

全新一代TSQ Fortis Plus液质三重四极杆测定动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物的残留量

崔舒云、孙银、田雪飞、蔡悠悠、郭藤、徐牛生
赛默飞世尔科技（中国）有限公司

关键词

TSQ Plus、四环素类、磺胺类、喹诺酮类、动物源性食品、GB 31658.17-2021

摘要

本文用Thermo Scientific™ TSQ Fortis™ Plus液相色谱串联三重四极杆质谱平台，建立了快速检测动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的方法，选用常规的C18色谱柱（Thermo Scientific™ Hypersil GOLD™ 100x2.1mm, 1.9μm），以0.25%甲酸水溶液为水相，以0.25%甲酸甲醇为有机相，流速为0.3mL/min，柱温为40℃，36种化合物在0.5/1/2~100 ng/mL浓度范围内线性关系良好 $R^2>0.99$ ；灵敏度均满足最新国家标准（GB 31658.17-2021）的检测要求，专属性强，稳定性好，适用于动物源性食品中36种四环素类、磺胺类和喹诺酮类化合物的定量分析与检测。

引言

2021年9月，农业农村部、国家卫生健康委员会、国家市场监督管理总局联合发布GB 31658.17-2021《动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，该标准采用同一方法在9 min内完成4种四环素类、19种磺胺类和13种喹诺酮类，共计36个目标物的检测。其中，有机流动相采用的是甲醇：乙腈（2:8，含0.1%甲酸，v/v）溶液，这种含甲醇和乙腈混合有机相在标准中并不常见，且存在5组同分异构体，母离子相同，有1对或2对子离子均相同，分别是：四环素—多西环素、恶喹酸—氟甲喹、磺胺二甲异嘧啶—磺胺二甲嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶—磺胺甲氧哒嗪—磺胺对甲氧嘧啶和磺胺邻二甲氧嘧啶—磺胺间二甲氧嘧啶，在分析检测时需要特别注意通过调整色谱条件进行保留时间的区别，避免误判。相较于之前针对单独大类的检测方法来说，新标准的最大特色在于合并常见三大类兽残检测药物，大大简化了多兽残分析流程，提高了分析效率，是多兽残检测标准的突破性进展。同时在食品安全监督抽检实施细则（2022版）中将GB 31658.17正式列入其中，并明确规定了检测方法中含GB 31658.17将只采用该标准进行检测。

因此，本文建立了基于Thermo Scientific TSQ Fortis Plus三重四极杆串联质谱仪针对4种四环素类、19种磺胺类和13种喹诺酮类物质的检测方法。所有化合物在线性范围内均呈良好线性关系 $R^2>0.99$ ，36种兽药均能够满足定量限的需求。本方法灵敏度高、专属性强、稳定性好，可以满足标准方法的检测要求，可为牛、羊、猪和鸡动物性食品中多兽残的全方位检测提供借鉴。

1. 实验部分

1.1 仪器与试剂

Thermo Scientific Vanquish 超高效液相色谱仪；

Thermo Scientific TSQ Fortis Plus三重四极杆质谱仪，配ESI源；

Hypersil GOLD C18色谱柱，100x2.1mm, 1.9μm，货号：25002-102130；

四环素类、磺胺类和喹诺酮类标准品溶液（纯度>99.9%，浓度100 μg/mL，阿尔塔公司）；

甲醇（质谱纯，Thermo Fisher）；乙腈（质谱纯，Thermo Fisher）；

水（质谱纯，Thermo Fisher）；甲酸（质谱纯，Thermo Fisher）。

1.2 化合物信息及溶液配制

1.2.1 36种四环素类、磺胺类和喹诺酮类化合物信息（表1）

表1 36种四环素类、磺胺类和喹诺酮类化合物信息

序号	中文名称	英文名称	分子量	CSA号
1	四环素	Tetracycline	445.16	60-54-8
2	多西环素	Doxycycline	445.16	564-25-0
3	金霉素	Chlortetracycline	479.12	57-62-5
4	土霉素	Oxytetracycline	461.16	79-57-2
5	乙酰磺胺	Sulfacetamide	215.05	144-80-9
6	磺胺吡啶	Sulfapyridine	250.06	144-83-2
7	磺胺嘧啶	Sulfadiazine	251.06	68-35-9
8	磺胺甲噁唑	Sulfamethoxazole	254.06	723-46-6
9	磺胺噻唑	Sulfathiazole	256.02	72-14-0
10	磺胺甲嘧啶	Sulfamerazine	265.08	127-79-7
11	磺胺二甲异噁唑	Sulfisoxazole	268.08	127-69-5
12	磺胺甲噻二唑	Sulfamethizole	271.03	144-82-1
13	苯甲酰磺胺	Sulfabenzamide	277.06	127-71-9
14	磺胺二甲异嘧啶	Sulfisomidine	279.09	515-64-0
15	磺胺二甲嘧啶	Sulfamethazine	279.09	57-68-1
16	磺胺间甲氧嘧啶	Sulfamonomethoxine	281.07	1220-83-3
17	磺胺甲氧哒嗪	Sulfamethoxyipyridazine	281.07	80-35-3
18	磺胺对甲氧嘧啶	Sulfamer	281.07	651-06-9
19	磺胺氯哒嗪	Sulfachlorpyridazine	285.02	80-32-0
20	磺胺邻二甲氧嘧啶	Sulfadoxine	311.08	2447-57-6
21	磺胺间二甲氧嘧啶	Sulfadimethoxine	311.08	122-11-2
22	磺胺苯吡唑	Sulfaphenazole	315.09	526-08-9
23	酞磺胺噻唑	Phthalylsulfathiazole	404.04	85-73-4
24	噁喹酸	Oxolinic acid	262.07	14698-29-4
25	氟甲喹	Flumequine	262.09	42835-25-6
26	诺氟沙星	Norfloxacin	320.14	70458-96-7
27	依诺沙星	Enoxacin	321.14	74011-58-8
28	环丙沙星	Ciprofloxacin	332.14	85721-33-1
29	培氟沙星	Pefloxacin	334.16	70458-92-3
30	洛美沙星	Lomefloxacin	352.15	98079-51-7
31	达氟沙星	Danofloxacin	358.16	112398-08-0
32	恩诺沙星	Enrofloxacin	360.17	93106-60-6
33	氧氟沙星	Ofloxacin	362.15	82419-36-1
34	麻保沙星	Marbofloxacin	363.15	115550-35-1
35	沙拉沙星	Sarafloxacin	386.13	98105-99-8
36	二氟沙星	Difloxacin	400.15	98106-17-3

1.2.2 中间液的配置：

精确移取目标物质标准品，配置浓度为10 µg/mL的中间液备用。

1.2.3 系列标准曲线标准品配置：

以5%甲醇水作为稀释剂，稀释成系列标准曲线0.5~100 ng/mL（不同化合物标曲浓度点有所不同）。

1.3 仪器方法:

1.3.1 液相方法:

色谱柱: Hypersil GOLD C18选择性 HPLC 色谱柱, 100x2.1mm, 1.9 μ m;

柱温: 40°C;

进样量: 10 μ L;

流动相: A为水 (含0.25%甲酸), B为甲醇 (含0.25%甲酸), 梯度程序如下:

表2 流动相梯度洗脱程序

时间	A%	B%	流速mL/min
0.00	95	5	0.3
2.00	85	15	0.3
3.00	85	15	0.3
5.00	55	45	0.3
7.00	5	95	0.4
8.50	5	95	0.4
8.60	95	5	0.35
10.00	95	5	0.3

1.3.2 质谱条件:

可加热电喷雾电离源 (HESI), 正离子扫描模式; 扫描方式: SRM; 喷雾电压 (+): 4000V; 离子传输管温度: 325°C; 鞘气压力40arb; 辅助气压力10arb; 离子源温度: 350°C; 碰撞气压力: 2.0 mTorr。

表3 质谱SRM采集信息表

序号	中文名称	英文名称	分子量	CSA号		
1	四环素	445.133	154.05	29.42	114	16.3
			410.217	19.68		
2	多西环素	445.133	154.05	29.42	107	16.3
			321.05	31.71		
3	金霉素	479.217	428.133	18.32	143	0
			153.967	30.21		
			444.133	21.26		
4	土霉素	461.133	462.133	18.32	121	0
			283.05	40.02		
			337.05	30.28		
5	乙酰磺胺	215.029	426.15	19.68	64	0
			443.3	13.31		
6	磺胺吡啶	249.967	107.967	19.28	99	8.2
			155.883	10.07		
7	磺胺嘧啶	250.967	108.05	25.77	94	0
			155.967	16.82		
8	磺胺甲噁唑	253.967	92.05	27.49	92	4.1
			156.05	15.88		
9	磺胺噻唑	255.967	92.05	27.77	87	0
			155.967	16.31		
10	磺胺甲噁唑	265.05	91.967	27.27	143	55.1
			155.967	15.1		
11	磺胺二甲异噁唑	267.981	92.05	29.28	78	0
			155.967	17.32		
			91.883	27.09		
			155.883	13.63		

