

三重四极杆液质联用仪 食品行业应用文集



杭州谱育科技发展有限公司

浙江省杭州市临安区青山湖街道
科技大道 2466-1 号

网址: <http://www.apiic.cn>

前言

食品安全一直是深受关注的民生问题，它涉及整个食品供应链的安全，消费者希望所食用食品的安全性可得到保证。农产品、畜牧产品的生产、加工、储藏，食品加工业过程中的质量控制以及食品市场流通与运输都会对食品安全产生重大影响。其中食品中的多农药、兽药残留、食品加工过程的添加剂和非法添加物、食品储藏流通过程中产生的真菌毒素等都是食品安全控制需要关注的。

近年来，随着液相色谱和质谱联用技术的发展，在有机目标化合物的定性、定量分析方面发挥了越来越大的作用。EXPEC 5210 是谱育科技在“国家重大科学仪器设备开发专项”支持下，历经多年的研发投入，采用一系列创新的质谱技术，研制的具有自主知识产权的三重四极杆串联质谱仪。它具有卓越的灵敏度，优异的稳定性，突出的可扩展性和极佳的性价比。在食品安全领域，液相色谱-三重四极杆串联质谱仪器可实现食品中农残、兽残、食品添加剂的高通量、痕量分析。

本应用文集介绍了 EXPEC 5210 在食品中农药、兽药残留、食品添加剂、真菌毒素等方面的应用工作，为帮助更好的解决食品安全问题提供了技术支持。

目录

第一章 兽药残留分析	- 3 -
一、LC-MS/MS 法测定水产品中孔雀石绿类药物残留量	- 3 -
二、LC-MS/MS 法测定猪肉中硝基咪唑类代谢物	- 8 -
三、LC-MS/MS 法测定猪肉中地塞米松的残留量	- 14 -
四、LC-MS/MS 法测定水产品中磺胺类药物的残留量	- 19 -
五、LC-MS/MS 法测定带鱼中氯霉素类化合物	- 28 -
六、LC-MS/MS 法测定牛奶中四环素类兽药残留	- 37 -
七、LC-MS/MS 法测定牛奶中链霉素、双氢链霉素和卡那霉素的残留量	- 47 -
八、LC-MS/MS 法测定牛肉中 11 种 β -受体激动剂	- 54 -
九、LC-MS/MS 法测定食品中井冈霉素的残留量	- 66 -
第二章 农药残留分析	- 71 -
一、LC-MS/MS 法测定蔬菜中 331 种农残留量	- 71 -
二、LC-MS/MS 法测定鸡肉中除虫脲的残留量	- 81 -
三、LC-MS/MS 法测定虾中五氯酚的残留量	- 86 -
四、LCMS/MS 法测定海参中有机磷农药残留	- 92 -
五、LC-MS/MS 法测定水果和蔬菜中啉啉酯和噁唑菌酮的残留量	- 100 -
第三章 食品添加剂	- 106 -
一、LC-MS/MS 法测定白酒中氨基磺酸钠的含量	- 106 -
二、LC-MS/MS 法测定牛奶中三聚氰胺的残留量	- 112 -
三、LC-MS/MS 法测定豆芽中两种植物生长调节剂	- 118 -
四、LC-MS/MS 法测定食品中罗丹明 B 的残留量	- 123 -
五、LC-MS/MS 法测定植物油中乙基麦芽酚的含量	- 127 -
第四章 真菌毒素	- 133 -
一、LC-MS/MS 法测定面粉中赭曲霉毒素 A 的残留量	- 133 -
二、LC-MS/MS 法测定谷物中黄曲霉毒素	- 139 -
三、LC-MS/MS 法测定水果中的展青霉毒素	- 145 -
四、LC-MS/MS 法测定果汁中的黄曲霉毒素的含量	- 150 -

第一章 兽药残留分析

一、LC-MS/MS 法测定水产品中孔雀石绿类药物残留量

参考标准：《GB/T 19857-2005》

1 前言

孔雀石绿、隐色孔雀石绿等三苯甲烷类化学物质曾被广泛用作水产养殖过程中的杀菌剂和抗寄生虫药，其具有致突变、致畸和可能致癌的危险性，许多国家已禁止其作为兽药使用，我国农业部于 2002 年 5 月将孔雀石绿列入《食品动物禁用的兽药及其化合物清单》中，禁用于所有食品动物，但由于缺乏有效的替代药物及受利益驱使等原因，孔雀石绿的违禁使用仍然时有发生，快速、灵敏、准确的检测方法是加强孔雀石绿类违禁兽药滥用监督的必不可少的工具，因此，本文建立了使用谱育科技的超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪测定水产品中孔雀石绿类药物残留的快速且高灵敏度的检测方法。

2.实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品：2 种孔雀石绿类药物标准品及其内标均购自上海安谱，于-20℃冰箱保存。

试剂：甲醇和乙腈为色谱级，甲酸为色谱级，纯度 98%。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	0.1%甲酸水 (A) 和乙腈 (B), 梯度洗脱		
	流速	0.3 mL/min		
	色谱柱	Waters BEH C18(2.1*100mm, 1.7um)		
	进样量	部分环进样, 5uL		
	柱温	40°C		
	运行时间	7min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	90	10	
	4	0	100	
	5	0	100	
	5.1	90	10	
	7	90	10	
MS 条件	运行模式	ESI+		
	雾化气流量	1.4L/min		
	去溶剂气流量	4L/min		
	反吹气流量	2L/min		
	去溶剂气温度	500°C		
	碰撞气流量	0.45mL/min (5.8e-3Torr)		
	毛细管高压	4.8kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。为提高检测灵敏度, 可根据保留时间分段监测各化合物。

方法编辑[孔雀石绿]

文件 选项

离子源 ESI

基本信息
方法名称 孔雀石绿
备注信息

LC MS

开碰撞气 MCA模式 智能MRM 添加片段 插入片段 删除片段

方法片段信	开始时间(min)	结束时间(min)	离子化模式	扫描模式
1	0	7	ESI+	MRM

循环时间 0.45
 使用调谐电压 扫描间隔 0.01 s 数据类型 棒状图 跨度 0

	化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1	隐色孔雀石绿 d5	337.25	322.25	0.06	50	22	Unit-Unit
2	孔雀石绿 d5	334.15	318.25	0.06	50	41	Unit-Unit
3	隐色孔雀石绿	331.15	316.25	0.06	50	20	Unit-Unit
4	隐色孔雀石绿	331.15	239.15	0.06	50	38	Unit-Unit
5	孔雀石绿	329.25	313.25	0.06	50	38	Unit-Unit
6	孔雀石绿	329.25	208.15	0.06	50	50	Unit-Unit

2.3 样品前处理

样品前处理方法：具体参考《GB/T 19857-2005 水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定》。

3. 结果

3.1 线性和检出限

用乙腈稀释得到一系列浓度的孔雀石绿类药物混标 (0.5ng/mL、1ng/mL、5ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL)，内标孔雀石绿-d5 和隐色孔雀石绿-d5 浓度为 6ng/ml，按照上述方法进样，以各目标物的定量离子色谱峰面积与内标的定量离子色谱峰面积之比 (Y) 为纵坐标，目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标，权重系数为 1/x，采用内标法拟合后的标准曲线如图 1 和图 2 所示。标准曲线最低点的定量离子色谱图如图 3 所示，本实验的检出限完全符合《GB/T 19857-2005 水产品中孔雀石绿和结晶紫残留量的测定》的要求。

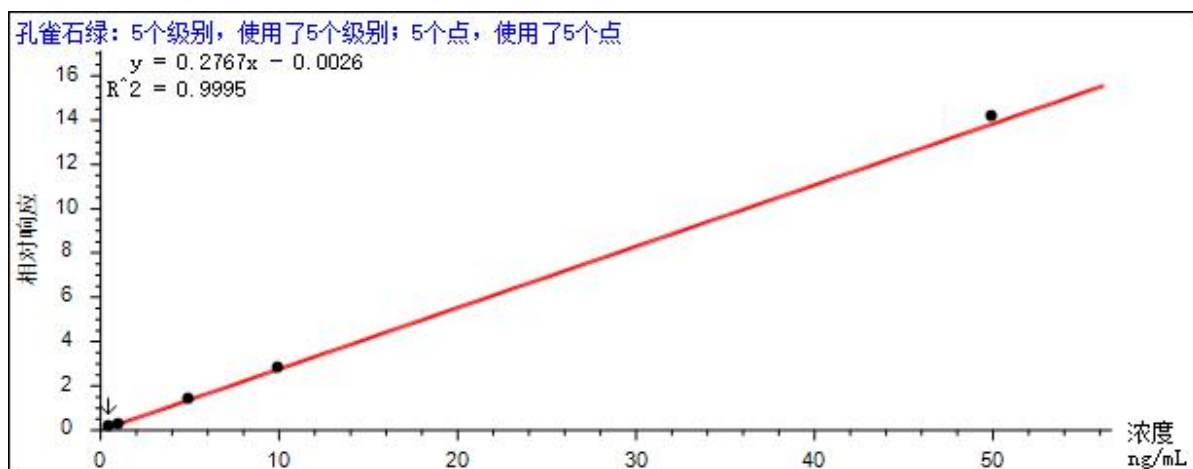


图 1 孔雀石绿标准曲线

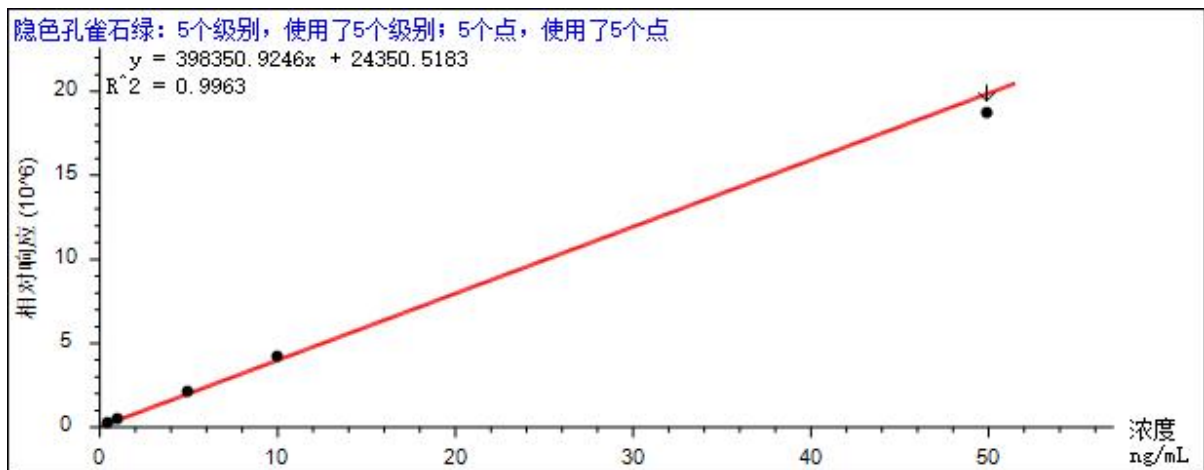


图2 隐色孔雀石绿标准曲线

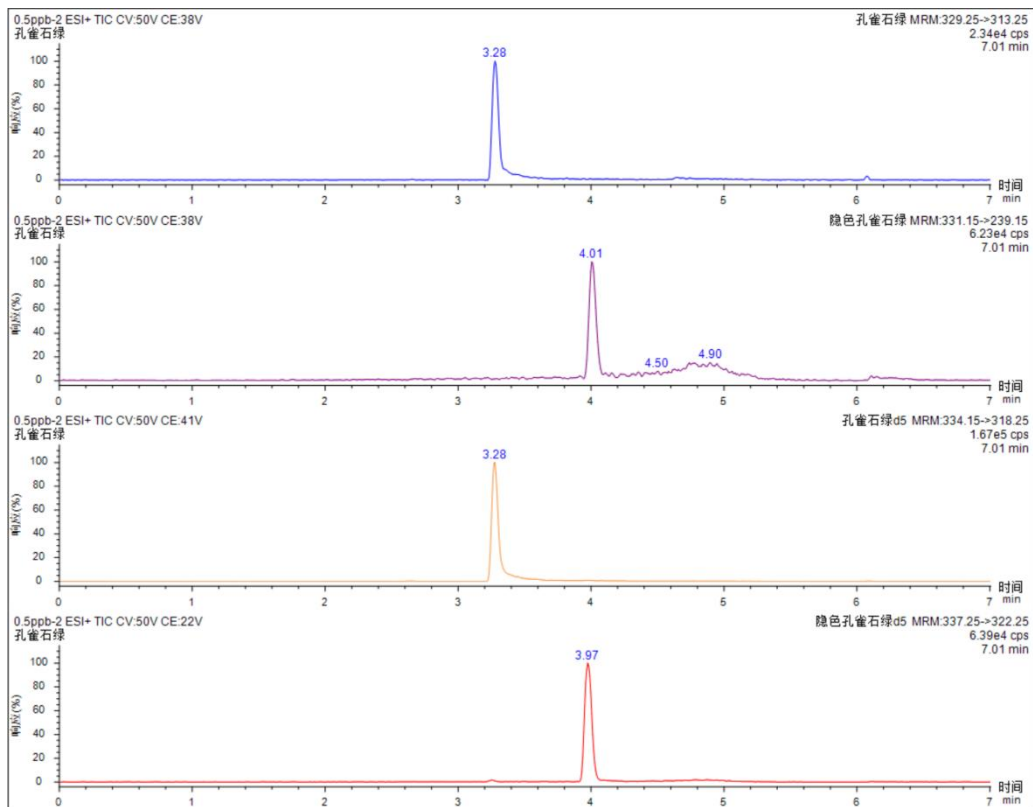


图3 孔雀石绿类药物定量限的色谱图 (1ng/ml 其中内标孔雀石绿-d5 和隐色孔雀石绿-d5 均为 6ng/ml)

3.2 重复性

分别配置 0.5 ng/mL 和 5 ng/mL 不同浓度对照品, 分别连续进样 6 次, 考察保留时间和响应的重复性, 结果如下所示。

0.5ng/ml 重复性: 保留时间和相对响应的 RSD 值分别在 0.10%-0.14%和 1.84%-3.37%。

	样品信息		隐色孔雀石绿d5			孔雀石绿d5			隐色孔雀石绿					孔雀石绿				
	数据文件	定量方法	保留时间	响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度	保留时间	响应	相对响应	定性比率	计算浓度	保留时间	响应	相对响应	定性比率	计算浓度
1	SS200724001+1	孔雀石绿类	4.06	18014.02	6.00	3.12	1105672.00	6.00	4.09	38835.93	2.16	50.84	0.52	3.13	55221.65	0.05	54.92	0.50
2	SS200724001+2	孔雀石绿类	4.06	17383.17	6.00	3.12	1091009.00	6.00	4.08	39474.49	2.27	51.10	0.55	3.13	55503.95	0.05	45.84	0.51
3	SS200724001+3	孔雀石绿类	4.06	17182.17	6.00	3.13	1118430.00	6.00	4.08	36886.03	2.15	36.34	0.52	3.13	58920.01	0.05	51.10	0.53
4	SS200724001+4	孔雀石绿类	4.06	17701.40	6.00	3.13	1125776.00	6.00	4.09	36838.89	2.08	44.53	0.50	3.13	58337.56	0.05	49.34	0.52
5	SS200724001+5	孔雀石绿类	4.07	17096.41	6.00	3.13	1106234.00	6.00	4.09	35846.98	2.10	43.12	0.51	3.14	56935.13	0.05	48.04	0.52
6	SS200724001+6	孔雀石绿类	4.07	17395.89	6.00	3.13	1140600.00	6.00	4.10	36245.87	2.08	37.49	0.50	3.13	57987.51	0.05	45.54	0.51
Min			4.06	17096.41	6.00	3.12	1091009.00	6.00	4.08	35846.98	2.08	36.34	0.50	3.13	55221.65	0.05	45.54	0.50
Max			4.07	18014.02	6.00	3.13	1140600.00	6.00	4.10	39474.49	2.27	51.10	0.55	3.14	58920.01	0.05	54.92	0.53
AVG			4.06	17462.18	6.00	3.13	1114620.00	6.00	4.09	37354.70	2.14	43.90	0.52	3.13	57150.97	0.05	49.13	0.51
SD			0.00	341.93	0.00	0.00	17446.01	0.00	0.01	1461.23	0.07	6.31	0.02	0.00	1530.94	0.00	3.53	0.01
RSD			0.10	1.96	0.00	0.12	1.57	0.00	0.14	3.91	3.37	14.38	3.78	0.10	2.68	1.84	7.19	2.11
IDL			0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

5ng/ml 重复性：保留时间和相对响应的 RSD 值分别在 0.00%-0.07%和 2.21%-3.49%。

	样品信息		隐色孔雀石绿d5			孔雀石绿d5			隐色孔雀石绿					孔雀石绿				
	数据文件	定量方法	保留时间	响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度	保留时间	响应	相对响应	定性比率	计算浓度	保留时间	响应	相对响应	定性比率	计算浓度
1	SS200724001+7	孔雀石绿类	4.06	19719.29	6.00	3.13	1322309.00	6.00	4.09	374383.70	18.99	38.59	5.09	3.13	612186.60	0.46	44.29	5.25
2	SS200724001+8	孔雀石绿类	4.07	19007.15	6.00	3.13	1467579.00	6.00	4.09	354385.60	18.64	48.68	5.00	3.13	631838.60	0.43	53.84	4.88
3	SS200724001+9	孔雀石绿类	4.06	18818.74	6.00	3.13	1334120.00	6.00	4.09	364448.30	19.37	46.83	5.19	3.13	610072.90	0.46	49.36	5.18
4	SS200724001+10	孔雀石绿类	4.06	19158.46	6.00	3.13	1435480.00	6.00	4.09	380916.20	19.88	51.12	5.33	3.13	684097.60	0.48	56.59	5.41
5	SS200724001+11	孔雀石绿类	4.05	20447.17	6.00	3.13	1347633.00	6.00	4.08	396955.30	19.41	46.35	5.21	3.13	634615.70	0.47	45.74	5.34
6	SS200724001+12	孔雀石绿类	4.06	19458.14	6.00	3.12	1420127.00	6.00	4.09	371131.80	19.07	48.36	5.11	3.13	649385.80	0.46	43.27	5.18
Min			4.05	18818.74	6.00	3.12	1322309.00	6.00	4.08	354385.60	18.64	38.59	5.00	3.13	610072.90	0.43	43.27	4.88
Max			4.07	20447.17	6.00	3.13	1467579.00	6.00	4.09	396955.30	19.88	51.12	5.33	3.13	684097.60	0.48	56.59	5.41
AVG			4.06	19434.82	6.00	3.13	1387875.00	6.00	4.09	373703.50	19.23	46.66	5.16	3.13	637032.90	0.46	48.85	5.21
SD			0.00	590.79	0.00	0.00	60773.47	0.00	0.00	14550.50	0.43	4.29	0.12	0.00	27366.72	0.02	5.42	0.18
RSD			0.12	3.04	0.00	0.10	4.38	0.00	0.07	3.89	2.21	9.20	2.24	0.00	4.30	3.49	11.09	3.54
IDL			0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

可知所有化合物的保留时间和峰面积的精密度较好。

4 结论

水产品样品提取后，经中性氧化铝柱净化等前处理过程，使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度、灵敏度等，结果表明：孔雀石绿类药物在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.99；方法精密度在 4%以内，灵敏度符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对水产品中孔雀石绿类药物残留进行灵敏、准确的定量检测。

二、LC-MS/MS 法测定猪肉中硝基呋喃类 代谢物

参考标准：《GB/T 21311-2007》

1 前言

硝基呋喃类代谢物是一类人工合成的广谱抗菌剂，其常见代谢物主要包括 3-氨基-2-唑烷酮（AOZ）、5-甲基吗啉代-3-氨基-2-唑烷酮（AMOZ）、1-氨基乙内酰脲（AND）和氨基脲（SEM），作为饲料添加剂用于治疗畜禽胃肠道疾病，该类化合物具有慢性毒性。该类药物在畜禽业中被广泛地使用。由于该类药物在动物体内代谢迅速，其代谢产物与蛋白质结合会形成稳定的复合物，对人体潜在的致癌、致畸的且代谢物在动物体及环境中残留时间较长，现已被许多国家禁止用于食物类动物。我国农业部第 193 号公告《食品动物禁用的兽药及其它化合物清单》中明确禁止使用硝基呋喃类药物。因此，本文参考《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》，建立了使用谱育科技的超高效液相色谱—三重四极杆串联质谱仪测定猪肉中硝基呋喃类代谢物残留的快速且高灵敏度的检测方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

硝基呋喃类代谢物标准品：4 种呋喃代谢物混标（AOZ、AMOZ、AHD、SEM）、4 种呋喃代谢物内标混标（AOZ-D4、AMOZ-D5、AHD-¹³C3、SEM-¹³C-¹⁵N2）购自上海安谱，于 -20℃ 冰箱保存。试剂：乙腈、甲醇、乙酸乙酯、正己烷和水为色谱级；甲酸为 LC-MS 级，纯度为 98%；浓盐酸、邻硝基苯甲醛、三水磷酸钾、乙酸铵均是分析纯。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	0.1%甲酸水 (A) 和乙腈 (B), 梯度洗脱		
	流速	0.3 mL/min		
	色谱柱	Waters 2.1*100mm, 1.7 μ m		
	进样量	满环进样, 20 μ L		
	运行时间	8min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	95	5	
	5	5	95	
	6	5	95	
	6.1	95	5	
	8	95	5	
MS 条件	运行模式	正离子模式		
	雾化气流量	1.4L/min		
	去溶剂气流量	4L/min		
	反吹气流量	2L/min		
	去溶剂气温度	500°C		
	碰撞气流量	0.45mL/min (5.8e-3Torr)		
	毛细管高压	4.8kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。为提高检测灵敏度, 可根据保留时间分段监测各化合物。

方法编辑[硝基呋喃]

文件 选项

离子源 ESI

基本信息

方法名称 硝基呋喃

备注信息

LC MS

开碰撞气 MCA模式 智能MEM 添加片段 插入片段 删除片段

方法片段 开始时间(min) 结束时间(min) 离子化模式 扫描模式

1 硝基呋喃 0 0 ESI+ MEM

循环时间 0.65

使用调谐电压 扫描间隔 0.005 s 数据类型 棒状图 跨度 0

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1 SEM	209.05	165.95	0.04	50	7	Unit-Unit
2 SEM	209.05	192.05	0.04	50	6	Unit-Unit
3 SEM-C13	212.08	168.05	0.04	50	8	Unit-Unit
4 AHD	249.05	134.05	0.04	50	10	Unit-Unit
5 AHD	249.05	104.05	0.04	50	18	Unit-Unit
6 AHD-C13	252.05	134.05	0.04	50	35	Unit-Unit
7 AHD-C13	252.05	206.05	0.04	50	25	Unit-Unit
8 AOZ	236.05	134.05	0.04	50	8	Unit-Unit
9 AOZ	236.05	103.95	0.04	50	20	Unit-Unit
10 AOZ-D4	240.05	133.87	0.04	50	10	Unit-Unit
11 AMOZ	335.05	262.05	0.04	50	18	Unit-Unit
12 AMOZ	335.05	291.05	0.04	50	10	Unit-Unit
13 AMOZ-D5	340.05	296.15	0.04	50	10	Unit-Unit

2.3 样品前处理

样品前处理方法：具体参考《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》。

3 结果

3.1 线性和检出限

用乙腈稀释得到一系列浓度的硝基呋喃类药物代谢物类混标 (1ng/mL、3ng/mL、5ng/mL、7ng/mL、10ng/mL、30ng/mL、50ng/mL)，按照上述方法进样，以各目标物的定量离子色谱峰面积与内标的定量离子色谱峰面积之比 (Y)，目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标，权重系数为 1/x，采用内标法拟合后的标准曲线如图 1-图 4 所示。标准曲线最低点的定量离子色谱图如图 5 配置 1ng/ml 标准溶液进样，按照 S/N=10 和 S/N=3 计算定量限和检出限，结果如表 1 所示。且本实验的检出限完全符合《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》的要求。

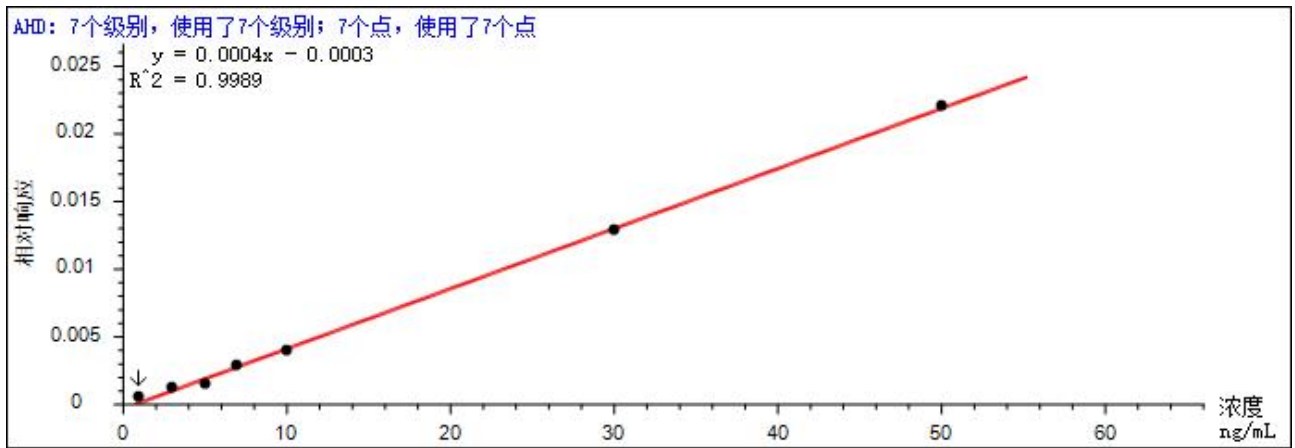


图 1 AHD 的标准曲线

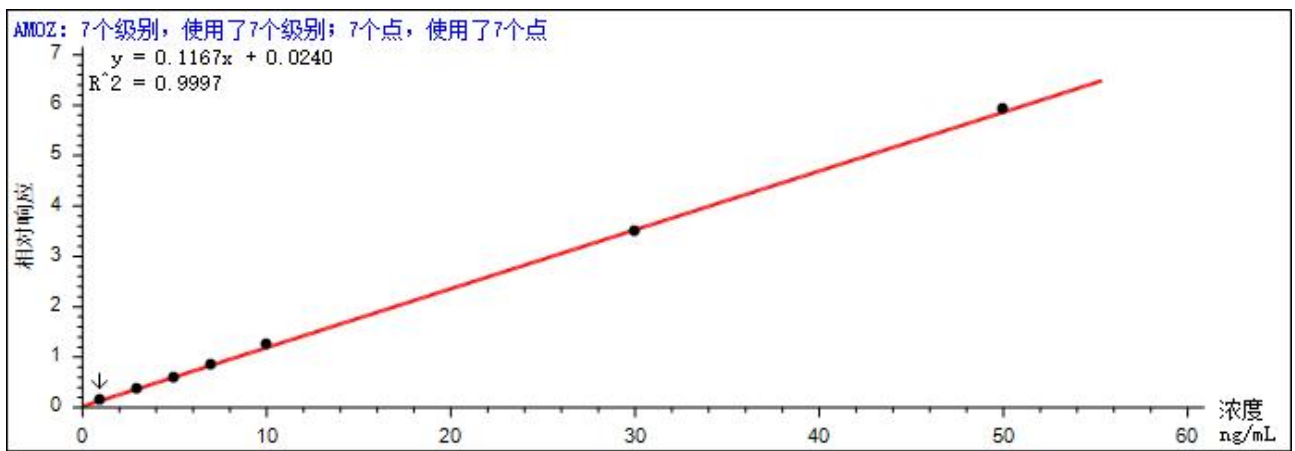


图 2 AMOZ 的标准曲线

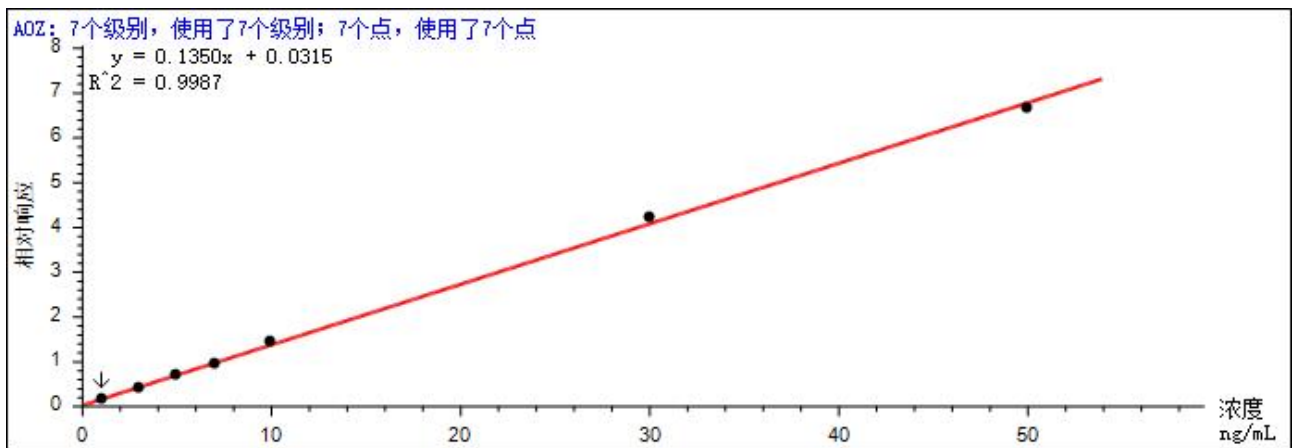


图 3 AOZ 的标准曲线

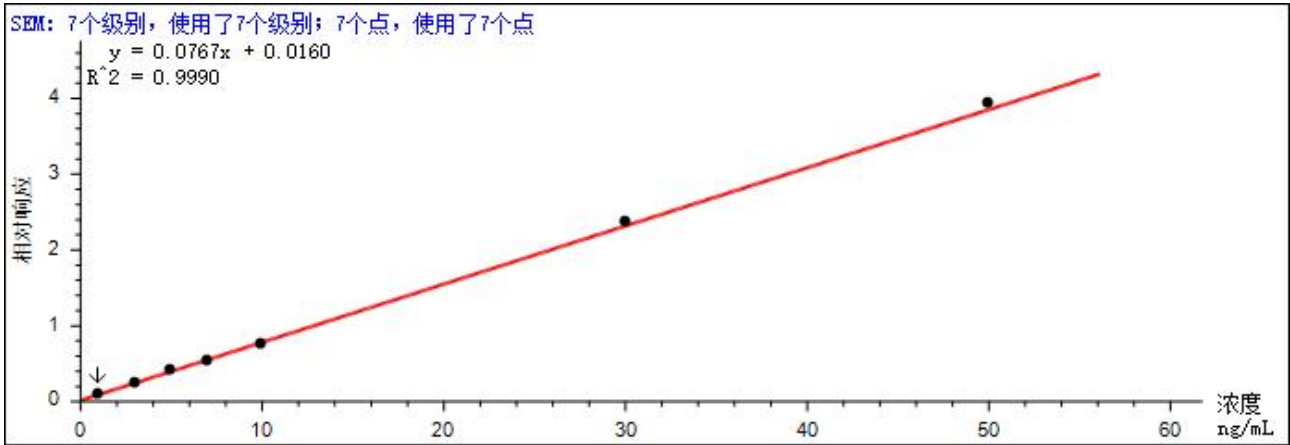


图 4 SEM 的标准曲线

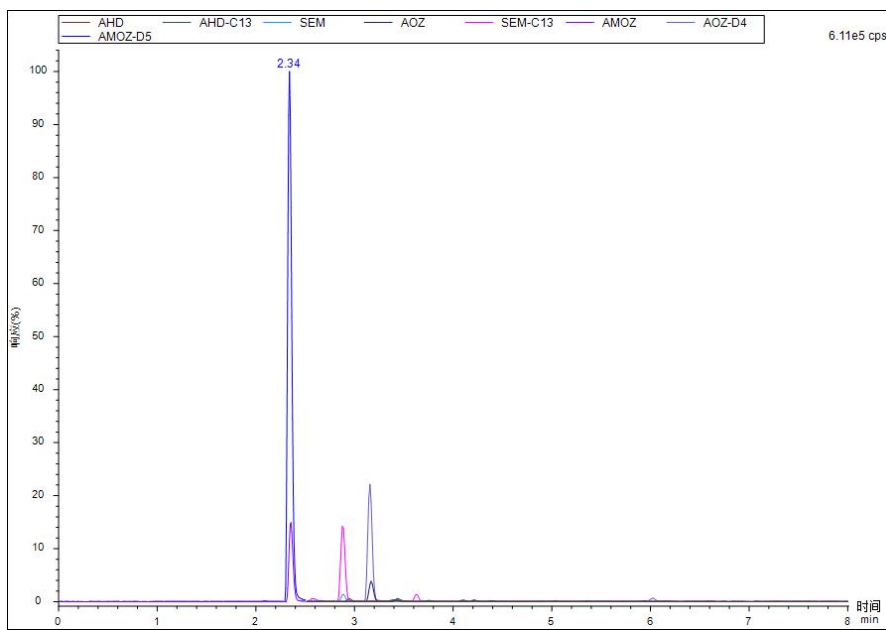


图 5 硝基呋喃类代谢物定量限的色谱图 (1ng/ml,其中内标 AOZ-D4、AMOZ-D5、AHD-13C3、SEM-13C-15N2 均为 10ng/ml)

表 1 硝基呋喃类代谢物的检出限和定量限

序号	化合物名称	S/N	检出限 (ng/ml)	定量限 (ng/ml)
1	AHD	113	0.03	0.09
2	AMOZ	1486	0.002	0.01
3	AOZ	297	0.01	0.03
4	SEM	122	0.02	0.08

3.2 重复性

分别配置 1 ng/mL 和 5 ng/mL 不同浓度对照品, 分别连续进样 6 次, 考察保留时间和响

应的重复性，结果如下所示。

1ng/ml 重复性：保留时间和相对响应的 RSD 值分别在 0.54%-0.88%和 1.77%-3.51%

!	样品信息		AHD				AMAZ				SEM				AOZ			
	数据文件	定量方法	保留时间	响应	相对响应	计算浓度	保留时间	响应	相对响应	计算浓度	保留时间	响应	相对响应	计算浓度	保留时间	响应	相对响应	计算浓度
1	SS200729006-1	硝基咪唑	3.02	9930.07	0.00	1.00	2.44	250704.90	0.14	1.01	2.96	26521.65	0.09	1.02	3.24	72346.88	0.17	1.01
2	SS200729006-2	硝基咪唑	2.99	10232.79	0.00	1.05	2.42	265132.60	0.15	1.04	2.93	27172.20	0.10	1.06	3.21	76125.53	0.18	1.08
3	SS200729006-3	硝基咪唑	2.98	10622.22	0.00	1.05	2.40	268465.40	0.14	1.02	2.92	26926.94	0.09	1.03	3.20	75543.08	0.17	1.04
4	SS200729006-4	硝基咪唑	2.98	9800.00	0.00	0.96	2.39	266051.40	0.14	0.99	2.92	26628.87	0.09	1.01	3.20	74978.29	0.18	1.05
5	SS200729006-5	硝基咪唑	2.98	10458.89	0.00	1.05	2.39	265632.20	0.15	1.05	2.91	25996.86	0.09	1.02	3.19	75003.95	0.18	1.07
6	SS200729006-6	硝基咪唑	2.97	10648.94	0.00	1.08	2.39	261966.20	0.15	1.08	2.91	25869.71	0.09	0.99	3.19	76302.15	0.18	1.07
Min			2.97	9800.00	0.00	0.96	2.39	250704.90	0.14	0.99	2.91	25869.71	0.09	0.99	3.19	72346.88	0.17	1.01
Max			3.02	10648.94	0.00	1.08	2.44	268465.40	0.15	1.08	2.96	27172.20	0.10	1.06	3.24	76302.15	0.18	1.08
AVG			2.99	10282.15	0.00	1.03	2.41	262992.10	0.14	1.03	2.93	26519.37	0.09	1.02	3.21	75049.98	0.18	1.05
SD			0.02	357.85	0.00	0.04	0.02	6370.18	0.00	0.03	0.02	509.78	0.00	0.02	0.02	1434.01	0.00	0.03
RSD			0.54	3.48	3.51	4.09	0.88	2.42	2.60	3.11	0.60	1.92	1.77	2.11	0.55	1.91	2.05	2.52
IDL			0.02	0.12	0.12	0.14	0.03	0.08	0.09	0.10	0.02	0.06	0.06	0.07	0.02	0.06	0.07	0.08

5ng/ml 重复性：保留时间和相对响应的 RSD 值分别在 0.22%以下和 1.68%-3.80%

!	样品信息		AHD				AMAZ				SEM				AOZ			
	数据文件	定量方法	保留时间	响应	相对响应	计算浓度	保留时间	响应	相对响应	计算浓度	保留时间	响应	相对响应	计算浓度	保留时间	响应	相对响应	计算浓度
1	SS200729006-7	硝基咪唑	2.96	31222.31	0.00	4.97	2.36	1089822.00	0.62	5.08	2.89	117455.10	0.40	5.06	3.18	304086.40	0.71	5.00
2	SS200729006-8	硝基咪唑	2.96	30798.86	0.00	4.87	2.36	1108419.00	0.61	4.99	2.89	124896.20	0.43	5.44	3.18	306228.10	0.71	4.97
3	SS200729006-9	硝基咪唑	2.96	30917.50	0.00	4.81	2.36	1131534.00	0.63	5.19	2.89	122607.30	0.41	5.19	3.18	303917.60	0.73	5.11
4	SS200729006-10	硝基咪唑	2.95	31888.03	0.00	4.93	2.36	1122715.00	0.61	5.00	2.89	125998.50	0.41	5.21	3.17	309053.70	0.72	5.04
5	SS200729006-11	硝基咪唑	2.95	29879.98	0.00	4.71	2.36	1116494.00	0.61	4.98	2.89	123408.50	0.42	5.33	3.17	306391.50	0.75	5.25
6	SS200729006-12	硝基咪唑	2.95	32518.86	0.00	5.03	2.36	1111048.00	0.61	4.95	2.89	123599.00	0.43	5.43	3.17	302351.50	0.72	5.01
Min			2.95	29879.98	0.00	4.71	2.36	1089822.00	0.61	4.95	2.89	117455.10	0.40	5.06	3.17	302351.50	0.71	4.97
Max			2.96	32518.86	0.00	5.03	2.36	1131534.00	0.63	5.19	2.89	125998.50	0.43	5.44	3.18	309053.70	0.75	5.25
AVG			2.95	31204.26	0.00	4.89	2.36	1113339.00	0.62	5.03	2.89	122994.10	0.42	5.28	3.17	305338.10	0.72	5.06
SD			0.01	916.12	0.00	0.12	0.00	14222.70	0.01	0.09	0.00	2966.89	0.01	0.15	0.01	2375.36	0.01	0.10
RSD			0.22	2.94	3.80	2.39	0.17	1.28	1.68	1.76	0.00	2.41	2.73	2.83	0.20	0.78	1.90	2.00
IDL			0.04	0.49	0.64	0.40	0.03	0.21	0.28	0.30	0.00	0.41	0.46	0.48	0.03	0.13	0.32	0.34

可知所有化合物的保留时间和峰面积均在 4%以下，精密度较好。

4 结论

猪肉样品经水解、衍生、提取、净化等前处理过程，使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度、灵敏度等，结果表明：硝基咪唑类代谢物在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.99；方法精密度在 4%以内，灵敏度符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对猪肉中硝基咪唑类代谢物残留进行灵敏、准确的定量检测。

三、LC-MS/MS 法测定猪肉中地塞米松的 残留量

参考标准：《农业部 1031 号公告-2-2008》

1 前言

地塞米松（Dexamethasone, DXMS），又名氟美松、氟甲强的松龙、德沙美松，是一种糖皮质类激素，能有效治疗某些动物疾病，具有抗炎、抗过敏、抗休克及增强应激反应等药理作用，地塞米松还作为动物生长调节剂，促使动物蛋白合成和代谢，增加产肉量。但是该药物残留对人、畜均有明显的毒副作用，使用高剂量的地塞米松科导致肌肉萎缩、生长抑制等副作用。我国也对此也出示相关标准，农业部 278 号公告《兽药休药期的有关规定》中要求，在畜禽养殖中要严格执行地塞米松磷酸注射液 21 日的休药期，我国农业部 235 号公告《动物性食品中兽药最高残留限量》中规定猪、牛、马肌肉和肾脏中地塞米松的最高残留限量（MRLs）均为 0.75ug/kg，肝脏中为 2ug/kg，牛奶中为 0.3ug/kg。因此，本文参考《农业部 1031 号公告-2-2008 动物源性食品中糖皮质激素类药物多残留检测液相色谱—串联质谱法》，建立了使用谱育科技的超高效液相色谱—三重四极杆串联质谱仪测定猪肉中地塞米松残留的快速且高灵敏度的检测方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

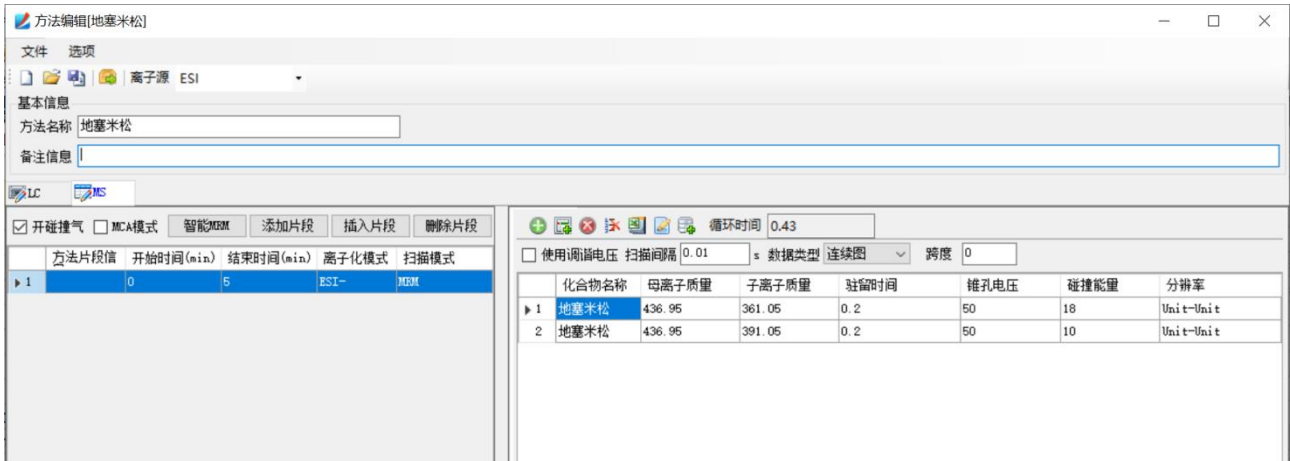
标准品：地塞米松（纯品型，固体）购自上海安谱，于-20℃冰箱保存。试剂：乙腈、甲醇、乙酸乙酯、正己烷和水为色谱级；甲酸为 LC-MS 级，纯度为 98%。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	0.1%甲酸水 (A) 和乙腈 (B), 梯度洗脱		
	流速	0.3 mL/min		
	色谱柱	Waters BEH C18(2.1*100mm, 1.7um)		
	进样量	部分环进样, 10 uL		
	柱温	40°C		
	运行时间	5min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	90	10	
	3	5	95	
	3.2	5	95	
	3.3	90	10	
	5	90	10	
MS 条件	运行模式	ESI-		
	雾化气流量	1.4L/min		
	去溶剂气流量	5L/min		
	反吹气流量	2L/min		
	去溶剂气温度	500°C		
	碰撞气流量	0.45mL/min (5.8e-3Torr)		
	毛细管高压	-4.5kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。



2.3 样品前处理

样品前处理方法：具体参考《农业部 1031 号公告-2-2008 动物源性食品中糖皮质激素类药物多残留检测液相色谱—串联质谱法》。

3 结果

3.1 线性和检出限

用乙腈稀释得到一系列浓度的地塞米松标准品 (1ng/mL、2ng/mL、5ng/mL、10ng/mL、20ng/ml、40ng/ml、50ng/ml),按照上述方法进样,以各目标物的定量离子色谱峰面积(Y),目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标,权重系数为 1/x,采用外法拟合后的标准曲线如下图 1 所示。标准曲线最低点定量离子色谱图如图 2 所示,配置 1ng/ml 标准溶液进样,按照 S/N=10 和 S/N=3 计算定量限和检出限,结果如下表 1 所示。且本实验的检出限完全符合《农业部 1031 号公告-2-2008 动物源性食品中糖皮质激素类药物多残留检测液相色谱-串联质谱法》的要求。

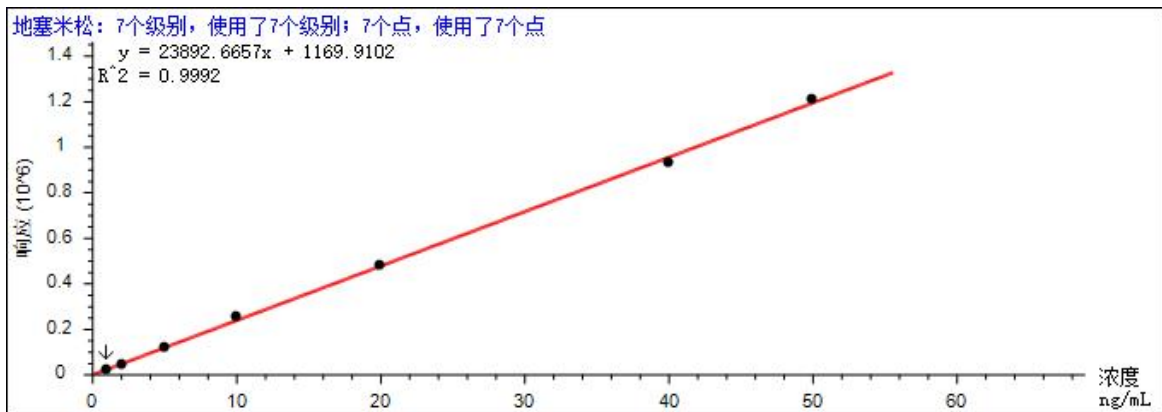


图 1 地塞米松的标准曲线

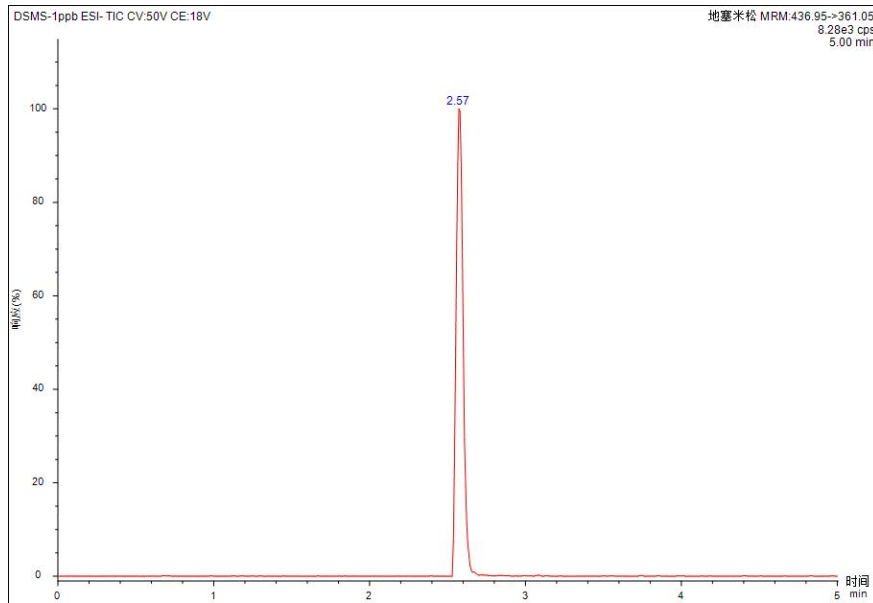


图2 地塞米松的定量限的色谱图（1ng/ml）

表1 地塞米松的检出限和定量限

序号	化合物名称	S/N	检出限 (ng/ml)	定量限 (ng/ml)
1	地塞米松	1054	0.003	0.009

3.2 重复性

分别配置 1 ng/mL 和 10 ng/mL 不同浓度对照品，分别连续进样 6 次，考察保留时间和响应的重复性，结果如下所示。

1ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.14%和 2.39%。

	样品信息				地塞米松			
	!	🚩		数据文件	定量方法	保留时间	响应	计算浓度
1		🚩	☐	SS200723024+1	DSMS	2.57	24061.87	0.96
2		🚩	☐	SS200723024+2	DSMS	2.58	22601.92	0.90
3		🚩	☐	SS200723024+3	DSMS	2.58	24009.96	0.96
4		🚩	☐	SS200723024+4	DSMS	2.57	23510.11	0.94
5		🚩	☐	SS200723024+5	DSMS	2.57	23628.08	0.94
6		🚩	☐	SS200723024+6	DSMS	2.57	24072.01	0.96
Min						2.57	22601.92	0.90
Max						2.58	24072.01	0.96
AVG						2.58	23647.32	0.95
SD						0.00	564.94	0.02
▶ RSD						0.14	2.39	2.50
IDL						0.00	0.08	0.08

10ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.00%和 1.80%。

	样品信息				地塞米松			
	!	🚩		数据文件	定量方法	保留时间	响应	计算浓度
1			<input type="checkbox"/>	SS200723024+7	DSMS	2.57	221402.00	9.22
2			<input type="checkbox"/>	SS200723024+8	DSMS	2.57	229092.10	9.54
3			<input type="checkbox"/>	SS200723024+9	DSMS	2.57	233642.30	9.73
4			<input type="checkbox"/>	SS200723024+10	DSMS	2.57	230087.90	9.59
5			<input type="checkbox"/>	SS200723024+11	DSMS	2.57	230698.50	9.61
6			<input type="checkbox"/>	SS200723024+12	DSMS	2.57	230334.60	9.60
Min						2.57	221402.00	9.22
Max						2.57	233642.30	9.73
AVG						2.57	229209.60	9.55
SD						0.00	4120.08	0.17
▶ RSD						0.00	1.80	1.81
IDL						0.00	0.60	0.61

可知所有化合物的保留时间和峰面积均在 2.39%以下，精密度较好。

4 结论

猪肉样品经提取、净化等前处理过程，使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度、灵敏度等，结果表明：地塞米松在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.999；方法精密度在 3.29%以内，灵敏度符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对猪肉中地塞米松残留进行灵敏、准确的定量检测。

四、LC-MS/MS 法测定水产品中磺胺类药物的残留量

参考标准：《GB/T 21316-2007》

1 前言

磺胺类药物（Sulfonamides, SAs）是指具有对氨基苯磺酰胺结构的一类药物的总称，是一类用于预防和治疗细菌感染性疾病的化学治疗药物。为了治疗饲养动物的疾病，提高动物的抗病能力，从而造成了肉类中抗生素的残留。而且通过任何途径摄入的 SAs 会在人体中蓄积，导致许多细菌产生抗药性，对人类的身体健康产生很大的危害，可能导致甲状腺致癌的可能性，过敏和抗药性。国际食品法典委员会（CAC）和欧美等大多数国家也规定食品和饲料中的 SAs 总量，我国的《农业部 2002 年第 235 号公告》同样规定了磺胺类药物的最大残留量，同时也出台了相关检测标准，如《GB/T 21316-2007 动物源性食品中磺胺类药物残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》、《农业部 1025 号公告-23-2008 动物源食品中磺胺类药物残留检测液相色谱-串联质谱法》等。因此，本文参考《GB/T 21316-2007 动物源性食品中磺胺类药物残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》建立了使用谱育科技的超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪测定水产品中 10 种磺胺类药物的检测方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

10 种磺胺类混标：购自上海安谱，于-20℃冰箱保存。

试剂：乙腈、正丙醇、正己烷和水为色谱级；硅藻土：化学纯；无水硫酸钠：优级纯；甲酸为 LC-MS 级，纯度为 98%。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	0.1%甲酸水 (A) 和乙腈 (B), 梯度洗脱		
	流速	0.3 mL/min		
	色谱柱	Waters BEH C18(2.1*100mm, 1.7um)		
	进样量	满环进样, 20 uL		
	柱温	40°C		
	运行时间	7min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	95	5	
	4	5	95	
	5	5	95	
	5.1	95	5	
	7	95	5	
MS 条件	运行模式	正离子模式		
	雾化气流量	1.4L/min		
	去溶剂气流量	4L/min		
	反吹气流量	2L/min		
	去溶剂气温度	500°C		
	碰撞气流量	0.45mL/min (5.8e-3Torr)		
	毛细管高压	4.8kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1 甲氧苄啶	291.15	230.05	0.03	50	28	Unit-Unit
2 甲氧苄啶	291.15	261.15	0.03	50	26	Unit-Unit
3 磺胺噻沙啉	301.15	155.95	0.03	50	16	Unit-Unit
4 磺胺噻沙啉	301.15	108.05	0.03	50	24	Unit-Unit
5 磺胺氟吡嗪	285.05	155.95	0.03	50	13	Unit-Unit
6 磺胺氟吡嗪	285.05	108.05	0.03	50	27	Unit-Unit
7 磺胺间甲氧嘧啶	281.15	156.05	0.03	50	19	Unit-Unit
8 磺胺间甲氧嘧啶	281.15	108.05	0.03	50	28	Unit-Unit
9 磺胺多辛	311.15	156.05	0.03	50	19	Unit-Unit
10 磺胺多辛	311.15	108.05	0.03	50	30	Unit-Unit
11 磺胺地索辛	311.15	156.05	0.03	50	23	Unit-Unit
12 磺胺地索辛	311.15	108.05	0.03	50	32	Unit-Unit
13 磺胺甲噁唑	254.05	156.05	0.03	50	16	Unit-Unit
14 磺胺甲噁唑	254.05	108.05	0.03	50	28	Unit-Unit
15 磺胺甲噁唑	265.05	156.05	0.03	50	18	Unit-Unit
16 磺胺甲噁唑	265.05	172.05	0.03	50	15	Unit-Unit
17 磺胺二甲嘧啶	279.15	156.05	0.03	50	19	Unit-Unit
18 磺胺二甲嘧啶	279.15	186.05	0.03	50	18	Unit-Unit
19 磺胺嘧啶	251.05	156.05	0.03	50	16	Unit-Unit
20 磺胺嘧啶	251.05	108.05	0.03	50	27	Unit-Unit

2.3 样品前处理

样品前处理方法：具体参考《GB/T 21316-2007 动物源性食品中磺胺类药物残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》。

3 结果

3.1 线性和检出限

用空白基质稀释得到一系列浓度的磺胺类药物标准品 (1ng/mL、5ng/mL、10ng/mL、20ng/mL、50ng/ml、100ng/ml)，按照上述方法进样，以各目标物的定量离子色谱峰面积 (Y)，目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标，权重系数为 1/x，采用外法拟合后的标准曲线如下图 1-图 10 所示。空白基质色谱图如图 11 所示，标准曲线最低点的定量离子图如图 12 所示，国标定量限为 10ug/kg，标曲最低点为 0.5ug/kg，且本实验的定量限完全符合《GB/T 21316-2007 动物源性食品中磺胺类药物残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》的要求。

