

全新一代三重四极杆TSQ Fortis 测定 24种喹诺酮类药物残留

徐媛 明红 徐牛生 赛默飞世尔科技(中国)有限公司, 上海 201206

关键词:

TSQ Fortis, 喹诺酮类化合物

摘要

本文在Thermo Scientific™全新液相色谱串联质谱平台Thermo Scientific™ TSQ Fortis™建立了快速检测24种喹诺酮类药物的方法。此24种化合物在相应浓度范围内线性关系良好 ($R^2 > 0.997$), LOD及LOQ均能满足相关国标规定的检测要求, 运用本方法和设备可实现对喹诺酮类抗生素的检出和定量。

1. 引言

生喹诺酮类 (Quinolones) 是一类人工合成的广谱抗菌药物, 因其具有抗菌谱广、高效低毒、组织穿透力强、价格低廉等特点, 已成为食品动物饲养和水产养殖中最重要的抗感染药物之一。但由于该类药物在动物体内消除缓慢, 过量使用或使用不当会造成药物残留, 人体摄入后可能会引发细菌耐药性的问题从而对中枢神经系统造成不良反应, 此外, 某些喹诺酮类药物具有潜在致癌作用。

目前, 我国针对动物源性喹诺酮类药物残留有以下几种限量标准: 农业部1077号公告-1-2008、GBT20366-2006、GBT21312-2007、GB29692-2013。以GBT21312-2007为例, 其中14种喹诺酮 (Cinoxacin西诺沙星, Ciprofloxacin环丙沙星, Danofloxacin丹诺沙星, Enoxacin依诺沙星, Enrofloxacin恩诺沙星, Flumequine氟甲喹, Lomefloxacin洛美沙星, Nalidixic acid萘啶酸, Norfloxacin诺氟沙星, Ofloxacin氧氟沙星, Oxolinic acid恶喹酸, Pefloxacin培氟沙星, Pipemidic acid吡哌酸, Sarafloxacin沙拉沙星,) 的检出限和定量限范围如下: LOD为0.5~1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, LOQ为2~5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。本文基于Thermo Scientific™ TSQ Fortis™三重四极杆质谱仪建立了检测此24种喹诺酮类抗生素的方法。本方法灵敏度高, 稳定性好, 满足以上国标要求, 适用于动物源性喹诺酮类药物的残留检测。

2. 实验条件

2.1 仪器与试剂

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

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

2.1.3 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)

2.2 仪器方法

2.2.1 液相色谱方法

色谱柱: Thermo Scientific™ Hypersil GOLD™ aQ(100 mm*2.1 mm, 1.9 μm); 柱温: 35°C; 进样量: 5 μL

流动相A为0.5% 甲酸水, B为甲醇, 梯度洗脱程序见表1。

表1. 梯度洗脱程序

Time(min)	Flow Rate(mL/min)	A%	B%
0.0	0.4	95	5
0.5	0.4	95	5
11	0.4	5	95
13.0	0.4	5	95
13.1	0.4	95	5
15.0	0.4	95	5

2.2.2质谱方法

电喷雾离子源 (ESI)，正离子模式；监测模式：选择反应监控 (SRM)；喷雾电压：3500V；鞘气压力：45 Arb；辅助气压力：20 Arb；蒸发温度：300 °C；离子传输管温度：350°C；碰撞气压力：2.0 mTorr；选择反应监测离子对信息见表2。

表2. 24种化合物及质谱采集信息

Compound	Precursor (m/z)	Product (m/z)	Collision Energy (V)	Tube Lens (V)	Source Fragmentation (V)
Marbofloxacin	363.138	262.065	26.78	110	13.1
		319.417*	16.54		
Pipemidic Acid	304.14	189.042	31.03	100	13.1
		217.054*	21.72		
Fleroxacin	370.152	269.042	26.4	112	14.7
		326.042*	18.9		
Enoxacin	321.175	257.125	18.4	101	11.4
		303.042*	18.82		
Pefloxacin	334.172	290.042*	17.72	110	14.7
		316.042	20.21		
Ofloxacin	362.162	261.113	26.9	114	16.3
		318.042*	18.94		
Norfloxacin	320.165	233.054	24.25	107	14.7
		276.125*	17.13		
Ciprofloxacin	332.128	245.125	23.96	110	16.3
		288.113*	17.68		
Enrofloxacin	360.2	245.125	26.52	114	16.3
		316.125*	19.15		
Danofloxacin	358.175	314.042	17.93	114	19.6
		340.095*	22.73		
Lomefloxacin	352.138	265.125*	23.2	118	19.6
		308.042	16.96		
Orbifloxacin	396.175	294.97	24	117	14.7
		352.125*	17.93		
Difloxacin	400.162	298.97	28.34	116	16.3
		356.125*	19.36		
Sarafloxacin	386.13	299.042	27.11	113	13.1
		342.095*	18.56		
Gatifloxacin	376.188	261.113	28.63	113	14.7
		332.095*	18.02		
Sparfloxacin	393.182	292.042	24.67	115	18
		349.125*	19.7		
Cinoxacin	263.088	188.958	28	88	0
		245.042*	15.74		
Moxifloxacin hydrochloride	402.188	358.196*	19.32	114	18
		384.125	21.64		
Tosufloxacin	419.15	263.042	46.74	106	44
		387.042*	24.04		
Gemifloxacin mesylate	390.188	313.042	29.05	101	3.3
		372.095*	19.2		
Nalidixic_Acid	233.128	186.917	25.56	77	0
		215.042*	14.56		
Oxolinic_Acid	262.1	201.988	32.55	87	0
		244.042*	17.93		
Flumequine	262.115	201.958	32.63	87	0
		244.042*	17.81		
Nadifloxacin	361.188	317.113	19.11	108	13
		343.125*	22.65		

注：标“*”为定量离子

2.3标准溶液的配制

取适量喹诺酮类化合物标准品混合储备液，稀释成浓度范围为0.01 ng/mL ~ 500 ng/mL的标准溶液。

3. 结果与讨论

3.1 灵敏度和线性范围测试

采用上述仪器分析方法，对24种喹诺酮类化合物进行测试，LOD、LOQ、线性范围和相关系数等结果见表3，部分化合物标准曲线图见图1。

表3. 24种喹诺酮类化合物LOD, LOQ, 线性范围、相关系数及线性方程

化合物	Compounds	线性范围/ ppb	LOQ/ ppb	LOD/ ppb	Curve Equation	相关系数
西诺沙星	Cinoxacin	0.1-100	0.1	0.05	$Y = 5.771e4X + 5.234e1$	0.9994
环丙沙星	Ciprofloxacin	1-100	1	0.2	$Y = 9.396e3X - 5.927e3$	0.9989
达氟沙星/单诺沙星	Danofloxacin	0.2-100	0.2	0.1	$Y = 3.005e3X - 1.929e1$	0.9977
双氟沙星	Difloxacin	1-100	1	0.2	$Y = 2.435e4X - 1.125e4$	0.9983
依诺沙星	Enoxacin	1-100	1	0.2	$Y = 6.167e3X - 3.682e3$	0.9986
恩氟沙星/恩诺沙星	Enrofloxacin	1-100	1	0.2	$Y = 1.945e4X - 1.008e4$	0.9990
氟罗沙星	Fleroxacin	1-100	1	0.2	$Y = 2.798e4X - 1.773e4$	0.9981
氟甲喹	Flumequine	0.1-100	0.1	0.05	$Y = 1.101e5X + 9.545e2$	0.9989
加替沙星	Gatifloxacin	1-100	1	0.2	$Y = 1.586e4X - 8.518e3$	0.9990
吉米沙星甲磺酸盐	Gemifloxacin mesylate	1-100	1	0.2	$Y = 1.71e4X - 9.089e3$	0.9984
洛美沙星	Lomefloxacin	1-100	1	0.2	$Y = 2.474e4X - 1.146e4$	0.9990
麻保沙星/马波沙星	Marbofloxacin	1-100	1	0.2	$Y = 7.333e3X - 3.465e3$	0.9992
莫西沙星盐酸盐	Moxifloxacin hydrochloride	1-100	1	0.2	$Y = 6.196e3X - 3.334e3$	0.9975
那氟沙星	Nadifloxacin	0.05-100	0.05	0.01	$Y = 1.423e5X - 1.222e3$	0.9996
萘啶酸	Nalidixic acid	0.05-100	0.05	0.01	$Y = 1.287e5X - 9.065e2$	0.9996
诺氟沙星	Norfloxacin	1-100	1	0.2	$Y = 8.269e3X - 4.24e3$	0.9989
氧氟沙星	Ofloxacin	1-100	1	0.2	$Y = 2.688e4X - 1.359e4$	0.9989
奥比沙星	Orbifloxacin	1-100	1	0.2	$Y = 4.268e4X - 1.073e4$	0.9995
恶喹酸/奥索利酸	Oxolinic acid	0.05-100	0.05	0.01	$Y = 1.181e5X + 9.497e2$	0.9988
培氟沙星	Pefloxacin	1-100	1	0.2	$Y = 1.34e4X - 5.772e3$	0.9995
吡哌酸	Pipemidic acid	1-100	1	0.2	$Y = 2.047e4X - 1.352e4$	0.9978
沙拉沙星	Sarafloxacin	1-100	1	0.2	$Y = 1.652e4X - 8.829e3$	0.9986
司帕沙星	Sparfloxacin	1-100	1	0.2	$Y = 3.391e4X - 1.15e4$	0.9998
妥舒沙星	Tosufloxacin	1-100	1	0.2	$Y = 1.69e4X - 6.839e3$	0.9974

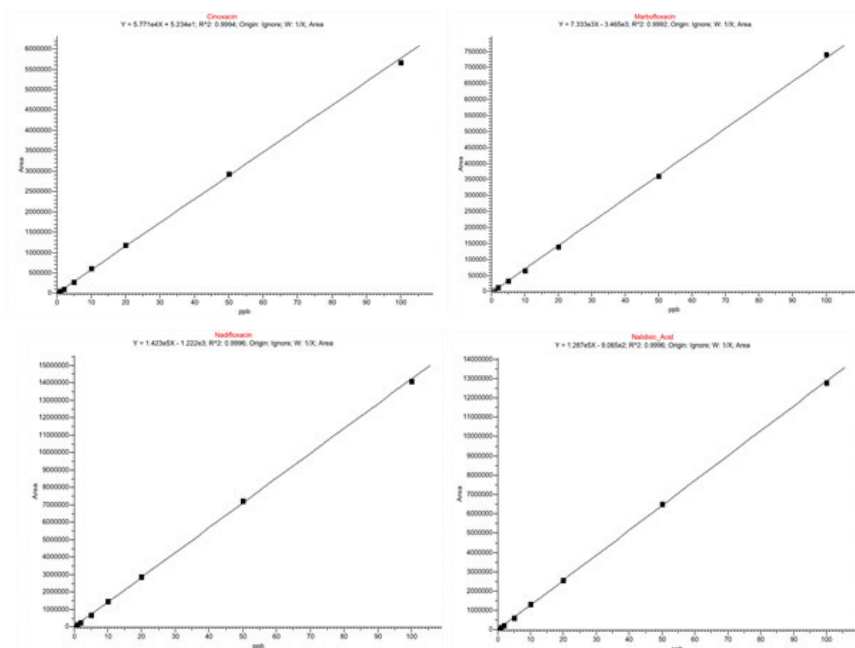
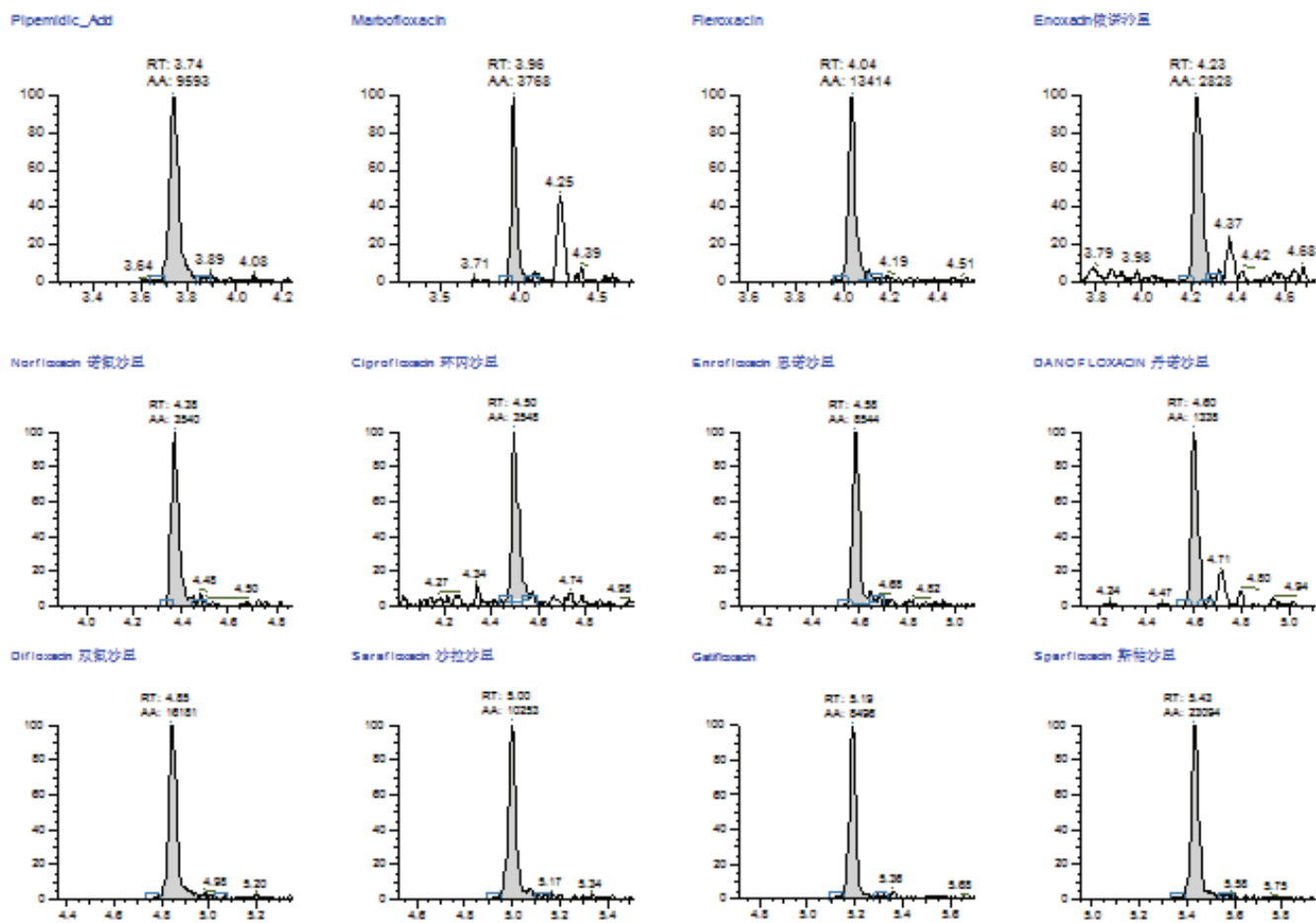


