

食品分析

使用 AGILENT 6460 三重四极杆液质联用系统分析虾中的磺胺类和喹诺酮类药物



您的分析业务解决方案
市场与应用计划

解决方案简报

作者

Ramesh Narayana 和
Ramaprasad Ganni

安捷伦科技(印度)有限公司
Bangalore, INDIA

摘要

该分析的目的是使用 Agilent 6460 三重四极杆液质联用仪测定喹诺酮类和磺胺类抗生素。

本应用简报展示了用于分析虾样品基质中的两类兽药(喹诺酮类和磺胺类)的 QuEChERS 样品前处理方法。使用安捷伦喷射流离子源对这两种兽药进行定量分析。

前言

磺胺类和喹诺酮类药物属于抗菌剂,广泛应用于食品动物中以治疗并预防疾病。这些药物的过量使用可能使药物残留在动物组织中,这会造成长期的健康影响,包括微生物的抗生素耐药性。因此,监管机构已经规定了多种食品中的最大留限量(MRL)以保障食品安全并保护消费者的健康。



硬件介绍

Agilent 6460 三重四极杆液质联用系统配备了安捷伦喷射流技术的高效 ESI 离子生成和聚焦功能。

安捷伦喷射流 (AJS) 热梯度聚焦技术有助于解决由脱溶剂不足引起的分析物保留在雾滴中的问题，以及由于仅使用静电场而捕集不足引起的液滴移动和脱溶离子远离采样孔口的问题。精密微加工的喷雾器以过热鞘气包围雾滴并形成可将离子浓缩到稳定的热约束区中的动态流体，从而实现有效的质谱采样。离子源能够稳定地支持 20 $\mu\text{L}/\text{min}$ 至最高 2 mL/min 的流速。

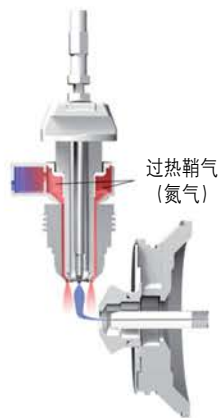


图 1.
安捷伦喷射流技术

6460 中所用的四极杆支持 5-3000 m/z 的质量数范围和 12500 Da/s 的扫描速度。正/负极性切换能够在 30 ms 内完成，且最小驻留时间为 1 ms，不会产生碰撞池交叉干扰。



图 2.
双曲面四极杆

安捷伦的质谱系统可与包括 1290 Infinity 和 1260 系统、用于实现更高通量分析的 1290 Infinity HTC 进样器，以及 7000 系列毛细管电泳系统在内的各种安捷伦 HPLC 和 UHPLC 模块实现联用。



图 3. 左起：1290 Infinity、1260、1290 Infinity HTC 进样器和 7000 CE 系统

软件

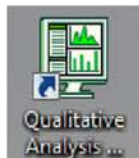
MassHunter 采集软件提供了 MRM、dMRM 和 tMRM 采集以及离子扫描和中性丢失扫描功能。使用动态 MRM 能够达到每秒 4000 个 MRM 离子对的速率。采用专利参比溶液可实现离子透镜的自动优化和质量校准。



MassHunter 定量分析软件提供了批处理数据概览 (Batch-at-a-Glance) 视图、全面校准功能以及对 tMRM 所生成谱图的谱库匹配功能。它能够自动导入 MRM 及相关元数据 (化合物名称、保留时间和样品类型)。还可提供多种报告样式、自定义模板以及 LIMS 链接。



MassHunter 定性分析软件能够实现以化合物为中心的数据集评估，包括按 MRM 查找化合物、对质谱、紫外及其他信号的积分功能以及谱图提取功能。



实验部分

使用 Agilent 1290 Infinity UHPLC 与 Agilent 6460 三重四极杆 LC/MS 联用开展分析。

校准标样和加标样品前处理

通过向虾基质中加入以 50% 甲醇制备的抗生素混合物储备液来配制一系列校准溶液。用于基质匹配校准标样的浓度水平列于下方。

校准浓度	虾基质 (g)	校准浓度 (ppb)
1	2.0 ± 0.05	2.5
2	2.0 ± 0.05	5.0
3	2.0 ± 0.05	10.0
4	2.0 ± 0.05	20.0
5	2.0 ± 0.05	30.0
6	2.0 ± 0.05	50.0
7	2.0 ± 0.05	100.0

在回收率研究中，配制的加标样品浓度分别为 10、15 和 25 ppb。

加标样品	虾基质 (g)	校准浓度 (ppb)
A	2.0 ± 0.05	10
B	2.0 ± 0.05	15
C	2.0 ± 0.05	25

UHPLC 条件

流动相： 5 mM 甲酸铵 + 0.1% 甲酸 (A)
0.1% 甲酸的乙腈溶液 (B)