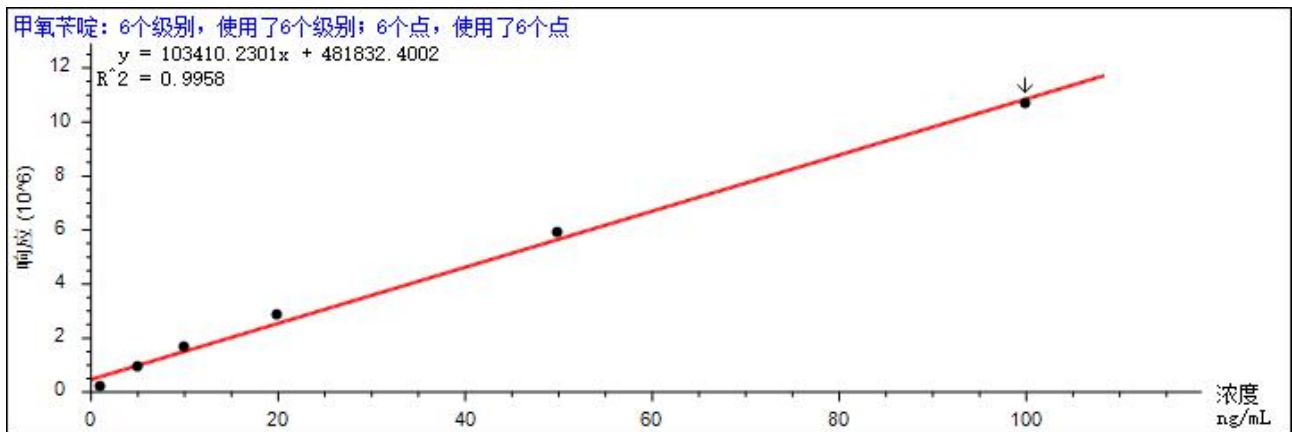


图 1 甲氧苄啶的标准曲线

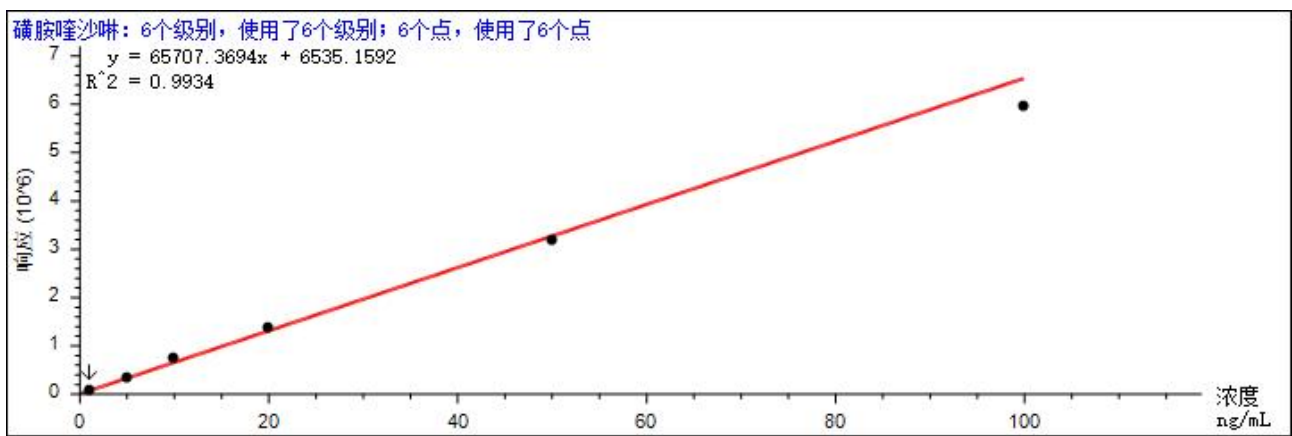


图 2 磺胺嘧啶的标准曲线

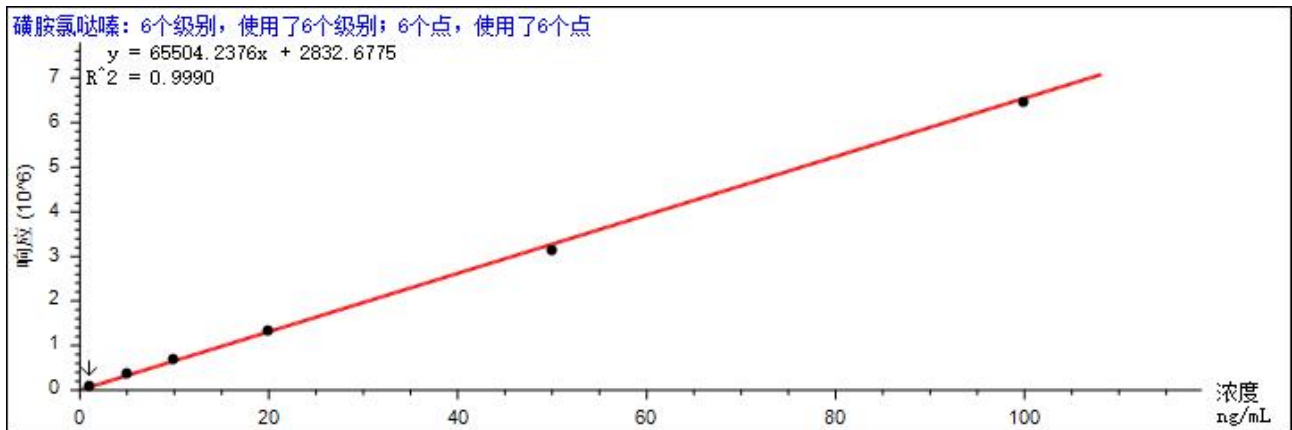


图 3 磺胺氯吡嗪的标准曲线

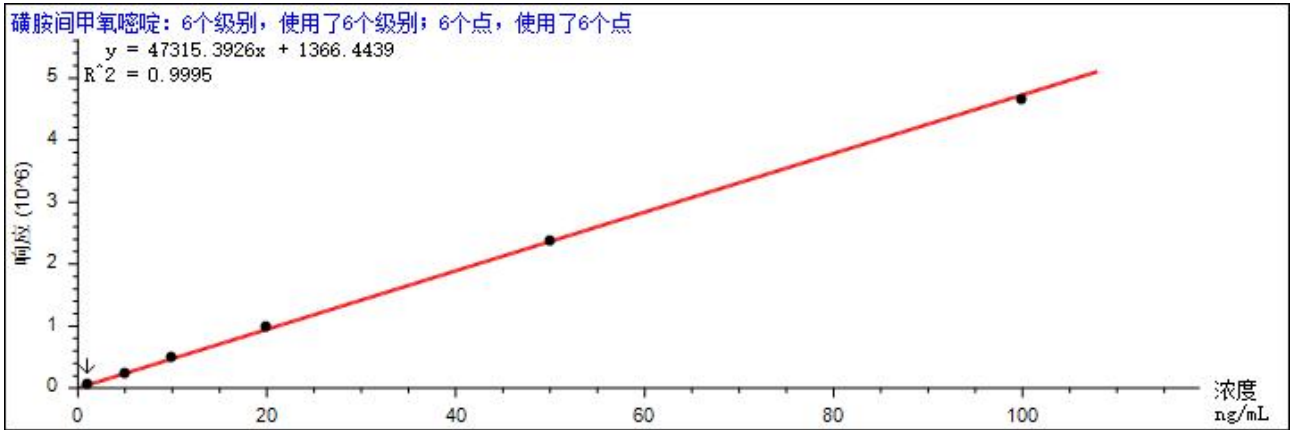


图 4 磺胺间甲氧嘧啶的标准曲线

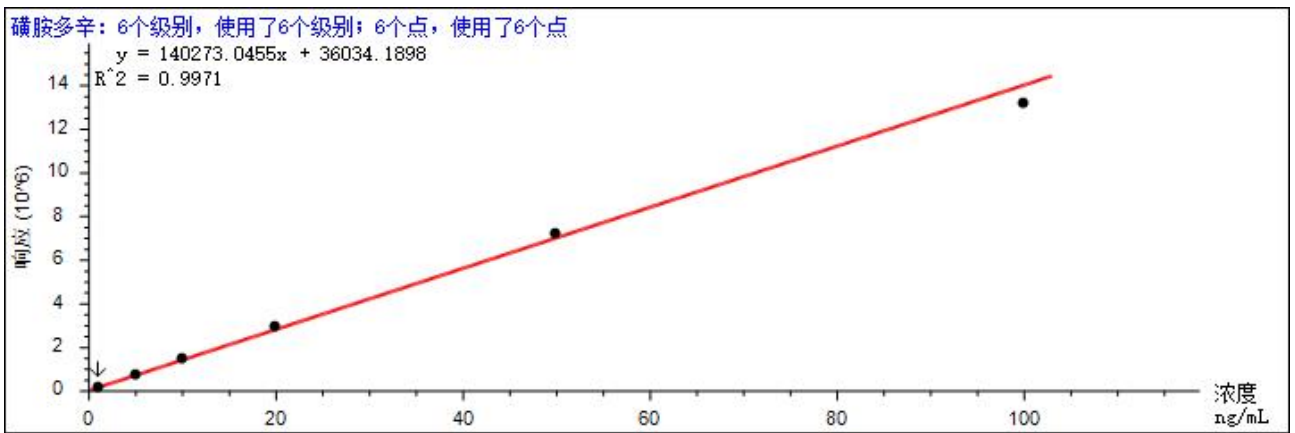


图 5 磺胺多辛的标准曲线

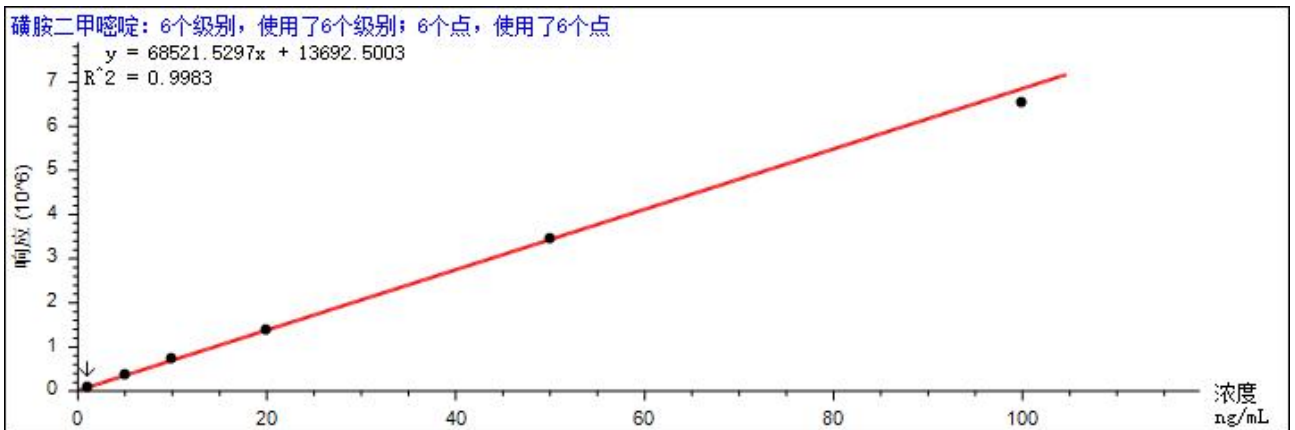


图 6 磺胺二甲氧嘧啶的标准曲线

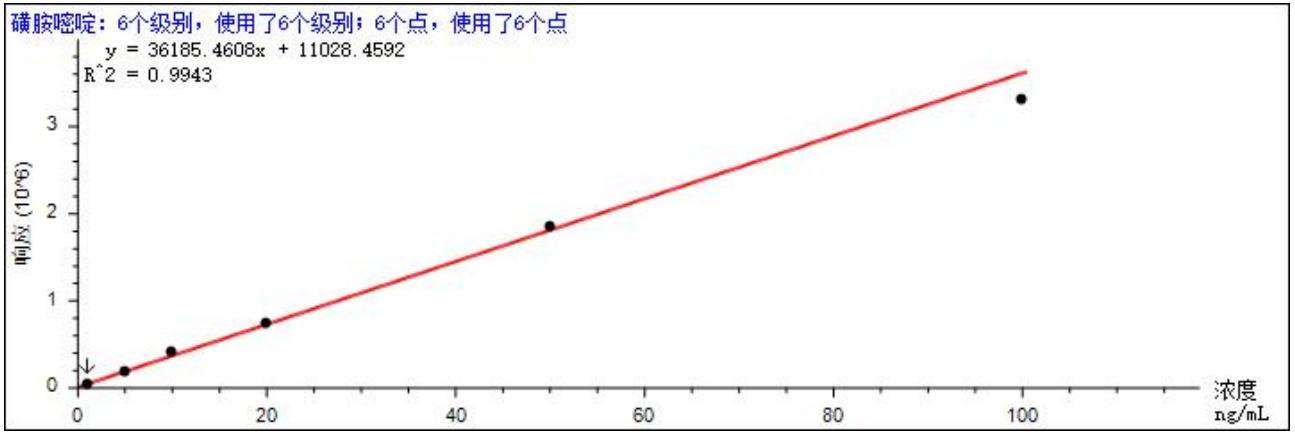


图 7 磺胺嘧啶的标准曲线

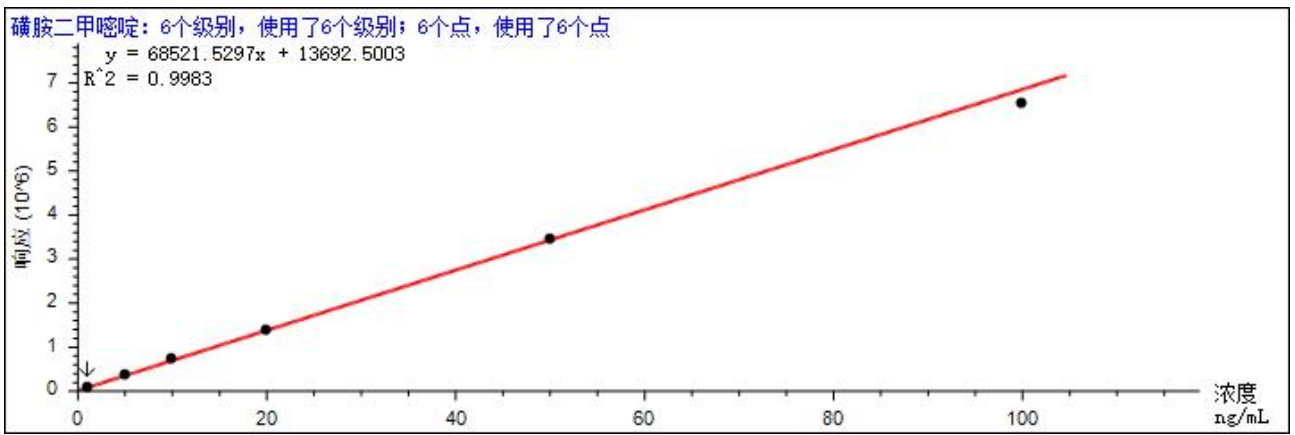


图 8 磺胺二甲嘧啶的标准曲线

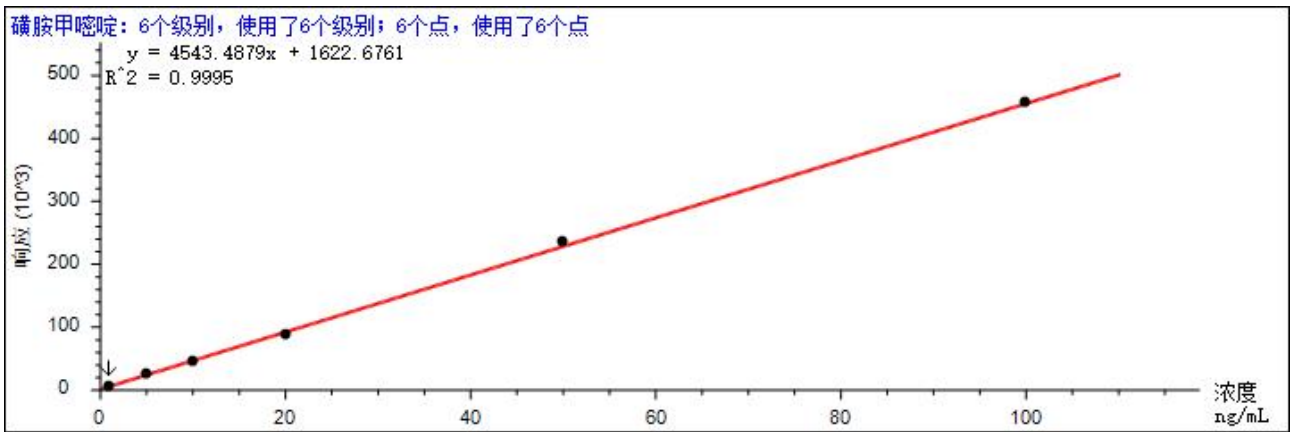


图 9 磺胺甲嘧啶的标准曲线

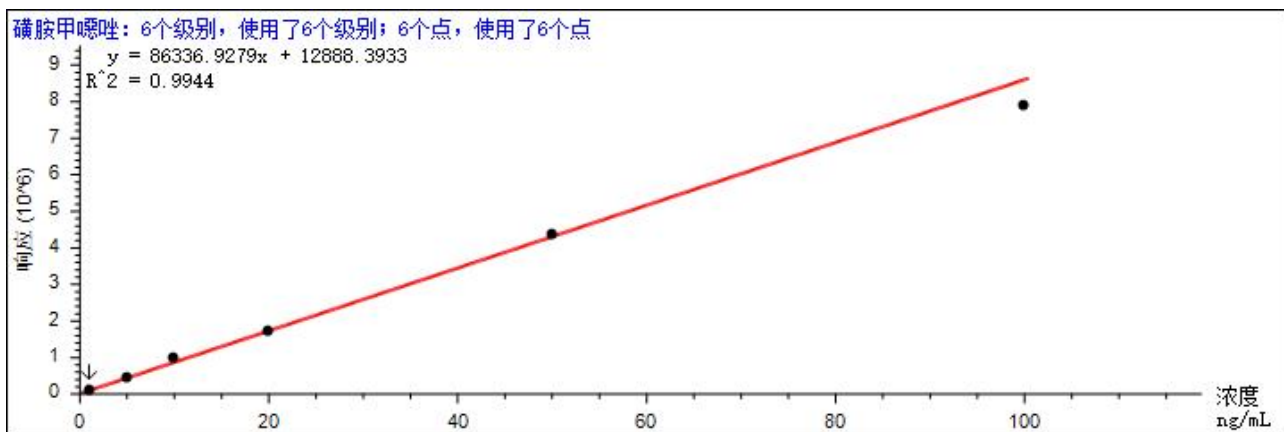


图 10 磺胺甲噁唑的标准曲线

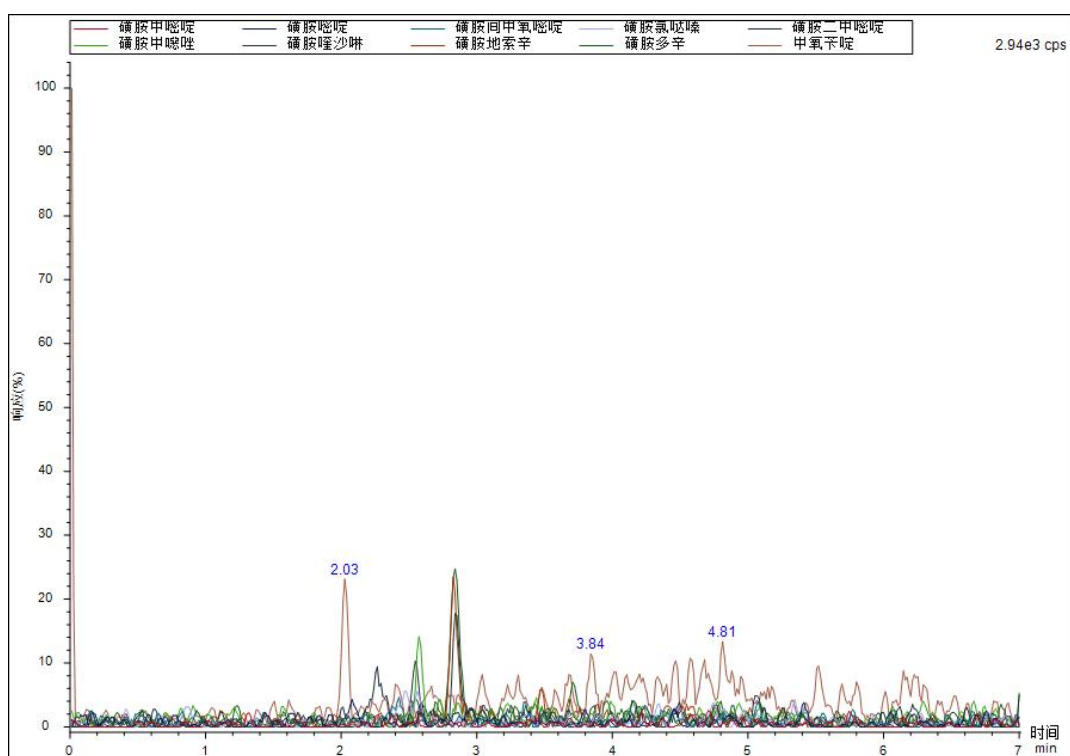


图 11 空白基质的色谱图

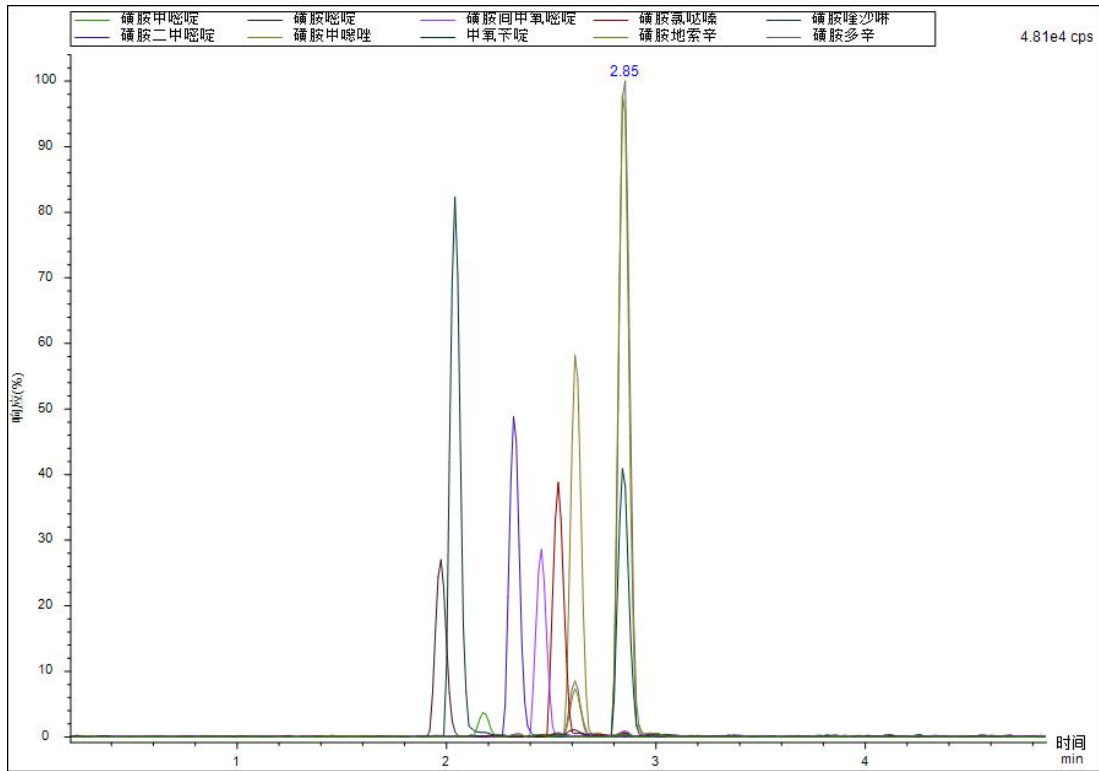


图 12 磺胺类药物的定量限的色谱图 (1ng/ml)

3.2 重复性

分别配置 1 ng/mL 和 20 ng/mL 不同浓度对照品，分别连续进样 6 次，考察保留时间和响应的重复性，结果如下所示。

1ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.19%-0.32%和 2.91%-5.98%。

样品信息		甲氧干啶		磺胺噻沙啶		磺胺氯吡啶		磺胺间甲氧嘧啶		磺胺多辛		磺胺地索辛		磺胺甲噁唑		磺胺二甲噁啶		磺胺嘧啶		
数据文件	定量方法	保留时间	响应	保留时间	响应	保留时间	响应	保留时间	响应	保留时间	响应	保留时间	响应	保留时间	响应	保留时间	响应	保留时间	响应	
1	SS20729006+1	HA	2.04	184415.10	2.85	73669.32	2.53	64373.28	2.45	48545.98	2.85	162873.30	2.85	55574.06	2.63	86943.73	2.19	5320.63	2.33	81406.97
2	SS20729006+2	HA	2.04	185253.20	2.85	75445.83	2.53	66134.55	2.45	51328.21	2.85	166747.60	2.85	57085.79	2.63	92219.95	2.17	4615.87	2.33	75871.72
3	SS20729006+3	HA	2.05	178813.20	2.85	73671.25	2.53	70898.35	2.45	51729.47	2.85	166002.80	2.85	59955.00	2.63	85960.89	2.19	5291.63	2.33	82752.99
4	SS20729006+4	HA	2.04	199044.00	2.84	75798.19	2.53	66316.13	2.45	51519.95	2.85	151280.20	2.84	55319.43	2.61	99247.28	2.19	4813.96	2.32	74441.23
5	SS20729006+5	HA	2.04	182003.60	2.85	67167.11	2.53	70022.79	2.45	48793.61	2.85	161902.50	2.85	57333.04	2.63	88108.83	2.19	5309.20	2.33	79927.59
6	SS20729006+6	HA	2.04	184082.40	2.84	71581.02	2.53	68036.77	2.45	52958.68	2.84	156197.00	2.84	57330.15	2.61	96627.59	2.17	4749.20	2.32	77347.24
Min			2.04	178813.20	2.84	67167.11	2.53	64373.28	2.45	48545.98	2.84	151280.20	2.84	55319.43	2.61	85960.89	2.17	4615.87	2.32	74441.23
Max			2.05	199044.00	2.85	75798.19	2.53	70898.35	2.45	52958.68	2.85	166747.60	2.85	59955.00	2.63	99247.28	2.19	5320.63	2.33	82752.99
AVG			2.04	185601.90	2.85	72888.79	2.53	67630.31	2.45	50812.65	2.85	160833.90	2.85	57099.58	2.62	91518.05	2.18	5016.75	2.33	78624.63
SD			0.01	6979.46	0.01	3183.47	0.00	2495.67	0.00	1756.50	0.01	5996.07	0.01	1658.76	0.01	5473.03	0.01	324.60	0.01	3261.71
RSD			0.27	3.76	0.24	4.37	0.00	3.69	0.00	3.46	0.19	3.73	0.24	2.91	0.26	5.98	0.32	6.47	0.30	4.15
IDL			0.01	0.13	0.01	0.15	0.00	0.12	0.00	0.12	0.01	0.13	0.01	0.10	0.01	0.20	0.01	0.22	0.01	0.14

20ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.00%-0.19%和 1.25%-5.84%。

样品信息		甲氧干啶		磺胺噻沙啶		磺胺氯吡啶		磺胺间甲氧嘧啶		磺胺多辛		磺胺地索辛		磺胺甲噁唑		磺胺二甲噁啶		磺胺嘧啶		
数据文件	定量方法	保留时间	响应	保留时间	响应	保留时间	响应	保留时间	响应	保留时间	响应	保留时间	响应	保留时间	响应	保留时间	响应	保留时间	响应	
1	SS20729006+7	HA	2.04	2894152.00	2.84	1352855.00	2.53	1264146.00	2.45	984499.40	2.84	2907526.00	2.84	1096271.00	2.61	1701322.00	2.17	96025.96	2.32	1473613.00
2	SS20729006+8	HA	2.04	2794320.00	2.84	1329201.00	2.53	1277386.00	2.45	923251.30	2.84	3036223.00	2.84	1086503.00	2.61	1827326.00	2.17	88304.07	2.32	1297411.00
3	SS20729006+9	HA	2.04	3010086.00	2.84	1377353.00	2.53	1299373.00	2.45	960455.00	2.85	2742696.00	2.84	1093243.00	2.61	1766646.00	2.17	89381.52	2.32	1449701.00
4	SS20729006+10	HA	2.04	2946021.00	2.84	1316290.00	2.53	1275857.00	2.45	972628.90	2.84	3004272.00	2.84	1024337.00	2.61	1778651.00	2.17	89914.23	2.32	1444818.00
5	SS20729006+11	HA	2.04	2837703.00	2.84	1312478.00	2.53	1292483.00	2.45	987549.50	2.84	2832345.00	2.84	1073182.00	2.61	1834158.00	2.17	92481.20	2.32	1557589.00
6	SS20729006+12	HA	2.04	2913930.00	2.84	1311638.00	2.53	1257874.00	2.45	952595.30	2.84	2845769.00	2.84	1067928.00	2.61	1703063.00	2.17	87417.72	2.32	1429108.00
Min			2.04	2794320.00	2.84	1311638.00	2.53	1257874.00	2.45	923251.30	2.84	2742696.00	2.84	1024337.00	2.61	1701322.00	2.17	87417.72	2.32	1297411.00
Max			2.04	3010086.00	2.84	1377353.00	2.53	1299373.00	2.45	987549.50	2.85	3036223.00	2.84	1096271.00	2.61	1834158.00	2.17	96025.96	2.32	1557589.00
AVG			2.04	2899369.00	2.84	1333303.00	2.53	1277853.00	2.45	963496.60	2.84	2894805.00	2.84	1073577.00	2.61	1768528.00	2.17	90587.45	2.32	1442040.00
SD			0.00	76826.94	0.00	26578.20	0.00	15927.28	0.00	23878.15	0.01	110983.00	0.00	26553.70	0.00	57745.70	0.00	3172.77	0.00	84261.05
RSD			0.00	2.65	0.00	1.99	0.00	1.25	0.00	2.48	0.19	3.83	0.00	2.47	0.00	3.27	0.00	3.50	0.00	5.84
IDL			0.00	1.78	0.00	1.34	0.00	0.84	0.00	1.67	0.13	2.58	0.00	1.66	0.00	2.20	0.00	2.36	0.00	3.93

可知所有化合物的保留时间和峰面积均在 5.98%以下，精密度较好。

4 结论

水产品样品经提取、净化等前处理过程，使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度、灵敏度等，结果表明：磺胺类药物在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.99；方法精密度在 5.98%以内，灵敏度符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对水产品中磺胺类药物的残留进行灵敏、准确的定量检测。

五、LC-MS/MS 法测定带鱼中氯霉素类化合物

参考标准：《GB/T 22338-2008》

1 前言

氯霉素、甲矾霉素和氟甲矾霉素（氟苯尼考）是抗生素，具有广谱抗菌作用，常被用作动物饲料中的添加剂。但氯霉素类化合物有毒性，在 2019 年氯霉素被列入食品动物中禁止使用的药品及其他化合物清单。国家标准《GB/T 22338-2008 动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定》中使用液相色谱-串联质谱法测定水产品中氯霉素类化合物。本文参考《GB/T 22338-2008 动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定》，使用杭州谱育科技发展有限公司生产的超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪测定水产带鱼中氯霉素类化合物的残留量。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品：氯霉素、甲矾霉素、氟苯尼考（氟甲矾霉素）和氯霉素-D5 标准品（100mg/L 于甲醇）购自安谱，-20℃冰箱保存。试剂：乙腈、正己烷、正丙醇和丙酮为色谱级，CNWBOND Si 硅胶 SPE 小柱购自安谱。



图 1 超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪

2.2 液相和质谱条件

表 1 测试条件

LC 条件	流动相	A :水, B:乙腈 梯度洗脱		
	流速	0.3 mL/min		
	色谱柱	Waters BEH C18 (100*2.1mm,1.7um)		
	进样量	满环进样, 20uL		
	柱温	40°C		
	运行时间	6min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	90	10	
	4	0	100	
	4.4	0	100	
	4.5	90	10	
	6	90	10	
MS 条件	毛细管高压	4.3kV		
	去溶剂气温度	450°C		
	雾化气流量	1.2L/min		
	去溶剂气流量	6.0L/min		
	反吹气流量	1.0L/min		
	碰撞气流量	0.5mL/min (5.76e-3Torr)		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。

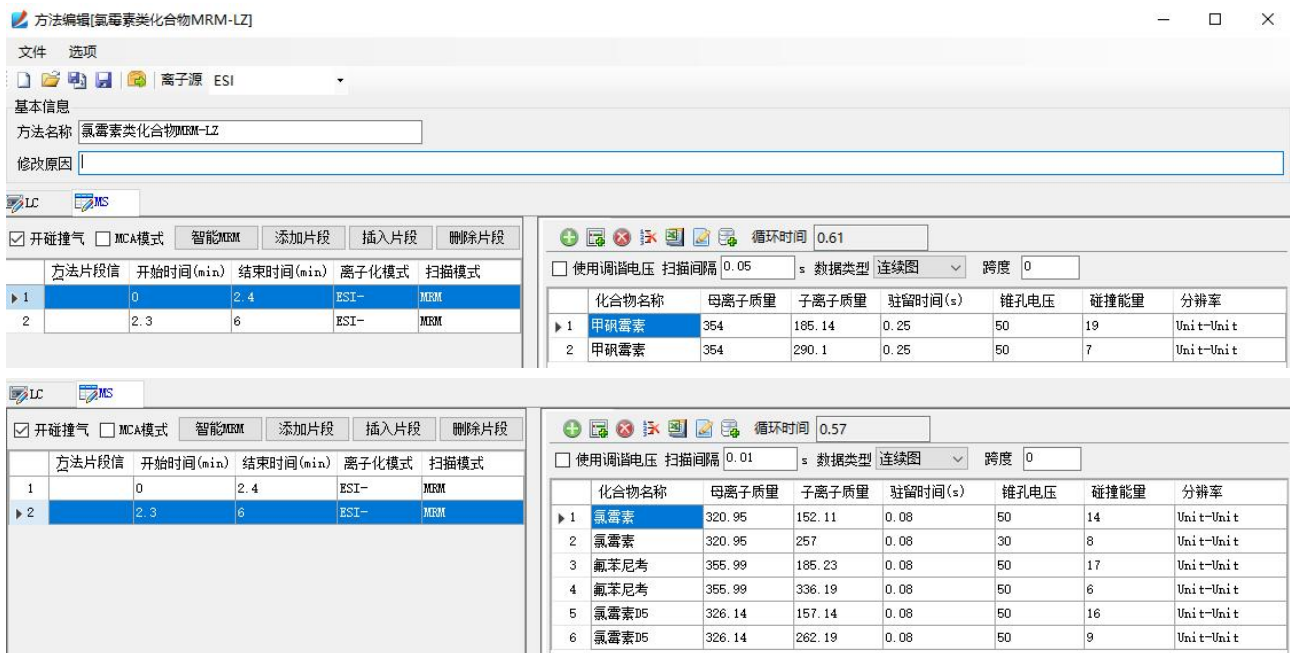


图 2 目标化合物多反应离子监测条件

2.3 样品前处理

样品前处理方法：具体参考国标《GB/T 22338-2008 动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定》中液相色谱-串联质谱法。

3 结果

3.1 线性

参照国标《GB/T 22338-2008 动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定》中液相色谱-串联质谱法处理带鱼空白基质，用带鱼空白基质溶液稀释得到一系列浓度的氯霉素类化合物标准溶液 (0.1 ng/mL、0.25 ng/mL、0.5 ng/mL、1 ng/mL、2.5 ng/mL、5 ng/mL)，氯霉素采用内标法定量，按照上述方法进样，以各目标物的定量离子色谱峰面积与内标的定量离子色谱峰面积之比 (Y) 为纵坐标，目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标，甲砒霉素和氟甲砒霉素采用外标法定量，采用该方法拟合后的标准曲线如图 3 所示，标准曲线最低点的离子通道色谱图如图 4 所示，带鱼空白基质离子通道色谱图如图 5 所示。

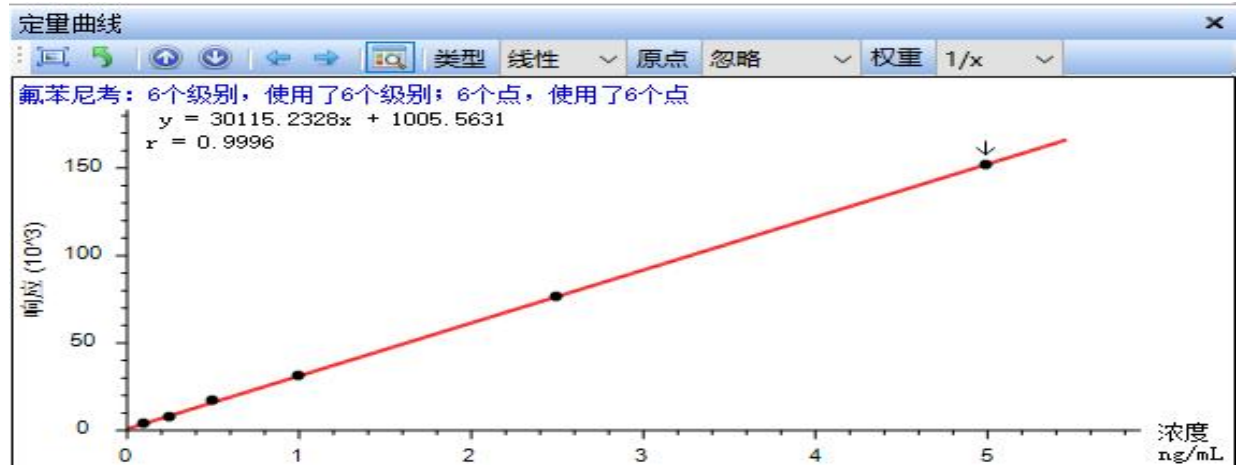
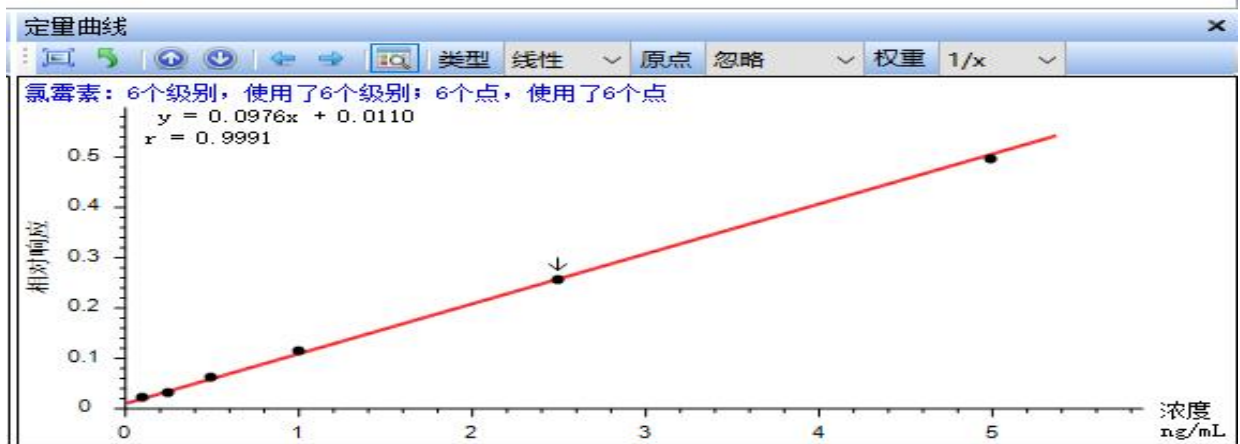
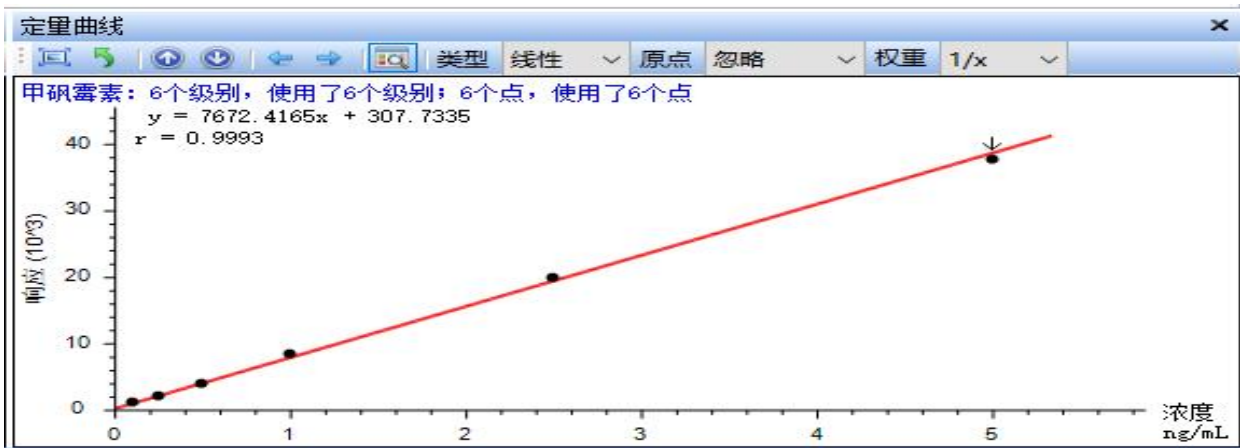


图3 氯霉素类化合物的标准曲线

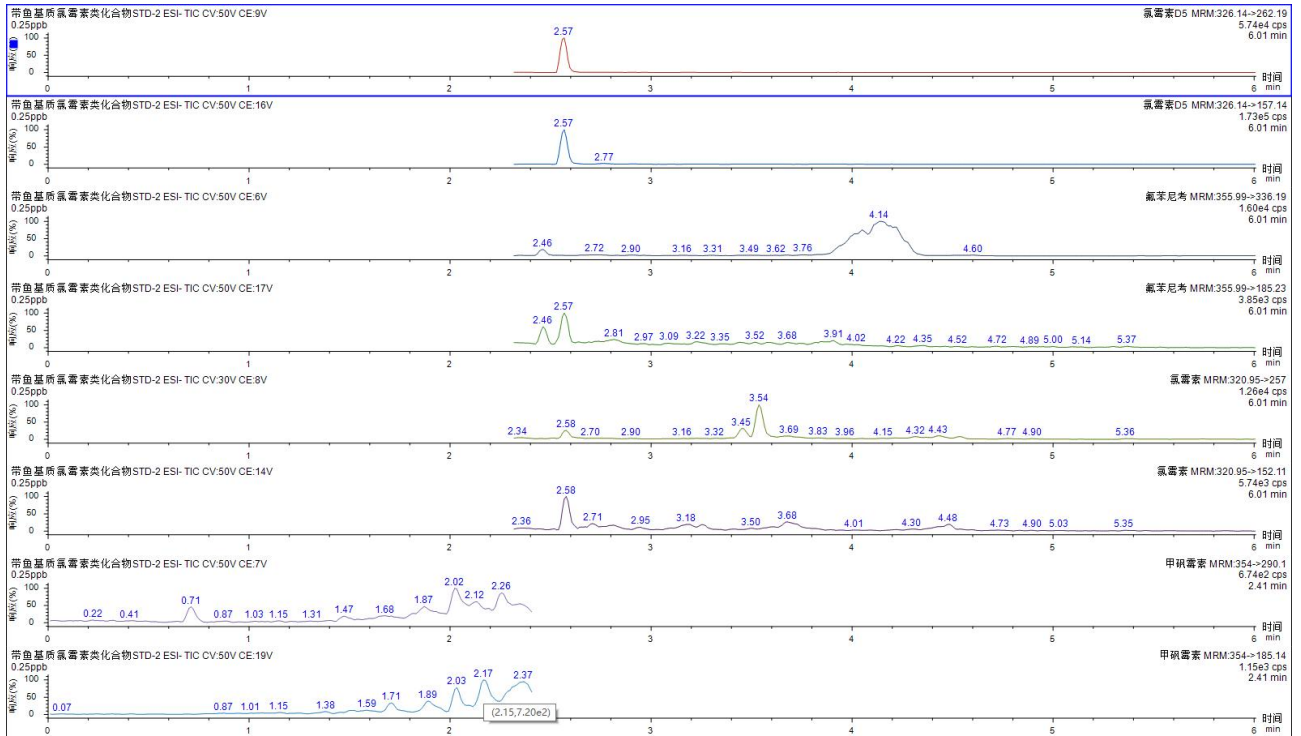
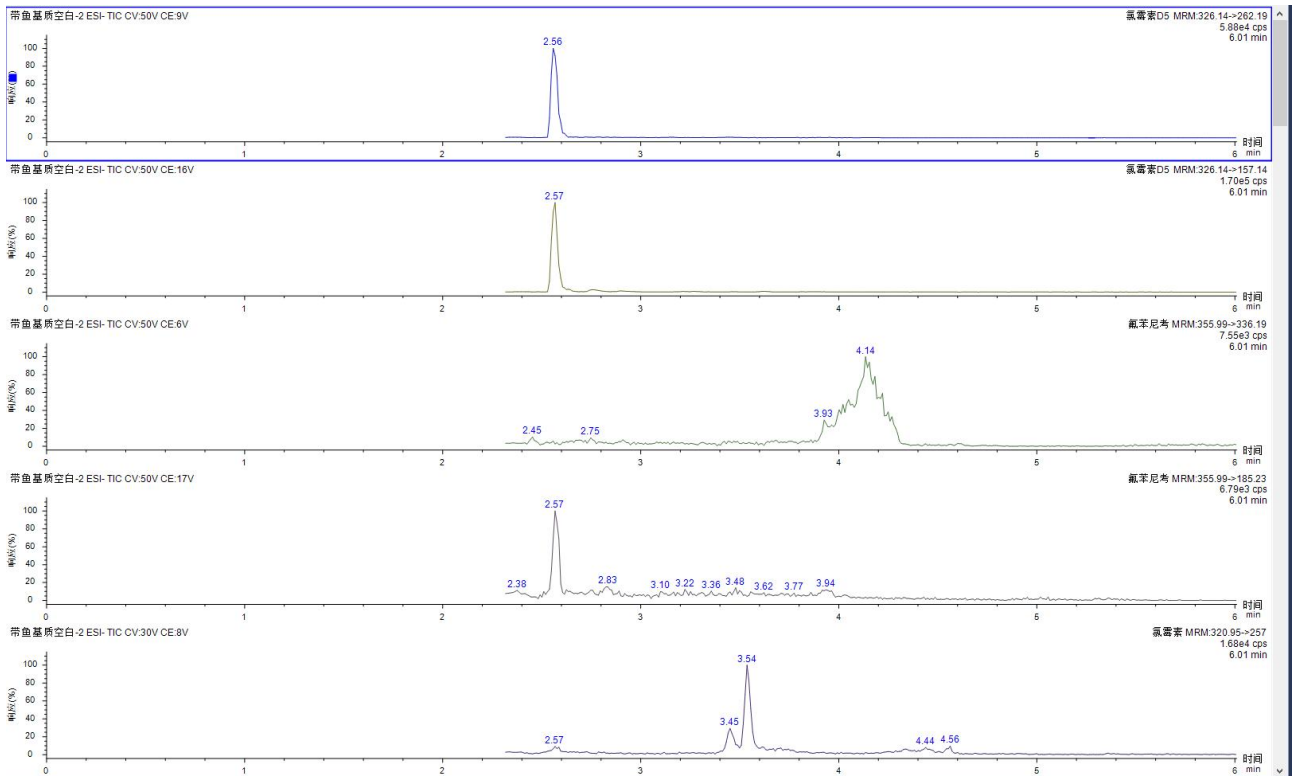


图 4 氯霉素类化合物标准曲线最低点离子通道色谱图



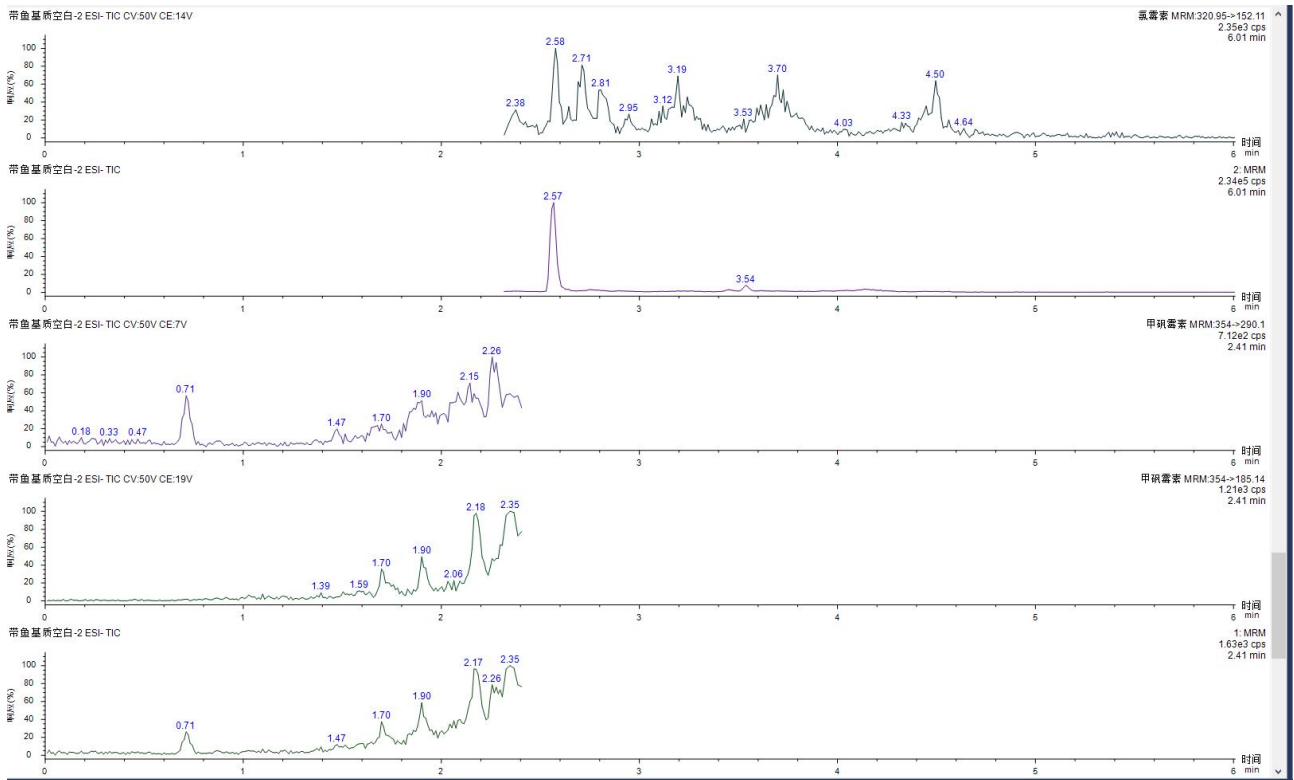


图 5 带鱼空白基质离子通道色谱图

3.2 重复性

分别配置不同浓度对照品溶液，分别连续进样 10 次，考察保留时间和响应的重复性，结果如下所示。

0.1 ng/mL (氯霉素类化合物) 重复性：甲矾霉素保留时间和响应的 RSD 值分别为 0.00% 和 3.82%；氯霉素保留时间、响应和相对响应的 RSD 值分别为 0.00%、5.07%和 4.18%；氟苯尼考保留时间和响应的 RSD 值分别为 0.00%和 5.88%；氯霉素-D5 保留时间和响应的 RSD 值分别为 0.00%和 5.05%。

批处理类	定性分析	定量方法	进库管理	检测管理	帮助	甲矾霉素				氯霉素			氯霉素-D5					
						保留时间	半峰宽	峰高	峰面积	峰高	峰面积	峰高	峰面积	峰高	峰面积	峰高	峰面积	
1	472830531	20210525氯霉素类化合物_氯霉素类化合物0.1ppb-1	2021-05-25 11:18	氯霉素类化合物标准-0525	2.07	0.04	6607.19	2.62	0.05	29420.51	0.01	2.51	0.05	12615.62	2.61	0.05	2674935.20	10.0000
2	473223015	20210525氯霉素类化合物_氯霉素类化合物0.1ppb-2	2021-05-25 11:18	氯霉素类化合物标准-0525	2.07	0.04	5966.98	2.62	0.05	32720.74	0.01	2.51	0.05	13442.40	2.61	0.05	2629127.00	10.0000
3	472449062	20210525氯霉素类化合物_氯霉素类化合物0.1ppb-3-1	2021-05-25 11:12	氯霉素类化合物标准-0525	2.07	0.04	6378.41	2.62	0.05	30935.69	0.01	2.51	0.05	13104.68	2.61	0.05	2589133.00	10.0000
4	473997812	20210525氯霉素类化合物_氯霉素类化合物0.1ppb-4	2021-05-25 11:38	氯霉素类化合物标准-0525	2.07	0.04	6590.57	2.62	0.05	30445.30	0.01	2.51	0.05	12198.21	2.61	0.05	2447037.00	10.0000
5	474385312	20210525氯霉素类化合物_氯霉素类化合物0.1ppb-5	2021-05-25 11:44	氯霉素类化合物标准-0525	2.07	0.04	6545.55	2.62	0.05	30784.58	0.01	2.51	0.05	13891.50	2.61	0.05	2613270.00	10.0000
6	474772494	20210525氯霉素类化合物_氯霉素类化合物0.1ppb-6	2021-05-25 11:50	氯霉素类化合物标准-0525	2.07	0.04	6618.46	2.62	0.05	33653.77	0.01	2.51	0.05	13877.89	2.61	0.05	2576099.00	10.0000
7	475150994	20210525氯霉素类化合物_氯霉素类化合物0.1ppb-7	2021-05-25 11:57	氯霉素类化合物标准-0525	2.07	0.04	6397.07	2.62	0.05	29156.00	0.01	2.51	0.05	13024.54	2.61	0.05	2318714.00	10.0000
8	475545625	20210525氯霉素类化合物_氯霉素类化合物0.1ppb-8	2021-05-25 12:03	氯霉素类化合物标准-0525	2.07	0.04	6694.92	2.62	0.05	29360.69	0.01	2.51	0.05	14251.55	2.61	0.05	2305509.00	10.0000
9	475932531	20210525氯霉素类化合物_氯霉素类化合物0.1ppb-9	2021-05-25 12:10	氯霉素类化合物标准-0525	2.07	0.04	6682.37	2.62	0.05	29698.86	0.01	2.51	0.05	11920.08	2.61	0.05	2517515.00	10.0000
10	476320015	20210525氯霉素类化合物_氯霉素类化合物0.1ppb-10	2021-05-25 12:16	氯霉素类化合物标准-0525	2.07	0.04	6847.88	2.62	0.05	32283.01	0.01	2.51	0.05	13944.85	2.61	0.05	2672804.00	10.0000
Min					2.07	0.04	5966.98	2.62	0.05	29156.00	0.01	2.51	0.05	11920.08	2.61	0.05	2305509.00	10.0000
Max					2.07	0.04	6847.88	2.62	0.05	33653.77	0.01	2.51	0.05	14251.55	2.61	0.05	2672804.00	10.0000
AVG					2.07	0.04	6523.94	2.62	0.05	30845.91	0.01	2.51	0.05	13247.13	2.61	0.05	2523805.00	10.0000
SD					0.00	0.00	249.10	0.00	0.00	1865.10	0.00	0.00	0.00	779.15	0.00	0.00	127290.20	0.0000
RSD					0.00	0.00	3.82	0.00	0.00	5.07	4.18	0.00	0.00	2.94	3.96	0.00	1.11	5.05
IDL					0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.0000

0.5 ng/mL (氯霉素类化合物) 重复性：甲矾霉素保留时间和响应的 RSD 值分别为 0.00% 和 3.17%；氯霉素保留时间、响应和相对响应的 RSD 值分别为 0.00%、4.08%和 4.54%；氟

苯尼考保留时间和响应的 RSD 值分别为 0.00%和 6.54%；氯霉素-D5 保留时间和响应的 RSD 值分别为 0.00%和 2.57%。

Id	数据文件	采集时间	定量方法	甲砒霉素			氯霉素			氟苯尼考			氯霉素D5			
				保留时间	半峰宽	响应	保留时间	半峰宽	响应	保留时间	半峰宽	响应	保留时间	半峰宽	响应	
1	477482562	20210525	2021-05-25 12:36	2.07	0.04	34919.34	2.62	0.05	98371.86	0.04	2.51	0.05	63884.32	2.61	0.05	2631186.00
2	477870203	20210525	2021-05-25 12:42	2.07	0.04	33475.21	2.62	0.05	98037.66	0.04	2.51	0.05	67234.77	2.61	0.05	2615510.00
3	478258281	20210525	2021-05-25 12:49	2.07	0.04	33457.95	2.62	0.05	94559.74	0.03	2.51	0.05	59066.23	2.61	0.05	2715297.00
4	478645359	20210525	2021-05-25 12:55	2.07	0.04	35435.00	2.62	0.05	99620.02	0.04	2.51	0.05	70842.35	2.61	0.05	2556690.00
5	479032109	20210525	2021-05-25 13:01	2.07	0.04	33016.14	2.62	0.05	94747.49	0.04	2.51	0.05	65414.22	2.61	0.05	2549776.00
6	479418640	20210525	2021-05-25 13:08	2.07	0.04	33715.94	2.62	0.05	102531.60	0.04	2.51	0.05	72130.74	2.61	0.05	2759602.00
7	479805343	20210525	2021-05-25 13:14	2.07	0.04	33267.23	2.62	0.05	108783.80	0.04	2.51	0.05	64185.45	2.61	0.05	2620326.00
8	480192093	20210525	2021-05-25 13:21	2.07	0.04	34988.19	2.62	0.05	100803.00	0.04	2.51	0.05	61250.41	2.61	0.05	2698499.00
9	480579890	20210525	2021-05-25 13:27	2.07	0.04	32704.05	2.62	0.05	99490.56	0.04	2.51	0.05	64373.62	2.61	0.05	2688865.00
10	480968031	20210525	2021-05-25 13:34	2.07	0.04	34141.32	2.62	0.05	101388.40	0.04	2.51	0.05	60324.52	2.61	0.05	2714430.00
Min				2.07	0.04	32016.14	2.62	0.05	94559.74	0.03	2.51	0.05	59066.23	2.61	0.05	2549776.00
Max				2.07	0.04	35435.00	2.62	0.05	108783.80	0.04	2.51	0.05	72130.74	2.61	0.05	2750662.00
AVG				2.07	0.04	33812.04	2.62	0.05	99845.41	0.04	2.51	0.05	65070.06	2.61	0.05	2641138.00
SD				0.00	0.00	1072.36	0.00	0.00	4077.86	0.00	0.00	0.00	4257.48	0.00	0.00	68003.02
RSD				0.00	1.98	3.17	0.00	0.45	4.08	4.54	0.00	1.55	6.54	0.00	0.71	2.57
EW				0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

可知所有化合物的保留时间和峰面积的精密度较好。

3.3 加标回收率

取带鱼空白基质样品，分别加入一定量的氯霉素类化合物标准物质，同带鱼供试品溶液的制备方法前处理。前处理后带鱼基质中氯霉素类化合物的加标浓度分别为 0.25 ng/mL、0.5 ng/mL 和 1 ng/mL，将氯霉素类化合物的峰面积代入标准工作曲线的到计算浓度，计算浓度与加标浓度的比值即为回收率。

Id	数据文件	采集时间	定量方法	甲砒霉素			氯霉素			氟苯尼考			氯霉素D5				
				保留时间	响应	计算浓度	回收率	保留时间	响应	计算浓度	回收率	保留时间	响应	计算浓度	回收率		
1	69035109	20210610	2021-06-10 18:56	2.03	2034.87	0.23	90.42	2.58	9580.34	0.20	78.31	2.46	6678.98	0.19	76.41	2.57	323942.00
2	69422015	20210610	2021-06-10 19:02	2.03	2000.55	0.22	88.63	2.58	9353.34	0.21	84.88	2.46	6938.76	0.20	79.74	2.57	299729.40
3	69808750	20210610	2021-06-10 19:09	2.03	2041.86	0.23	90.78	2.58	9447.00	0.21	83.84	2.46	6811.36	0.20	78.10	2.57	305267.90
4	70195171	20210610	2021-06-10 19:15	2.03	2082.59	0.23	92.90	2.58	8407.65	0.19	75.54	2.46	6741.22	0.19	77.20	2.57	291046.40

Id	数据文件	采集时间	定量方法	甲砒霉素			氯霉素			氟苯尼考			氯霉素D5				
				保留时间	响应	计算浓度	回收率	保留时间	响应	计算浓度	回收率	保留时间	响应	计算浓度	回收率		
1	70582562	20210610	2021-06-10 19:22	2.03	3503.61	0.42	83.39	2.58	15847.92	0.45	90.09	2.46	12022.32	0.36	72.48	2.57	288935.80
2	70969656	20210610	2021-06-10 19:28	2.03	3620.88	0.43	86.44	2.58	16249.38	0.52	103.07	2.46	12244.18	0.37	73.91	2.57	265127.50
3	71356843	20210610	2021-06-10 19:35	2.03	3374.36	0.40	80.03	2.58	13657.98	0.44	87.82	2.46	11910.96	0.36	71.77	2.57	254228.80
4	71743703	20210610	2021-06-10 19:41	2.03	3541.27	0.42	84.37	2.58	13592.44	0.46	92.66	2.46	11720.41	0.35	70.55	2.57	242174.90