12	磺胺甲噻二唑	271.076	91.883 155.883	26.64 14.12	137	87.8
13	苯甲酰磺胺	276.967	108.05 155.967	23.33 12.66	79	0
14	磺胺二甲异嘧啶	279.05	124.133 186.05	23.19 17.03	68	12.2
15	磺胺二甲嘧啶	279.05	92.217 185.967	32.07 17.03	68	12.2
16	磺胺间甲氧嘧啶	280.967	92.05 155.967	29.99 17.82	107	10.2
17	磺胺甲氧哒嗪	280.967	92.05 155.967	29.99 17.75	108	10.2
18	磺胺对甲氧嘧啶	280.967	92.05 156.05	30.06 17.82	107	12.2
19	磺胺氯哒嗪	284.967	92.05 155.967	28.49 15.38	130	0
20	磺胺邻二甲氧嘧啶	310.967	92.05 155.967	31.42 19.68	123	14.3
21	磺胺间二甲氧嘧啶	310.967	92.05 155.967	31.42 19.68	124	14.3
22	磺胺苯吡唑	315.05	91.967 158.217	36.79 30.06	130	20.4
23	酞磺胺噻唑	403.967	148.967 256.05	30.56 13.45	132	0
24	噁喹酸	261.967	215.967 244.05	29.99 17.67	101	0
25	氟甲喹	261.967	201.967 244.133	33.57 18.1	100	0
26	诺氟沙星	320.067	233.133 302.133	24.55 19.97	118	20.4
27	依诺沙星	321.067	234.133 303.133	22.9 19.32	117	20.4
28	环丙沙星	332.067	231.067 314.15	37.01 20.61	118	22.4
29	培氟沙星	334.067	290.233 316.233	17.89 20.18	121	18.4
30	洛美沙星	352.176	264.983 308.067	22.79 16.58	122	20.4
31	达氟沙星	358.083	96.05 340.167	25.48 22.54	139	22.4
32	恩诺沙星	360.083	245.133 316.15	27.27 18.96	135	18.4
33	氧氟沙星	362.067	261.067 318.15	27.99 18.96	131	0
34	麻保沙星	363.067	71.967 319.967	24.69 15.38	122	16.3
35	沙拉沙星	386.083	299.15 342.15	27.63 18.46	131	24.5
36	二氟沙星	400.083	299.05 356.15	29.06 19.39	145	20.4

2. 实验结果与讨论

2.1 色谱图

采用上述仪器方法，36种化合物均获得了良好的色谱峰，图1为在猪肉基质中加标36种化合物（2ng/mL）的提取离子流叠加图。对称且尖锐的色谱峰表明待测化合物组分在中低端仪器中均可实现高效的色谱分离效果。

