

# LCMS-8030 测定水产品中硝基呋喃类代谢物的残留量

## LCMSMS-064

**摘要：**本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用检测水产品中硝基呋喃类代谢物的残留量的测试方法。样品经处理后，用超高效液相色谱 LC-30A 在 4.0 min 内完成分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 进行定量分析。对四种硝基呋喃类代谢物残留的线性、精密度、检出限 (LOD)、定量限 (LOQ) 进行了验证。3-氨基-2-恶唑酮 (AOZ)、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷酮 (AMOZ)、1-氨基-乙内酰脲 (AHD) 和氨基脲 (SEM) 在 1~200 μg/L 内线性良好，相关系数均大于 0.999；分别用浓度为 1 μg/L、10 μg/L 和 50 μg/L 的混合标准溶液进行了精密度实验，实验结果表明连续 6 次进样保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.28 ~ 0.07% 和 4.76 ~ 1.68% 间，仪器精密度良好。

**关键词：**硝基呋喃代谢物 兽药残留 水产品 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

硝基呋喃类药物 (Nitrofurans) 是一类合成的抗菌药物，它们作用于微生物酶系统，抑制乙酰辅酶 A，干扰微生物糖类的代谢，从而起抑菌作用。目前在医疗上应用较广者有：呋喃西林、呋喃妥因和呋喃唑酮。呋喃西林只供局部应用，后两者则可供系统治疗应用。目前在医疗上应用较广者有：呋喃西林、呋喃妥因和呋喃唑酮。呋喃西林只供局部应用，后两者则可供系统治疗应用。

硝基呋喃类药物很不稳定，很容易生成代谢物。硝基呋喃类药物在动物体内迅速分解产生代谢物，代谢物在体内与细胞膜蛋白结合成结合态。由于代谢物比较稳

定也有致癌作用，所以在食品安全的检测中检测硝基呋喃代谢物。常见的硝基呋喃代谢物的衍生物有如下四种，包括：3-氨基-2-恶唑酮 (AOZ)、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷酮 (AMOZ)、1-氨基-乙内酰脲 (AHD) 和氨基脲 (SEM)。

本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用，参考 GB/T 21311-2007，建立了测定水产品中硝基呋喃代谢物，包括：3-氨基-2-恶唑酮 (AOZ)、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷酮 (AMOZ)、1-氨基-乙内酰脲 (AHD) 和氨基脲 (SEM) 残留量的检测方法，供相关检测人员参考。

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用。具体配置：LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A5 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8030 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.53 色谱工作站。

### 1.2 分析条件 液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS III

2.0 mmI.D. × 150 mmL, 1.6 μm

流动相：A - (0.02% 甲酸) 水溶液；B - 乙腈

流速：0.4 mL/min

进样体积：20 μL

柱温：40℃

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 40%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.01	Pumps	Pump B Conc.	40
1.50	Pumps	Pump B Conc.	95
1.51	Pumps	Pump B Conc.	40
4.00	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器: LCMS-8030

离子源: ESI, 正离子扫描

离子源接口电压: 4.5 kV

喷雾针位置: 3.0 mm

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 20 L/min

碰撞气: 氦气

脱溶剂管温度: 300°C

加热模块温度: 500°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

驻留时间: 20 ms

延迟时间: 3 ms

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM参数

编号	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	3-氨基-2-恶唑酮 (AOZ)	236	134.10*	-18.0	-12.0	-29.0
			104.05	-18.0	-24.0	-22.0
2	5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮 (AMOZ)	335	291.00*	-13.0	-11.0	-22.0
			262.00	-18.0	-17.0	-19.0
3	1-氨基-乙内酰脲 (AHD)	249	134.00*	-13.0	-13.0	-15.0
			103.95	-13.0	-22.0	-11.0
4	氨基脲 (SEM)	209	166.10*	-11.0	-11.0	-18.0
			192.00	-11.0	-12.0	-14.0

\*表示定量离子

1.3 样品制备

标准溶液配制: 硝基咪喃衍生化标准物质: 3-氨基-2-恶唑酮 (AOZ)、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮 (AMOZ)、1-氨基-乙内酰脲 (AHD) 和氨基脲 (SEM) 分别称取 10 mg 四种物质的标准品, 用乙腈溶解并定容至 100 mL, 得到浓度为 100 mg/L 的标准储备液。

