

LCMS-8040 测定鸡肉中金刚烷胺残留量

LCMSMS-167

摘要： 本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 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-8040 进行定性和定量分析。金刚烷胺在 0.1 μg/L~50 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 0.04 %~0.91 % 和 0.48 %~2.77 % 之间，显示器精密度良好。

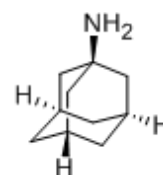
关键词： 鸡肉金刚烷胺三重四极杆质谱

2012 年 11 月底某大型肉鸡食品企业被媒体曝光采用含有金刚烷胺等抗病毒兽药的饲料喂养鸡等家禽，使得一只鸡从孵出到端上餐桌只需要短短的 45 天，媒体俗称“速成鸡”事件。该企业为肯德基、麦当劳的大型供货商，此事件一经报道便在社会上引起了强烈反响。而早在 2005 年我国农业部就曾发出《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。

作为明令禁止的兽药，对其残留的检测控制尤显重要，以往检测方法多以柱前衍生

化加上 HPLC- 荧光法或 GC 法测定为主，操作繁琐

费时，灵敏度不高；目前转变为以高效液相 - 串联质谱法检测为主。本文建立了测定鸡肉中金刚烷胺残留的一种高灵敏度、高选择性液相色谱 - 串联质谱方法，可供广大分析检测人员参考。



金刚烷胺的结构式

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-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A_{SR} 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 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。

流速：0.4 mL/min

柱温：30°C

进样量：2 μL

表1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	22
2.00	Pumps	Pump B Conc.	22
2.40	Pumps	Pump B Conc.	95
3.10	Pumps	Pump B Conc.	95
3.11	Pumps	Pump B Conc.	5
5.0 0	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI(+)

离子喷雾电压: 2 kV

雾化气: 氮气 2.0 L/min

干燥气: 氮气 12 L/min

碰撞气: 氩气

DL 温度: 300°C

加热模块温度: 450°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	152.2	135.2*	-30	-22	-30
				93.2	-30	-28	-17

*表示定量离子

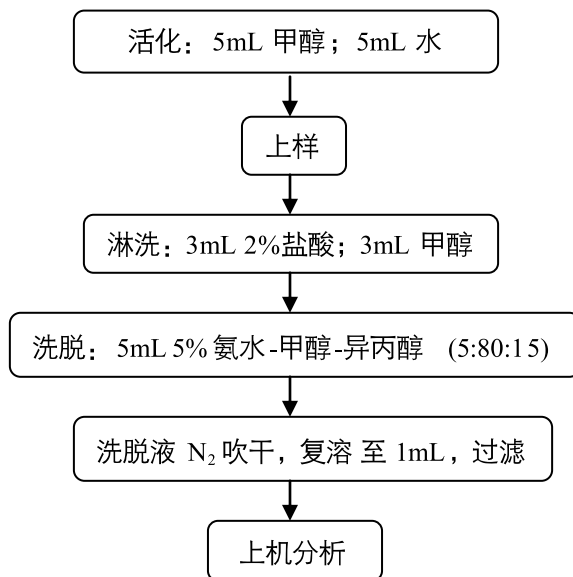
1.3 标准品溶液的配制及样品前处理

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 0.1 µg/L、0.5 µg/L、1 µg/L、5 µg/L、10 µg/L 和 50 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 2 g (± 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

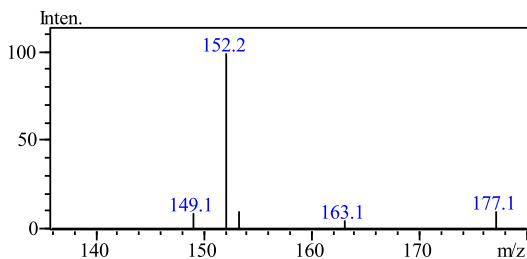


图1 金刚烷胺的一级质谱图

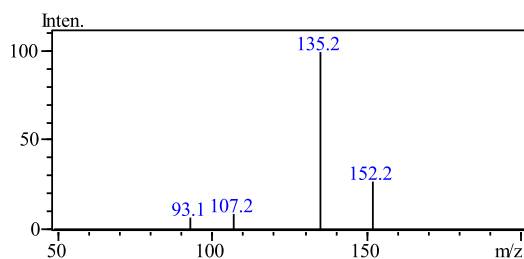


图2 金刚烷胺产物离子扫描图(CE 值 -18 V)