流速： 0.5 mL/min

色谱柱： RRHD ZORBAX Eclipse Plus C18 (3.0 × 100 mm),
1.8 µm

柱温： 30 °C

进样量： 5 µL

梯度程序：

时间 (min)	%B
1.0	10
4.0	25
8.0	60
9.0	95
11.0	95
11.1	10

后运行时间： 3.0 min

样品前处理

使用下文所述的 QuEChERS 方法对基质匹配校准溶液和加标样品进行处理。

虾中的磺胺类和喹诺酮类药物
▼
称取 2 g 均质虾样品于 50 mL 离心管中
▼
根据需要加入抗生素混标并涡旋混合 60 s, 再加入 10 mL 水并涡旋混合 60 s
▼
加入 10 mL 5% 甲酸的乙腈溶液, 涡旋混合 60 s
▼
向各离心管中加入 Bond Elute AOAC QuEChERS 萃取试剂盒 (部件号: 5982-5755CH 或 5982-6755CH) 并盖紧瓶盖
▼
以 2000 rpm 的转速涡旋混合 60 s
▼
在 10 °C 下以 9000 rpm 的转速离心 10 min
▼
移取 6 mL 上层乙腈相至 Bond Elute 分散式 固相萃取管 (部件号: 5982-4956CH) 中
▼
振摇并涡旋混合 60 s, 然后在 10 °C 下以 9000 rpm 的转速离心 10 min
▼
移取 2 mL 至萃取管中, 在 40 °C 下用氮气吹干
▼
用 50:50 甲醇:水复溶至 2 mL
▼
样品可直接用于分析

质谱条件

安捷伦喷射流 ESI+ 模式

载气温度： 300 °C

干燥气流量： 7 L/min

雾化器： j20 psi

鞘气温度： 400 °C

鞘气流量： 11 L/min

毛细管电压： 2500 V

喷嘴电压： 0 V

Delta EMV： 300 V

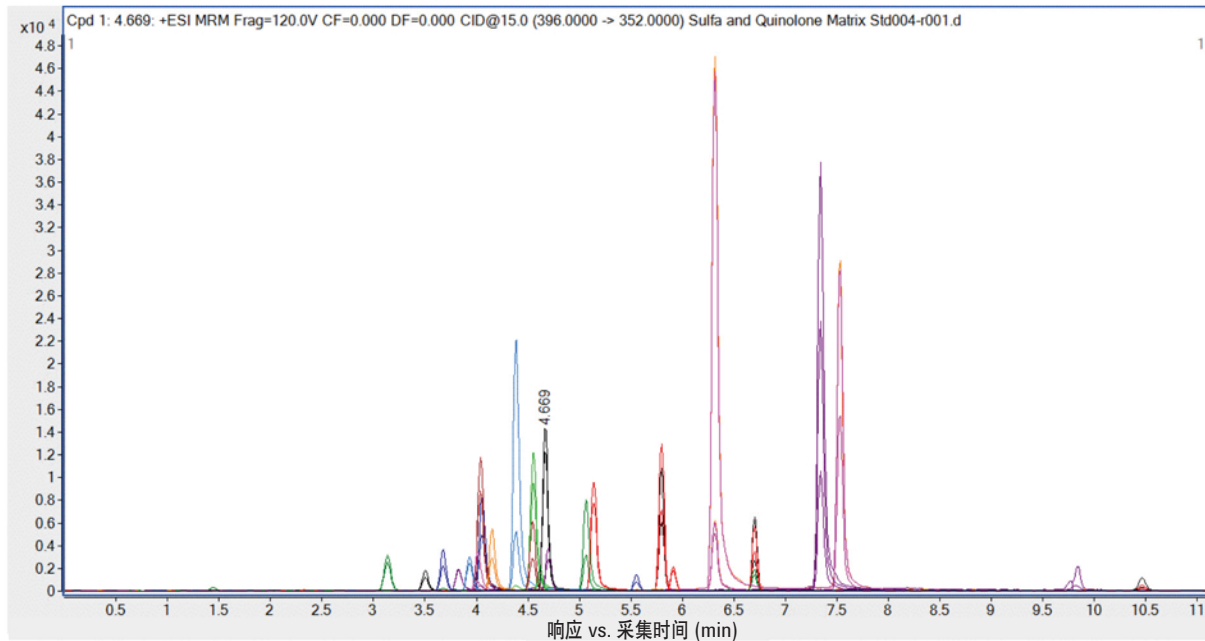
MRM 离子对

化合物名称	是否含有内标	母离子	MS1分辨率	子离子	MS2分辨率	驻留时间	碎裂电压	碰撞能量	反应池加速器电压	极性
环丙沙星	否	332.1	单位	314.1	单位	10	130	18	7	正
环丙沙星	否	332.1	单位	231	单位	10	130	42	7	正
达氟沙星	否	358.2	单位	340.1	单位	10	140	22	7	正
达氟沙星	否	358.2	单位	82	单位	10	140	40	7	正
恩诺沙星	否	360	单位	342.1	单位	10	130	18	7	正
恩诺沙星	否	360	单位	316.2	单位	10	130	18	7	正
氟罗沙星	否	370.1	单位	326	单位	10	110	18	7	正
氟罗沙星	否	370.1	单位	269	单位	10	110	25	7	正
氟甲喹	否	262	单位	244	单位	10	80	13	7	正
氟甲喹	否	262	单位	202	单位	10	80	33	7	正
左氧氟沙星	否	362.1	单位	318	单位	10	130	8	7	正
左氧氟沙星	否	362.1	单位	261	单位	10	130	25	7	正
马波沙星	否	363	单位	345.1	单位	10	120	17	7	正
马波沙星	否	363	单位	320.1	单位	10	120	9	7	正
萘啶酸	否	233	单位	215	单位	10	60	8	7	正
萘啶酸	否	233	单位	187	单位	10	60	23	7	正
诺氟沙星	否	320	单位	302.1	单位	10	140	17	7	正
诺氟沙星	否	320	单位	276.1	单位	10	140	13	7	正
奥比沙星	否	396	单位	352	单位	10	120	15	7	正
奥比沙星	否	396	单位	295	单位	10	120	22	7	正
恶喹酸	否	262.1	单位	244	单位	10	100	13	7	正
恶喹酸	否	262.1	单位	216	单位	10	100	30	7	正
沙氟沙星	否	386.1	单位	368.1	单位	10	140	18	7	正
沙氟沙星	否	386.1	单位	342.1	单位	10	140	14	7	正
司帕沙星	否	393.1	单位	349	单位	10	140	20	7	正
司帕沙星	否	393.1	单位	292	单位	10	140	23	7	正
磺胺氯哒嗪	否	285	单位	156	单位	10	100	10	7	正
磺胺氯哒嗪	否	85	单位	108	单位	10	100	22	7	正
磺胺嘧啶	否	251.1	单位	156	单位	10	100	10	7	正
磺胺嘧啶	否	251.1	单位	108	单位	10	100	22	7	正
磺胺地托辛	否	311.1	单位	156	单位	10	125	17	7	正
磺胺地托辛	否	311.1	单位	108	单位	10	125	26	7	正
磺胺多辛	否	311.1	单位	156	单位	10	120	14	7	正
磺胺多辛	否	311.1	单位	92	单位	10	120	30	7	正
磺胺甲噁啶	否	265.1	单位	172	单位	10	120	13	7	正
磺胺甲噁啶	否	265.1	单位	92	单位	10	120	30	7	正
磺胺二甲噁啶	否	279.1	单位	186	单位	10	120	14	7	正
磺胺二甲噁啶	否	279.1	单位	124	单位	10	120	18	7	正
磺胺甲二唑	否	271	单位	156	单位	10	100	10	7	正
磺胺甲二唑	否	271	单位	108	单位	10	100	22	7	正
磺胺甲恶唑	否	254.1	单位	156	单位	10	100	10	7	正
磺胺甲恶唑	否	254.1	单位	92	单位	10	100	26	7	正
磺胺甲氧哒嗪	否	281.1	单位	156	单位	10	125	14	7	正
磺胺甲氧哒嗪	否	281.1	单位	108	单位	10	125	22	7	正
磺胺吡啶	否	250.1	单位	184	单位	10	100	14	7	正
磺胺吡啶	否	250.1	单位	156	单位	10	100	10	7	正
磺胺喹噁啉	否	301.1	单位	156	单位	10	110	11	7	正
磺胺喹噁啉	否	301.1	单位	92U	单位	10	110	29	7	正
磺胺噻唑	否	256	单位	156	单位	10	100	9	7	正
磺胺噻唑	否	256	单位	108	单位	10	100	21	7	正

所有校准标样重复进样两次，加标样品则重复分析三次。

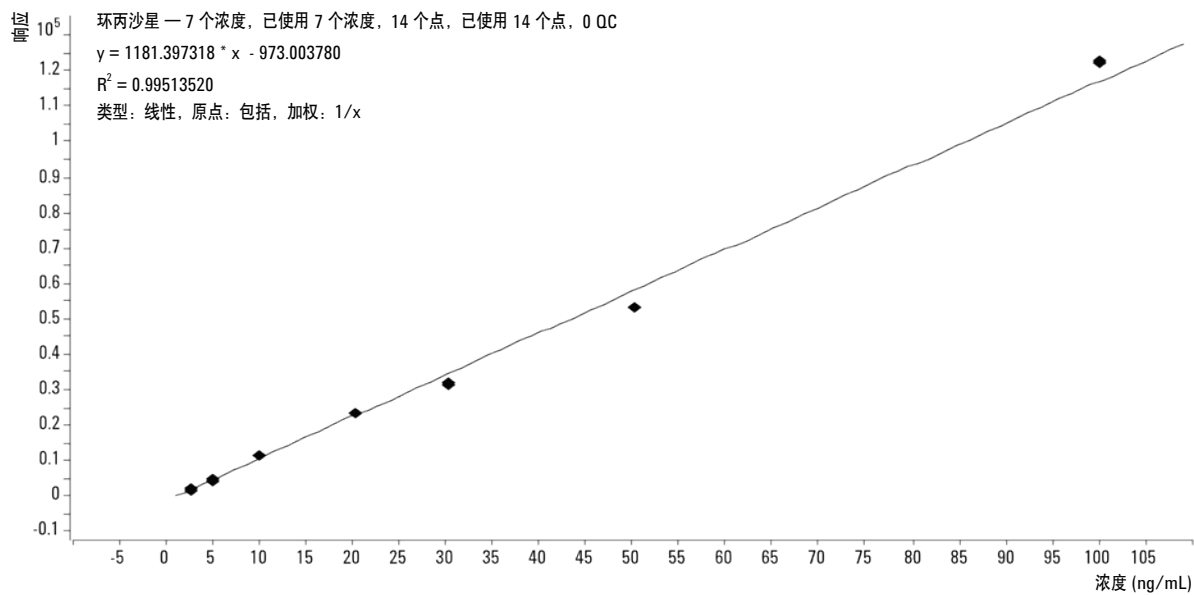
结果与讨论

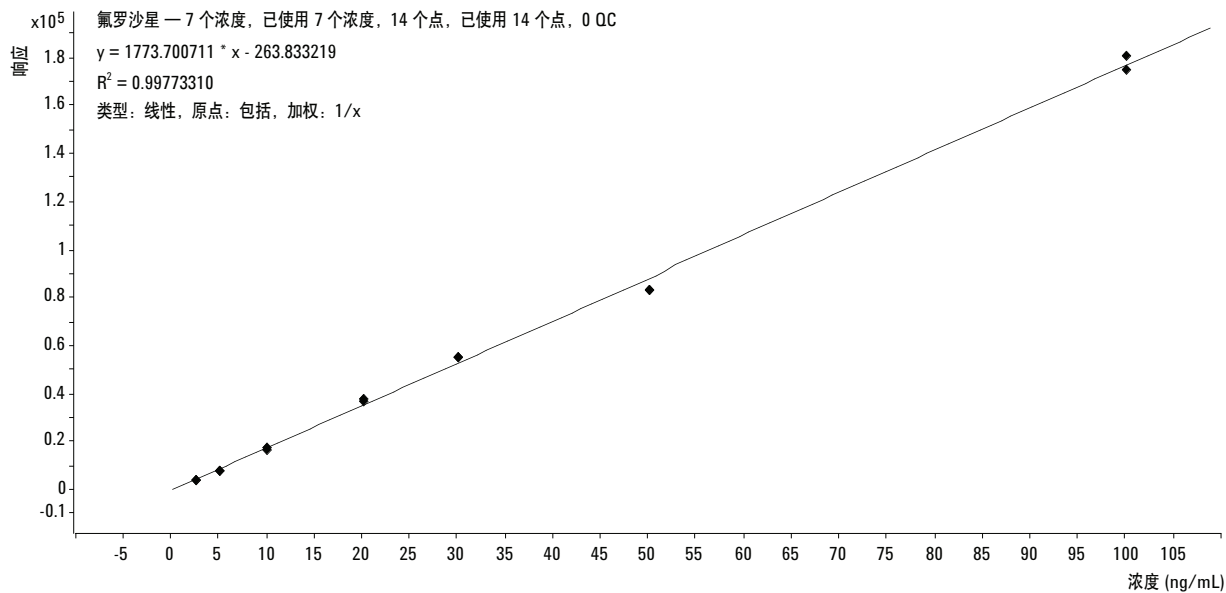