用 0.02% 甲酸水溶液配制 1.0 mg/L 的混合标准溶液, 用 0.02% 甲酸水溶液逐级稀释成浓度为 1、5、10、20、50、100 和 200 µg/L 的标准工作液。

样品前处理方法:

参考《GB/T 21311-2007 动物源性食品中硝基咪喃类药物代谢物残留量检验方法 高效液相色谱串联质谱法》。

结果讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

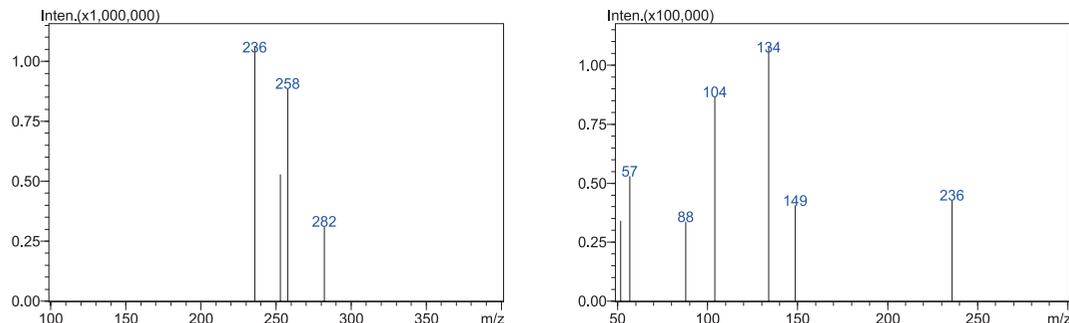


图 1 3-氨基-2-恶唑酮 (AOZ) 的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (右图)

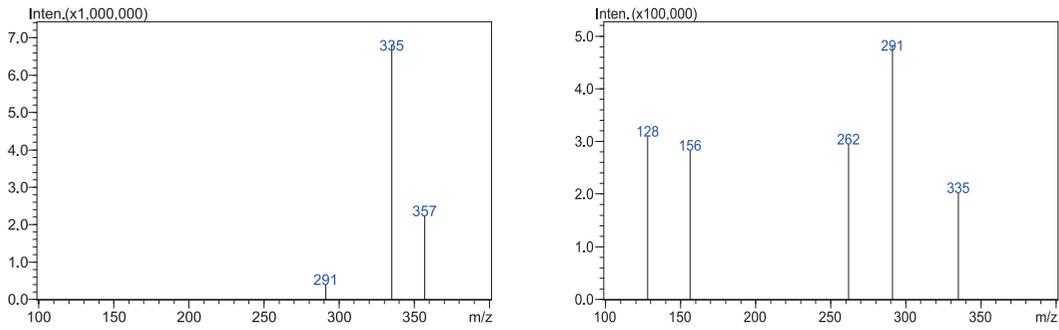


图2 5-吗啉甲基 -3-氨基 -2-恶唑烷基酮 (AMOZ) 的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (右图)

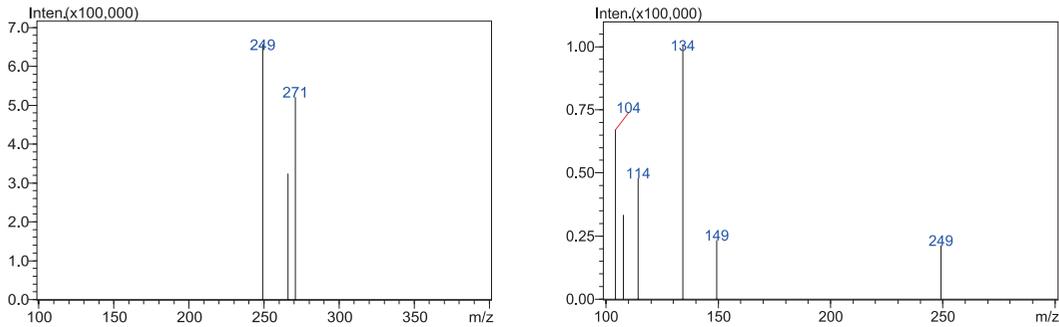


图3 1-氨基-乙内酰脲(AHD)的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (右图)

