，规定其在动物性食品中不得检出[2]。甲砒霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺属于限用药物。目前气相色谱 - 质谱联用技术(GC-MS/MS)作为一种抗干扰性极强、灵敏度更高的分析手段，在酰胺醇类残留检测中发挥着重要作用[3] [4]。GC-MS/MS 首先利用气相色谱仪将样品中的各种成分根据其沸点和极性进行分离，然后通过质谱仪对分离后的成分进行电离、碎裂，并根据质荷比(m/z)进行分离和检测，从而实现复杂混合物中各组分的精确识别和定量。

酰胺醇类药物的测定方法主要有微生物测定法、免疫分析法(Immuno Assay, IA)、高效液相色谱法(High performance Liquid Chromatography, HPLC)、气相色谱法(Gas Chromatography, GC)、液相色谱串联质谱法(Liquid chromatography tandem HPLC-MS/MS)、气相色谱串联质谱法(Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS/MS)。因 GC-MS/MS 的高分辨率、高分离度、抗干扰能力强等优点而被广泛应用在化学、生物和环境分析中。本文旨在研究利用气相色谱 - 质谱联用技术对酰胺醇类抗生素进行检测，做好酰胺醇类残留量的安全监控监管，为食品安全保驾护航。

2. 实验部分

2.1. 主要仪器与试剂

GCMS-TQ8040NX 三重四极杆气质联用仪(岛津); TX223 千分之一天平(岛津); Fotector plus 高通量全自动固相萃取仪(睿科); MPE 高通量真空平行浓缩仪(睿科); Auto EVA 80 高通量全自动平行浓缩仪(睿科); Auto EVA mini 全自动平行浓缩仪(睿科); 涡旋振荡器(IKA); 速冻离心机(SIGMA); 垂直振荡器 V12 (睿科); 烘箱(安普); 沃特世的 MXC 固相萃取小柱(600 mg/3 mL); 氯霉素、氟苯尼考胺、氟苯尼考及甲砒霉素标准物质纯度 \geq 98% (阿尔塔); BSTFA + TMCS (99 + 1) 硅烷化试剂; 乙腈、乙酸乙酯、甲醇、正

己烷，均为色谱纯，天津大茂化学试剂厂。

2.2. 样品处理

称取鱼肉糜 5 g 加 20 mL 2% 的氨水乙酸乙酯于 50 mL 离心管中，置于垂直振荡器中，500 r/min 振荡 10 min，在 5℃ 下，5000 r/min 离心 5 min，取上清液于玻璃离心管中，重新提取一下残渣，合并上清液，置于平行浓缩仪中，40℃ 水浴浓缩近干，氮气吹干，加入 3 mL 5% 乙酸水溶液涡旋 30 s 复溶，3 mL 甲醇、3 mL 5% 乙酸水预淋洗 MXC 固相萃取小柱，上样，用 2 mL 5% 乙酸水溶液淋洗，弃去淋洗液，用 6 mL 2% 氨水甲醇溶液洗脱，收集洗脱液，50℃ 氮吹至近干，氮气吹干，依次用 100 μ L 乙腈复溶，移至 2 mL 样品瓶中，再用 100 μ L 清洗并合并，加入衍生试剂 100 μ L，混匀，置于烘箱中，65℃ 反应 30 min，取出冷却至室温，50℃ 氮吹干，加 1 mL 正己烷复溶，待测。

2.3. 样品测定

色谱条件：DB-5MS (30 m \times 0.25 mm i. d. \times 0.25 μ m) 毛细管柱，载气为高纯氦气，进样口温度 230℃，进样模式：不分流，柱流量 1.00 mL/min，高压进样，柱温：80℃ 保持 1 min，以 30℃/min 升至 280℃ 保持 10 min。

质谱条件：离子源为 EI 源，离子源温度 230℃，接口温度 250℃，检测器电压：调谐电压 + 0.6 KV，电子能量 70 eV，灯丝发射电流 185 μ A，采集方式：MRM。

