

用于三文鱼中兽药分析的快速样品前处理工作流程

使用 Agilent Captiva EMR-Lipid 和 LC/MS/MS

作者

Xia Yang

安捷伦科技有限公司

前言

开发了一种简单、快速、可靠的样品前处理工作流程和分析方法，用于分析三文鱼中七类 53 种药物。这些药物在欧洲、美国、加拿大和亚洲国家/地区应用广泛并受到相应监管^[1]。采用一步溶剂萃取法，然后利用 Agilent Captiva EMR-Lipid 进行通过式净化，实现了对多种兽药的分析，并获得了满意的回收率和精密度。

设备与材料

- Agilent Captiva EMR-Lipid 过滤柱，3 mL, 300 mg (部件号 5190-1003)
- SPEX 样品前处理 2010 Geno/Grinder (Metuchen, NJ, USA)
- Agilent Vac Elut 20 真空萃取装置，(部件号 12234101)
- Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 3.0 × 100 mm, 2.7 μ m (部件号 695975-302)
- Agilent 1290 Infinity 液相色谱
- 配备安捷伦喷射流电喷雾离子源的 Agilent 6495B 三重四极杆液质联用系统



样品前处理和优化

由于三文鱼中含有大量的水，因此加入 9 mL 80/5/5 乙腈 (ACN)/H₂O/甲酸 (FA) (相当于约 80/20 ACN/水的最终提取物)，以进行兽药萃取。考察了三种萃取溶剂 (含 2% FA、5% FA 以及不含 FA 的 H₂O)。含 5% FA 的萃取溶剂萃取能力最强，获得的回收率最佳 (图 1)。

方法验证

用于标准曲线的校准标样溶剂的配制浓度为 0.1、0.5、1、5、10、20、50 和 100 ng/g。包含孔雀石绿-D₃、隐性孔雀石绿-D₄ 和 氯霉素-D₆ 的内标混合物的加标浓度为 10 ng/g，用于对相应的分析物进行选择性校准。将标准溶液加入经相同样品前处理工作流程处理的基质空白中，建立基质匹配校准曲线。

图 1. 使用 Agilent Captiva EMR-Lipid 3 mL 过滤柱 (部件号 5190-1003) 进行三文鱼样品的萃取和净化

根据定量限和线性范围，将药物分为三组。将适量的标准工作溶液加入均质化三文鱼样品中，得到预加标的 QC 样品，其中涵盖低浓度、中等浓度和高浓度，各平行配制 6 份，分为第 1 组 (5 ppb/10 ppb/50 ppb)、第 2 组 (1 ppb/10 ppb/50 ppb) 和第 3 组 (1 ppb/5 ppb/50 ppb)。

线性

使用 Agilent MassHunter 定量分析软件处理数据。使用线性回归拟合和 1/x 加权得到兽药的校准曲线，其 R² 值均在 0.993–0.999 之间。

准确度和精密度结果

如图 3 所示，通过运行 3 个 QC 浓度下的加标样品来验证先进行 5% FA 和 80% ACN 一步式溶剂萃取，然后进行 Captiva EMR-Lipid 通过式净化的这一方法。该方法的回收率为 60%–120%。对于研究的 53 种兽药，在 3 个 QC 浓度下，96% 的回收率数据点位于 70%–120% 之间，仅 4% 的数据点位于 60%–70% 之间。