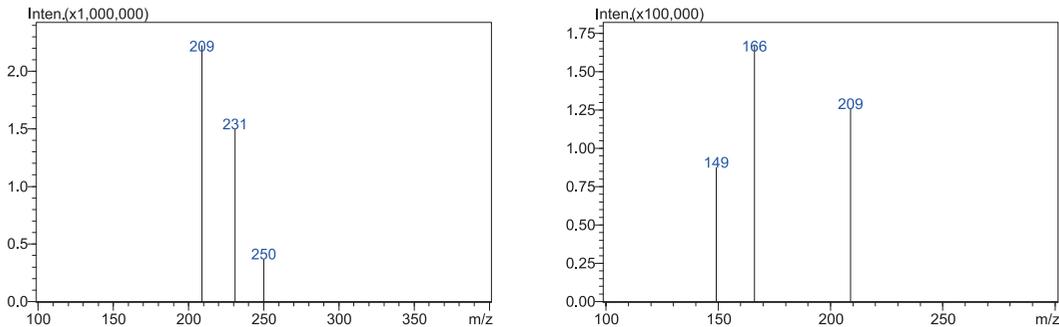


图4 氨基脲(SEM)的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (右图)

## 2.2 标准样品的 MRM 色谱图

1.0  $\mu\text{g/L}$  混合标准样品的 MRM 色谱如图 5 所示。

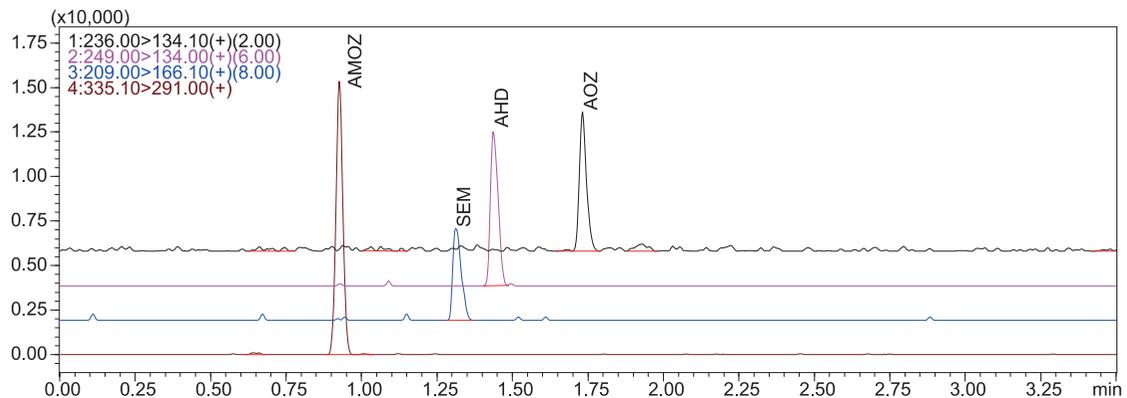


图5 1.0  $\mu\text{g/L}$  混合标准样品的 MRM 色谱图

### 2.3 线性关系

将浓度为 1、5、10、20、50、100 和 200  $\mu\text{g/L}$  的混合标准工作液，按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法制作校准曲线，如图 6~9 所示。四种硝基咪喃代谢物在 1~200  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好。线性方程、相关系数见表 3。

