

全新三重四极杆液质联用仪TSQ Fortis 快速检测四种硝基呋喃类代谢物

徐媛 明红 徐牛生 赛默飞世尔科技(中国)有限公司色谱质谱部

关键词

硝基呋喃, TSQ Fortis, 药物残留

摘要

本文在Thermo Scientific™全新液相色谱串联质谱三重四极杆平台Thermo Scientific™ TSQ Fortis™平台建立了快速检测四种硝基呋喃类代谢物的方法。此4种化合物在0.05-20 ppb浓度范围内线性关系良好 ($r^2>0.996$, 其中AMOZ和AOZ为0.05~20 ppb, SEM为0.1~20 ppb, AHD为0.2~20 ppb), LOD(AMOZ和AOZ为10 ppt, SEM和AHD为50 ppt)及LOQ均能满足国标规定的检测要求, 运用本方法和设备可实现对硝基呋喃类药物代谢物的检出和定量。

1.引言

硝基呋喃类代谢物属于一种人工合成的广谱抗菌药物, 主要用于畜禽和水产等动物的抗菌消炎以预防和治疗动物传染疾病, 它主要包括呋喃唑酮、呋喃西林、呋喃妥因和呋喃它酮等, 该类药物半衰期短, 在动物体内代谢速度快, 与蛋白结合的代谢物产生稳定的残留, 形成的代谢产物3-氨基-2-噁唑烷酮(AOZ)、5-吗啉基甲基-3-氨基-2-噁唑烷酮(AMOZ)、氨基脒(SEM)、1-氨基海特因(AHD)。人体通过食品摄入超量的此残留物质后, 造成的危害主要是胃肠反应和超敏反应。剂量过大或肾功能不全者, 可引起严重的毒性反应; 长期摄入可引起不可逆性末端神经损害, 如感觉异常、疼痛及肌肉萎缩等。针对硝基呋喃的潜在危害性, 世界许多国家都禁止在食用性动物中使用硝基呋喃。国内外对硝基呋喃残留量分析法主要采用液质联用法进行测定, 我国目前有如下几种相关的国家和行业标准: 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》(LOQ为0.5 $\mu\text{g/kg}$); GB/T 20752-2006《猪肉、牛肉、鸡肉、猪肝和水产品中硝基呋喃类代谢物残留量的测定》(LOQ为0.5 $\mu\text{g/kg}$); 农业部781号公告-4-2006《动物源食品中硝基呋喃类代谢物残留量的测定》(LOD为0.25 $\mu\text{g/kg}$, LOQ为0.5 $\mu\text{g/kg}$); SN/T 2061-2008《

进出口蜂王浆中硝基呋喃类代谢物残留量的测定》(LOQ为0.5 $\mu\text{g/kg}$); SN/T 1627-2005《进出口动物源食品中硝基呋喃类代谢物残留量测定方法》(LOQ为1 $\mu\text{g/kg}$)。

本文建立了基于Thermo Scientific™ TSQ Fortis™三重四极杆串联质谱仪针对硝基呋喃类药物的检测方法。本方法灵敏度高, 稳定性好, 远远满足以上标准所规定的检测要求, 可为食品安全监控提供有效的技术支持。

2.实验部分

2.1 仪器与试剂

2.1.1 Thermo Scientific™ Vanquish™ Binary Horizon超高效液相色谱仪

Thermo Scientific™ TSQ Fortis™三重四极杆质谱仪

2.1.2 甲醇(色谱纯, 美国Thermo Fisher公司); 实验用水为Milli-Q去离子水; 甲酸(色谱纯, SIGMA)

2.1.3 硝基呋喃类4种代谢物标准品均购自德国Dr.Ehrenstrofer公司

2.2 化合物信息及溶液配制

2.2.1 4种硝基呋喃类药物代谢物信息(表1)

化合物信息表					
名称缩写	英文名	原药	CAS	分子式	分子量
AOZ	2-NP-AOZ	呋喃唑酮	19687-73-1	$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_4$	235.06
AHD	2-NP-AHD	呋喃妥因	623145-57-3	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_4$	248.05
SEM	2-NP-SEM	呋喃西林	16004-43-6	$\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_3$	208.06
AMOZ	2-NP-AMOZ	呋喃它酮	183193-59-1	$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_5$	334.13