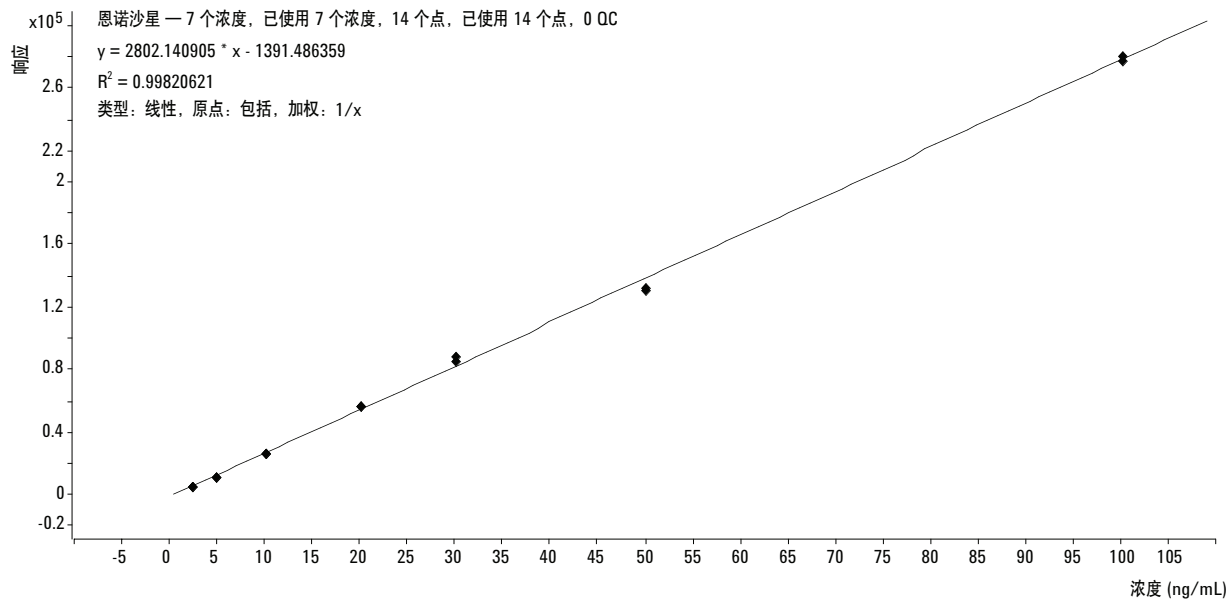
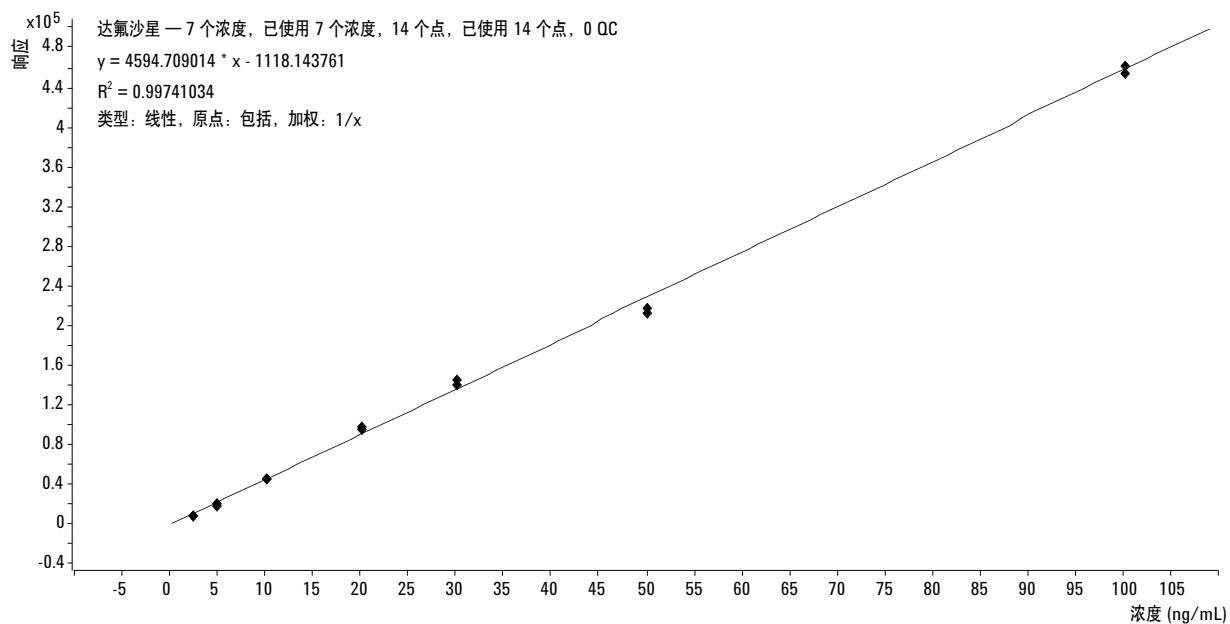
MRM 色谱图



基于参比基质的校准:

2.5-100 ppb (上样量 1.25-50 pg)