Id	数据文件	采集时间	定量方法	甲砒霉素			氯霉素			氟苯尼考			氯霉素D5				
				保留时间	响应	计算浓度	回收率	保留时间	响应	计算浓度	回收率	保留时间	响应	计算浓度	回收率		
1	74454984	20210610	2021-06-10 20:26	2.03	7707.67	0.96	96.31	2.59	25843.35	1.01	101.28	2.46	18621.06	0.57	82.01	2.57	233543.80
2	74841281	20210610	2021-06-10 20:33	2.03	8144.85	1.02	102.03	2.59	25892.80	1.02	101.57	2.46	16739.39	0.51	73.39	2.57	233391.40
3	75229546	20210610	2021-06-10 20:39	2.03	7363.92	0.92	91.88	2.59	26668.70	1.07	106.50	2.46	18960.14	0.58	83.57	2.57	230223.50
4	75617781	20210610	2021-06-10 20:46	2.03	7561.15	0.94	94.44	2.58	24280.08	0.94	94.44	2.47	18465.62	0.57	81.30	2.57	233761.90

加标浓度为 0.25 ng/mL 时，甲砒霉素加标回收率为 88.63%~92.90%，氯霉素加标回收率为 75.54%~84.88%，氟苯尼考加标回收率为 76.41%~79.74%；加标浓度为 0.5 ng/mL 时，甲砒霉素加标回收率为 80.03%~86.44%，氯霉素加标回收率为 87.82%~103.07%，氟苯尼考加标回收率为 70.55%~73.91%；加标浓度为 1 ng/mL 时，甲砒霉素加标回收率为 91.88%~102.03%，氯霉素加标回收率为 94.44%~106.50%，氟苯尼考加标回收率为 73.39%~83.57%。

3.4 检出限

取 S/N=3 浓度的 2~5 倍配制溶液，连续 7 次平行测定，计算 7 次测定结果的标准偏差 SD，检出限 MDL=3.14*SD，测定下限为 4 倍 MDL，计算结果如下所示。

样品信息				甲砒霉素			氯霉素			氟苯尼考			氯霉素D5			
Id	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	响应	计算浓度	保留时间	响应	相对响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度
1	692683281	2021-05-28 00:22	氯霉素类化合物0.01ppb-1	2.07	1236.50	0.0080	2.62	3442.63	0.00	0.0104	2.51	2721.87	0.0167	2.61	3347341.00	10.0000
2	693070890	2021-05-28 00:29	氯霉素类化合物0.01ppb-2	2.07	1320.51	0.0085	2.62	3628.79	0.00	0.0098	2.51	2199.55	0.0135	2.61	3677539.00	10.0000
3	693457718	2021-05-28 00:35	氯霉素类化合物0.01ppb-3	2.07	1066.63	0.0069	2.62	3855.80	0.00	0.0109	2.51	2004.02	0.0123	2.61	3613360.00	10.0000
4	693845125	2021-05-28 00:42	氯霉素类化合物0.01ppb-4	2.07	1160.86	0.0075	2.62	3228.57	0.00	0.0088	2.51	1713.84	0.0105	2.61	3582771.00	10.0000
5	694232734	2021-05-28 00:48	氯霉素类化合物0.01ppb-5	2.07	1338.29	0.0086	2.62	3658.48	0.00	0.0103	2.51	1863.39	0.0114	2.61	3577777.00	10.0000
6	694620750	2021-05-28 00:55	氯霉素类化合物0.01ppb-6	2.07	1155.52	0.0074	2.62	3590.62	0.00	0.0101	2.51	1796.43	0.0110	2.61	3560262.00	10.0000
7	695008812	2021-05-28 01:01	氯霉素类化合物0.01ppb-7	2.07	1215.70	0.0078	2.62	3477.23	0.00	0.0093	2.51	2292.41	0.0140	2.61	3689260.00	10.0000
Min				2.07	1066.63	0.0069	2.62	3228.57	0.00	0.0088	2.51	1713.84	0.0105	2.61	3347341.00	10.0000
Max				2.07	1338.29	0.0086	2.62	3855.80	0.00	0.0109	2.51	2721.87	0.0167	2.61	3689260.00	10.0000
AVG				2.07	1213.43	0.0078	2.62	3594.59	0.00	0.0099	2.51	2084.50	0.0128	2.61	3578330.00	10.0000
SD				0.00	95.97	0.0006	0.00	197.12	0.00	0.0007	0.00	350.82	0.0021	0.00	113941.30	0.0000
RSD				0.00	7.91	7.9088	0.00	5.55	5.64	7.1241	0.00	16.83	16.8300	0.00	3.17	0.0000
IDL				0.00	0.00	0.0000	0.00	0.00	0.00	0.0000	0.00	0.00	0.0000	0.00	0.00	0.0000

表 2 氯霉素类化合物检出限和测定下限

化合物	检出限 (ng/mL)	测定下限 (ng/mL)
甲砒霉素	0.0019	0.0075
氯霉素	0.0022	0.0088
氟苯尼考	0.0066	0.026

本实验的检出限完全符合《GB/T 22338-2008 动物源性食品中氯霉素类药物残留量测定》的要求。

4 结论

水产带鱼样品经国标 GB/T22338-2008 前处理后, 使用 LC-MS/MS 系统测定氯霉素类化合物残留量。本文考察了方法的线性、重复性、加标回收率和检出限, 结果表明: 氯霉素类化合物在测定浓度范围内线性良好, 相关系数 r 均大于 0.999; 0.1 ng/mL 氯霉素类化合物重复性: 甲砒霉素保留时间和响应的 RSD 值分别为 0.00%和 3.82%; 氯霉素保留时间、响应和相对响应的 RSD 值分别为 0.00%、5.07%和 4.18%; 氟苯尼考保留时间和响应的 RSD 值分别为 0.00%和 5.88%; 氯霉素-D5 保留时间和响应的 RSD 值分别为 0.00%和 5.05%; 0.5 ng/mL 氯霉素类化合物重复性: 甲砒霉素保留时间和响应的 RSD 值分别为 0.00%和 3.17%; 氯霉素保留时间、响应和相对响应的 RSD 值分别为 0.00%、4.08%和 4.54%; 氟苯尼考保留时间和响应的 RSD 值分别为 0.00%和 6.54%; 氯霉素-D5 保留时间和响应的 RSD 值分别为 0.00%和 2.57%; 加标浓度为 0.25 ng/mL 时, 甲砒霉素加标回收率为 88.63%~92.90%, 氯霉素加标回收率为 75.54%~84.88%, 氟苯尼考加标回收率为 76.41%~79.74%; 加标浓度为 0.5 ng/mL 时, 甲砒霉素加标回收率为 80.03%~86.44%, 氯霉素加标回收率为 87.82%~103.07%, 氟苯尼考加标回收率为 70.55%~73.91%; 加标浓度为 1 ng/mL 时, 甲砒霉素加标回收率为 91.88%~102.03%, 氯霉素加标回收率为 94.44%~106.50%, 氟苯尼考加标回收率为

73.39%~83.57%；甲砒霉素检出限为 0.0019 ng/mL，氯霉素检出限为 0.0022 ng/mL，氟苯尼考检出限为 0.0066 ng/mL。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对动物源性食品中氯霉素类化合物残留量进行灵敏、准确的定量检测。

六、LC-MS/MS 法测定牛奶中四环素类兽药残留

参考标准：《GB/T 21317-2007》

1 前言

据统计，世界范围内四环素类药物在养殖动物中的使用占有兽用抗生素总量的 48%，尤其在欧洲、美洲和非洲地区市场占有率排名第一，在亚洲地区仅次于磺胺类药物。畜禽等在进入市场前需有一定时间的休药期，以便抗生素的代谢排出。不过鉴于层出不穷的抗生素污染，严重危害了人体健康。本文根据《GB/T 21317-2007 动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法与高效液相色谱法》标准，建立了使用谱育科技的超高效液相色谱—三重四极杆串联质谱仪测定牛奶中四环素类化合物的快速且高灵敏度的检测方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品：10 种四环素类化合物标准品均购自北京曼哈格生物科技有限公司，于-20℃冰箱保存。

试剂：乙腈和甲酸均为色谱级。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	乙腈 (A) 和 0.2%甲酸水溶液 (B) , 梯度洗脱		
	流速	0.3mL/min		
	色谱柱	Athene UHPLC C18 (2.1 x 100mm, 1.8 μ m)		
	进样量	20 μ L		
	运行时间	6min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	10	90	
	1	10	90	
	1.5	50	50	
	3.5	50	50	
	4	10	90	
	6	10	90	
MS 条件	运行模式	ESI 正离子模式		
	雾化气流量	1.1L/min		
	去溶剂气流量	5L/min		
	反吹气流量	0.5L/min		
	去溶剂气温度	375 $^{\circ}$ C		
	碰撞气流量	0.6mL/min		
	毛细管高压	4.8kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1 四环素	445.15	410.05	0.01	55	20	Unit-Unit
2 四环素	445.15	427.15	0.01	55	12	Unit-Unit
3 金霉素	479.15	444.05	0.01	55	22	Unit-Unit
4 金霉素	479.15	462.05	0.01	55	18	Unit-Unit
5 强力霉素	445.15	428.15	0.01	55	20	Unit-Unit
6 强力霉素	445.15	154.1	0.01	55	32	Unit-Unit
7 土霉素	461.15	426.05	0.01	55	20	Unit-Unit
8 土霉素	461.15	443.05	0.01	55	13	Unit-Unit
9 二甲胺四环素	458.16	352.16	0.05	55	32	Unit-Unit
10 二甲胺四环素	458.16	441.15	0.05	55	15	Unit-Unit
11 链向土霉素	461	444.26	0.01	55	25	Unit-Unit
12 链向土霉素	461	426.26	0.01	55	31	Unit-Unit
13 链向四环素	445.15	410	0.01	55	29	Unit-Unit
14 链向四环素	445.15	427	0.01	55	19	Unit-Unit
15 去甲基金霉素	465.05	448	0.05	55	21	Unit-Unit
16 去甲基金霉素	465.05	430	0.05	55	27	Unit-Unit
17 链向金霉素	479.15	462	0.01	55	27	Unit-Unit
18 链向金霉素	479.15	444	0.01	55	31	Unit-Unit
19 甲烯土霉素	443.05	426.21	0.01	55	15	Unit-Unit
20 甲烯土霉素	443.05	201.05	0.01	55	32	Unit-Unit

2.3 样品前处理

参照《GB/T 21317-2007 动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法与高效液相色谱法》。

3 结果

3.1 线性和检出限

用初始流动相稀释得到一系列浓度的 10 种四环素类化合物混标(50ng/mL、100ng/mL、150ng/mL、200ng/mL、400ng/mL)，按照上述方法进样，以各目标物的定量离子色谱峰面积为纵坐标(Y)，目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标，采用外标法拟合后的标准曲线如下图所示 1-图 10 所示。标准曲线最低的定量离子的色谱图如图 11 所示。计算 7 个空白样品的标准偏差 SD，根据检出限计算公式 $MDL=3.143SD$ 计算检出限，测定下限为 4 倍的检出限，结果如下表 1 所示。本实验的检出限完全符合《GB/T 21317-2007 动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法与高效液相色谱法》。

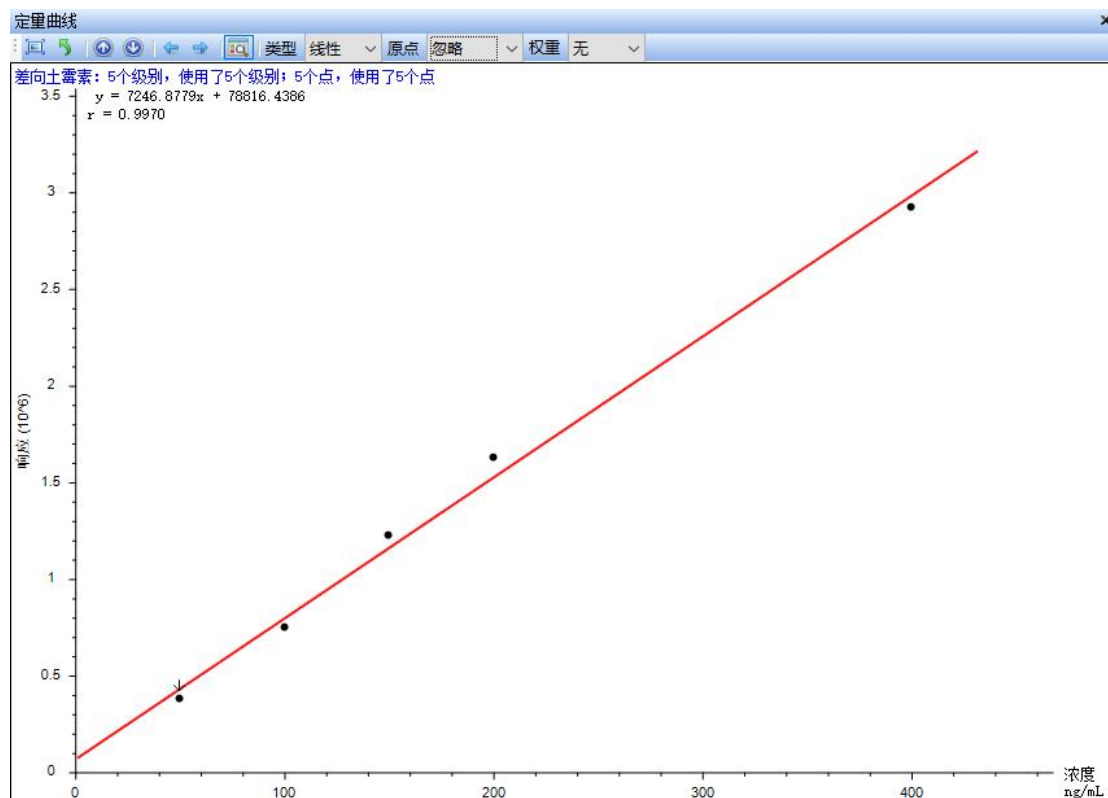


图 1 差向土霉素标准曲线

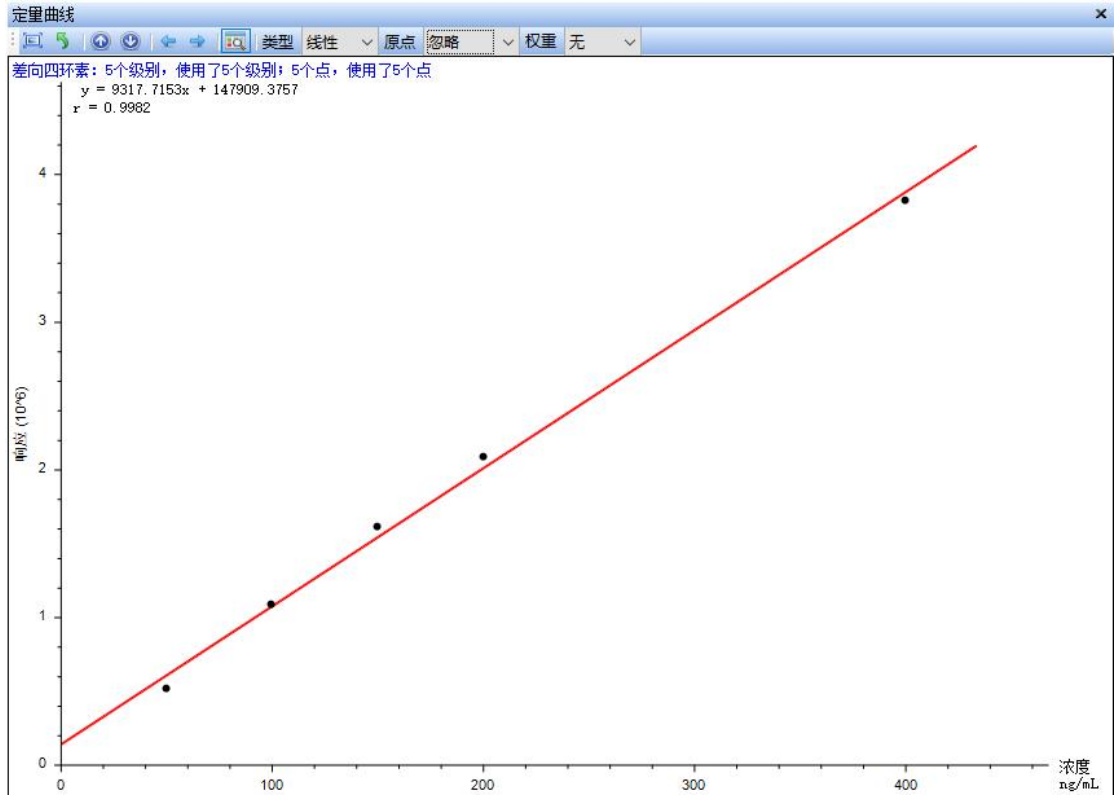


图2 差向四环素标准曲线

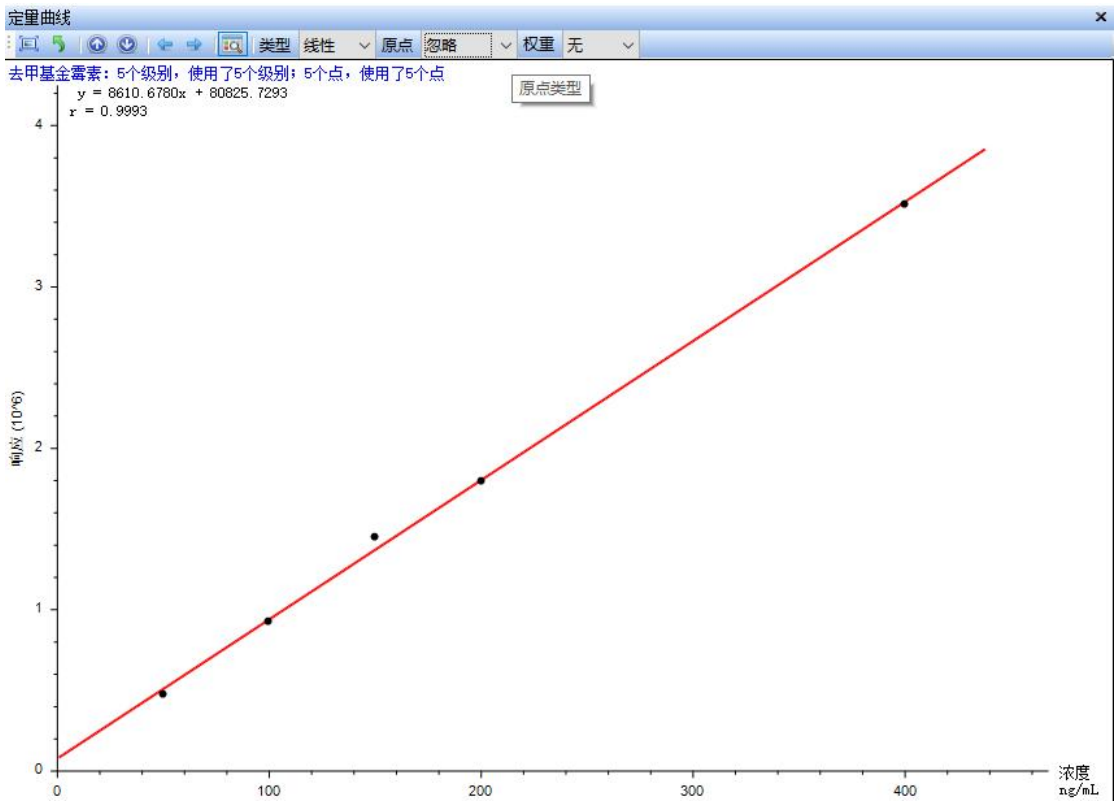


图3 去甲基金霉素标准曲线

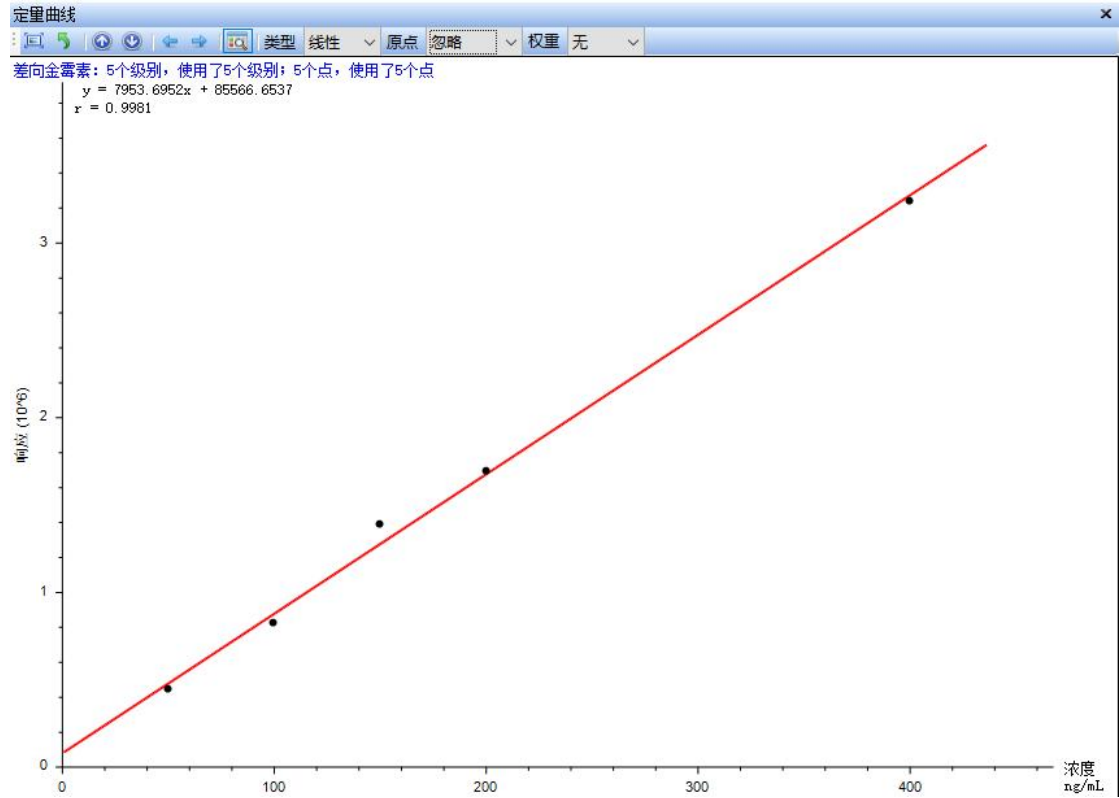


图 4 差向金霉素标准曲线

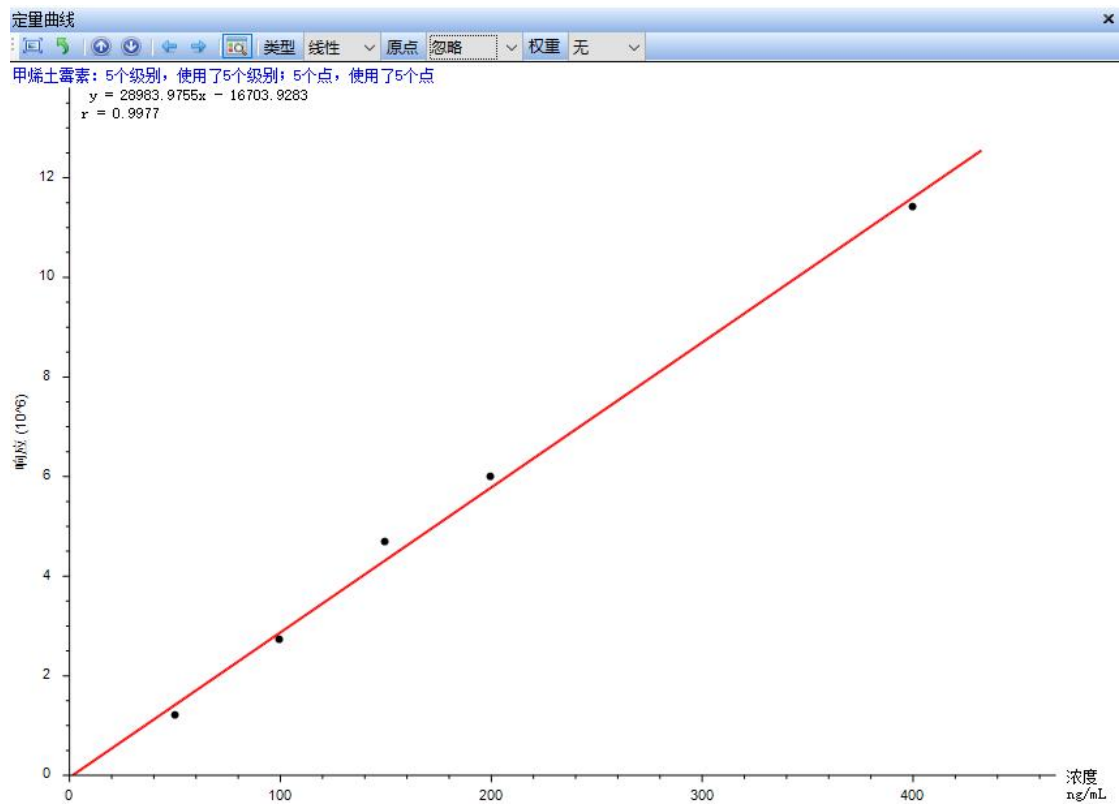


图 5 甲烯土霉素标准曲线

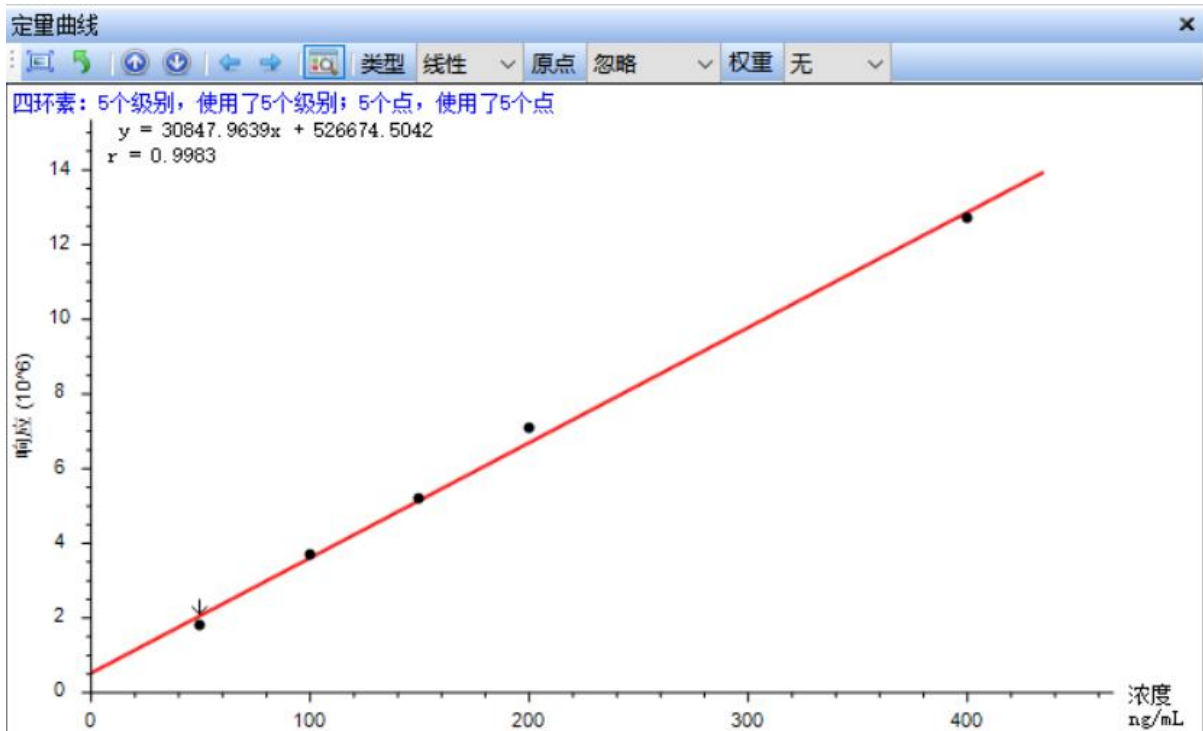


图6 四环素标准曲线

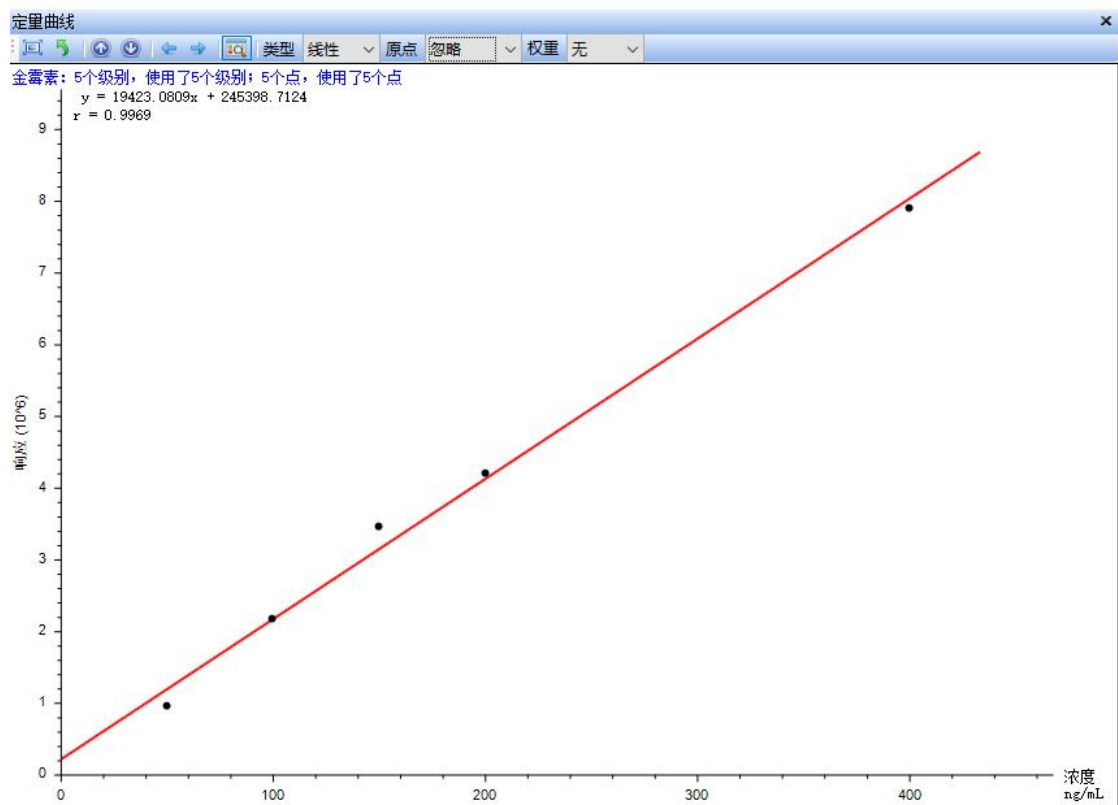


图7 金霉素标准曲线

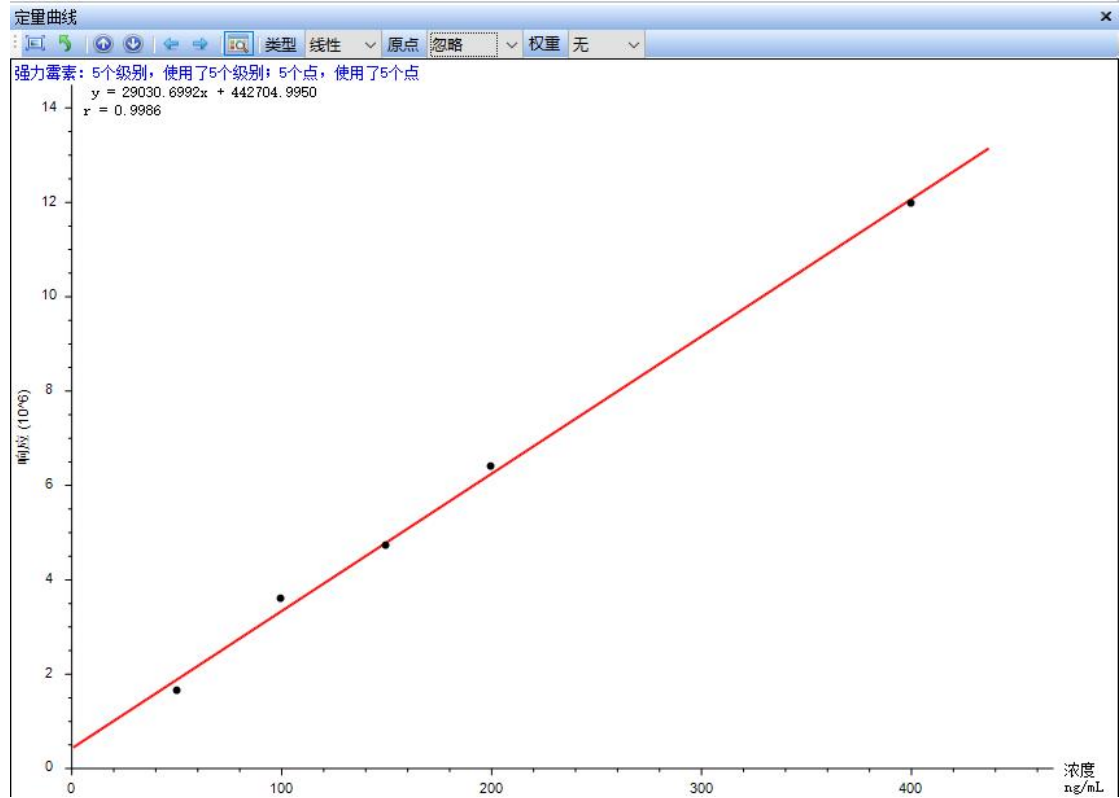


图 8 强力霉素标准曲线

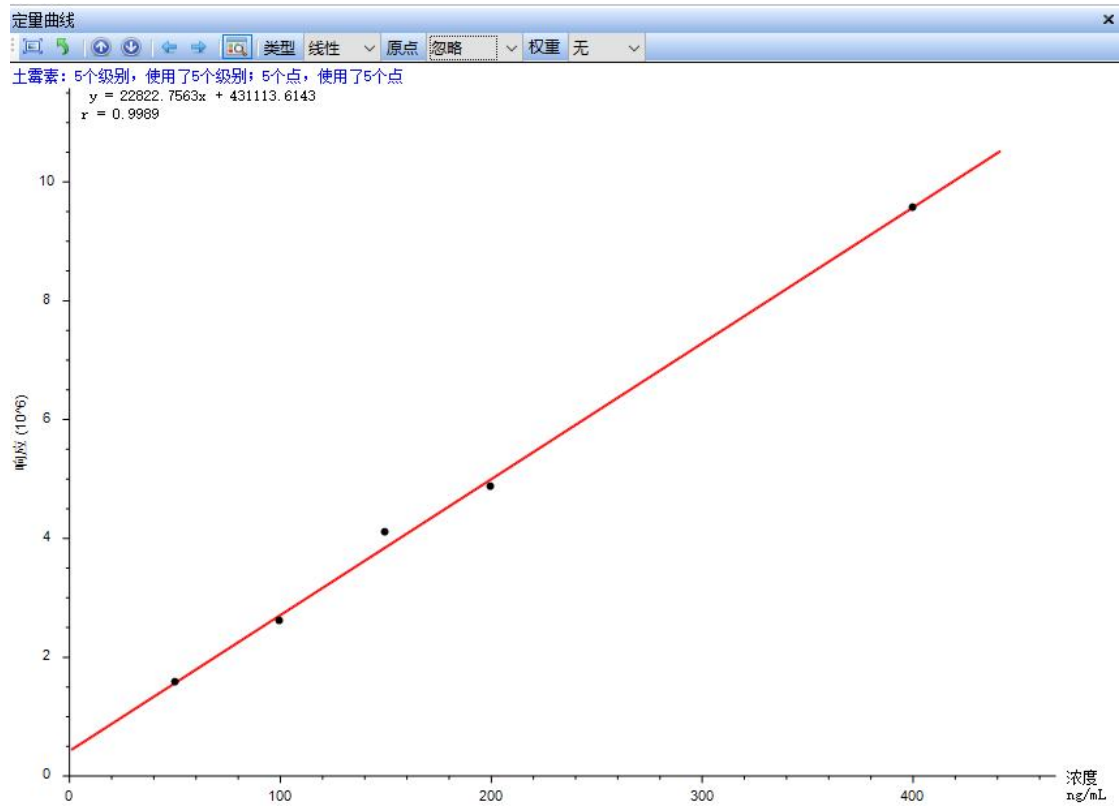


图 9 土霉素标准曲线

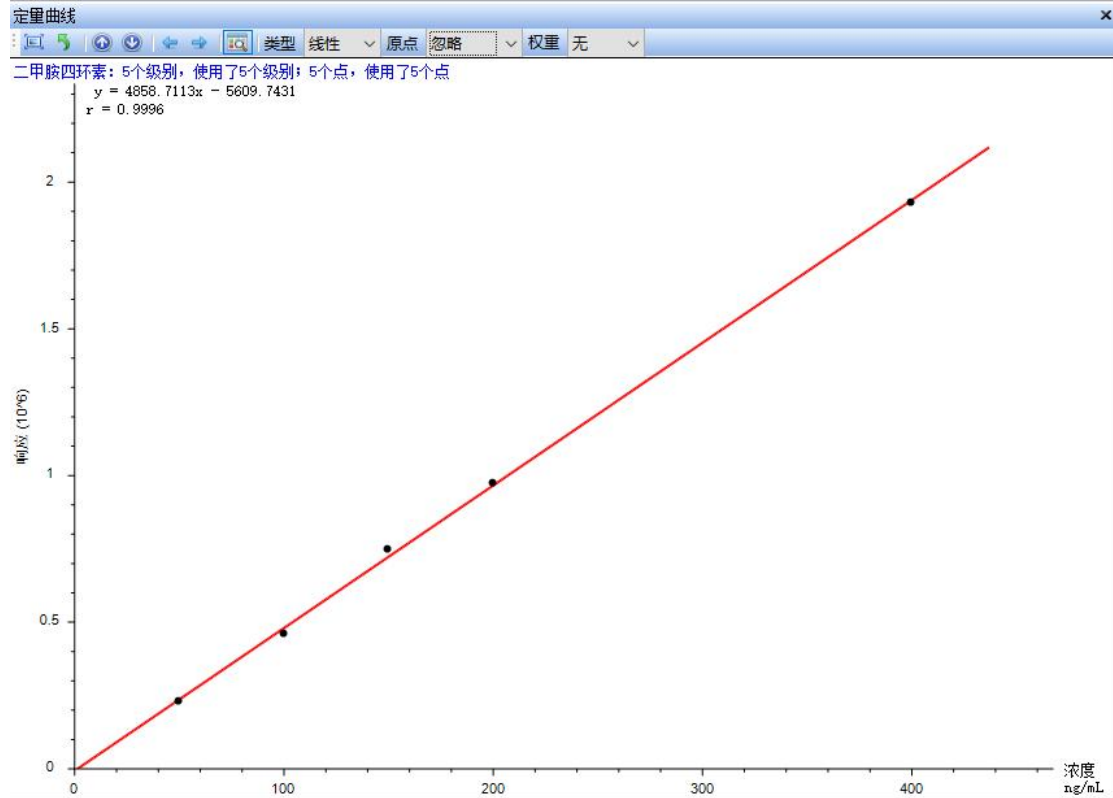


图 10 二甲胺四环素标准曲线

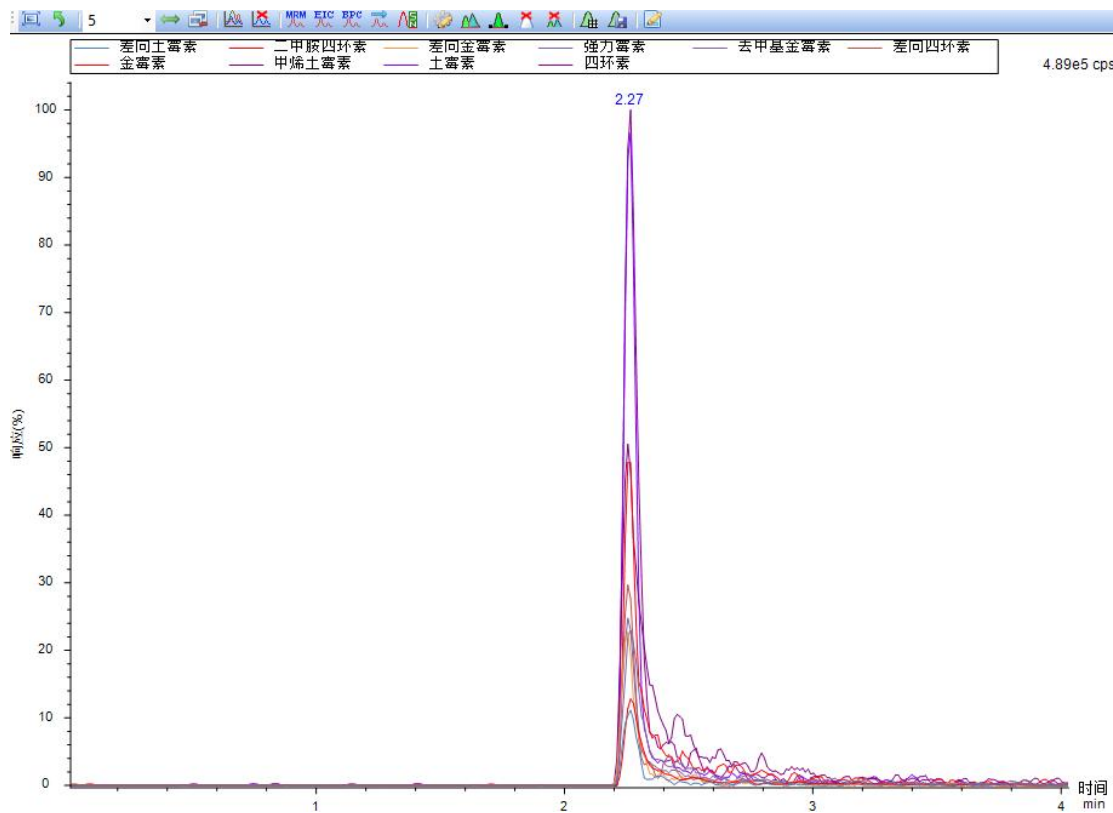


图 11 10 种四环素混标的 MRM 叠加图 (50ng/ml)

表 1 10 种四环素类化合物的检出限和测定下限

序号	化合物名称	SD	检出限 (ng/ml)	测定下限 (ng/ml)
1	四环素	0.032	0.101	0.402
2	金霉素	0.149	0.468	1.873
3	强力霉素	0.063	0.198	0.792
4	土霉素	0.111	0.349	1.395
5	二甲胺四环素	0.162	0.509	2.037
6	差向土霉素	0.157	0.493	1.974
7	差向四环素	0.096	0.302	1.207
8	去甲基金霉素	0.048	0.151	0.603
9	差向金霉素	0.159	0.500	1.999
10	甲烯土霉素	0.067	0.211	0.842

样品信息				差向土霉素	差向四环素	去甲基金...	差向金霉素	甲烯土霉素	四环素	金霉素	强力霉素	
!	▼	数据文件	序列名称	定量方法	计算浓度	计算浓度	计算浓度	计算浓度	计算浓度	计算浓度	计算浓度	
1	▼	检出限-1	四环素类	十种四环素标准曲线1	0.3308075	0.2760585	0.09179997	0.1704769	0.1767788	0.09889778	0.1092841	0.0944128
2	▼	检出限-2	四环素类	十种四环素标准曲线1	0.2626991	0.2587556	0.08243687	0.3129206	0.08952898	0.1267725	0.2206206	0.03116753
3	▼	检出限-3	四环素类	十种四环素标准曲线1	0.01038335	0.02188564	0.1657189	0.2367736	0.005425995	0.1501606	0.08465659	0.04488578
4	▼	检出限-4	四环素类	十种四环素标准曲线1	0.3738007	0.2699236	0.02717393	0.009470941	0.07596403	0.06987767	0.007080374	0.07399921
5	▼	检出限-5	四环素类	十种四环素标准曲线1	0.01910536	0.2933946	0.1260841	0.3652003	0.002712997	0.1111169	0.4091223	0.1148263
6	▼	检出限-6	四环素类	十种四环素标准曲线1	0.01910539	0.2616761	0.143543	0.0189419	0.1119926	0.1163674	0.3567893	0.006838549
7	▼	检出限-7	四环素类	十种四环素标准曲线1	0.1869003	0.1744507	0.1481191	0.4041905	0.002713	0.1673435	0.1105154	0.1955622
Min					0.01038335	0.02188564	0.02717393	0.009470941	0.002712997	0.06987767	0.007080374	0.006838549
Max					0.3738007	0.2933946	0.1657189	0.4041905	0.1767788	0.1673435	0.4091223	0.1955622
AVG					0.1718288	0.2223064	0.1121251	0.2168535	0.0664452	0.1200766	0.1854384	0.08024176
SD					0.1566658	0.09621798	0.0480642	0.1586689	0.06673139	0.03226597	0.1494517	0.06295638

样品信息					土霉素	二甲胺四...
!	▼	数据文件	序列名称	定量方法	计算浓度	计算浓度
1	▼	检出限-1	四环素类	十种四环素标准曲线1	0.1825076	0.655288
2	▼	检出限-2	四环素类	十种四环素标准曲线1	0.008196825	0.6194314
3	▼	检出限-3	四环素类	十种四环素标准曲线1	0.2427031	0.4435275
4	▼	检出限-4	四环素类	十种四环素标准曲线1	0.005635325	0.2374835
5	▼	检出限-5	四环素类	十种四环素标准曲线1	0.00589148	0.3124439
6	▼	检出限-6	四环素类	十种四环素标准曲线1	0.2470576	0.5554485
7	▼	检出限-7	四环素类	十种四环素标准曲线1	0.08824418	0.5957868
Min					0.005635325	0.2374835
Max					0.2470576	0.655288
AVG					0.1114623	0.4884871
SD					0.1112093	0.1617516

3.2 重复性

配置 50 ng/mL 浓度对照品，连续进样 6 次，考察保留时间和峰面积的重复性，结果如下所示。

	样品信息		差向土霉素		差向四环素		去甲基金霉素		差向金霉素		甲烯土霉素		四环素		金霉素		强力霉素		土霉素		二甲胺四环素	
	▼	数据文件	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	▼	精度度50-1	2.26	603589.30	2.26	1062748.00	2.26	753211.80	2.26	685214.40	2.26	3064105.00	2.26	3273910.00	2.27	1583325.00	2.27	2803594.00	2.26	2054838.00	2.27	390929.40
2	▼	精度度50-2	2.26	675032.90	2.26	973826.00	2.26	808438.10	2.26	674319.40	2.26	3126906.00	2.26	3227859.00	2.26	1786844.00	2.27	2994688.00	2.26	2165480.00	2.27	369342.80
3	▼	精度度50-3	2.26	661848.60	2.26	1067772.00	2.26	772442.60	2.24	665674.30	2.26	3023021.00	2.27	3048735.00	2.27	1708329.00	2.27	2745998.00	2.27	2036683.00	2.27	353123.10
4	▼	精度度50-4	2.26	624896.30	2.26	1062771.00	2.26	781583.60	2.26	659759.30	2.26	3144636.00	2.27	2896926.00	2.27	1760240.00	2.27	2965902.00	2.27	2013309.00	2.27	368316.60
5	▼	精度度50-5	2.26	617353.40	2.26	1142734.00	2.26	800337.40	2.26	720529.20	2.26	3228043.00	2.26	3123709.00	2.26	1837512.00	2.27	2767209.00	2.27	1908457.00	2.27	391620.20
6	▼	精度度50-6	2.26	634895.40	2.26	1168852.00	2.26	817234.10	2.26	663262.90	2.26	3184116.00	2.27	3236682.00	2.27	1772590.00	2.27	2835231.00	2.26	2114753.00	2.27	370788.70
Min			2.26	603589.30	2.26	973826.00	2.26	753211.80	2.24	659759.30	2.26	3023021.00	2.26	2896926.00	2.26	1583325.00	2.27	2745998.00	2.26	1908457.00	2.27	353123.10
Max			2.26	675032.90	2.26	1168852.00	2.26	817234.10	2.26	720529.20	2.26	3228043.00	2.27	3273910.00	2.27	1837512.00	2.27	2994688.00	2.27	2165480.00	2.27	391620.20
AVG			2.26	636269.30	2.26	1079784.00	2.26	788874.60	2.25	678126.60	2.26	3128471.00	2.26	3134637.00	2.26	1741473.00	2.27	2852104.00	2.26	2048920.00	2.27	374020.10
SD			0.00	27254.13	0.00	69060.55	0.00	24138.73	0.00	22698.29	0.00	75547.75	0.01	143182.30	0.01	87990.73	0.00	104291.60	0.01	88434.18	0.00	14813.67
RSD			0.00	4.28	0.00	6.40	0.00	3.06	0.20	3.35	0.00	2.41	0.27	4.57	0.25	5.05	0.00	3.66	0.27	4.32	0.00	3.96
IDL			0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

可知所有化合物的峰面积 RSD 和保留时间 RSD 均在 6%和 0.27%以下,精密度较好。

4 结论

本文考察了牛奶中 10 种四环素类化合物的线性、精密度、灵敏度等，结果表明:10 种四环素类化合物在检测范围内线性良好，相关系数 r 均大于 0.995，方法精密度在 6%以内，标准曲线线性相关系数 r 和灵敏度均符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对牛奶中 10 种四环素类残留进行灵敏、准确的定量检测。

七、LC-MS/MS 法测定牛奶中链霉素、双氢链霉素和卡那霉素的残留量

参考标准：《GB/T 22969-2008》

1 前言

链霉素，双氢链霉素和卡那霉素属于氨基糖苷类抗生素类，可以与细菌核糖体结合，干扰细菌蛋白质合成过程，为一类静止期杀菌剂，是目前治疗需氧革兰阴性杆菌严重感染的重要药物，通常作为兽药用于治疗产肉和产乳动物。随着该类药物的广泛使用，这类药物直接或间接残存于肉品或者乳制品中，严重危害了人体健康。本文根据《GB/T 22969-2008 奶粉和牛奶中链霉素、双氢链霉素和卡那霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》标准，建立了使用谱育科技的超高效液相色谱—三重四极杆串联质谱仪测定牛奶中链霉素、双氢链霉素和卡那霉素残留的快速且高灵敏度的检测方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品：链霉素、双氢链霉素和卡那霉素标准品均购自阿尔塔科技有限公司，于-20℃冰箱保存。

试剂：甲醇和甲酸均为色谱级。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	甲醇 (A) 和 0.1%甲酸水溶液 (B), 梯度洗脱		
	流速	0.4mL/min		
	色谱柱	Athene UHPLC C18 (2.1 x 100mm, 1.8 μ m)		
	进样量	20 μ L		
	运行时间	7min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
		0	10	90
1		10	90	
1.5		50	50	
5		50	50	
7		10	90	
MS 条件	运行模式	EIS 正离子模式		
	雾化气流量	1.1L/min		
	去溶剂气流量	9L/min		
	反吹气流量	0.5L/min		
	去溶剂气温度	375 $^{\circ}$ C		
	碰撞气流量	0.6mL/min		
	毛细管高压	5.2kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1 链霉素	582.26	263.16	0.1	40	35	Unit-Unit
2 链霉素	582.26	246.16	0.1	40	45	Unit-Unit
3 双氢链霉素	584.26	263.16	0.05	40	32	Unit-Unit
4 双氢链霉素	584.26	246.16	0.05	40	45	Unit-Unit
5 卡那霉素	485.05	163	0.1	40	34	Unit-Unit
6 卡那霉素	485.05	324	0.1	40	23	Unit-Unit

2.3 样品前处理

参照《GB/T 22969-2008 奶粉和牛奶中链霉素、双氢链霉素和卡那霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》。

3 结果

3.1 线性和检出限

用甲醇稀释得到一系列浓度的链霉素、双氢链霉素和卡那霉素混标溶液(20ng/mL、

40ng/mL、80ng/mL、400ng/mL、800ng/mL), 按照上述方法进样, 以各目标物的定量离子色谱峰面积为纵坐标(Y), 目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标, 采用外标法拟合后的标准曲线如下图 1-图 3 所示。标准曲线最低的定量离子的色谱图如图 4 所示, 配置 20ng/ml 标准溶液进样, 按照 S/N=10 和 S/N=3 计算定量限和检出限, 结果如下表 1 所示, 本实验的最低检出限完全符合《GB/T 22969-2008 奶粉和牛奶中链霉素、双氢链霉素和卡那霉素残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》。

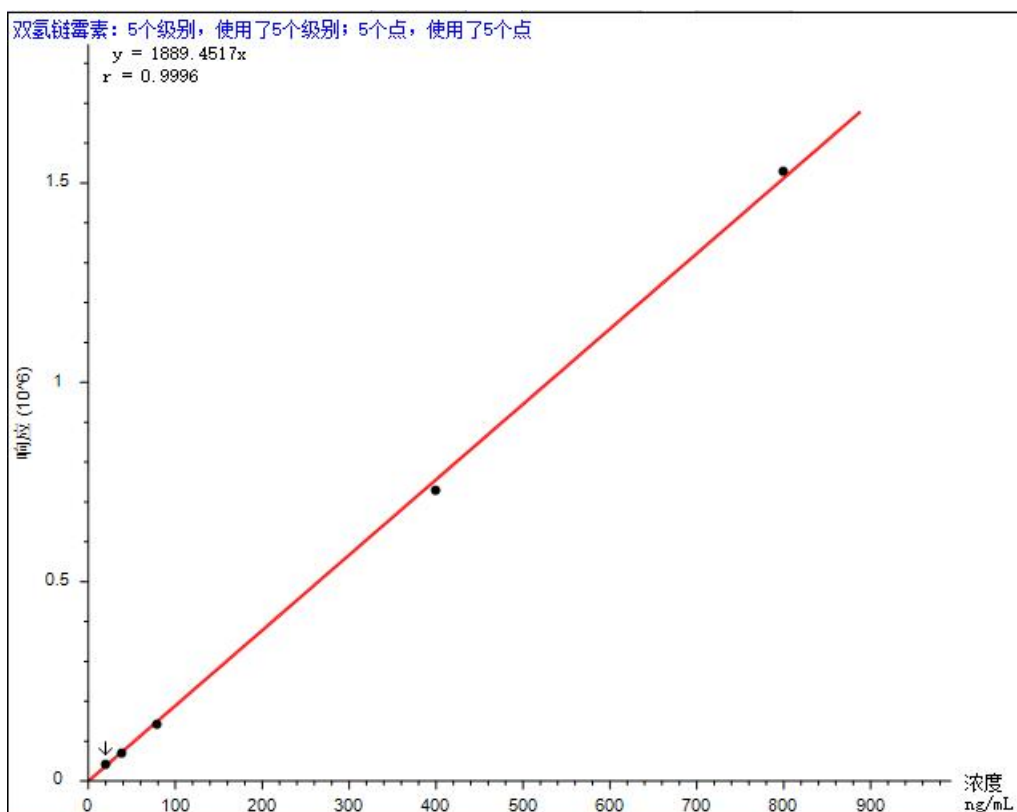


图 1 双氢链霉素标准曲线

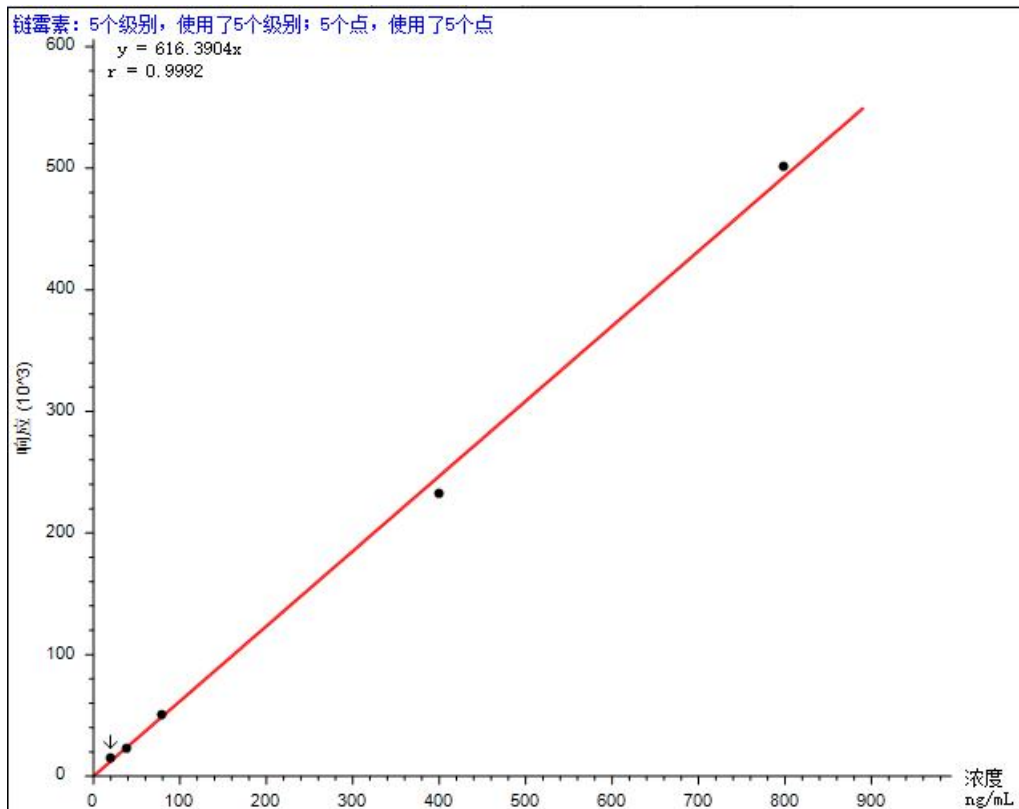


图 2 链霉素标准曲线

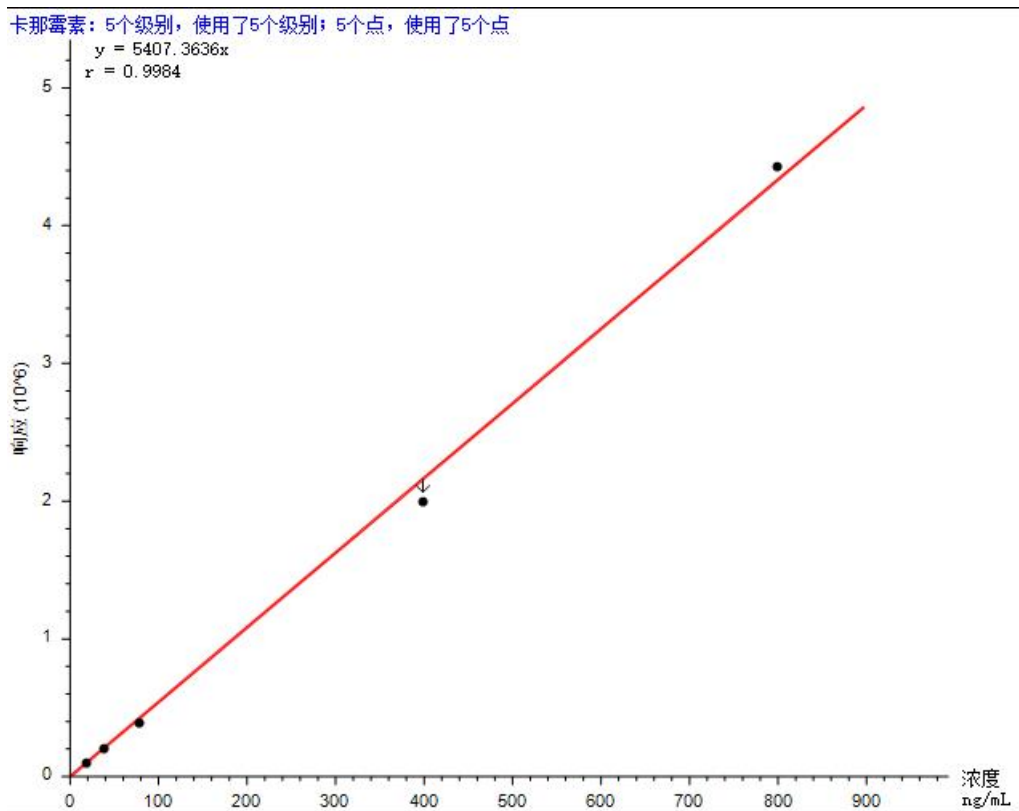


图 3 卡那霉素标准曲线

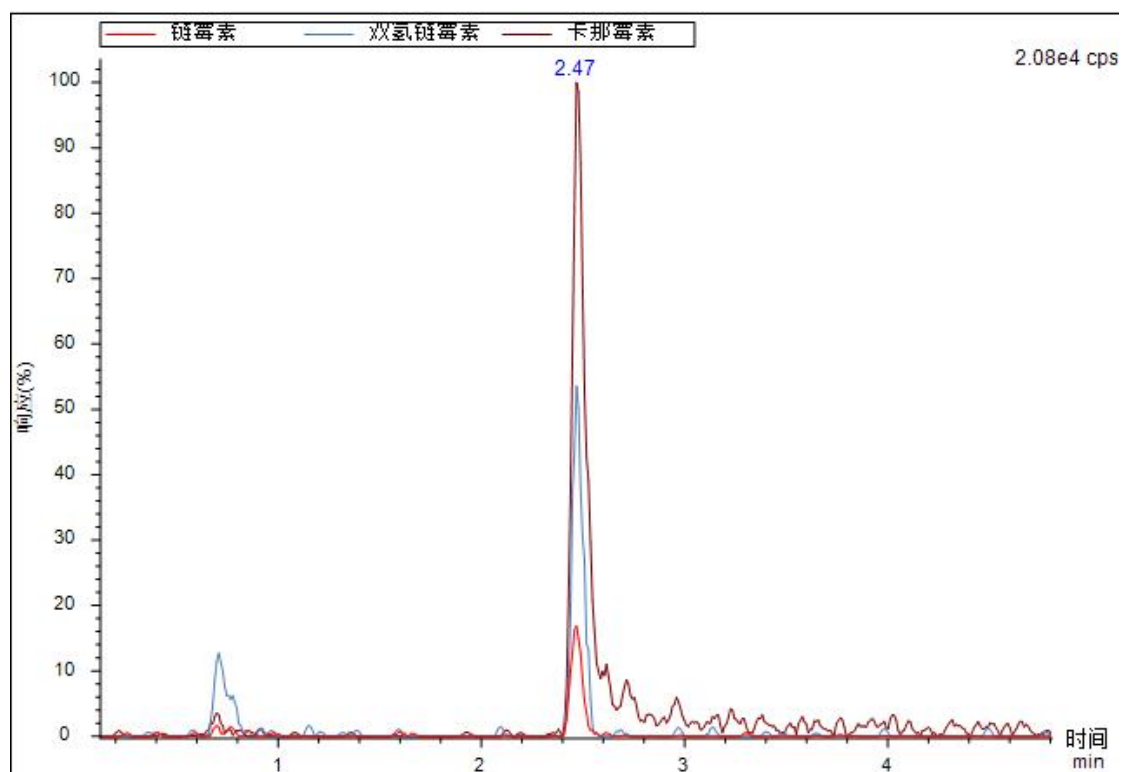


图 4 链霉素、双氢链霉素和卡那霉素混标的 MRM 叠加图 (20ng/ml)

