

LC-MS/MS 法测定蜂蜜中 4 种抗病毒类药物残留量

LCMSMS-945

摘要： 本文建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪测定蜂蜜中 4 种抗病毒类药物残留量的方法。各目标物在 0.1~50 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内，校准曲线线性良好，线性相关系数为 0.9989~0.9997，精确度在 91.4~106.9% 之间；各目标物的方法定量限在 0.017~0.046 $\mu\text{g/kg}$ 之间，灵敏度高；对 1 $\mu\text{g/L}$ 和 5 $\mu\text{g/L}$ 基质匹配标准溶液连续分析 6 次，各目标物的保留时间 RSD 不大于 0.12%，峰面积 RSD 不大于 5.42%，仪器的重复性良好；加标回收实验表明，各目标物回收率在 84.1~108.0% 之间。该方法满足检测要求，能快速、有效的分析蜂蜜中 4 种抗病毒类药物的残留量。

关键词： 三重四极杆液质联用仪 蜂蜜 抗病毒类药物

技术特点：

- ❖ 方法定量限在 0.017~0.046 $\mu\text{g/kg}$ 之间，优于标准规定的定量限 -1 $\mu\text{g/kg}$ ，灵敏度高。
- ❖ 通过优化 LC 分析条件，使得金刚乙胺和美金刚这一对同分异构体可完全分离，且不需使用能耐 100% 水相的烷基反相色谱柱。

蜜蜂在养殖过程中易被病毒感染引发中囊病，该病危害大，传染性强，一旦爆发会引起蜂群大规模死亡，给蜂农造成重大经济损失。金刚烷胺等抗病毒类药物对该疾病有较好的疗效。

但是，金刚烷胺使用不当易导致动物精神异常和角膜水肿，吗啉胍可能对动物的心肌细胞和肾脏具有一定的毒害作用。我国农业农村部《关于清查

金刚烷胺等抗病毒药物的紧急通知》中，规定禁用金刚烷胺、金刚乙胺和吗啉胍等。

本文参照《食品安全国家标准 蜂产品中 4 种抗病毒类药物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法（征求意见稿）》，使用三重四极杆液质联用仪建立了测定蜂蜜中金刚烷胺、金刚乙胺、美金刚和吗啉胍残留量的方法，为相关检测提供参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-40D X3 与 LCMS-8045 联用系统，具体配置为：

系统控制器：	CBM-40	脱气机：	DGU-405
输液泵：	LC-40D X3	自动进样器：	SIL-40C X3
柱温箱：	CTO-40S	质谱检测器：	LCMS-8045
色谱工作站：	LabSolutions V 5.118		

1.2 分析条件

色谱条件：

色谱柱：	Shim-pack Velox SP-C18 (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm) (岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-32003-03)		
流动相：	A 相 -0.1% 甲酸水溶液; B 相 - 甲醇		
洗脱方式：	梯度洗脱, B 相初始浓度为 5%		
流速：	0.3 mL/min	进样量：	2 μL
柱温：	30 $^{\circ}\text{C}$		

表 1 时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	泵	B.Conc	5
1.10	泵	B.Conc	25
7.40	泵	B.Conc	55
7.50	泵	B.Conc	95
9.00	泵	B.Conc	95
9.10	泵	B.Conc	5
12.00	Controller	Stop	

质谱条件:

离子化模式 : ESI+

接口温度 : 300°C

接口电压 : 1.0 kV

雾化气 : 氮气 3.0 L/min

干燥气 : 氮气 10.0 L/min

加热气 : 空气 10.0 L/min

DL 温度 : 200°C

加热模块温度 : 300°C

扫描模式 : 多反应监测 (MRM)