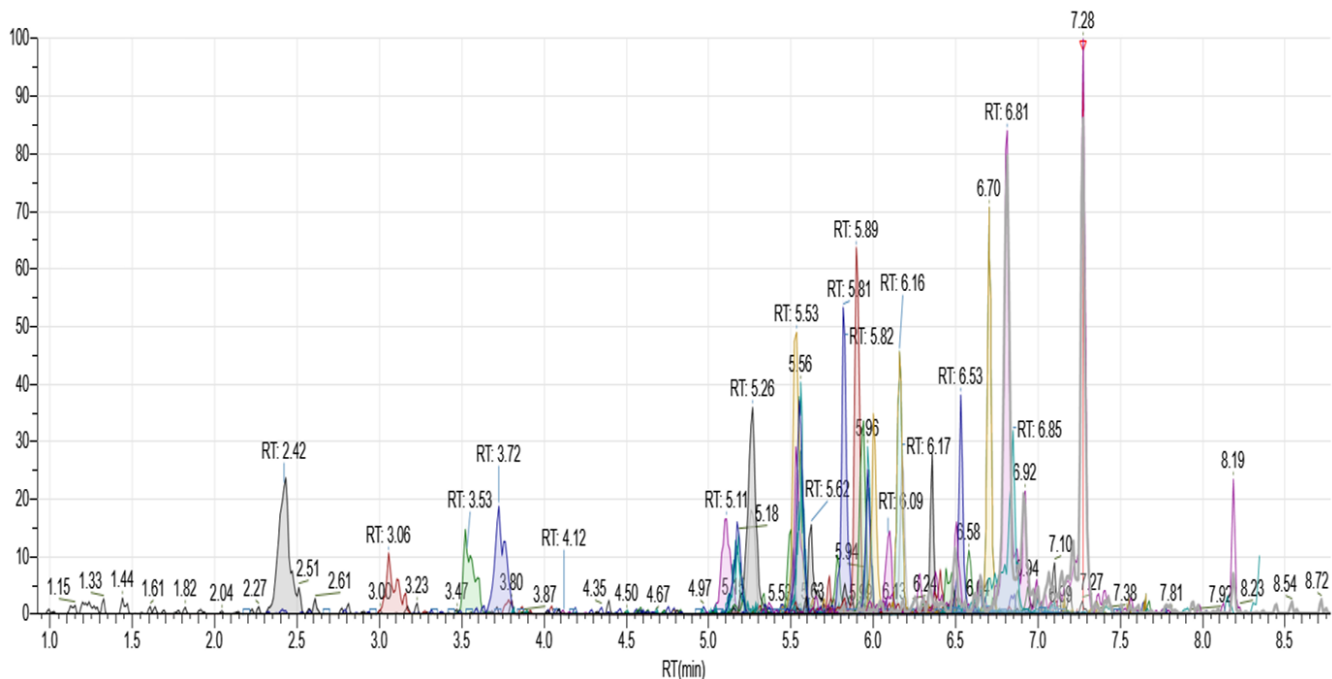


图1 猪肉基质中36种化合物的提取离子流叠加图（2ng/mL）

2.2 线性测试

将高浓度标准品逐级稀释，配制成系列标准曲线，考察仪器线性范围。其线性范围、线性相关系数、LOQ的结果见表4，由表4可知：各化合物在一定浓度范围内均呈良好的线性关系（ $R^2 > 0.99$ ）；部分化合物标准曲线图见图2。

表4 36种化合物线性测试结果

序号	化合物名称	线性范围 /ng/mL	相关系数 (R^2)	LOQ /ng/mL	LOQ 标准要求	LOD 标准要求
1	四环素	2-100	0.9902	≤2	10	2
2	多西环素	2-100	0.9938	≤2	10	2
3	金霉素	2-100	0.9913	≤2	10	2
4	土霉素	2-100	0.9911	≤2	10	2
5	乙酰磺胺	1-100	0.9969	≤2	10	2
6	磺胺吡啶	0.5-100	0.9981	≤2	10	2
7	磺胺嘧啶	1-100	0.9939	≤2	10	2
8	磺胺甲噁唑	0.5-100	0.9926	≤2	10	2
9	磺胺噻唑	0.5-100	0.9972	≤2	10	2
10	磺胺甲噁啶	2-100	0.9916	≤2	10	2
11	磺胺二甲异噁唑	0.5-100	0.9964	≤2	10	2
12	磺胺甲噁二唑	2-100	0.9906	≤2	10	2
13	苯甲酰磺胺	0.2-100	0.9951	≤2	10	2
14	磺胺二甲异噁啶	0.5-100	0.9966	≤2	10	2
15	磺胺二甲噁啶	0.5-100	0.9975	≤2	10	2
16	磺胺间甲氧噁啶	0.5-100	0.9919	≤2	10	2
17	磺胺甲氧哒嗪	0.5-100	0.9935	≤2	10	2
18	磺胺对甲氧噁啶	0.5-100	0.9934	≤2	10	2
19	磺胺氯哒嗪	0.5-100	0.9906	≤2	10	2
20	磺胺邻二甲氧噁啶	0.2-100	0.9925	≤2	10	2