回收率结果总结

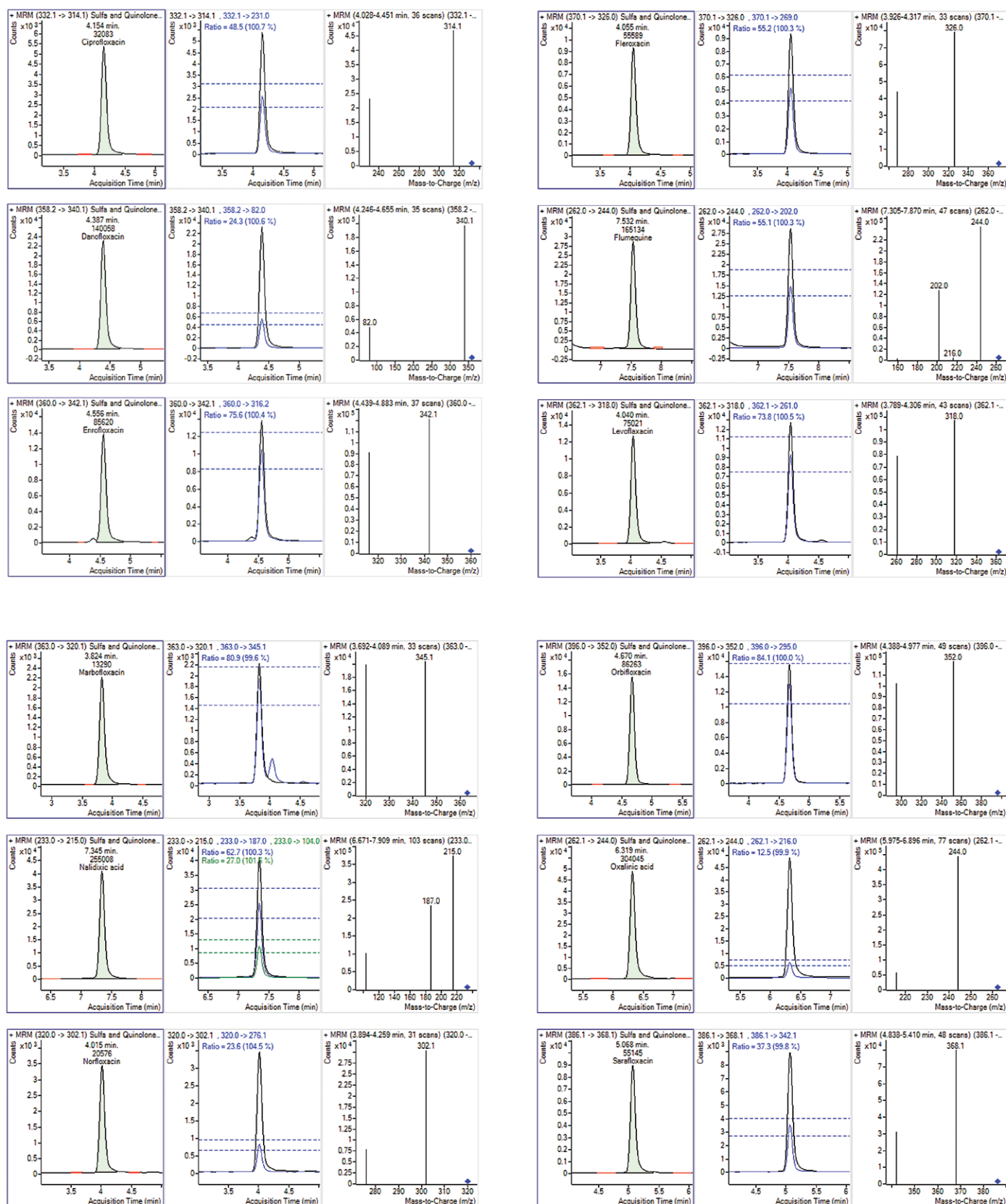
分析物	QC 加标 浓度 10 ng/g	QC 加标 浓度 15 ng/g	QC 加标 浓度 25 ng/g
环丙沙星	11.33	15.91	26.97
达氟沙星	10.65	16.19	27.87
恩诺沙星	10.66	15.70	27.02
氟罗沙星	10.57	15.95	27.63
氟甲喹	10.87	16.83	27.59
左氧氟沙星	10.72	15.93	26.73
马波沙星	11.21	16.25	26.44
萘啶酸	10.54	16.25	25.68
诺氟沙星	10.92	15.65	27.79
奥比沙星	10.65	15.65	24.78
恶喹酸	10.32	16.70	29.40
沙氟沙星	10.50	15.76	26.43
司帕沙星	10.26	15.52	24.87
磺胺氯哒嗪	10.25	15.86	24.40
磺胺嘧啶	10.01	15.20	24.49
磺胺地托辛	10.25	15.85	25.11
磺胺多辛	9.77	14.87	23.69
磺胺甲嘧啶	10.27	14.91	25.74
磺胺二甲嘧啶	9.95	15.27	26.37
磺胺甲二唑	9.40	14.99	25.04
磺胺甲恶唑	10.07	14.76	23.94
磺胺吡啶	9.85	15.48	25.50
磺胺喹噁啉	10.39	15.68	24.95
磺胺噻唑	9.80	14.89	23.42

