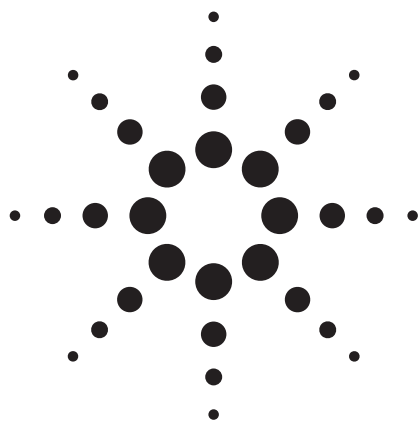




Agilent 1260 Infinity SFC 串联 Agilent 6490QQQ 质谱系统检测磺胺

应用

食品兽药

作者

孟颖 李建中 安蓉

摘要

本实验采用 Agilent 1260 Infinity SFC 超临界色谱和配置 iFunnel 技术的 Agilent 6490QQQ 质谱系统, Zorbax Rx-sil 亚二微米填料色谱柱快速分析了十四种磺胺, 其中两组磺胺异构体得到了完全分离, 可用于食品中磺胺的快速定性定量分析。用超临界色谱与串联四极杆质谱 (SFC-MSMS) 对十四种磺胺进行分离检测, 方法简便, 分离度高, 分析速度及色谱柱平衡更快速, 可显著降低流动相成本, 同时产生极少的废弃物, 避免高昂的废弃物处置费用。

前言

在兽医临床治疗和疾病预防中, 抗生素类药物起着不可替代的作用。磺胺类药物作为历史最悠久的抗生素类药物, 被广泛用于预防和治疗食源性动物疾病, 目前已经有数十个不同品种, 然而过量使用这些抗生素会导致食用动物产品中有残留, 影响人类的健康。欧盟已经规定动物源性食品中磺胺的最大残留量为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。目前测定食品中磺胺类药物残留的分析方法有高效液相色谱法, 液相色谱质谱, 气相色谱质谱, 毛细管电泳法, 荧光胺衍生化薄层色谱法等。其中 LC-MS/MS 法是检测动物源性食品中兽药残留的一种重要方法, 这种方法灵敏度高, 选择性和特异性好, 能够对低浓度的样品进行很好的定性确认, 因此是现在较普遍的测定磺胺残留的方法。但 LC-MS/MS 法做到异构体完全分离时分析时间较长, 通常需要十五至二十分钟, 使用更多的有机溶剂, 且在样品前处理后需要挥干有机相溶剂复溶, 以减小溶剂效应影响。

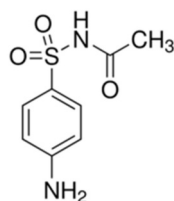


Agilent Technologies

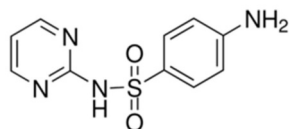
采用 SFC-MS/MS 法,使用 Zorbax Rx-sil 亚二微米填料色谱柱,可以在短时间内对十四种磺胺进行分离,其中分子量同为 310 的磺胺二甲氧嘧啶和磺胺多辛,以及分子量同为 280 的磺胺甲氧嘧啶,磺胺对甲氧嘧啶和磺胺间甲氧嘧啶都能够达到完全分离,从而满足定量需求。此外, SFC 与 LC 是完全正交的方法,对于磺胺的选择性完全不同。

与液态流动相相比,超临界流体先天具有一个巨大的优势,黏性极低,同时扩散性增大,因此具有更好的传质性能。如今, UHPLC 由于其更高的分离速度,以及在可接受的时间内能够提供以往难以实现的分离度而得到广泛接受。相比而言,超临界流动相的低黏度允许应用小粒径的色谱柱或超长色谱柱,而不会产生过高的背压。Agilent 1260 Infinity 分析型 SFC 系统可以使用更长的和/或小粒径填料色谱柱在不超过 600 bar 系统压力下工作,结合了 UHPLC 和 SFC 的各自优势,从而可获得更高的性能。