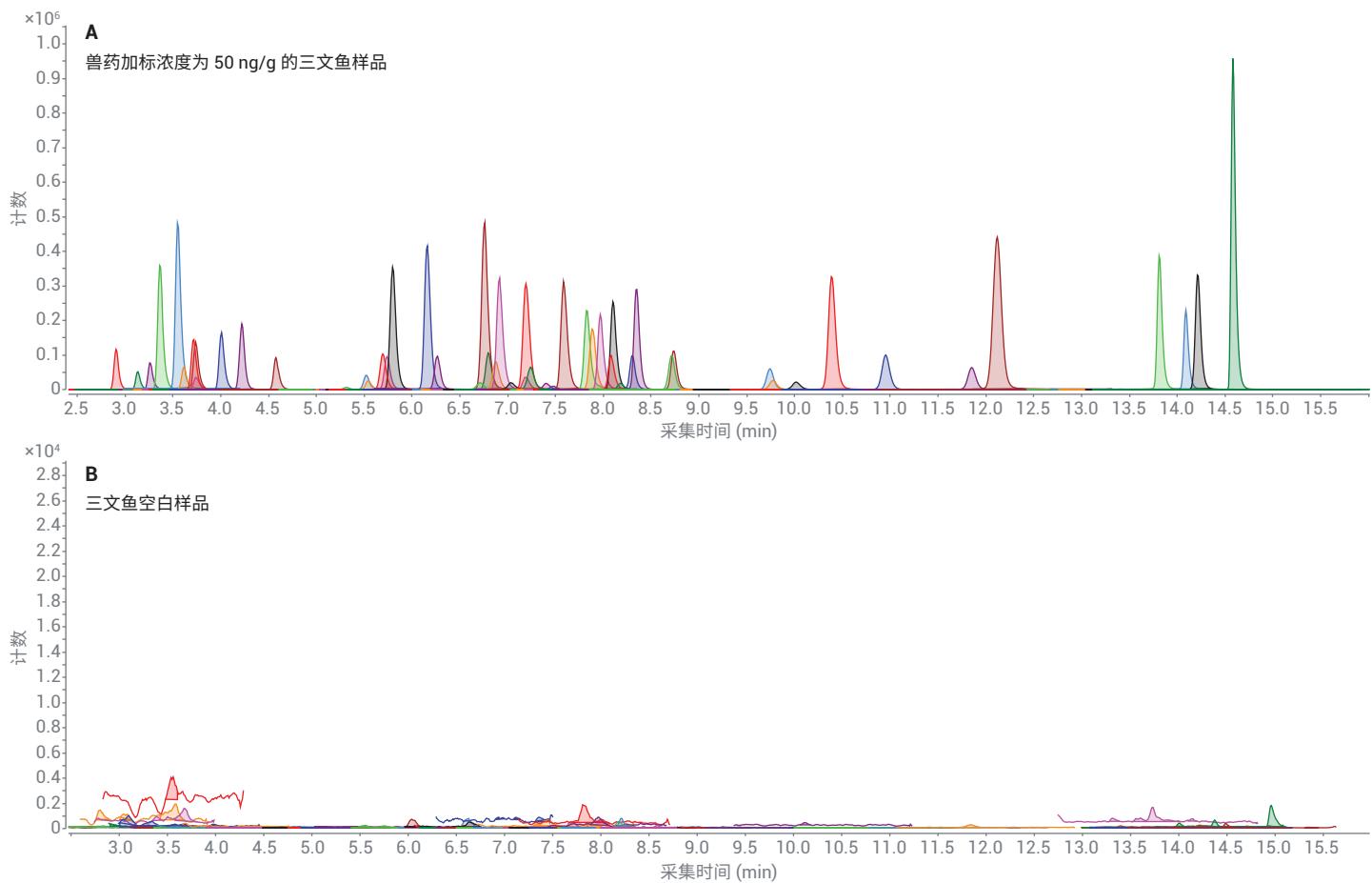


图 2. (A) 加标 50 ng/g 兽药标准品的三文鱼提取物和 (B) 三文鱼提取物基质空白的 LC/MS/MS 色谱图

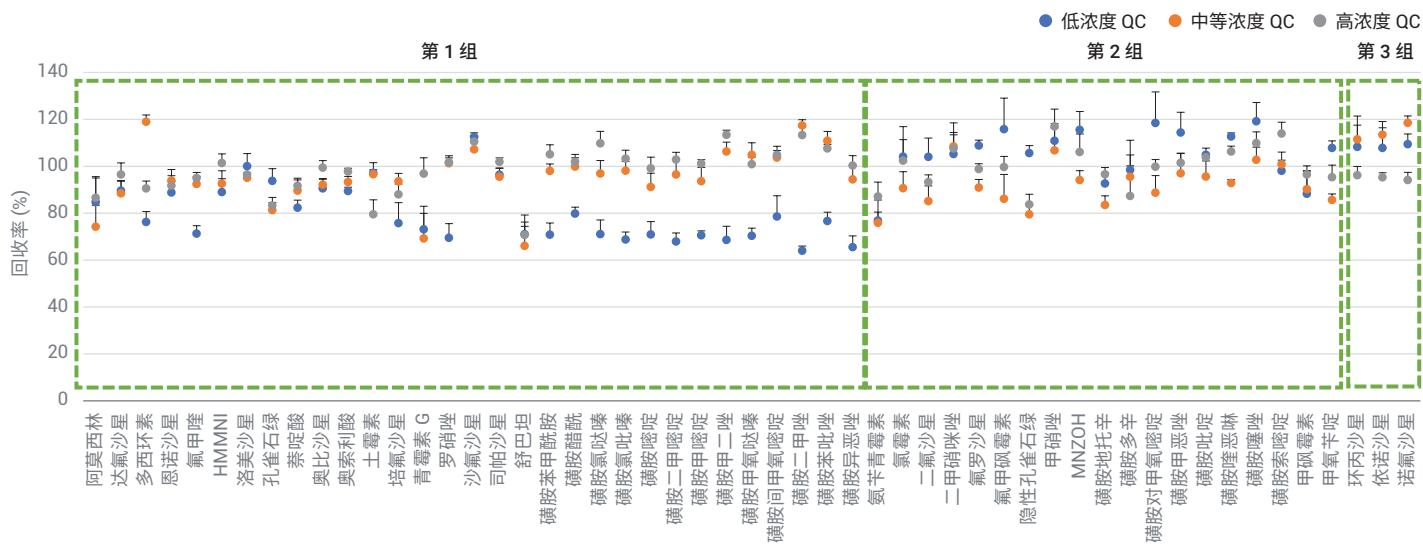


图 3. 考察的 53 种三文鱼兽药在 3 个 QC 浓度下的回收率和精密度数据

结论

本研究展示了一种用于分析三文鱼中多种兽药的简单、快速且稳定的样品前处理工作流程。该工作流程仅包含两个步骤：含 5% FA 的一步式 ACN 溶剂萃取，以及使用 Agilent Captiva EMR-Lipid 在重力作用下进行通过式净化。该方法为海产品中各类常规检测的兽药提供了可接受的回收率和 RSD。

参考文献

1. Love, D. C. et al. Veterinary drug residues in seafood inspected by the European Union, United States, Canada, and Japan from 2000 to 2009. *Environmental Science and Technology* **2011**, 45, 7232–7240

附录：MRM 参数

分类	分析物	保留时间 (min)	极性				
				定量 MRM	CE (V)	定性 MRM	CE (V)
磺胺类	磺胺苯甲酰胺	8.5	正	277.1 → 155.9	12	277.1 → 92.0	36
	磺胺醋酰	3.2	正	215.0 → 156.0	8	215.0 → 108.0	16
	磺胺氯哒嗪	6.7	正	285.0 → 156.0	12	285.0 → 108.1	24
	磺胺氯吡嗪	9.5	正	285.0 → 155.9	20	285.0 → 108.1	24
	磺胺嘧啶	3.7	正	251.1 → 92.1	28	251.1 → 108.1	20