2.2.2 储备液：分别精确称取1 mg标准品粉末，溶解于2 mL甲醇中

2.2.3 系列标准曲线：以50:50 甲醇水作为溶剂，稀释成系列标准曲线 0.01 –20 ppb

2.3 色谱条件：

色谱柱：Thermo Scientific™ Hypersil GOLD™ aQ (1.9 μm, 100 x 2.1 mm) ；

柱温：40℃；

进样量：5 μL；

流动相：A为水（含0.1%甲酸），B为甲醇，梯度洗脱程序（表2）

表2 梯度洗脱程序

时间	A%	B%	流速mL/min
0.00	85	15	0.3
0.50	70	30	0.3
1.50	10	90	0.3
3.00	10	90	0.3
3.10	85	15	0.3
5.00	85	15	0.3

2.4 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 (+)：3500 V；离子传输管温度：300℃；鞘气压力35 arb；辅助气压力 5 arb；离子源温度：400℃；碰撞气压力：2 mTorr；选择反应监测离子对信息见表3。

表3 4种化合物及质谱采集参数

化合物	母离子 (m/z)	Tube Lens 电压(V)	子离子 (m/z)	碰撞能量(V)	源内裂解 电压(V)
2-NP-AOZ	236.05	94	134.07*	11.57	19.6
			104.07	20	
2-NP-AHD	249.05	88	134.05*	11.44	9.8
			104	19.45	
2-NP-SEM	209.05	96	166.04*	9.51	13
			191.97	11.07	
2-NP-AMOZ	335.15	106	291.07*	10.9	9.8
			262.125	15.57	

注：带*的为定量离子

3. 实验结果与讨论

3.1 灵敏度测试

采用上述仪器分析方法，4种硝基呋喃类代谢物在5分钟内均可获得良好的分离，图1为4种硝基呋喃类代谢物在0.5 ppb的浓度下的提取离子流图。

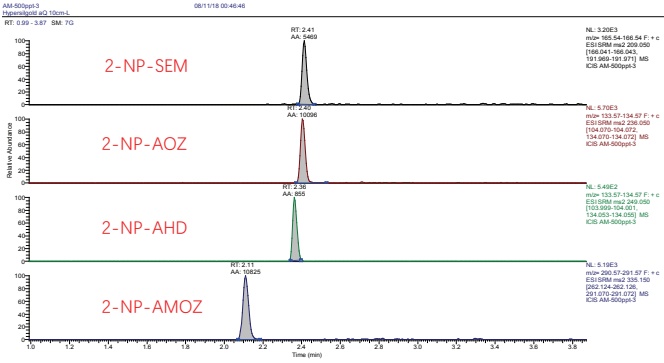


图1 4种化合物的提取离子流图（0.5 ppb）

3.2 线性范围测试

采用上述仪器分析方法，对4种硝基呋喃类代谢物进行线性范围测试，线性相关系数r²均大于0.996，线性关系良好。4种硝基呋喃类代谢物线性范围、线性相关系数、LOQ（S/N>10）、LOD结果见表4，化合物标准曲线图见图2。

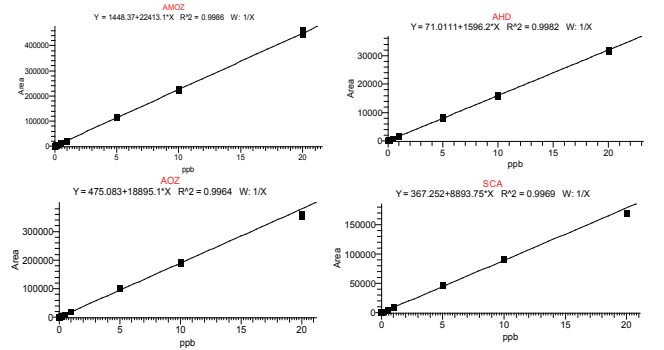


图2 4种化合物标准曲线图

化合物	线性范围 (ppb)	相关系数 (r ²)	LOQ (ppb)	LOD (ppb)	RSD% (n=7, C=1ppb)
2-NP-SEM	0.1-20	0.9969	0.1	0.05	4.23
2-NP-AOZ	0.05-20	0.9964	0.05	0.01	2.20
2-NP-AHD	0.2-20	0.9982	0.2	0.05	6.92
2-NP-AMOZ	0.05-20	0.9986	0.05	0.01	1.78