21	磺胺间二甲氧嘧啶	0.5-100	0.9988	≤2	10	2
22	磺胺苯吡唑	0.5-100	0.9911	≤2	10	2
23	酞磺胺噻唑	0.5-100	0.9902	≤2	10	2
24	噁啉酸	0.5-100	0.9919	≤2	10	2
25	氟甲喹	0.5-100	0.9906	≤2	10	2
26	诺氟沙星	1-100	0.9948	≤2	10	2
27	依诺沙星	1-100	0.9944	≤2	10	2
28	环丙沙星	0.5-100	0.9911	≤2	10	2
29	培氟沙星	0.5-100	0.9915	≤2	10	2
30	洛美沙星	0.5-100	0.9964	≤2	10	2
31	达氟沙星	2-100	0.9978	≤2	10	2
32	恩诺沙星	0.5-100	0.9914	≤2	10	2
33	氧氟沙星	0.2-100	0.9909	≤2	10	2
34	麻保沙星	0.5-100	0.9912	≤2	10	2
35	沙拉沙星	0.5-100	0.9909	≤2	10	2
36	二氟沙星	0.5-100	0.9947	≤2	10	2

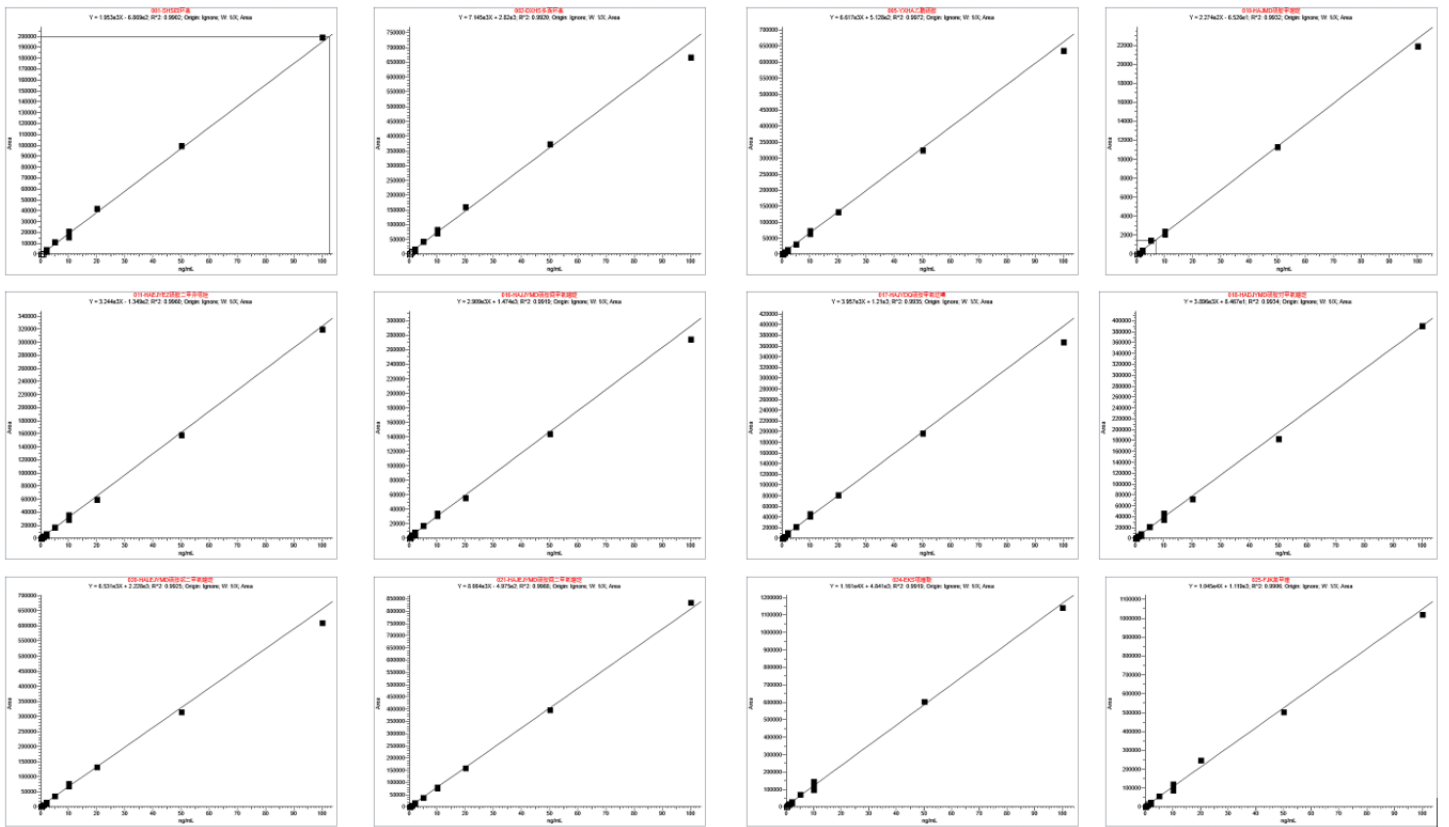


图2 部分化合物标准曲线图

2.3 稳定性测试

采用上述仪器分析方法，36种化合物标准品及猪肉基质加标连续进样6针，考察仪器稳定性，实验结果见表5，猪肉基质加标，10ng/mL的标准溶液连进6针RSD均在5%以内，证明仪器稳定性良好。