图1：部分喹诺酮化合物标准曲线图

3.2 色谱图

采用上述仪器分析方法对24种喹诺酮类化合物进行检测，浓度为1 ng/mL，各化合物的提取离子流图见图2



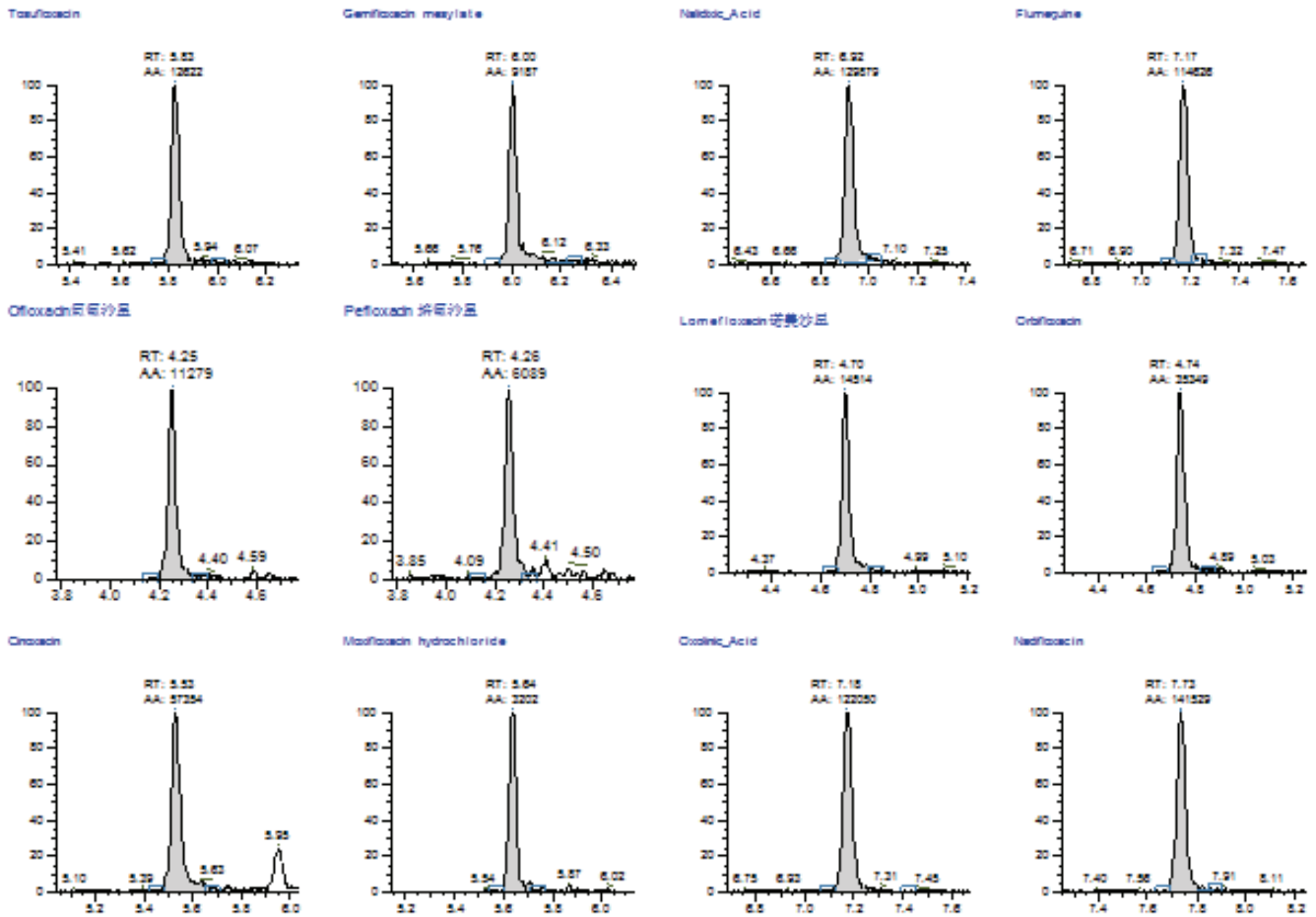


图2：24种喹诺酮类化合物提取离子流图

3.3稳定性测试

采用上述仪器分析方法对浓度水平为10 ng/mL的24种喹诺酮类化合物进行稳定性测试 (n=6)，RSD%均小于4%，其中Nadifloxacin (那佛沙星) RSD%为0.3% (见图3)。24种喹诺酮类化合物连续6针RSD%测试结果见表4，结果表明稳定性良好。