表4 4种化合物的线性范围、相关系数、LOQ、LOD、RSD

3.3 稳定性测试

采用上述仪器分析方法，对4种硝基呋喃类代谢物进行稳定性测试，考察浓度1 ppb，连续进样7针，实验结果见表4，4种硝基呋喃类代谢物相对标准偏差RSD%均小于7%，结果证明仪器稳定性良好。

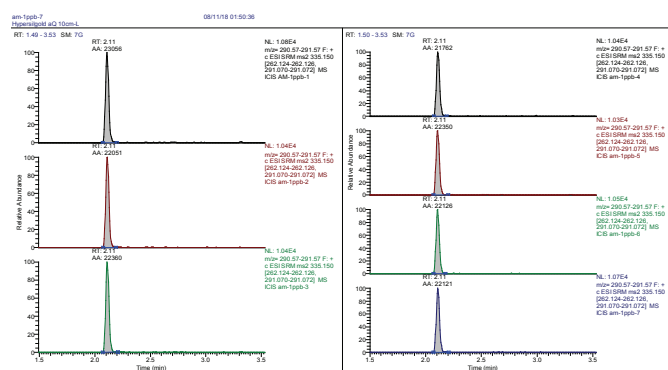


图3 2-NP-AMOZ 1ppb 重现性 (n=7)

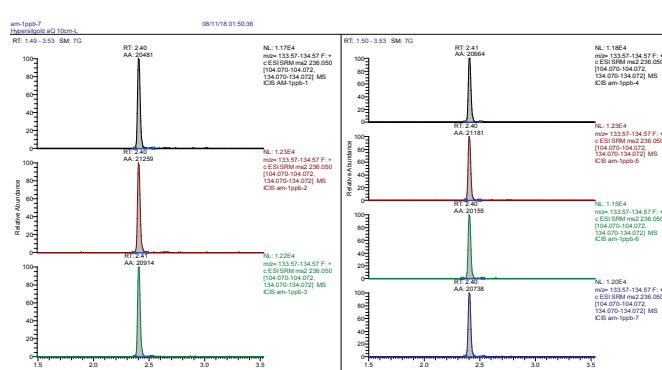


图5 2-NP-AOZ 1ppb 重现性 (n=7)

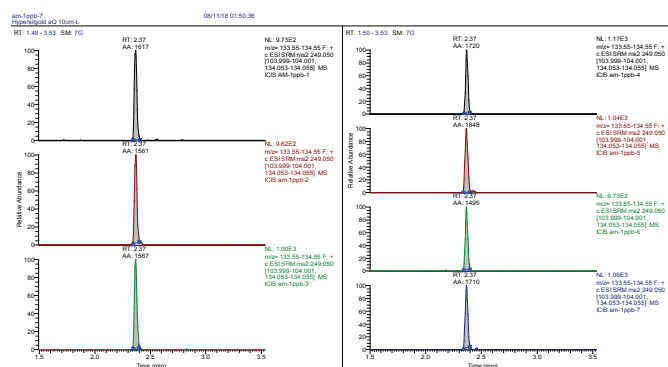


图4 2-NP-AHD 1ppb 重现性 (n=7)

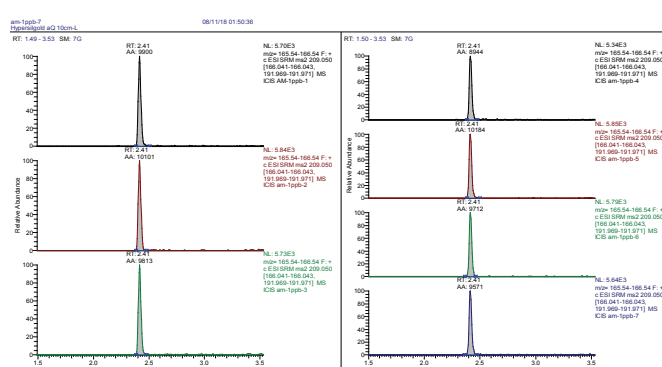


图6 2-NP-SEM 1ppb 重现性 (n=7)

4. 总结

本文建立了三重四极杆液质联用仪 (TSQ Fortis) 分析4种硝基呋喃类代谢物的检测方法。由实验结果可以看出，基于Thermo Scientific™ TSQ Fortis™建立的检测方法不仅具有优异的灵敏度和线性范围，同时具备良好的重现性。本方法可用于硝基呋喃类药物的日常分析检测。



热线 800 810 5118
赛默飞 电话 400 650 5118
官方微信 www.thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC