

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定鸡肉中利巴韦林的残留

LCMSMS-158

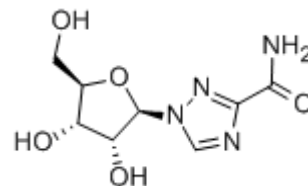
摘要：本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 测定鸡肉中利巴韦林的方法。市售鸡肉样品经提取和净化后，用超高效液相色谱 LC-30A 进行分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 进行定性和定量分析。利巴韦林在 0.02 μg/L~10 μg/L 浓度范围内线性良好，校准曲线的相关系数为 0.9995；对 0.1 μg/L、0.5 μg/L 和 1 μg/L 低中高不同浓度的标准工作液连续测定 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.25 %~0.39 % 和 1.05 %~5.38 % 之间，显示仪器精密度良好。

关键词：鸡肉 利巴韦林 三重四极杆质谱

2012 年底，央视《新闻天下》曝光了山东枣庄、临沂等一些地方养鸡场，为了缩短肉鸡的养殖周期，违规使用利巴韦林等抗病毒兽药养殖“速成鸡”，并供给肯德基、麦当劳的惊人秘密。此事一经曝光，引起了舆论的极大反响。利巴韦林等药物的滥用不仅造成鸡肉风味和品质的下降，更会导致细菌耐药性的发生和药物残留，并通过食物链影响人类健康和破坏生态平衡，造成严重不良后果。

目前，利巴韦林的检测方法有放射免疫法、气相色谱 - 质谱法、液相色谱法、液相色谱 - 质谱法等，其

中液相色谱 - 串联质谱法以其高灵敏度和可靠的确证性能，正得到越来越广泛的应用。本文采用液相色谱 - 串联质谱法测定鸡肉中利巴韦林的残留，为禽类养殖环节中利巴韦林药物的监控提供了有力支持。



利巴韦林的结构式

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 3 %，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.60	Pumps	Pump B Conc.	3
1.90	Pumps	Pump B Conc.	92
2.90	Pumps	Pump B Conc.	92
3.00	Pumps	Pump B Conc.	3
4.50	Controller	Stop	

流速：0.4 mL/min

柱温：30°C

进样量：2μL

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 3 L/min

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 15 L/min

碰撞气: 氩气

离子源加热温度: 360°C

DL 温度: 200°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)
利巴韦林	Ribavirin	36791 -04 -5	245.3	113.0 *	-11	-8	-21
				96.0	-11	-28	-17

*表示定量离子

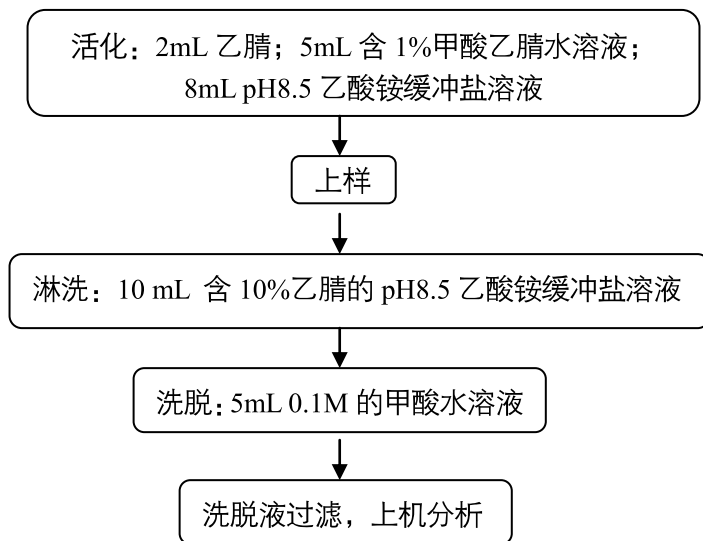
1.3 标准品溶液的配制及样品前处理

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 (±0.02g) 于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 乙腈; 1% 三氯乙酸溶液 (7:3), 均质 1 min, 10000 rpm 离心 10 min 后, 取上清用氨水调 pH 值为 8.5, 再 10000 rpm 离心 10 min, 取上清 5 mL 过苯基硼酸柱净化。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

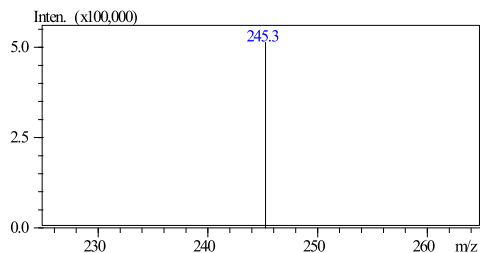


图1 利巴韦林的一级质谱图

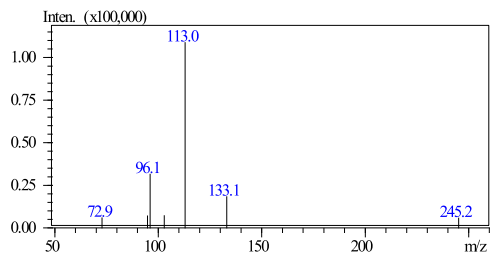


图2 利巴韦林产物离子扫描图(CE 值-15 V)

