

固相萃取结合液相色谱质谱联用测定饲料中洛克沙肿

Triple Quad™ 4500液相色谱-三重四极杆质谱技术

Determination of roxarsone in animal feeds using solid-phase extraction coupled with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

叶儿翠, 于洁, 朱怀恩, 李立军

Ye Ercui, Yu Jie, Zhu Huaien, Li Lijun

SCIEX, JAPAC Solution Innovation Center

Key Words: Roxarsone, Animal feeds, Triple Quad™ 4500

洛克沙肿是一种人工合成的有机砷化合物, 可作为含砷饲料添加药物, 用于促进动物生长, 提高体重, 并起抗菌、抗球虫作用, 从而提高饲料利用率, 降低养殖成本。洛克沙肿被机体吸收后可蓄积在动物的肝、肾、脾和骨骼中; 砷与巯基酶结合会导致酶失活, 造成细胞代谢紊乱, 动物中枢神经系统失调, 对动物和人体造成严重伤害。

近年来, 各国都在关注洛克沙肿的使用。欧盟最早宣布禁用含砷的饲料添加剂, 我国农业部在《NY5032-2001-无公害食品生猪饲养饲料使用准则》中, 将洛克沙肿定为禁用的饲料添加剂。本文采用Triple Quad™ 4500液相色谱质谱联用系统, 结合固相萃取样品前处理技术, 为饲料中洛克沙肿的测定提供了高灵敏、快速的解决方案。

方法特点:

1. 提取和净化步骤遵照GB/T22146-2008, 轻松转移。
2. 提供洛克沙肿的质谱条件、液相条件, 节省方法开发时间。
3. 分析时间仅10 min, 方法灵敏度高, 定量准确可靠。

样品前处理

1、提取

称取适量试样 (配合饲料5 g, 浓缩饲料2 g, 预混合饲料1 g) 于50 mL 离心管中, 加入15 mL磷酸氢二钾溶液(20 g/L), 超声提取

30 min后, 离心, 取上清液至另一个50 mL离心管; 残渣再加入10 mL上述提取液, 超声提取30 min后, 合并二次提取的上清液, 然后加入2 mL 2%硫酸铜溶液(100 g/L), 并用磷酸氢二钾溶液稀释至30 mL, 移取0.5 mL稀释液, 加入2.5 mL磷酸氢二钾溶液, 待净化。

浓缩饲料和预混合饲料的滤液需分别做2倍和5倍的稀释。

2、净化

固相萃取小柱 (Agela Cleanert PAX, 60 mg/3 mL, 货号 AX0603)

将SPE小柱依次用3 mL甲醇、3 mL水活化和平衡, 将3 mL待净化液加到SPE小柱上, 然后依次用3 mL 6.8 g/L乙酸钠-甲醇 (pH=7)和3 mL甲醇各淋洗一次, 最后用3 mL 5%甲酸甲醇溶液洗脱, 洗脱速度不超过1mL/min, 洗脱液用氮气吹干, 复溶于1 mL 5%甲醇水溶液, 进行LC-MS/MS分析。

仪器设备

SCIEX Exion LC™液相系统+ Triple Quad™ 4500质谱系统



液相方法

色谱柱: Phenomenex Kinetex C18
(100 × 3.0mm, 2.6 μm, PN 00D-4462-Y0)

流动相: A: 水 (0.2%甲酸)
B: 甲醇 (0.2%甲酸)

流速: 0.4 mL/min

柱温: 40°C

进样量: 10 μL

梯度洗脱

Time (min)	A(%)	B(%)
0	95	5
1	95	5
6	10	90
8	10	90
8.1	95	5
10	95	5

质谱方法

离子源: ESI源, 正离子模式

离子源参数:

IS电压: 5500 V 气帘气CUR:30 psi
雾化气GS1:55 psi 辅助气GS2:55 psi
源温度TEM:550°C 碰撞气CAD: Medium

表1. 洛克沙肿的质谱参数。

Q1	Q3	ID	DP	CE
264.1	91.0	Roxarsone 1	80	20
264.1	218.0	Roxarsone 2	80	25
264.1	246.1	Roxarsone 3	80	24