	磺胺二甲嘧啶	5.6	正	279.1 → 92.1	38	279.1 → 186.1	12
	磺胺甲嘧啶	4.6	正	265.1 → 92.1	28	265.1 → 156.0	12
	磺胺甲二唑	5.7	正	271.0 → 92.0	29	271.0 → 156.0	9
	磺胺甲氧哒嗪	6.2	正	281.1 → 92.1	32	281.1 → 108.1	28
	磺胺间甲氧嘧啶	7.3	正	281.0 → 126.0	20	281.0 → 156.0	10
	磺胺二甲唑	5.4	正	268.1 → 155.9	20	268.1 → 112.5	24
	磺胺苯吡唑	9.4	正	315.1 → 158.1	40	315.1 → 92.0	40
	磺胺异恶唑	7.9	正	268.1 → 156.0	10	268.1 → 92.0	40
	磺胺地托辛	10.4	正	311.1 → 156.0	16	311.1 → 108.1	28
	磺胺多辛	7.7	正	311.1 → 156.0	16	311.1 → 92.1	32
	磺胺对甲氧嘧啶	5.5	正	281.1 → 92.0	40	281.1 → 215.1	20
	磺胺甲恶唑	7.1	正	254.1 → 92.1	24	254.1 → 156.0	12
	磺胺毗啶	4.2	正	250.1 → 92.0	29	250.1 → 156.0	17
	磺胺喹恶啉	11.2	正	301.1 → 156.0	16	301.1 → 92.0	32
	磺胺喹噁唑	4.0	正	256.0 → 156.0	12	256.0 → 92.1	28
	磺胺索嘧啶	3.8	正	279.1 → 124.1	20	279.1 → 186.0	20
	甲氧苄啶	5.6	正	291.2 → 261.1	24	291.2 → 123.1	24
四环素类	多西环素	6.5	正	445.2 → 410.0	24	445.2 → 428.1	16
	土霉素	6.8	正	461.2 → 426.1	14	461.2 → 201.1	48