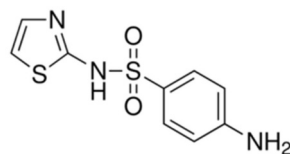
磺胺结构图



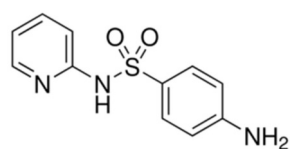
$C_8H_{10}N_2O_3S$ Sulphacetamide 磺乙酰胺 CAS 号 144-80-9 分子量 214.24



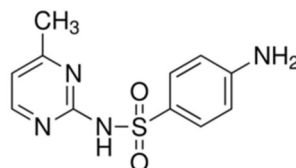
$C_{10}H_{10}N_4O_2S$ Sulfadiazine 磺胺嘧啶 CAS 号 68-35-9 分子量 250.28



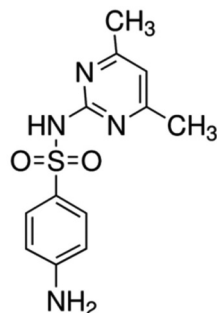
$C_9H_9N_3O_2S_2$ Sulfathiazole 磺胺噻唑 CAS 号 72-14-0 分子量 255.32



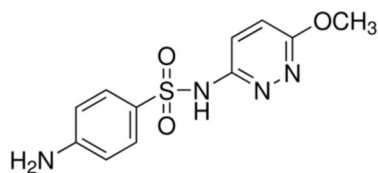
$C_{11}H_{11}N_3O_2S$ Sulfapyridine 磺胺吡啶 CAS 号 144-83-2 分子量 249.29



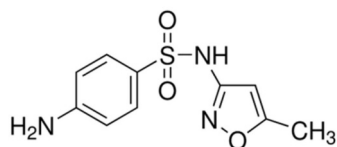
$C_{11}H_{12}N_4O_2S$ Sulfamerazine 磺胺甲噻啶 CAS 号 127-79-9 分子量 264.30



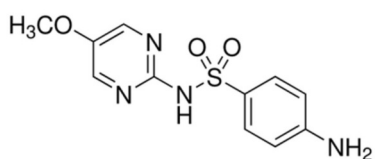
$C_{12}H_{14}N_4O_2S$ Sulfadimidine 磺胺二甲嘧啶 CAS 号 57-68-1 分子量 278.33



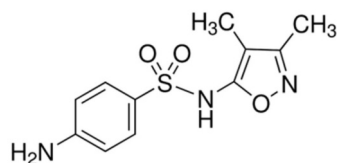
$C_{11}H_{12}N_4O_3S$ Sulfamethoxypyridazine 磺胺甲氧吡嗪 CAS 号 80-35-3
分子量 280.30



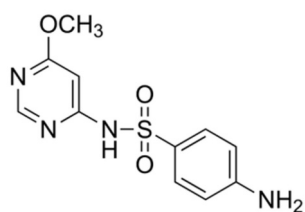
$C_{10}H_{11}N_3O_3S$ Sulfamethoxazole 磺胺甲恶唑 CAS 号 723-46-6 分子量 253.28



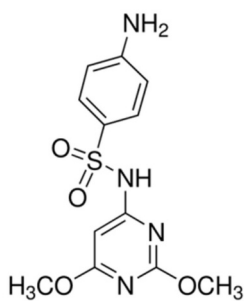
$C_{11}H_{12}N_4O_3S$ Sulfamer 磺胺对甲氧嘧啶 CAS 号 651-06-9 分子量 280.30



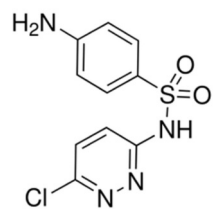
$C_{11}H_{13}N_3O_3S$ Sulfisoxazole 磺胺异恶唑 CAS 号 127-69-5 分子量 267.30



