

液相色谱飞行时间质谱联用仪测定硝基呋喃类代谢物

朱辉, 黄保

(广州禾信仪器股份有限公司, 广东 广州 510530)

摘要: 利用优化好的参数, 对硝基呋喃类的检测限进行测试。测试结果表明: 对硝基呋喃代谢物(呋喃唑酮、呋喃它酮、呋喃西林和呋喃妥因)进行最低检出限检测, 发现只有呋喃唑酮的检出限能达到动物源性食品中硝基呋喃类药物代谢物残留量高效液相色谱-串联质谱法(GB/T 21311-2007)和猪肉、牛肉、鸡肉、猪肝和水产品中硝基呋喃类代谢物残留量的测定。

关键词: 硝基呋喃类; 检出限

在电喷雾电离源(ESI)条件下, 优化仪器的电压参数和鉴定硝基呋喃类四种目标物(呋喃唑酮、呋喃它酮、呋喃妥因和呋喃西林)的正负极性、特征离子峰等信息。

利用优化好的参数, 对硝基呋喃类的检测限进行测试, 评估其在未衍生化情况下, 在ESI模式下仪器的灵敏度能否达到(GB/T 21311-2007)动物源性食品中硝基呋喃类药物代谢物残留量高效液相色谱-串联质谱法的法定检出限要求(0.5ug/kg)和(GB/T 20752-2006)猪肉、牛肉、鸡肉、猪肝和水产品中硝基呋喃类代谢物残留量的测定液相色谱-串联质谱法的法定检出限要求(0.5ug/kg), 以便于查找下一步解决方法。

1 测试条件

1.1 实验样品

采用的标品为硝基呋喃代谢物标准品信息如下两表所示:

表一 硝基呋喃代谢物标准品测试信息

序	样品	分子式	精确分子	CAS	检测离子	特征峰	来源
1	呋喃唑酮代	C ₃ H ₆ N ₂ O ₂	102.04291	80-65-9	[M+H] ⁺	103.05074	安诺提
2	呋喃它酮代 谢物	C ₈ H ₁₅ N ₃ O ₃	201.11132	43056-63-9	[M+H] ⁺ [M+Na] ⁺	202.11914 224.10112	安诺提 供
3	呋喃西林	CH ₅ N ₃ O	75.04324	57-56-7	[M+H] ⁺	76.05107	安诺提

4	呋喃妥因	C ₃ H ₅ N ₃ O ₂	115.03816	无	[M+H] ⁺	116.04598	安诺提
---	------	---	-----------	---	--------------------	-----------	-----

表二 硝基呋喃类代谢物在食品安全国家标准中的测试方法

标准	检测限	定量
动物源性食品中硝基呋喃类药物代谢物残留量高效液相色谱-串联质谱法 (GB 31518-2015)	0.5ug/kg	/
猪肉、牛肉、鸡肉、猪肝和水产品中硝基呋喃类代谢物残留量的测定 液 (GB 31518-2015)	0.5ug/kg	/

1.2 实验仪器

ESI-TOF-9(L); 注射泵: LAP01-2A;

