

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定鸡肉中金刚烷胺的残留

LCMSMS-157

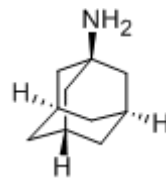
摘要：本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 测定鸡肉中金刚烷胺的方法。市售鸡肉样品经提取和净化后，用超高效液相色谱 LC-30A 进行分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 进行定性和定量分析。金刚烷胺在 0.02 μg/L~10 μg/L 浓度范围内线性良好，标准曲线的相关系数为 0.9996；对 0.5 μg/L、1 μg/L 和 5 μg/L 低中高不同浓度的标准工作液连续测定 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07 %~0.19 % 和 0.85 %~1.32 % 之间，显示仪器精密度良好。

关键词：鸡肉 金刚烷胺 三重四极杆质谱

近年来，伴随着畜禽规模化养殖，大量抗菌、抗病毒药物用于预防和治疗动物疾病。2012 年 12 月，山东一些地方养鸡场被曝违规使用金刚烷胺等抗病毒兽药养殖“速成鸡”，并供给肯德基、麦当劳，引起了巨大的轰动效应。早在 2005 年，我国农业部曾发出《关于清查金刚烷胺等抗病毒药物的紧急通知》，明确要求立即停止生产、经营和使用金刚烷胺、金刚乙胺等，违者按生产、经营假兽药和使用禁用兽药处理。

目前，金刚烷胺的检测多为柱前衍生化后，采用 HPLC- 荧光法或 GC 法测定，不仅操作繁琐、费时，而

且灵敏度不高。我国对于动物源食品中金刚烷胺残留量的相关研究报道较少。本文建立了高灵敏度、高选择性的液相色谱 - 串联质谱方法，用于测定鸡肉中金刚烷胺的残留，供广大分析检测人员参考使用。



金刚烷胺的结构式

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	30
2.00	Pumps	Pump B Conc.	30
2.40	Pumps	Pump B Conc.	95
3.10	Pumps	Pump B Conc.	95
3.11	Pumps	Pump B Conc.	5
4.50	Controller	Stop	

流速：0.4 mL/min

柱温：30℃

进样量：2 μL

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-8050 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A₃ 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8050 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver.5.60 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III 2.0 mm I.D.× 150 mm L., 2.2 μm

流动相 A：含 0.1 % 甲酸和 5 mM 乙酸铵的水溶液

流动相 B：乙腈

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 5 %，时间程序见表 1。

质谱条件

离子化模式: ESI(+)

离子喷雾电压: 2 kV

加热气: 干燥空气 10 L/min

雾化气: 氮气 2.0 L/min

干燥气: 氮气 10 L/min

碰撞气: 氩气

离子源加热温度: 300°C

DL 温度: 250°C

加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

驻留时间: 100 msec

延迟时间: 3 msec

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数

化合物名称	英文名称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
金刚烷胺	Amantadine	768-94-5		135.2 *	-30	-22	-30
				93.2	-30	-28	-17

*表示定量离子

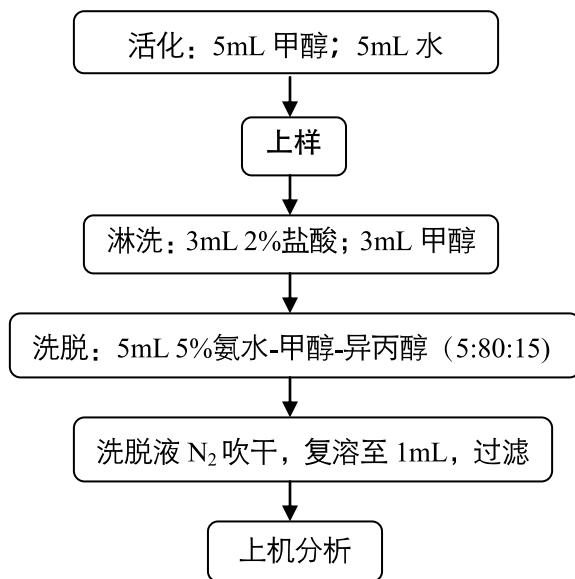
1.3 标准品溶液的配制及样品前处理

标准工作溶液配制:

用甲醇配制 10 mg/L 的标准中间工作溶液, 再用 5% 乙腈水溶液稀释成 0.02 µg/L、0.1 µg/L、0.5 µg/L、1 µg/L、5 µg/L 和 10 µg/L 不同浓度的标准工作液。

鸡肉样品前处理:

准确称取鸡肉样品 2g (±0.02 g) 于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 乙腈: 1% 三氯乙酸溶液 (1:1), 均质 1 min, 10000 rpm 离心 20 min 后, 取 4 mL 上清液过 WondaSep MPC 柱净化。净化流程如下:



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

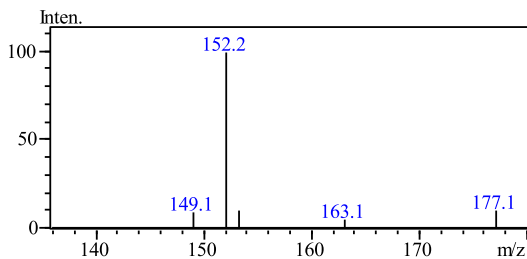


图1 金刚烷胺的一级质谱图

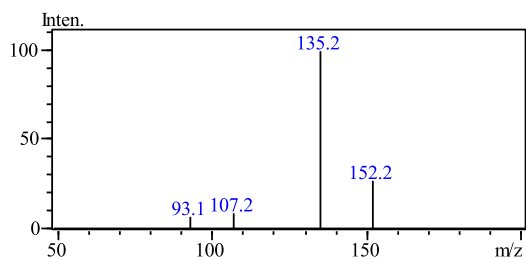


图2 金刚烷胺产物离子扫描图(CE值-18V)

2.2 标准样品的MRM色谱图

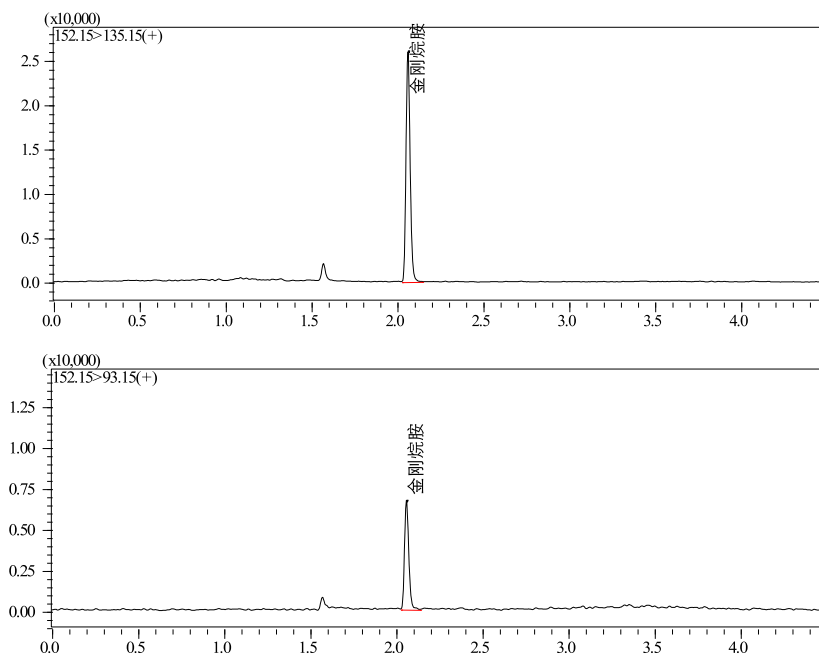


图3 金刚烷胺标准样品的色谱图(1 µg/L)

2.3 线性关系

将 0.02 µg/L、0.1 µg/L、0.5 µg/L、1 µg/L、5 µg/L 和 10 µg/L 不同浓度的标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 4 所示；所得校准曲线线性关系良好，线性方程为 $Y = (38915.5)X + (1207.4)$ ；相关系数 $R=0.9996$ 。

