[技术简报]

在UPLC-MS对肉中兽药多残留分析之前采用Oasis PRiME HLB小柱进行有效净化

Michael S. Young和Kim Tran

脂肪和磷脂对仪器和色谱柱而言是非常棘手的潜在污染物。Oasis PRiME HLB小柱提供了一种在LC-MS分析前对肉类提取物进行快速净化以去除这些物质的方法。

目的

展示在UPLC®-MS分析之前采用Oasis® PRiME HLB小柱净化肉类提取物的效率。

背景

沃特世(Waters®)为肉中兽药多残留LC-MS/MS筛查开发了优化的样品前处理和分析方案。典型肉类样品的主要成分是水(高达70%)、蛋白质(15-25%)、脂肪(5-25%)和磷脂(1-3%)。在提取过程中，蛋白质可以通过沉淀和离心去除。然而，大量脂肪和磷脂会随着目标物化合物一起提取出来。这些共提取物质的存在可能会干扰LC-MS分析，污染UPLC系统的分析柱和其它组件，并且还会污染质谱仪。在过去，分析人员采用繁琐的正己烷脱脂步骤或使用反相吸附剂(如硅胶C_{18})从肉类提取物中去除脂肪。虽然这些技术可以有效去除脂肪，但均不能去除磷脂。

解决方案

使用Oasis PRiME HLB小柱通过式净化可以从肉类提取物中高效地去除脂肪和磷脂。同样重要的是，Oasis PRiME HLB小柱净化不会影响兽药的回收率。该方法的回收率与使用正己烷脱脂法或硅胶C_{18}净化法得到的回收率相当，但使用Oasis PRiME HLB小柱时的净化效率更高。

实验

初步提取。从兽药中选择具有代表性的化合物，称取5 g猪肉样品(含15%脂肪)并匀浆，加入10 mL含0.2%甲酸的乙腈/水(80:20)进行提取。将样品涡旋混合30秒、振摇30分钟，然后在12000 rpm下离心5分钟。

Oasis PRiME HLB小柱净化。将Oasis PRiME HLB小柱(3 cc, 60 mg)安装在预先清洁过的真空导管上。无需执行小柱活化步骤。取约0.5 mL的上清液，使其通过Oasis PRiME HLB小柱并收集滤液。进行UPLC-MS/MS分析之前，用10 mM甲酸铵缓冲溶液(pH 4.5)将收集到的样品稀释3倍。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

结果

所有被测化合物在通过式净化步骤中均无损失或损失极少。除保泰松(32%)外，其余被测化合物的绝对回收率(主要通过测量初始液相提取步骤的效率所得)的平均值超过了80%。上述回收率与使用硅胶C_{18}净化方法的结果相当，但硅胶C_{18}不能去除磷脂。UPLC-MS/MS条件和色谱图如图1所示。图2所示的色谱图展示了Oasis PRiME HLB小柱去除磷脂的效率；它比硅胶C_{18}净化方法多去除了90%以上的磷脂。通过重量分析，我们还测得Oasis PRiME HLB小柱去除了猪肉提取物中90%以上的共提取脂肪。

UPLC条件

仪器:	ACQUITY UPLC® I-Class
色谱柱:	1.7 µm CSH C_{18}, 2.1 x 100 mm (部件号 186005297)
柱温:	30 °C
样品温度:	10 °C
检测条件:	MS:TQ-S
进样体积:	5 µL
运行时间(流速):	7分钟(0.04 mL/min)
流动相A:	0.1%甲酸的水溶液
流动相B:	0.1%甲酸的乙腈溶液
梯度:	初始15% B，2.5 min升至40% B，3.9 min升至95% B，持续到4.9 min，在5.0 min回到15% B并持续到7.0 min
针:	UPLC标准针，15
弱清洗液:	乙腈:水(10:90)
强清洗液:	水:乙腈:异丙醇(50:30:20)
密封清洗液:	10% MeOH

化合物	母离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)
磺胺甲基嘧啶	265.0	156.0	30	15
恩诺沙星	360.2	316.1	50	25
地塞米松	393.2	355.3	30	15
保泰松	309.4	160.0	37	20
青霉素	335.1	160.0	20	30
氯霉素*	321.1	152.1	30	17
土霉素	461.2	426.2	30	21