1.3 实验条件

微量注射泵流速: 5ul/min

电离模式: ESI+, 电压: 4000V

雾化气气压: 0.3MPa

进样口温度: 240°C

2 实验方法

2.1 标品配制

10mg/L 呋喃唑酮代谢物溶液: 取 80uL 的 500mg/L 呋喃唑酮代谢物储备液和 3920uL 甲醇混匀即可。

100ug/L 呋喃唑酮代谢物溶液: 取 40uL 的 10mg/L 的呋喃唑酮代谢物溶液和 3960uL 甲醇混匀即可。

0.5ug/L 呋喃唑酮代谢物溶液: 从 1ug/L 呋喃唑酮代谢物溶液用甲醇稀释一倍即可。

10mg/L 的呋喃它酮代谢物溶液: 取 200uL 的 200mg/L 呋喃它酮代谢物储备液和 3800uL 甲醇混匀即可。

100ug/L 呋喃它酮代谢物溶液: 取 40uL 的 10mg/L 的呋喃它酮代谢物溶液和 3960uL 甲醇混匀即可。

10ug/L 呋喃它酮代谢物溶液: 取 400uL 的 100ug/L 的呋喃它酮代谢物溶液和 3600uL 甲醇混匀即可。

10mg/L 呋喃西林代谢物溶液: 取 80uL 的 500mg/L 呋喃西林代谢物储备液和 3920uL 甲醇混匀即可。

100ug/L 呋喃西林代谢物溶液: 取 40uL 的 10mg/L 的呋喃西林代谢物溶液和 3960uL 甲

醇混匀即可。

10mg/L 的呋喃妥因代谢物溶液：取 80uL 的 500mg/L 呋喃妥因代谢物储备液和 3920uL 甲醇混匀即可。

1mg/L 呋喃妥因代谢物溶液：取 400uL 的 10mg/L 的呋喃妥因代谢物溶液和 3600uL 甲醇混匀即可。

2.2 具体操作方法

用 500 μ L 的平头进样针取 10mg/L 和 0.5ug/L 的呋喃唑酮代谢物甲醇测试液，通过微量注射泵以 5ul/min 的流速进行进样，通过 10mg/L 浓度对标品进行特征峰检测和评估 0.5ug/L 的标品在脉冲模式下测试其质谱信号和甲醇空白的噪音，并记录实验结果。

用 500 μ L 的平头进样针取 10mg/L 和 10ug/L 的呋喃它酮代谢物甲醇测试液，通过微量注射泵以 5ul/min 的流速进行进样，通过 10mg/L 浓度对标品进行特征峰检测和评估 10ug/L 的标品在脉冲模式下测试其质谱信号和甲醇空白的噪音，并记录实验结果。

用 500 μ L 的平头进样针取 10mg/L 和 100ug/L 的呋喃西林代谢物甲醇测试液，通过微量注射泵以 5ul/min 的流速进行进样，通过 10mg/L 浓度对标品进行特征峰检测和评估 100ug/L 的标品测试液质谱信号和甲醇空白的噪音，并记录实验结果。

用 500 μ L 的平头进样针取 10mg/L 和 1mg/L 的呋喃妥因代谢物甲醇测试液，通过微量注射泵以 5ul/min 的流速进行进样，通过 10mg/L 浓度对标品进行特征峰检测和评估 1mg/L 的标品测试液质谱信号和甲醇空白的噪音，并记录实验结果。

3 实验结果

3.1 10mg/L 和 0.5ug/L 的呋喃唑酮代谢物实验结果

结果如下图 1 所示，浓度为 10mg/L 的呋喃唑酮甲醇溶液以 5ul/min 速率进样单秒对应的质量为 830pg，其检测到的特征离子峰主要为 $[M+H]^+$ ：103.0778、 $[M+Na]^+$ ：125.0523、 $[2M+Na]^+$ ：227.1167。