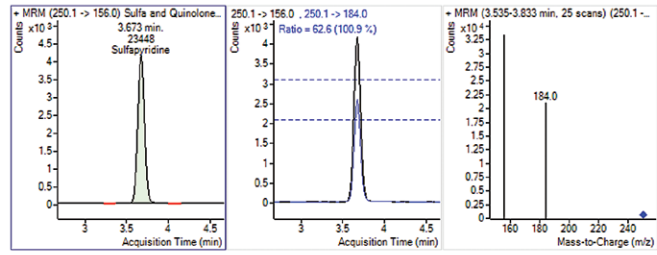
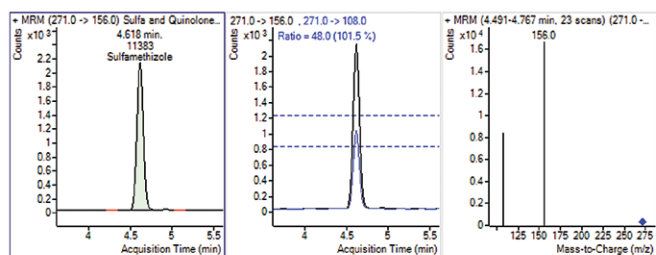
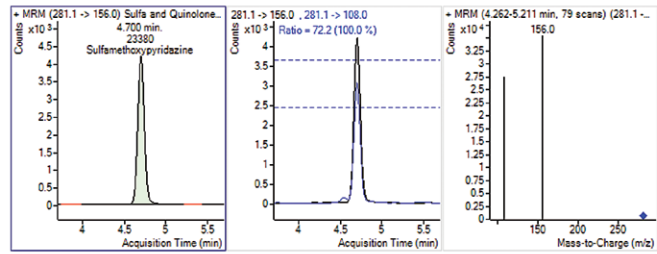
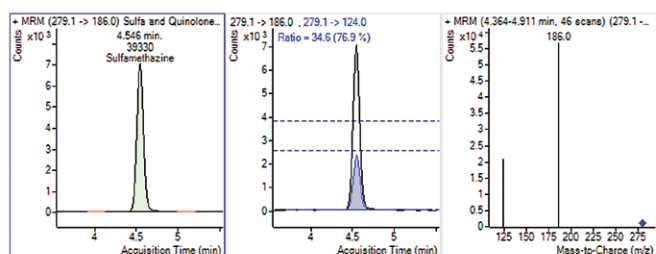
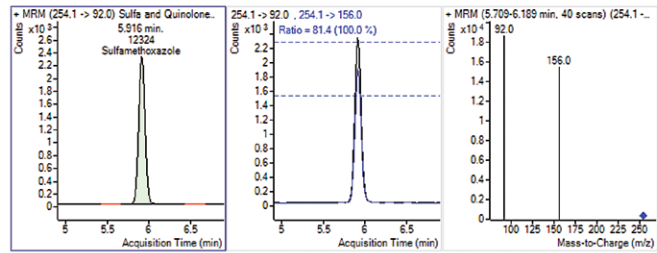
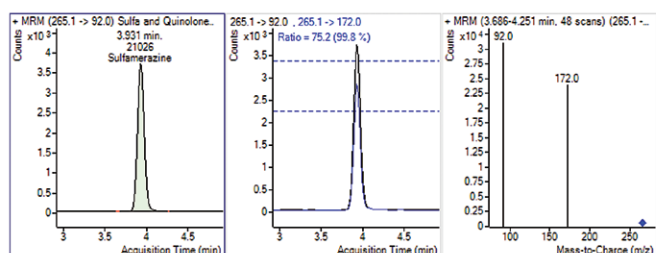
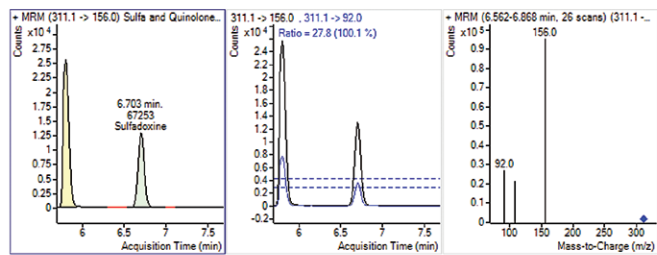
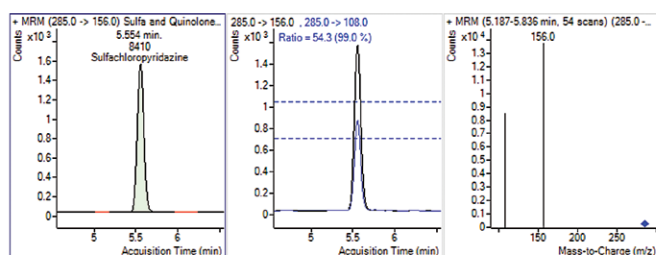
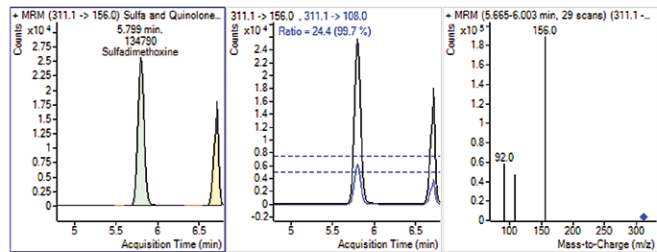
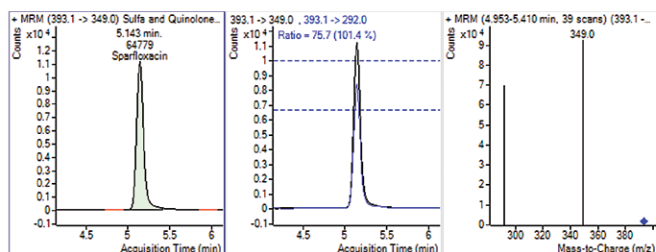
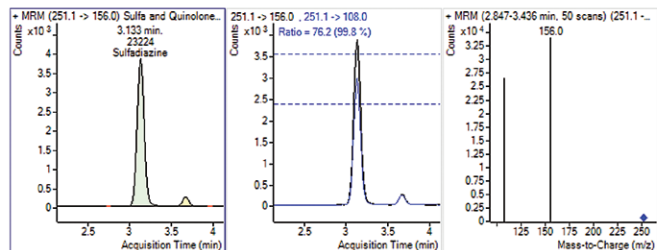
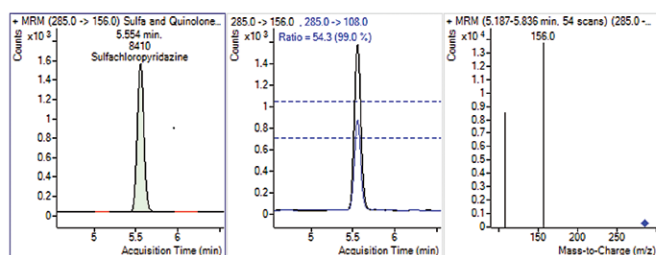
结论