表 1 链霉素、双氢链霉素和卡那霉素检出限和定量限

序号	化合物名称	S/N	检出限 (ng/ml)	定量限 (ng/ml)
1	链霉素	157	0.45	1.3
2	双氢链霉素	186	0.4	1.1
3	卡那霉素	177	0.4	1.2

3.2 重复性

分别配置 20 ng/mL (低浓度), 40ng/mL (中浓度) 和 80 ng/mL (高浓度) 不同浓度对照品, 分别连续进样 6 次, 考察保留时间和峰面积的重复性, 结果如下所示。

20ng/ml 重复性: 峰面积的 RSD 均小于 5.42%, 保留时间 RSD 均小于 0.69%。

	样品信息			双氢链霉素		链霉素		卡那霉素	
	!	▼	数据文件	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1			<input type="checkbox"/> 重复性测试1-2	2.48	31683.01	2.48	13853.48	2.50	90399.08
2			<input type="checkbox"/> 重复性测试1-3	2.48	31531.86	2.48	13620.86	2.50	85563.80
3			<input type="checkbox"/> 重复性测试1-4	2.48	31004.93	2.49	13695.87	2.50	90832.58
4			<input type="checkbox"/> 重复性测试1-5	2.48	31245.85	2.48	13634.55	2.50	87237.63
5		▼	<input type="checkbox"/> 重复性测试1-6	2.50	31655.01	2.47	11986.98	2.49	86007.27
6		▼	<input type="checkbox"/> 重复性测试1-7	2.51	27650.08	2.52	12864.35	2.51	88505.50
Min				2.48	27650.08	2.47	11986.98	2.49	85563.80
Max				2.51	31683.01	2.52	13853.48	2.51	90832.58
AVG				2.49	30795.12	2.48	13276.01	2.50	88090.98
SD				0.01	1562.63	0.02	719.49	0.01	2212.34
► RSD				0.53	5.07	0.69	5.42	0.25	2.51
IDL				0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

40ng/ml 重复性: 峰面积的 RSD 均小于 3.76%, 保留时间 RSD 均小于 0.20%。

	样品信息			双氢链霉素		链霉素		卡那霉素	
	!	▼	数据文件	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1			<input type="checkbox"/> 重复性测试2-1	2.48	70749.45	2.49	22997.64	2.49	208514.30
2			<input type="checkbox"/> 重复性测试2-2	2.49	67844.40	2.49	24017.50	2.49	204354.70
3			<input type="checkbox"/> 重复性测试2-3	2.49	66685.34	2.49	23832.35	2.49	208014.70
4			<input type="checkbox"/> 重复性测试2-4	2.48	66027.76	2.49	24266.43	2.49	199827.60
5		▼	<input type="checkbox"/> 重复性测试2-5	2.49	71787.84	2.49	23222.97	2.50	205353.20
6		▼	<input type="checkbox"/> 重复性测试2-6	2.49	65667.58	2.50	22726.80	2.49	194360.80
Min				2.48	65667.58	2.49	22726.80	2.49	194360.80
Max				2.49	71787.84	2.50	24266.43	2.50	208514.30
AVG				2.48	68127.06	2.49	23510.62	2.49	203404.20
SD				0.01	2564.87	0.00	615.13	0.00	5415.67
► RSD				0.20	3.76	0.16	2.62	0.16	2.66
IDL				0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

80ng/ml 重复性: 峰面积的 RSD 均小于 2.97%, 保留时间 RSD 均小于 0.22%。

	样品信息			双氢链霉素		链霉素		卡那霉素	
	!	▼	数据文件	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1			<input checked="" type="checkbox"/> 重复性测试3-1	2.47	136798.60	2.48	49784.21	2.48	381588.10
2			<input checked="" type="checkbox"/> 重复性测试3-2	2.47	142640.70	2.48	46970.75	2.48	402062.10
3			<input checked="" type="checkbox"/> 重复性测试3-3	2.47	140069.40	2.47	47081.45	2.48	412697.80
4			<input checked="" type="checkbox"/> 重复性测试3-4	2.47	144356.20	2.48	49858.45	2.48	389953.30
5			<input checked="" type="checkbox"/> 重复性测试3-5	2.47	148081.10	2.47	48350.09	2.47	395370.80
6			<input checked="" type="checkbox"/> 重复性测试3-6	2.47	142473.80	2.47	48864.66	2.47	409433.00
Min				2.47	136798.60	2.47	46970.75	2.47	381588.10
Max				2.47	148081.10	2.48	49858.45	2.48	412697.80
AVG				2.47	142403.30	2.47	48484.94	2.47	398517.50
SD				0.00	3820.27	0.01	1264.87	0.01	11854.50
► RSD				0.00	2.68	0.22	2.61	0.21	2.97
IDL				0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

可知所有化合物的峰面积 RSD 和保留时间 RSD 均在 5.42% 和 0.69% 以下, 精密度较好。

4 结论

本文考察了牛奶中链霉素、双氢链霉素和卡那霉素测定的线性、精密度、灵敏度等，结果表明：链霉素、双氢链霉素和卡那霉素在检测范围内线性良好，相关系数 r 均大于 0.998，方法精密度在 5.42% 以内，精密度和灵敏度均符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对牛奶中链霉素、双氢链霉素和卡那霉素残留进行灵敏、准确的定量检测。

八、LC-MS/MS 法测定牛肉中 11 种 β -受体激动剂

参考标准：《GB/T 22286-2008 动物源性食品中多种 β -受体激动剂残留量的测定》

1 前言

β -受体激动剂是具有苯乙醇胺结构的肾上腺素类的合成药物，俗称“瘦肉精”。将“瘦肉精”添加到饲料中，可促进蛋白质合成，加速脂肪转化和分解，从而提高脂肪型动物的瘦肉率。但是，研究发现，瘦肉精化学性质和结构稳定，在动物组织中很难被分解，可通过食物链进入人体，对消费者身体健康造成很大的威胁。在 2002 年，我国将 β -受体激动剂列入《食用动物禁用兽药及其他化合物清单》中。但是，近几年食品安全风险评估调查结果发现，仍有违法使用 β -受体激动剂药物的案例存在。

本文参考《GB/T 22286-2008 动物源性食品中多种 β -受体激动剂残留量的测定》，使用杭州谱育科技发展有限公司生产的超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪测定牛肉中 11 种 β -受体激动剂的残留量。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品：11 种 β -受体激动剂（100mg/L 于甲醇）购自安谱，-20℃冰箱保存。

试剂：乙腈、甲醇、乙酸乙酯、异丙醇为色谱级，乙酸钠为分析纯、氯化钠为优级纯。



图 1 超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪

2.2 液相和质谱条件

表 1 测试条件

LC 条件	流动相	水相 A (0.1%甲酸水) 和有机相 B (0.1%甲酸乙腈), 梯度洗脱		
	流速	0.3mL/min		
	色谱柱	ACQUITY UPLC BEH C ₁₈ 2.1×100mm, 1.7μm		
	柱温	40 °C		
	进样量	10uL		
	运行时间	6.5min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
		0	90	10
	0.5	90	10	
	4.8	20	80	
	5	0	100	
	5.2	0	100	
	5.3	90	10	
	6.5	90	10	
MS 条件	运行模式	ESI+		
	雾化气流量	1.2 L/min		
	去溶剂气流量	6.0 L/min		
	反吹气流量	1.0 L/min		
	去溶剂气温度	450°C		
	碰撞气流量	0.55 mL/min (5.03e-3Torr)		
	毛细管高压	4.8 kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。

文件 选项
离子源 ESI

基本信息
方法名称 11种β-受体激动剂-11
修改原因

LC GC MS

开碰撞气 智能MEM 添加片段 插入片段 删除片段

循环时间 0.501
使用调谐电压 扫描间隔 0.04 s 数据类型 连续图 跨度 0

方法片	开始时间	结束时间	离子化模	扫描模式
1	0	2.2	ESI+	MEM
2	2	4.5	ESI+	MEM

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1 沙丁胺醇	240	148	0.012	50	20	Unit-Unit
2 沙丁胺醇	240	222	0.012	50	5	Unit-Unit
3 沙丁胺醇D3	243	151	0.012	50	20	Unit-Unit
4 特布他林	226	152	0.017	50	15	Unit-Unit
5 特布他林	226	125	0.017	50	25	Unit-Unit
6 塞曼特罗	202	160	0.01	50	15	Unit-Unit
7 塞曼特罗	202	143	0.01	50	20	Unit-Unit
8 塞布特罗	234	160	0.003	50	15	Unit-Unit
9 塞布特罗	234	143	0.003	50	25	Unit-Unit

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1 莱克多巴胺	302	164	0.004	50	15	Unit-Unit
2 莱克多巴胺	302	284	0.004	50	10	Unit-Unit
3 克仑特罗	277	203	0.004	50	15	Unit-Unit
4 克仑特罗	277	259	0.004	50	5	Unit-Unit
5 克仑特罗-D9	286	204	0.004	50	15	Unit-Unit
6 溴布特罗	367	293	0.003	50	15	Unit-Unit
7 溴布特罗	367	349	0.003	50	8	Unit-Unit
8 苯氧丙胺	302	150	0.003	50	20	Unit-Unit
9 苯氧丙胺	302	284	0.003	50	10	Unit-Unit
10 马布特罗	311	237	0.002	50	15	Unit-Unit
11 马布特罗	311	293	0.002	50	10	Unit-Unit
12 马贵特罗	325	237	0.002	50	15	Unit-Unit
13 马贵特罗	325	217	0.002	50	25	Unit-Unit
14 溴代克仑特罗	323	249	0.004	50	15	Unit-Unit
15 溴代克仑特罗	323	168	0.004	50	30	Unit-Unit

图 2 目标化合物多反应离子监测条件

2.3 样品前处理

样品前处理方法：参考国家标准《GB/T 22286-2008 动物源性食品中多种β-受体激动剂残留量的测定》中液相色谱-串联质谱法。

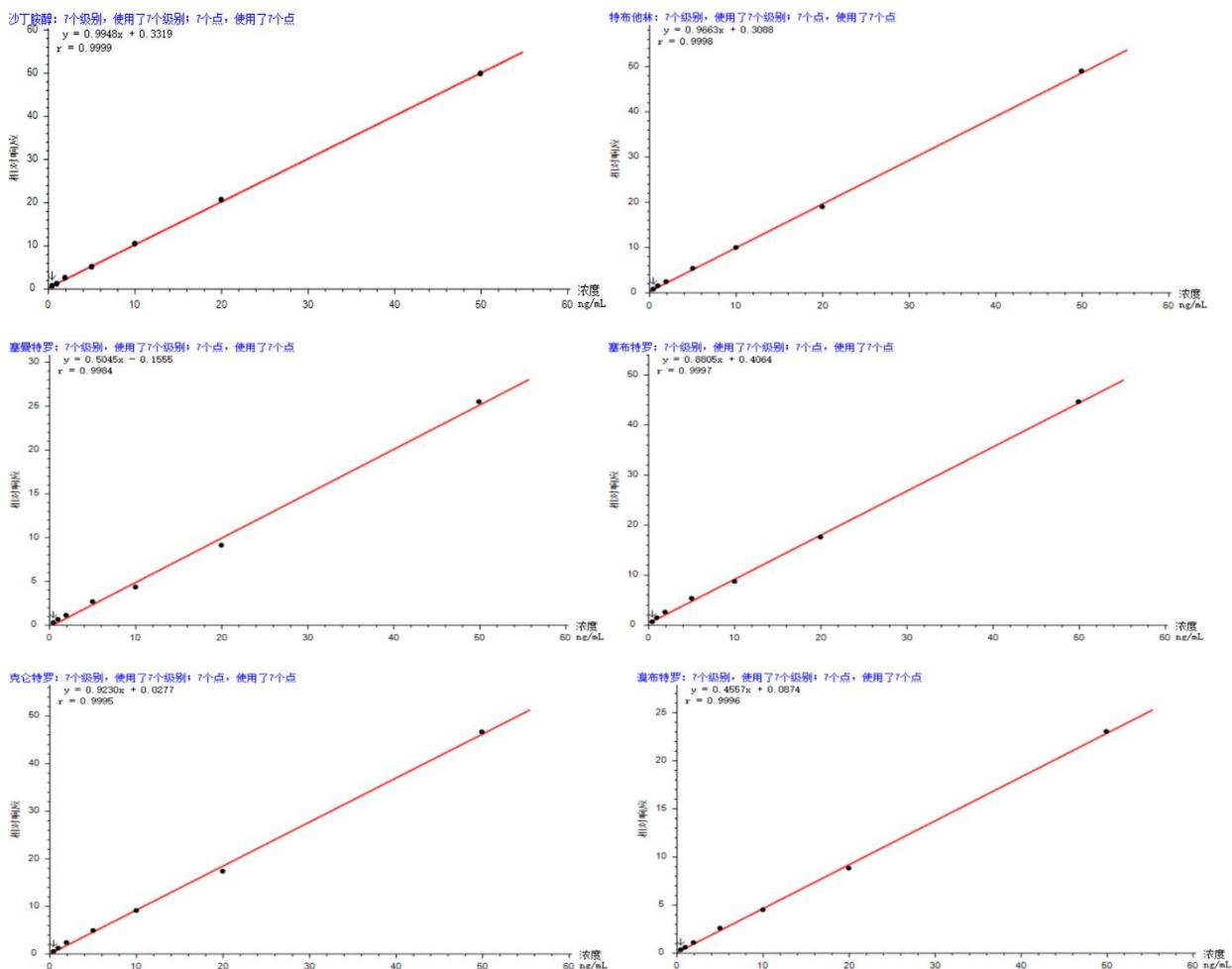
称取 2g（精确到 0.01g）经捣碎的样品于 50mL 离心管中，加入 8mL 乙酸钠缓冲液，充分混匀，再加 50 μL β-葡萄糖醛基转移酶/芳基硫酸酯酶，混匀后，37℃水浴水解 12h。

添加 100 μL 的 10 ng/mL 的内标工作液于待测样品中。加盖置于水平振荡器振荡 15min，离心 10min（5000 r/min），取 4mL 上清液加入适量 0.1mol/L 高氯酸溶液，用高氯酸调节 pH 值到 1±0.3。5000 r/min 离心 10min 后，将全部上清液转移至 50mL 离心管中，用 10 mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 值到 11。加入 10 mL 饱和氯化钠溶液和 10mL 乙酸乙酯提取，在 5000 r/min 离心 10min，提取两次，转移全部上层溶液，在 40℃水浴下用氮气将其吹干。准确加入 1mL 初始流动相，超声混匀，使残渣充分溶解，离心后供 UPLC-MS/MS 分析。

3 结果

3.1 线性和检出限

参照国标《GB/T 22286-2008 动物源性食品中多种β-受体激动剂残留量的测定》中液相色谱-串联质谱法处理牛肉空白基质，用牛肉空白基质溶液稀释得到一系列浓度的11种β-受体激动剂标准溶液(0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL、50.0 ng/mL)，按照上述方法进样，以各目标物的定量离子色谱峰面积与内标的定量离子色谱峰面积之比(Y)为纵坐标，目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标，采用该方法拟合后的标准曲线如图3所示，标准曲线最低点的定量离子色谱图如图4。牛肉空白基质离子通道色谱图如图5所示。将基质曲线最低点进样分析，按照S/N=10和S/N=3计算定量限和检出限，结果如表3所示。且本实验的检出限完全符合《GB/T 22286-2008 动物源性食品中多种β-受体激动剂残留量的测定》的要求。



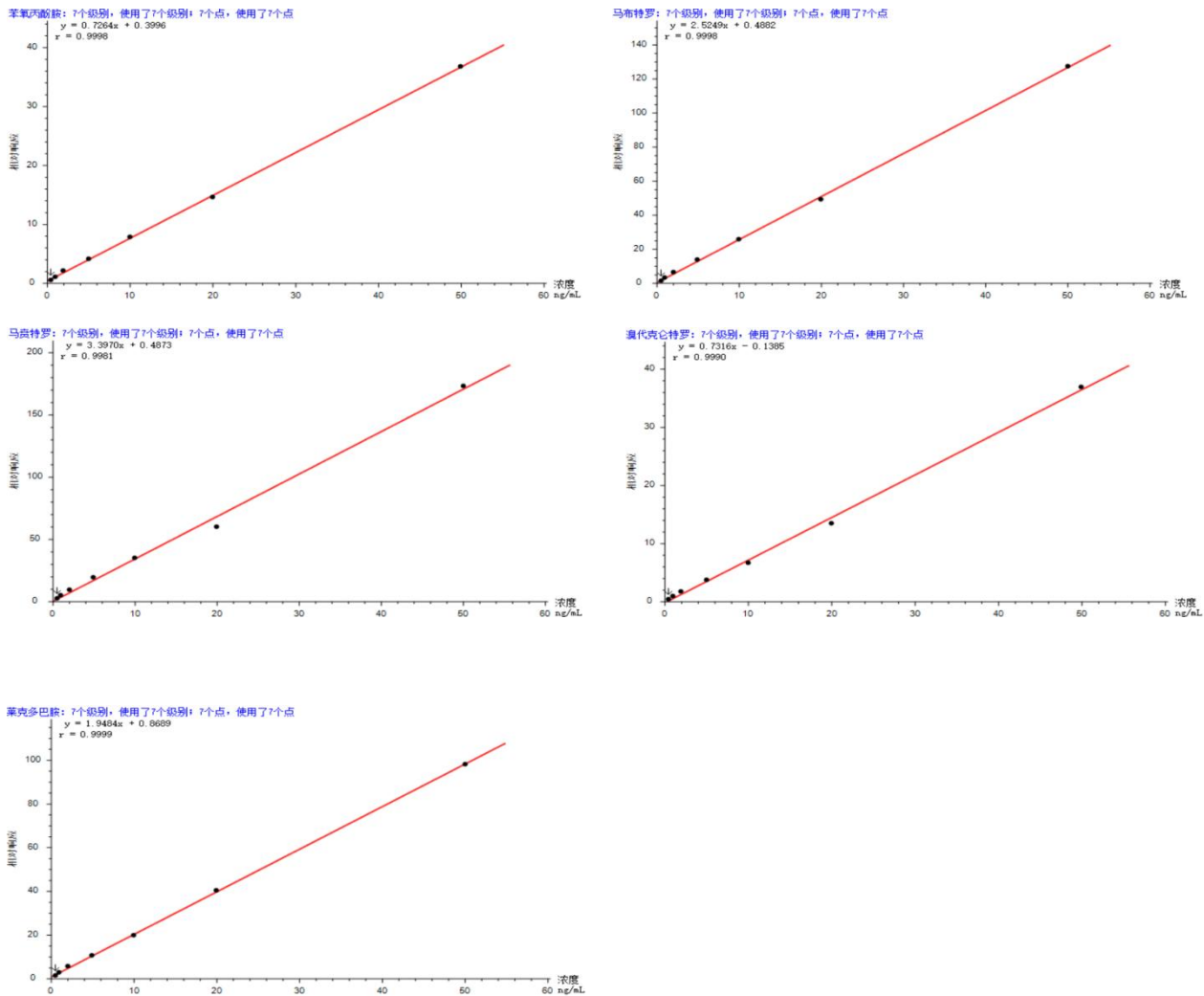
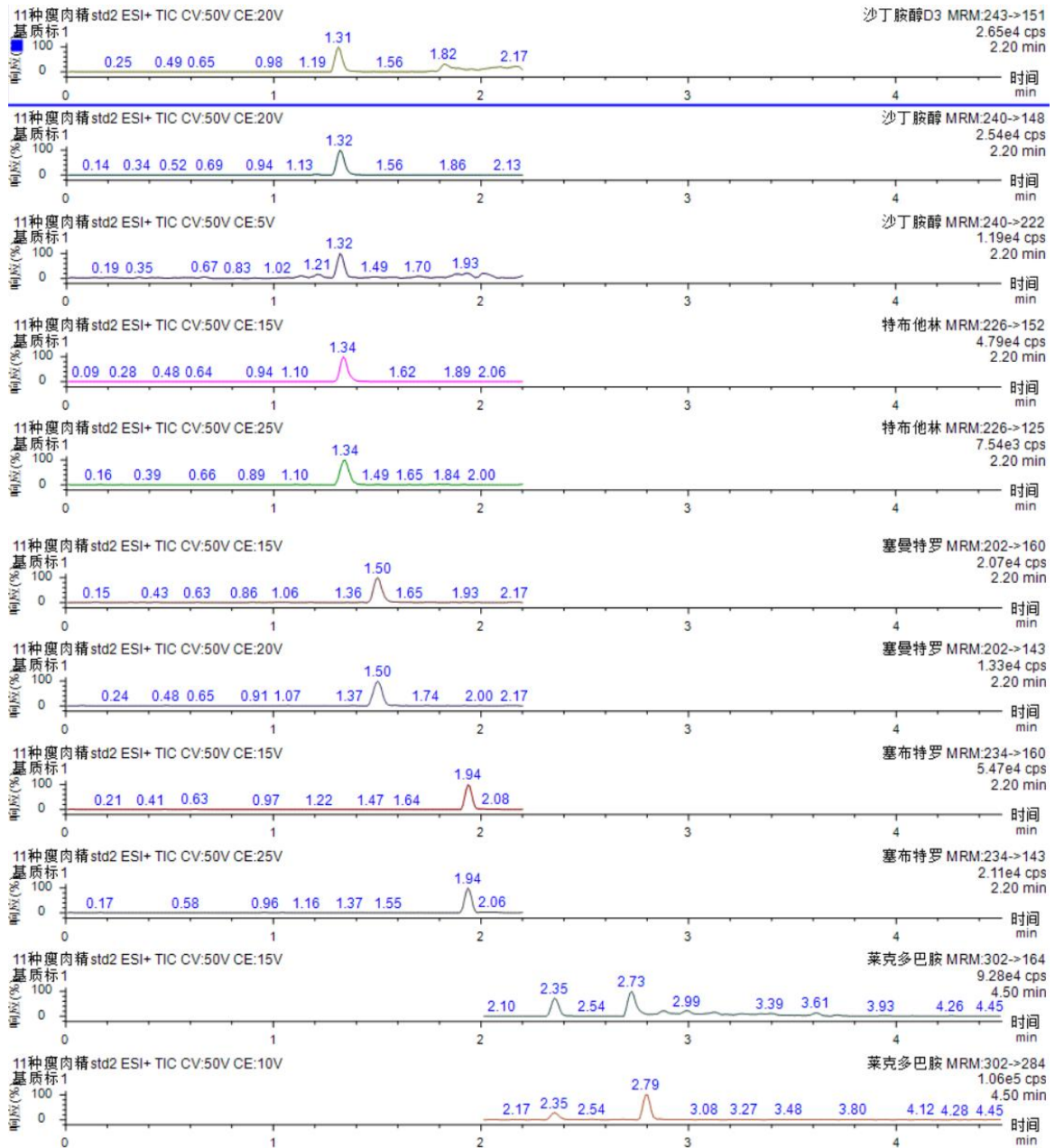


图 3 11 种 β -受体激动剂的标准曲线

表 3 11 种 β -受体激动剂检出限和定量限

序号	化合物名称	S/N	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	沙丁胺醇	45	0.02	0.06
2	特布他林	87	0.01	0.03
3	塞曼特罗	32	0.02	0.08
4	塞布特罗	99	0.01	0.03
5	莱克多巴胺	63	0.01	0.04
6	克伦特罗	41	0.02	0.06
7	溴布特罗	37	0.02	0.07
8	苯氧丙酚胺	143	0.01	0.02
9	马布特罗	109	0.01	0.02
10	马黄特罗	115	0.01	0.02
11	溴代克伦特罗	54	0.01	0.05



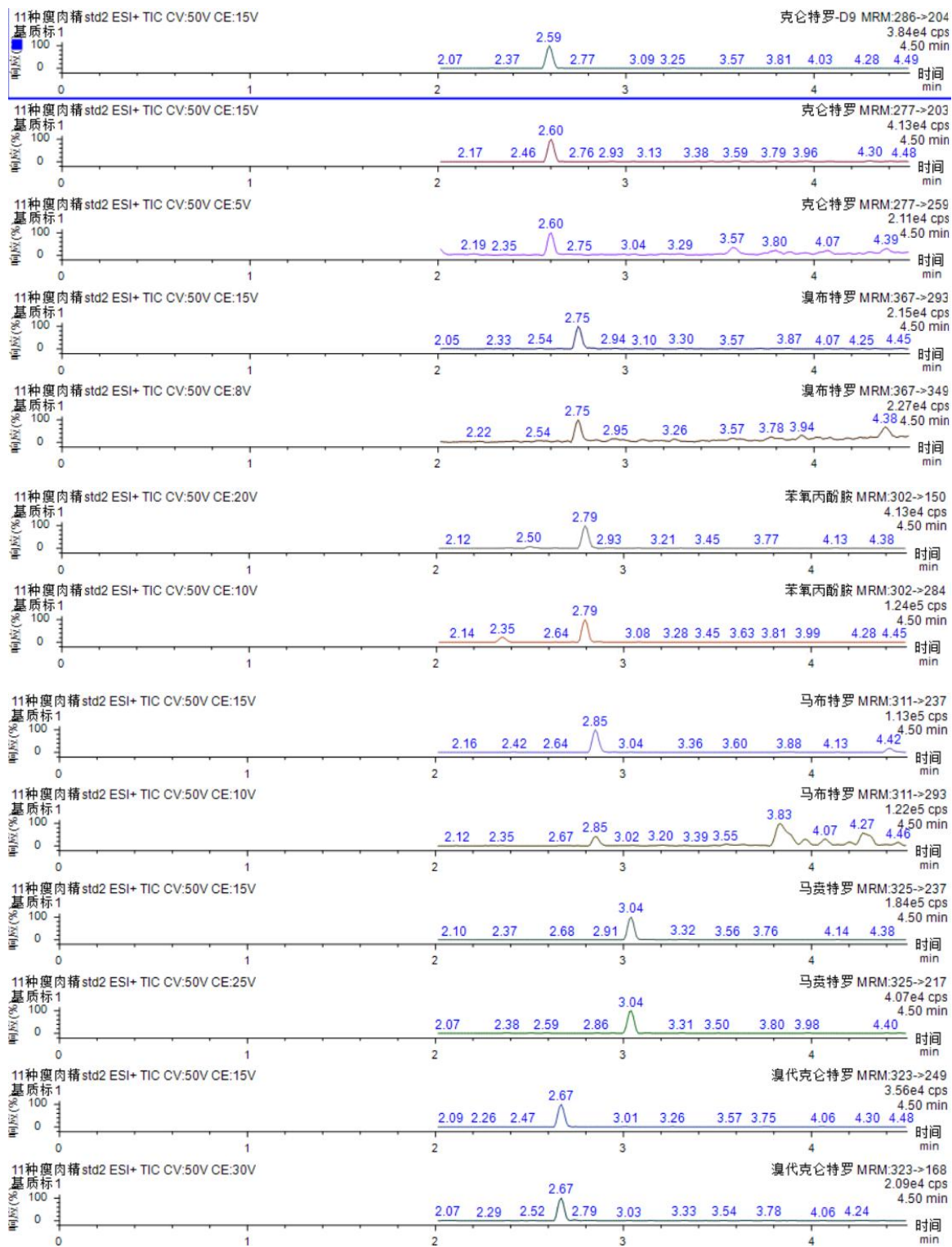
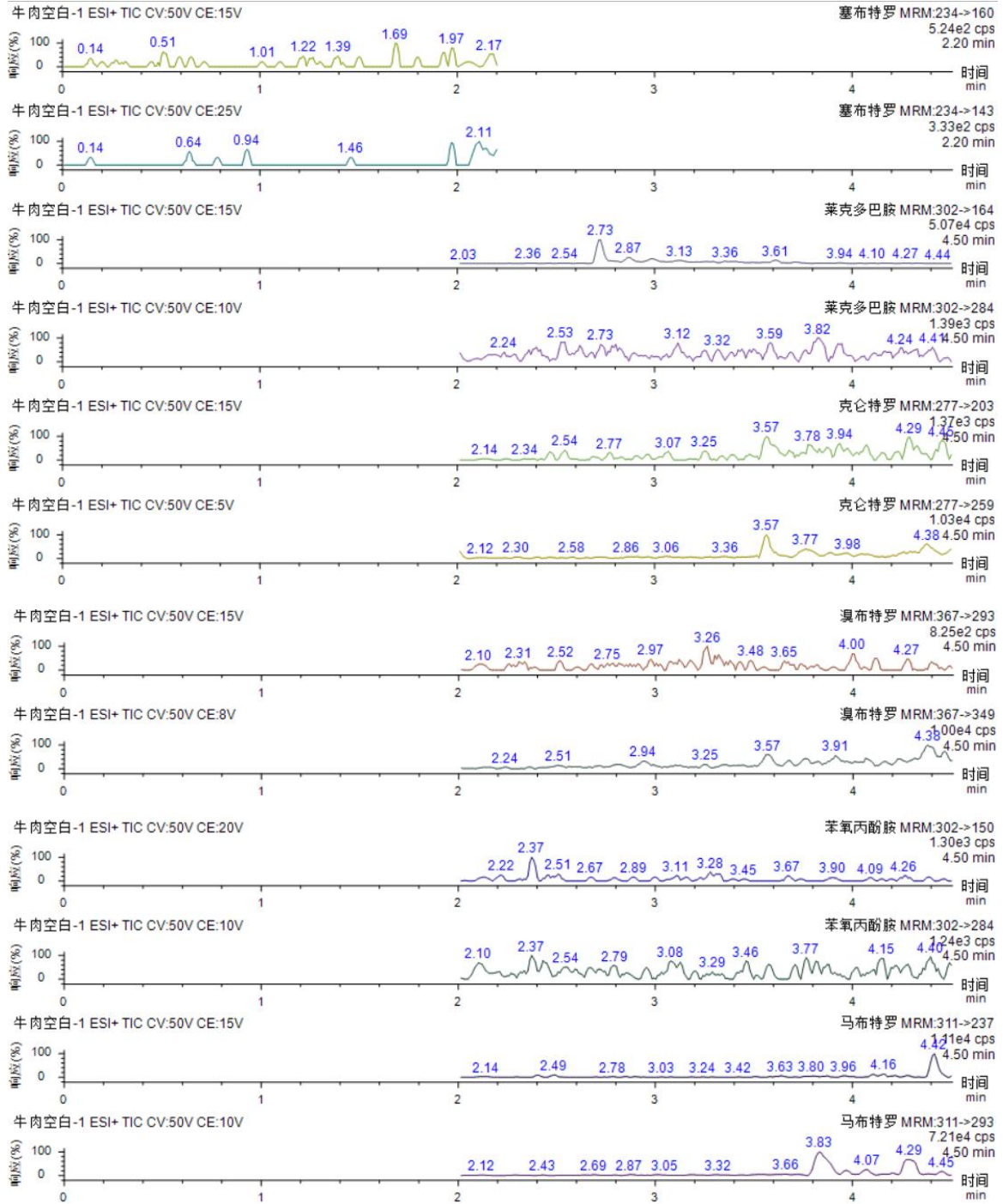


图 4 11 种 β -受体激动剂标准曲线定量限的色谱图 (1.0 ng/mL)



样品信息				莱克多巴胺		
数据文件	定量方法	保留时间	峰面积	相对峰面积		
1	11种β-受体激动剂0.5ppb-1	11种β-受体激动剂曲线0.5ppb	2.32	93170.57	0.38	
2	11种β-受体激动剂0.5ppb-2	11种β-受体激动剂曲线0.5ppb	2.32	94197.20	0.41	
3	11种β-受体激动剂0.5ppb-3	11种β-受体激动剂曲线0.5ppb	2.32	95888.91	0.37	
4	11种β-受体激动剂0.5ppb-4	11种β-受体激动剂曲线0.5ppb	2.32	96004.68	0.40	
5	11种β-受体激动剂0.5ppb-5	11种β-受体激动剂曲线0.5ppb	2.32	103904.10	0.39	
6	11种β-受体激动剂0.5ppb-6	11种β-受体激动剂曲线0.5ppb	2.32	108556.30	0.40	
Min			2.32	93170.57	0.37	
Max			2.32	108556.30	0.41	
AVG			2.32	98620.33	0.39	
SD			0.00	6167.77	0.01	
RSD			0.00	6.25	3.27	
IDL			0.00	0.00	0.00	

2.5 ng/mL 重复性: 保留时间和相对峰面积的 RSD 值分别在 0.00%-0.50%和 2.41%-6.90%之间。

样品信息				沙丁醇醇			沙丁醇醇O3			特布他林			塞美特罗			
数据文件	定量方法	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积
1	11种β-受体激动剂2.5ppb-1	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	1.25	261581.10	1.06	1.25	245746.40	1.24	215159.20	0.88	1.39	115439.90	0.26			
2	11种β-受体激动剂2.5ppb-2	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	1.26	268991.20	1.07	1.25	250368.70	1.25	233741.00	0.93	1.39	121802.60	0.25			
3	11种β-受体激动剂2.5ppb-3	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	1.25	259388.70	1.05	1.24	246327.00	1.24	222503.00	0.90	1.38	124505.60	0.27			
4	11种β-受体激动剂2.5ppb-4	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	1.26	267273.50	1.12	1.25	238854.70	1.24	217987.60	0.91	1.39	122542.20	0.27			
5	11种β-受体激动剂2.5ppb-5	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	1.26	281967.50	1.16	1.25	244042.60	1.24	206740.40	0.85	1.39	116688.80	0.25			
6	11种β-受体激动剂2.5ppb-6	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	1.27	274410.80	1.07	1.26	256491.00	1.25	234679.80	0.91	1.39	122675.80	0.27			
Min			1.25	259388.70	1.05	1.24	238854.70	1.24	206740.40	0.85	1.38	115439.90	0.25			
Max			1.27	281967.50	1.16	1.26	256491.00	1.25	234679.80	0.93	1.39	124505.60	0.27			
AVG			1.26	268925.50	1.09	1.25	246971.70	1.25	221801.80	0.90	1.39	120609.10	0.26			
SD			0.01	8340.34	0.04	0.01	5975.60	0.01	10903.18	0.03	0.01	3652.53	0.01			
RSD			0.50	3.10	3.62	0.42	2.42	0.50	4.92	3.48	0.49	3.03	3.85			
IDL			0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			

样品信息				塞布特罗			克仑特罗			克仑特罗-D9			溴布特罗			
数据文件	定量方法	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积
1	11种β-受体激动剂2.5ppb-1	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	1.90	399253.50	0.89	2.61	472568.20	1.06	2.60	447155.00	2.75	143550.10	0.32			
2	11种β-受体激动剂2.5ppb-2	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	1.90	429912.80	0.89	2.61	483830.30	1.01	2.60	480556.20	2.76	160749.20	0.33			
3	11种β-受体激动剂2.5ppb-3	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	1.89	431110.90	0.94	2.61	495955.50	1.08	2.60	459802.00	2.75	146397.00	0.32			
4	11种β-受体激动剂2.5ppb-4	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	1.90	410818.20	0.90	2.61	505826.10	1.11	2.60	455828.50	2.75	124929.60	0.27			
5	11种β-受体激动剂2.5ppb-5	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	1.89	420090.10	0.88	2.61	507624.90	1.07	2.60	475767.50	2.75	143750.30	0.30			
6	11种β-受体激动剂2.5ppb-6	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	1.90	427131.90	0.93	2.61	492933.60	1.07	2.60	459737.20	2.75	149334.70	0.32			
Min			1.89	399253.50	0.88	2.61	472568.20	1.01	2.60	447155.00	2.75	124929.60	0.27			
Max			1.90	431110.90	0.94	2.61	507624.90	1.11	2.60	480556.20	2.76	160749.20	0.33			
AVG			1.89	419719.60	0.91	2.61	493123.10	1.07	2.60	463141.10	2.76	144785.20	0.31			
SD			0.00	12544.64	0.02	0.00	13331.07	0.03	0.00	12605.37	0.00	11618.83	0.02			
RSD			0.23	2.99	2.41	0.00	2.70	3.17	0.00	2.72	0.14	8.02	6.90			
IDL			0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			

样品信息				苯氧丙醇胺			马布特罗			马奥特罗			溴代克仑特罗			
数据文件	定量方法	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积
1	11种β-受体激动剂2.5ppb-1	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	2.78	263625.50	0.59	2.88	767124.60	1.72	3.08	934562.80	2.09	2.68	280838.10	0.63		
2	11种β-受体激动剂2.5ppb-2	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	2.78	264698.80	0.55	2.88	744491.00	1.55	3.08	945415.80	1.97	2.68	295313.20	0.61		
3	11种β-受体激动剂2.5ppb-3	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	2.78	263798.30	0.57	2.87	774321.30	1.68	3.08	958792.60	2.09	2.68	278095.80	0.60		
4	11种β-受体激动剂2.5ppb-4	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	2.78	276004.10	0.61	2.87	829186.10	1.82	3.08	915694.80	2.01	2.68	294999.30	0.65		
5	11种β-受体激动剂2.5ppb-5	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	2.78	250537.40	0.53	2.87	742253.70	1.56	3.07	875134.70	1.84	2.68	271294.90	0.57		
6	11种β-受体激动剂2.5ppb-6	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	2.78	274289.70	0.60	2.88	788380.10	1.71	3.08	899869.10	1.96	2.68	286629.50	0.62		
Min			2.78	250537.40	0.53	2.87	742253.70	1.55	3.07	875134.70	1.84	2.68	271294.90	0.57		
Max			2.78	276004.10	0.61	2.88	829186.10	1.82	3.08	958792.60	2.09	2.68	295313.20	0.65		
AVG			2.78	265492.30	0.57	2.87	774292.80	1.67	3.08	921578.30	1.99	2.68	284528.50	0.61		
SD			0.00	9149.04	0.03	0.01	32180.01	0.10	0.00	30934.26	0.09	0.00	9596.75	0.03		
RSD			0.00	3.45	5.25	0.18	4.16	6.16	0.13	3.36	4.69	0.00	3.37	4.23		
IDL			0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		

样品信息				莱克多巴胺		
数据文件	定量方法	保留时间	峰面积	相对峰面积		
1	11种β-受体激动剂2.5ppb-1	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	2.32	469393.20	1.91	
2	11种β-受体激动剂2.5ppb-2	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	2.32	460303.60	1.84	
3	11种β-受体激动剂2.5ppb-3	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	2.32	474710.50	1.93	
4	11种β-受体激动剂2.5ppb-4	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	2.32	469321.50	1.96	
5	11种β-受体激动剂2.5ppb-5	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	2.32	471143.00	1.93	
6	11种β-受体激动剂2.5ppb-6	11种β-受体激动剂曲线2.5ppb	2.32	476654.50	1.86	
Mn			2.32	460303.60	1.84	
Max			2.32	476654.50	1.96	
AVG			2.32	470254.40	1.90	
SD			0.00	5696.28	0.05	
RSD			0.00	1.21	2.50	
IDL			0.00	0.00	0.00	

10.0 ng/mL 重复性: 保留时间和相对峰面积的 RSD 值分别在 0.00%-0.51%和 2.54%-4.91%之间

样品信息				沙丁胺醇			沙丁胺醇D3			特布他林			塞曼特罗		
数据文件	序列名称	定量方法		保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积
10ppb-混标1	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		1.24	1441791.00	3.93	1.23	366599.90	1.23	1444291.00	3.94	1.35	664385.70	1.14	
10ppb-混标2	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		1.24	1483586.00	4.00	1.24	371318.60	1.24	1502890.00	4.05	1.38	680894.90	1.11	
10ppb-混标3	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		1.24	1494372.00	3.91	1.24	382237.20	1.23	1448177.00	3.79	1.38	665930.40	1.05	
10ppb-混标4	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		1.24	1503588.00	3.99	1.24	376972.70	1.24	1560942.00	4.14	1.38	681679.80	1.15	
10ppb-混标5	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		1.25	1487054.00	4.05	1.24	367093.90	1.23	1480483.00	4.03	1.39	699095.40	1.22	
10ppb-混标6	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		1.25	1428575.00	3.72	1.24	384483.30	1.24	1484075.00	3.86	1.39	663653.20	1.13	
Min				1.24	1428575.00	3.72	1.23	366599.90	1.23	1444291.00	3.79	1.35	663653.20	1.05	
Max				1.25	1503588.00	4.05	1.24	384483.30	1.24	1560942.00	4.14	1.39	699095.40	1.22	
AVG				1.25	1473161.00	3.93	1.24	374784.30	1.23	1486808.00	3.97	1.37	675939.90	1.14	
SD				0.00	30493.91	0.12	0.01	7649.09	0.00	42665.40	0.13	0.01	13988.05	0.06	
RSD				0.35	2.07	2.98	0.51	2.04	0.37	2.87	3.29	0.83	2.07	4.85	
IDL				0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

样品信息				塞布特罗			克仑特罗			克仑特罗-D9			溴布特罗		
数据文件	序列名称	定量方法		保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积
10ppb-混标1	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		1.87	2066589.00	3.45	2.60	2239145.00	3.85	2.59	582290.50	2.75	567297.60	0.97	
10ppb-混标2	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		1.88	2167256.00	3.54	2.60	2362640.00	3.86	2.59	611441.90	2.75	597239.10	0.98	
10ppb-混标3	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		1.89	2118435.00	3.35	2.60	2265203.00	3.59	2.59	631507.20	2.75	628076.50	0.99	
10ppb-混标4	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		1.88	2067330.00	3.48	2.60	2316179.00	3.90	2.59	594153.10	2.75	608387.30	1.02	
10ppb-混标5	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		1.89	2035156.00	3.56	2.60	2210396.00	3.87	2.59	570919.30	2.75	541394.40	0.95	
10ppb-混标6	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		1.89	1977006.00	3.37	2.60	2125480.00	3.62	2.59	587485.20	2.75	577793.40	0.98	
Min				1.87	1977006.00	3.35	2.60	2125480.00	3.59	2.59	570919.30	2.75	541394.40	0.95	
Max				1.89	2167256.00	3.56	2.60	2362640.00	3.90	2.59	631507.20	2.75	628076.50	1.02	
AVG				1.88	2061962.00	3.46	2.60	2253174.00	3.78	2.59	596299.50	2.75	586698.00	0.98	
SD				0.01	71143.88	0.09	0.00	82981.71	0.14	0.00	21870.45	0.00	30989.69	0.03	
RSD				0.36	3.45	2.55	0.00	3.68	3.69	0.00	3.67	0.00	5.28	2.54	
IDL				0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

样品信息				苯氧丙胺			马布特罗			马高特罗			溴代克仑特罗		
数据文件	序列名称	定量方法		保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积	保留时间	峰面积	相对峰面积
10ppb-混标1	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		2.77	1535867.00	2.64	2.86	3408461.00	5.85	3.06	3986288.00	6.85	2.67	1240221.00	2.13
10ppb-混标2	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		2.77	1613776.00	2.64	2.86	3865989.00	6.32	3.06	4229888.00	6.92	2.67	1241582.00	2.03
10ppb-混标3	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		2.77	1526685.00	2.42	2.86	3796703.00	6.01	3.06	4399482.00	6.97	2.67	1319932.00	2.09
10ppb-混标4	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		2.77	1536185.00	2.59	2.86	3794179.00	6.39	3.06	4056460.00	6.83	2.67	1342013.00	2.26
10ppb-混标5	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		2.77	1448634.00	2.54	2.86	3639182.00	6.37	3.06	4366296.00	7.65	2.67	1256773.00	2.20
10ppb-混标6	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		2.77	1458775.00	2.48	2.86	3576841.00	6.09	3.06	4038820.00	6.87	2.67	1270054.00	2.16
Min				2.77	1448634.00	2.42	2.86	3408461.00	5.85	3.06	3986288.00	6.83	2.67	1240221.00	2.03
Max				2.77	1613776.00	2.64	2.86	3865989.00	6.39	3.06	4399482.00	7.65	2.67	1342013.00	2.26
AVG				2.77	1519987.00	2.55	2.86	3680226.00	6.17	3.06	4179539.00	7.01	2.67	1278429.00	2.15
SD				0.00	60322.38	0.09	0.00	171632.80	0.22	0.00	177811.30	0.31	0.00	42713.51	0.08
RSD				0.00	3.97	3.47	0.00	4.66	3.57	0.00	4.25	4.49	0.00	3.34	3.77
IDL				0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

样品信息				莱克多巴胺		
数据文件	序列名称	定量方法		保留时间	峰面积	相对峰面积
10ppb-混标1	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		2.31	2431604.00	6.63
10ppb-混标2	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		2.31	2622164.00	7.06
10ppb-混标3	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		2.31	2567470.00	6.72
10ppb-混标4	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		2.31	2643460.00	7.01
10ppb-混标5	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		2.31	2599799.00	7.08
10ppb-混标6	20210604-11种β-受体激动剂	11种β-受体激动剂曲线10ppb.lcmsDat		2.31	2393980.00	6.23
Min				2.31	2393980.00	6.23
Max				2.31	2643460.00	7.08
AVG				2.31	2543079.00	6.79
SD				0.00	104690.20	0.33
RSD				0.00	4.12	4.91
IDL				0.00	0.00	0.00

由上可知，该方法精密度良好，满足检测要求。

3.3 加标回收率

取牛肉空白基质样品，分别加入一定量的11种β-受体激动剂标准物质，参照2.3步骤将样品进行处理。加标浓度分别为0.5 μg/kg、2.5 μg/kg、10 μg/kg和25 μg/kg，每个浓度平行3次试验，所得结果如表4所示。

表4 加标回收率实验结果

序号	样品名称	回收率			
		0.5 μg/kg	2.5 μg/kg	10 μg/kg	25 μg/kg
1	沙丁胺醇	99.8	117.9	76.8	119.4
2	特布他林	82.3	91.5	92.6	72.9
3	塞曼特罗	107.4	120.3	79.5	103.4

4	塞布特罗	105.2	91.7	107.3	107.1
5	克伦特罗	113.7	80.6	97.0	115.3
6	溴布特罗	104.4	95.3	119.1	122.0
7	苯氧丙酚胺	82.2	96.8	93.5	101.1
8	马布特罗	92.51	117.4	77.5	89.1
9	马贲特罗	109.8	110.3	101.4	100.2
10	溴代克伦特罗	85.6	93.1	103.8	95.9
11	莱克多巴胺	107.2	105.7	98.5	112.0

4 结论

牛肉样品参考国标 GB/T 22338-2008 方法进行前处理后,使用 LC-MS/MS 进行系统测定。本文考察了方法的线性、精密度、灵敏度和加标回收率。结果表明: 11 种 β -受体激动剂在 0.5 $\mu\text{g/L}$ -50 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性良好, 相关系数 r 均大于 0.998; 对 0.5 $\mu\text{g/L}$ 、2.5 $\mu\text{g/L}$ 和 10 $\mu\text{g/L}$ β -受体激动剂标准溶液, 平行测定 6 次, 11 种目标化合物的保留时间和相对响应的相对标准偏差在 0.00-0.59%和 2.41-8.98%之间, 仪器精密度良好。11 种目标化合物方法检出限在 0.01-0.02 $\mu\text{g/kg}$ 之间, 方法定量限在 0.02-0.07 $\mu\text{g/kg}$ 之间, 满足标准检测要求。对牛肉样品进行加标回收率实验, 加标浓度为 0.5 $\mu\text{g/kg}$ 、2.5 $\mu\text{g/kg}$ 、10.0 $\mu\text{g/kg}$, 回收率在 76.8%-122.0%之间。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统, 可以对动物源性食品中 11 种 β -受体激动剂残留量进行灵敏、准确的定量检测。

九、LC-MS/MS 法测定食品中井冈霉素的 残留量

参考标准：《GB 23200.74-2016》

1 前言

井冈霉素（Validamycin），又名有效霉素，是一种放线菌产生的抗生素，具有较强的内吸性，易被菌体细胞吸收并在其内迅速传导，干扰和抑制菌体细胞生长和发育。主要用于水稻纹枯病，也可用于水稻稻曲病、玉米大小斑病以及蔬菜和棉花、豆类等作物病害的防治。但是该药物在农作物上的残留对人、畜均有明显的毒副作用，属于低毒杀菌剂。因此，本文参考《GB 23200.74-2016 食品安全国家标准食品中井冈霉素残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》，建立了使用谱育科技的超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪测定食品中井冈霉素残留的快速且高灵敏度的检测方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品：井冈霉素（异构体混合物，固体）购自德国 Dr.Ehrenstorfer，于-20℃冰箱保存。

试剂：超纯水，乙腈为色谱级；乙酸铵为色谱级。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	5mmol/L 乙酸铵 (A) 和乙腈 (B) 梯度洗脱		
	流速	0.3 mL/min		
	色谱柱	Waters BEH C18(2.1*100mm, 1.7um)		
	进样量	部分环进样, 10 uL		
	柱温	40°C		
	运行时间	4min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	95	5	
	1	95	5	
	1.5	40	60	
	2.5	40	60	
	3	95	5	
	4	95	5	
MS 条件	运行模式	ESI ⁺		
	雾化气流量	1.4L/min		
	去溶剂气流量	6L/min		
	反吹气流量	0.4L/min		
	去溶剂气温度	450°C		
	碰撞气流量	0.45mL/min (5.02e-3Torr)		
	毛细管高压	5.2kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1 井岗霉素	498.05	178	0.3	45	34	Unit-Unit
2 井岗霉素	498.05	141.98	0.3	45	46	Unit-Unit

2.3 样品前处理

样品前处理方法：具体参考《GB 23200.74-2016 食品安全国家标准食品中井冈霉素残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》。

3 结果

3.1 线性和检出限

用水稀释得到一系列浓度的井冈霉素标准品 (1ng/mL、2ng/mL、5ng/mL、10ng/mL、20ng/ml、40ng/ml、50ng/ml),按照上述方法进样,以各目标物的定量离子色谱峰面积(Y)为纵坐标,目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标,权重系数为 $1/x$,采用外法拟合后的标准曲线如下图1所示。标准曲线最低点定量离子色谱图如图2所示,配置1ng/ml标准溶液进样,按照 $S/N=10$ 和 $S/N=3$ 计算定量限和检出限,结果如下表1所示。且本实验的检出限完全符合《GB 23200.74-2016 食品安全国家标准食品中井冈霉素残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》的要求。

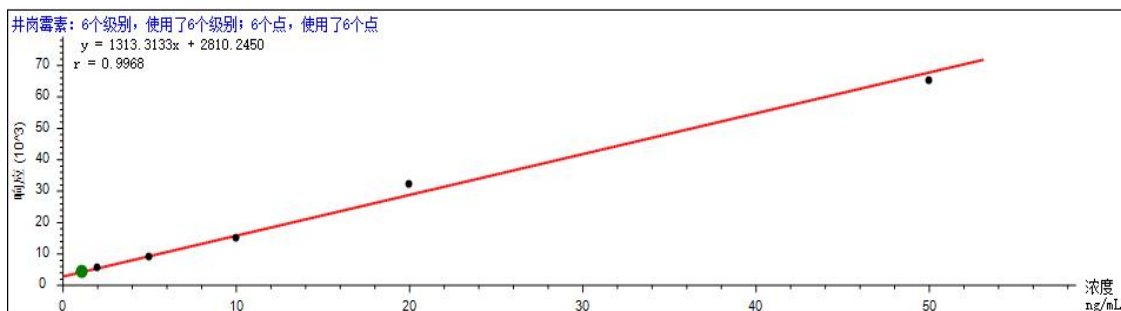


图1 井冈霉素的标准曲线

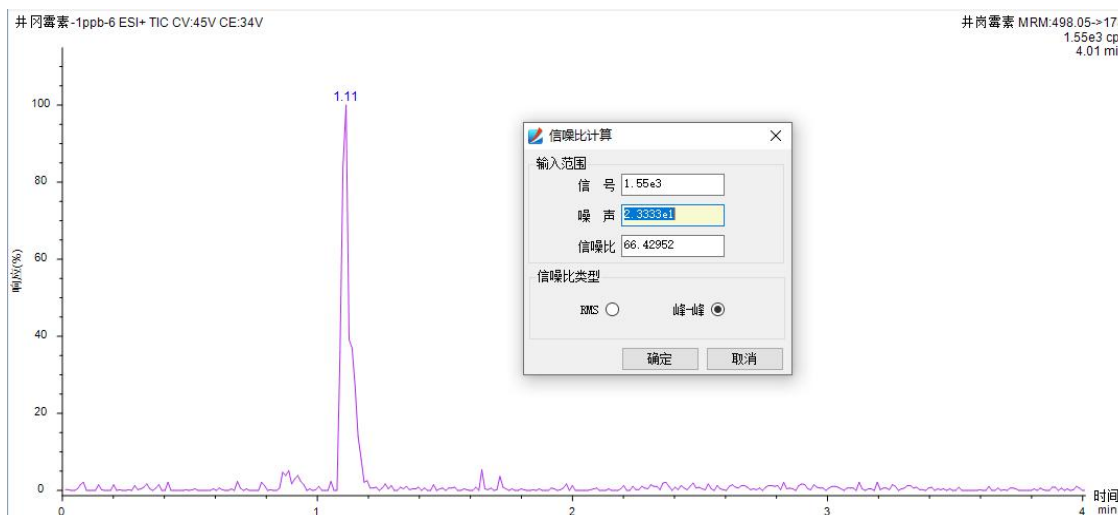


图 2 井冈霉素标曲最低点定量离子色谱图 (1ng/ml)

表 1 井冈霉素的检出限和定量限

序号	化合物名称	S/N	检出限 (ng/ml)	定量限 (ng/ml)
1	井冈霉素	66.43	0.045	0.15

3.2 重复性

分别配置 1 ng/mL 和 10 ng/mL 不同浓度对照品, 分别连续进样 6 次, 考察保留时间和响应的重复性, 结果如下所示。

1ng/ml 重复性: 保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.44%和 2.86%。

	样品信息				井冈霉素		
	!	▼	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	响应
1			<input checked="" type="checkbox"/> 食品中井冈霉素\井冈霉素-1ppb-01	2021-11-04 10:08	井冈霉素1ppb-50ppb	1.10	4380.75
2			<input checked="" type="checkbox"/> 食品中井冈霉素\井冈霉素-1ppb-02	2021-11-04 10:12	井冈霉素1ppb-50ppb	1.11	4134.11
3			<input checked="" type="checkbox"/> 食品中井冈霉素\井冈霉素-1ppb-03	2021-11-04 10:38	井冈霉素1ppb-50ppb	1.10	4205.68
4			<input checked="" type="checkbox"/> 食品中井冈霉素\井冈霉素-1ppb-04	2021-11-04 10:42	井冈霉素1ppb-50ppb	1.10	4306.48
5			<input checked="" type="checkbox"/> 食品中井冈霉素\井冈霉素-1ppb-05	2021-11-04 10:47	井冈霉素1ppb-50ppb	1.10	4045.53
6			<input checked="" type="checkbox"/> 食品中井冈霉素\井冈霉素-1ppb-06	2021-11-04 10:30	井冈霉素1ppb-50ppb	1.10	4259.32
Min						1.10	4045.53
Max						1.11	4380.75
AVG						1.10	4221.98
SD						0.00	120.72
▶ RSD						0.44	2.86
IDL						0.00	0.00

10ng/ml 重复性: 保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.00%和 2.74%。

	样品信息				井冈霉素		
	!	▼	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	响应
1			<input checked="" type="checkbox"/> 食品中井冈霉素\井冈霉素-10ppb-01	2021-11-04 10:51	井冈霉素1ppb-50ppb	1.10	17758.89
2			<input checked="" type="checkbox"/> 食品中井冈霉素\井冈霉素-10ppb-02	2021-11-04 10:55	井冈霉素1ppb-50ppb	1.10	18879.33
3			<input checked="" type="checkbox"/> 食品中井冈霉素\井冈霉素-10ppb-03	2021-11-04 11:00	井冈霉素1ppb-50ppb	1.10	18759.54
4			<input checked="" type="checkbox"/> 食品中井冈霉素\井冈霉素-10ppb-04	2021-11-04 11:04	井冈霉素1ppb-50ppb	1.10	17953.07
5			<input checked="" type="checkbox"/> 食品中井冈霉素\井冈霉素-10ppb-05	2021-11-04 11:08	井冈霉素1ppb-50ppb	1.10	18101.66
6			<input checked="" type="checkbox"/> 食品中井冈霉素\井冈霉素-10ppb-06	2021-11-04 11:21	井冈霉素1ppb-50ppb	1.10	18862.43
Min						1.10	17758.89
Max						1.10	18879.33
AVG						1.10	18385.82
SD						0.00	504.27
▶ RSD						0.00	2.74
IDL						0.00	0.00

可知所有化合物的保留时间和峰面积均在 2.86%以下, 精密度较好。

4 结论

样品经提取、净化等前处理过程, 使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线

性、精密度、灵敏度等，结果表明：井冈霉素在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.99；方法精密度在 2.86%以内，灵敏度符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对食品中井冈霉素残留进行灵敏、准确的定量检测。

第二章 农药残留分析

一、LC-MS/MS 法测定蔬菜中 331 种农药残留量

参考标准：《GB23200.121-2021 植物源性食品中 331 种农药及其代谢物残留量的测定 液相色谱-质谱联用法》

1 前言

国家标准《GB23200.121-2021 植物源性食品中 331 种农药及其代谢物残留量的测定 液相色谱-质谱联用法》于 2021 年 3 月由国家卫生健康委、农业农村部、市场监管总局三个部门联合发布。该标准是国内首个单针测定农药残留品种最多的液质质国标，适用于植物性食品包括食用菌、水果、蔬菜、糖料、粮食、油物等 10 大类农产品，全面覆盖植物性食品。GB23200.121-2021 适用于植物性食品中 331 种农药及其 44 个代谢物（共 375 个组分）残留物的测定，将于 2021 年 9 月正式实施。新标准和 GB23200.113-2018 的前处理方法一样，运用 QuEChERS 前处理方法，可同时应用于气质质和液质质检测，大大简化了前处理过程，提高分析效率。

本文参考《GB23200.121-2021 植物源性食品中 331 种农药及其代谢物残留量的测定 液相色谱-质谱联用法》，使用杭州谱育科技的 EXPEC 5210 液相色谱-三重四极杆串联质谱仪测定蔬菜中 331 种农药残留量。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含

冷却功能)、柱温箱)、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品: 331 种农药标准品 (20mg/L)、分为 ABCD 组, 购自于天津农业部。

试剂: 甲醇、甲酸铵、甲酸为色谱级, 乙腈、柠檬酸钠、柠檬酸氢二钠、氯化钠、乙酸钠、无水硫酸镁为分析纯。



图 1 液相色谱-三重四极杆串联质谱仪

2.2 液相和质谱条件

表 1 测试条件

LC 条件	流动相	A 相为水 (含 2 mM 甲酸铵和 0.01%甲酸), B 相为甲醇 (含 2 mM 甲酸铵和 0.01%甲酸), 梯度洗脱		
	流速	0.3mL/min		
	色谱柱	ACQUITY HSS T3 (2.1×100 mm, 1.8 μm)		
	柱温	40°C		
	进样量	5 uL		
	运行时间	30 min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
		0	99	1
	1	99	1	
	2	50	50	
	18	30	70	
	23	2	98	
	27	2	98	
	27.1	99	1	
	30	99	1	
MS 条件	雾化气流量	1.4L/min		
	去溶剂气流量	6.0L/min		

反吹气流量	2.0L/min
去溶剂气温度	500°C
碰撞气流量	0.65mL/min (8.3e ⁻³ Torr)
毛细管高压	4.8kV

监测模式为多反应监测(MRM)，部分化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。

表 2 部分目标化合物多反应离子监测条件

The screenshot shows the software interface for method configuration. The top section displays basic information for the method '331种农药及其代谢物'. Below this, there are two main panels. The left panel shows a list of method segments with columns for '方法片段值', '开始时间', '结束时间', '离子化模', and '扫描模式'. The right panel shows a table of monitored compounds with columns for '化合物名称', '母离子质量', '子离子质量', '驻留时间(s)', '锥孔电压', '碰撞能量', and '分辨率'.