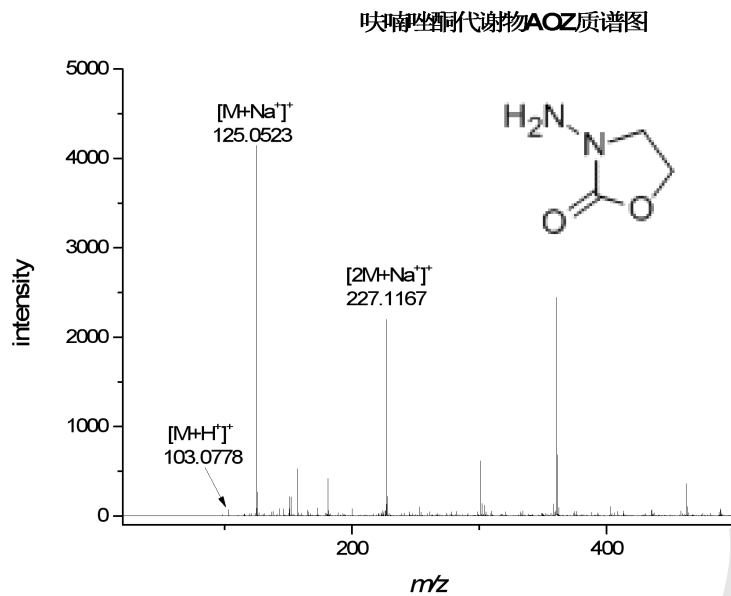


图 1 10mg/L 呋喃唑酮代谢物质谱图

如下图 2 所示，浓度为 0.5ug/L 的呋喃唑酮代谢物甲醇溶液以 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 68，甲醇空白噪音约为 8，信噪比 S/N 为 >3。

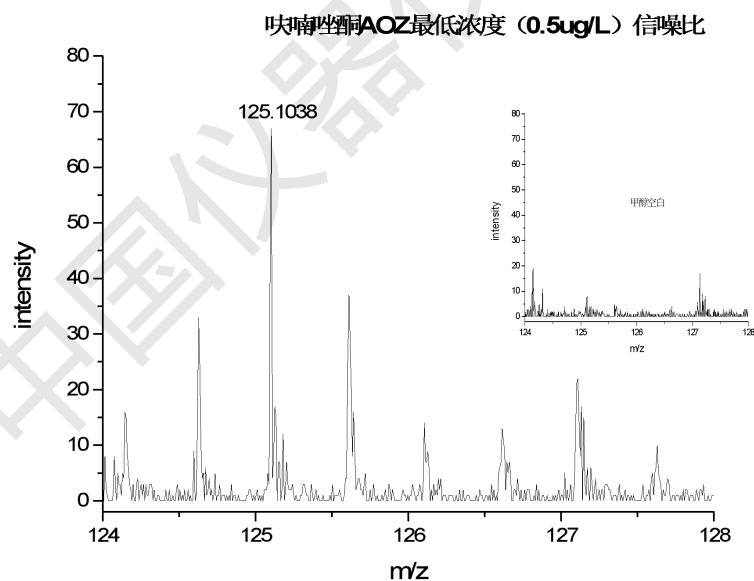


图 2 0.5ug/L 呋喃唑酮代谢物溶液脉冲模式下信噪比

3.2 10mg/L 和 10ug/L 的呋喃唑酮代谢物实验结果

结果如下图 3 所示，浓度为 10mg/L 的呋喃唑酮代谢物甲醇溶液以 5ul/min 速率进样单秒对应的质量为 830pg，其检测到的特征离子峰主要为 $[M+H]^+$: 202.1591、 $[M+Na]^+$: 224.1400、 $[2M+Na]^+$: 425.2733。

