

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定动物性食品中环丙氨嗪及代谢物三 聚氰胺残留量

LCMSMS-161

摘要：本文建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定动物性食品中环丙氨嗪及代谢物三聚氰胺残留量的方法。试样中残留的环丙氨嗪及代谢物三聚氰胺经 3 % 的三氯乙酸溶液提取，MCX 固相萃取柱净化，超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪进行测定，外标法定量。标准样品在 0.2~10 μg/L 浓度范围内线性关系良好；对 2 μg/L 标准溶液连续 6 次进样，环丙氨嗪保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.09 % 和 2.09 %，三聚氰胺保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.11 % 和 1.92 %。添加浓度为 8 μg/kg 的鸡肉样品，环丙氨嗪和三聚氰胺加标回收率分别为 87.8 %、87.5 %。

关键词：环丙氨嗪三聚氰胺超高效液相色谱仪三重四极杆质谱仪

环丙氨嗪 (Cyromazine)，又名灭蝇胺，作为一种高效昆虫生长抑制剂类杀虫剂，被广泛地添加到动物饲料中用于控制动物厩舍内蝇蛆的生长发育，改善畜禽养殖场环境卫生。许多养殖户长期使用环丙氨嗪而没有休药期，导致动物性食品中药物残留。虽然环丙氨嗪毒性较小，但是其代谢物三聚氰胺是一种潜在致癌物质，过量摄入，会导致肾脏功能不全，进而导致死亡。

2002 年我国农业部在《动物性食品中兽药残留最

高限量》中规定环丙氨嗪在禽产品中的最高残留限量为 0.05 mg/kg。

本文参考《GB 29704-2013 动物性食品中环丙氨嗪及代谢物三聚氰胺多残留的测定超高效液相色谱 - 串联质谱法》，建立了 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定动物性食品中环丙氨嗪及代谢物三聚氰胺残留量的方法。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-8040 联用系统。具体配置为 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-8040 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：Inertsil HILIC

(2.1 mmI.D.×50 mmL., 2μm)

流动相 A：10 mmol/L 乙酸铵

流动相 B：乙腈

流速：0.3 mL/min

进样体积：5 μL

柱温：30℃

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 95 %。

表1 梯度时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	95
4.00	Pumps	Pump B Conc.	90
4.50	Pumps	Pump B Conc.	60
6.50	Pumps	Pump B Conc.	60
6.51	Pumps	Pump B Conc.	95
10.00	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器: LCMS-8040

离子源: ESI, 正离子扫描

离子源接口电压: 4.5 kV

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 15 L/min

碰撞气: 氩气

脱溶剂管温度: 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 ms

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数

编号	中文名	英文名称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE (V)	Q3 Pre Bais(V)
1	环丙氨嗪	Cyromazine	66215-27-8	167.1	60.0*	-30.0	-20.0	-24.0
					85.0	-30.0	-18.0	-16.0
2	三聚氰胺	Melamine	108-78-1	127.1	85.0*	-26.0	-20.0	-17.0
					43.0	-26.0	-33.0	-17.0

*表示定量离子

1.3 样品前处理方法

称取试料 (2 ± 0.02) g, 于 50mL 离心管中, 加三氯乙酸溶液 20 mL, 涡旋混合 30 s, 超声 10 min, 静置 10 min, 10000 r/min 离心 10 min。10 mL 上层清液, 加入 10 mL 乙腈饱和的正己烷, 充分振荡混匀, 重复一次, 取水相溶液备用。

取 MCX 柱依次用甲醇 3 mL 和水 3 mL 活化, 取备用液 5 mL 过柱, 加 2% 甲酸水溶液 3mL、甲醇 3 mL 淋洗, 抽干, 加 5% 氯化甲醇 3 mL 洗脱, 抽干, 收集洗脱液, 于 50°C 吹干, 用 95% 乙腈水溶液 2 mL 溶解残余物, 滤膜过滤, 待测。

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

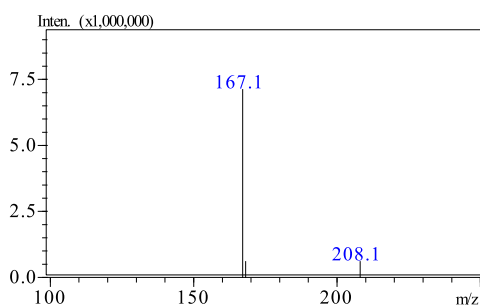


图 1 环丙氨嗪的一级质谱图

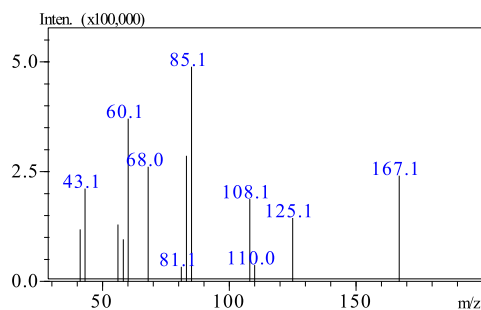


图 2 环丙氨嗪的产物离子扫描质谱图(CE: 24V)