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1 甲胺磷	142	94	0.003	50	19	Unit-Unit
2 甲胺磷	142	125	0.003	50	18	Unit-Unit
3 乙酰甲胺磷	184	143	0.003	50	12	Unit-Unit
4 乙酰甲胺磷	184	125	0.003	50	25	Unit-Unit
5 氧乐果	214	182.9	0.003	50	16	Unit-Unit
6 氧乐果	214	109	0.003	50	36	Unit-Unit
7 杀线威脒	163	72.1	0.003	50	15	Unit-Unit
8 杀线威脒	163	90	0.003	50	23	Unit-Unit
9 噻嗪威	189	102	0.003	50	24	Unit-Unit
10 噻嗪威	189	74	0.003	50	34	Unit-Unit
11 吡虫啉	203.1	129	0.003	50	16	Unit-Unit
12 吡虫啉	203.1	157	0.003	50	11	Unit-Unit
13 涕灭威亚砷	207	132	0.003	50	9	Unit-Unit
14 涕灭威亚砷	207	89	0.003	50	20	Unit-Unit
15 涕灭威砷	240.1	148	0.003	50	17	Unit-Unit
16 涕灭威砷	240.1	166	0.003	50	16	Unit-Unit
17 杀线威	237.1	72	0.003	50	32	Unit-Unit
18 杀线威	237.1	90.1	0.003	50	11	Unit-Unit
19 烯啶虫脒	271.1	225	0.003	50	16	Unit-Unit
20 烯啶虫脒	271.1	99	0.003	50	22	Unit-Unit
21 亚砷磷	247	169	0.003	50	21	Unit-Unit
22 亚砷磷	247	126.9	0.003	50	39	Unit-Unit
23 灭多威	163	88	0.003	50	12	Unit-Unit

2.3 样品前处理

称取 10g 试样（蔬菜）于 50mL 塑料离心管中，加入 10mL 乙腈及 1 颗陶瓷均质子，剧烈振荡 1min，加入 4g 无水硫酸镁、1g 氯化钠、1g 柠檬酸钠二水合物、0.5g 柠檬酸二钠盐倍半水合物，剧烈振荡 1min 后 4200r/min 离心 5min。定量吸取上清液至含除水剂和净化材料的塑料离心管中（每毫升提取液使用 150mg 无水硫酸镁、25mg PSA）；对于颜色较深的试样，离心管中另加入 GCB（每毫升提取液使用 2.5g），涡旋混匀 1min。4200r/min 离心 5min，吸取上清液过微孔滤膜，用于测定。

3 结果

3.1 典型图谱

331 种农残的 MRM 叠加色谱图如下图 3 所示，部分农残化合物线性最低点浓度（ $2\mu\text{g/L}$ ）离子通道色谱图如图 4 所示。

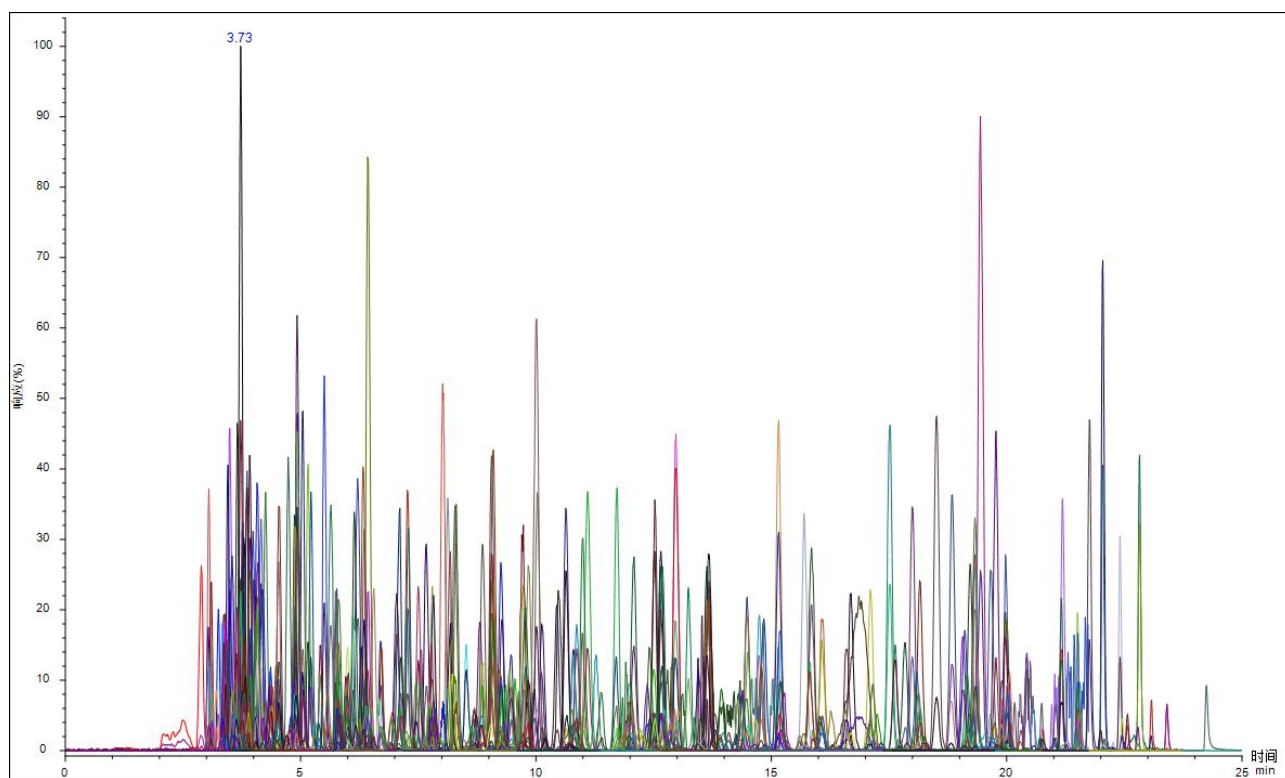
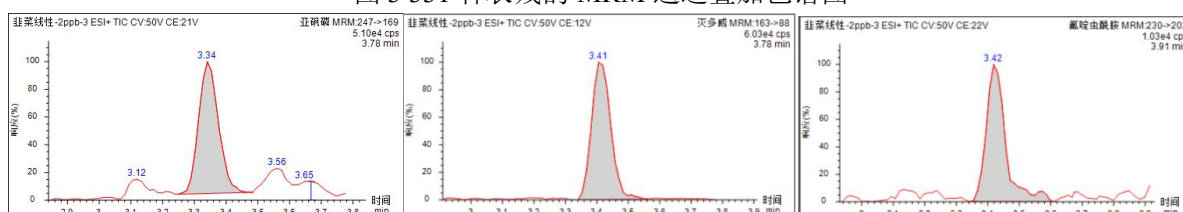
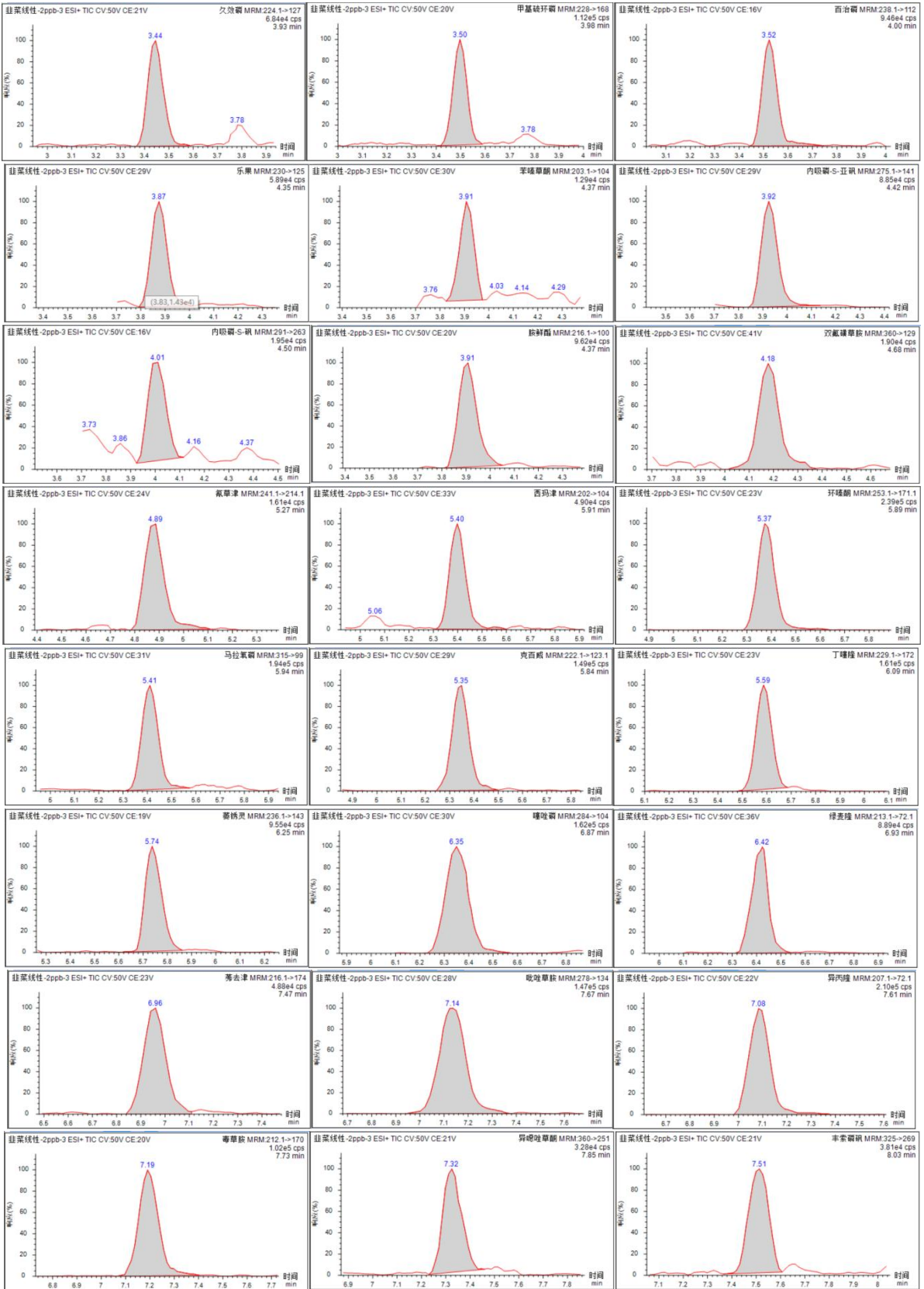


图 3 331 种农残的 MRM 通道叠加色谱图





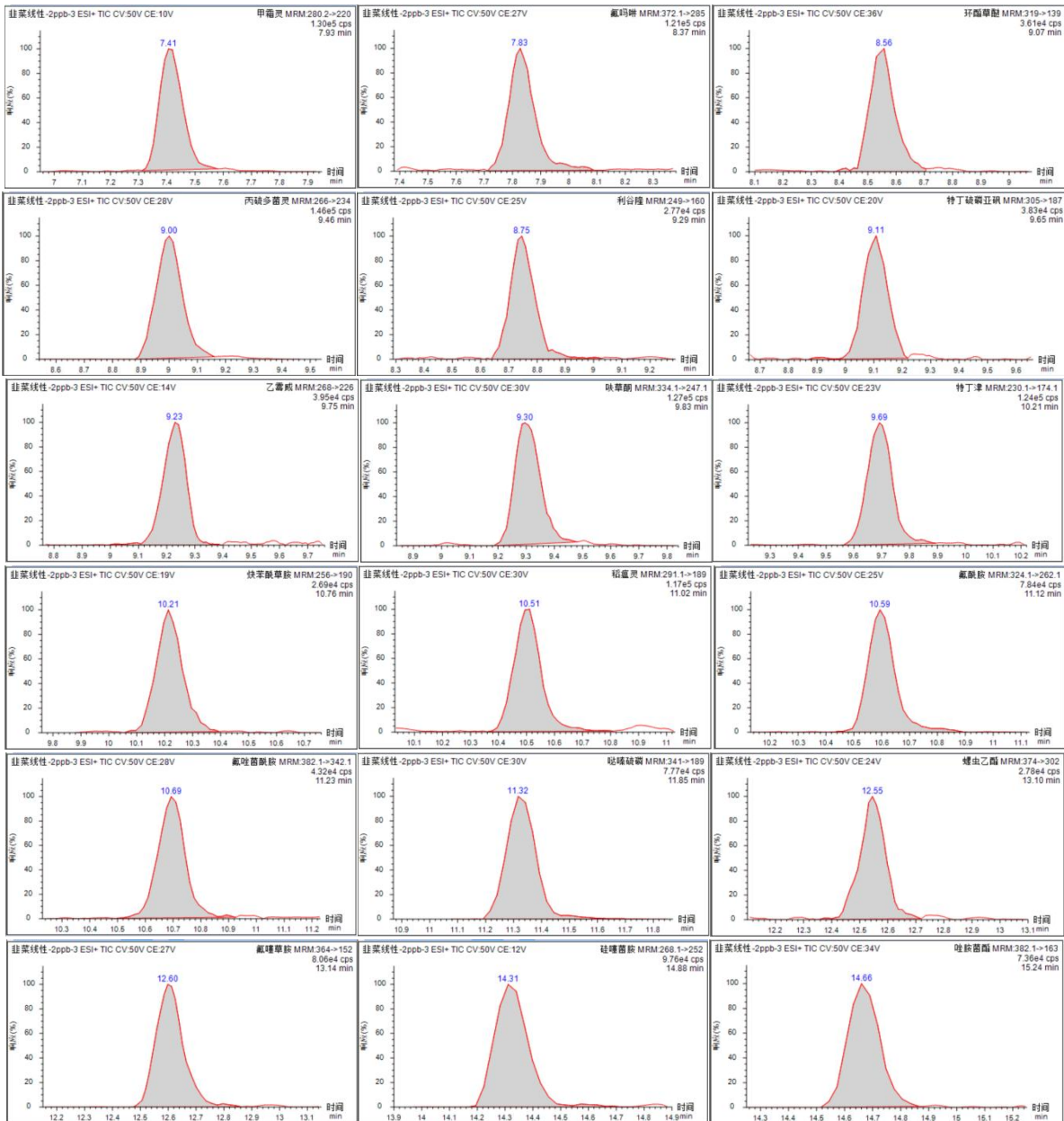


图 4 部分农残化合物标准曲线最低点离子通道色谱图 (2 µg/L)

3.2 线性

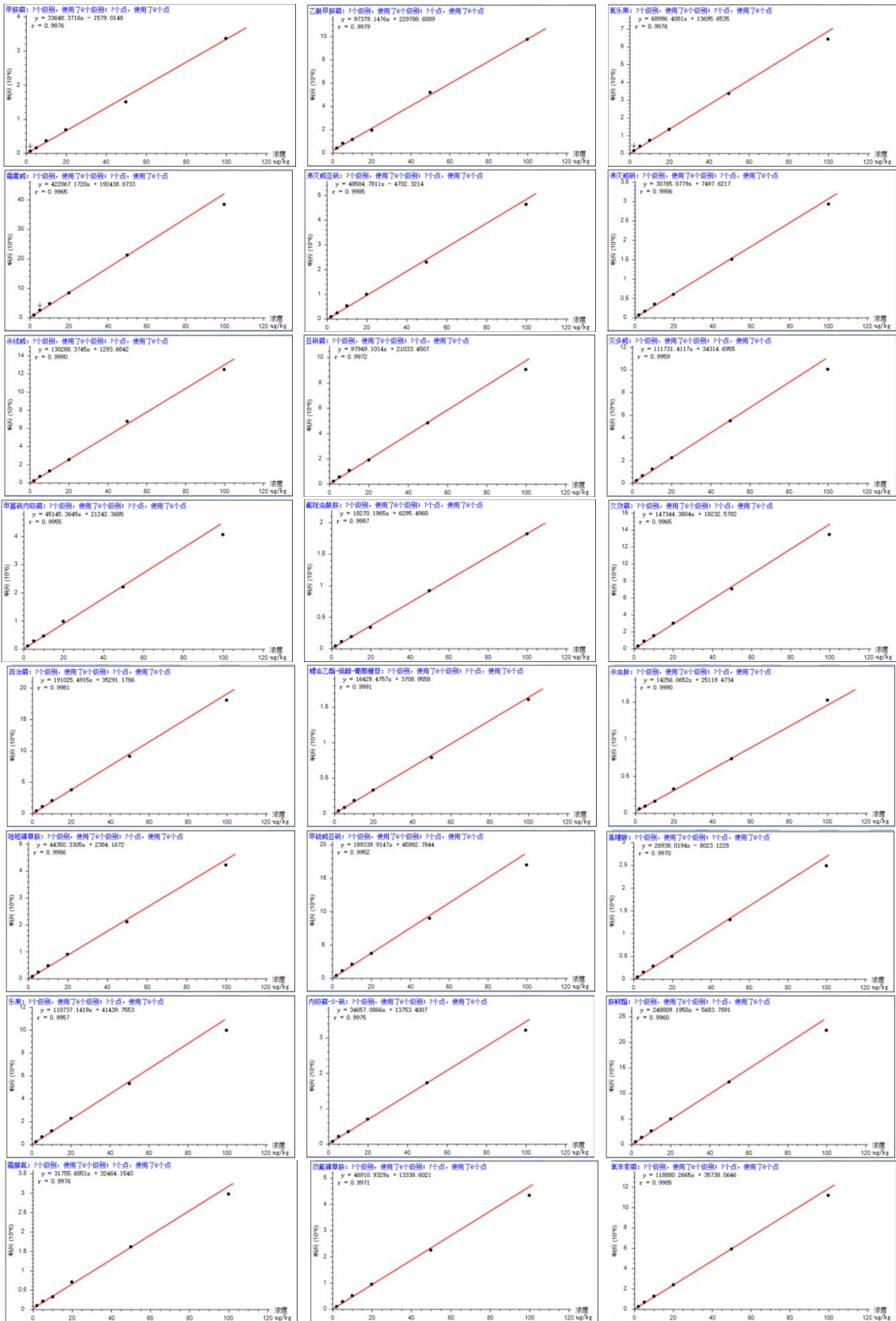
参照《GB23200.121-2021 植物源性食品中 331 种农药及其代谢物残留量的测定 液相色谱-质谱联用法》处理蔬菜，用蔬菜空白基质逐级稀释得到 0.002 mg/L、0.005 mg/L、0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.2 mg/L 和 0.5 mg/L 的标准工作溶液，按照上述方法进样。部分农药线性结果见下表，331 种农药及其代谢物的标准曲线线性相关系数均大于 0.995，满足方法学验证要求。

表 2 部分农残化合物线性结果

名称	线性方程	相关系数	线性范围 (mg/kg)
----	------	------	--------------

甲胺磷	$y = 33648.3716x - 1579.0148$	$r = 0.9976$	2-100
乙酰甲胺磷	$y = 97379.1476x + 229788.6089$	$r = 0.9979$	2-100
氧乐果	$y = 68996.4081x + 13695.6535$	$r = 0.9976$	2-100
霜霉威	$y = 422867.1720x + 192438.0733$	$r = 0.9965$	2-100
涕灭威亚砷	$y = 48584.7811x - 4702.3214$	$r = 0.9985$	2-100
涕灭威砷	$y = 30765.0779x + 7497.6217$	$r = 0.9986$	2-100
杀线威	$y = 130288.3745x + 1293.6842$	$r = 0.9990$	2-100
亚砷磷	$y = 97949.1014x + 21033.4507$	$r = 0.9972$	2-100
灭多威	$y = 111731.4117x + 34314.6955$	$r = 0.9959$	2-100
甲基砷内吸磷	$y = 45145.3645x + 21242.3685$	$r = 0.9955$	2-100
氟苯虫酰胺	$y = 18270.1965x + 6295.4960$	$r = 0.9987$	2-100
久效磷	$y = 147344.3804x + 18232.5782$	$r = 0.9965$	2-100
百治磷	$y = 191025.4915x + 35291.1786$	$r = 0.9981$	2-100
螺虫乙酯-烯醇-葡萄糖苷	$y = 16429.4757x + 3708.9558$	$r = 0.9991$	2-100
杀虫脒	$y = 14256.0652x + 25119.4734$	$r = 0.9990$	2-100
啉啉啉草胺	$y = 44350.3305x + 2384.1672$	$r = 0.9986$	2-100
甲硫威亚砷	$y = 189339.9147x + 45982.7844$	$r = 0.9952$	2-100
氯噻啉	$y = 26938.0194x - 8023.1228$	$r = 0.9970$	2-100
乐果	$y = 110737.1419x + 41439.7553$	$r = 0.9957$	2-100
内吸磷-S-砷	$y = 34657.0866x + 13753.4007$	$r = 0.9975$	2-100
胺鲜酯	$y = 248809.1950x + 5683.7891$	$r = 0.9960$	2-100
霜脲氰	$y = 31755.6851x + 32464.1540$	$r = 0.9976$	2-100
双氟磺草胺	$y = 46910.9329x + 13338.6021$	$r = 0.9971$	2-100
氧丰索磷	$y = 118880.2665x + 35738.0646$	$r = 0.9985$	2-100
脱甲基抗蚜威	$y = 107901.9946x + 22995.2352$	$r = 0.9978$	2-100
醚磺隆	$y = 42127.8973x - 4799.8717$	$r = 0.9975$	2-100
安砷磷	$y = 18439.7811x + 13958.7608$	$r = 0.9988$	2-100
磷胺	$y = 53837.8558x + 17645.2666$	$r = 0.9989$	2-100
噻吩磺隆	$y = 42381.3483x + 15534.4974$	$r = 0.9983$	2-100
烯丙苯噻唑	$y = 40509.9449x + 2239.6952$	$r = 0.9987$	2-100
醚苯磺隆	$y = 25082.3103x + 7688.7231$	$r = 0.9983$	2-100
氰草津	$y = 47618.8283x + 425.7441$	$r = 0.9976$	2-100
速灭威	$y = 119084.2727x + 29297.4396$	$r = 0.9993$	2-100
氯磺隆	$y = 25794.7527x + 5066.7970$	$r = 0.9996$	2-100
啶嘧磺隆	$y = 25081.4497x + 3653.7795$	$r = 0.9988$	2-100
噻苯隆	$y = 51471.9313x + 20956.6561$	$r = 0.9988$	2-100
敌敌畏	$y = 10000.8802x - 9848.8190$	$r = 0.9977$	2-100
恶虫威	$y = 126270.9777x + 55407.7130$	$r = 0.9960$	2-100
氟菌唑代谢产物 FM-6-1	$y = 27531.7258x + 14461.9554$	$r = 0.9993$	2-100
倍硫磷亚砷	$y = 100437.6761x + 19559.1024$	$r = 0.9983$	2-100
苯线磷砷	$y = 95360.1337x + 526.9894$	$r = 0.9974$	2-100
五氟磺草胺	$y = 43212.4957x + 4209.1795$	$r = 0.9975$	2-100

溴氰虫酰胺	$y = 30055.0728x - 11852.7305$	$r = 0.9991$	2-100
乙啶酚	$y = 120314.6953x + 7058.6107$	$r = 0.9994$	2-100
螺虫乙酯-烯醇	$y = 57537.2498x + 1497.9809$	$r = 0.9997$	2-100



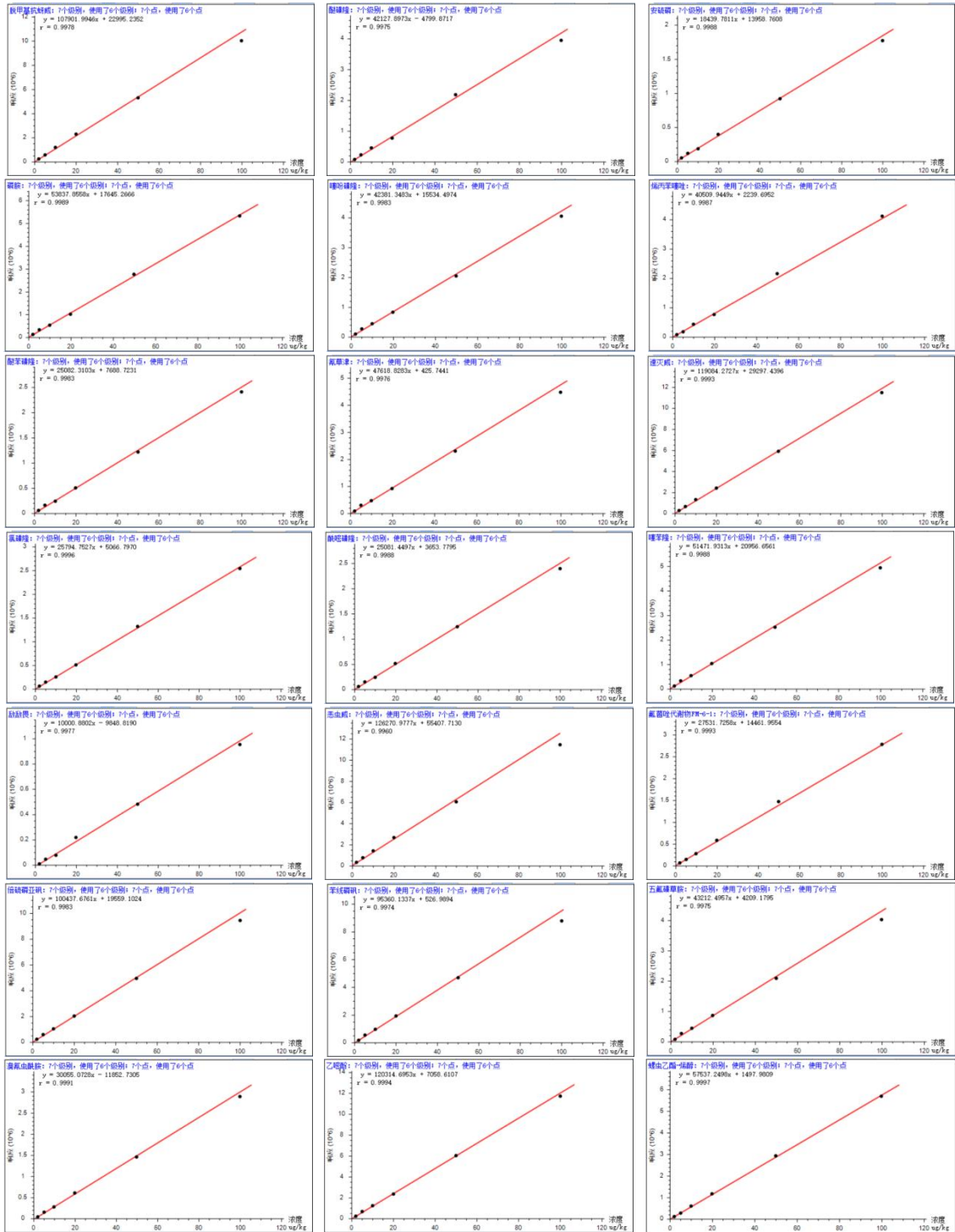


图5 部分农残化合物标准曲线

3.2 重复性

以 10ppb 基质标进行精密度验证，部分农药线性结果见下图，331 种农药及其代谢物的峰面积重复性 RSD 均小于 10%，满足方法学验证要求。

样品信息				氧乐果		杀线威砒		噻霉威		涕灭威砒砒		涕灭威砒		杀线威		砒砒砒		灭多威		
!	▼	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	▼	非菜10ppb精密密度-2	2021-06-23 06:29	1	3.16	766479.80	3.16	1234511.00	3.16	5321647.00	3.20	511773.10	3.26	378089.80	3.29	1495323.00	3.34	1001458.00	3.41	1169034.00
2	▼	非菜10ppb精密密度-3	2021-06-23 07:02	1	3.16	699424.50	3.16	1272613.00	3.16	5306921.00	3.20	484107.80	3.26	317980.30	3.29	1360445.00	3.34	901586.80	3.42	1107075.00
3	▼	非菜10ppb精密密度-4	2021-06-23 07:34	1	3.15	685248.40	3.16	1298044.00	3.15	4921042.00	3.20	485265.40	3.26	293732.20	3.29	1407418.00	3.34	854124.50	3.41	1042353.00
4	▼	非菜10ppb精密密度-5	2021-06-23 08:07	1	3.16	759360.80	3.16	1370300.00	3.15	5049724.00	3.19	510262.70	3.26	329321.20	3.29	1479723.00	3.34	933994.10	3.41	1042968.00
5	▼	非菜10ppb精密密度-6	2021-06-23 08:39	1	3.16	702006.00	3.16	1143622.00	3.15	5085759.00	3.19	496996.40	3.26	297266.90	3.29	1325729.00	3.34	921897.90	3.41	1110287.00
6	▼	非菜10ppb精密密度-7	2021-06-23 09:12	1	3.16	731280.70	3.17	1221010.00	3.16	5176314.00	3.20	508597.40	3.26	303927.90	3.29	1514124.00	3.35	989027.10	3.42	1120091.00
Min					3.15	685248.40	3.16	1143622.00	3.15	4921042.00	3.19	484107.80	3.26	293732.20	3.29	1325729.00	3.34	854124.50	3.41	1042353.00
Max					3.16	766479.80	3.17	1370300.00	3.16	5321647.00	3.20	511773.10	3.26	378089.80	3.29	1514124.00	3.35	1001458.00	3.42	1169034.00
AVG					3.16	723966.70	3.17	1256683.00	3.15	5143568.00	3.19	499500.50	3.26	320053.00	3.29	1430460.00	3.34	932681.40	3.41	1098635.00
SD					0.01	33755.90	0.01	76707.51	0.01	155650.10	0.01	12609.82	0.00	31402.16	0.00	77505.30	0.01	55054.69	0.01	48764.42
RSD					0.17	4.66	0.17	6.10	0.23	3.03	0.21	2.52	0.00	9.81	0.00	5.42	0.16	5.90	0.20	4.44
IDL					0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

样品信息				甲砒砒内砒砒		噁虫嗒		久效砒		甲砒砒砒砒		百治砒		噁虫乙砒砒砒砒砒		噁虫砒		噁砒砒砒砒		
!	▼	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	▼	非菜10ppb精密密度-2	2021-06-23 06:29	1	3.39	457078.80	3.41	516897.90	3.45	1466882.00	3.50	2072791.00	3.52	2066063.00	3.52	172806.30	3.67	1952966.00	3.63	430442.90
2	▼	非菜10ppb精密密度-3	2021-06-23 07:02	1	3.39	461189.30	3.41	506630.00	3.45	1337919.00	3.50	1865178.00	3.52	2004377.00	3.54	173927.50	3.67	1824754.00	3.63	434238.10
3	▼	非菜10ppb精密密度-4	2021-06-23 07:34	1	3.39	430472.20	3.41	456804.50	3.45	1312267.00	3.50	1753256.00	3.52	2011881.00	3.54	170697.50	3.67	1770060.00	3.63	401200.70
4	▼	非菜10ppb精密密度-5	2021-06-23 08:07	1	3.39	475959.80	3.42	508199.10	3.45	1415884.00	3.50	1900550.00	3.52	1993152.00	3.54	153997.30	3.67	1925532.00	3.63	418904.60
5	▼	非菜10ppb精密密度-6	2021-06-23 08:39	1	3.39	441646.10	3.41	447954.60	3.45	1416190.00	3.50	1810033.00	3.52	1928717.00	3.55	178141.40	3.67	1866748.00	3.63	380617.00
6	▼	非菜10ppb精密密度-7	2021-06-23 09:12	1	3.39	478349.30	3.42	496998.90	3.45	1472367.00	3.50	2002681.00	3.52	198805.00	3.54	182801.10	3.67	1915606.00	3.63	448253.30
Min					3.39	430472.20	3.41	447954.60	3.45	1312267.00	3.50	1753256.00	3.52	1928717.00	3.52	153997.30	3.67	1770060.00	3.63	380617.00
Max					3.39	478349.30	3.42	516897.90	3.45	1472367.00	3.50	2072791.00	3.52	2198805.00	3.55	182801.10	3.67	1952966.00	3.63	448253.30
AVG					3.39	457449.30	3.41	488864.20	3.45	1403585.00	3.50	1902082.00	3.52	2033832.00	3.54	172061.80	3.67	1875945.00	3.63	418942.80
SD					0.00	18820.62	0.01	29114.09	0.00	65876.54	0.00	119405.10	0.00	91987.63	0.01	9843.96	0.00	69109.56	0.00	24531.44
RSD					0.00	4.11	0.20	5.96	0.00	4.69	0.00	6.28	0.00	4.52	0.23	5.72	0.00	3.68	0.10	5.88
IDL					0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

样品信息				甲砒砒砒砒		噁虫嗒		特久砒		噁虫砒砒		噁虫砒砒砒		噁虫砒砒砒		噁虫砒		砒砒砒		
!	▼	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	▼	非菜10ppb精密密度-2	2021-06-23 06:29	1	3.67	2069882.00	3.72	268440.40	3.78	2644937.00	4.22	1177159.00	4.42	1154348.00	4.33	1137878.00	4.61	686013.10	4.35	1389465.00
2	▼	非菜10ppb精密密度-3	2021-06-23 07:02	1	3.67	1840996.00	3.72	255766.90	3.78	2441900.00	4.24	1086099.00	4.42	1054315.00	4.33	1174581.00	4.59	689806.00	4.35	1318852.00
3	▼	非菜10ppb精密密度-4	2021-06-23 07:34	1	3.67	1760884.00	3.72	238398.10	3.78	2303260.00	4.22	1011015.00	4.40	1077823.00	4.33	1023199.00	4.59	671088.90	4.35	1320011.00
4	▼	非菜10ppb精密密度-5	2021-06-23 08:07	1	3.67	1950730.00	3.72	294599.70	3.78	2502080.00	4.22	1176297.00	4.42	1064867.00	4.33	1086177.00	4.59	667310.30	4.35	1340503.00
5	▼	非菜10ppb精密密度-6	2021-06-23 08:39	1	3.67	1743579.00	3.72	249713.80	3.78	2488733.00	4.22	1098641.00	4.40	1085410.00	4.33	1014617.00	4.59	656687.70	4.35	1306805.00
6	▼	非菜10ppb精密密度-7	2021-06-23 09:12	1	3.67	2029322.00	3.72	268107.80	3.78	2529295.00	4.22	1187149.00	4.42	1123968.00	4.33	1153198.00	4.59	721712.70	4.35	1414997.00
Min					3.67	1743579.00	3.72	238398.10	3.78	2303260.00	4.22	1011015.00	4.40	1054315.00	4.33	1014617.00	4.59	656687.70	4.35	1306805.00
Max					3.67	2069882.00	3.72	294599.70	3.78	2644937.00	4.24	1187149.00	4.42	1154348.00	4.33	1174581.00	4.61	721712.70	4.35	1414997.00
AVG					3.67	1899232.00	3.72	262504.40	3.78	2485034.00	4.22	1122727.00	4.41	1093455.00	4.33	1098275.00	4.59	682103.10	4.35	1348319.00
SD					0.00	138171.20	0.00	19426.03	0.00	112012.90	0.01	69834.09	0.01	38203.10	0.00	68101.39	0.01	22933.05	0.00	43939.58
RSD					0.00	7.28	0.00	7.40	0.00	4.51	0.21	6.22	0.25	3.49	0.00	6.20	0.19	3.36	0.00	3.26
IDL					0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

样品信息				砒砒砒		噁虫嗒		噁虫砒砒		砒砒砒砒		砒砒砒砒		砒砒砒砒		砒砒砒		砒砒砒		
!	▼	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	▼	非菜10ppb精密密度-2	2021-06-23 06:29	1	4.62	189805.60	4.89	496209.70	4.93	2366568.00	4.89	250539.70	5.12	598498.80	5.29	336512.10	5.35	3444146.00	5.41	4473948.00
2	▼	非菜10ppb精密密度-3	2021-06-23 07:02	1	4.65	206601.30	4.89	463118.70	4.93	2071484.00	4.90	218554.60	5.12	618138.10	5.29	347941.20	5.35	3308514.00	5.41	4053504.00
3	▼	非菜10ppb精密密度-4	2021-06-23 07:34	1	4.62	189027.80	4.89	411338.80	4.93	2221451.00	4.89	225105.80	5.12	615340.20	5.29	331841.20	5.35	3313628.00	5.41	4317709.00
4	▼	非菜10ppb精密密度-5	2021-06-23 08:07	1	4.65	197412.50	4.89	461275.90	4.93	2380961.00	4.90	254404.70	5.12	642073.80	5.29	377578.80	5.35	3429513.00	5.41	4231555.00
5	▼	非菜10ppb精密密度-6	2021-06-23 08:39	1	4.62	192258.50	4.87	476056.30	4.93	2136289.00	4.89	242951.90	5.10	621794.40	5.26	349649.20	5.34	3351209.00	5.41	4391032.00
6	▼	非菜10ppb精密密度-7	2021-06-23 09:12	1	4.62	187362.40	4.87	520921.20	4.93	2438909.00	4.88	252164.70	5.10	664962.00	5.26	381934.50	5.34	3655871.00	5.41	4515705.00
Min					4.62	187362.40	4.87	411338.80	4.93	2071484.00	4.88	218554.60	5.10	598498.80	5.26	331841.20	5.34	3308514.00	5.41	4053504.00
Max					4.65	206601.30	4.89	520921.20	4.93	2438909.00	4.90	254404.70	5.12	664962.00	5.29	381934.50	5.35	3655871.00</		

二、LC-MS/MS 法测定鸡肉中除虫脲的残留量

参考标准：《GB 23200.45-2016》

1 前言

除虫脲属于苯甲酰脲类杀虫剂，是几丁质合成抑制剂，能干扰靶标昆虫体内几丁质合成而导致其死亡，或直接降解昆虫几丁质。因该类杀虫剂对人畜毒性相对较低，并能有效地防治对有机磷、有机氯有抗性的害虫，因而被用于多种农作物的害虫防治。由于该类农药对人类存在潜在危险，2014 年国家卫生和计生委发布实施的食品安全国家标准《食品中农药最大残留限量》(GB 2763 - 2014) 规定了食品中除虫脲的最大残留量为 20 mg/kg。本文建立了使用谱育科技的超高效液相串联三重四极杆质谱仪测定鸡肉中除虫脲残留的快速且高灵敏度的检测方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

标准品：除虫脲标准溶液（100 mg/mL）购自上海安谱，于-20℃冰箱保存。试剂：甲醇和乙腈为色谱级，乙酸铵为色谱级，纯度 98%；

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	5 mmol/L 乙酸铵溶液 (A) 和纯乙腈 (B), 梯度洗脱		
	流速	0.2 mL/min		
	色谱柱	Waters BEH C18(2.1*100mm, 1.7um)		
	进样量	部分环进样, 10uL		
	柱温	40°C		
	运行时间	6 min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	70	30	
	3	5	95	
	4	5	95	
	4.1	70	30	
	6	70	30	
MS 条件	雾化气流量	1.4L/min		
	去溶剂气流量	4L/min		
	反吹气流量	2L/min		
	去溶剂气温度	500 °C		
	碰撞气流量	0.45mL/min (5.8e-3Torr)		
	毛细管高压	4.8kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数如图所示。

The screenshot shows a software interface with the following sections:

- Basic Information:** Method Name: 除虫脲, Path: F:\除虫脲
- LC Parameters:** 开碰撞气, MCA模式, Add/Insert/Delete segments buttons.
- MS Parameters:** 使用调谐电压, Scan Interval: 0.005 s, Data Type: 连续图, Cycle Time: 0.52 s.
- Table 1 (LC Segments):**

片段名称	开始时间(min)	结束时间(min)	离子化模式	扫描模式
1	0	6	ESI-	MEM
- Table 2 (Monitored Ions):**

化合物名称	母离子	子离子	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1 除虫脲	308.9	288.95	0.25	50	5	Unit-Unit
2 除虫脲	308.9	93.05	0.25	50	55	Unit-Unit

2.3 样品前处理

样品前处理方法: 具体参考《GB 23200.45-2016 食品中除虫脲残留量的测定液相色谱-质谱法》。

3 结果

3.1 线性和定量限

用初始流动相稀释得到一系列浓度的除虫脲标准曲线浓度点 (5、10、20、50、80、100、

150、200 ng/mL), 按照上述方法进样, 以各目标物的定量离子色谱峰面积 (Y) 为纵坐标, 目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标, 权重系数为 $1/x$, 采用外标法拟合后的标准曲线如图 1 所示, 可以看出, 除虫脲线性良好, 相关系数均大于 0.999。方法定量限的色谱图如图 2 所示, 除虫脲的信噪比 S/N 大于 1000, 满足《GB 23200.45-2016 食品中除虫脲残留量的测定液相色谱-质谱法》定量需求。

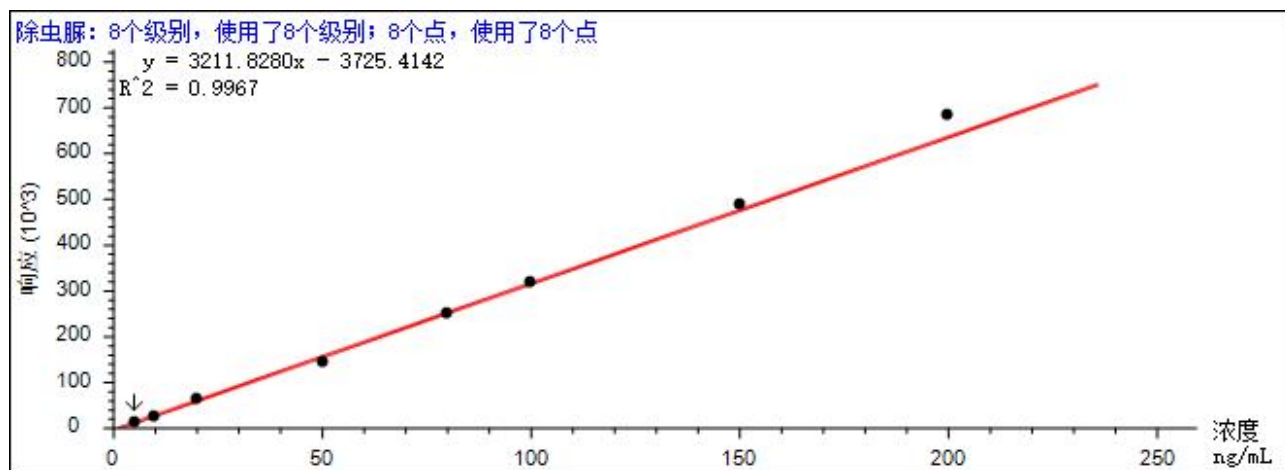


图 1 除虫脲标准曲线

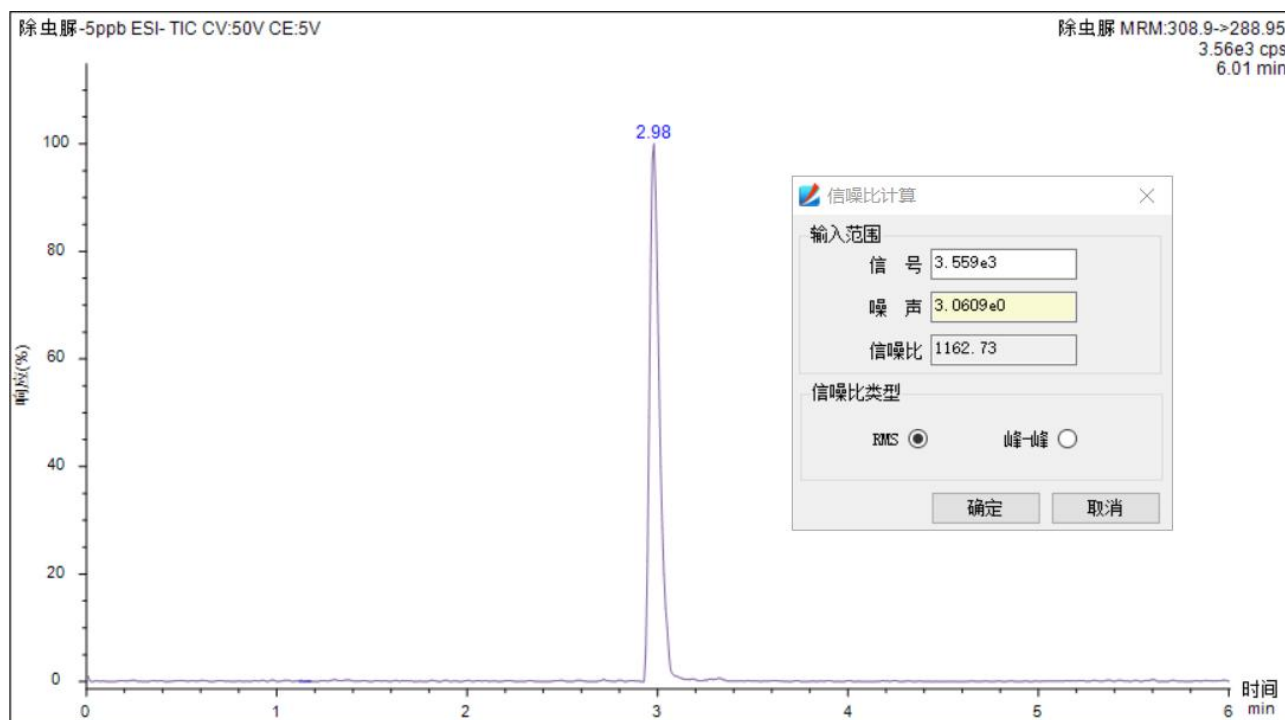


图 2 除虫脲定量限的色谱图 (5 ng/mL)

3.2 重复性

分别使用 5 ng/mL 和 20 ng/mL 标准溶液连续进样 6 次, 考察保留时间和响应的重复性,

结果如下所示。

	样品信息					除虫脲			
	!	▼		数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	响应	计算浓度
1		▼	☑	SS200724007-1	2020-08-12 01:04	除虫脲	2.96	12313.13	4.99
2			☑	SS200724007-2	2020-08-12 01:10	除虫脲	2.97	12384.22	5.02
3		▼	☑	SS200724007-3	2020-08-12 01:16	除虫脲	2.97	11997.69	4.90
4			☑	SS200724007-4	2020-08-12 01:23	除虫脲	2.96	12391.52	5.02
5		▼	☑	SS200724007-5	2020-08-12 01:29	除虫脲	2.97	12170.23	4.95
6			☑	SS200724007-6	2020-08-12 01:35	除虫脲	2.96	12409.18	5.02
Min							2.96	11997.69	4.90
Max							2.97	12409.18	5.02
AVG							2.97	12277.66	4.98
SD							0.00	162.97	0.05
▶ RSD							0.16	1.33	1.02
IDL							0.03	0.22	0.17

	样品信息					除虫脲			
	!	▼		数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	响应	计算浓度
1			☑	SS200724007-7	2020-08-12 01:54	除虫脲	2.96	62337.14	20.63
2			☑	SS200724007-8	2020-08-12 02:00	除虫脲	2.96	59555.74	19.76
3			☑	SS200724007-9	2020-08-12 02:06	除虫脲	2.96	60515.66	20.06
4			☑	SS200724007-10	2020-08-12 02:12	除虫脲	2.96	59187.73	19.64
5			☑	SS200724007-11	2020-08-12 02:19	除虫脲	2.96	61382.43	20.33
6			☑	SS200724007-12	2020-08-12 02:25	除虫脲	2.97	59070.32	19.61
Min							2.96	59070.32	19.61
Max							2.97	62337.14	20.63
AVG							2.97	60341.50	20.00
SD							0.00	1316.13	0.41
▶ RSD							0.12	2.18	2.06
IDL							0.00	0.00	0.00

可知除虫脲在 5 ng/mL 和 20 ng/mL 保留时间精密度良好，RSD 均小于 1%，且两个浓度水平下的峰面积精密度良好，RSD 均小于 3%。

4 结论

鸡肉样品提取后，经快速处理净化管前处理过程，使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度等，结果表明：除虫脲在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.99；方法精密度在 3% 以内。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对鸡肉

中除虫脲残留进行灵敏、准确的定量检测。

三、LC-MS/MS 法测定虾中五氯酚的残留量

参考标准：《GB 23200.92-2016》

1 前言

五氯酚，又名五氯酚酸钠，属于有机氯农药，五氯酚酸钠属于有机氯农药，是氯代烃类杀虫剂和杀真菌剂，又常被用于鱼塘虾塘的消毒。《动物性食品中兽药最高残留限量》（农业部第 235 号公告）中规定，五氯酚为禁止使用的药物，在动物性食品中不得检出。五氯酚酸钠由于其水溶性，易造成水或土壤污染，通过食物链作用进入牲畜体内，进而进入人体内，五氯酚能抑制生物代谢过程中氧化磷酸化作用，会造成人体的肝、肾及中枢神经系统的损害。我国也对此也出示相关检测标准—《GB 23200.92-2016 食品安全国家标准 动物源性食品中五氯酚残留量的测定 液相色谱-质谱法》，因此，本文参考该标准建立了使用谱育科技的超高效液相色谱—三重四极杆串联质谱仪测定虾中五氯酚残留的快速且高灵敏度的检测方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

标准品：五氯酚（纯品型，固体）购自上海安谱，于-20℃冰箱保存。

试剂：乙腈、甲醇、乙酸乙酯、正己烷和水为色谱级；甲酸为 LC-MS 级，纯度为 98%。

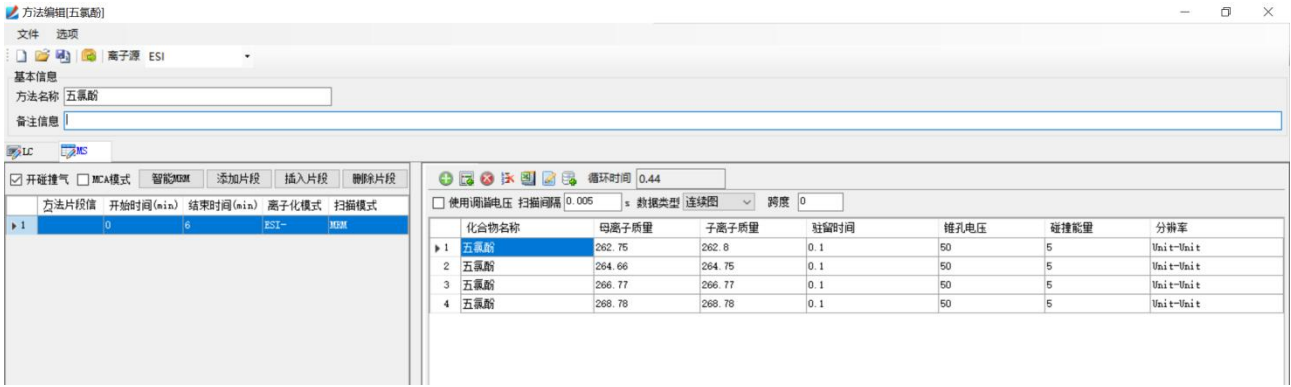
仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	0.1%甲酸水 (A) 和乙腈 (B), 梯度洗脱		
	流速	0.3 mL/min		
	色谱柱	Waters BEH C18(2.1*100mm, 1.7um)		
	进样量	部分环进样, 10 uL		
	柱温	40°C		
	运行时间	6min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	80	20	
	3	5	95	
	4	5	95	
	4.1	80	20	
	6	80	20	
MS 条件	运行模式	负离子模式		
	雾化气流量	1.4L/min		
	去溶剂气流量	5L/min		
	反吹气流量	2L/min		
	去溶剂气温度	500°C		
	碰撞气流量	0.45mL/min (5.8e-3Torr)		
	毛细管高压	-4.5kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。



2.3 样品前处理

样品前处理方法：具体参考《GB 23200.92-2016 食品安全国家标准 动物源性食品中五氯酚残留量的测定 液相色谱-质谱法》。

3 结果

3.1 线性和检出限

用空白基质稀释得到一系列浓度的五氯酚标准品 (1ng/mL、3ng/mL、5ng/mL、7ng/mL、9ng/ml、10ng/ml),按照上述方法进样,以各目标物的定量离子色谱峰面积 (Y),目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标,权重系数为 1/x,采用外法拟合后的标准曲线如下图 1 所示。空白基质色谱图和标曲最低点的定量离子色谱图 2 和图 3 所示,配置 1ng/ml 标准溶液进样,按照 S/N=10 和 S/N=3 计算定量限和检出限,结果如下表 1 所示。且本实验的检出限完全符合《GB 23200.92-2016 食品安全国家标准 动物源性食品中五氯酚残留量的测定 液相色谱-质谱法》的要求。