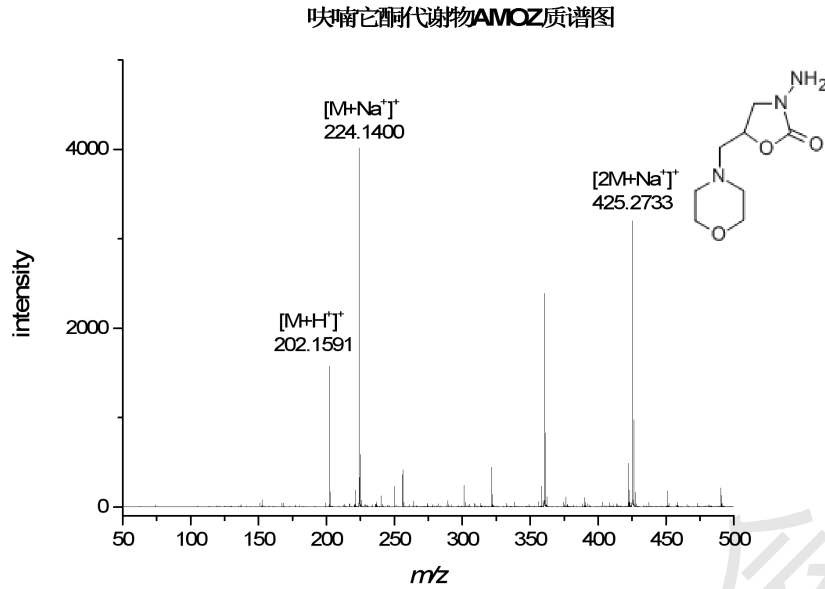


图 3 10mg/L 呋喃它酮代谢物质谱图

如下图 4 所示,浓度为 10 μ g/L 的呋喃它酮代谢物甲醇溶液以 5 μ l/min 速率进样单秒对应的质量为 833fg, 其在脉冲模式下检测到质谱信号强度约为 23, 甲醇空白噪音约为 6, 信噪比 S/N 为 >3。

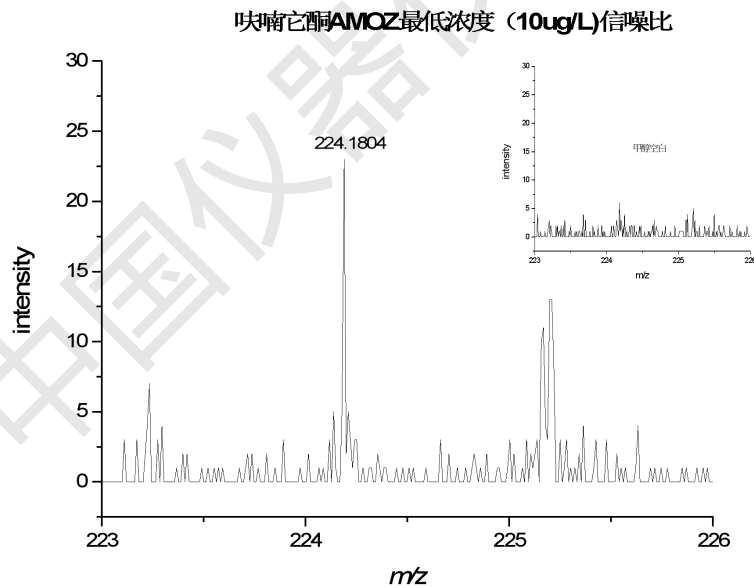


图 4 10 μ g/L 呋喃它酮代谢物溶液脉冲模式信噪比

3.3 10mg/L 和 100 μ g/L 的呋喃西林代谢物实验结果

结果如下图 5 所示,浓度为 10mg/L 的呋喃西林代谢物甲醇溶液以 5 μ l/min 速率进样单秒对应的质量为 830pg, 其检测到的特征离子峰主要为[M+H]⁺: 76.0674。

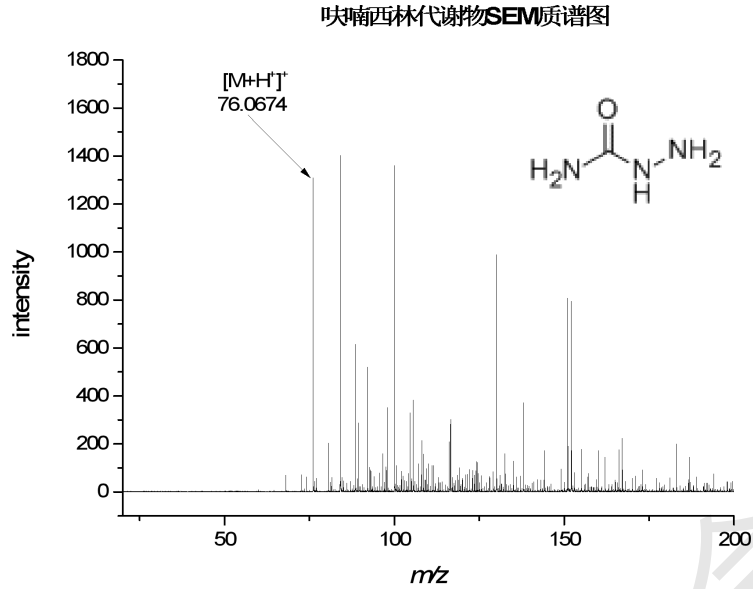


图 5 10mg/L 呋喃西林代谢物质谱图

结果如下图 6 所示，浓度为 100ug/L 的呋喃西林代谢物甲醇溶液以 5ul/min 速率进样单秒对应的质量为 8.3pg，其在直流模式下检测到质谱信号强度约为 23，甲醇空白噪音约为 4，信噪比 S/N 为 >3。