表5 36种化合物重现性及猪肉基质加标重现性

序号	化合物名称	基质加标浓度ng/ml	RSD%(n=6)
1	四环素	10	2.93
2	多西环素	10	4.29
3	金霉素	10	3.01
4	土霉素	10	2.24
5	乙酰磺胺	10	4.13
6	磺胺吡啶	10	2.11
7	磺胺嘧啶	10	3.66
8	磺胺甲噁唑	10	4.02
9	磺胺噻唑	10	2.86
10	磺胺甲嘧啶	10	3.97
11	磺胺二甲异噁唑	10	3.43
12	磺胺甲噻二唑	10	2.19
13	苯甲酰磺胺	10	4.25
14	磺胺二甲异嘧啶	10	3.90
15	磺胺二甲嘧啶	10	2.85
16	磺胺间甲氧嘧啶	10	3.91
17	磺胺甲氧哒嗪	10	2.80
18	磺胺对甲氧嘧啶	10	4.55
19	磺胺氯哒嗪	10	3.22
20	磺胺邻二甲氧嘧啶	10	2.94
21	磺胺间二甲氧嘧啶	10	3.38
22	磺胺苯吡唑	10	3.70
23	酞磺胺噻唑	10	4.71
24	噁喹酸	10	3.25
25	氟甲喹	10	2.73
26	诺氟沙星	10	4.17
27	依诺沙星	10	3.82
28	环丙沙星	10	4.30
29	培氟沙星	10	2.91
30	洛美沙星	10	3.25
31	达氟沙星	10	4.24
32	恩诺沙星	10	4.75
33	氧氟沙星	10	3.99
34	麻保沙星	10	4.72
35	沙拉沙星	10	1.94
36	二氟沙星	10	4.44

2.4 软件TraceFinder进行数据处理

本文所有数据处理工作均由TraceFinder完成。TraceFinder应用程序为高通量定量分析提供面向工作流程的方法，用于特定的数据分析、仪器控制和方法开发等。可自动快速创建方法、加载样品、自动生成数据、手动查看和编辑结果，并完成数据查看和报告处理。TraceFinder提供改善的离子比率计算结果、并可以指定离子比率计算方式。TraceFinder 应用程序能够导出.xml 和.csv格式的SRM参数，这些文件随后可导入到其它应用程序或仪器方法中。

3. 讨论

本文建立了全新一代TSQ Plus系列三重四极杆分析动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的方法。Thermo Fisher TSQ Plus系列三重四极杆质谱系2021年全新质谱产品，采用分段式共轭双曲面四极杆和双模式离散打拿极检测器，以及专为提供稳定分析数据改良设计的离子源。TSQ Plus系列三重四极杆可实现较快的极性切换，每次运行可通过极性切换实验分析更多化合物，提高生产力；方法建立中Thermo Scientific™ mzCloud™数据库集成，可访问上万种精选化合物，直接导入谱库里现有的离子对信息，降低标准品购买的成本，节约化合物优化时间。

本文建立的三重四极杆液质联用仪（TSQ Fortis Plus）分析36种四环素类、磺胺类和喹诺酮类化合物的两种检测方法。由实验结果可以看出，建立的检测方法具有优异的灵敏度，线性关系良好，两种方法线性方程R²均在0.99以上，重现性优异，猪肉基质加标10ng/mL的36种化合物RSD均在5%以内，完全满足食品安全国家标准要求。本方法可用于四环素类、磺胺类和喹诺酮类物质的日常分析检测。

4. 参考文献

[1]. GB 31658.17-2021 食品安全国家标准 动物性食品中四环素类、磺胺类和喹诺酮类药物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法.



赛默飞
官方微信

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

Thermo Fisher
SCIENTIFIC