3. 结果与讨论

3.1. 标准曲线

配制标准系列，按实验步骤处理上机测试得到曲线相关系数和仪器检出限。氟苯尼考胺的线性方程 $y = 2323.5x - 277.28$ ，相关系数 R 0.996，氯霉素的线性方程 $y = 11444.1x - 85488.7$ ，相关系数 R 为 0.996，氟苯尼考的线性方程 $y = 6477.9x - 62835.8$ 相关系数 R 为 0.995，甲砒霉素的线性方程 $y = 6477.9x - 30524.8$ ，相关系数 R 为 0.999，仪器检出限均为 0.1 μ g/L。

3.2. 重复性测试

取浓度为 5 μ g/L 的标准溶液，按步骤处理上机测试，考察仪器重复性，各组分峰面积及 RSD% 见表 1。

Table 1. Repeatability test results

表 1. 重复性测试结果

NO.化合物名称	峰面积						RSD%
	1	2	3	4	5	6	
1. 氟苯尼考胺	7861	7653	7734	7854	7720	7792	1.05
2. 氯霉素	29313	29163	29463	29261	29243	29346	0.35
3. 氟苯尼考	30838	30461	31061	31072	30912	31046	0.76
4. 甲砒霉素	10643	10723	10812	10764	10905	10687	0.87

3.3. 实际样品测试与加标回收测试

取草鱼肉糜样品，按上述方法进行检测，样品中未检测酰胺醇类药物，以此样品为基质，添加浓度为 5 μ g/kg，平行处理 6 份，样品加标测定结果及加标回收率结果见表 2。

Table 2. Results of spiked recovery rate**表 2.** 加标回收率结果

NO.化合物名称	加标样品测定浓度(ug/kg)						平均回收率%	RSD%
	1	2	3	4	5	6		
1 氟苯尼考胺	4.25	4.62	4.24	4.35	4.16	4.22	86.2	3.84
2 氯霉素	4.72	4.76	4.68	4.72	4.68	4.76	94.4	4.03
3 氟苯尼考	4.42	4.35	4.46	4.51	4.47	4.37	88.6	3.56
4 甲砒霉素	4.29	4.31	4.41	4.38	4.52	4.28	87.3	2.10

4. 结论

本文利用岛津三重四极杆气质联用仪,建立了鱼肉中氯霉素(CAP)、氟苯尼考(FF)、氟苯尼考胺(FAH)及甲砒霉素(TAP)的残留量的气相色谱串联质谱检测方法,该方法在 1~1000 ug/L 浓度范围内,各组分线性良好,相关系数均 > 0.99。草鱼肉糜试样中加标回收率在 86.2%~94.4%之间,准确度较高,相对标准偏差小于 5%,重复性较好。检出限为 0.1 ug/kg,灵敏度较高,使用 MRM 模式进行采集定量抗干扰能力更强,利用保留时间和离子比率进行双重定性准确可靠。该方法简单快速、灵敏度高、精密度好,可以满足酰胺醇类及其代谢物残留检测的需求。

参考文献

- [1] 张丽萍, 孟蕾, 张盼盼, 等. 鸡、猪组织中甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺残留量测定的 GC-MS 法建立[J]. 中国兽药杂志, 2020, 54(9): 33-40.
- [2] 邵会, 冷凯良, 周明莹, 等. 水产品中氯霉素、甲砒霉素、氟苯尼考、氟苯尼考胺多残留的同时测定-GC/MS 法[J]. 渔业科学进展, 2015(3): 137-141.
- [3] 贺利民, 苏贻娟, 曾振灵, 等. 氯霉素类兽药的三甲基硅衍生物的质谱特征及其残留测定[J]. 分析测试学报, 2006, 25(2): 43-46, 51.
- [4] 李鹏, 邱月明, 蔡慧霞, 等. 气相色谱-质谱联用法测定动物组织中氯霉素、氟甲砒霉素和甲砒霉素的残留量[J]. 色谱, 2006, 24(1): 14-18.