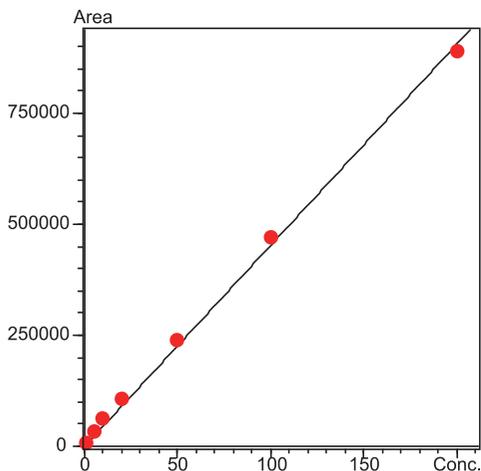


图 6 AOZ 的标准工作曲线

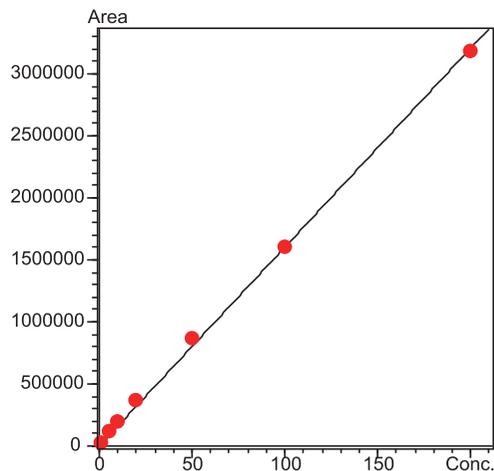


图 7 AMOZ 的标准工作曲线

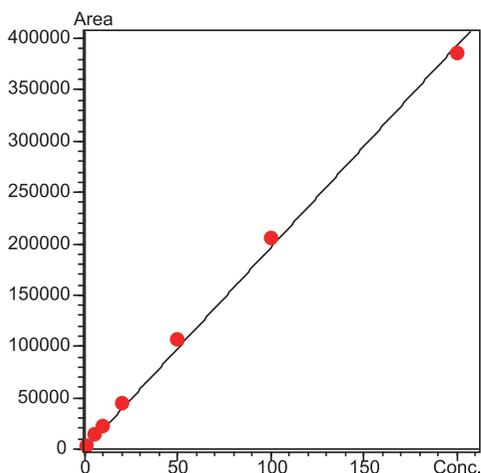


图 8 AHD 的标准工作曲线

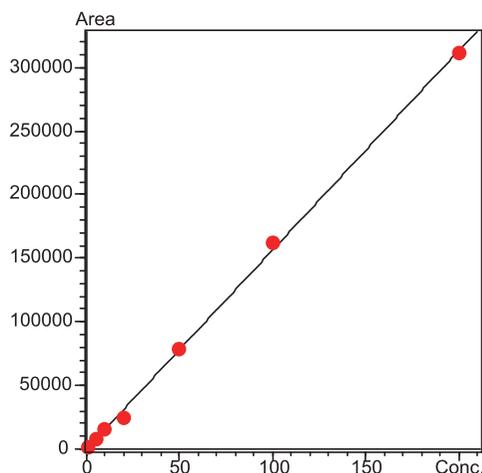


图 9 SEM 的标准工作曲线

表 3 4 种硝基咪喃代谢物的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	相关系数 R
1	AOZ	$Y = 4530.67X$	0.9996
2	AMOZ	$Y = 16043.7X$	0.9998
3	AHD	$Y = 1967.93X$	0.9994
4	SEM	$Y = 1566.74X$	0.9996

### 2.3 检出限和定量限

配制浓度为 5.0  $\mu\text{g/L}$  标样，直接进样分析，对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算硝基咪喃四种化合物的标准偏差 S。此时检出限  $\text{MDL} = 3.14 \times S$ ，定量限  $\text{LOQ} = 4 \times \text{MDL}$ 。测定结果如表 4 所示。

表 4 4 种硝基咪唑代谢物的检出限和定量限

No.	名称	标准偏差(S)	检出限( $\mu\text{g/L}$ )	定量限( $\mu\text{g/L}$ )	标准限值( $\mu\text{g/L}$ )
1	AOZ	0.06	0.19	0.76	1.0
2	AMAZ	0.07	0.22	0.88	1.0
3	AHD	0.04	0.12	0.48	1.0
4	SEM	0.05	0.16	0.64	1.0

#### 2.4 精密度实验

平行制备浓度为 1  $\mu\text{g/L}$ 、10  $\mu\text{g/L}$  和 50  $\mu\text{g/L}$  标样各 6 份，依次进样。得到统计结果如表 5 所示，四种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.28 ~ 0.07% 和 4.76 ~ 1.68% 之间，仪器精密度良好。

表 5 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No.	样品名称	RSD% (1 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (10 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (50 $\mu\text{g/L}$ )	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	AOZ	0.13	3.84	0.15	2.36	0.09	2.16
2	AMAZ	0.11	4.24	0.09	2.13	0.07	1.69
3	AHD	0.14	3.56	0.27	3.49	0.12	2.24
4	SEM	0.27	4.76	0.28	4.66	0.12	1.68

#### 2.5 基质加标实验

为了考察方法的灵敏度，在按照 1.3 中样品制备方法提取净化的空白鱼肉基质样品中添加混合标样，加标含量为 0.5  $\mu\text{g/kg}$ ，水产品基质空白色谱图如图 10 所示，基质加标样品色谱图如图 11 所示。从图中可以看到，0.5  $\mu\text{g/kg}$  基质加标样品有良好的响应。