实验结果

1. 洛克沙肿的典型色谱图。

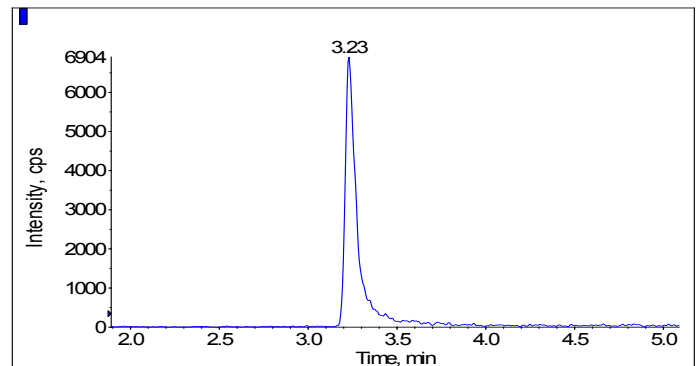


图1. 洛克沙肿的典型色谱图 (1 ng/mL)。

2. 线性范围

配制浓度为0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1、2 ng/mL的洛克沙肿系列标准溶液进行测定。线性相关系数 $r = 0.99965$, 表明在0.02~2 ng/mL浓度范围内, 峰面积与洛克沙肿浓度呈良好线性关系。

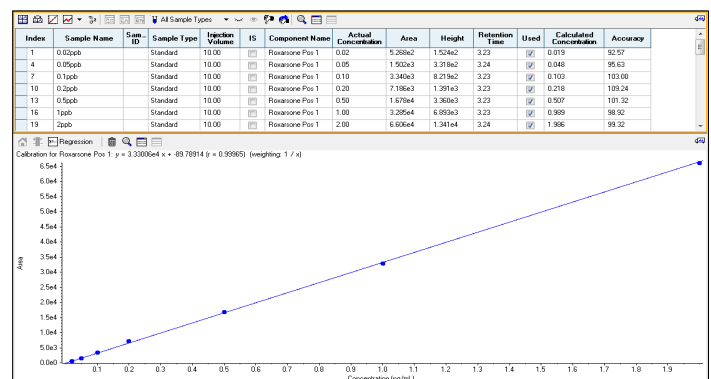


图2. 洛克沙肿的标准曲线。

3. 方法准确度和精密度

对3种不同饲料样品进行加标回收实验, 6次重复样本处理, 结果取平均值。准确度和精密度均满足残留分析的方法学指标, 可放心用于实际样品的测定。

表2. 方法回收率和重复实验结果。

样品	添加浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	测定浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 (%)	RSD (%)
浓缩饲料	5	4.9	97.8	4.7
	10	9.5	95.1	3.2
配合饲料	5	4.8	96.4	6.9
	10	9.5	94.5	5.8
预混合饲料	5	4.9	98.2	3.1
	10	9.9	99.4	4.6

总结

本文在SCIEX Triple Quad™ 4500 液相色谱质谱联用系统平台上，建立了一套测定饲料中洛克沙肿的LC-MS/MS检测方案。结合SCIEX Triple Quad™ 4500超高的灵敏度优势，本方案灵敏度高，且方法准确度和精密度均满足方法学验证，可用于实际样品中洛克沙肿残留的准确定量。

For Research Use Only. Not for use in Diagnostic Procedures.

Trademarks and/or registered trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte. Ltd., or their respective owners, in the United States and/or certain other countries.

RUO-MKT-02-10521-ZH-A

AB SCIEX™ is being used under license.

© 2019 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.



SCIEX中国公司

北京分公司
地址：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

上海公司及中国区应用支持中心
地址：上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419 7200
传真：021-2419 7333

广州分公司
地址：广州市天河区珠江江西路15号
珠江城1907室
电话：020-8510 0200
传真：020-3876 0835

全国免费垂询电话：800 820 3488，400 821 3897 网址：www.sciex.com.cn 微博：@SCIEX