表 2 MRM 参数

编号	化合物	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	金刚烷胺	152.2	135.2*	-11	-15	-26
			93.1	-11	-30	-16
2	金刚乙胺	180.2	81.1*	-14	-24	-14
			91.1	-14	-40	-17
3	美金刚	180.2	163.2*	-14	-14	-29
			91.1	-14	-40	-17
4	吗啉胍	172.2	60.3*	-13	-17	-22
			113.2	-13	-21	-20
5	金刚烷胺 -D15	167.3	86.2	-12	-34	-26
6	金刚乙胺 -D4	184.3	167.2	-14	-16	-30
7	美金刚 -D6	186.3	169.3	-14	-15	-16
8	吗啉胍 -D8	180.2	121.1	-13	-22	-21

注: * 表示定量离子

1.3 样品前处理方法

参照《食品安全国家标准 蜂产品中 4 种抗病毒类药物残留量的方法 液相色谱 - 串联质谱法 (征求意见稿)》中“8.1 提取”和“8.2 净化”部分, 2 g 蜂蜜样品经提取和 SPE 净化后, 洗脱液以氮气吹干, 以 1 mL 0.5% 甲酸 - 甲醇溶液复溶, 滤膜过滤后得待测样品溶液。

1.4 基质匹配标准溶液

参照《食品安全国家标准 蜂产品中 4 种抗病毒类药物残留量的方法 液相色谱 - 串联质谱法 (征求意见稿)》，配制浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1.0、5.0、10.0 和 50.0 $\mu\text{g/L}$ 的蜂蜜基质匹配混合标准溶液，其中内标浓度为 10 $\mu\text{g/L}$ 。

■ 结果与讨论

2.1 专属性和灵敏度

空白基质与基质匹配标准溶液 MRM 重叠谱图显示，各目标峰及其内标保留时间处，未见明显干扰，专属性良好。0.1 $\mu\text{g/L}$ 基质匹配标准溶液中，各目标物定量离子信噪比为 10.96~30.45，仪器定量限为 0.033~0.091 $\mu\text{g/L}$ ，方法定量限为 0.017~0.046 $\mu\text{g/kg}$ ，优于标准规定的定量限 -1 $\mu\text{g/kg}$ ，灵敏度高。

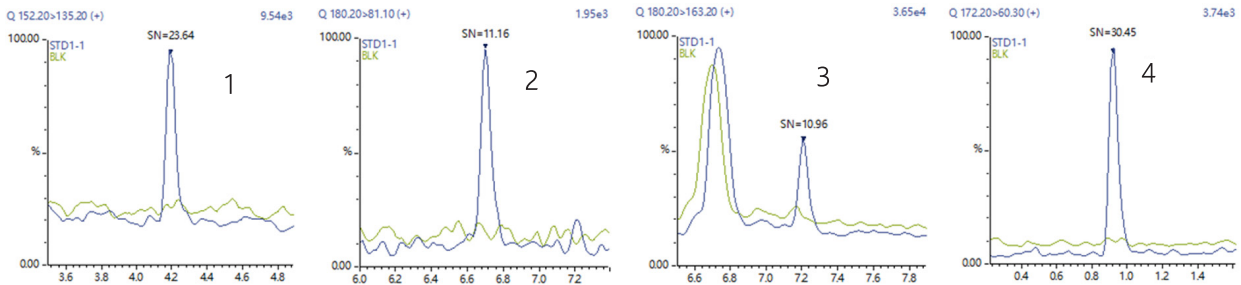


图 1 空白基质与 0.1 $\mu\text{g/L}$ 基质匹配标准溶液色谱图 (1-4 分别为金刚烷胺、金刚乙胺、美金刚和吗啉胍)

2.2 校准曲线

以化合物浓度为横坐标，目标物峰面积与其内标峰面积比值为纵坐标，建立内标法校准曲线，各目标物在 0.1~50 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好，相关系数为 0.9989~0.9997，精确度在 91.4~106.9% 之间。

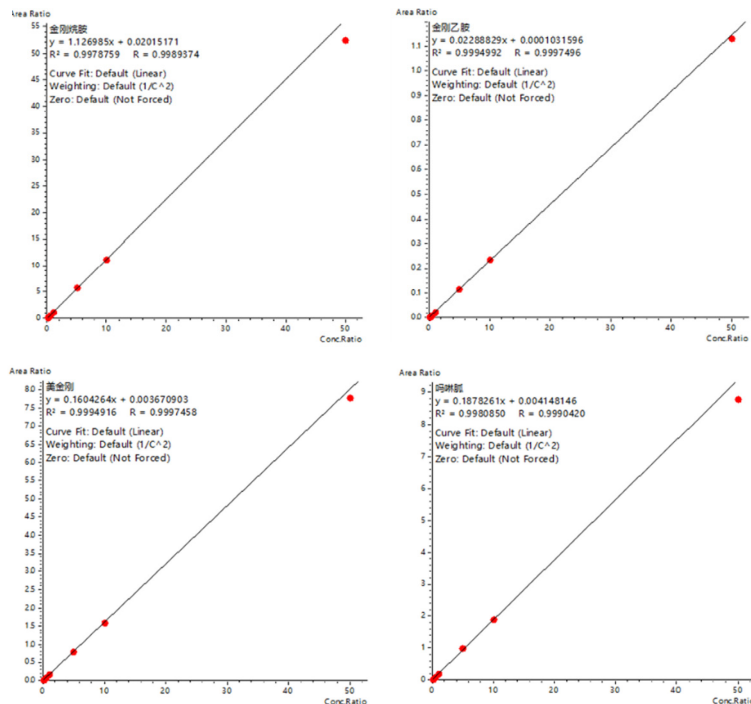


图 2 校准曲线

表 3 校准曲线

编号	化合物	线性范围 (µg/L)	线性方程	相关系数 (R)	精确度 (%)
1	金刚烷胺	0.1~50	Y=1.127X+0.020	0.9989	91.4~105.9%
2	金刚乙胺	0.1~50	Y=0.023X+0.001	0.9997	92.6~105.8%
3	美金刚	0.1~50	Y=0.160X+0.004	0.9997	95.5~103.5%
4	吗啉胍	0.1~50	Y=0.188X+0.004	0.9990	91.8~106.9%

2.3 精密度实验

对 1 µg/L 和 5 µg/L 基质匹配标准溶液连续分析 6 次, 各目标物的保留时间 RSD 不大于 0.12%, 峰面积 RSD 不大于 5.42%, 仪器的重复性良好。

表 4 重复性结果 (n=6)

化合物	1 µg/L		5 µg/L	
	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
金刚烷胺	0.05	4.27	0.12	3.47
金刚乙胺	0.04	5.42	0.09	4.49
美金刚	0.04	4.45	0.09	3.50
吗啉胍	0.05	3.19	0.07	1.74

2.4 样品测试和加标回收率

按照 1.3 前处理方式进行处理, 检测了蜂蜜样品中 4 种抗病毒药物残留量, 结果均未检出。在样品中加标计算回收率, 最终结果显示: 各目标物回收率在 84.1~108.0% 之间。

表 5 样品检测结果和加标回收率

化合物	检测值	加标量 (µg/kg)	加标样品实测 (µg/kg)	回收率
金刚烷胺	N.D.	8.00	8.64	108.0
金刚乙胺	N.D.	8.00	7.01	87.6
美金刚	N.D.	8.00	6.73	84.1
吗啉胍	N.D.	8.00	7.62	95.3

注 1: N.D. 表示未检出

注 2: 标准要求回收率需在 70~110% 之间

■ 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪测定蜂蜜中金刚烷胺、金刚乙胺、美金刚和吗啉胍残留量的方法。该方法的灵敏度、精密度、校准曲线和加标回收率均满足检测需求, 可适用于蜂蜜中这 4 种抗病毒药物残留量的检测。

岛津应用云