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

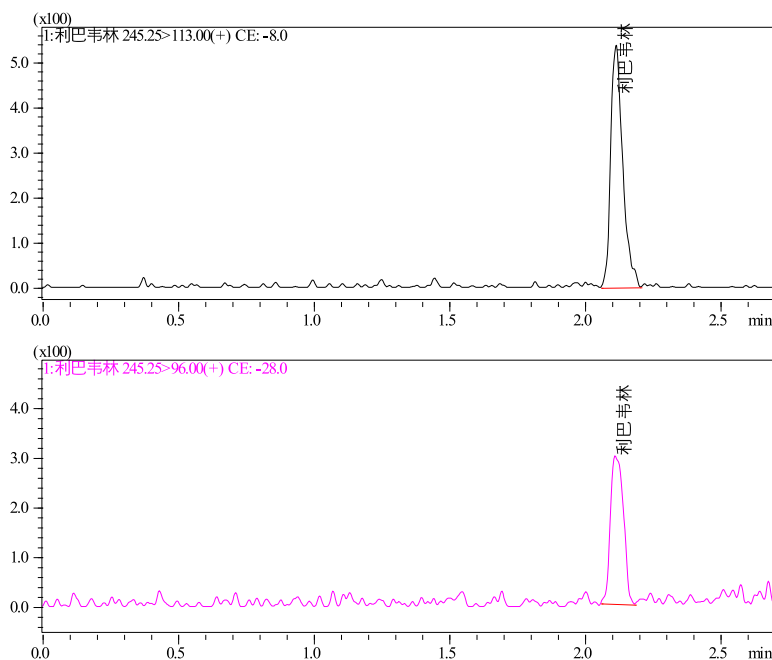


图3 利巴韦林标准样品的色谱图 (0.1 μg/L)

2.3 线性关系

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 $Y = (14631.6)X + (175.781)$ ；相关系数 $R=0.9995$ 。

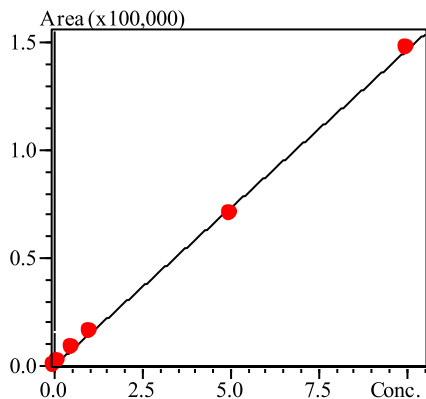


图4 利巴韦林标校准曲线

2.4 精密度实验

对 0.1 μg/L、0.5 μg/L 和 1 μg/L 不同浓度标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，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 0.25 %~0.39 % 和 1.05 %~5.38 % 之间，仪器精密度良好。

表 3 利巴韦林保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

Conc.(μg/L)	RSD % (R.T.)	RSD % (Area)
0.1	0.39	5.38
0.5	0.25	3.06
1	0.37	1.05

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，测定结果如表 4 所示。

表 4 利巴韦林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	0.0016	0.005	0.020

2.6 基质加标实验

取空白鸡肉样品 2 g，加入少量利巴韦林标准工作液，使加标浓度均为 1 μg/kg，样品经提取与净化后，按照 1.2 中的分析条件利巴韦林测定的加标回收率。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 94.5 %。

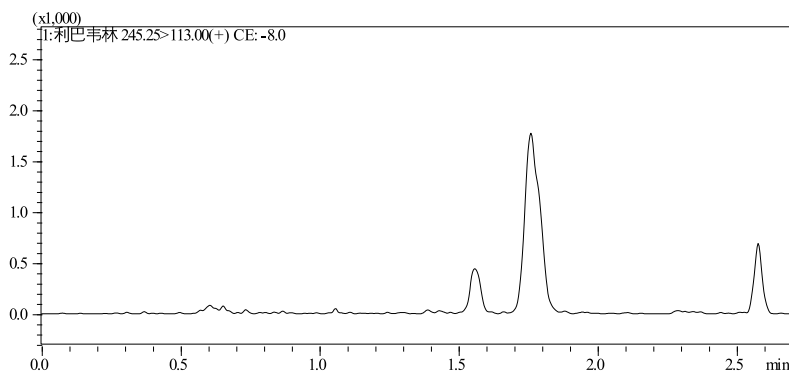


图 5 空白鸡肉样品MRM色谱图

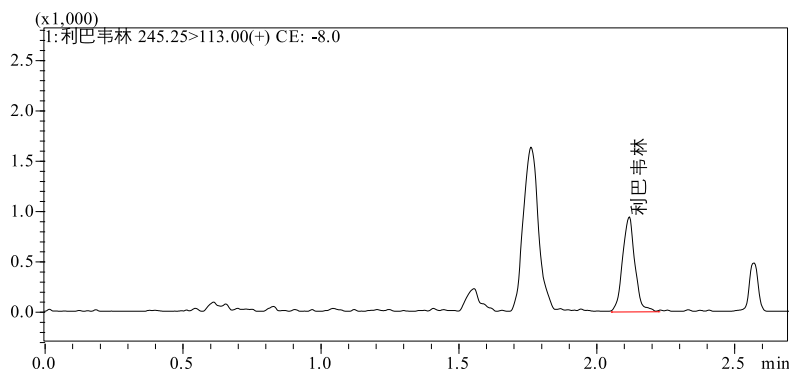


图 6 1 μg/kg 加标样品MRM色谱图

■ 结论

建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 测定鸡肉中利巴韦林残留的方法。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。利巴韦林在 0.02 $\mu\text{g/L}$ ~1 $\mu\text{g/L}$ 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 0.25 %~0.39 % 和 1.05 %~5.38 % 之间。本方法操作简单，可用于鸡肉中利巴韦林的快速高灵敏度检测。