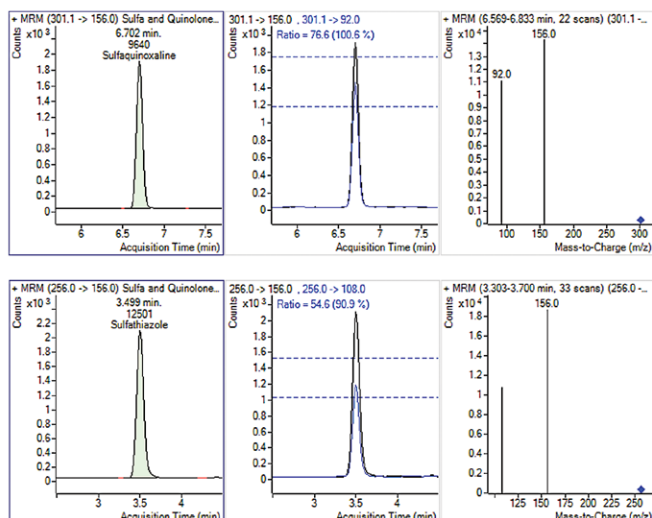
- 采用配备喷射流 ESI 的 Agilent 6460 三重四极杆液质联用系统在正离子模式下分析虾基质中的磺胺类和喹诺酮类药物
- 采用基质匹配校准标样补偿基质效应。对于所有 25 种磺胺类和喹诺酮类药物，所用的校准范围为 2.5-100 ppb（上样量为 1.25-50 pg）
- QuEChERS 方法用于样品净化流程
- 在三个浓度水平下进行加标研究，所有化合物的平均回收率均大于 98%

附录 — MRM 色谱图

附带定性离子和定量离子比







查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/erfq-cn



maps_agilent@agilent.com
www.solutions-to-win.com

安捷伦产品仅用于研究。不可用作诊断方法。
 本文中的信息、说明和技术指标如有变更,恕不另行通知。

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2014

2014年7月1日中国出版

5991-4870CHCN

The Measure of Confidence



Agilent Technologies