*氯霉素采用ESI-模式，其它物质采用ESI+模式。

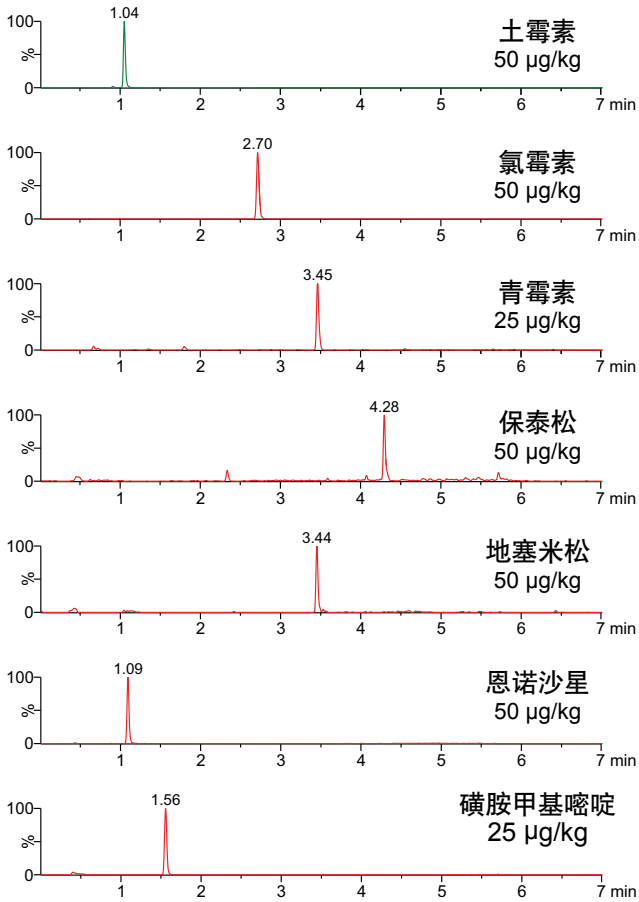

图1. UPLC-MS/MS条件以及分析猪肉样品中加入指定浓度兽药所得的色谱图。

结论

- Oasis PRiME HLB小柱在使用前不需要活化或平衡；其简单的一步式SPE净化非常有效
- Oasis PRiME HLB小柱去除了猪肉样品的乙腈提取物中90%以上的脂肪和磷脂
- 采用Oasis PRiME HLB小柱通过式的净化不会影响待测化合物的回收率，还能有效去除提取物中的脂肪和磷脂

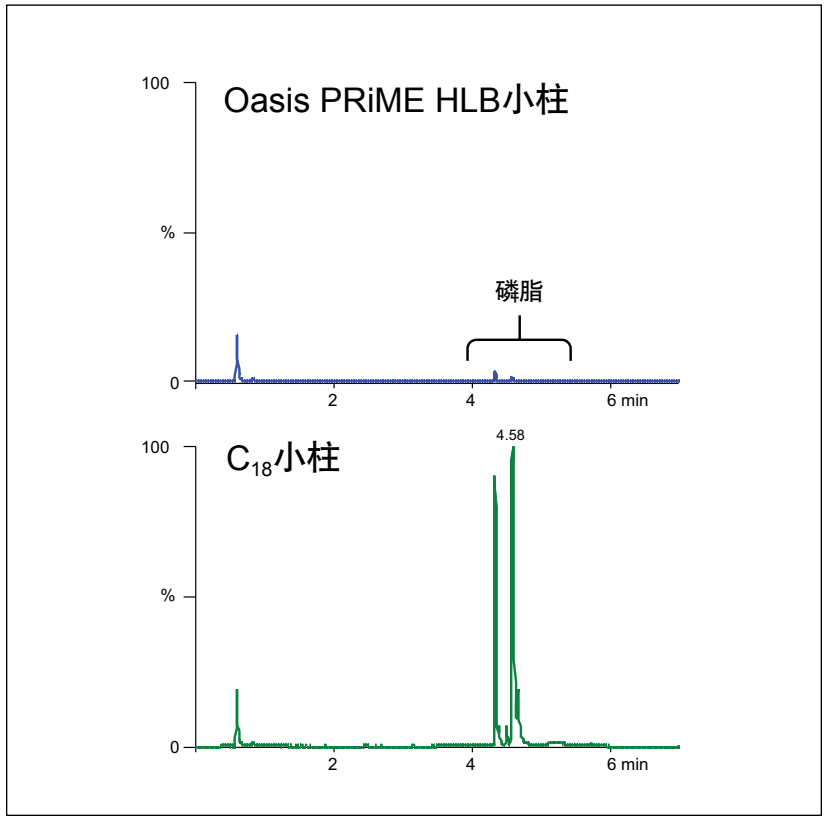

图2. Oasis PRiME HLB净化（上图）与硅胶C_{18}净化（下图）对肉类提取物中磷脂的去除效果对比。

扫一扫，关注沃特世微信

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters、The Science of What's Possible、UPLC、ACQUITY UPLC和Oasis是沃特世公司的注册商标。
其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2015年 沃特世公司 中国印刷 2015年5月 720005411ZH AW-PDF

沃特斯中国有限公司
沃特世科技（上海）有限公司

北京：010 - 5209 3866
上海：021 - 6156 2666
广州：020 - 2829 5999
成都：028 - 6765 3588
香港：852 - 2964 1800

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676
www.waters.com