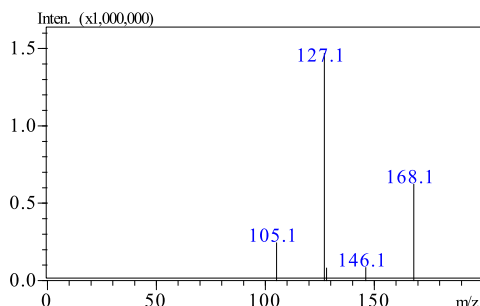


图 3 三聚氰胺的一级质谱图

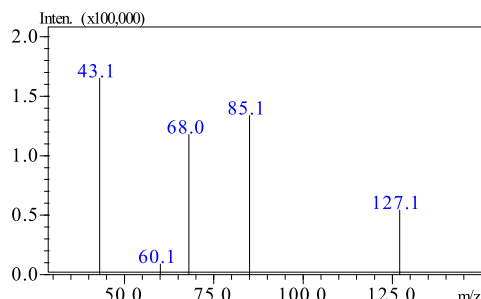


图 4 三聚氰胺的产物离子扫描质谱图(CE: 27V)

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

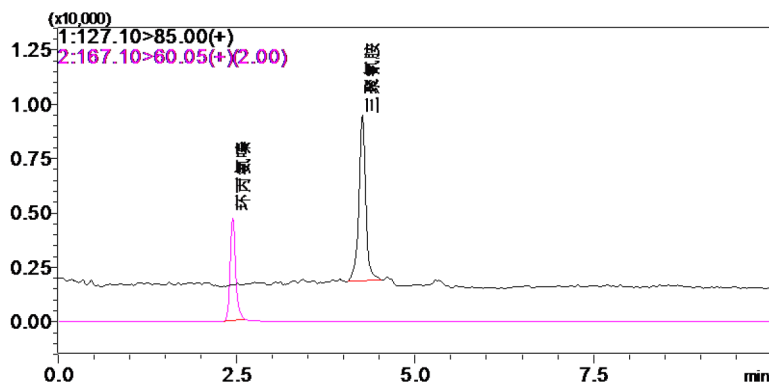


图 5 环丙氨嗪和三聚氰胺标准品 MRM 色谱图 (0.5 μg/L)

2.3 基质匹配标准曲线线性关系

按照 1.3 处理 3 个空白鸡肉样品，净化液混合均匀后备用。分别配制 1 mg/mL 环丙氨嗪和三聚氰胺甲醇标准溶液，再用上述净化液配制成 20mg/L 的环丙氨嗪、三聚氰胺混合标准溶液，再以净化液逐级稀释成环丙氨嗪、三聚氰胺的浓度分别为 0.2, 0.5, 1, 2, 5 和 10 μg/L 的系列混合标准溶液，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标制作基质匹配外标标准曲线。标准曲线见图 6、图 7。环丙氨嗪和三聚氰胺在检测浓度范围内线性关系良好。线性方程、相关系数及由软件计算得到的检出限和定量限见表 3。

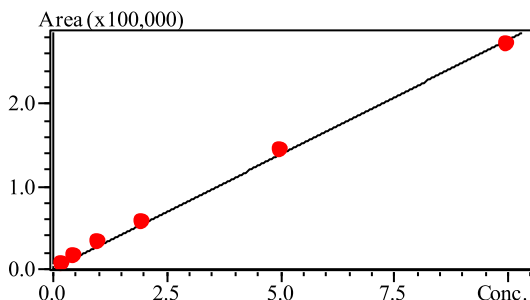


图 6 环丙氨嗪的标准工作曲线

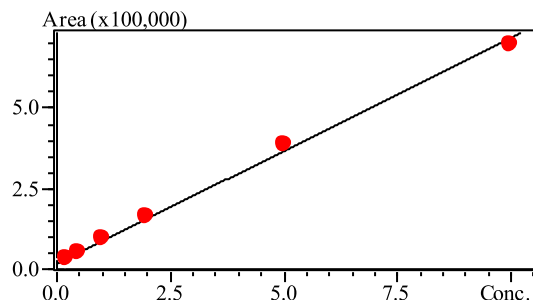


图 7 三聚氰胺的标准工作曲线

表 3 校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	相关系数	检出限 (μg/L)	定量限
1	环丙氨嗪	$Y = (27743.4)X - (105.692)$	0.9992	0.01	0.04
2	三聚氰胺	$Y = (70118.6)X + (16895.2)$	0.9991	0.05	0.14