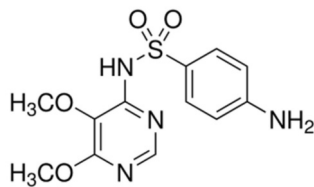
$C_{11}H_{12}N_4O_3S$ Sulfamonomethoxine 磺胺间甲氧嘧啶 CAS 号 1220-83-3
分子量 280.30



$C_{12}H_{14}N_4O_4S$ Sulfadimethoxine 磺胺二甲氧嘧啶 CAS 号 122-11-2 分子量 310.33



$C_{10}H_9ClN_4O_2S$ Sulfachloropyridazine 磺胺氯吡嗪 CAS 号 80-32-0 分子量 284.72



$C_{12}H_{14}N_4O_4S$ Sulfadoxine 磺胺多辛 CAS 号 2447-57-6 分子量 310.33

实验部分

仪器

Agilent Infinity 1260 Analytical SFC 系统，其中包括 SFC 控制模块，二元泵，自动进样器、二极管阵列检测器、真空在线脱气机和安装有六柱切换阀的柱温箱。

Agilent 6490QQQ 质谱系统，MassHunter B 6.0 采集软件和数据处理软件。

试剂

试剂	来源	备注
甲醇	DikmaPure	HPLC 级
CO ₂	北京市北温气体制造厂	99.999%
乙腈	DikmaPure	HPLC 级
试样标准品		
磺胺		

标样制备

取十四种磺胺标准品适量，用甲醇配制成标准品溶液。

实验条件

色谱柱	ZORBAX Rx-sil 3.0 × 100 mm 1.8 μm
流动相	A: CO ₂ B: 甲醇: 水 = 98:2
梯度	0-5 min B 5%-20%
流速	2 ml/min
BPR	160 bar
柱温	45 °C
进样量	0.3 μl
补偿泵	0.2 ml/min
补偿泵流动相	20 mM 甲酸铵甲醇

质谱条件:

极性:	正极 (JetStream ESI)
干燥气温度:	200 °C
干燥气流量:	16 L/min
雾化器压力:	35 psi
毛细管电压:	3500 V
鞘气温度:	350 °C
鞘气流量:	11 L/min
扫描模式:	DMRM

Compound Name	Precursor Ion	MS1 Res	Product Ion	MS2 Res	Fragmentor	Collision Energy
Sulphacetamide	215	Unit	156	Unit	380	5
Sulphacetamide	215	Unit	92	Unit	380	20
Sulfadiazine	251.1	Unit	156	Unit	380	10
Sulfadiazine	251.1	Unit	108	Unit	380	22
Sulfathiazole	256	Unit	156	Unit	380	10
Sulfathiazole	256	Unit	108	Unit	380	21
Sulfapyridine	250.1	Unit	184	Unit	380	15
Sulfapyridine	250.1	Unit	156	Unit	380	10
Sulfamerazine	265.1	Unit	172	Unit	380	15
Sulfamerazine	265.1	Unit	92	Unit	380	30
Sulfadimidine	279.1	Unit	186	Unit	380	15
Sulfadimidine	279.1	Unit	156	Unit	380	16
Sulfamethoxypyridazine	281.1	Unit	156	Unit	380	15
Sulfamethoxypyridazine	281.1	Unit	108	Unit	380	25
Sulfameter	281.1	Unit	156	Unit	380	15
Sulfameter	281.1	Unit	108	Unit	380	25
Sulfamonomethoxine	281.1	Unit	156	Unit	380	15
Sulfamonomethoxine	281.1	Unit	108	Unit	380	26
Sulfachloropyridazine	285	Unit	156	Unit	380	10
Sulfachloropyridazine	285	Unit	108	Unit	380	25
Sulfamethoxazole	254.1	Unit	156	Unit	380	10
Sulfamethoxazole	254.1	Unit	92	Unit	380	26
Sulfisoxazole	268.1	Unit	156	Unit	380	10
Sulfisoxazole	268.1	Unit	113	Unit	380	10
Sulfadimethoxine	311.1	Unit	156	Unit	380	20
Sulfadimethoxine	311.1	Unit	108	Unit	380	26
Sulfadoxine	311.1	Unit	156	Unit	380	15
Sulfadoxine	311.1	Unit	92	Unit	380	30

