

液相色谱-串联质谱法测定牛奶中舒巴坦和他唑巴坦

郭启雷, 王浩, 杨红梅, 刘艳琴, 曹红

(国家食品质量监督检验中心, 北京 100094)

Determination of Salbactam and Tazobactam in Milk by LC-MS/MS

GUO Qi-lei, WANG Hao, YANG Hong-mei, LIU Yan-qin, CAO Hong

(National Food Quality & Safety Supervision and Inspection Center, Beijing 100094, China)

Abstract: A triple quadrupole liquid chromatography tandem mass spectrometry method is presented for the quantitative determination and confirmation of salbactam and tazobactam, the inhibitors of β -lactamase in milk. Milk was extracted with methanol, and the extracts were analyzed by LC-MS/MS in negative mode. The LOQs of salbactam and tazobactam in milk are $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively.

Key words: salbactam; tazobactam; β -lactamase; antibiotics

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2009) 增刊-0162-03

根据《无公害食品生鲜牛乳》行业标准规定, 不得检出生鲜乳中含有抗生素。为了分解生鲜乳中残留的抗生素以逃避监管, 市场上出现了以 β -内酰胺酶为主要成分的抗生素分解剂。国家组织的“打击非法添加非食用物质和滥用食品添加剂”专项整治行动中, 就把 β -内酰胺酶列为非食用物质禁止在食品中添加。针对市场上出现的添加 β -内酰胺酶抑制剂以躲避监察的倾向, 本工作建立了牛奶中 2 种 β -内酰胺酶抑制剂, 舒巴坦和他唑巴坦的液相色谱-串联质谱检测方法。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 6410A 三重四极杆串联质谱: 美国 Agilent 公司产品, 配有 Agilent 1200 液相色谱仪; Milli-Q 超纯水发生器: 美国 Milli-Q 公司产品; 旋涡混合器 GL-88B: 其林贝尔仪器制造有限公司产品; Anke GL-16G-II 离心机: 上海安亭科学仪器厂产品。

乙腈、甲醇(色谱纯); 乙酸铵(分析纯); 舒巴坦、他唑巴坦: 购自中国药品生物制品检定所。

1.2 样品处理

准确量取 5 mL 牛奶试样, 加入 15 mL 甲醇, 涡旋 1 min, 用甲醇定容至 25 mL, 涡旋混匀后超声提取 15 min, $10\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液过 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜, 上机测定。

1.3 仪器测量

1.3.1 色谱条件 CAPCELL PAK MG III 色谱柱 ($2.0 \text{ mm}\times 150 \text{ mm}\times 5 \mu\text{m}$); 流动相: $V(\text{乙腈}): V(5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ 乙酸铵}) = 10:90$; 流速: $0.2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 进样量: $20 \mu\text{L}$; 柱温: $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

1.3.2 质谱条件 离子源: 电喷雾离子源; 扫描方式: 负离子扫描; 检测方式: 多反应监测; 干燥气: N_2 ; 干燥气温度: $350\text{ }^\circ\text{C}$; 干燥气流速: $10\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$; 雾化气压力: $2.76\times 10^5\text{ Pa}$; 毛细管电压: $4\text{ }000\text{ V}$ 。舒巴坦和他唑巴坦的质谱参数列于表1。

表1 舒巴坦和他唑巴坦的质谱参数

化合物	定性离子对	定量离子对	裂解电压	碰撞能量
他唑巴坦	299.1>138.0	299.1>138.0	70	2
	299.1>68.1			35
舒巴坦	232.1>140.1	232.1>140.1	70	2
	232.1>64.0			4

2 结果与讨论

2.1 样品处理

对比了无机沉淀体系(①乙酸锌-亚铁氰化钾, ②高氯酸)和有机沉淀体系(①乙腈, ②甲醇), 实验发现, 采用有机沉淀体系, 操作简单, 沉淀蛋白效果好, 回收率理想。采用乙腈作沉淀试剂, 在稀释 2.5 倍下能获得良好的沉淀效果, 但峰形较差。最终采用甲醇作沉淀试剂, 在稀释 5 倍下沉淀蛋白效果良好, 同时改善了峰形。

2.2 测量条件

舒巴坦分子中含有 1 个叔氮原子, 他唑巴坦的分子中含有 4 个氮原子, 采用负离子扫描模式灵敏度较高。由于二者的分子极性较大, 在反相色谱柱上的保留较差, 出峰较快。综合考虑舒巴坦、他唑巴坦的色谱行为和负离子检测模式的需要, 选用乙腈-乙酸铵的体系为流动相, 分离效果好、灵敏度高, 其多反应监测质量色谱图如图 1。