2.4 精密度实验

对 2 μg/L 标准溶液连续 6 次进样，环丙氨嗪保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.09 % 和 2.09 %，三聚氰胺保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.11 % 和 1.92 %，仪器精密度良好。

表4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

NO.	Ret.Time (min)		Area	
	环丙氨嗪	三聚氰胺	环丙氨嗪	三聚氰胺
1	2.413	4.207	53394	145323
2	2.409	4.197	51013	142458
3	2.412	4.194	51095	147328
4	2.415	4.201	50744	149670
5	2.415	4.202	50436	148690
6	2.413	4.205	50890	149535
RSD%	0.09	0.11	2.09	1.92

2.5 回收率实验

将所建立的分析方法用于实际样品分析，检测鸡肉样品，未检测到环丙氨嗪，检测到微量三聚氰胺，浓度低于定量限。鸡肉样品的MRM色谱图见图8。添加浓度为8 μg/kg的鸡肉样品按1.3中的方法处理后，按1.2中的分析条件测定加标回收率。加标样品MRM色谱图如图9所示，环丙氨嗪和三聚氰胺加标回收率分别为87.8%、87.5%。

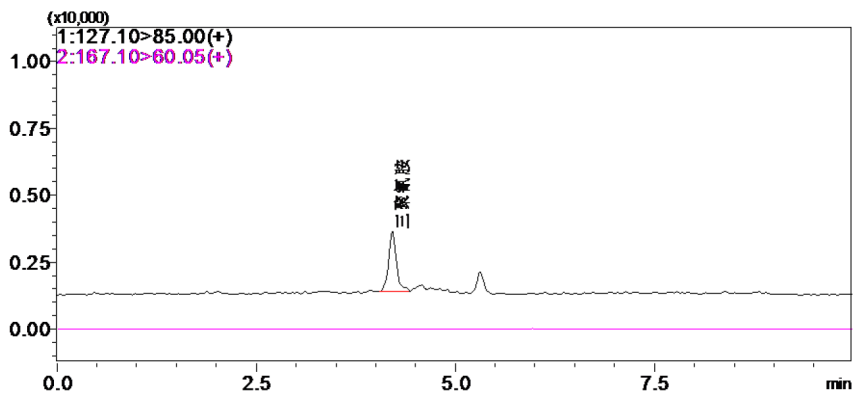


图8 鸡肉样品的MRM色谱图

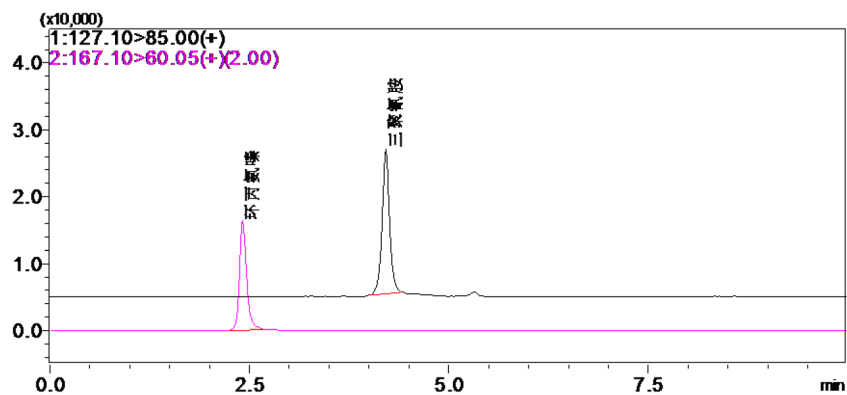


图9 鸡肉加标样品的MRM色谱图 (8 μg/kg)

■ 结论

建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定鸡肉中环丙氨嗪及代谢物三聚氰胺残留量的方法。标准样品在 0.2~10 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性关系良好；对 2 $\mu\text{g/L}$ 标准溶液连续 6 次进样，环丙氨嗪保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.09 % 和 2.09 %，三聚氰胺保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.11 % 和 1.92 %。添加浓度为 8 $\mu\text{g/kg}$ 的鸡肉样品，环丙氨嗪和三聚氰胺加标回收率分别为 87.8 %、87.5 %。该方法可满足动物性食品中环丙氨嗪及代谢物三聚氰胺残留量的检测。