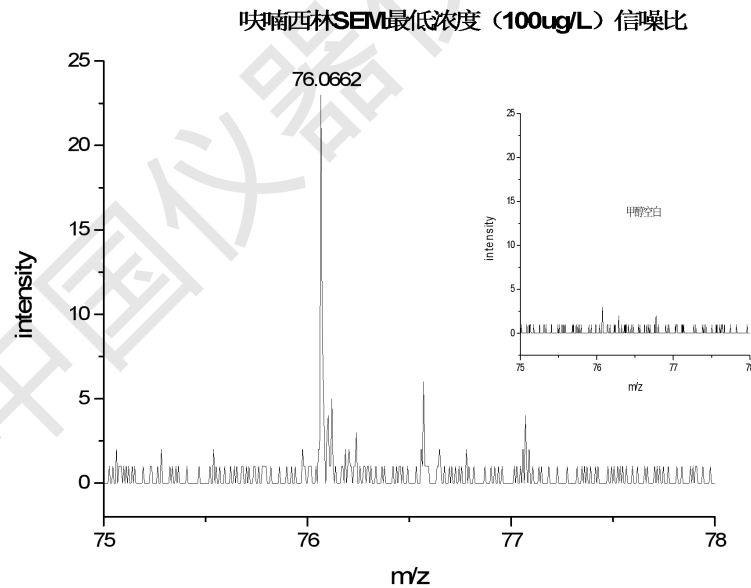


图 6 100ug/L 呋喃西林代谢物信噪比

3.4 10mg/L 和 1mg/L 的呋喃妥因代谢物实验结果

结果如下图 7 所示，浓度为 10mg/L 的呋喃妥因代谢物甲醇溶液以 5ul/min 速率进样单秒对应的质量为 830pg，其检测到的特征离子峰主要为 116.0843。

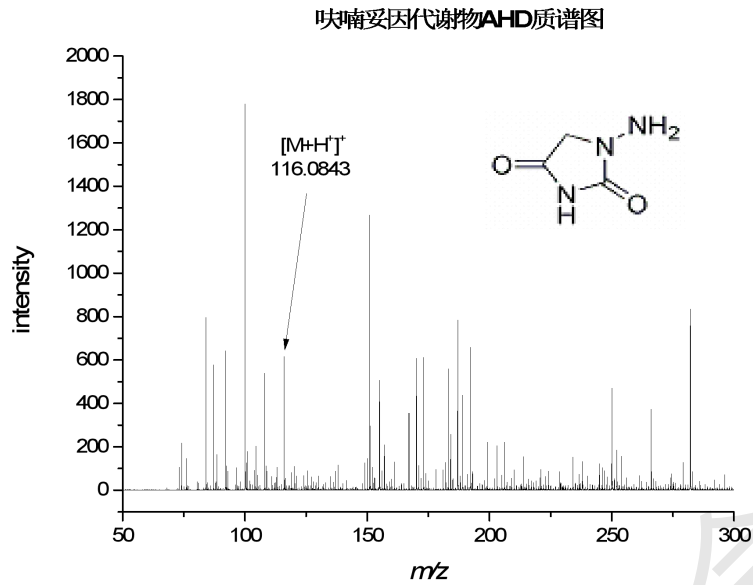


图 7 10mg/L 呋喃妥因代谢物质谱图

结果如下图 8 所示，浓度为 1mg/L 的呋喃妥因代谢物甲醇溶液以 5 μ l/min 速率进样单秒对应的质量为 83.3pg，其在直流模式下检测到质谱信号强度约为 27，甲醇空白噪音约为 4，信噪比 S/N 为>3。