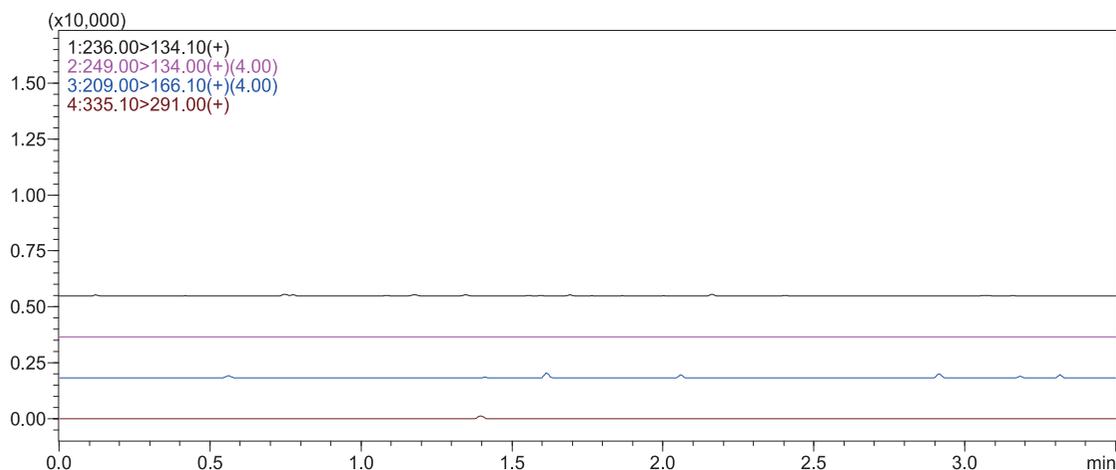


图 10 鱼肉样品空白基质色谱图

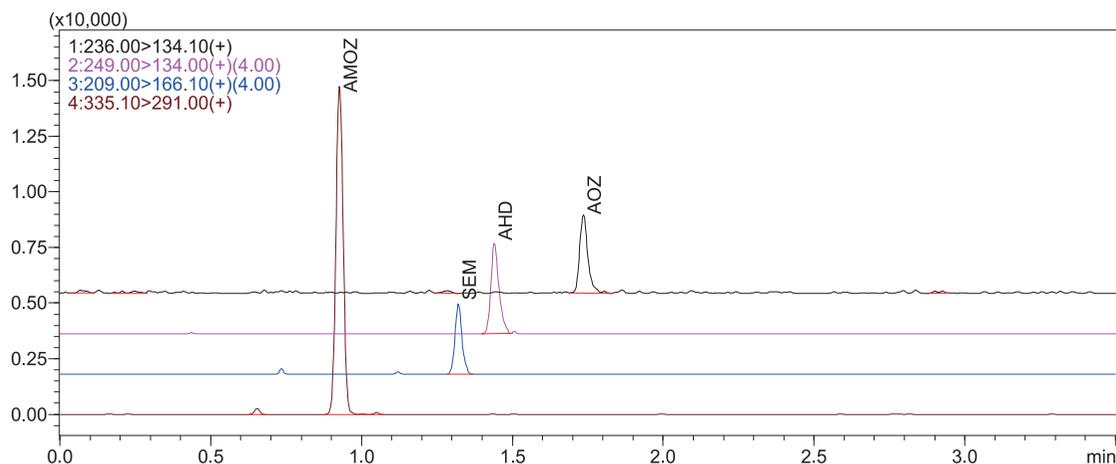


图 11 样品基质加标 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  色谱图

## 结论

参考《GB/T 21311-2007 动物源性食品中硝基咪唑类药物代谢物残留量检验方法 高效液相色谱串联质谱法》，使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用测定水产品中四种硝基咪唑代谢物残留量。3-氨基-2-恶唑酮 (AOZ)、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮 (AMOZ)、1-氨基-乙内酰脲 (AHD) 和氨基脲 (SEM) 四种物质在 1~200  $\mu\text{g}/\text{L}$  浓度范围内线性良好，相关系数均大于 0.999。在经样品前处理后的鱼肉基体中添加标液，基质加标样具有良好的响应，满足《GB/T 21311-2007 动物源性食品中硝基咪唑类药物代谢物残留量检验方法 高效液相色谱串联质谱法》的检测要求。