

# LCMS-8045 测定鱼肉基质中的硝基呋喃类代谢物

## LCMSMS-233

**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-8045 联用检测鱼肉基质中硝基呋喃类代谢物残留量的检测方法。样品经处理后，用超高效液相色谱 LC-30A 在 3.0 min 内完成分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 进行定量分析。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)在 0.05~20 ng/mL 内线性良好，相关系数均大于 0.9970；分别用浓度为 0.05 ng/mL 和 2.0 ng/mL 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 0.09~0.18% 和 0.85~1.99% 之间，仪器精密度良好。

**关键词：** 硝基呋喃类 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。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-恶唑烷基酮(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-8045 联用，参考 GB/T 21311-2007，建立了测定鱼肉基质中硝基呋喃代谢物：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)残留量的高灵敏度检测方法，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-8045 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2(输液泵), DGU-20A5R(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-8045 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.86 色谱工作站。

#### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱: Shim-packGISS C18 Column(2.1 mm

I.D.×100 mm L., 1.9 μm)

流动相: A 相: (0.01% 甲酸) 水,

B 相: (0.01% 甲酸) 乙腈

流速: 0.50 mL/min

柱温: 40°C

进样体积: 10 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, 初始比例 10%B

表1 通用梯度洗脱程序

Time (min)	Module	Command	Value
1.50	Pumps	Pump B Conc.	80
1.51	Pumps	Pump B Conc.	10
3.00	Controller	Stop	

质谱条件  
分析仪器：LCMS-8045  
离子源：ESI+  
雾化气流速：3.0 L/min  
加热气流速 15.0 L/min  
接口温度：400℃

DL 温度：250℃  
加热模块温度：450℃  
喷针偏移距离：+3.0 mm  
干燥气流速：5.0 L/min  
扫描模式：多反应监测 (MRM)， MRM 参数见表 2

表2 化合物信息及MRM参数

编号	名称	CAS.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	SEM	57-56-7	209.05	166.10	-14.0	-9.0	-17.0
				192.05	-15.0	-13.0	-21.0
2	AOZ	80-65-9	236.10	134.00	-11.0	-11.0	-23.0
				104.10	-17.0	-22.0	-11.0
3	AHD	2827-56-7	249.00	134.05	-26.0	-12.0	-25.0
				104.15	-17.0	-23.0	-21.0
4	AMOZ	43056-63-9	335.15	291.10	-16.0	-12.0	-30.0
				262.10	-24.0	-18.0	-30.0

\*表示定量离子

### 1.3 样品制备

标准溶液配制: 硝基咪唑衍生化标准物质 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)分别称取适量用丙酮/甲醇(1:1)的混合溶剂配制0.5 mg/mL的单标准贮备液,用甲醇稀释至100 ng/mL的混标后用水逐步稀释成0.050、0.10、0.20、0.50、1.0和2.0 ng/mL系列浓度的混合标准工作液。

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》。

## 结果与讨论

### 2.1 标准样品的 MRM 色谱图

标准样品的 MRM 色谱图如图 1 所示:

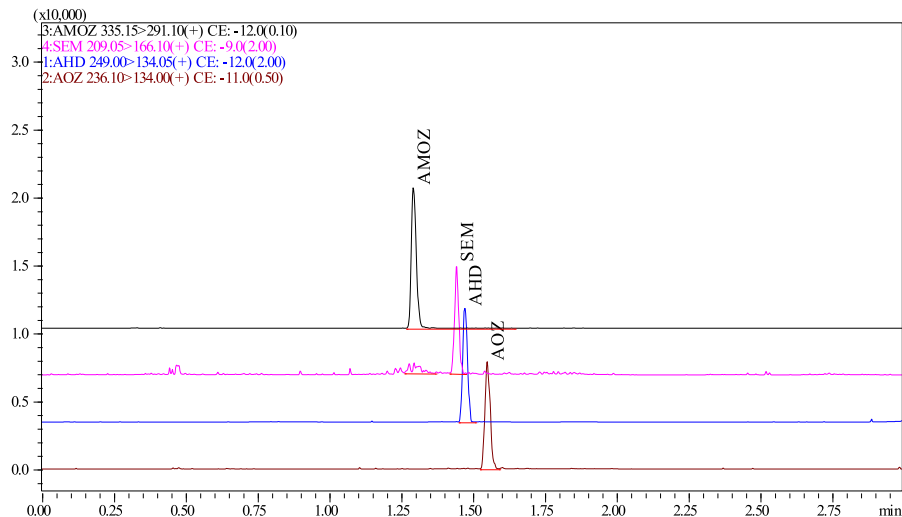


图1 标准样品的MRM色谱图(0.5 ng/mL)

## 2.2 线性关系

配制浓度为 0.050、0.10、0.20、0.50、1.0、2.0、5.0、10.0 和 20 ng/mL 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，标线如下图所示。在 0.005~20 ng/mL 浓度范围内线性良好。线性方程、线性范围和判定系数见表 3。

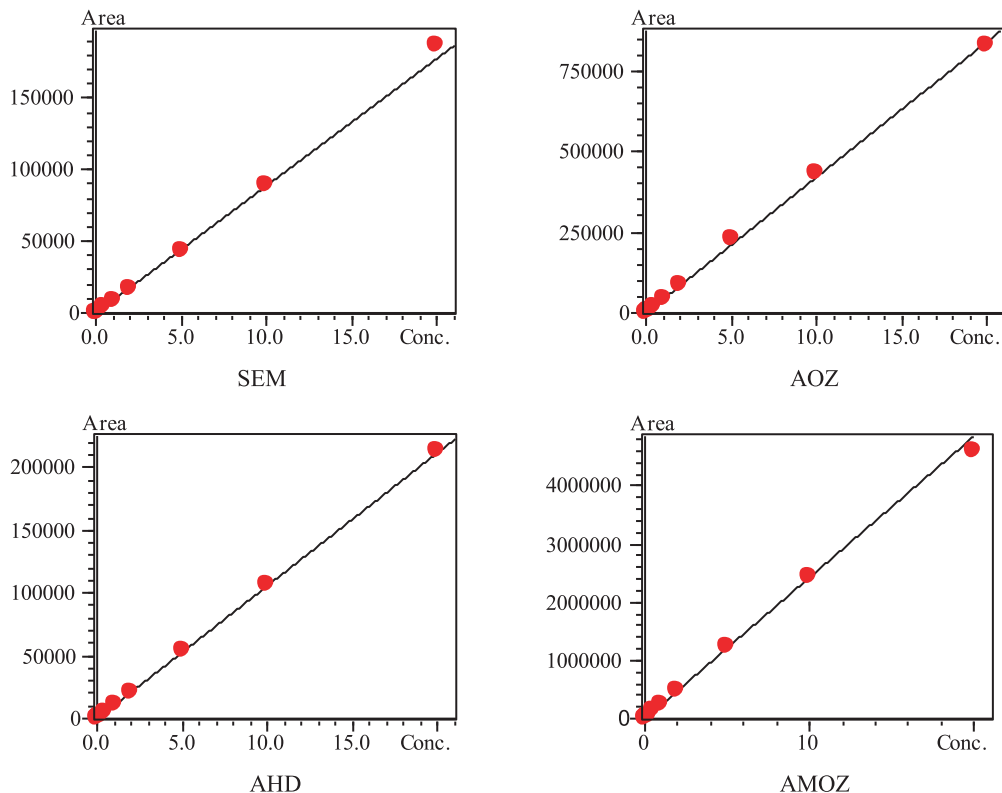


图2 标准工作曲线

表3 校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	线性范围 ng/mL	准确度 (%)	判定系数 r
1	SEM	$Y = (8892.23)X + (-316.210)$	0.050~20	93.2~111.6	0.9970
2	AOZ	$Y = (42020.9)X + (65.5028)$	0.050~20	94.0~108.4	0.9986
3	AHD	$Y = (10603.3)X + (-260.028)$	0.050~20	95.5~102.1	0.9996
4	AMOZ	$Y = (242918)X + (-322.397)$	0.050~20	94.5~103.8	0.9996

## 2.3 检出限和定量限

对浓度为 0.05 ng/mL 的混合标准溶液进样分析，最低检出限 (S/N=3, LOD 表示)、最低定量限 (S/N=10, LOQ 表示) 结果如表 4 所示。

表4 检出限和定量限

No.	名称	信噪比	检出限(ng/mL)	定量限(ng/mL)
1	SEM	10	0.015	0.05
2	AOZ	156	0.00096	0.0032
3	AHD	150	0.0010	0.0033
4	AMOZ	633	0.00024	0.00079

## 2.4 精密度实验

对两个浓度的混合标准溶液连续 6 次进样，考察仪器的精密度、保留时间和峰面积的重复性结果如表 5 所示。三个浓度标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.09~0.18% 和 0.85~1.99% 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)