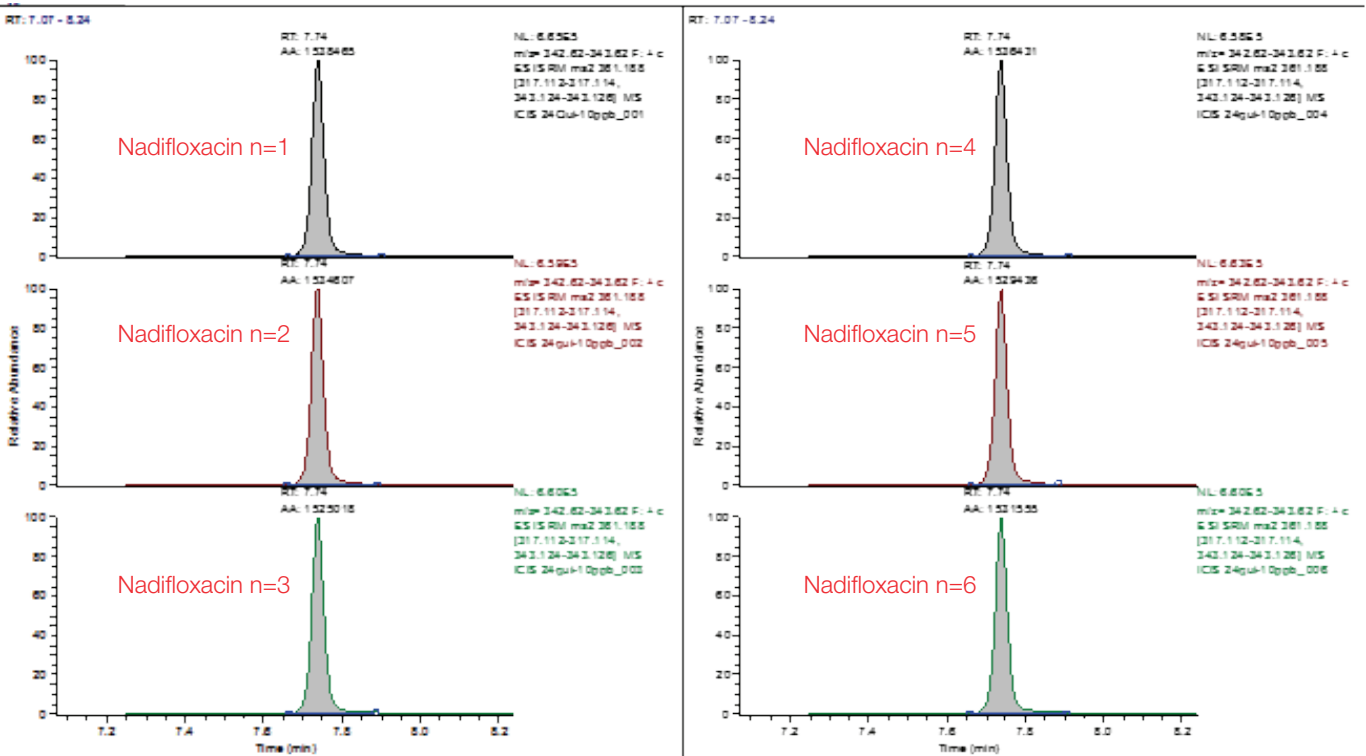


图3 Nadifloxacin提取离子流图 (n=6)

表4. 24种喹诺酮类化合物平均峰面积及RSD% (c=10 ng/mL)

化合物	RT/ min	#1	#2	#3	#4	#5	#6	RSD %
那氟沙星	7.74	1538465	1534607	1525018	1536431	1529436	1531555	0.3
萘啶酸	6.92	1360925	1350631	1349448	1352198	1357583	1359610	0.4
奥索利酸	7.18	1296659	1295228	1297792	1303835	1292089	1290363	0.4
氟甲喹	7.17	1198099	1213688	1204544	1200794	1193272	1190866	0.7
妥舒沙星	5.83	150885	151988	149381	152798	150530	151947	0.8
氧氟沙星	4.25	231523	231447	233526	235720	231489	229774	0.9
诺美沙星	4.71	217283	212601	214725	215887	218112	216399	0.9
西诺沙星	5.63	602689	613995	605140	611420	599861	611541	0.9
沙拉沙星	5.01	149069	146426	147093	145263	148498	146928	0.9
吡哌酸	3.74	169545	167319	169987	168174	169413	165763	1.0
氟罗沙星	4.05	241756	235335	238673	236788	236156	235723	1.0
斯帕沙星	5.43	323584	319405	317583	326465	323935	318016	1.1
培氟沙星	4.26	126476	125277	125358	127769	122728	123831	1.4
奥比沙星	4.74	416518	414246	398137	413895	409368	413749	1.6
盐酸莫西沙星	5.63	55400	54520	52481	53930	53817	52970	2.0
双氟沙星	4.85	222998	225958	227076	226443	215422	221322	2.0
加替沙星	5.19	140588	134691	135574	139569	142514	139833	2.2
甲磺酸吉米沙星	6.00	145826	146980	144107	151837	143933	140424	2.2
诺氟沙星	4.38	74853	70656	72740	72717	70634	71720	2.2
依诺沙星	4.24	46414	48706	48685	49480	49505	47505	2.5
环丙沙星	4.52	80020	79351	74899	76885	75628	78017	2.6
麻保沙星	3.96	65515	65345	62256	63349	60862	63358	2.8
恩诺沙星	4.58	166008	169915	162737	166832	177497	166424	3.0
丹诺沙星	4.61	27307	29387	27673	27669	26757	26365	3.8

4.结论

本文建立了三重四极杆液质联用仪 (TSQ Fortis) 分析24种喹诺酮类抗生素的检测方法。由实验结果可以看出, 基于Thermo Scientific™ TSQ Fortis™建立的检测方法具有优异的灵敏度、稳定性和线性范围, 可用于喹诺酮类抗生素的常规分析检测。



赛默飞
官方微信

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

ThermoFisher
SCIENTIFIC