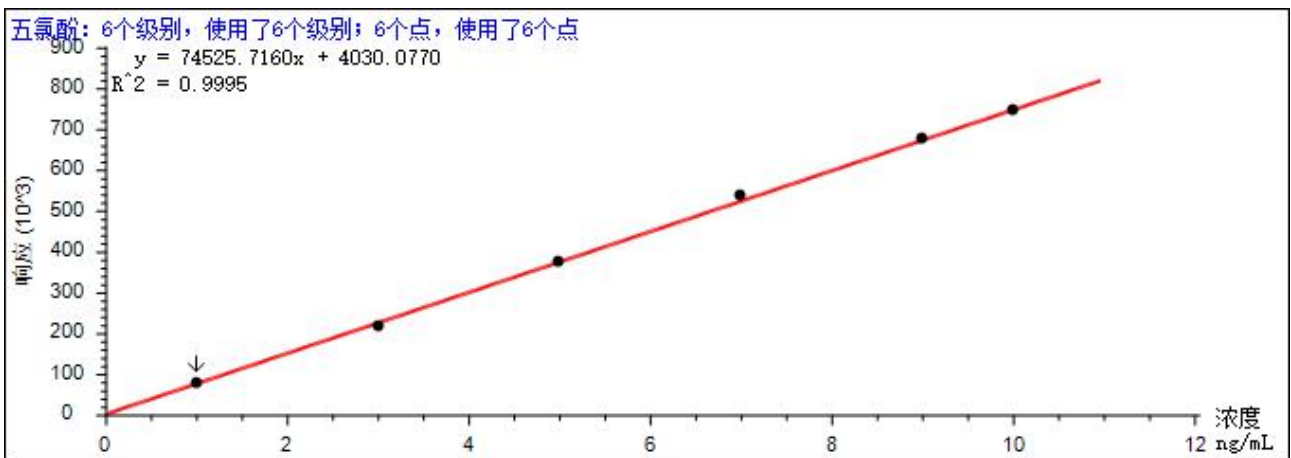


图 1 五氯酚的标准曲线

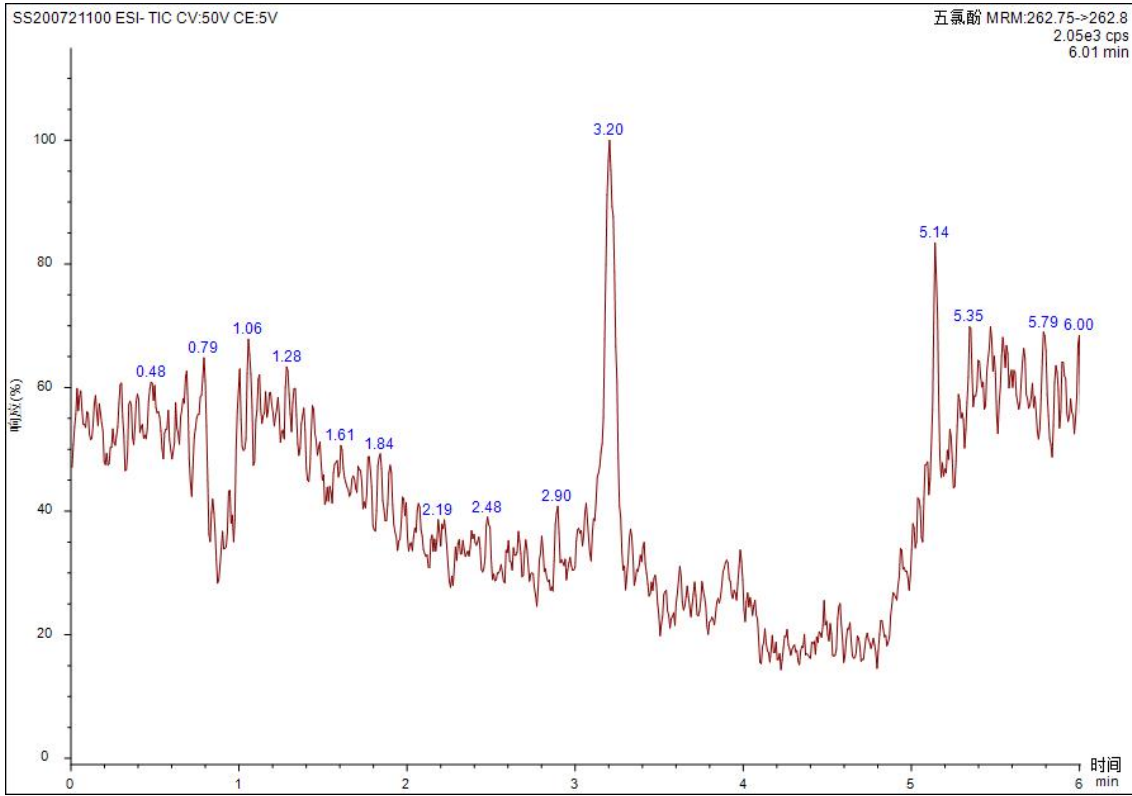


图 2 空白基质的色谱图

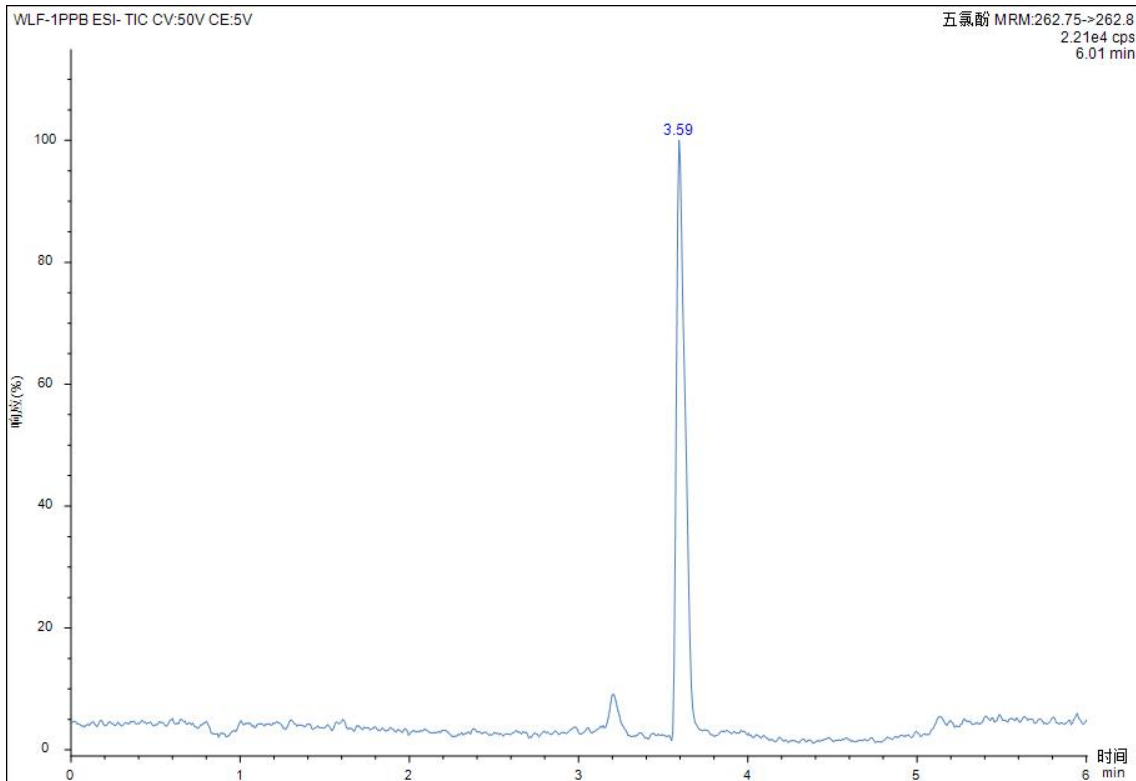


图 3 五氯酚的定量限的色谱图 (1ng/ml)

表 1 五氯酚的检出限和定量限

序号	化合物名称	S/N	检出限 (ng/ml)	定量限 (ng/ml)
1	五氯酚	107	0.03	0.09

3.2 重复性

分别配置 1ng/mL 和 5ng/mL 不同浓度对照品，分别连续进样 6 次，考察保留时间和响应的重复性，结果如下所示。

1ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.11%和 1.78%。

	样品信息			五氯酚			
	!	▼	数据文件	定量方法	保留时间	响应	计算浓度
1			<input type="checkbox"/> SS200721100-1	wlf	3.59	85285.11	1.09
2			<input type="checkbox"/> SS200721100-2	wlf	3.60	85896.04	1.10
3			<input type="checkbox"/> SS200721100-3	wlf	3.59	86954.95	1.11
4			<input type="checkbox"/> SS200721100-4	wlf	3.60	87256.53	1.12
5			<input type="checkbox"/> SS200721100-5	wlf	3.60	86614.22	1.11
6			<input type="checkbox"/> SS200721100-6	wlf	3.59	89753.18	1.15
Min					3.59	85285.11	1.09
Max					3.60	89753.18	1.15
AVG					3.60	86960.01	1.11
SD					0.00	1545.75	0.02
▶ RSD					0.11	1.78	1.86
IDL					0.00	0.06	0.06

5ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.11%和 1.58%。

	样品信息			五氯酚			
	!	▼	数据文件	定量方法	保留时间	响应	计算浓度
1			<input type="checkbox"/> SS200721100-7	wlf	3.59	410800.00	5.46
2			<input type="checkbox"/> SS200721100-8	wlf	3.60	416906.30	5.54
3			<input type="checkbox"/> SS200721100-9	wlf	3.59	412726.40	5.48
4			<input type="checkbox"/> SS200721100-10	wlf	3.59	423419.50	5.63
5			<input type="checkbox"/> SS200721100-11	wlf	3.60	423234.70	5.63
6			<input type="checkbox"/> SS200721100-12	wlf	3.59	427358.80	5.68
Min					3.59	410800.00	5.46
Max					3.60	427358.80	5.68
AVG					3.60	419074.30	5.57
SD					0.00	6607.31	0.09
▶ RSD					0.11	1.58	1.59
IDL					0.02	0.27	0.27

可知所有化合物的保留时间和峰面积均在 1.78%以下，精密度较好。

4 结论

虾肉样品经提取、再通过 MAX 固相萃取柱净化等前处理过程，使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度、灵敏度等，结果表明：五氯酚在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.999；方法精密度在 1.78%以内，灵敏度符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对虾肉中五氯酚的残留进行灵敏、准确的定量检测。

四、LCMS/MS 法测定海参中有机磷农药 残留

参考标准：《GB 2763-2019》

1 前言

受疫情影响延期 4 个月的“315 晚会”再一次刷新了消费者的认知下限：青岛市即墨区部分海参养殖户在清池时违规使用敌敌畏，利用其剧毒性杀灭池中螃蟹、鱼虾等生物，以此维护海参的生长环境。相比其他消毒剂，有机磷农药对海参的毒性更小，养殖户们更愿意选择有机磷农药清池。有机磷农药属于神经毒物，主要抑制血液和组织中乙酰胆碱酯酶的活性，导致神经递质、乙酰胆碱的大量蓄积，从而阻断了神经传导，引起中枢神经系统中毒。《GB 2763-2019 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量》对于食品中的敌敌畏等有机磷农药最高残留量都有明确规定。我国也对敌敌畏等有机磷农药的检测出示了相关标准，因此，本文建立了使用谱育科技的超高效液相色谱—三重四极杆串联质谱仪测定海参中 9 种有机磷农药残留的快速且高灵敏度的检测方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

标准品：9 种有机磷农药标准品均购自上海安谱，于-20℃冰箱保存。

试剂：甲醇和乙腈为色谱级，甲酸为色谱级，纯度 98%。

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	0.1%甲酸水(A)和乙腈/0.1%甲酸溶液(含5mM 甲酸铵) =95/5 (B), 梯度洗脱		
	流速	0.3 mL/min		
	色谱柱	CNWShell C18 液相核壳色谱柱(2.1 x 100mm, 2.6 μ m)		
	进样量	部分环进样, 10 μ L		
	运行时间	14min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
		0	95	5
		1	95	5
		2	65	35
		4	55	45
7		36	64	
10		0	100	
11		0	100	
11.1		95	5	
14	95	5		
MS 条件	运行模式	ESI+		
	雾化气流量	1.4L/min		
	去溶剂气流量	4L/min		
	反吹气流量	2L/min		
	去溶剂气温度	500 $^{\circ}$ C		
	碰撞气流量	0.45mL/min (5.8e-3Torr)		
	毛细管高压	4.8kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。为提高检测灵敏度, 可根据保留时间分段监测各化合物。

片段名称	开始时间 (min)	结束时间 (min)	离子化模式	扫描模式	化合物名称	母离子	子离子	驻留时间 (s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1	0	5	ESI+	MRM	敌敌畏	220.9	109	0.01	50	25	Unit-Unit
2	5	12	ESI+	MRM	敌敌畏	220.9	79	0.01	50	35	Unit-Unit
					敌百虫	257	221	0.01	50	10	Unit-Unit
					敌百虫	257	109	0.01	50	25	Unit-Unit
					乐果	230.1	199	0.01	50	10	Unit-Unit
					乐果	230.1	125	0.01	50	25	Unit-Unit
					甲胺磷	142	125	0.01	50	20	Unit-Unit
					甲胺磷	142	94	0.01	50	20	Unit-Unit
					久效磷	224.2	127.1	0.01	50	20	Unit-Unit
					久效磷	224.2	58.2	0.01	50	35	Unit-Unit

片段名称	开始时间 (min)	结束时间 (min)	离子化模式	扫描模式	化合物名称	母离子	子离子	驻留时间 (s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1	0	5	ESI+	MRM	甲基对硫磷	264	232	0.01	50	15	Unit-Unit
2	5	12	ESI+	MRM	甲基对硫磷	264	125	0.01	50	20	Unit-Unit
					马拉硫磷	331.4	127	0.01	50	15	Unit-Unit
					马拉硫磷	331.4	99	0.01	50	35	Unit-Unit
					治螟磷	323	171	0.01	50	20	Unit-Unit
					治螟磷	323	97	0.01	50	45	Unit-Unit
					毒死蜱	351.6	199.9	0.01	50	20	Unit-Unit
					毒死蜱	351.6	97	0.01	50	35	Unit-Unit

2.3 样品前处理

海参用粉碎机粉碎,称取 5g 海参样品,加入 20mL 乙腈,匀质机匀浆 2min,再超声 20min,加入 QuEChERS 盐包,剧烈震荡 3min, 4000rpm 离心 5min,全部上清液倒入 QuEChERS 萃取管中,剧烈震荡 3min,涡旋 1min, 4000rpm 离心 5min,取上清液氮吹浓缩至近干,用初始流动相定容至 2mL。

3 结果

3.1 线性和检出限

用空白海参样品提取液稀释得到一系列浓度的有机磷农药混标(5ng/mL、10ng/mL、25ng/mL、50ng/mL、100ng/mL),按照上述方法进样,以各目标物的定量离子色谱峰面积为纵坐标(Y),目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标,采用外标法拟合后的标准曲线如下图 1-图 9 所示。标准曲线最低的定量离子的色谱图如图 10 所示,配置 10ng/ml 标准溶液进样,按

照 S/N=10 和 S/N=3 计算定量限和检出限，结果如下表 1 所示，且本实验的最低检出限完全符合《GB 2763-2019 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量》的要求。

敌敌畏: 5个级别, 使用了5个级别; 5个点, 使用了5个点

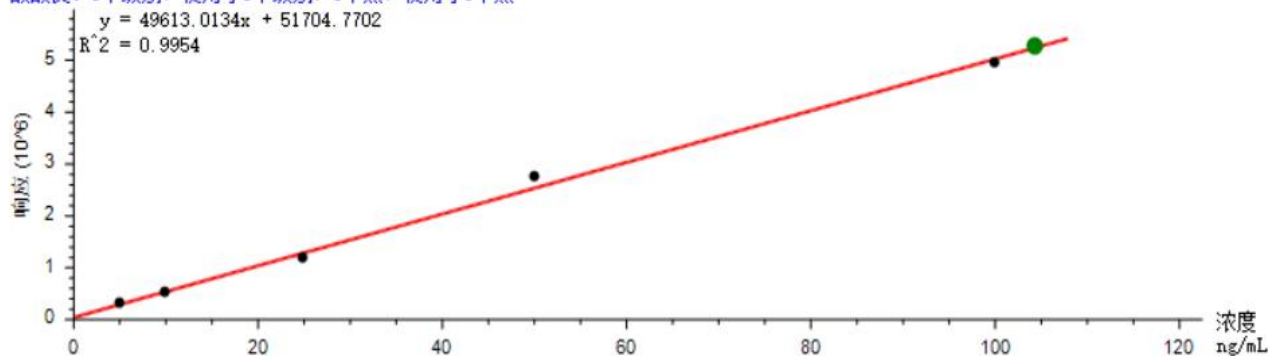


图 1 敌敌畏标准曲线

敌百虫: 5个级别, 使用了5个级别; 5个点, 使用了5个点

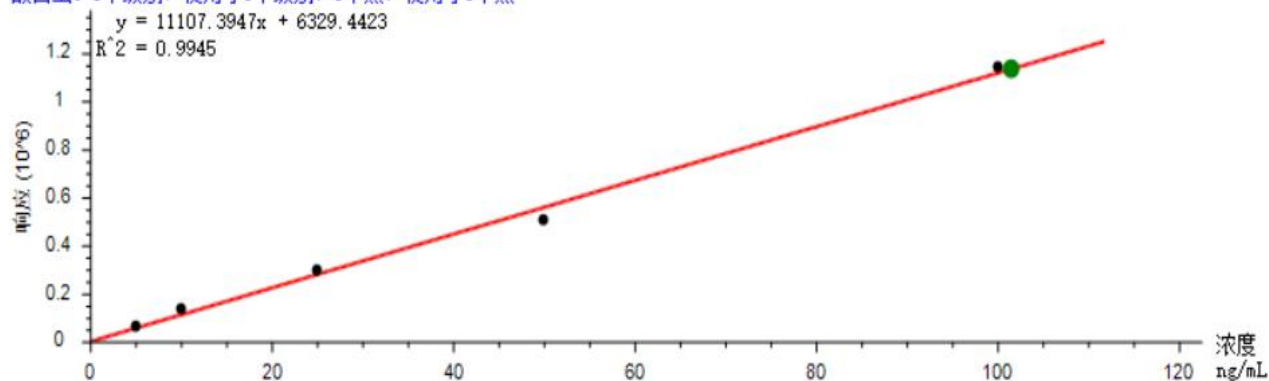


图 2 敌百虫标准曲线

乐果: 4个级别, 使用了4个级别; 4个点, 使用了4个点

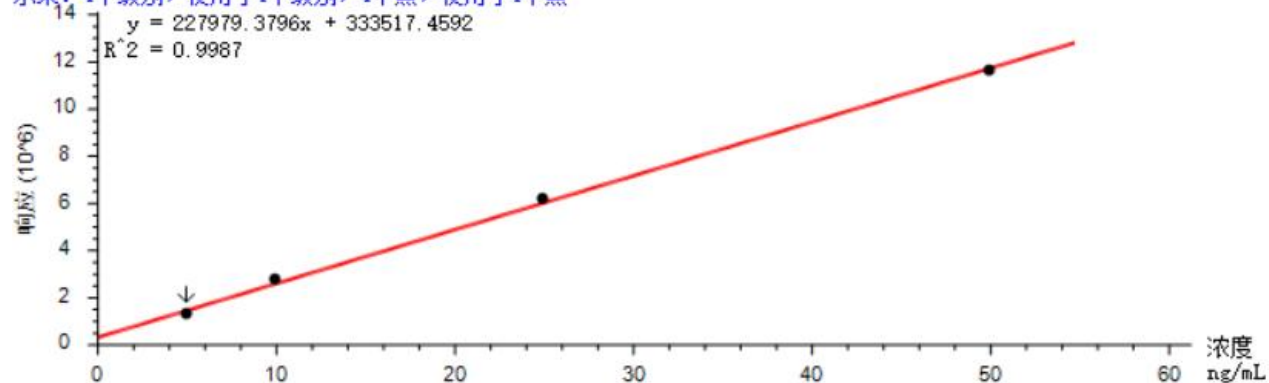


图 3 乐果标准曲线

甲胺磷: 5个级别, 使用了5个级别; 5个点, 使用了5个点

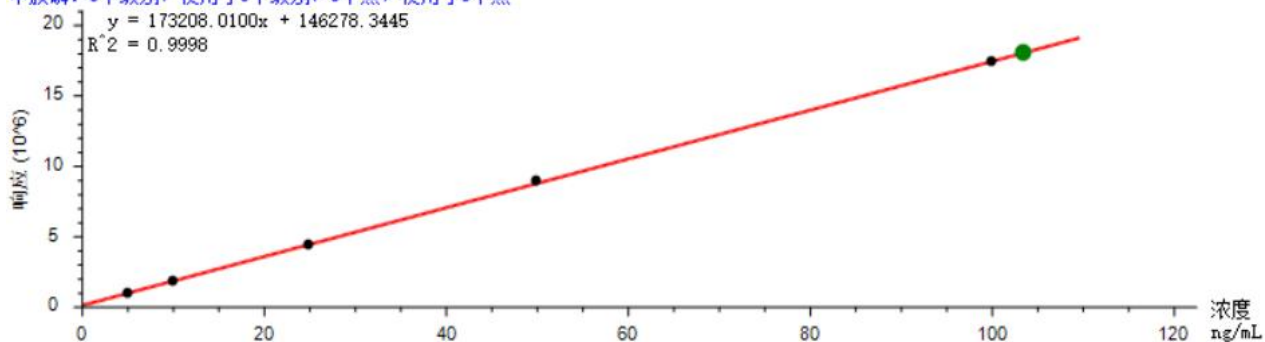


图 4 甲胺磷标准曲线

久效磷: 5个级别, 使用了5个级别; 5个点, 使用了5个点

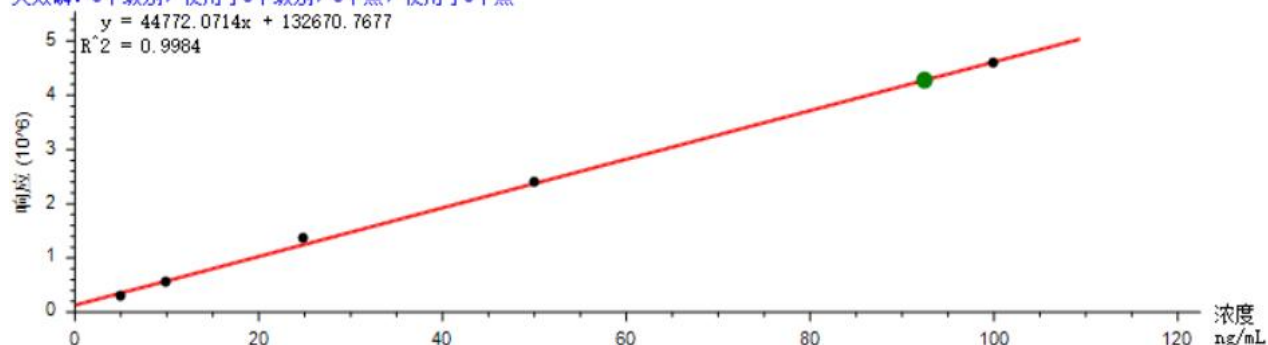


图 5 久效磷标准曲线

甲基对硫磷: 5个级别, 使用了5个级别; 5个点, 使用了5个点

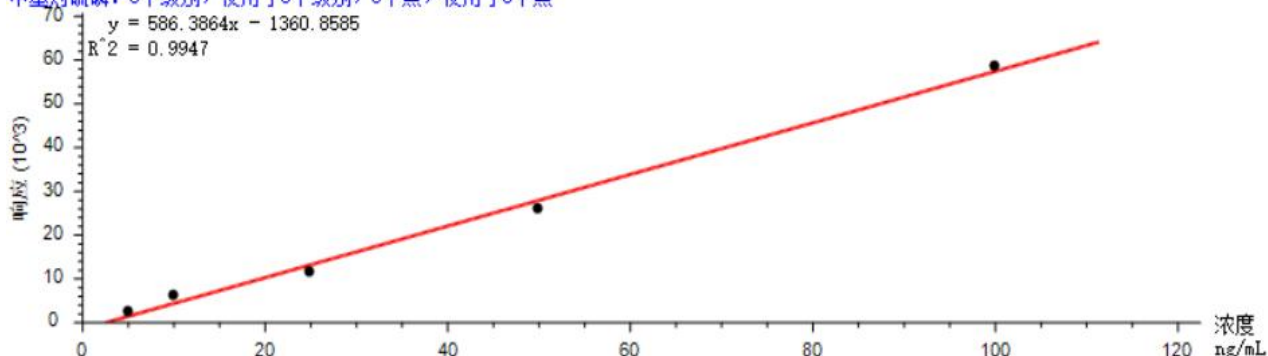


图 6 甲基对硫磷标准曲线

马拉硫磷: 5个级别, 使用了5个级别; 5个点, 使用了5个点

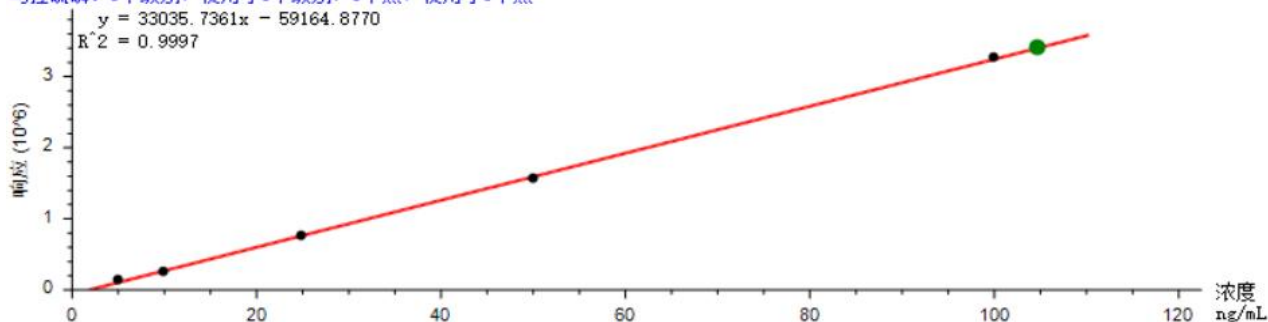


图 7 马拉硫磷标准曲线

治螟磷：5个级别，使用了5个级别；5个点，使用了5个点

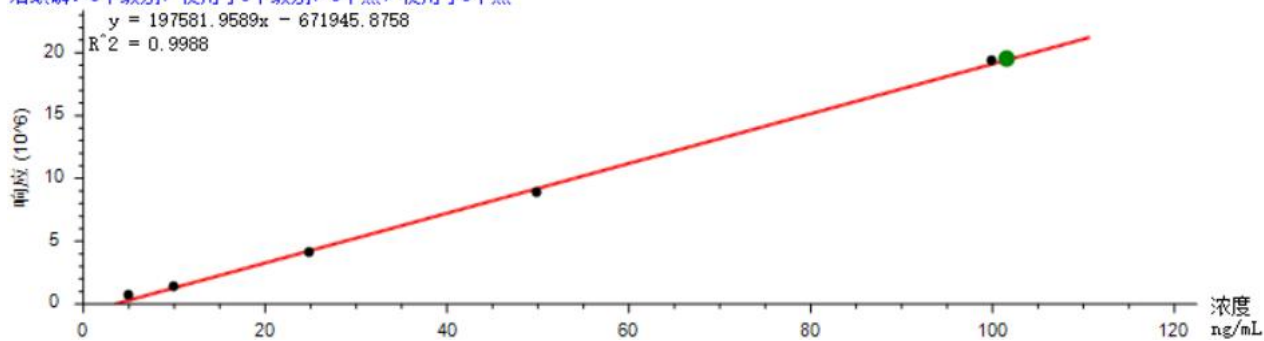


图 8 治螟磷标准曲线

毒死蜱：5个级别，使用了5个级别；5个点，使用了5个点

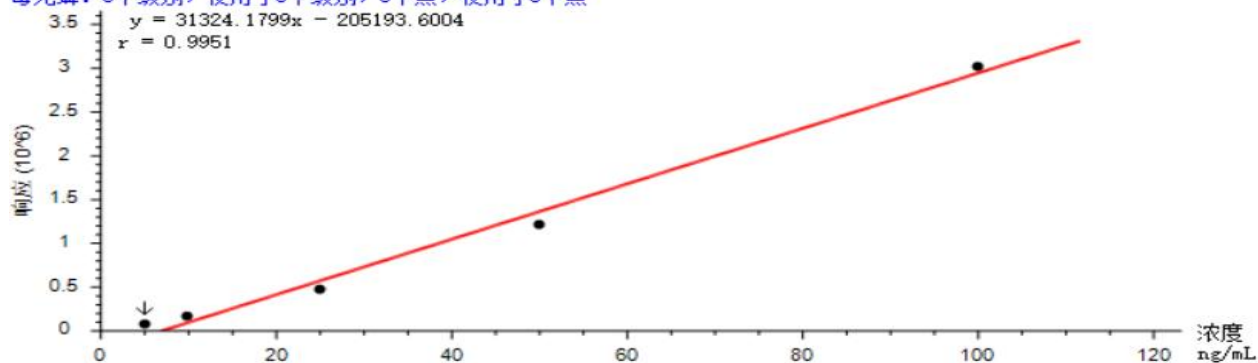


图 9 毒死蜱标准曲线

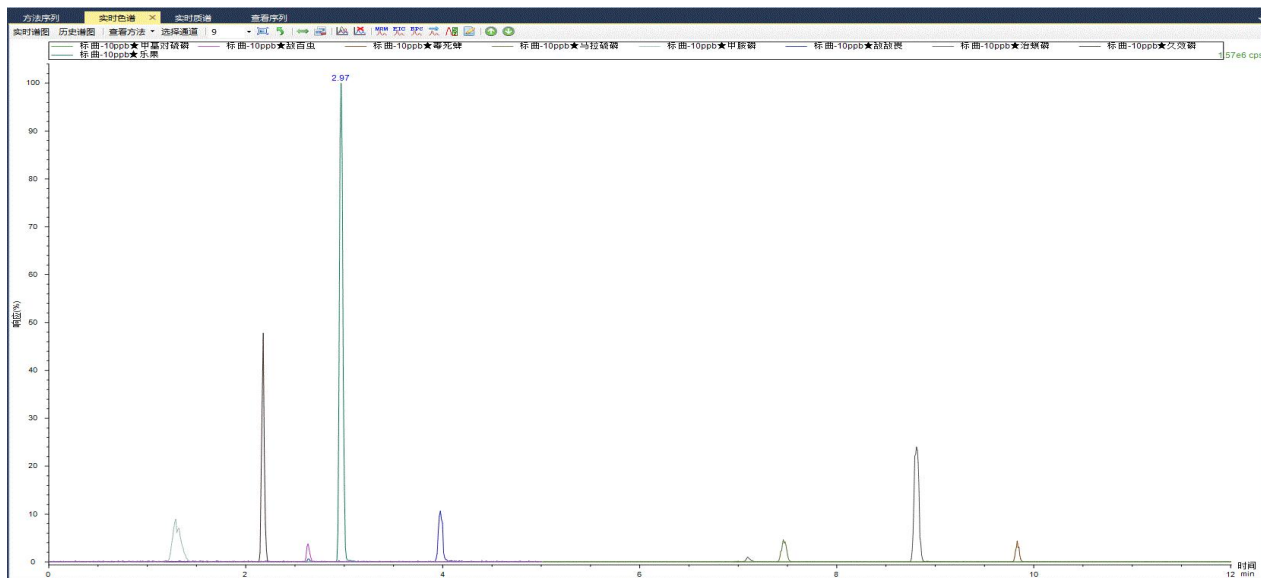


图 10 九种有机磷农药混标的 TIC 图 (10ng/ml)

表 1 四环素类化合物检出限和定量限

序号	化合物名称	S/N	检出限 (ng/ml)	定量限 (ng/ml)
1	敌敌畏	277	0.11	0.36
2	敌百虫	490	0.06	0.2

3	乐果	4582	0.006	0.022
4	甲胺磷	814	0.37	0.12
5	久效磷	3971	0.008	0.025
6	甲基对硫磷	20	1.50	5
7	马拉硫磷	946	0.03	0.11
8	治螟磷	2252	0.01	0.04
9	毒死蜱	1249	0.02	0.08

3.2 重复性

分别配置 25ng/mL 和 100ng/mL 不同浓度对照品，分别连续进样 6 次，考察响应的重复性，结果如下所示。

25ng/ml 重复性：响应的 RSD 都小于 5.5%。

	样品信息		敌敌畏	敌百虫	乐果	甲胺磷	久效磷	甲基对...	马拉硫磷	治螟磷	毒死蜱
	数据文件	定量方法	响应	响应	响应	响应	响应	响应	响应	响应	响应
1	海參农残\25ppb-1	有机磷农药	1280861.00	282072.20	6185202.00	1989469.00	1395013.00	15899.61	580351.30	3188436.00	366226.40
2	海參农残\25ppb-2	有机磷农药	1427055.00	271170.80	6017130.00	1953614.00	1393313.00	16377.53	580192.80	3414918.00	398306.50
3	海參农残\25ppb-3	有机磷农药	1330005.00	295870.70	5862890.00	1898619.00	1382545.00	14815.05	642435.50	3315946.00	406520.30
4	海參农残\25ppb-4	有机磷农药	1408409.00	296511.50	6406269.00	1891384.00	1254864.00	14894.29	611824.80	3525724.00	435202.20
5	海參农残\25ppb-5	有机磷农药	1454300.00	287566.30	5969556.00	1850584.00	1240229.00	16313.14	598845.80	3664611.00	406809.20
6	海參农残\25ppb-6	有机磷农药	1305465.00	283483.70	6095449.00	1955095.00	1350525.00	15047.82	631483.10	3473926.00	407182.40
Min			1280861.00	271170.80	5862890.00	1850584.00	1240229.00	14815.05	580192.80	3188436.00	366226.40
Max			1454300.00	296511.50	6406269.00	1989469.00	1395013.00	16377.53	642435.50	3664611.00	435202.20
AVG			1367683.00	286112.50	6089416.00	1923128.00	1336082.00	15557.91	607522.20	3430593.00	403374.50
SD			71434.85	9507.51	190006.80	51426.38	70569.02	722.68	25969.26	165964.80	22157.90
RSD			5.22	3.32	3.12	2.67	5.28	4.65	4.27	4.84	5.49
IDL			0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

100ng/ml 重复性：响应的 RSD 都小于 10%。

	样品信息		敌敌畏	敌百虫	乐果	甲胺磷	久效磷	甲基对...	马拉硫磷	治螟磷	毒死蜱
	数据文件	定量方法	响应	响应	响应	响应	响应	响应	响应	响应	响应
1	海參农残\100ppb-1	有机磷农药	4870198.00	3443665.00	24864690.00	7343766.00	10661040.00	39292.17	2681060.00	19143940.00	3234973.00
2	海參农残\100ppb-2	有机磷农药	5335842.00	3592636.00	26293200.00	7426651.00	10546070.00	36449.54	2431153.00	19501340.00	3662127.00
3	海參农残\100ppb-3	有机磷农药	4349450.00	3290980.00	25011700.00	7301231.00	10727840.00	38029.34	2682268.00	18768750.00	3629664.00
4	海參农残\100ppb-4	有机磷农药	5023514.00	3535853.00	24848190.00	7584598.00	10639420.00	42860.37	2576401.00	19151510.00	3571601.00
5	海參农残\100ppb-5	有机磷农药	5243359.00	3374174.00	25246640.00	7309432.00	9886793.00	39675.96	2809381.00	19426760.00	3710530.00
6	海參农残\100ppb-6	有机磷农药	5484636.00	3543982.00	25628760.00	7445113.00	10179240.00	39430.88	2733017.00	18372230.00	3437434.00
Min			4349450.00	3290980.00	24848190.00	7301231.00	9886793.00	36449.54	2431153.00	18372230.00	3234973.00
Max			5484636.00	3592636.00	26293200.00	7584598.00	10727840.00	42860.37	2809381.00	19501340.00	3710530.00
AVG			5051167.00	3463548.00	25315530.00	7401799.00	10440070.00	39289.71	2652213.00	19060760.00	3541055.00
SD			407871.20	115346.70	560834.50	107631.50	333696.60	2124.80	132349.30	424867.90	176968.00
RSD			8.07	3.33	2.22	1.45	3.20	5.41	4.99	2.23	5.00
IDL			0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

可知所有化合物的峰面积 RSD 均在 10% 以下，精密度较好。

4 结论

海参样品提取后,经 QuEChERS 等前处理过程,使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度、灵敏度等,结果表明:9 种有机磷农药在检测范围内线性良好,相关系数 r 均大于 0.99;方法精密度在 10%以内,灵敏度符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统,可以对海参中有机磷农药残留进行灵敏、准确的定量检测。

五、LC-MS/MS 法测定水果和蔬菜中唑啉酯和噁唑菌酮的残留量

参考标准：《GB/T 20769-2008》

1 前言

噁唑菌酮是广谱杀菌剂，主要用于防治子囊菌纲、担子菌纲、卵菌亚纲中的重要病害如白粉病、锈病、颖枯病、网斑病、霜霉病、早晚疫病等，唑啉酯为脲类杀螨剂，以触杀作用方式为主，杀螨谱广，并兼有杀虫治病作用。有 E 体和 Z 体两种，E 体杀螨活性高，杀螨速度快。按中国农药毒性分级标准，唑啉酯和噁唑菌酮均属微毒杀虫剂。根据农业农村部与国家卫生健康委和国家市场监管总局联合发布《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》要求，噁唑菌酮在蔬菜中的最大残留量不得超出 3mg/kg，在水果中的最大残留量不得超出 5mg/kg；唑啉酯在蔬菜中的最大残留量不得超出 0.4mg/kg，在水果中的最大残留量不得超出 2mg/kg。因此，本文参考《GB/T 20769-2008 水果和蔬菜中 450 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，建立了使用谱育科技的超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪测定果蔬中唑啉酯和噁唑菌酮含量的快速且高灵敏度的检测方法。

2 实验部分

2.1 样品、标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品：（E）-唑啉酯（纯品，液体）和噁唑菌酮（纯品，液体）均购自上海安谱，于 -20℃ 冰箱保存。

试剂：超纯水，甲醇（色谱级，美国 TEDIA），乙酸铵，色谱级。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	10mmol/L 乙酸铵 (A) 和甲醇 (B), 梯度洗脱	
	流速	0.4 mL/min	
	色谱柱	C18 色谱柱(2.1*150mm, 5um)	
	进样量	部分环进样, 10 uL	
	柱温	40°C	
	运行时间	4.5min	
	梯度方法	Time (min)	A (%) 10mmol/L 乙酸铵
	0	80	20
	1	80	20
	1.2	5	95
	3.5	5	95
	3.6	80	20
	4.5	80	20
MS 条件	运行模式	ESI+	ESI-
	雾化气流量	1.4L/min	1.4L/min
	去溶剂气流量	6L/min	6L/min
	反吹气流量	0.4L/min	0.4L/min
	去溶剂气温度	450°C	450°C
	碰撞气流量	0.45mL/min (5.17e-3Torr)	0.45mL/min (5.17e-3Torr)
	毛细管高压	5.2kV	-4.5kV

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。为提高检测灵敏度, 可根据保留时间分段监测各化合物。

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1 吡嗪酮	422.25	215.02	0.3	40	25	Unit-Unit
2 吡嗪酮	422.25	366.05	0.3	40	20	Unit-Unit

方法片段	开始时间(min)	结束时间(min)	离子化模式	扫描模式
1	0	2.65	ESI-	MSM
2	2.65	4.5	ESI+	MSM

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
啉唑菌酮	372.95	282	0.3	50	20	Unit-Unit
啉唑菌酮	372.95	133	0.3	50	20	Unit-Unit

2.3 样品前处理

样品前处理方法：具体参考《GB/T 20769-2008 水果和蔬菜中 450 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》。

3. 结果

3.1 线性和检出限

用甲醇稀释得到一系列浓度的啉唑酯和啉唑菌酮混标 (0.5ng/mL、1ng/mL、2ng/mL、5ng/mL、10ng/ml、20ng/ml),按照上述方法进样,以各目标物的定量离子色谱峰面积(Y)为纵坐标,目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标,权重系数为 1/x,采用外法拟合后的标准曲线如下图 1、图 2 所示。标准曲线最低点定量离子色谱图如图 3、图 4 所示,配置 0.5ng/ml 标准溶液进样,按照 S/N=10 和 S/N=3 计算定量限和检出限,结果如下表 1 所示。且本实验的检出限完全符合《GB/T 20769-2008 水果和蔬菜中 450 种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》的要求。

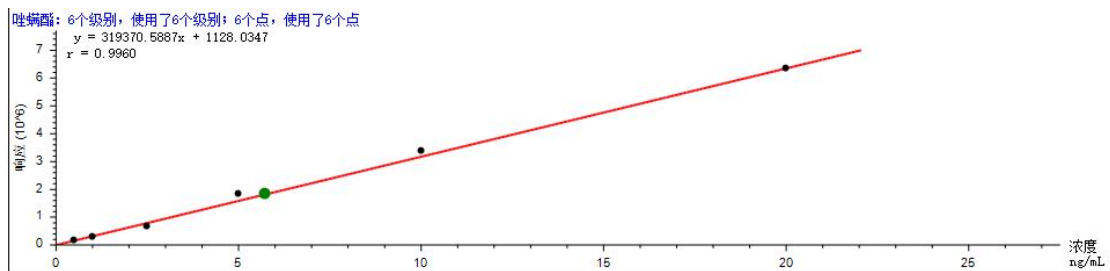


图 1 啉唑酯的标准曲线

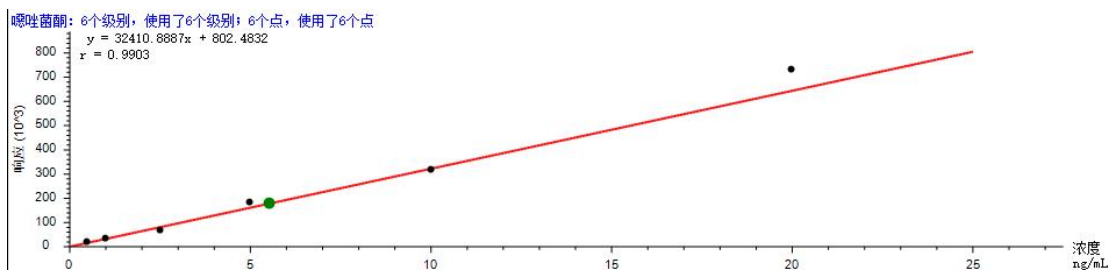


图 2 噁唑菌酮的标准曲线

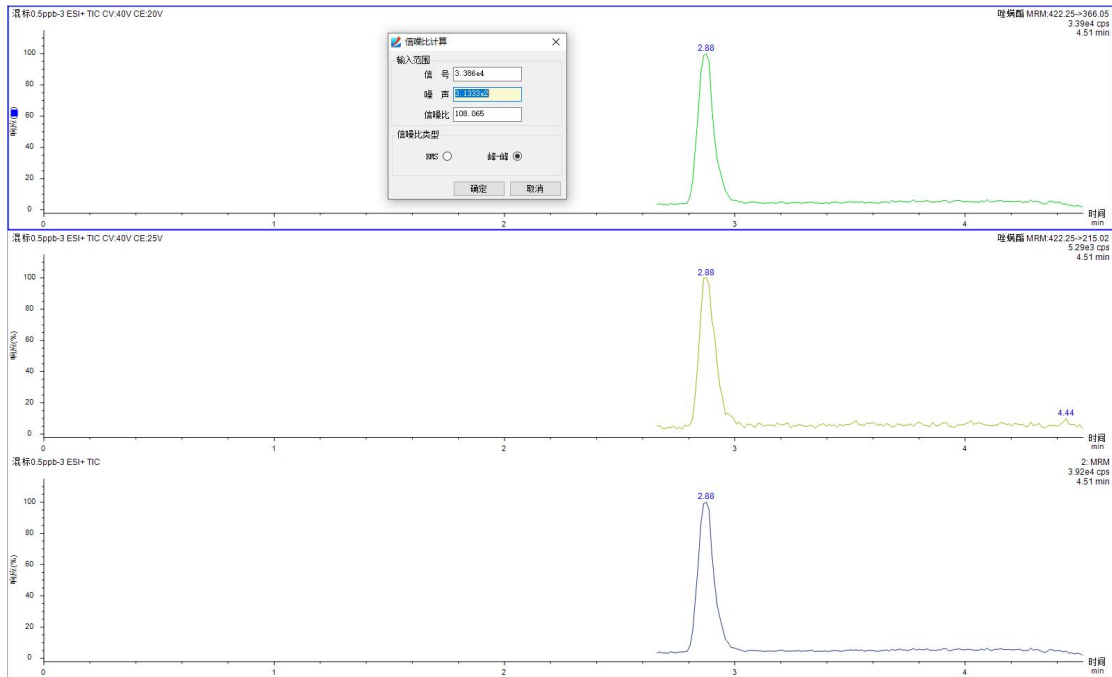


图 3 唑啉酯的定量限的色谱图 (0.5ng/ml)

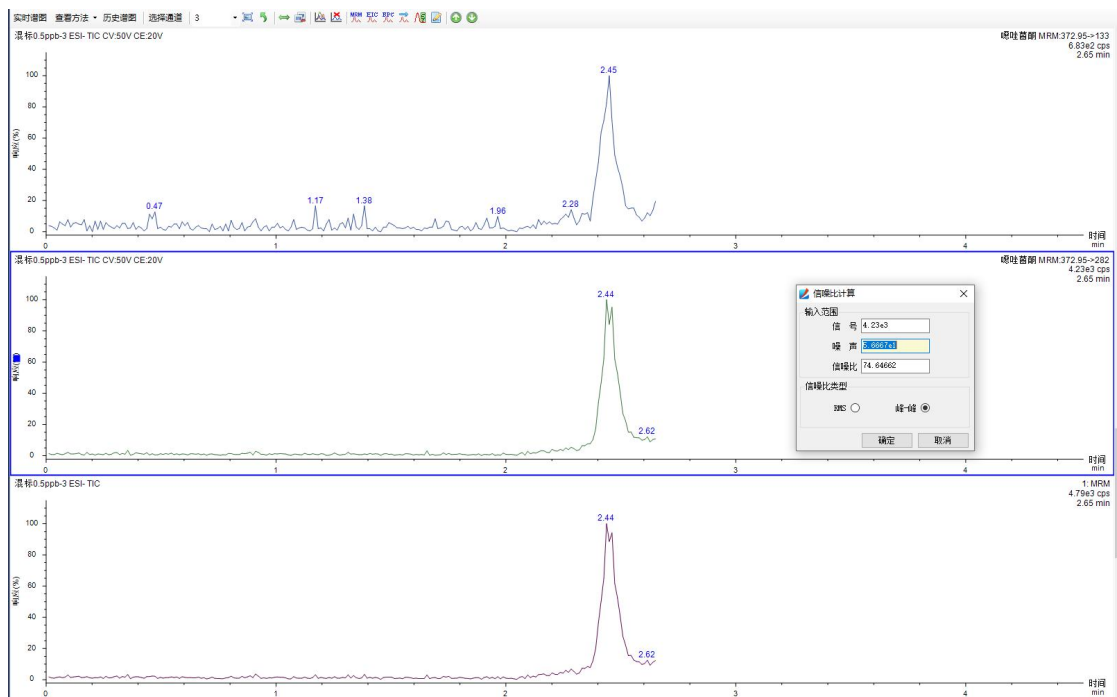


图 4 噁唑菌酮的定量限的色谱图 (0.5ng/ml)

表 1 唑螨酯和噁唑菌酮的检出限和定量限

序号	化合物名称	S/N	检出限 (ng/ml)	定量限 (ng/ml)
1	唑螨酯	108	0.013	0.046
2	噁唑菌酮	74	0.02	0.067

3.2 重复性

分别配置 0.5 ng/mL 和 5ng/mL 不同浓度对照品，分别连续进样 6 次，考察保留时间和响应的重复性，结果如下所示。

0.5ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.00%~0.21%和 1.83%~6.14%之间。

	样品信息		噁唑菌酮				唑螨酯			
	数据文件	定量方法	保留时间	峰面积	计算浓度	浓度单位	保留时间	峰面积	计算浓度	浓度单位
1	混标0.5ppb-1	噁唑菌酮-唑螨酯	2.45	16522.38	0.50	ng/mL	2.88	163411.60	0.52	ng/mL
2	混标0.5ppb-2	噁唑菌酮-唑螨酯	2.45	15647.95	0.47	ng/mL	2.86	164184.60	0.52	ng/mL
3	混标0.5ppb-3	噁唑菌酮-唑螨酯	2.45	17900.59	0.54	ng/mL	2.88	163438.40	0.52	ng/mL
4	混标0.5ppb-4	噁唑菌酮-唑螨酯	2.45	15401.99	0.47	ng/mL	2.88	171125.00	0.54	ng/mL
5	混标0.5ppb-5	噁唑菌酮-唑螨酯	2.45	16235.90	0.49	ng/mL	2.86	163737.50	0.52	ng/mL
6	混标0.5ppb-6	噁唑菌酮-唑螨酯	2.45	15203.41	0.46	ng/mL	2.88	166387.70	0.53	ng/mL
Min			2.45	15203.41	0.46		2.86	163411.60	0.52	
Max			2.45	17900.59	0.54		2.88	171125.00	0.54	
AVG			2.45	16152.04	0.49		2.87	165380.80	0.53	
SD			0.00	991.79	0.03		0.01	3026.29	0.01	
RSD			0.00	6.14	6.31		0.21	1.83	1.81	
IDL			0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	

5ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.00%~0.17%和 2.46%~2.85%之间。

	样品信息		噁唑菌酮				唑螨酯			
	数据文件	定量方法	保留时间	峰面积	计算浓度	浓度单位	保留时间	峰面积	计算浓度	浓度单位
1	混标5ppb-1	噁唑菌酮-唑螨酯	2.45	178452.80	5.53	ng/mL	2.86	1890074.00	5.96	ng/mL
2	混标5ppb-2	噁唑菌酮-唑螨酯	2.45	177289.10	5.50	ng/mL	2.86	1822833.00	5.74	ng/mL
3	混标5ppb-3	噁唑菌酮-唑螨酯	2.45	172911.30	5.36	ng/mL	2.88	1798706.00	5.67	ng/mL
4	混标5ppb-4	噁唑菌酮-唑螨酯	2.45	182461.00	5.66	ng/mL	2.86	1918222.00	6.05	ng/mL
5	混标5ppb-5	噁唑菌酮-唑螨酯	2.45	169219.20	5.25	ng/mL	2.86	1822544.00	5.74	ng/mL
6	混标5ppb-6	噁唑菌酮-唑螨酯	2.45	181178.60	5.62	ng/mL	2.86	1853129.00	5.84	ng/mL
Min			2.45	169219.20	5.25		2.86	1798706.00	5.67	
Max			2.45	182461.00	5.66		2.88	1918222.00	6.05	
AVG			2.45	176918.70	5.48		2.87	1850918.00	5.83	
SD			0.00	5033.80	0.16		0.00	45580.30	0.14	
RSD			0.00	2.85	2.85		0.17	2.46	2.46	
IDL			0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	

可知所有化合物的保留时间和峰面积均在 6.14%以下，精密度较好。

4 结论

样品经提取等前处理过程，使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度、灵敏度等，结果表明：唑螨酯和噁唑菌酮在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.99；

方法精密度在 6.14%以内，灵敏度符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对水果和蔬菜中唑螨酯和噁唑菌酮含量进行灵敏、准确的定量检测。

第三章 食品添加剂

一、LC-MS/MS 法测定白酒中氨基磺酸钠的含量

参考标准：《GB 5009.97-2016》

1 前言

甜蜜素的化学名称为环己基氨基磺酸钠，在食品添加剂中属于甜味剂，其甜度为蔗糖的 30-80 倍，具有水溶性好、甜味清爽、稳定性好、热量低等特性，而且风味自然，后苦不明显，是一种在我国广泛使用的甜味剂。甜蜜素的安全性一直受到很大的争议，美国曾大量使用甜蜜素，但由于其会导致膀胱癌的报道，美国自 1969 年起全面禁用，至今世界上仍有包括美国、英国、日本等国在内的 40 多个国家禁止使用甜蜜素作为食品甜味剂，但也有包括我国在内的多个国家允许在食品中添加甜蜜素。目前我国对食品中甜蜜素检验方法的主要是气相色谱法、分光比色法、薄层层析法、气相色谱-质谱法、液相色谱-质谱法。本文遵循《GB 5009.97-2016 食品中环己基氨基磺酸钠的测定第三法液相色谱-质谱/质谱法》对白酒中的环己基氨基磺酸钠进行快速的分离和检测。建立了一种满足国标要求的检测办法，可供相关检测人员用于日常检测。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品：环己基氨基磺酸钠标准品购自上海安谱，于-20℃冰箱保存。

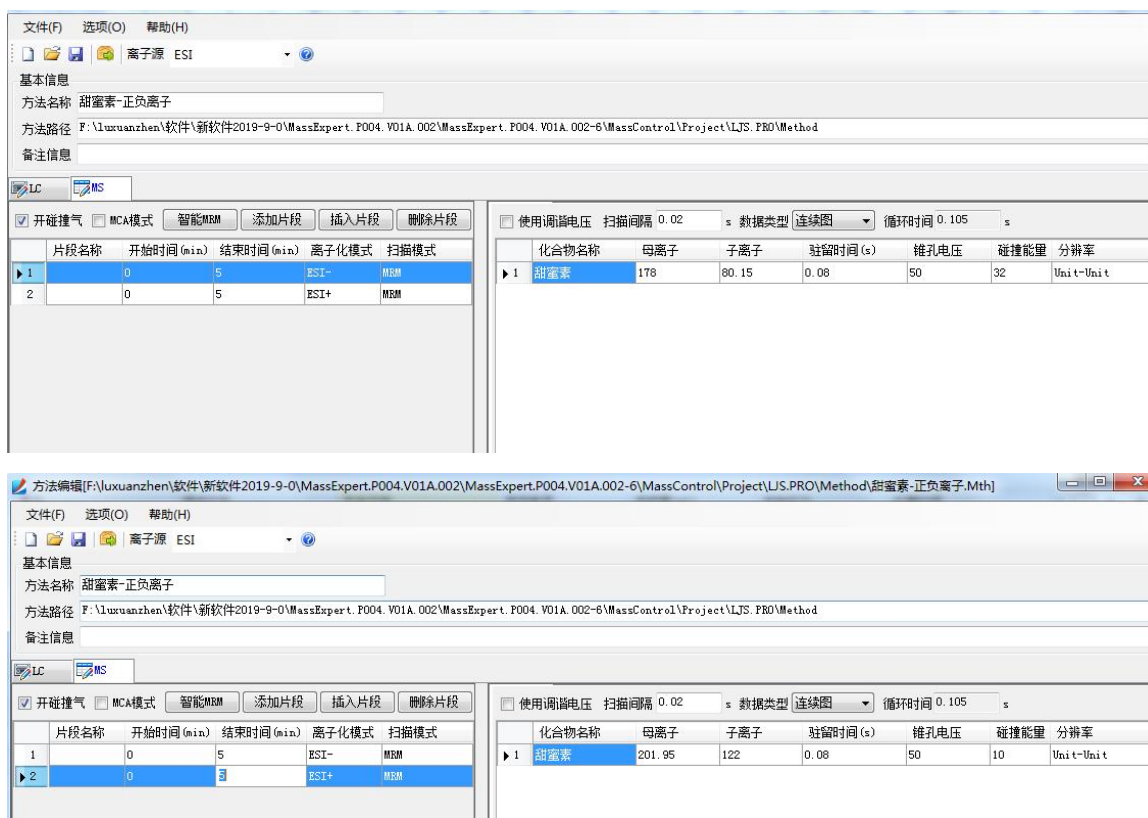
试剂：甲醇和水为色谱级；乙酸铵为 LC-MS 级，纯度为 98%。白酒为市面上某白酒产品（谱育科技购买）。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	10mM 乙酸铵溶液 (A) 和甲醇 (B), 梯度洗脱		
	流速	0.4 mL/min		
	色谱柱	Waters BEH C18(2.1*100mm, 1.7um)		
	进样量	部分环环进样, 10 uL		
	柱温	40°C		
	运行时间	5min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	90	10	
	0.5	90	10	
	3	10	90	
	3.1	90	10	
	5	90	10	
MS 条件	运行模式	ESI+	ESI-	
	雾化气流量	1.4L/min		
	去溶剂气流量	5L/min		
	反吹气流量	2L/min		
	去溶剂气温度	520°C		
	碰撞气流量	0.45mL/min (5.8e-3Torr)		
	毛细管高压	4.8kv	-4.8kv	

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。



2.3 样品前处理

称取酒样 10.0g, 直于 50 mL 烧杯中, 于 60°C 水浴上加热 30 min, 残渣全部转移至 100 mL 容量瓶中, 用水定容并摇匀, 经 0.22 μm 水相微孔滤膜过滤后备用。

3 结果

3.1 线性和检出限

用水配成 1g/L 的环己基氨基磺酸标准溶液储备液, 再用水逐级稀释分别得到 5ug/L、10ug/L、50ug/L、100ug/L、500ug/L、1000ug/L 和 2000ug/L 的标准溶液。按照上述方法进样, 以各目标物的定量离子色谱峰面积 (Y), 目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标, 用外法拟合后的标准曲线如图 1 所示。取浓度为 5 μg/L 标准溶液进样分析, 其 S/N 为 30 (p/p), 由信噪比计算环己基氨基磺酸钠检出限(LOD, S/N=3) 和定量限(LOQ, S/N=10)。灵敏度结果见表 1。

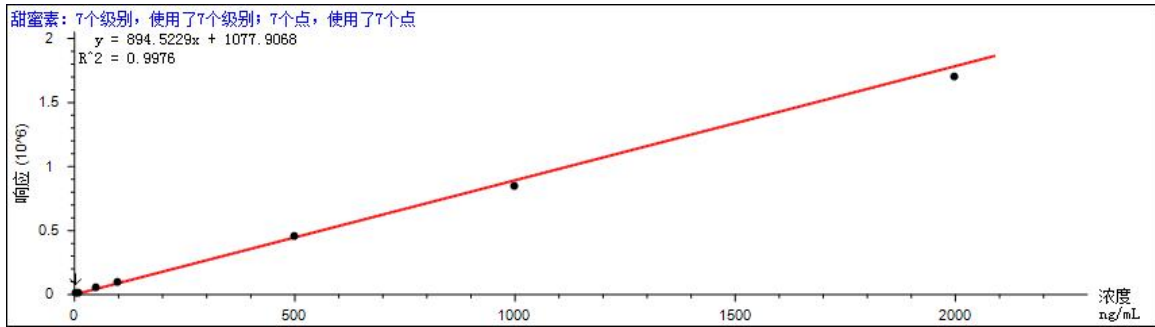


图 1 环己基氨基磺酸钠线性

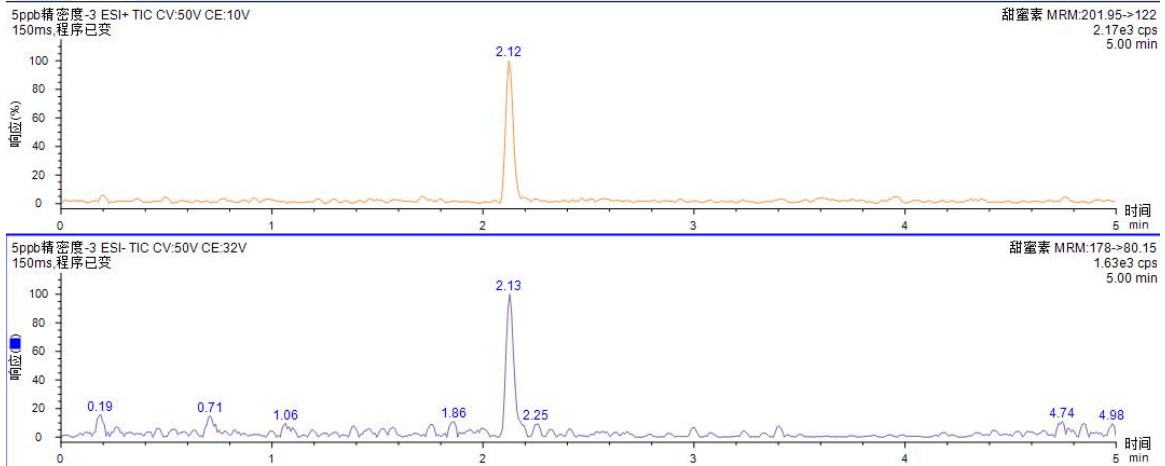


图 2 5ug/L 标准品 MRM 图谱

表 1 环己基氨基磺酸钠检出限和定量限结果

名称	定量限 (ug/L)	检出限 (ug/L)
环己基氨基磺酸钠	1.8	0.6

3.2 重复性

分别配置 5ug/L、100ug/L、1000ug/L 的标准品溶液, 分别连续进样 6 次, 考察保留时间和响应的重复性, 结果如下所示。

不同浓度的标准品溶液, 保留时间 RSD 低于 0.3%, 峰面积 RSD 低于 6.2%, 方法精密度良好。

	样品信息							甜蜜素		
	!	▼	数据文件	采集方法	采集时间	样品类型	样品瓶号	定量方法	保留时间	响应
1			5ppb精密度-1	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 12:42	未知	2E1	甜蜜素2	2.123	5699.555
2		▼	5ppb精密度-2	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 12:47	未知	2E1	甜蜜素2	2.123	5520.903
▶ 3		▼	5ppb精密度-3	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 12:52	未知	2E1	甜蜜素2	2.123	5553.233
4		▼	5ppb精密度-4	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 12:57	未知	2E1	甜蜜素2	2.123	4946.090
5		▼	5ppb精密度-5	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 13:03	未知	2E1	甜蜜素2	2.123	5511.493
6		▼	5ppb精密度-6	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 13:08	未知	2E1	甜蜜素2	2.131	4973.881
Min									2.123	4946.090
Max									2.131	5699.555
AVG									2.124	5367.526
SD									0.003	322.969
RSD									0.163	6.017
IDL									0.000	0.000

图 3 5ug/L 环己基氨基磺酸钠溶液精密度结果

	样品信息							甜蜜素		
	!	▼	数据文件	采集方法	采集时间	样品类型	样品瓶号	定量方法	保留时间	响应
1			100ppb精密度-1	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 13:56	未知	2E4	甜蜜素2	2.131	89305.270
2			100ppb精密度-2	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 14:01	未知	2E4	甜蜜素2	2.131	96839.000
3			100ppb精密度-3	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 14:07	未知	2E4	甜蜜素2	2.131	94799.910
4			100ppb精密度-4	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 14:12	未知	2E4	甜蜜素2	2.123	93970.250
5			100ppb精密度-5	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 14:17	未知	2E4	甜蜜素2	2.123	90232.380
6		▼	100ppb精密度-6	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 14:22	未知	2E4	甜蜜素2	2.123	94852.740
Min									2.123	89305.270
Max									2.131	96839.000
AVG									2.127	93333.260
SD									0.005	2932.441
▶ RSD									0.219	3.142
IDL									0.000	0.000

图 4 100ug/L 环己基氨基磺酸钠溶液精密度结果

	样品信息							甜蜜素		
	!	▼	数据文件	采集方法	采集时间	样品类型	样品瓶号	定量方法	保留时间	响应
1		▼	1000ppb精密度-1	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 14:28	未知	2E6	甜蜜素2	2.123	861952.900
2		▼	1000ppb精密度-2	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 14:33	未知	2E6	甜蜜素2	2.131	897003.000
3		▼	1000ppb精密度-3	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 14:38	未知	2E6	甜蜜素2	2.123	859547.000
4		▼	1000ppb精密度-4	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 14:44	未知	2E6	甜蜜素2	2.123	864776.200
5			1000ppb精密度-5	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 14:49	未知	2E6	甜蜜素2	2.131	887642.400
6		▼	1000ppb精密度-6	甜蜜素-正负离子	2020-07-28 14:54	未知	2E6	甜蜜素2	2.123	874388.600
Min									2.123	859547.000
Max									2.131	897003.000
AVG									2.125	874218.400
SD									0.004	15193.530
▶ RSD									0.207	1.738
IDL									0.000	0.000

图 5 1000ug/L 环己基氨基磺酸钠溶液精密度结果

4 结论

本文建立 EXPEC 5210 测定白酒中环己基氨基磺酸钠含量的方法。严格遵循国标

《GB5009.97-2016 食品中环己基氨基磺酸钠的测定第三法液相色谱-质谱|质谱法》测试条件，采用外标定量法，校准曲线线性良好，线性相关系数 r 为 0.9988，对低、中、高不同浓度的标样平行测试 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.16~0.22% 和 1.80~6.16% 之间。方法定量限和检出限分别为 $1.8\mu\text{g/L}$ 和 $0.6\mu\text{g/L}$ ，完全满足 GB5009.97-2016 中食品中环己基氨基磺酸钠的测试标准要求，可用于白酒中环己基氨基磺酸钠含量的检测。

二、LC-MS/MS 法测定牛奶中三聚氰胺的 残留量

参考标准：《GB/T 22388-2008》

1 前言

三聚氰胺（Melamine）是一种化工原料，在塑料、涂料、黏合剂等行业广泛应用指具有对氨基苯磺酰胺结构的一类药物的总称，又称蛋白精，几乎无味，不可用于食品加工或食品添加剂。但是由于其分子含大量的氮元素，一些不法分子为牟取暴利，为了提高食品中的蛋白质监测值，在牛奶和畜禽饲料中添加含氮的三聚氰胺，造成牛奶及奶制品、鸡蛋等动物性食品中三聚氰胺残留严重超标。临床调查发现，如果摄入的三聚氰胺量大、时间长，可能会在泌尿系统，如膀胱和肾脏形成泥沙样结晶或结石。含三聚氰胺的奶粉对不同人群健康的影响也不同。由于婴幼儿生理结构和饮食结构与成人明显不同，婴幼儿比较容易引起泌尿系统结石。我国出台了相关检测标准，如《GB/T 22388-2008 原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法》、《GB 29704-2013 食品安全国家标准 动物性食品中环丙氨嗪及代谢物三聚氰胺多残留的测定 超高效液相色谱-串联质谱法》等。因此，本文参考《GB/T 22388-2008 原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法》建立了使用谱育科技的超高效液相色谱—三重四极杆串联质谱仪测定牛奶中三聚氰胺的检测方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

三聚氰胺（纯品型，固体）购自上海安谱，于-20℃冰箱保存。

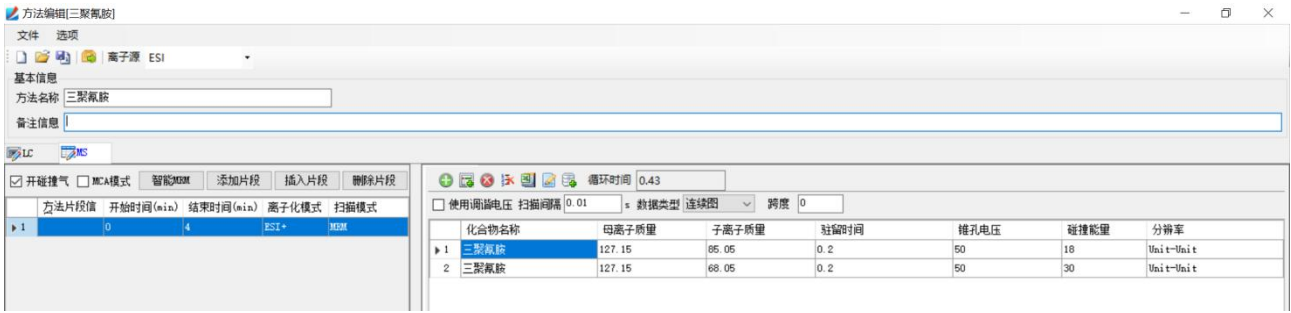
试剂：乙腈、甲醇和水为色谱级；三氯乙酸：化学纯；甲酸为 LC-MS 级，纯度为 98%。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	0.1%甲酸水（A）和乙腈（B），梯度洗脱		
	流速	0.3 mL/min		
	色谱柱	Agilent Poroshell 120 HILIC (2.1*100mm,2.7um)		
	进样量	部分环进样, 2 uL		
	柱温	40°C		
	运行时间	4.3min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	90	10	
	2	5	95	
	2.2	5	95	
	2.3	90	10	
	4.3	90	10	
MS 条件	运行模式	ESI+		
	雾化气流量	1.4L/min		
	去溶剂气流量	4L/min		
	反吹气流量	2L/min		
	去溶剂气温度	500°C		
	碰撞气流量	0.45mL/min (5.8e-3Torr)		
	毛细管高压	4.8kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。



2.3 样品前处理

样品前处理方法：具体参考《GB/T 22388-2008 原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法》。

3 结果

3.1 线性和检出限

用空白基质稀释得到一系列浓度的三聚氰胺标准品 (10ng/mL、20ng/mL、50ng/mL、100ng/mL、150ng/ml、200ng/ml),按照上述方法进样,以各目标物的定量离子色谱峰面积(Y),目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标,权重系数为 1/x,采用外法拟合后的标准曲线如下图 1 所示。空白基质色谱图如图 2 所示,定量限的定量离子图如图 3 所示,本实验的定量限完全符合《GB/T 22388-2008 原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法》的要求。

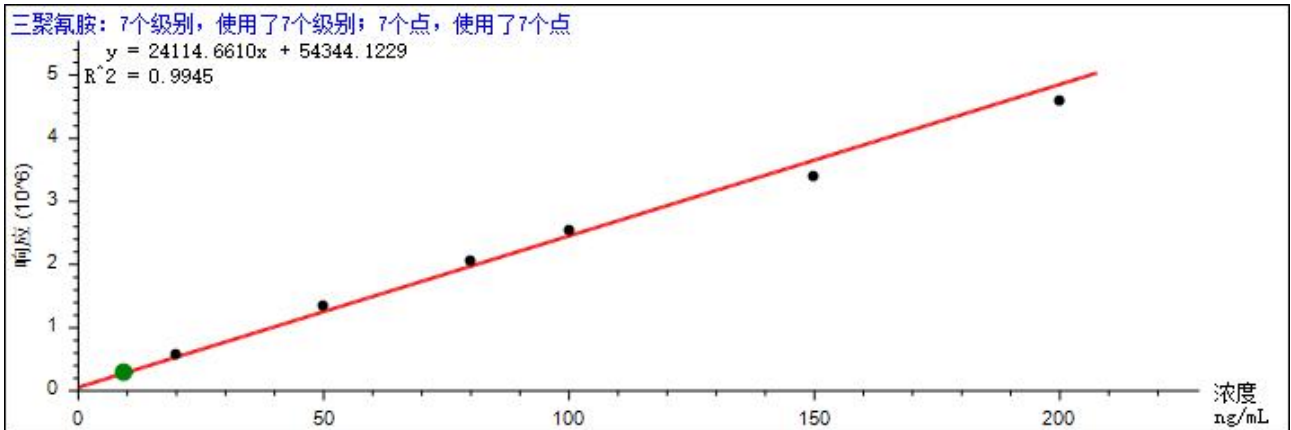


图 1 三聚氰胺的标准曲线

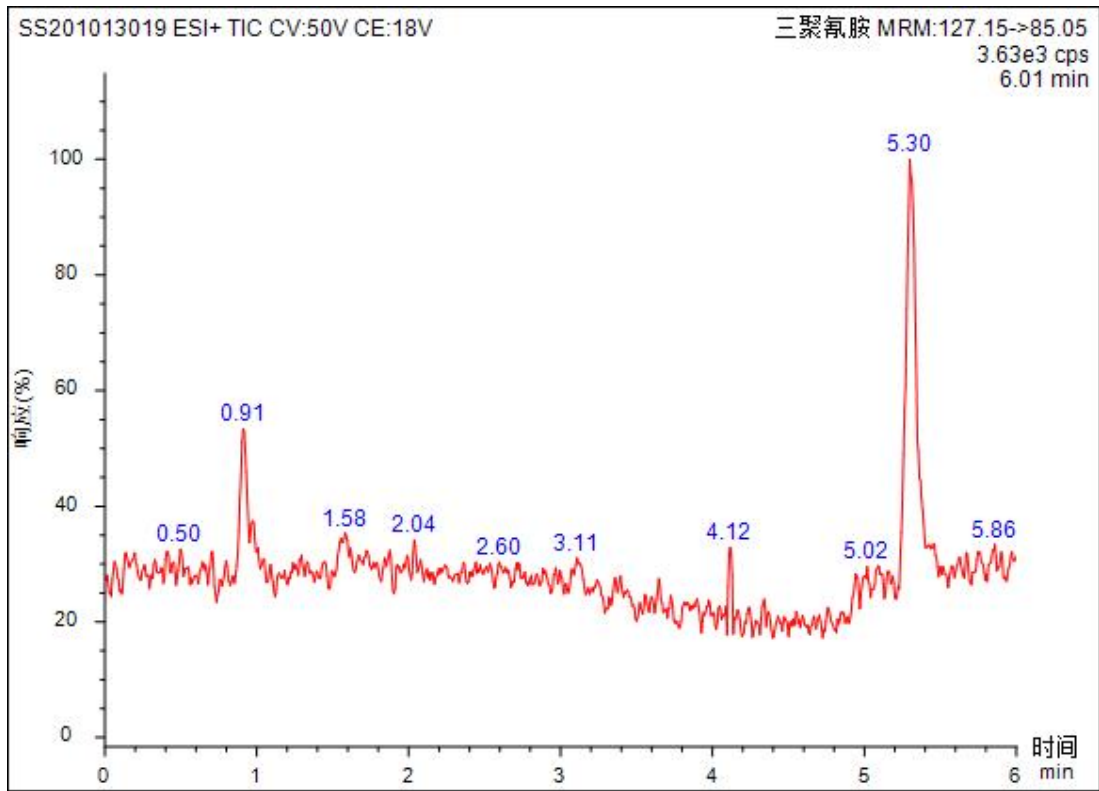


图2 空白基质的色谱图

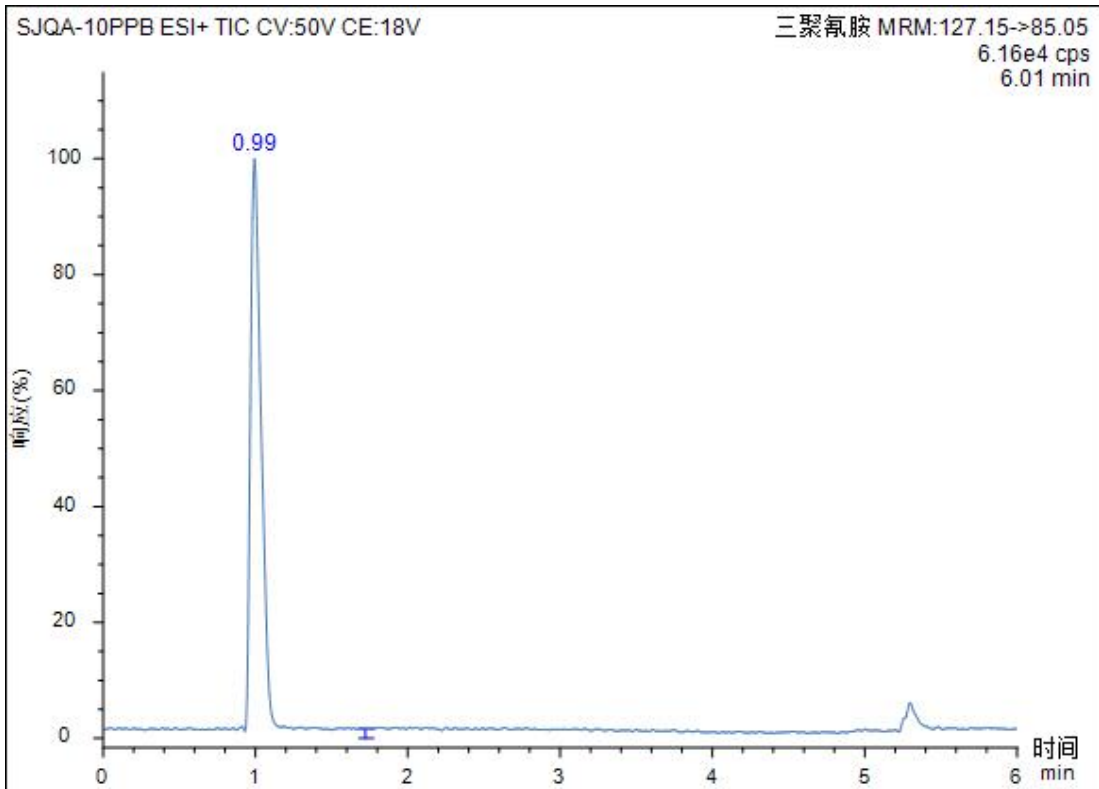


图3 三聚氰胺的定量限的色谱图 (10ng/ml)

3.2 重复性

分别配置 1 ng/mL 和 80 ng/mL 不同浓度对照品，分别连续进样 6 次，考察保留时间和响应的重复性，结果如下所示。

1ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.85%和 0.94%。

	样品信息				三聚氰胺			
	!	▼		数据文件	定量方法	保留时间	响应	计算浓度
1		▼	<input type="checkbox"/>	SS201013019-1	SJQA	0.98	281123.70	9.68
2		▼	<input type="checkbox"/>	SS201013019-2	SJQA	0.99	279583.10	9.61
3		▼	<input type="checkbox"/>	SS201013019-3	SJQA	0.99	281968.80	9.71
4		▼	<input type="checkbox"/>	SS201013019-4	SJQA	0.99	286388.70	9.89
5		▼	<input type="checkbox"/>	SS201013019-5	SJQA	1.00	281790.70	9.70
6		▼	<input type="checkbox"/>	SS201013019-6	SJQA	1.00	278776.00	9.58
Min						0.98	278776.00	9.58
Max						1.00	286388.70	9.89
AVG						0.99	281605.20	9.70
SD						0.01	2659.83	0.11
▶ RSD						0.85	0.94	1.14
IDL						0.29	0.32	0.38

80ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.73%和 0.52%。

	样品信息				三聚氰胺			
	!	▼		数据文件	定量方法	保留时间	响应	计算浓度
1			<input type="checkbox"/>	SS201013019-7	SJQA	0.99	2080874.00	84.39
2			<input type="checkbox"/>	SS201013019-8	SJQA	0.98	2085116.00	84.56
3			<input type="checkbox"/>	SS201013019-9	SJQA	0.99	2085279.00	84.57
4			<input type="checkbox"/>	SS201013019-10	SJQA	1.00	2095671.00	85.00
5			<input type="checkbox"/>	SS201013019-11	SJQA	0.99	2108266.00	85.53
6			<input type="checkbox"/>	SS201013019-12	SJQA	0.99	2080574.00	84.37
Min						0.98	2080574.00	84.37
Max						1.00	2108266.00	85.53
AVG						0.99	2089297.00	84.74
SD						0.01	10780.66	0.45
▶ RSD						0.73	0.52	0.53
IDL						1.96	1.39	1.43

可知所有化合物的保留时间和峰面积均在 0.94%以下，精密度较好。

4 结论

牛奶样品经提取、阳离子交换柱净化等前处理过程，使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度、灵敏度等，结果表明：三聚氰胺在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.99；方法精密度在 0.94%以内，灵敏度符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对牛奶中三聚氰胺的残留进行灵敏、准确的定量检测。

三、LC-MS/MS 法测定豆芽中两种植物生长调节剂

参考标准：《BSJ 201703》

1 前言

近年来，全国多地曝出“毒豆芽事件”，即在豆芽生产过程中使用 6-苄基腺嘌呤（6-BA）、4-氯苯氧乙酸（4-CPA）等植物生长调节剂促进豆芽快速生长，达到只发芽不生根目的，因此又称无根豆芽素、豆芽激素。滥用的植物生长调节剂会给居民健康带来风险，人体摄入过多会刺激皮肤、粘膜，食道或造成胃黏膜损伤，出现恶心、呕吐等现象，甚至致癌、致畸。因此，本文建立了使用谱育科技的超高效液相串联三重四极杆质谱仪测定豆芽中 4-氯苯氧乙酸和 6-苄基腺嘌呤残留的快速且高灵敏度的检测方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品：4-氯苯氧乙酸和 6-苄基腺嘌呤标准溶液（100 mg/mL），购自上海安谱，于-20℃冰箱保存。

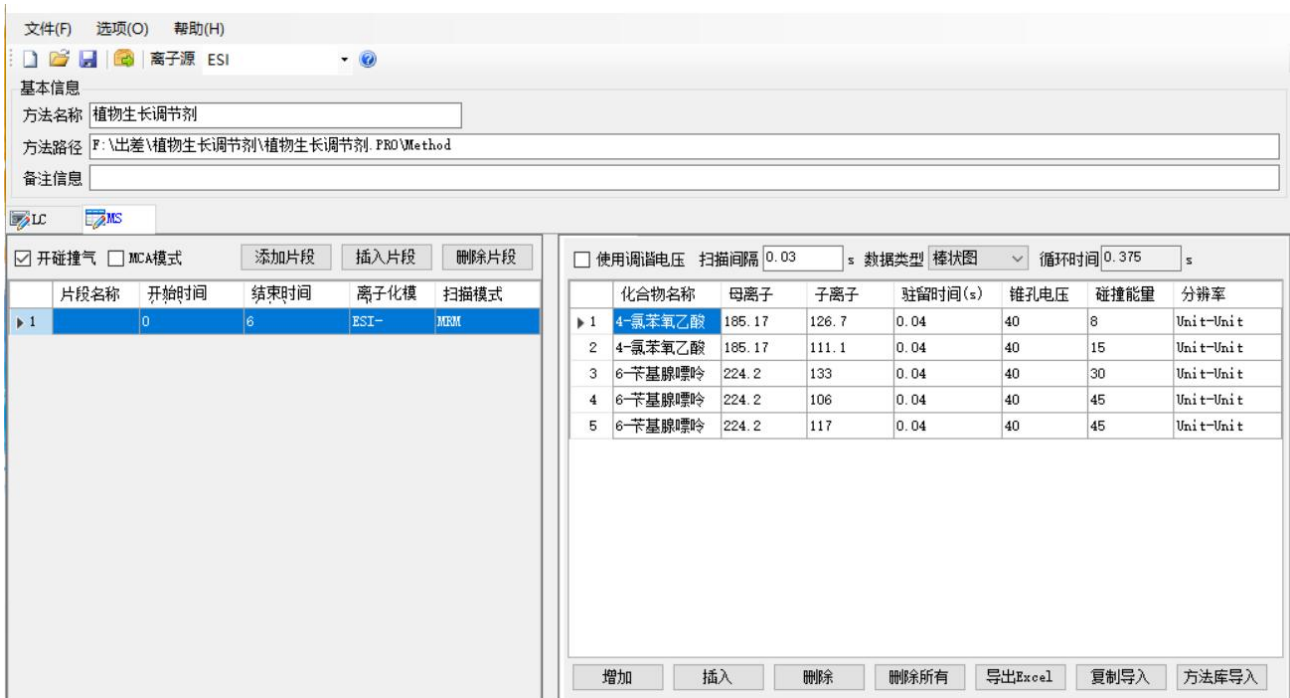
试剂：甲醇和乙腈为色谱级，甲酸为色谱级，纯度 98%。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	0.1 %甲酸水溶液 (A) 和纯甲醇 (B), 梯度洗脱		
	色谱柱	Waters BEH C18(2.1*100mm, 1.7um)		
	流速	0.3 mL/min		
	柱温	40°C		
	进样量	部分环进样, 10uL		
	运行时间	6min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	95	5	
	4	5	95	
	4.5	5	95	
	4.6	95	5	
	6	95	5	
MS 条件	雾化气流量	1.5 L/min		
	去溶剂气流量	4 L/min		
	反吹气流量	1 L/min		
	去溶剂气温度	450 °C		
	碰撞气流量	0.45 mL/min (5.8e-3Torr)		
	毛细管高压	4.5 kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数如图所示。



2.3 样品前处理

样品前处理方法：具体参考《BSJ 201703 豆芽中植物生长调节剂的测定》。

3 结果

3.1 线性和定量限

用初始流动相稀释得到一系列浓度的 4-氯苯氧乙酸和 6-苄基腺嘌呤混标 (分别为 10、20、40、100、150、200 ng/mL)，按照上述方法进样，以各目标物的定量离子色谱峰面积 (Y) 为纵坐标，目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标，权重系数为 1/x，采用外标法拟合后的标准曲线如下图 1-图 2 所示，可以看出目标化合物的线性良好，相关系数均大于 0.99。方法定量限的色谱图如图 3 所示，各化合物的信噪比均大于 30，满足《BSJ 201703 豆芽中植物生长调节剂的测定》定量需求。

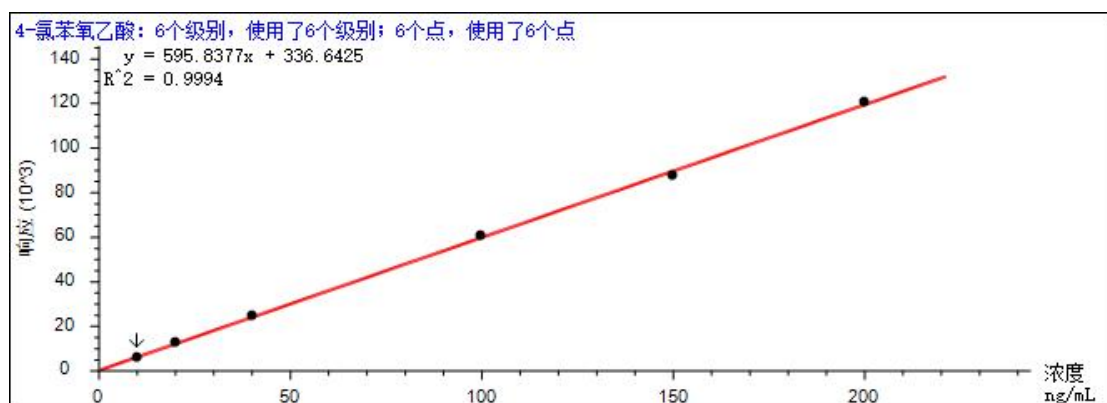


图 1 4-氯苯氧乙酸标准曲线

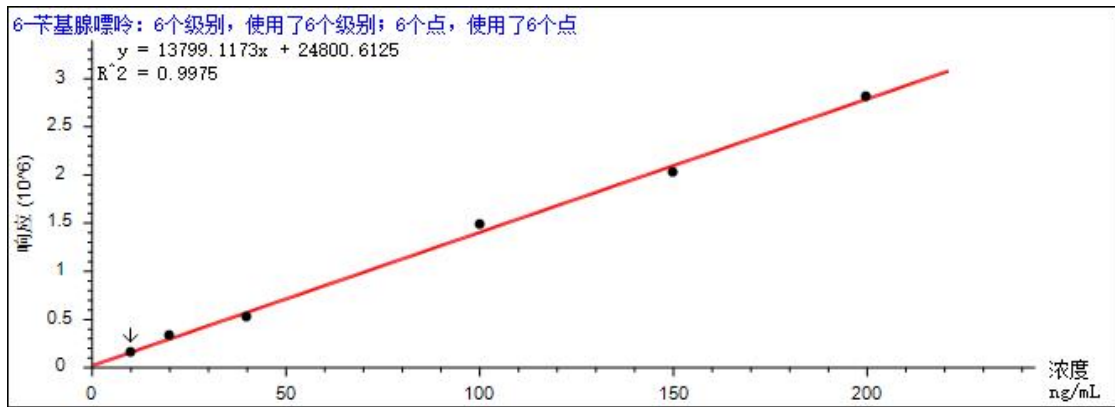


图 2 6-苄基腺嘌呤标准曲线

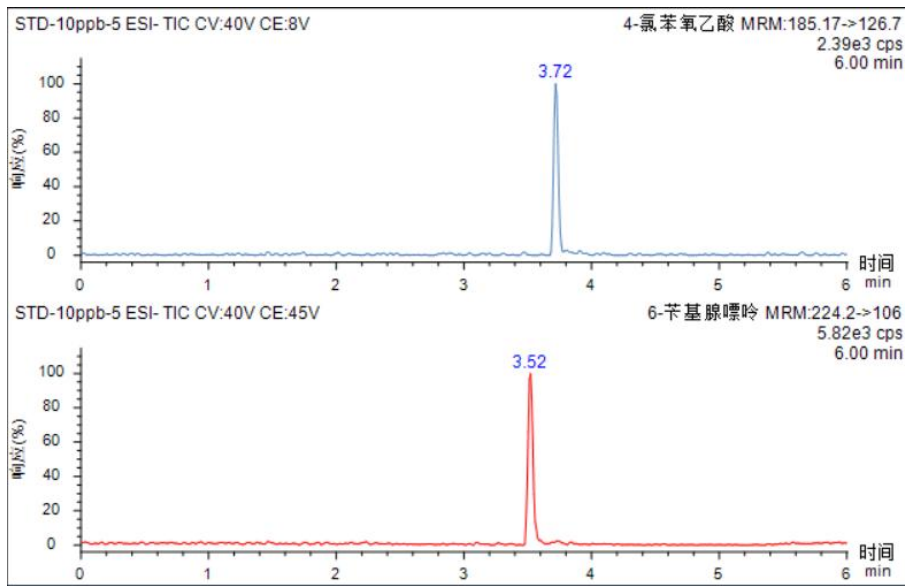


图 5 两种植物生长调节剂定量限的色谱图 (10 ng/mL)

3.2 重复性

用 10 ng/mL 混标溶液, 连续进样 6 次, 考察保留时间和响应的重复性, 结果如下所示。

	样品信息					4-氯苯氧乙酸		6-苄基腺嘌呤		
	!	▼		数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	响应	保留时间	响应
1		▼	☐	植物生长调节剂 精密度-1	2020-09-17 17:10	植物生长调节剂	3.72	3011.45	3.52	72294.84
2		▼	☐	植物生长调节剂 精密度-2	2020-09-17 17:20	植物生长调节剂	3.71	2943.87	3.52	78776.31
3		▼	☐	植物生长调节剂 精密度-3	2020-09-17 17:29	植物生长调节剂	3.73	3090.14	3.52	81549.88
4		▼	☐	植物生长调节剂 精密度-4	2020-09-17 17:38	植物生长调节剂	3.73	2778.50	3.52	77278.02
5		▼	☐	植物生长调节剂 精密度-5	2020-09-17 17:46	植物生长调节剂	3.72	3188.16	3.52	75016.75
6		▼	☐	植物生长调节剂 精密度-6	2020-09-17 17:52	植物生长调节剂	3.72	3038.67	3.52	75680.36
Min							3.71	2778.50	3.52	72294.84
Max							3.73	3188.16	3.52	81549.88
AVG							3.72	3008.47	3.52	76766.03
SD							0.01	139.24	0.00	3206.83
▶ RSD							0.14	4.63	0.02	4.18
IDL							0.00	0.00	0.00	0.00

可知所有化合物的保留时间和峰面积的精密度较好，保留时间 RSD 在 0.2 % 以内，峰面积的精密度 RSD 小于 5 %。

4 结论

本文考察了方法的线性、精密度和回收率等，结果表明：2 种植物生长调节剂在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.99；方法精密度在 5% 以内，保留时间稳定性 RSD 小于 0.2%。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对豆芽中 4-氯苯氧乙酸和 6-苄基腺嘌呤残留进行灵敏、准确的定量检测。

四、LC-MS/MS 法测定食品中罗丹明 B 的残留量

参考标准：《BJS 201905》

1 前言

罗丹明 B（Rhodamine B），是一种具有鲜桃红色的人工合成的染料。易溶于水、乙醇，微溶于丙酮、氯仿、盐酸和氢氧化钠溶液。呈红色至紫罗兰色粉末，水溶液为蓝红色，稀释后有强烈荧光，醇溶液有红色荧光。也可作为食品染色剂使用，但在 2017 年 10 月世界卫生组织国际癌症研究机构公布的致癌物清单中，罗丹明 B 在 3 类致癌物清单中。因此，本文参考《BJS 201905 食品中罗丹明 B 的测定》，建立了使用谱育科技的超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪测定食品中罗丹明 B 含量的快速且高灵敏度的检测方法。

2 实验部分

2.1 样品、标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品：罗丹明 B（纯品，液体），购自 A ChemTek, Inc.，于-20℃冰箱保存。

试剂：超纯水，甲酸为色谱级（CNW），甲醇(色谱级，美国 TEDIA)。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	0.1%甲酸水 (A) 和甲醇 (B), 梯度洗脱		
	流速	0.4 mL/min		
	色谱柱	Waters BEH C18 色谱柱(2.1*100mm, 1.7um)		
	进样量	部分环进样, 10 uL		
	柱温	40°C		
	运行时间	3.5min		
	梯度方法	Time (min)	A (%) 0.1%甲酸水	B (%) 甲醇
	0	90	10	
	1	90	10	
	1.2	20	80	
	2.5	20	80	
	2.6	90	10	
	3.5	90	10	
MS 条件	运行模式	ESI ⁺		
	雾化气流量	1.4L/min		
	去溶剂气流量	6L/min		
	反吹气流量	0.4L/min		
	去溶剂气温度	450°C		
	碰撞气流量	0.45mL/min (5.17e-3Torr)		
	毛细管高压	5.2kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表



化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1 罗丹明B	443.45	399.05	0.3	50	45	Unit-Unit
2 罗丹明B	443.45	413.05	0.3	50	45	Unit-Unit

2.3 样品前处理

样品前处理方法: 具体参考《BJS 201905 食品中罗丹明 B 的测定》。

3 结果

3.1 线性和检出限

用甲醇稀释得到一系列浓度的罗丹明 B 标品(0.5ng/mL、1ng/mL、2ng/mL、5ng/mL、10ng/ml、20ng/ml),按照上述方法进样, 以各目标物的定量离子色谱峰面积 (Y) 为纵坐标, 目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标, 权重系数为 1/x, 采用外法拟合后的标准曲线如下

图 1 所示。标准曲线最低点定量离子色谱图如图 2 所示，配置 0.5ng/ml 标准溶液进样，按照 S/N=10 和 S/N=3 计算定量限和检出限，结果如下表 1 所示。且本实验的检出限完全符合《BJS 201905 食品中罗丹明 B 的测定》的要求。

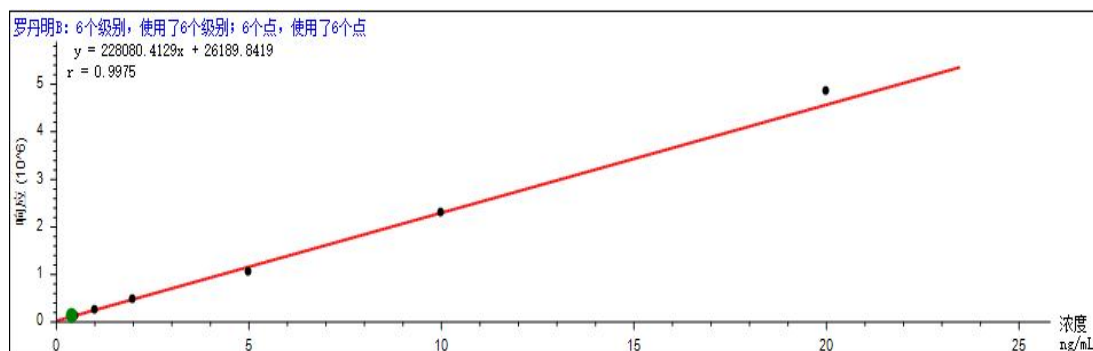


图 1 罗丹明 B 的标准曲线

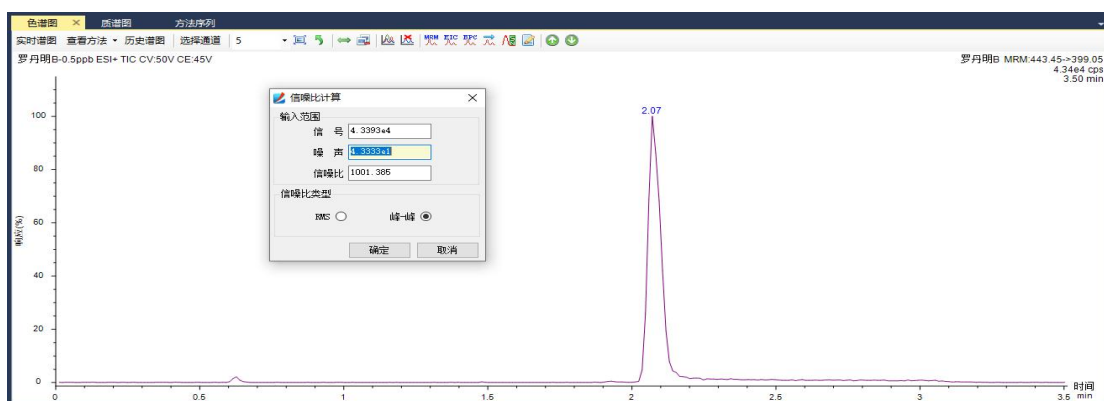


图 2 罗丹明 B 的定量限的色谱图 (0.5ng/ml)

表 1 罗丹明 B 的检出限和定量限

序号	化合物名称	S/N	检出限 (ng/ml)	定量限 (ng/ml)
1	罗丹明 B	1001	0.0015	0.0049

3.2 重复性

分别配置 0.5 ng/mL 和 5ng/mL 不同浓度对照品，分别连续进样 6 次，考察保留时间和响应的重复性，结果如下所示。

0.5ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别是 0.00%和 1.9%。

	样品信息			罗丹明B		
	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	响应	计算浓度
1	食品中罗丹明B的测定\罗丹明B-0.5ppb-2	2021-09-26 17:11	罗丹明B-0.5ppb-20ppb	2.07	127287.30	0.44
2	食品中罗丹明B的测定\罗丹明B-0.5ppb-3	2021-09-26 17:15	罗丹明B-0.5ppb-20ppb	2.07	126690.50	0.44
3	食品中罗丹明B的测定\罗丹明B-0.5ppb-4	2021-09-26 17:34	罗丹明B-0.5ppb-20ppb	2.07	122423.90	0.42
4	食品中罗丹明B的测定\罗丹明B-0.5ppb-5	2021-09-26 17:22	罗丹明B-0.5ppb-20ppb	2.07	123379.50	0.43
5	食品中罗丹明B的测定\罗丹明B-0.5ppb-6	2021-09-26 17:26	罗丹明B-0.5ppb-20ppb	2.07	122123.20	0.42
6	食品中罗丹明B的测定\罗丹明B-0.5ppb-7	2021-09-26 17:30	罗丹明B-0.5ppb-20ppb	2.07	126663.60	0.44
Min				2.07	122123.20	0.42
Max				2.07	127287.30	0.44
AVG				2.07	124761.30	0.43
SD				0.00	2368.70	0.01
▶ RSD				0.00	1.90	2.41
IDL				0.00	0.00	0.00

5ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.00%和 6.9%之间。

	样品信息			罗丹明B		
	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	响应	计算浓度
1	食品中罗丹明B的测定\罗丹明B-5ppb	2021-09-26 16:34	罗丹明B-0.5ppb-20ppb	2.07	1050945.00	4.51
2	食品中罗丹明B的测定\罗丹明B-5ppb-1	2021-09-26 17:41	罗丹明B-0.5ppb-20ppb	2.07	1230700.00	5.30
3	食品中罗丹明B的测定\罗丹明B-5ppb-2	2021-09-26 17:45	罗丹明B-0.5ppb-20ppb	2.07	1145569.00	4.93
4	食品中罗丹明B的测定\罗丹明B-5ppb-3	2021-09-26 17:49	罗丹明B-0.5ppb-20ppb	2.07	1144372.00	4.92
5	食品中罗丹明B的测定\罗丹明B-5ppb-4	2021-09-26 17:53	罗丹明B-0.5ppb-20ppb	2.07	1133266.00	4.87
6	食品中罗丹明B的测定\罗丹明B-5ppb-5	2021-09-26 17:56	罗丹明B-0.5ppb-20ppb	2.07	1013379.00	4.34
Min				2.07	1013379.00	4.34
Max				2.07	1230700.00	5.30
AVG				2.07	1119705.00	4.81
SD				0.00	77219.63	0.34
▶ RSD				0.00	6.90	7.06
IDL				0.00	0.00	0.00

可知所有化合物的保留时间和峰面积均在 6.9%以下，精密度较好。

4 结论

样品经提取等前处理过程，使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度、灵敏度等，结果表明：罗丹明 B 在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.99；方法精密度在 6.9%以内，灵敏度符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对食品中罗丹明 B 含量进行灵敏、准确的定量检测。

五、LC-MS/MS 法测定植物油中乙基麦芽酚的含量

参考标准：《BJS 201708》

1 前言

乙基麦芽酚是一种安全、可靠、用量少、效果显著的食品添加剂，作为一种香味改良剂、增香剂，应用越来越广泛，是烟草、食品、饮料、香精、果酒、日用化妆品等良好的香味增效剂，对食品的香味改善和增强具有显著效果，对甜食起着增甜作用，且能延长食品储存期。欧洲理事会将乙基麦芽酚列入可用于食品中而对人体健康无害的人造食用香料表中，其最高用量为 10mg/kg，ADI 值为 2mg/kg，中国根据 GB 2760-2014 食品添加剂使用卫生标准，批准为允许使用的食品香料。因此，本文参考《BJS 201708 食用植物油中乙基麦芽酚的测定要求》，建立了使用谱育科技的超高效液相色谱—三重四极杆串联质谱仪测定食用植物油中乙基麦芽酚含量的快速且高灵敏度的检测方法。

2 实验部分

2.1 样品、标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

样品：由市场抽检的食用植物油 3299-1、3299-2、3296、3292、3294、2741 六种植物油样品。

标准品：乙基麦芽酚（纯品型，液体）购自上海安谱，于-20℃冰箱保存。

试剂：甲醇(色谱级，美国 TEDIA)、超纯水；甲酸为色谱级（CNW），纯度为 98%。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	0.1%甲酸水 (A) 和甲醇 (含 0.1%甲酸, B) 梯度洗脱		
	流速	0.3 mL/min		
	色谱柱	Waters C18 色谱柱(2.1*100mm, 1.7um)		
	进样量	部分环进样, 10 uL		
	柱温	40°C		
	运行时间	5min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	80	20	
	1	80	20	
	1.5	20	80	
	3	20	80	
	3.5	80	20	
	5	80	20	
MS 条件	运行模式	ESI ⁺		
	雾化气流量	1.4L/min		
	去溶剂气流量	6L/min		
	反吹气流量	0.4L/min		
	去溶剂气温度	450°C		
	碰撞气流量	0.45mL/min (5.13e-3Torr)		
	毛细管高压	5.2kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。

片段名称	开始时间(min)	结束时间(min)	离子化模式	扫描模式	化合物名称	母离子	子离子	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率	
1	0	5	ESI+	MRM	1	乙基麦芽酚	141.1	126	0.4	30	20	Unit-Unit
					2	乙基麦芽酚	141.1	71	0.4	30	30	Unit-Unit

2.3 样品前处理

样品前处理方法：具体参考《BJS 201708 食用植物油中乙基麦芽酚的测定》。准确称取 10g 试样（精确至 0.01g）置于 50ml 聚丙烯离心管中，用移液枪准确加入 10ml 甲醇，涡旋振荡 2min，4℃ 条件下 9000r/min 离心 10min，将上清液移入 20ml 具塞刻度试管中，下层油液再用 10ml 甲醇重复提取一次，合并上清液，用甲醇定容至 20ml，经微孔滤膜（0.22um，有机相）过滤，供液相色谱-串联质谱分析。

3 结果

3.1 线性和检出限

用甲醇稀释得到一系列浓度的乙基麦芽酚标准品（1ng/mL、2ng/mL、5ng/mL、10ng/mL、25ng/ml、50ng/ml），按照上述方法进样，以各目标物的定量离子色谱峰面积（Y），目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标，权重系数为 1/x，采用外法拟合后的标准曲线如下图 1 所示。标准曲线最低点定量离子色谱图如图 2 所示，配置 1ng/ml 标准溶液进样，按照 S/N=10 和 S/N=3 计算定量限和检出限，结果如下表 1 所示。且本实验的检出限完全符合《BJS 201708 食用植物油中乙基麦芽酚的测定要求》的要求（12.5ng/ml）。

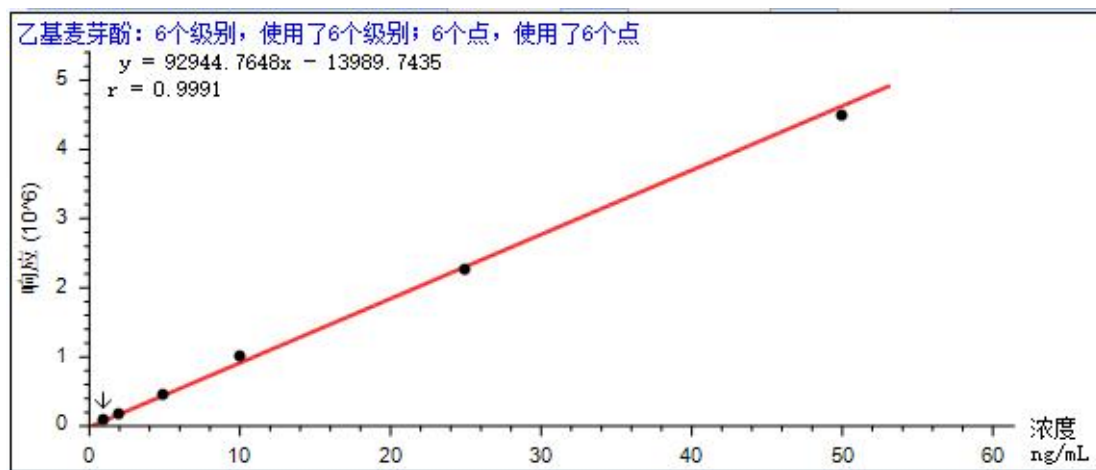


图 1 乙基麦芽酚的标准曲线

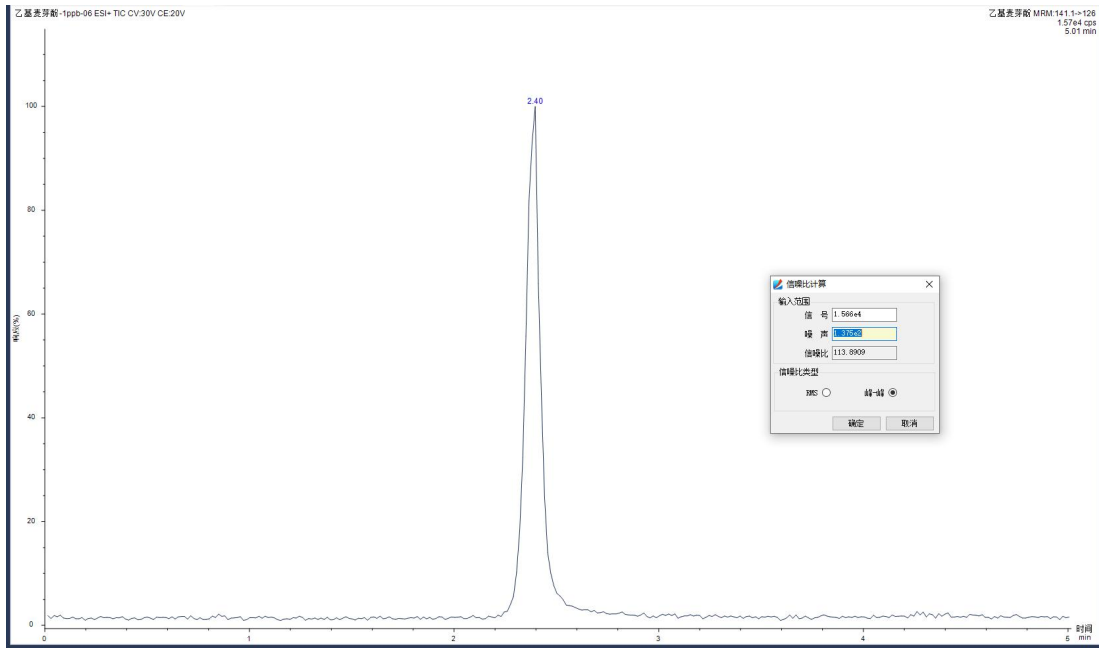


图 2 乙基麦芽酚的定量限的色谱图 (1ng/ml)

表 1 乙基麦芽酚的检出限和定量限

序号	化合物名称	S/N	检出限 (ng/ml)	定量限 (ng/ml)
1	乙基麦芽酚	113	0.03	0.09

3.2 重复性

分别配置 1 ng/mL 和 10 ng/mL 不同浓度对照品，分别连续进样 6 次，考察保留时间和响应的重复性，结果如下所示。

1ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.00%和 3.40%。

	样品信息			乙基麦芽酚					
	!	▼		数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	响应	计算浓度
1		▼	☑	乙基麦芽酚\乙基麦芽酚-1ppb	2021-10-12 15:52	乙基麦芽酚	2.38	78289.89	0.99
2		▼	☑	乙基麦芽酚\乙基麦芽酚-1ppb-02	2021-10-13 09:16	乙基麦芽酚	2.38	75222.65	0.96
3		▼	☑	乙基麦芽酚\乙基麦芽酚-1ppb-03	2021-10-13 09:21	乙基麦芽酚	2.38	76324.08	0.97
4		▼	☑	乙基麦芽酚\乙基麦芽酚-1ppb-04	2021-10-13 09:26	乙基麦芽酚	2.38	78493.89	1.00
5			☑	乙基麦芽酚\乙基麦芽酚-1ppb-05	2021-10-13 09:31	乙基麦芽酚	2.38	81775.68	1.03
6		▼	☑	乙基麦芽酚\乙基麦芽酚-1ppb-06	2021-10-13 09:37	乙基麦芽酚	2.38	81589.40	1.03
Min							2.38	75222.65	0.96
Max							2.38	81775.68	1.03
AVG							2.38	78615.93	1.00
SD							0.00	2672.59	0.03
▶ RSD							0.00	3.40	2.88
IDL							0.00	0.00	0.00

10ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.00%和 2.74%。

	样品信息				乙基麦芽酚		
	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	响应	计算浓度	
1	乙基麦芽酚\乙基麦芽酚-10ppb-01	2021-10-13 09:42	乙基麦芽酚	2.38	986652.90	10.78	
2	乙基麦芽酚\乙基麦芽酚-10ppb-02	2021-10-13 09:47	乙基麦芽酚	2.38	1032433.00	11.27	
3	乙基麦芽酚\乙基麦芽酚-10ppb-03	2021-10-13 09:52	乙基麦芽酚	2.38	1008120.00	11.01	
4	乙基麦芽酚\乙基麦芽酚-10ppb-04	2021-10-13 09:58	乙基麦芽酚	2.38	1061432.00	11.59	
5	乙基麦芽酚\乙基麦芽酚-10ppb-05	2021-10-13 10:03	乙基麦芽酚	2.38	1020531.00	11.15	
6	乙基麦芽酚\乙基麦芽酚-10ppb-06	2021-10-13 10:08	乙基麦芽酚	2.38	1053752.00	11.50	
Min				2.38	986652.90	10.78	
Max				2.38	1061432.00	11.59	
AVG				2.38	1027154.00	11.22	
SD				0.00	28131.13	0.30	
RSD				0.00	2.74	2.70	
IDL				0.00	0.00	0.00	

可知所有化合物的保留时间和峰面积均在 3.4%以下，精密度较好。

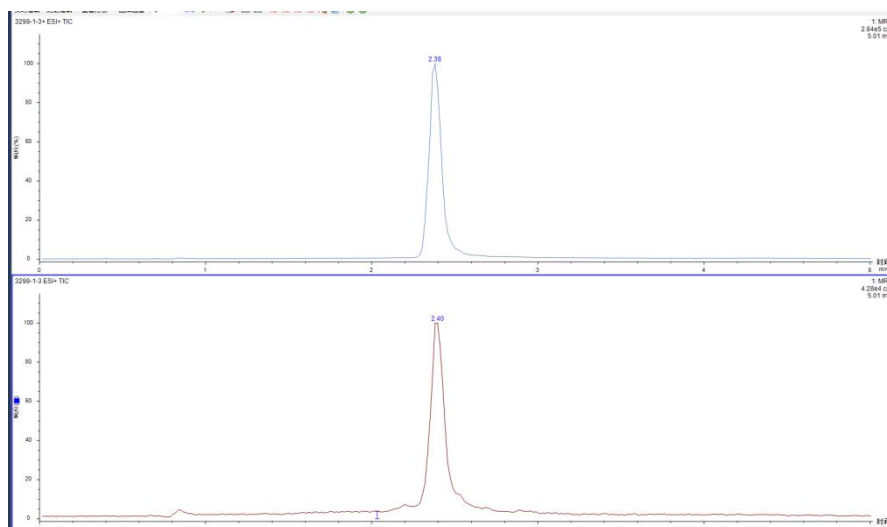
3.3 加标回收率

取食用植物油样品 3299 加标，乙基麦芽酚加标浓度为 10 ng/mL，同食用植物油供试品溶液的制备方法前处理。将乙基麦芽酚的峰面积代入标准工作曲线的到计算浓度，（加标计算浓度-未加标 3299 样品浓度）/加标浓度的比值即为回收率。

	样品信息			乙基麦芽酚			
	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	响应	计算浓度	回收率
1	Data\3299-1-3	2021-10-14 09:47	乙基麦芽酚-2	2.40	178445.00	2.074	
2	Data\3299-1-3+	2021-10-14 13:37	乙基麦芽酚-2	2.38	1114902.00	12.162	100.88

加标浓度为 10 ng/mL 时，乙基麦芽酚加标回收率为 100.88%，符合标准中的 80.5%–109.3% 范围。

加标谱图 3299-1-3+和未加标谱图 3299-1-3 如下图：



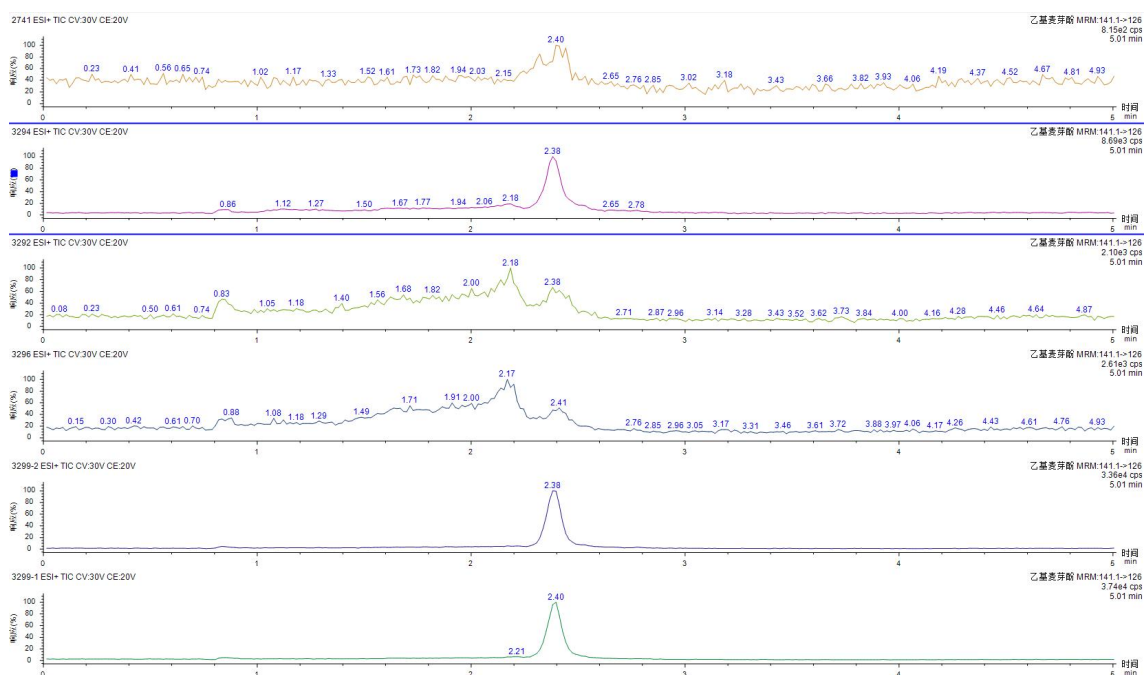
3.4 样品测试

植物油样品 3299-1、3299-2、3296、3292、3294、2741 测试结果见下表。

表 2 食用植物油中乙基麦芽酚的测试结果

样品	检测物	检测方法	限度参考值 (ng/mL)	实际浓度 (ng/mL)	结果判定
3299-1	乙基麦芽酚	LC-MS/MS	12.5	2.074	合格
3299-2	乙基麦芽酚	LC-MS/MS	12.5	2.149	合格
3296	乙基麦芽酚	LC-MS/MS	12.5	未检出	合格
3294	乙基麦芽酚	LC-MS/MS	12.5	0.409	合格
3292	乙基麦芽酚	LC-MS/MS	12.5	未检出	合格
2741	乙基麦芽酚	LC-MS/MS	12.5	未检出	合格

3.5 样品 LC-MS/MS 图谱



4 结论

食用植物油样品经提取等前处理过程，使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度、灵敏度等，结果表明：乙基麦芽酚在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.999；方法精密度在 3.4% 以内，灵敏度符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对食用植物油中乙基麦芽酚含量进行灵敏、准确的定量检测。