分类	分析物	保留时间 (min)	极性				
				定量 MRM	CE (V)	定性 MRM	CE (V)
喹诺酮类	达氟沙星	7.7	正	358.2 → 340.1	20	358.2 → 82.1	48
	恩诺沙星	7.5	正	360.2 → 316.2	16	360.2 → 342.2	20
	氟甲喹	13.9	正	262.1 → 244.1	12	262.1 → 202.0	32
	洛美沙星	7.8	正	352.2 → 308.2	16	352.2 → 265.0	20
	萘啶酸	13.6	正	233.1 → 215.1	20	233.1 → 159.1	40
	奥比沙星	8.1	正	396.2 → 352.1	16	396.2 → 295.1	28
	奥索利酸	11.5	正	262.1 → 243.9	16	262.1 → 159.9	40
	培氟沙星	6.5	正	334.2 → 290.1	16	334.2 → 233.1	28
	沙氟沙星	8.4	正	386.1 → 368.1	20	386.1 → 342.1	20
	司帕沙星	9.8	正	393.2 → 349.0	20	393.2 → 375.2	20
	二氟沙星	8.0	正	400.1 → 299.1	32	400.1 → 382.1	20
	氟罗沙星	6.0	正	370.1 → 326.0	20	370.1 → 268.9	24
	环丙沙星	7.3	正	332.1 → 314.0	20	332.1 → 288.0	20
	依诺沙星	6.6	正	321.1 → 303.3	16	321.1 → 231.8	40
	诺氟沙星	6.9	正	320.1 → 302.1	20	320.1 → 282.1	40
硝基咪唑类	甲硝唑	3.4	正	172.0 → 128.0	13	172.0 → 82.0	25
	MNZOH	3.0	正	188.0 → 123.0	13	188.0 → 126.0	21
	HMMNI	3.3	正	158.0 → 140.0	18	158.0 → 55.0	13
	罗硝唑	3.8	正	201.0 → 140.0	9	201.0 → 55.0	25
	二甲硝咪唑	3.6	正	142.0 → 96.0	21	142.0 → 54.0	40
氯霉素类	氯霉素	9.8	负	321.0 → 151.9	21	321.0 → 257.0	9
	氟甲砜霉素	7.3	负	356.0 → 185.1	12	356.0 → 336.0	0
	甲砜霉素	5.3	负	354.0 → 289.9	8	354.0 → 185.0	16
β -内酰胺类	阿莫西林	3.8	正	366.1 → 349.1	4	366.1 → 114.1	32
	青霉素 G	14.0	正	335.1 → 160.1	8	335.1 → 176.0	8
	舒巴坦	3.8	负	232.0 → 140.1	12	232.0 → 64.1	44
	氨苄青霉素	8.0	正	350.0 → 106.0	16	350.0 → 114.0	36
孔雀石绿	孔雀石绿	14.3	正	329.3 → 313.3	40	329.3 → 284.0	50
	隐性孔雀石绿	14.2	正	331.2 → 239.2	28	331.2 → 316.2	20

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

www.agilent.com

本文中的信息、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, 2019
2019年7月2日, 中国出版
5994-1124ZHCN