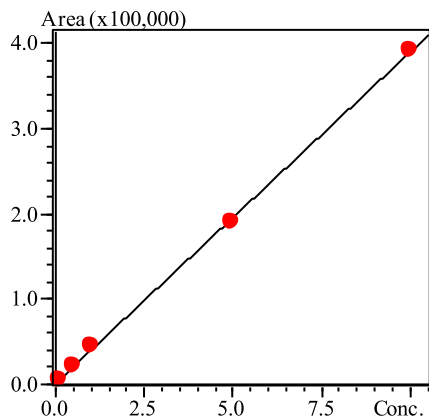


图4 金刚烷胺校准曲线

2.4 精密度试验

对 0.5 μg/L、1 μg/L 和 5 μg/L 不同浓度标准工作液连续测定 6 次，考察仪器精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 3 所示。结果显示：不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07 %~0.19 % 和 0.85 %~1.32 % 之间，仪器精密度良好。

表 3 金刚烷胺保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

Conc.(μg/L)	RSD % (R.T.)	RSD % (Area)
0.5	0.12	1.32
1	0.19	1.13
5	0.07	0.85

2.5 灵敏度实验

为了考察仪器灵敏度，配制浓度为 0.02 μg/L 测试样品 7 份，平行进样 7 次分析结果。由 7 次进样测定的标准偏差 (S) 计算出检测限和最低定量浓度，此时检出限 MDL=3.14×S，定量下限 LOQ=4×MDL，结果如表 4 所示。

表 4 金刚烷胺的检出限和定量下限

名称	标准偏差 (S)	检出限 (μg/L)	定量下限 (μg/L)
金刚烷胺	0.0013	0.0041	0.0163

2.6 基质加标实验

取空白鸡肉样品 2 g，加入少量金刚烷胺标准工作液，使加标浓度均为 1 μg/kg，样品经提取与净化后，按照 1.2 中的分析条件测定金刚烷胺的加标回收率。空白鸡肉的 MRM 色谱图如 5 所示，加标样品 MRM 色谱图如 6 所示，回收率为 77 %。

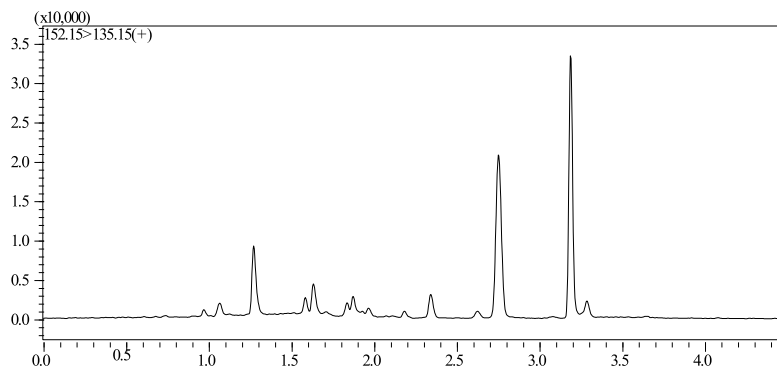


图5 空白鸡肉样品MRM色谱图

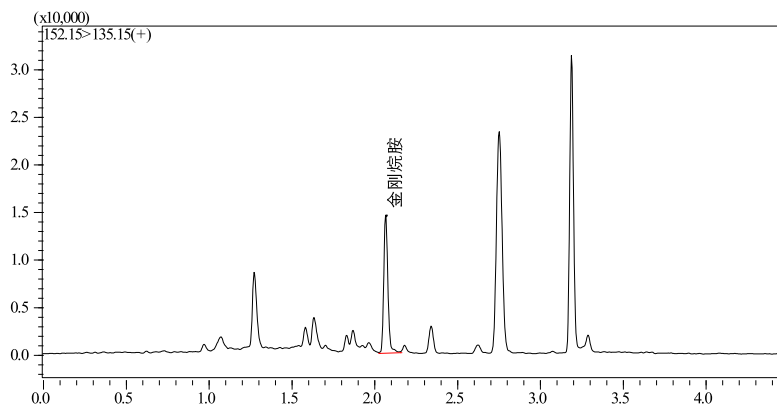


图6 1μg/kg加标样品MRM色谱图

■ 结论

建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 测定鸡肉中金刚烷胺残留的方法。鸡肉样品经提取和净化后，用超高效液相色谱 LC-30A 进行分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 进行定性和定量分析。金刚烷胺在 0.02 $\mu\text{g}/\text{L}$ ~10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性良好；对不同浓度的标准工作液连续测定 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.19 % 和 1.32 % 以下。本方法操作简单，可用于鸡肉中金刚烷胺的快速高灵敏度检测。