第四章 真菌毒素

一、LC-MS/MS 法测定面粉中赭曲霉毒素 A 的残留量

参考标准：《GB 5009.96-2016》

1 前言

赭曲霉毒素 A (OTA) 是曲霉属和青霉属菌产生的一类毒性代谢产物，常常污染食品和饲料。该类化合物在世界范围内造成的经济损失仅次于黄曲霉毒素。赭曲霉毒素常有 A、B、C 和 α 四种，赭曲霉毒素 B 的毒性是赭曲霉毒素 A 的 1/10。OTA 能引起动物的急性和慢性毒性，是强致癌物质，可对肾脏造成不可逆致死毒性，严重影响动物的技能和生长状况。在面粉等粮食储存条件不当的情形下，会导致面粉等粮食发生霉变，可能产生赭曲霉毒素 A。我国出台了相关检测标准，如《GB 5009.96-2016 食品安全国家标准 食品中赭曲霉毒素 A 的测定》等。因此，本文参考《GB 5009.96-2016 食品安全国家标准 食品中赭曲霉毒素 A 的测定》建立了使用谱育科技的超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪测定面粉中赭曲霉毒素 A 的检测方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

赭曲霉毒素 A（纯品型，固体）购自上海安谱，于-20℃冰箱保存。

试剂：乙腈、甲醇为色谱级；氯化钠、碳酸氢钠、无水硫酸钠：优级纯；甲酸为 LC-MS 级，纯度为 98%。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	0.1%甲酸水（A）和乙腈（B），梯度洗脱		
	流速	0.3 mL/min		
	色谱柱	Waters BEH C18(2.1*100mm, 1.7um)		
	进样量	部分环进样, 10 uL		
	柱温	40°C		
	运行时间	5min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	90	10	
	2	5	95	
	3	5	95	
	3.1	90	10	
	5	90	10	
MS 条件	运行模式	ESI-		
	雾化气流量	1.4L/min		
	去溶剂气流量	5L/min		
	反吹气流量	2L/min		
	去溶剂气温度	500°C		
	碰撞气流量	0.45mL/min (5.8e-3Torr)		
	毛细管高压	-4.5kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1 赭曲霉毒素A	402.05	367.96	0.2	50	8	Unit-Unit
2 赭曲霉毒素A	402.05	166.96	0.2	50	40	Unit-Unit

2.3 样品前处理

样品前处理方法：具体参考《GB 5009.96-2016 食品安全国家标准 食品中赭曲霉毒素 A 的测定》中第三法“免疫亲和层析净化液相色谱-串联质谱法”。

3 结果

3.1 线性和检出限

用空白样品稀释得到一系列浓度的赭曲霉毒素 A 标准品 (1ng/mL、1.5ng/mL、3ng/mL、5ng/mL、7ng/ml、10ng/ml、15ng/ml、20ng/ml),按照上述方法进样,以各目标物的定量离子色谱峰面积 (Y), 目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标, 权重系数为 $1/x$, 采用外法拟合后的标准曲线如下图 1 所示。空白基质色谱图如图 2 所示, 标准曲线最低点的定量离子图如图 3 所示, 本实验的定量限完全符合《GB 5009.96-2016 食品安全国家标准 食品中赭曲霉毒素 A 的测定》的要求。

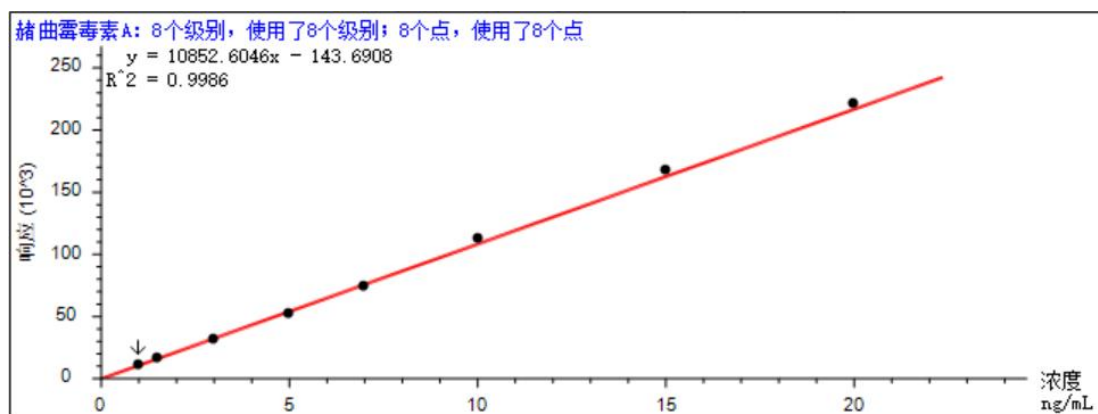


图 1 赭曲霉毒素 A 的标准曲线

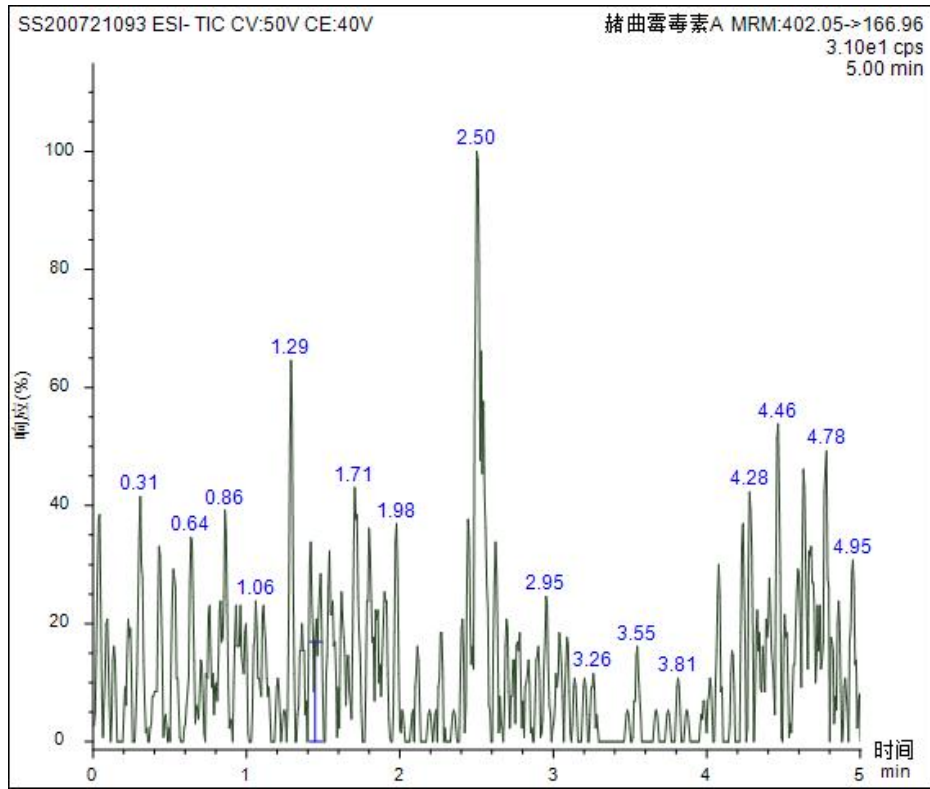


图2 空白基质的色谱图

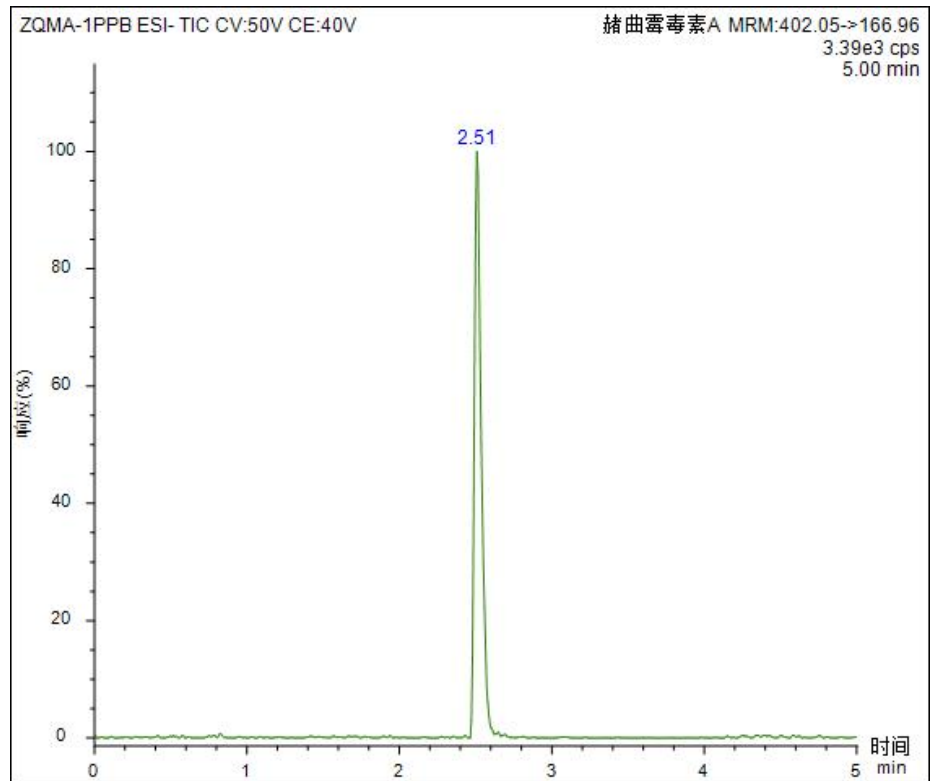


图3 赭曲霉毒素 A 的定量限的色谱图 (1ng/ml)

3.2 重复性

分别配置 1 ng/mL 和 10 ng/mL 不同浓度对照品，分别连续进样 6 次，考察保留时间和响应的重复性，结果如下所示。

1ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.13%和 2.67%。

	样品信息				赈曲霉毒素A			
	!	▼		数据文件	定量方法	保留时间	响应	计算浓度
1			<input type="checkbox"/>	SS200721093-1	ZQMA	2.51	11912.79	1.11
2			<input type="checkbox"/>	SS200721093-2	ZQMA	2.51	11476.19	1.07
3			<input type="checkbox"/>	SS200721093-3	ZQMA	2.52	12213.64	1.14
4			<input type="checkbox"/>	SS200721093-4	ZQMA	2.51	11781.40	1.10
5			<input type="checkbox"/>	SS200721093-5	ZQMA	2.51	11467.22	1.07
Min						2.51	11467.22	1.07
Max						2.52	12213.64	1.14
AVG						2.51	11770.25	1.10
SD						0.00	314.38	0.03
▶ RSD						0.13	2.67	2.63
IDL						0.00	0.10	0.10

10ng/ml 重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.12%和 1.30%。

	样品信息				赈曲霉毒素A			
	!	▼		数据文件	定量方法	保留时间	响应	计算浓度
▶ 1			<input type="checkbox"/>	SS200721093-7	ZQMA	2.51	112596.10	10.39
2			<input type="checkbox"/>	SS200721093-8	ZQMA	2.52	109794.80	10.13
3			<input type="checkbox"/>	SS200721093-9	ZQMA	2.51	113397.50	10.47
4			<input type="checkbox"/>	SS200721093-10	ZQMA	2.51	112273.80	10.36
5			<input type="checkbox"/>	SS200721093-11	ZQMA	2.51	111622.00	10.30
6			<input type="checkbox"/>	SS200721093-12	ZQMA	2.51	113937.60	10.52
Min						2.51	109794.80	10.13
Max						2.52	113937.60	10.52
AVG						2.51	112270.30	10.36
SD						0.00	1463.22	0.13
RSD						0.12	1.30	1.30
IDL						0.04	0.44	0.44

可知所有化合物的保留时间和峰面积均在 2.67%以下，精密度较好。

4 结论

面粉样品经制备、提取、苯基硅烷固相萃取柱净化等前处理过程，使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度、灵敏度等，结果表明：赭曲霉毒素 A 在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.99；方法精密度在 2.67% 以内，灵敏度符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对面粉中赭曲霉毒素 A 的残留进行灵敏、准确的定量检测。

二、LC-MS/MS 法测定谷物中黄曲霉毒素

参考标准: 《GB5009.22-2016 》

1 前言

黄曲霉毒素 (Aflatoxin, AFT) 是污染食物的最具毒性的有害毒素, 是一种一级致癌物, 目前已发现黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁、G₂ 等, 其中以 B₁ 毒性最强。黄曲霉毒素的毒性是多系统毒性, 主要包括对消化系统、肝脏、血液、免疫系统、生殖系统等毒性。黄曲霉毒素主要存在于玉米、大豆、水稻等农产品中, 严重影响农产品的食品安全。食品中的黄曲霉毒素对人体的健康有着严重的危害和影响, 对食品中黄曲霉毒素的含量进行有效、准确的检测十分必要。因此, 本文建立了使用谱育科技的超高效液相串联三重四极杆质谱仪测定谷物中黄曲霉毒素残留的快速且高灵敏度的检测方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器: ULC 510 超高效液相色谱仪 (具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器 (含冷却功能)、柱温箱)、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品: 黄曲霉毒素混合标准溶液 (AFT B₁ :1 mg/mL; AFT B₂ :0.3 mg/mL; AFT G₁ :1 mg/mL; AFT G₂ :0.3 mg/mL) 购自上海安谱, 于-20℃冰箱保存。

试剂: 甲醇和乙腈为色谱级, 甲酸为色谱级, 纯度 98%。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	5 mmol/L 乙酸铵溶液 (A) 和乙腈-甲醇溶液(50+50) (B), 梯度洗脱		
	色谱柱	CNW Shell C18(2.1*100mm, 2.6um)		
	流速	0.3 mL/min		
	进样量	部分环进样, 10uL		
	柱温	40°C		
	运行时间	7 min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
		0	68	32
		0.5	68	32
	3	55	45	
	4	55	45	
	4.2	0	100	
	4.8	0	100	
	5	68	32	
	7	68	32	
MS 条件	运行模式	ESI+		
	雾化气流量	1.4L/min		
	去溶剂气流量	5L/min		
	反吹气流量	2L/min		
	去溶剂气温度	500 °C		
	碰撞气流量	0.45 mL/min (5.8e-3Torr)		
	毛细管高压	5.0 kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数如图所示。



2.3 样品前处理

样品前处理方法：具体参考《GB5009.22-2016 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》。

3 结果

3.1 线性和定量限

用初始流动相稀释得到一系列浓度的黄曲霉 B 族和 G 族毒素混标 (B₁ 和 B₂ 标准曲线浓度均为 0.1、0.2、0.5、1、2、5、8、10 ng/mL, G₁ 标准曲线浓度为 0.03、0.06、0.15、0.3、0.6、1.5、2.4、3 ng/mL, G₂ 标准曲线浓度为 0.03、0.06、0.15、0.3、0.6、1.5、2.4、3 ng/mL), 按照上述方法进行, 以各目标物的定量离子色谱峰面积 (Y) 为纵坐标, 目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标, 权重系数为 1/x, 采用外标法拟合后的标准曲线如下图 1-图 4 所示, 可以看出, 各化合物线性良好, 相关系数均大于 0.999。方法定量限的色谱图如图 5 所示, 各化合物的信噪比均大于 30, 满足《GB5009.22-2016 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》定量需求。

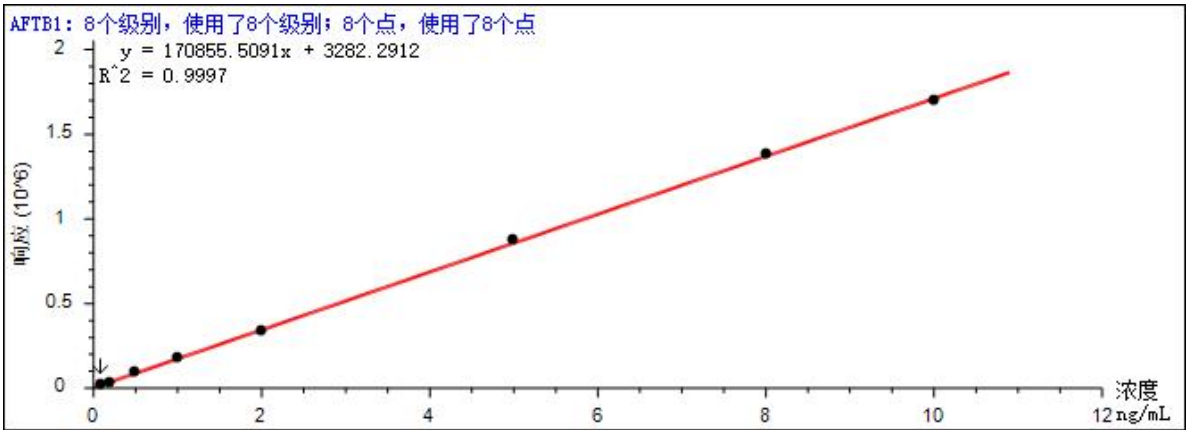


图1 黄曲霉毒素 B₁ 标准曲线

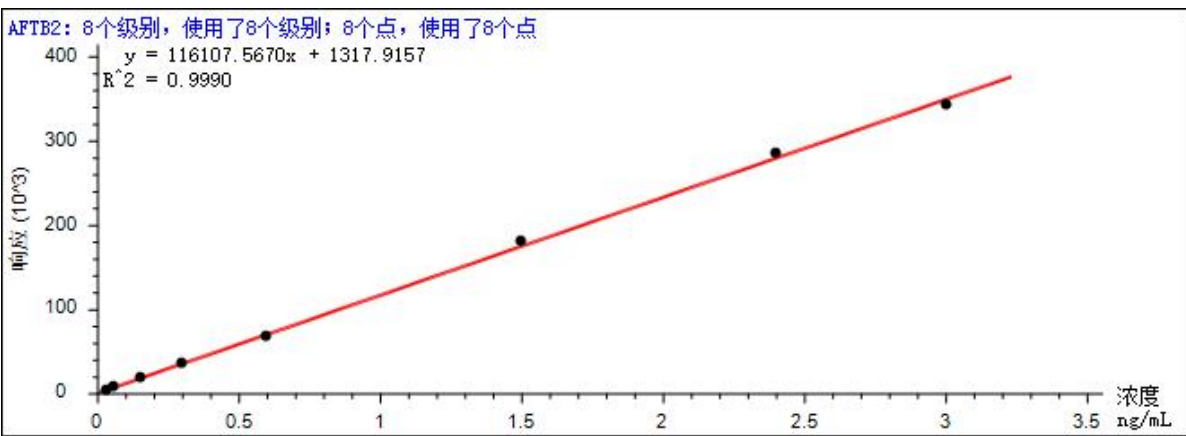


图2 黄曲霉毒素 B₂ 标准曲线

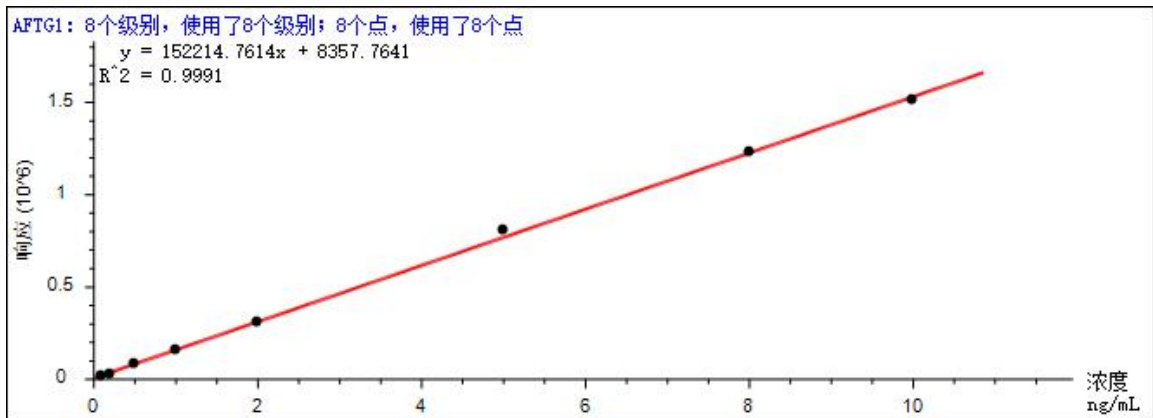


图3 黄曲霉毒素 G₁ 标准曲线

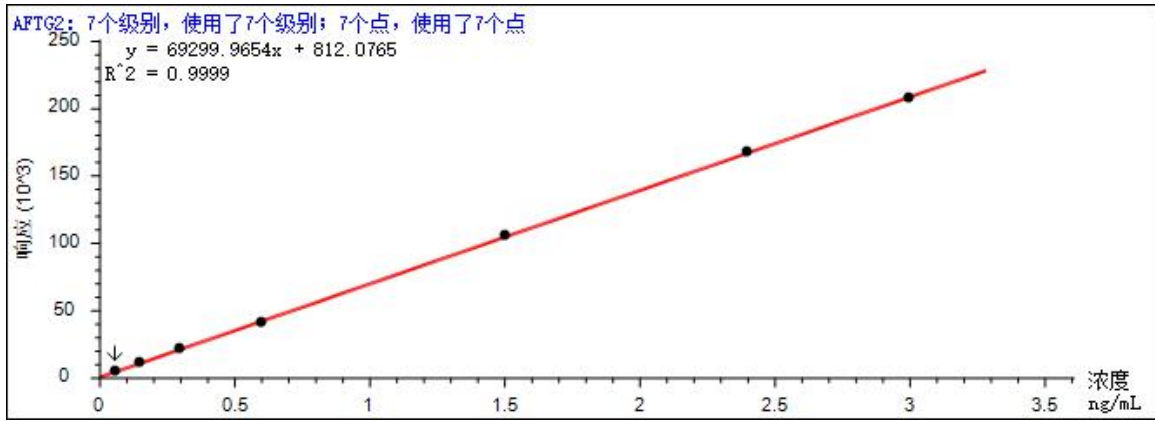


图4 黄曲霉毒素 G₂ 标准曲线

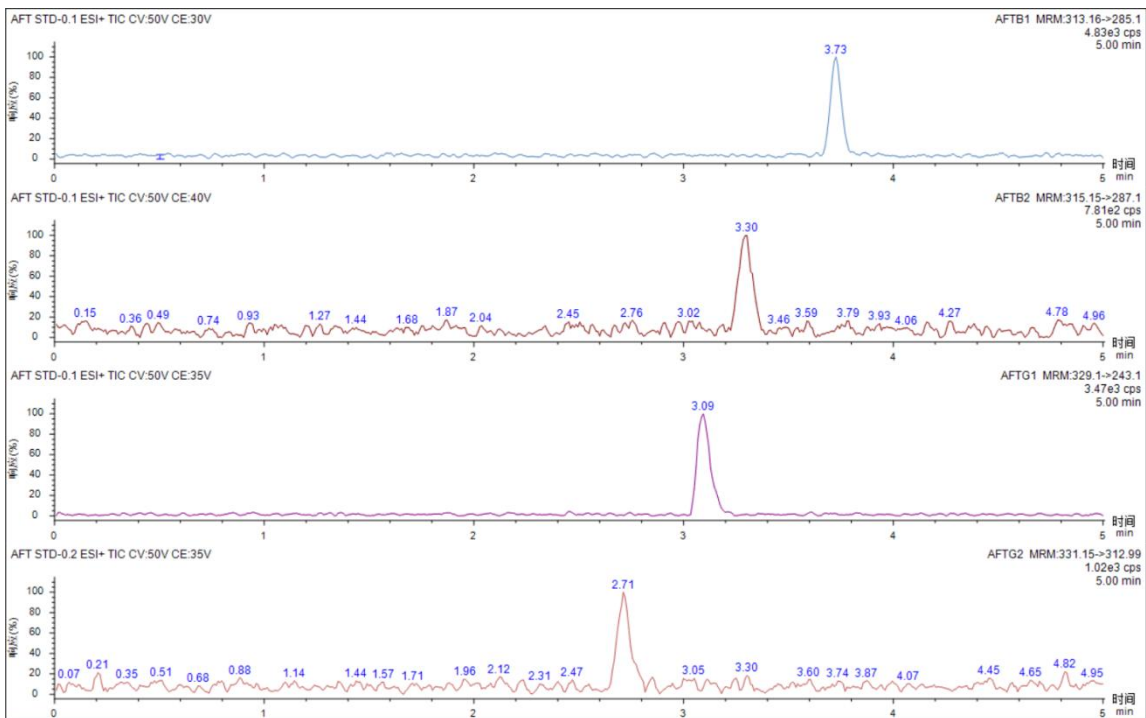


图5 黄曲霉毒素 B 族和 G 族定量限的色谱图(AFT B₁ : 0.1 ng/mL; AFT B₂ : 0.03 ng/mL; AFT G₁ : 0.1 mg/mL; AFT G₂ : 0.06 mg/mL)

3.2 重复性

用 1 ng/mL 混标溶液, 连续进样 6 次, 考察保留时间和响应的重复性, 结果如下所示。

	样品信息			AFTB1			AFTB2			AFTG1			AFTG2		
	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度
1	精密度-1	2020-11-11 11:59	黄曲霉毒素	3.67	222072.20	1.28	3.24	43686.21	0.37	3.06	198955.20	1.25	2.65	24364.16	0.34
2	精密度-2	2020-11-11 12:06	黄曲霉毒素	3.69	213765.30	1.23	3.26	42323.99	0.35	3.07	195636.40	1.23	2.65	25181.61	0.35
3	精密度-3	2020-11-11 12:14	黄曲霉毒素	3.67	219844.30	1.27	3.24	47620.57	0.40	3.06	197324.60	1.24	2.65	25824.81	0.36
4	精密度-4	2020-11-11 12:21	黄曲霉毒素	3.70	207888.00	1.20	3.27	45348.96	0.38	3.08	197760.40	1.25	2.67	26207.68	0.37
5	精密度-5	2020-11-11 12:29	黄曲霉毒素	3.71	210681.80	1.21	3.28	40482.00	0.34	3.09	191522.80	1.21	2.68	24943.90	0.35
6	精密度-6	2020-11-11 12:43	黄曲霉毒素	3.71	183487.00	1.06	3.27	37651.10	0.31	3.08	168105.50	1.05	2.67	23111.83	0.32
Min				3.67	183487.00	1.06	3.24	37651.10	0.31	3.06	168105.50	1.05	2.65	23111.83	0.32
Max				3.71	222072.20	1.28	3.28	47620.57	0.40	3.09	198955.20	1.25	2.68	26207.68	0.37
AVG				3.69	209623.10	1.21	3.26	42852.14	0.36	3.07	191550.80	1.21	2.66	24939.00	0.35
SD				0.02	13884.06	0.08	0.01	3538.78	0.03	0.01	11773.66	0.08	0.01	1106.53	0.02
▶ RSD				0.43	6.62	6.72	0.45	8.26	8.50	0.34	6.15	6.41	0.43	4.44	4.57
IDL				0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

可知所有化合物的保留时间和峰面积的精密度较好。

3.3 回收率

空白薏米基质中加入黄曲霉毒素混标，平行三份，参考国标前处理后，AFTB₁、B₂、G₁、G₂ 浓度分别为 1 ng/mL、0.3 ng/mL、1 ng/mL、0.3 ng/mL，进样分析，结果如下所示。

	样品信息			AFTB1	AFTB2	AFTG1	AFTG2
	数据文件	采集时间	定量方法	回收率	回收率	回收率	回收率
1	薏米-R-1	2020-11-10 20:59	黄曲霉毒素	62.04	62.92	57.34	67.10
2	薏米-R-2	2020-11-10 21:07	黄曲霉毒素	75.94	82.05	77.01	78.23
3	薏米-R-3	2020-11-10 21:14	黄曲霉毒素	76.16	80.52	73.88	81.92
Min				62.04	62.92	57.34	67.10
Max				76.16	82.05	77.01	81.92
▶ AVG				71.38	75.16	69.41	75.75
SD				8.09	10.63	10.57	7.72
RSD				11.34	14.14	15.23	10.18
IDL				0.79	0.30	1.06	0.21

可以看出，各化合物的回收率均在 65-80 %之间，方法稳定性良好。

4 结论

薏米样品提取后，经免疫亲和柱等前处理过程，使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度和回收率等，结果表明：4 种黄曲霉毒素在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.999；方法精密度在 8.5 %以内，回收率均在 65-80%以内。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对薏米中黄曲霉毒素（B 族和 G 族）残留进行灵敏、准确的定量检测。

三、LC-MS/MS 法测定水果中的展青霉毒素

参考标准：《GB 5009.185-2016》

1 前言

展青霉素又称棒曲霉毒素（Patulin，简称 PAT），是一种内酯类化合物。展青霉素为无色晶体，在酸性环境中稳定，但在碱性溶液中生物活性会受到破坏。易溶于水、氯仿、丙酮、乙醇及乙酸乙酯，微溶于乙醚和苯，不溶于石油醚。由于展青霉素易溶于水并且在酸性介质中很稳定，在果蔬加工过程中难以清除，往往导致在水果制品中的残留量很大。展青霉素在霉烂的杏、李、桃、梨、香蕉、菠萝、青梅、蜜瓜、番茄、樱桃、辣椒、葡萄、柿子等食品中均有发现，但苹果、梨、葡萄是扩展青霉常见的宿主，当腐烂果实进入加工环节，会将展青霉素带入果汁、果酒等制品中。目前，各国及地区已制定相关限量标准，限定水果及其相关制品中的展青霉素含量。欧盟、美国食品与药物管理局 FDA 规定，果汁产品中展青霉素的最大限量为 50 μ g/kg；世界卫生组织（WHO）规定，苹果汁中展青霉素的最高限量标准为 50 μ g/kg；我国《食品安全国家标准食品中真菌毒素限量》（GB 2761-2017）标准规定，苹果、山楂制品中展青霉素的限量标准为 50 μ g/kg。因此，本文参考此标准规定，建立了使用谱育科技的超高效液相色谱—三重四极杆串联质谱仪测定果汁中展青霉毒素快速且高灵敏度的检测方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品：展青霉素 PAT 标准品、同位素 $^{13}\text{C}_7$ -PAT 内标来自浙江省疾病预防控制中心，于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

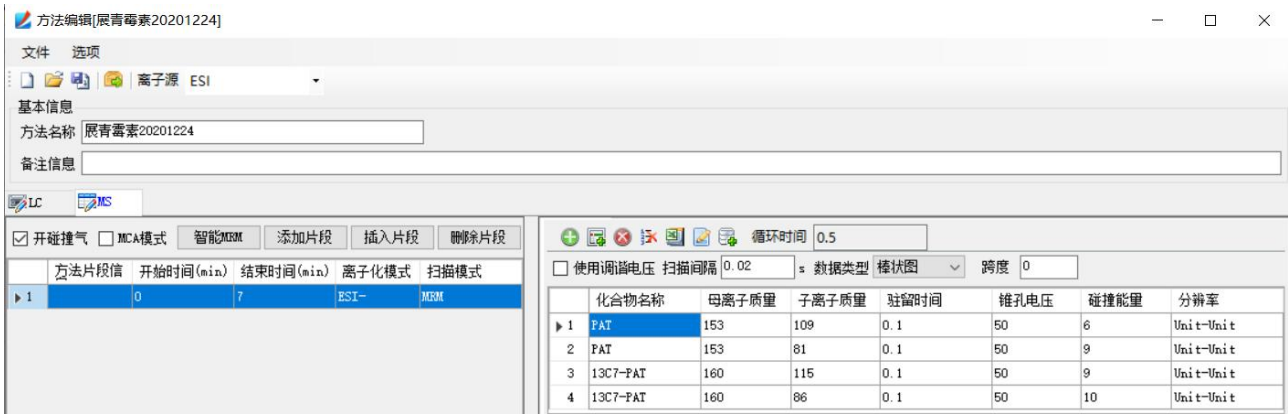
试剂：乙腈、甲酸和水为色谱级；甲酸为 LC-MS 级，纯度为 98%。



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	水 (A) 和乙腈 (B)，梯度洗脱		
	流速	0.3 mL/min		
	柱温	40°C		
	色谱柱	CNW C18 2.1*100mm, 1.8 μ m		
	进样量	部分环进样, 10 μ L		
	运行时间	7min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
		0	95	5
1.5		95	5	
3		40	60	
3.1		5	95	
4		5	95	
4.1		95	5	
7	95	5		
MS 条件	运行模式	ESI-		
	雾化气流量	1.5L/min		
	去溶剂气流量	5.5L/min		
	反吹气流量	1.1L/min		
	去溶剂气温度	300°C		
	碰撞气流量	0.6mL/min (6.68e-3Torr)		
	毛细管高压	-4.2kV		

监测模式为多反应监测(MRM)，各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。为提高检测灵敏度，可根据保留时间分段监测各化合物。



2.3 样品前处理

样品前处理方法：具体参考《GB 5009.185-2016 食品安全国家标准 食品中展青霉素的测定》。

3 结果

3.1 线性和检出限

用 0.2%甲酸水溶液稀释得到一系列浓度的展青霉素标曲线 (1ng/mL、2ng/mL、5ng/mL、10ng/mL、20ng/mL、50ng/ml、100ng/ml),同位素内标为 50ng/mL 按照上述方法进样，以各目标物的定量离子色谱峰面积与内标的定量离子色谱峰面积之比 (Y)，目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标，权重系数无，采用内标法拟合后的标准曲线如下图 1 所示。GB 检出限定量离子色谱图如图 2 配置 5ng/ml 标准溶液进样。

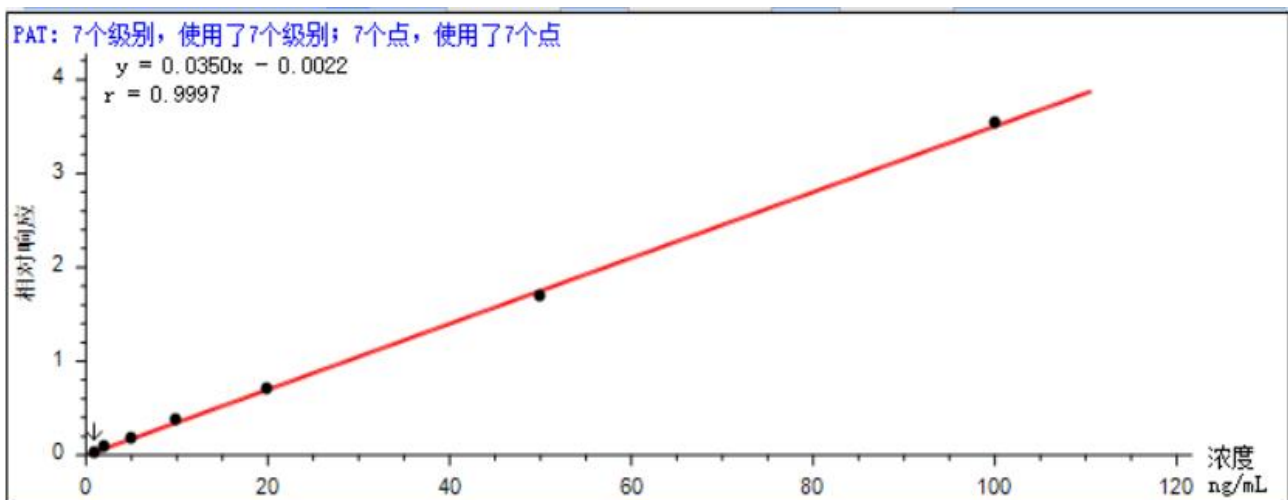


图 1 PAT 的标准曲线

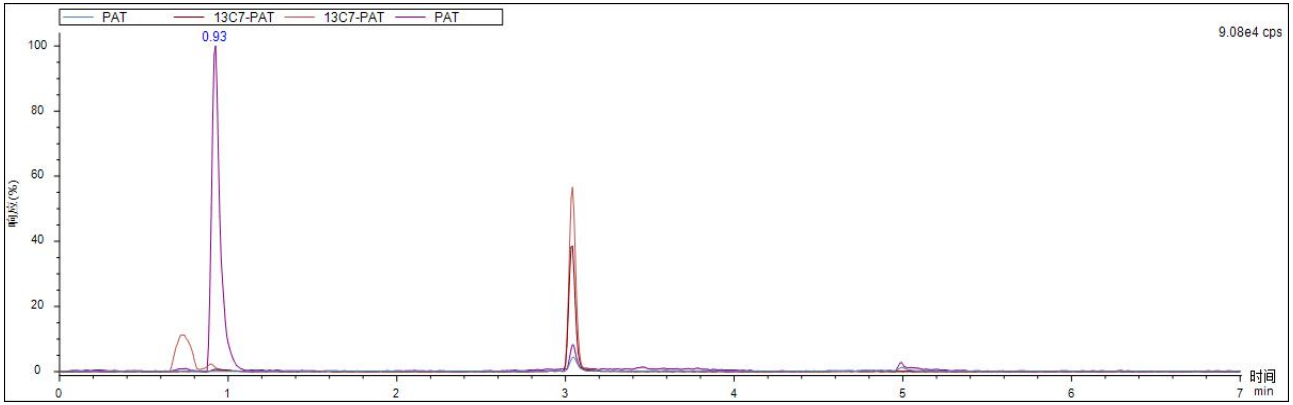


图2 展青霉素定量限的色谱图（5ng/ml,其中内标为 50ng/ml）

3.2 重复性

2ng/mL、100ng/mL，分别连续进样 6 次；某水果泥基质高浓度质控样本平行浓度两次，各重复进样 3 次，考察保留时间和响应的重复性，结果如下所示。

低浓度精密度：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0 和 3.83%-4.75%

	样品信息				PAT					13C7-PAT		
	!	▼	数据文件	定量方法	保留时间	响应	内标响应	相对响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度
1		▼	ZQ-2ng-11	展青霉素20201225-标曲	3.06	24647.50	317803.20	0.08	2.29	3.05	317803.20	50.00
2		▼	ZQ-2ng-12	展青霉素20201225-标曲	3.06	25254.02	338755.20	0.07	2.20	3.05	338755.20	50.00
3		▼	ZQ-2ng-13	展青霉素20201225-标曲	3.06	23373.08	337002.50	0.07	2.06	3.05	337002.50	50.00
4		▼	ZQ-2ng-14	展青霉素20201225-标曲	3.06	23930.15	333063.80	0.07	2.13	3.05	333063.80	50.00
5		▼	ZQ-2ng-15	展青霉素20201225-标曲	3.06	24701.59	337472.60	0.07	2.17	3.05	337472.60	50.00
6		▼	ZQ-2ng-16	展青霉素20201225-标曲	3.06	26046.29	367356.30	0.07	2.10	3.05	367356.30	50.00
Min					3.06	23373.08	317803.20	0.07	2.06	3.05	317803.20	50.00
Max					3.06	26046.29	367356.30	0.08	2.29	3.05	367356.30	50.00
AVG					3.06	24658.77	338575.60	0.07	2.16	3.05	338575.60	50.00
SD					0.00	945.03	16086.80	0.00	0.08	0.00	16086.80	0.00
▶ RSD					0.00	3.83	4.75	3.98	3.84	0.00	4.75	0.00
IDL					0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

高浓度精密度：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.14%-0.23%和 3.93%-4.18%

	样品信息				PAT					13C7-PAT		
	!	▼	数据文件	定量方法	保留时间	响应	内标响应	相对响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度
1		▼	ZQ-100ng-1	展青霉素20201225-标曲	3.08	969172.80	278267.60	3.48	99.46	3.08	278267.60	50.00
2		▼	ZQ-100ng-2	展青霉素20201225-标曲	3.08	975676.60	279018.00	3.50	99.86	3.07	279018.00	50.00
3		▼	ZQ-100ng-3	展青霉素20201225-标曲	3.08	941391.90	276614.50	3.40	97.19	3.08	276614.50	50.00
4		▼	ZQ-100ng-4	展青霉素20201225-标曲	3.08	872760.50	249279.80	3.50	99.98	3.08	249279.80	50.00
5		▼	ZQ-100ng-5	展青霉素20201225-标曲	3.08	956302.60	273426.00	3.50	99.88	3.08	273426.00	50.00
6		▼	ZQ-100ng-6	展青霉素20201225-标曲	3.07	948688.30	276571.00	3.43	97.95	3.07	276571.00	50.00
Min					3.07	872760.50	249279.80	3.40	97.19	3.07	249279.80	50.00
Max					3.08	975676.60	279018.00	3.50	99.98	3.08	279018.00	50.00
AVG					3.08	943998.80	272196.20	3.47	99.05	3.07	272196.20	50.00
SD					0.01	37127.56	11390.63	0.04	1.19	0.00	11390.63	0.00
▶ RSD					0.23	3.93	4.18	1.20	1.20	0.14	4.18	0.00
IDL					0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

果汁基质质控高浓度样本精密度:保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.14%-0.20%和

2.42%-3.80%

	样品信息				PAT					13C7-PAT			
	!	▼	☐	数据文件	定量方法	保留时间	响应	内标响应	相对响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度
1		▼	☐	S7-1-A	展青霉素20201225-标曲	3.10	56653.20	21232.89	2.67	76.21	3.09	21232.89	50.00
2		▼	☐	S7-1-B	展青霉素20201225-标曲	3.10	53421.64	20012.38	2.67	76.25	3.09	20012.38	50.00
3		▼	☐	S7-1-C	展青霉素20201225-标曲	3.09	55988.56	21408.56	2.62	74.70	3.08	21408.56	50.00
4		▼	☐	S7-2-A	展青霉素20201225-标曲	3.09	54048.55	21355.47	2.53	72.29	3.08	21355.47	50.00
5		▼	☐	S7-2-B	展青霉素20201225-标曲	3.09	53611.88	20230.70	2.65	75.69	3.08	20230.70	50.00
6		▼	☐	S7-2-C	展青霉素20201225-标曲	3.08	54485.85	19611.26	2.78	79.35	3.08	19611.26	50.00
Min						3.08	53421.64	19611.26	2.53	72.29	3.08	19611.26	50.00
Max						3.10	56653.20	21408.56	2.78	79.35	3.09	21408.56	50.00
AVG						3.09	54701.61	20641.88	2.65	75.75	3.09	20641.88	50.00
SD						0.01	1323.92	784.07	0.08	2.30	0.00	784.07	0.00
▶ RSD						0.20	2.42	3.80	3.04	3.04	0.14	3.80	0.00
IDL						0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

可知所有化合物的保留时间和峰面积均在 4.75%以下，精密度较好。

4 结论

水果样品经提取、净化等前处理过程，使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度、灵敏度等，结果表明：展青霉素在检测范围内线性良好，相关系数大于 0.999；方法精密度在 4.09%以内，灵敏度符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对水果中展青霉素进行灵敏、准确的定量检测。

四、LC-MS/MS 法测定果汁中的黄曲霉毒素的含量

参考标准：《GB 5009.22-2016》

1 前言

黄曲霉毒素(AFT)是一类化学结构类似的化合物，均为二氢呋喃香豆素的衍生物。黄曲霉毒素是主要由黄曲霉 (*aspergillus flavus*)寄生曲霉 (*a.parasiticus*)产生的次生代谢产物，在湿热地区食品和饲料中出现黄曲霉毒素的机率最高。黄曲霉毒素是目前最强的化学致癌物质，主要是诱发肝癌的发生，致癌作用比已知的化学致癌物都强。黄曲霉毒素被公认为致肝癌物质，黄曲霉毒素的毒性很大，是目前已发现霉菌中毒性最大的一种。目前发现的 18 种黄曲霉菌毒素中，AFTB1 毒性最强，AFTM1、AFTG1 次之，AFTB2、AFTG2、AFTM2 毒性较弱。AFTB1 的毒性是砒霜的 68 倍，诱发肝癌的能力比二甲基亚硝胺大 75 倍。其中 AFTB1 致癌性最强。长期食用含有低水平黄曲霉毒素食物的人，其肝脏将受到损害。故在食品监测中以黄曲霉毒素为污染指标。因此，本文参考《GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》，建立了使用谱育科技的超高效液相色谱—三重四极杆串联质谱仪测定果汁中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的快速且高灵敏度的检测方法。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器（含冷却功能）、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品：黄曲霉毒素来自浙江省疾病预防控制中心，于-20℃冰箱保存。试剂：乙腈、甲醇、和水为色谱级；曲拉通 100、吐温 20 为分析纯



2.2 液相和质谱条件

LC 条件	流动相	水 (A) 和乙腈: 甲醇=1: 1 (B), 梯度洗脱			
	流速	0.3 mL/min			
	柱温	40°C			
	色谱柱	CNW C18 2.1*100mm, 1.8µm			
	进样量	10 µL			
	运行时间	7min			
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)	
		0	80	20	
		0.5	80	20	
3		30	70		
4		30	70		
4.2		0	100		
4.8		0	100		
7		80	20		
MS 条件	运行模式	正离子模式			
	雾化气流量	1.5L/min			
	去溶剂气流量	8L/min			
	反吹气流量	1.1L/min			
	去溶剂气温度	480°C			
	碰撞气流量	0.6mL/min (6.68e-3Torr)			
	毛细管高压	4.3kV			

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。为提高检测灵敏度, 可根据保留时间分段监测各化合物。



2.3 样品前处理

样品前处理方法：具体参考《GB 5009.22-2016 食品安全国家标准 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定》。

3 结果

3.1 线性和检出限

用 20%乙腈稀释得到一系列浓度的黄曲霉素标准品 (B 族：0.025ng/mL、0.05ng/mL、0.1ng/mL、0.25ng/mL、0.5ng/mL、1ng/mL、2ng/mL、3ng/mL；G 族：0.0075ng/mL、0.015ng/mL、0.03ng/mL、0.075ng/mL、0.15ng/mL、0.3ng/mL、0.6ng/mL、0.9ng/mL),按照上述方法进样，以各目标物的定量离子色谱峰面积 (Y)，目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标，权重系数为无，采用外法拟合后的标准曲线如下图 1-4 所示。标准曲线最低点定量离子色谱图如图 5 所示，且本实验的检出限完全符合《GB 2761-2017 食品安全国家标准食品中真菌毒素限量的要求》。

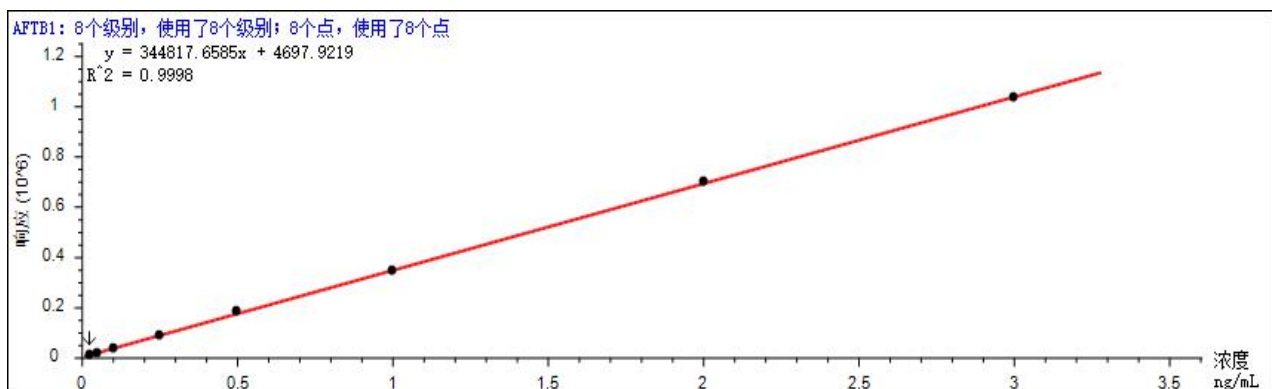


图 1 AFB1 的标准曲线

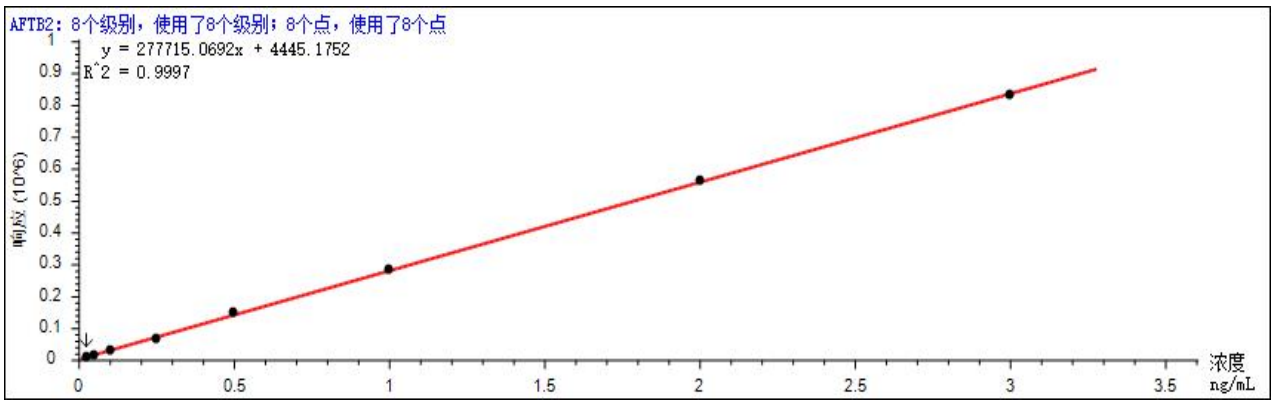


图 2 AFB2 的标准曲线

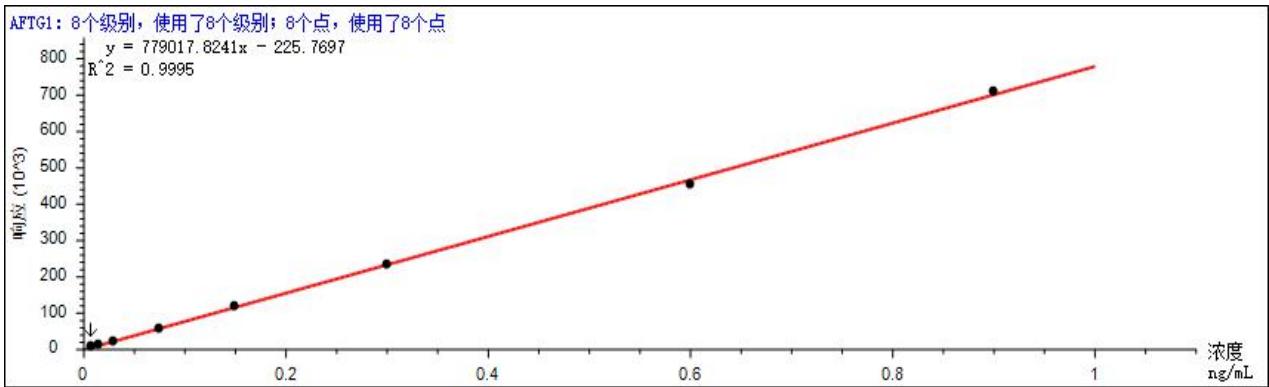


图 3 AFG1 的标准曲线

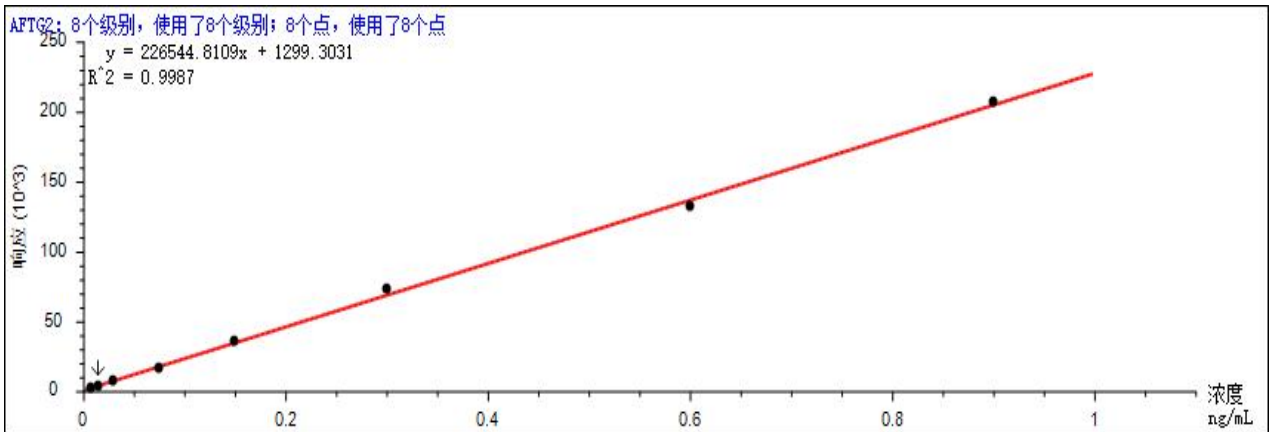


图 4 AFG2 的标准曲线

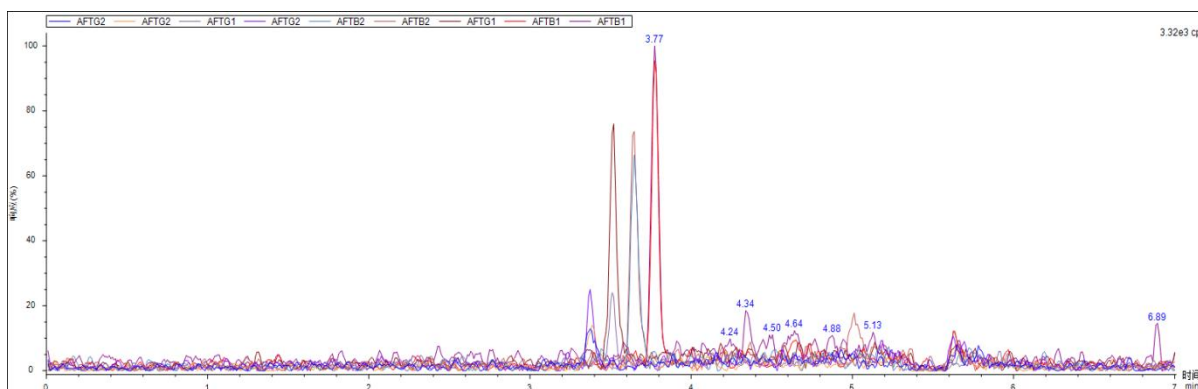


图 5 标准曲线最低点定量离子色谱图

3.2 重复性

分别配置 0.1 ng/mL 和 3 ng/mL 浓度的 B 族，0.03ng/mL 和 0.9ng/和对照品，分别连续进样 6 次，考察保留时间和响应的重复性，结果如下所示。

0.1 ng/mL B 族和 0.03 ng/mL G 族重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0.13%-0.22% 和 3.60%-4.70%。

	样品信息		AFTB1			AFTB2			AFTG1			AFTG2		
	数据文件	定量方法	保留时间	响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度
1	STD3-1	黄曲霉素标曲-2020...	3.76	33307.35	0.08	3.64	25074.23	0.07	3.51	22054.49	0.03	3.36	5922.42	0.02
2	STD3-2	黄曲霉素标曲-2020...	3.77	30614.28	0.08	3.65	26464.61	0.08	3.52	20249.34	0.03	3.37	5834.96	0.02
3	STD3-3	黄曲霉素标曲-2020...	3.77	34113.82	0.09	3.65	24925.86	0.07	3.51	21068.69	0.03	3.38	5597.69	0.02
4	STD3-4	黄曲霉素标曲-2020...	3.77	33629.10	0.08	3.65	24701.96	0.07	3.52	22186.80	0.03	3.38	5416.85	0.02
5	STD3-5	黄曲霉素标曲-2020...	3.77	32323.66	0.08	3.65	25429.71	0.08	3.52	21141.12	0.03	3.37	5347.83	0.02
6	STD3-6	黄曲霉素标曲-2020...	3.76	33330.35	0.08	3.64	26988.90	0.08	3.51	20987.21	0.03	3.37	5297.73	0.02
Min			3.76	30614.28	0.08	3.64	24701.96	0.07	3.51	20249.34	0.03	3.36	5297.73	0.02
Max			3.77	34113.82	0.09	3.65	26988.90	0.08	3.52	22186.80	0.03	3.38	5922.42	0.02
AVG			3.77	32886.43	0.08	3.64	25597.54	0.08	3.51	21281.28	0.03	3.38	5569.58	0.02
SD			0.01	1257.91	0.00	0.01	921.19	0.00	0.01	725.82	0.00	0.01	261.58	0.00
▶ RSD			0.13	3.83	4.45	0.14	3.60	4.34	0.15	3.41	3.36	0.22	4.70	5.96
IDL			0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

3ng/mL B 族和 0.9ng/ mL G 族重复性：保留时间和响应的 RSD 值分别在 0-0.15% 和 2.21%-4.88%。

	样品信息		AFTB1			AFTB2			AFTG1			AFTG2		
	数据文件	定量方法	保留时间	响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度	保留时间	响应	计算浓度
1	STD8-1	黄曲霉素标曲-20201230	3.77	924201.90	2.67	3.65	768947.60	2.75	3.52	633861.10	0.81	3.37	180562.50	0.79
2	STD8-2	黄曲霉素标曲-20201230	3.77	960654.00	2.77	3.65	784390.60	2.81	3.51	679484.60	0.87	3.37	179845.50	0.79
3	STD8-3	黄曲霉素标曲-20201230	3.77	960279.30	2.77	3.65	782075.90	2.80	3.52	633321.80	0.81	3.37	170332.70	0.75
4	STD8-4	黄曲霉素标曲-20201230	3.77	931304.40	2.69	3.65	718041.60	2.57	3.52	587592.40	0.75	3.37	165995.00	0.73
5	STD8-5	黄曲霉素标曲-20201230	3.77	980415.80	2.83	3.65	786916.20	2.82	3.51	656114.90	0.84	3.37	176918.80	0.77
6	STD8-6	黄曲霉素标曲-20201230	3.77	942738.20	2.72	3.64	721274.10	2.58	3.51	623541.80	0.80	3.37	160305.10	0.70
Min			3.77	924201.90	2.67	3.64	718041.60	2.57	3.51	587592.40	0.75	3.37	160305.10	0.70
Max			3.77	980415.80	2.83	3.65	786916.20	2.82	3.52	679484.60	0.87	3.37	180562.50	0.79
AVG			3.77	949932.30	2.74	3.64	760274.40	2.72	3.51	635652.80	0.82	3.37	172326.60	0.75
SD			0.00	21033.64	0.06	0.00	32082.81	0.12	0.01	31000.14	0.04	0.00	8173.54	0.04
▶ RSD			0.00	2.21	2.23	0.11	4.22	4.24	0.15	4.88	4.87	0.00	4.74	4.78
IDL			0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

可知所有化合物的保留时间和峰面积均在 4.88%以下，精密度较好。

4 结论

果汁样品经提取、净化等前处理过程，使用 LC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度、灵敏度等，结果表明：黄曲霉素在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.999；方法精密度在 4.88%以内，灵敏度符合国家标准要求。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统，可以对蔬菜水果中黄曲霉毒素进行灵敏、准确的定量检测。