样品名称	RSD% (0.5 ng/mL)		RSD% (2 ng/mL)	
	R.T	Area	R.T	Area
SEM	0.14	1.99	0.09	1.86
AOZ	0.13	1.94	0.12	1.65
AHD	0.18	1.97	0.14	1.61
AMZO	0.18	1.97	0.09	0.85

## 2.5 回收率实验

按照 1.3 中样品制备方法提取净化的空白鱼肉样品中添加混合标样，加标含量为 1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，进样浓度为 1.0 ng/mL，空白基质色谱图如图 3 所示，基质加标样品色谱图如图 4 所示。

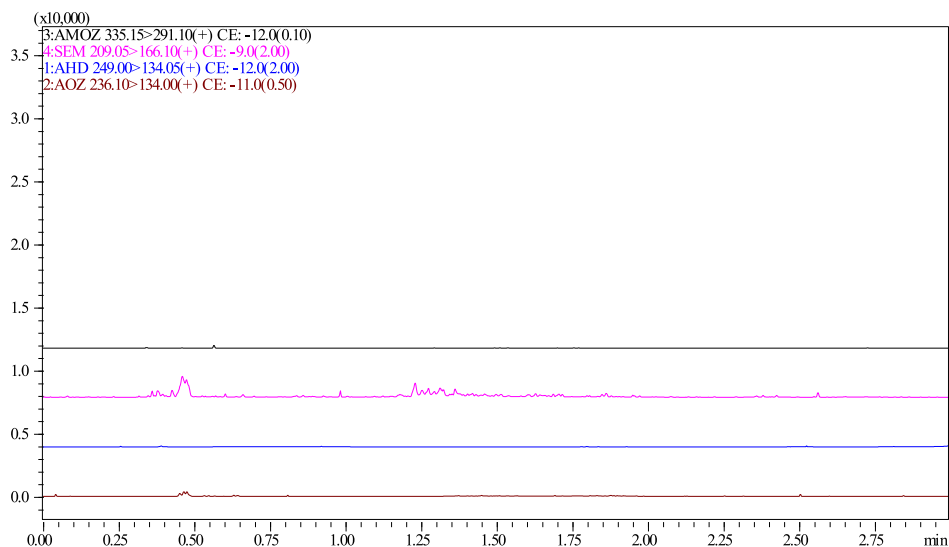


图3 空白基质色谱图

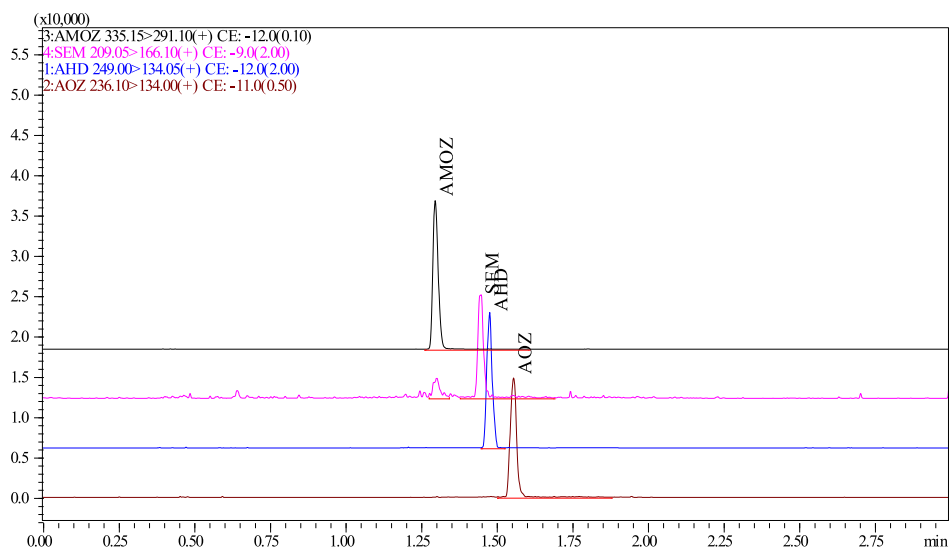


图4 基质加标样品色谱图(1.0 ng/mL)

## ■ 结论

使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定鱼肉基质中的硝基咪喃类代谢物。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》，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) 四种物质在 0.05~20 ng/mL 浓度范围内线性良好，相关系数均大于 0.9970。此方法快速、简单、选择性强和灵敏度高，满足目前动物源食品中硝基咪喃类代谢物残留量检测要求。