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

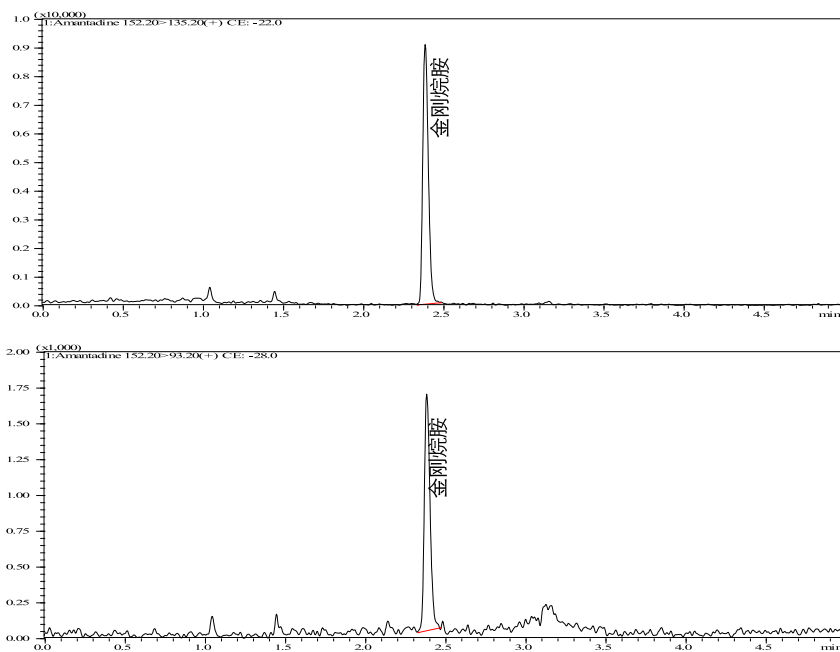


图3 金刚烷胺标准样品的色谱图 (1 μg/L)

2.3 线性关系

将 0.1 μg/L、0.5 μg/L、1 μg/L、5 μg/L、10 μg/L 和 50 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 $Y = (16661.2)X + (8416.12)$ ；相关系数 $R=0.9996$ 。

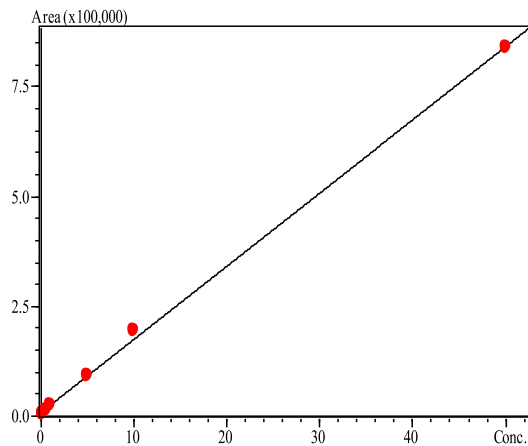


图4 金刚烷胺校准曲线

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 0.04 %~0.91% 和 0.48 %~2.01 % 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	0.91	2.01
1	0.15	2.77
5	0.04	0.48

2.5 灵敏度实验

为了考察仪器灵敏度，配制浓度为 0.1 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	0.0058	0.0181	0.0725

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 71 %。

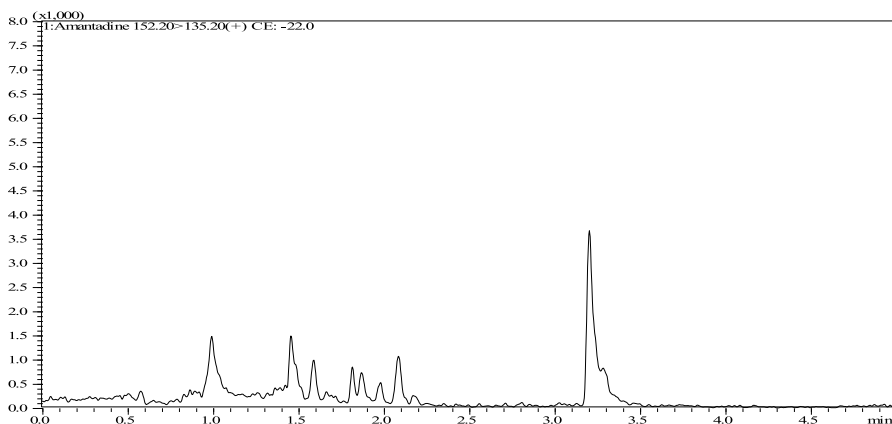


图5 空白鸡肉样品MRM色谱图

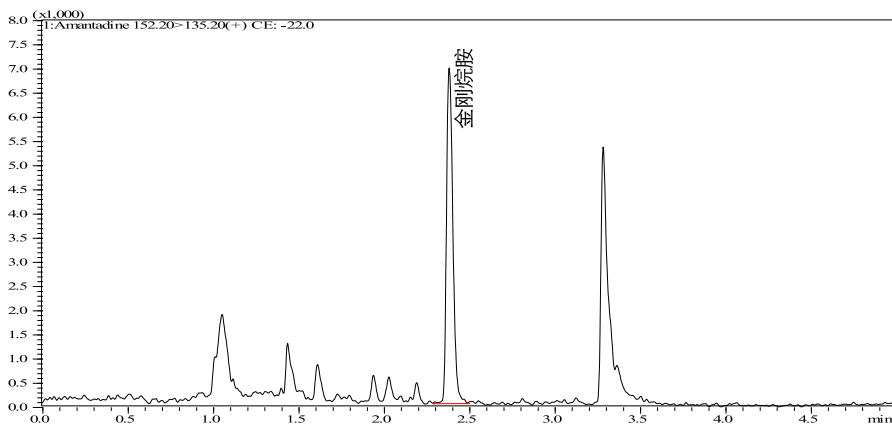


图6 1 μg/kg 加标样品MRM色谱图

■ 结论

建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 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-8040 进行定性和定量分析。金刚烷胺在 0.1 $\mu\text{g/L}$ ~50 $\mu\text{g/L}$ 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 0.91 % 和 2.77 % 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。