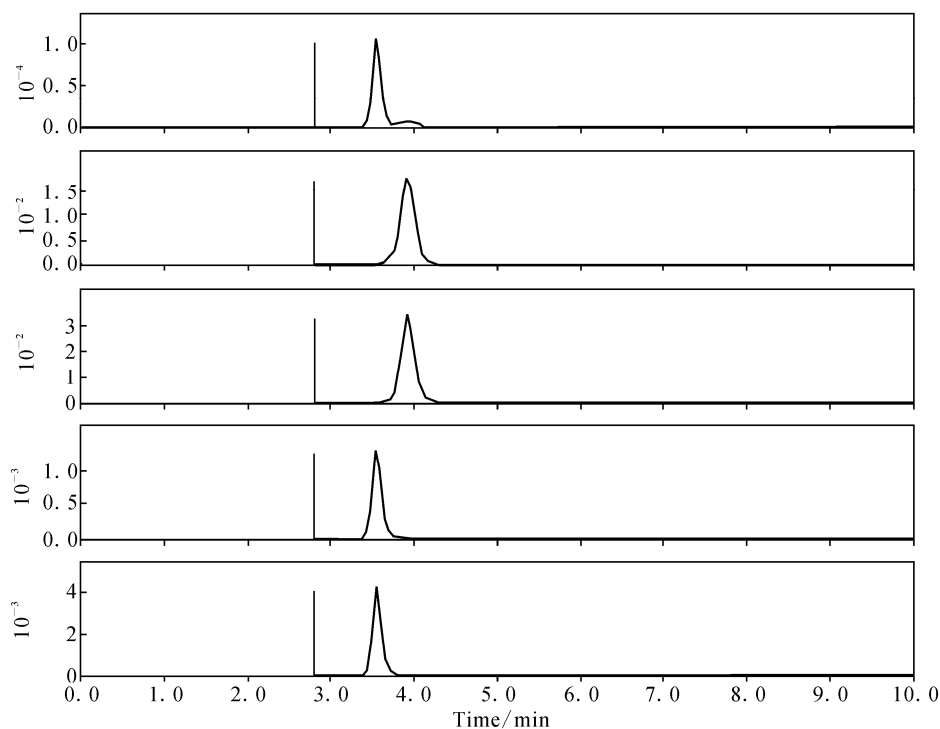


图1 舒巴坦、他唑巴坦的 LC-MS/MS 多反应监测质量色谱图

2.3 线性范围与检出限

选用空白牛奶按 1.2 步骤进行样品处理, 用得到的空白基质溶液将舒巴坦和他唑巴坦混合标准

溶液逐级稀释到所需浓度,按 1.3 条件上机测定,由定量离子的峰面积对浓度作图,得出各自的标准曲线列于表 2。在信噪比大于 10 的条件下,舒巴坦的检出限为 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,他唑巴坦的检出限为 $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表2 舒巴坦和他唑巴坦的线性关系表

化合物	线性方程	相关系数
舒巴坦	$y=60.97x-82.19$	0.999
他唑巴坦	$y=13.2x-131.9$	0.999

2.4 方法回收率与精密度

选用空白牛奶试样,加入舒巴坦和他唑巴坦混合标准溶液,牛奶中的添加浓度为 $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,每个浓度平行做 5 份,按 1.2 步骤进行样品处理,并上机测定。回收率和相对标准偏差列于表 3,满足实验要求。

表3 舒巴坦和他唑巴坦在牛奶中的加标回收率和精密度 ($n=5$)

化合物	添加浓度/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	加标回收率/%	相对标准偏差/%
舒巴坦	0.2	95.9	5.9
	1.0	112.3	3.6
他唑巴坦	0.2	77.6	6.4
	1.0	90.2	4.4

3 小结

本工作建立了牛奶中 β -内酰胺酶抑制剂舒巴坦和他唑巴坦的液相色谱-三重四极杆串联质谱测定方法,操作简单、灵敏度高、回收率符合要求。

(上接第 150 页)

表1 不同吸附剂配比方案实验回收率表

吸附剂配比	PSA	PSANH ₂	PSA+ODSC18+GCB	PSA+NH ₂ +GCB
平均回收率/%	50.26~60.12	56.89~64.46	65.58~75.99	69.86~82.00

在回收率和实验的重复性方面,最终选择了PSA+NH₂+GCB的组合。其中,PSA和NH₂起到去除杂质的目的,GCB可以去除样品中的色素,本方法可以达到快速检测的目的。

参考文献:

- [1] 林维宣. 各国食品中农药兽药残留限量规定[M]. 大连: 大连海事大学出版社, 2002.
- [2] 张敬波, 姜文凤, 董振霖, 等. 气相色谱法同时测定玉米中 12 种三嗪类除草剂的残留量[J]. 色谱, 2006, 24(6): 648-651.