

甲砒霉素和氟苯尼考空白样品加标考察

黄保, 朱辉

(广州禾信仪器股份有限公司, 广东 广州 510530)

摘要: 在电喷雾电离源 (ESI) 条件下, 优化仪器的电压参数和鉴定甲砒霉素和氟苯尼考目标物的正负极性、特征离子峰等信息。利用优化好的参数, 对甲砒霉素和氟苯尼考的检测限进行测试, 评估在 ESI 模式下仪器的灵敏度能否达到可食动物肌肉、肝脏和水产品中甲砒霉素和氟苯尼考残留量的测定液相色谱-串联质谱法 (GB/T 20756-2006) 的法定检出限 (各 1 μ g/kg)。

关键词: 甲砒霉素; 氟苯尼考; 质谱

1 测试条件

1.1 实验样品

采用的标品为甲砒霉素和氟苯尼考标准品信息如下两表所示:

表一 甲砒霉素和氟苯尼考标准品测试信息

| 序号 | 样品 | 分子式 | 精确分子量 | CAS | 检测离子 (\pm) | 特征峰 m/z (精确值) | 来源 |
|----|------|----------------------------|-----------|------------|-------------------|------------------|------|
| 1 | 甲砒霉素 | $C_{12}H_{15}Cl_2NO_5S$ | 355.00477 | 15318-45-3 | $[M-H]^-$ | 353.99694 | 安诺提供 |
| 2 | 氟苯尼考 | $C_{12}H_{14}Cl_2FN_2O_4S$ | 357.00043 | 73231-34-2 | $[M-H]^-$ | 355.99260 | 安诺提供 |

表二 甲砒霉素和氟苯尼考在食品安全国家标准中的测试方法

| 标准 | 检测限 | 定量限 |
|---|--------------|-----|
| 可食动物肌肉、肝脏和水产品中甲砒霉素和氟苯尼考残留量的测定液相色谱-串联质谱法 (GB/T 20756-2006) | 1 μ g/kg | / |

1.2 实验仪器

ESI-TOF-9(L); 注射泵: LAP01-2A;

1.3 实验条件

- (1) 泵流速：5ul/min
- (2) 模式：ESI-，电压：-3600V
- (3) 气气压：0.3MPa
- (4) 口温度：240°C

2 实验方法

2.1 空白样品加标前处理方案

(1) 称取 5g 试样，精确至 0.01g，置于 50mL 聚丙烯离心管中，加入 30mL 氨化乙酸乙酯，匀质提取 30s，加入 5g 无水硫酸钠，涡旋混匀，4000r/min 离心 5min，上清液转移至 50mL 鸡心瓶中，在 45°C 旋转蒸发仪浓缩至干。加入 1mL 甲醇水【甲醇：水=4:1（体积比）】溶解残渣，涡旋混匀，过 0.22um 滤膜，上机检测。

b.0.5ug/L 的甲砒霉素甲醇溶液：移取 100uL 的 10ug/L 甲砒霉素甲醇溶液和 1900μL 的甲醇混匀即可。

(2) a.10ug/L 的氟苯尼考乙腈溶液：取 100uL 的 1mg/L 氟苯尼考乙腈溶液到 10mL 容量瓶中，再乙腈定容至刻度。

b.1ug/L 的氟苯尼考乙腈溶液：移取 200uL 的 10ug/L 氟苯尼考乙腈溶液和 1800uL 的乙腈混匀即可。

c.0.5ug/L 的氟苯尼考乙腈溶液：移取 100uL 的 10ug/L 氟苯尼考乙腈溶液和 1900uL 的乙腈混匀即可

2.2 具体操作方法

(1) 用 500μL 的平头进样针取 1mg/L 和 0.5ug/L 的甲砒霉素甲醇测试液，通过微量注射泵以 5ul/min 的流速进行进样，通过 1mg/L 浓度对标品进行特征峰检测和评估 0.5ug/L 的标品测试液质谱信号和乙腈空白的噪音，并记录实验结果。

(2) 用 500μL 的平头进样针取 1mg/L、1ug/L 和 0.5ug/L 的氟苯尼考乙腈测试液，通过微量注射泵以 5ul/min 的流速进行进样，通过 1mg/L 浓度对标品进行特征峰检测；在脉冲模式下评估 0.5ug/L 的标品测试液质谱信号和乙腈空白的噪音以及在直流模式下评估 1ug/L 的信噪比，并记录实验结果。