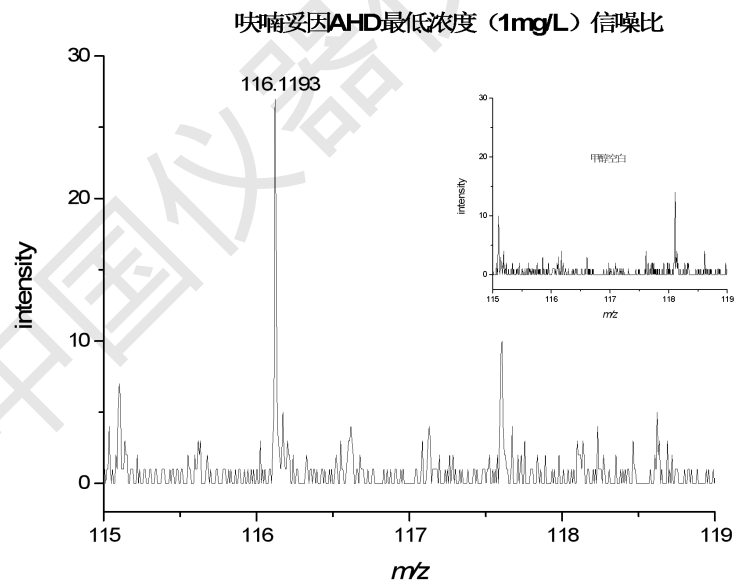


图 8 1mg/L 呋喃妥因代谢物直流模式下信噪比

4 测试结论

在 ESI 正离子模式下，对硝基呋喃代谢物（呋喃唑酮、呋喃它酮、呋喃西林和呋喃妥因）进行最低检出限检测，发现只有呋喃唑酮的检出限能达到动物源性食品中硝基呋喃类药物代谢物残留量高效液相色谱-串联质谱法（GB/T 21311-2007）和猪肉、牛肉、鸡肉、猪肝和水

产品中硝基咪唑类代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法（GB/T 20752-2006）的法定检出限标准（0.5ug/kg），其他的都未能达到要求（AMOZ 最低检出浓度为 10ug/L；SEM 为 100ug/L；AHD 为 1mg/L）。在负离子模式下 10mg/L 都未检测到相应离子。

因硝基咪唑代谢物分子量小，不利于质谱检测，同时产生也较难产生碎片。另外其离子化效率低，使其灵敏度无法达到测试要求。

附录

1.动物源性食品中硝基咪唑类药物代谢物残留量高效液相色谱-串联质谱法（GB/T 21311-2007）

2.猪肉、牛肉、鸡肉、猪肝和水产品中硝基咪唑类代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法（GB/T 20752-2006）

3.ESI-TOF-9(L)电压参数

1) 相同部分电压

中低压	正 (V)	高压	正 (V)	脉冲	正 (V)
capillary	100	Grid	-48.4	脉冲 1	950
Focus Lens	100	B-plate	1143.5	脉冲 2	-950
DCQ Up	-12	Focus	-525	COM	24
DCQ Down	-11.5	ACCE	-4000	SkimmerL/Ski mmerH	11
DCQ Left	-10	MCP	2300	脉冲频率	10KHz
DCQ Right	-11.5	ESI	4000	脉冲宽度	8us
Out Orifice	5	RFQ 频率	1.4MHz	温度	240°C
Lens Up	4	MIR 频率	700KHz	/	/
Lens Down	4.05	RFQ 偏置	13.5	/	/

2) 各目标物电压异值

ESI+参数	AOZ	AMOZ	SEM	AHD
Out-Plate(V)	41	41	41	42
Sk1(V)	19	19	19	19

脉冲模式 skimmerH (V)	17	17	/	17
脉冲延时(us)	23	26	/	24
Skimmer 脉宽 (us)	73	74	/	73
RFQ-V _{p-p} (V)	200	200	250	250
MIR-V _{p-p} (V)	90	90	50	50
MIR_B(V)	55	55	55	55
MIR_E(V)	28.5	25	27	30.5

中国仪器仪表表学会