

SCIEX LC-MS/MS系统快速测定动物性食品中10种利尿药残留

Rapid Determination of ten diuretics residues in animal derived foods by SCIEX LC-MS/MS system

赵雯雯, 孙小杰, 刘冰洁, 郭立海

Zhao Wenwen, Sun Xiaojie, Liu Bingjie, Guo Lihai

SCIEX China

英文关键词: SCIEX Triple Quad; Diuretics residues; Animal derived foods

前言

利尿剂类药物在人临床上常被用来治疗高血压、水肿和心力衰竭,其作用是增加人尿的排泄量促使积聚在皮下和腹腔中多余的水分在短时间内大量排出。饲料中添加兽用的利尿剂可用来治疗猪、牛的乳房炎或者调整禽蛋的蛋白质比例,也有治疗水肿、排泄毒物的作用^[1]。在体育赛事中,利尿剂属于兴奋剂中的一大类,除了用于涉及重量的比赛项目中,也可作为稀释手段掩盖其他的禁用药物^[2]。近年来由于食品、药品、保健品中查出兴奋剂时有报道,动物源产品中残留利尿剂导致运动员兴奋剂检测阳性的问题引起了广泛关注。因此,建立动物性食品中高效、灵敏、准确的利尿剂类药物检测方法对保障体育赛事中畜禽产品的供应具有重要意义。

目前,利尿药残留的检测方法有液相色谱法、气相色谱-质谱法、液相色谱-质谱法等。其中液相色谱-串联质谱法以其高灵敏度和可靠的确证性能,正得到越来越广泛的应用。我国GB 31658.25-2022《食品安全国家标准 动物性食品中10种利尿药残留量的测定》中主要采用了液相色谱-串联质谱法进行测定,并未做限量规定。本文参考GB 31658.25-2022,基于SCIEX LC-MS/MS液质联用系统建立了10种利尿药的液质检测方法,该方法具有以下特点:

1. 灵敏度高,低于标准GB 31658.25-2022的定量限要求;
2. 方法匹配性高,前处理方法依照GB 31658.25-2022方法,无需修改,拿来即用;

3. 抗基质干扰能力强: SCIEX独特的Turbo V™离子源具有强大的抗基质干扰能力,减少仪器的维护频次。



SCIEX ExionLC™ 系统 + SCIEX Triple Quad™ 液质联用系统

1. 实验方法

1.1 样品前处理

1.1.1 样品提取

肉类样品前处理

称取试样2 g,置于50 mL离心管中,加入90%乙腈水溶液8.0 mL,于涡旋振荡器上剧烈振荡2 min。超声提取15 min,8000 r/min离心5 min,取上清液至离心管中。残渣加90%乙腈水溶液8.0 mL重复提取1次,合并上清液。加入5 mL乙腈饱和正己烷溶液,低速涡旋

10 s, 8000 r/min离心3 min, 取下层清液, 用90%乙腈水溶液稀释至20.0 mL备用。

鸡蛋、牛奶类样品前处理

称取试样2 g, 于50 mL离心管中, 加入乙腈8.0 mL, 于涡旋振荡器上剧烈振荡2 min。超声提取15 min, 8000 r/min离心5 min, 取上清液至离心管中。残渣加乙腈8.0 mL重复提取1次, 合并上清液。加入5 mL 乙腈饱和正己烷溶液, 低速涡旋10 s, 8000 r/min离心3 min, 取下层清液, 用乙腈稀释至20.0 mL备用。

1.1.2 样品净化

取备用液10.0 mL过固相萃取柱, 以不大于1 mL/min的速率通过固相萃取柱, 接收流出的样液, 并用1 mL 90%乙腈甲醇溶液洗脱, 接收全部洗脱液, 于40 °C下氮气吹干。用1.0 mL 50%乙腈水溶液溶解残余物, 涡旋混匀, 过0.22 μm 滤膜, 供测定。

1.2 液相条件

液相: SCIEX ExionLC™系统

色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C18 (3.0×100 mm, 1.7 μm)

流动相A: 0.001%甲酸水 (1 L水中加入10 μL甲酸)

流动相B: 乙腈

梯度洗脱, 详见表1

流速: 0.45 mL/min

柱温: 40 °C

表1. 梯度洗脱程序

时间 (min)	A (%)	B (%)
0	97	3
5	80	20
7	60	40
9	15	85
12	5	95
12.1	97	3
15	97	3

1.3 质谱条件

SCIEX三重四级杆质谱系统

离子源: ESI源, 正/负离子模式

离子源参数:

IS电压: 5500 /-4500V

气帘气CUR: 25 psi

雾化气GS1: 60 psi

辅助气GS2: 55 psi

源温度TEM: 600 °C

碰撞气CAD: Medium

2. 实验结果

2.1 10种利尿药提取离子流色谱图

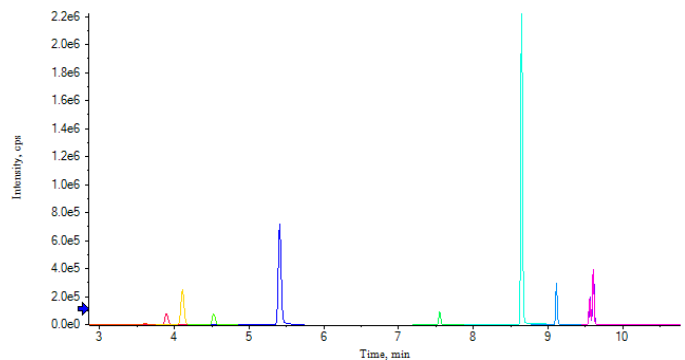


图1. 10种利尿药提取离子流色谱图

2.2 方法学考察

实验考察了方法的重复性和线性。分别选取低、中、高三个浓度测定, 每个浓度重复6次, 准确度在85%-105%之间, 相对标准偏差小于3.0%, 实验结果表明该方法具有较好的准确度和稳定性。氨苯蝶啶、螺内酯、乙酰唑胺、氯噻嗪、氢氯噻嗪、氯噻酮、呋塞米、卞氟噻嗪的线性范围为0.05~50 μg/L, 4-氨基-6-氯苯-1,3-二磺酰胺的线性范围为0.2~50 μg/L, 坎利酮的线性范围为0.1~50 μg/L, 线性相关系数r均大于0.999, 表明线性良好。结果见图2。

表2. 10种利尿药离子对信息

化合物名称	英文名称	Q1	Q3	去簇电压 DP(V)	碰撞能量 CE(V)	保留时间 RT(min)
氨苯蝶啶	Triamterene	254.1	168.1	100	48	5.39
		254.1	237.0*	100	35	5.39
螺内酯	Spironolactone	341.1	187.1	100	30	9.60
		341.1	107.1*	100	35	9.60
坎利酮	Canrenone	341.1	187.1	100	30	9.55
		341.1	107.1*	100	35	9.55
乙酰唑胺	Acetazolamide	221.1	83.0*	-57	-22	3.87
		221.1	58.0	-57	-35	3.87
4-氨基-6-氯苯-1,3-二磺酰胺	4-Amino-6-Chlorobenzene-1,3-Disulfonamide	284.1	205.0*	-105	-31	3.60
		284.1	169.0	-105	-30	3.60
氯噻嗪	Chlorothiazide	294.0	214.0*	-100	-58	4.09
		294.0	179.0	-100	-30	4.09
氢氯噻嗪	Hydrochlorothiazide	296.0	205.0	-100	-30	4.51
		296.0	269.0*	-100	-27	4.51
氯噻酮	Chlortalidone	337.0	146.0	-100	-24	7.53
		337.0	190.0*	-100	-23	7.53
呋塞米	Furosemide	329.0	285.0*	-35	-21	8.64
		329.0	205.0	-35	-31	8.64
卞氟噻嗪	Bendroflu Methiazide	420.0	289.0*	-140	-30	9.10
		420.0	328.0	-140	-36	9.10

注：表2中标“*”为定量离子。

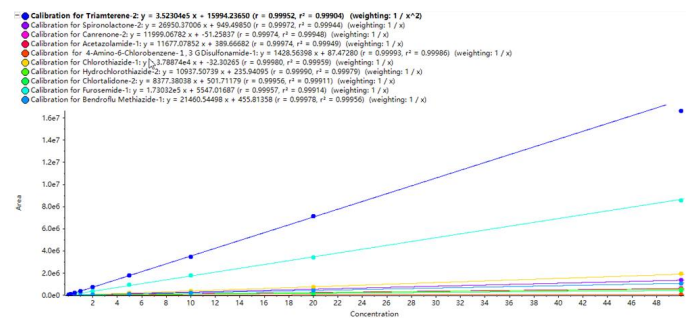


图 2. 10种利尿药线性关系曲线

总结

建立了一种基于SCIEX LC-MS/MS系统分析动物性食品中10种利尿药残留的检测方法。该方法系统优化了色谱和质谱条件，具有良好的检测灵敏度和重现性，检出限和定量限均优于标准GB 31658.25-2022中的相关规定，对于动物性食品中利尿剂类药物的分析检测有着重要的参考意义。

参考文献

- [1] 李文辉,孙志文,怀文辉,倪香艳,张晶晶,魏紫嫣,赵莹.鸡肉和鸡蛋中5种利尿剂残留的超高压液相色谱-串联质谱检测方法研究[J].中国家禽,2021,43(10):67-71.
- [2] 朱永林,贡玉清,邵德佳,冯群科,蒋天梅.高效液相色谱-串联质谱法测定动物尿液中8种利尿剂残留量[J].中国兽药杂志,2008(09):6-12.

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15440-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话：010-5808-1388
传真：010-5808-1390
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419-7201
传真：021-2419-7333
官网：sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话：020-8842-4017

官方微信：[SCIEX-China](#)