结果与讨论

SFC-MS/MS 方法可在 5 分钟内完成十四种磺胺分离，下图为十四种磺胺的 TIC 图谱。

MS/MS 分离定量时，对于分子量不同的化合物来说，即使不能完全分离也可通过提取不同的离子通道而过到定量要求，但对于分子量完全相同的异构体则必须在质谱入口端达到完全分离方可进

行准确定量。因此对于分子量同为 310 的磺胺二甲氧嘧啶和磺胺多辛，以及分子量同为 280 的磺胺甲氧嘧啶，磺胺对甲氧嘧啶和磺胺间甲氧嘧啶，必须在进入质谱前达到完全分离。采用 Agilent 1260 Infinity SFC 超临界色谱和亚二微米的 Zorbax Rx-sil 色谱柱可以达到上述异构体的完全分离。虽然 LC-MS/MS 方法也可将异构体完全分离，但往往需要三倍以上的时间才可能做到。

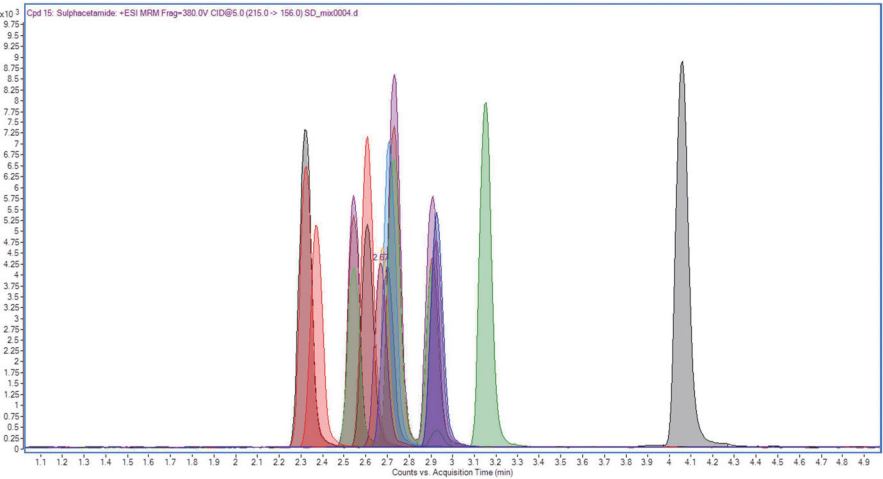


图 1. 十四种磺胺的 SFC-MS/MS TIC 图谱

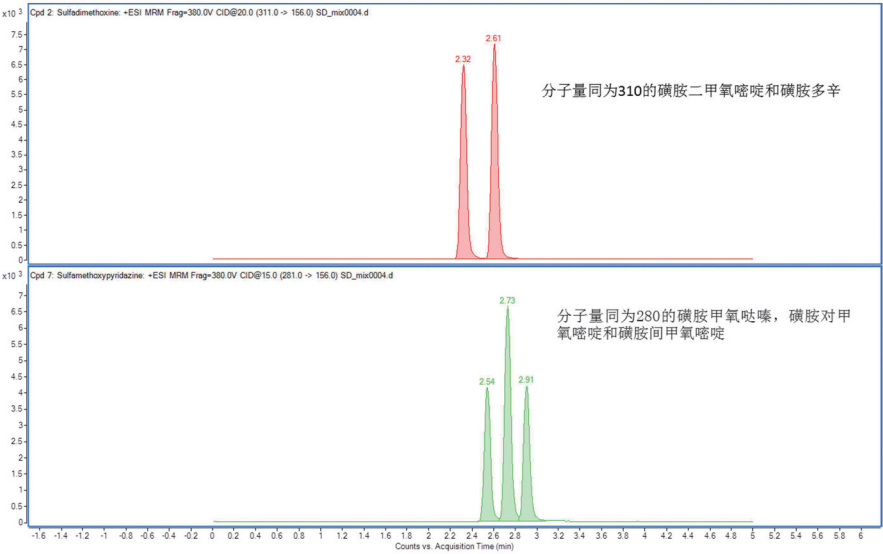


图 2. 分子离子为 311 和 281 的异构体图谱

除上述五个磺胺异构体外，其余九个磺胺异构体也可做到准确定量，如下图所示

