

全新一代三重四极杆液质联用仪 TSQ Altis 高灵敏分析痕量 19 种磺胺

郭藤 王伟 唐恺 吕晨 彭蜀莹 徐牛生
赛默飞世尔科技（中国）有限公司

摘要

本文建立了针对农业部 235 公告和国标方法中常见磺胺的超高效液相三重四极杆串联质谱分析方法。优化后的色谱条件：Thermo Fisher Hypersil GOLD C18 色谱柱（2.1 × 100 mm, 1.9 μm），甲醇-水（均含 0.05% 乙酸）为流动相，流速 0.25 mL/min，柱温 35 °C。采用 ESI 源，扫描方式为选择反应监测（SRM）。结果表明：TSQ Altis 测定 19 种磺胺其中 17 种 LOD 达 0.001 ng/mL，另外两种为 0.005 ng/mL，均取得了很好的灵敏度。在 0.1 ng/mL 低浓度水平下连续进样 8 针，19 种磺胺 RSD 均 ≤ 4.5%，具有非常好的重现性。19 种磺胺在 0.01 ng/mL ~ 100 ng/mL 浓度范围呈良好的线性关系， $R^2 > 0.99$ 。采用该方法对基质样品进行分析，灵敏度和重现性结果良好。

关键词

三重四极杆质谱；TSQ Altis；磺胺；TraceFinder

前言

磺胺类药物（Sulfonamides, SAs）是人工合成的具有对氨基苯磺酰胺结构的一类抗菌药物的总称，广泛应用于畜牧和牛乳生产中，用来预防和治疗细菌性疾病。磺胺类药物对人体具有潜在的危害和毒副作用，均有一定抗原性，容

易引起过敏反应，诱导人体产生耐药性菌株，降低人体免疫力，甚至诱发癌症等。

目前，世界各国对磺胺类药物的残留问题非常重视，国际食品法典委员会（CAC）和欧美等许多国家规定，食品中 SAs 总量以及磺胺二甲嘧啶等单个磺胺的最大残留限量（MRL）不得超过 0.1 mg/kg。2006 年，日本“肯定列表制度”规定，部分磺胺药物的残留量为 0.01 mg/kg。我国农业部第 235 号公告中，规定磺胺类药物在牛奶中的总量不得超过 100 μg/L，单个磺胺二甲嘧啶在牛奶中的最高残留量为 25 μg/L。

LC-MS/MS 是分析动物源性食品中残留磺胺的重要方法，具有很高的灵敏度和选择性。本文建立了利用全新一代串联质谱 TSQ Altis 分析 19 种磺胺类药物的方法，该方法契合国家标准法规要求，并取得了很好的灵敏度、重现性和线性范围结果。实际样品分析结果满意，可用于动物源食品中痕量痕量磺胺类药物的准确定量分析。

1. 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

Thermo Fisher Vanquish Binary Flex 超高效液相色谱；
Thermo Fisher TSQ Altis 三重四极杆质谱，配 ESI 源；
Thermo Fisher Hypersil GOLD C18 色谱柱（2.1 × 100 mm，

1.9 μm)。19 种磺胺标准品 (纯度大于 98.5%, Dr. Ehrenstorfer Gm bH); 乙腈 (色谱纯, ThermoFisher); 甲醇 (色谱纯, Thermo Fisher); 乙酸 (色谱纯, Thermo Fisher); 除有说明, 所用水均为超纯水。

1.2 实验方法

1.2.1 仪器条件

色谱柱: Hypersil GOLD C18 (2.1 \times 100 mm, 1.9 μm); 流速: 0.25 mL/min; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 10 μL 。流动相及洗脱梯度程序见表 1。

表 1. 流动相梯度洗脱程序

时间 /min	A: 水	B: 甲醇	流速: $\mu\text{L}/\text{min}$
0.00	95	5	250
0.50	95	5	250
10.0	20	80	250
12.0	20	80	250
12.1	95	5	250
14.0	95	5	250

质谱条件: ESI 源, 毛细管电压 3.5 kV (+); 雾化温度 400 $^{\circ}\text{C}$; 离子传输管温度 320 $^{\circ}\text{C}$; 鞘气: N_2 , 55 arb; 辅助气: N_2 , 5 arb; 碰撞气: 高纯 Ar, 2.0 mTorr; 扫描模式: SRM。19 种磺胺的监测离子对、S-lens 电压以及碰撞能等参数见表 2。

表 2. 19 种磺胺 SRM 参数

化合物	母离子	子离子	碰撞能	Tube Lens
Sulfacetamide	215.1	156.0*/96.1/108.1	10/19/23	61
Sulfapyridine	249.9	156.0*/108.0/184.0	16/24/17	52
Sulfadiazine	250.9	156*/108.0/92.1	15/23/26	51
Sulfamethoxazole	254.0	156.1*/108.1/92.1	16/23/26	48
Sulfathiazole	255.9	156.1*/108.1/92.1	14/23/25	48
Sulfamerazine	265.1	108.1*/156.0/172.0	25/16/16	54
Sulfamoxol	268.1	156.0*/108.1/113.0	16/24/19	51
Sulfamethizole	271.0	156.0*/108.1/92.1	14/23/25	44
Sulfabenzamide	277.0	156.0*/108.1/92.1	12/22/25	40
Sulfachloropyridazine	285.1	156.0*/108.1/92.1	15/23/26	48
Sulfaquinoxaline	301.0	156.0*/108.1/92.1	16/25/28	60
Sulfaphenazole	315.0	158.1*/156.1/222.1	26/20/19	68
Sulfamethoxyipyridazine	281.1	108.1*/156.1/92.1	25/27/25	56
Sulfamer	281.0	156.0*/108.1/215.1	17/25/18	56
Sulfamonomethoxine	281.2	156.0*/108.1/126.0	17/25/20	56
Sulfisomidine	279.0	124.1*/108.1/186.0	23/28/17	60
Sulfamethazine	279.2	124.2*/156.1/204.1	23/20/10	60
Sulfadimethoxine	311.0	156.0*/108.1/245.0	18/26/18	62
Sulfadoxine	311.1	156.1*/108.1/92.0	18/26/29	62

2. 结果与讨论

2.1 质谱条件的优化

为得到最优的质谱参数, 本文采用“T”三通流动注射泵连续进样方式, 对 19 种磺胺的源条件和质谱参数进行优化, Tune 软件可自动监控多种化合物的信号强度和喷雾稳定性, 对鞘气、辅助气、喷雾电压、碰撞能量进行同时优化,

因此可以得到保证所有化合物喷雾稳定和信号最优的质谱条件。此外, Tune 软件还具有 Autosampler 自动优化功能, 设定好方法程序, 仪器可自动完成优化, 对于大规模化合物优化和方法建立高效方便。

2.2 仪器灵敏度、线性范围和精密度

将高浓度标准品逐级稀释，配制成系列标准曲线：0.001 ng/mL、0.0025 ng/mL、0.005 ng/mL、0.01 ng/mL、0.05 ng/mL、0.1 ng/mL、0.5 ng/mL、1 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL。用 Altis 分析，考察仪器灵敏度、重现性和线性范围。结果表明 19 种磺胺 LOQ ($S/N \geq 10$) 均为 0.01 ng/mL。在 0.1 ng/mL 浓度时，19 种磺胺连续进样 8 针，峰面积重现性 RSD 值均小于 4.5%，重现性优异。所有化合物在 0.01 ng/mL~100 ng/mL 浓度范围内呈良好的线性关系，部分化合物的线性曲线见图 3。

表 3. 19 种磺胺 LOD、LOQ、重现性测试结果

化合物	RT	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	RSD% (n=8)
Sulfacetamide	3.28	0.005	0.01	3.2
Sulfapyridine	4.89	0.001	0.01	2.1
Sulfadiazine	4.18	0.001	0.01	1.6
Sulfamethoxazole	6.60	0.001	0.01	4.48
Sulfathiazole	4.71	0.001	0.01	2.4
Sulfamerazine	5.15	0.001	0.01	2.4
Sulfamoxol	5.76	0.001	0.01	3.66
Sulfamethizole	5.91	0.001	0.01	3.40
Sulfabenzamide	7.29	0.001	0.01	1.26
Sulfachloropyridazine	6.44	0.001	0.01	1.70
Sulfaquinoxaline	8.25	0.001	0.01	1.83
Sulfaphenazole	7.62	0.001	0.01	1.7
Sulfamethoxypyridazine	5.78	0.001	0.01	3.2
Sulfameter	6.15	0.005	0.01	2.67
Sulfamonomethoxine	6.73	0.001	0.01	2.53
Sulfisomidine	4.29	0.001	0.01	0.5
Sulfamethazine	5.91	0.001	0.01	4.15
Sulfadimethoxine	8.00	0.001	0.01	1.51
Sulfadoxine	6.90	0.001	0.01	1.61

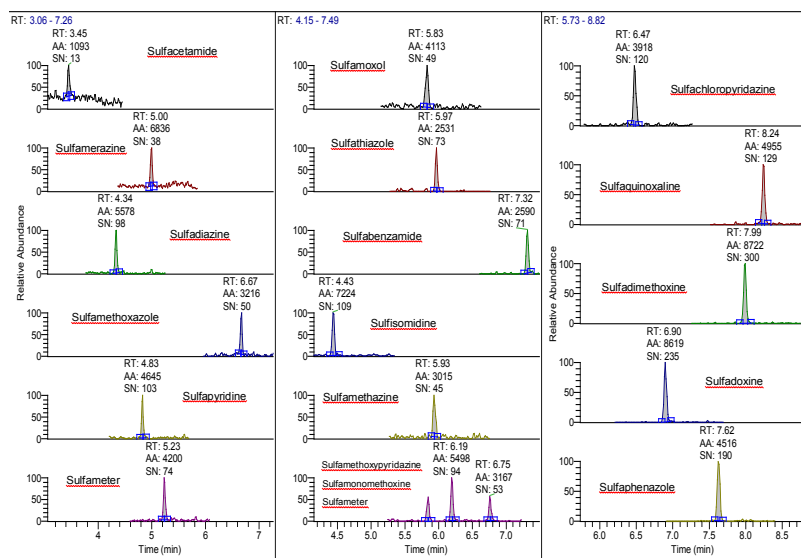


图 2. 19 种磺胺在 LOQ 浓度时的提取离子图

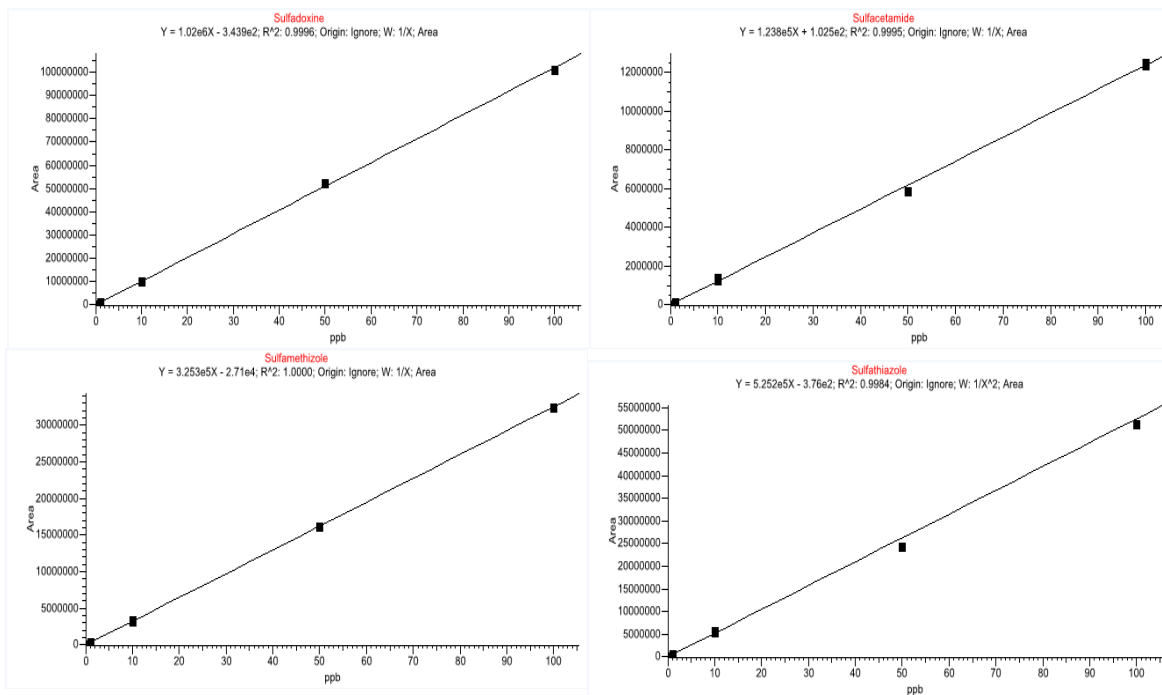


图 3. 部分磺胺线性标准曲线

2.3 实际样品分析

往肉类基质 S1 中添加不同浓度的 19 种磺胺，按照本文所建立方法进行分析。由图 3 可以看出，19 种磺胺均得到了比较好的分析结果，各离子通道在扫描时间内不存在干扰峰和溶剂效应，可准确定量定性。

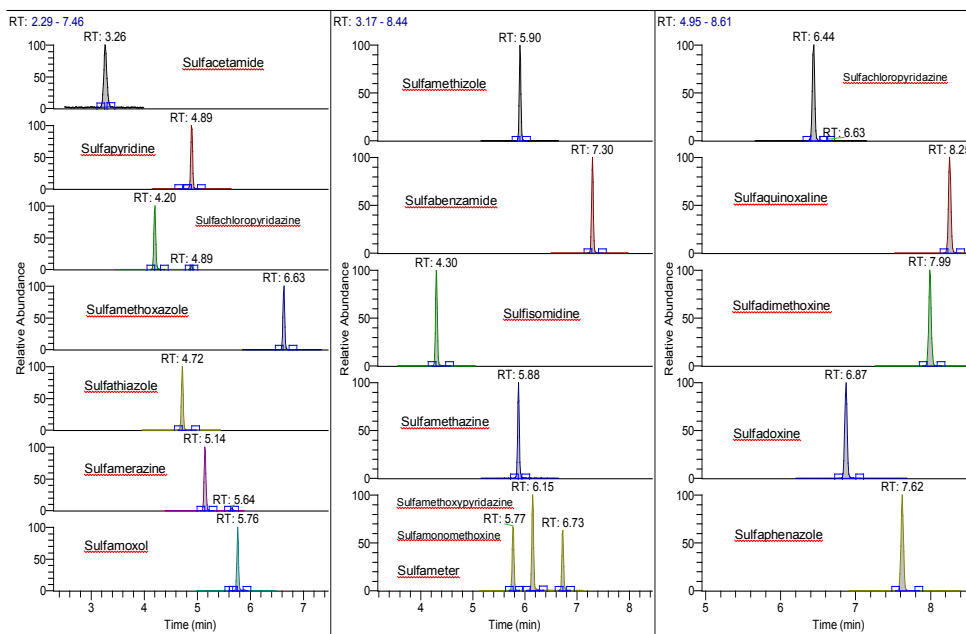


图 4. 肉类基质样品实际分析结果

2.4 软件 TraceFinder 进行数据处理

本文所有数据处理工作均由 TraceFinder 完成。TraceFinder 应用程序为高通量定量分析提供面向工作流程的方法，用于特定的数据分析、仪器控制和方法开发等。可自动快速创建方法、加载样品、自动生成数据、手动查看和编辑结果，并完成数据查看和报告处理。TraceFinder 提供改善的离子比率计算结果、并可以指定离子比率计算方式。TraceFinder 应用程序能够导出 .xml 和 .csv 格式的 SRM 参数，这些文件可导入到其它应用程序或仪器方法中。

3 结论

本文建立了 TSQ Altis 分析动物源性食品中 19 种磺胺的方法。ThermoFisher TSQ Altis 三重四极杆串联质谱系 2017 全新高端产品，采用分段式共轭双曲面四极杆和双模式离子源。其中 17 种磺胺 LOD 为 0.001 ng/mL，另外两种为 0.005 ng/mL，均取得了很好的灵敏度。在 0.1 ng/mL 低浓度水平下联系进样 8 针，19 种磺胺 RSD 均 $\leq 4.5\%$ ，具有非常好的重现性。采用该方法对基质样品进行分析，也均取得了优异的灵敏度和重现性结果，各离子通道在扫描时间内不存在基质干扰峰，可准确定量定性。



赛默飞
官方微信



赛默飞色谱
和质谱中国

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

ThermoFisher
S C I E N T I F I C