3 实验结果

3.1 1mg/L 和 0.5ug/L 的甲砒霉素实验结果

1) 结果如下图 1 所示, 浓度为 1mg/L 的甲砒霉素甲醇溶液以 5ul/min 速率进样单秒对应的质量为 83pg, 其检测到的分子离子峰主要为 353.9971、碎片峰为 290.0284 和 185.0244。

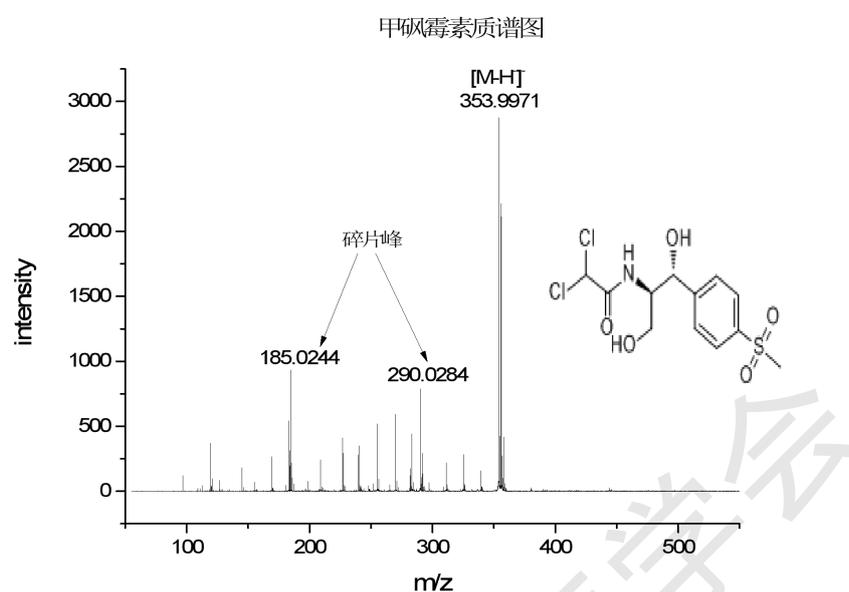


图 1 1mg/L 甲砒霉素质谱图

(2) 如下图 2 所示, 浓度为 0.5ug/L 的甲砒霉素甲醇溶液以 5ul/min 速率进样单秒对应的质量为 42fg, 其检测到质谱信号强度约为 22, 甲醇空白噪音约为 4, 信噪比 S/N 为 >3。

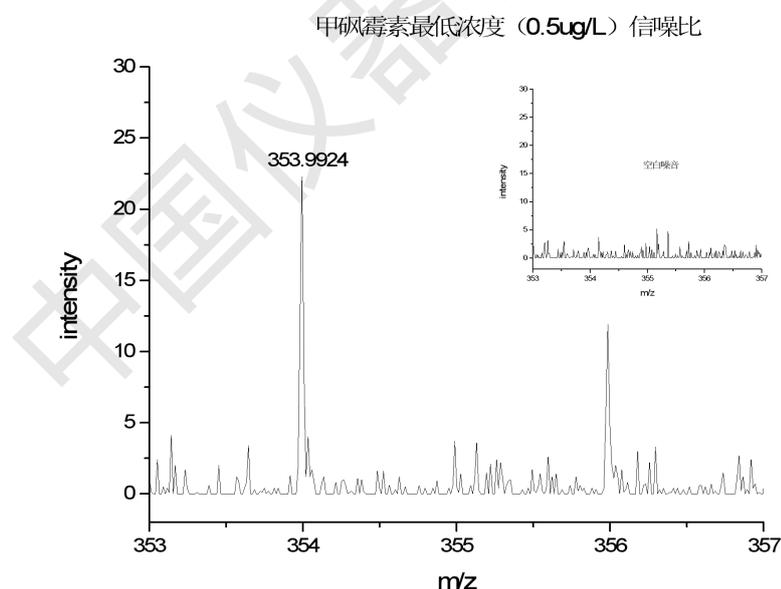


图 2 0.5ug/L 甲砒霉素溶液信噪比

3.2 1mg/L、1ug/L 和 0.5ug/L 的氟苯尼考实验结果

(1) 结果如下图 3 所示, 浓度为 1mg/L 的氟苯尼考乙腈溶液以 5ul/min 速率进样单秒对应的质量为 83pg, 其检测到的特征离子峰主要为 355.9902。

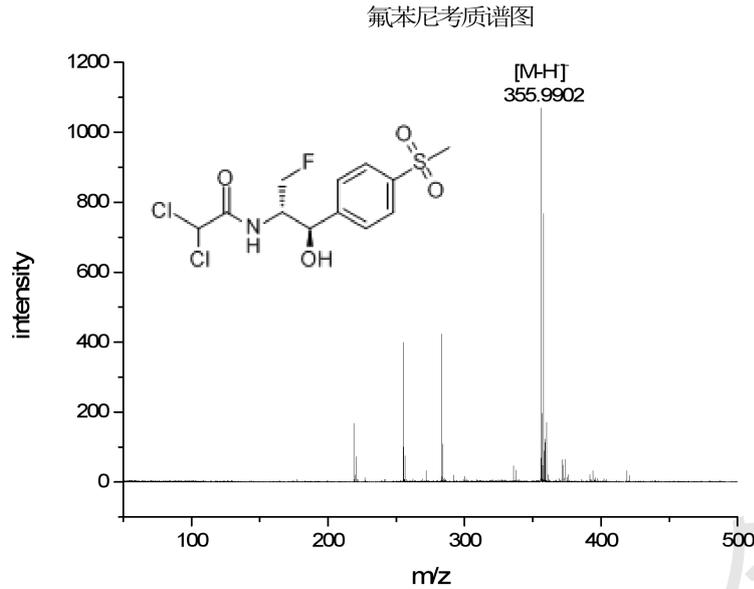


图3 1mg/L 氟苯尼考的质谱图

(2) 如下图4所示,浓度为1ug/L的氟苯尼考乙腈溶液以5ul/min速率进样单秒对应的质量为83fg,其在直流模式下检测到质谱信号强度约为18,乙腈空白噪音约为4,信噪比S/N为>3。

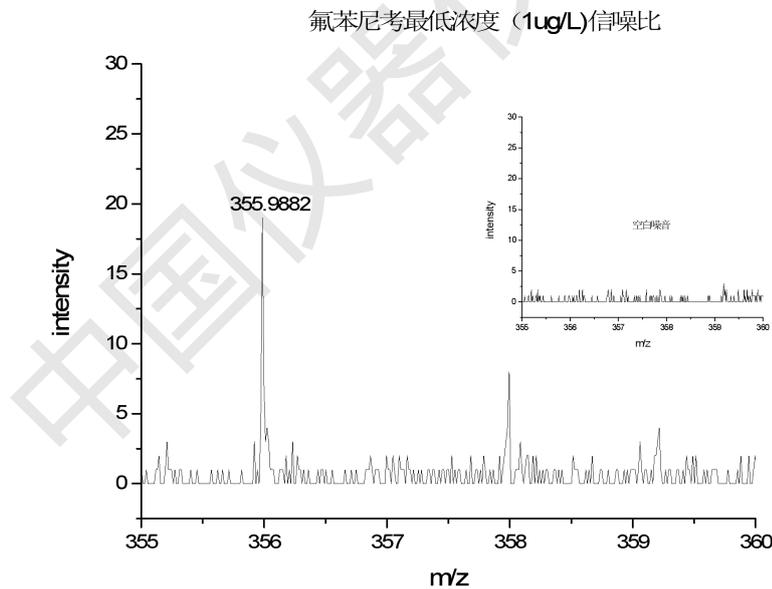


图4 1ug/L 氟苯尼考乙腈溶液在直流模式信噪比

(3) 结果如下图5所示,浓度为0.5ug/L的氟苯尼考乙腈溶液以5ul/min速率进样单秒对应的质量为42fg,其在脉冲模式下检测到质谱信号强度约为34,乙腈空白噪音约为5,信噪比S/N为>3。。