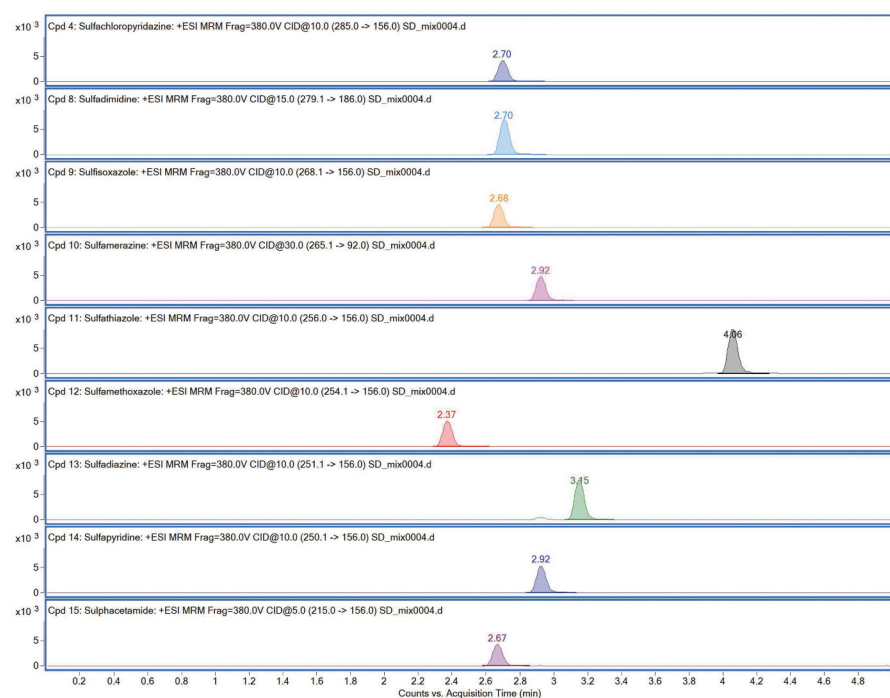


图 3. 除异构体外的其余九种磺胺定量离子色谱图

结论

采用超临界色谱法，使用 Agilent 1260 Infinity Analytical SFC 系统，Agilent 6490 QQQ 质谱和 Zorbax Rx-sil 3.0×100 mm, $1.8 \mu\text{m}$ 色谱柱对十四种磺胺进行检测，方法相比常规 LC-MS/MS 法更快速，5 分钟内可完成分离，且其中几种分子量相同的异构体均能分离。SFC 与常规 LC 是完全正交的方法，选择性差异大，因此可用于 LC 互补，解决 LC 方法中的一些分离难题。SFC 作为质谱入口技术，与强有机相溶剂完全兼容，样品前处理之后可直接上样。且梯度方法平衡快速，提高了质谱通量。

更多信息

本文仅代表典型的结果。更多有关我们产品和服务，请访问我们的网站: www.agilent.com/chem/cn。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2014
2014 年 1 月 8 日，中国印刷
5991-3843CHCN



Agilent Technologies