氟苯尼考在脉冲模式下最低浓度 (0.5ug/L) 信噪比

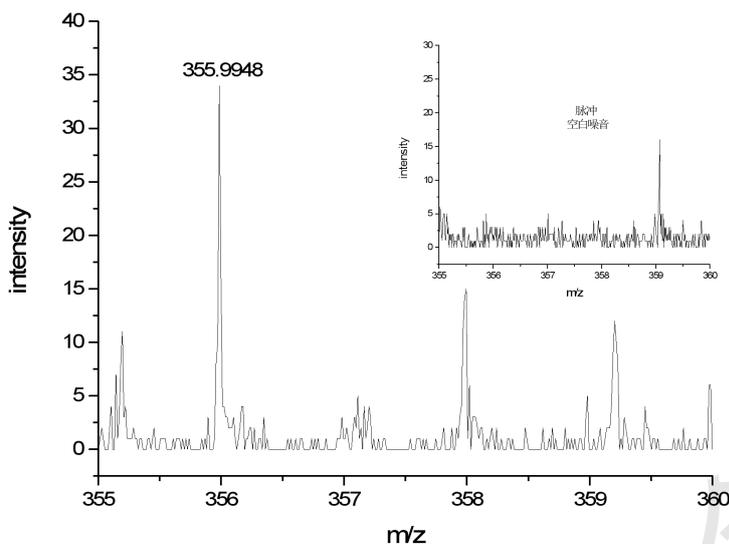


图 5 0.5ug/L 氟苯尼考在脉冲模式下信噪比

4 测试结论

1. 通过 ESI-TOF 测试甲砒氯霉素的最低检出限为 0.5ug/L，其信噪比大于 3；氟苯尼考在直流模式下最低检出限为 1ug/L，脉冲模式下最低检出限为 0.5ug/L，甲砒氯霉素和氟苯尼考都已达到可食动物肌肉、肝脏和水产品中甲砒霉素和氟苯尼考残留量的测定液相色谱-串联质谱法 (GB/T 20756-2006) (1ug/kg)。

附录

1. 可食动物肌肉、肝脏和水产品中甲砒霉素和氟苯尼考残留量的测定液相色谱-串联质谱法 (GB/T 20756-2006)
2. 甲砒霉素 ESI-TOF-9(L)负离子模式电压参数

| Capillary | Focus lens | Out plate | Sk1 | DCQ UP | DCQ DOWN | DCQ LEFT | DCQ RIGHT |
|----------------|------------|--------------|---------|-----------|-------------|----------|--------------|
| -100 | -100 | -60 | -20 | 11.5 | 11.5 | 10 | 11.5 |
| OUT ORIFICE | LENS UP | LENS DOWN | 脉冲 1 | 脉冲 2 | Com1 | 脉冲频率 | 脉冲宽度 |
| -5 | -4 | -3.96 | -950 | 950 | 0 | 10000 | 8 |
| Skimmer2 | Skimmer2 | Grid | B-plate | focus | Acce | Mcp | ESI |

| 模式 | | | | | | | |
|-------|--------|--------|-------------|-------------|--------|----------------|----------------|
| -10.5 | 直流 | 54.5 | -1143.0 | 525 | 4000 | 5650 | -3600 |
| 质谱口温度 | RFQ 频率 | MIR 频率 | RFQ 峰 峰值 | MIR 峰 峰值 | RFQ 偏置 | MIR_B 偏 置电压 | MIR_E 偏 置电压 |
| 240°C | 1.4M | 700K | 500 | 150 | -14.0 | -75 | -51.5 |

氟苯尼考 ESI-TOF-9(L)负离子模式电压参数

| Capillary | Focus lens | Out plate | Sk1 | DCQ UP | DCQ DOWN | DCQ LEFT | DCQ RIGHT |
|-----------------------|-------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|----------------|----------------|
| -100 | -100 | -58 | -20 | 11.5 | 11.5 | 10 | 11.5 |
| OUT ORIFICE | LENS UP | LENS DOWN | 脉冲 1 | 脉冲 2 | Com1 | 脉冲频率 | 脉冲宽度 |
| -5 | -4 | -3.96 | -950 | 950 | 0 | 10000 | 8 |
| SkimmerH/ SkimmerL | Skimmer2 模式 | Grid | B-plate | focus | Acce | Mcp | ESI |
| -10.5/-16 | 直流/脉冲 | 54.5 | -1143.0 | 525 | 4000 | 5650 | -3600 |
| 质谱口温度 | RFQ 频率 | MIR 频率 | RFQ 峰 峰值 | MIR 峰 峰值 | RFQ 偏置 | MIR_B 偏 置电压 | MIR_E 偏 置电压 |
| 240°C | 1.4M | 700K | 700 | 180 | -14.0 | -75 | -51.5 |
| 脉冲延时 | Skimmer 脉宽(us) | | | | | | |
| 35.5 | 45.4 | | | | | | |