

LC-MS/MS 法测定鸡肉中金刚烷胺作业指导书 (SOP)

标准号：GB 31660.5-2019

■ 参考标准

GB 31660.5-2019 《食品安全国家标准 动物性食品中金刚烷胺残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》

■ 方法概述

2.1 方法编制说明

本标准规定了动物性食品中金刚烷胺残留量检测的制样和液相色谱 - 串联质谱测定方法。

2.2 方法使用范围

本标准适用于猪、鸡和鸭的可食性组织（肌肉、肝脏和肾脏）及禽蛋中金刚烷胺残留量的检测。

2.3 方法技术指标

本方法的检测限为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

本方法标准溶液线性范围：2~200 ng/mL （内标 20 ng/mL ）。

■ 方法原理

试样中金刚烷胺的残留用 1% 乙酸乙腈溶液提取，正己烷液液分配去脂，基质固相分散净化，液相色谱 - 串联质谱正离子模式测定，内标法定量。

■ 仪器设备及辅助设备

4.1 仪器设备

岛津 LCMS-8045 三重四极杆液相色谱质谱联用仪，ESI 离子源

4.2 辅助设备

分析天平：Shimadzu AP224W；

均质器：九阳碎肉机；

超声清洗仪：ANPEL 2150T；

离心机：BECKMAN COULTER Allegra X-30 Centrifuge；

涡旋仪：Talboys；

氮吹仪：ANPEL DC-12；

旋转蒸发仪：上海一恒科学仪器有限公司 / 凯斯特生物化学仪器（苏州）有限公司 RV-211A

移液枪：5 mL，1 mL，100 μL ，10 μL

■ 标准品、试剂、耗材

金刚烷胺标准品溶液 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ：购自天津阿尔塔科技有限公司，纯度 98.0%；

内标：D₁₅- 金刚烷胺溶液 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，购自天津阿尔塔科技有限公司，纯度 99.6%；

乙腈：色谱级；

甲醇：色谱级；

甲酸：色谱级；

冰乙酸：分析纯

正己烷：色谱级

无水硫酸钠：分析纯
 净化吸附剂：PSA（乙二胺 -N- 丙基硅烷）
 离心管：50 mL，10 mL，1.5 mL；
 无针注射器：2 mL
 微孔过滤膜：SHIMSEN 疏水 PTFE 针头过滤器 0.22 μm；

■ 操作步骤

6.1 标准工作曲线制作

6.1.1 标准工作溶液配制

精密量取金刚烷胺标准贮备液（100 μg/mL）各 0.1 mL 于 10 mL 棕色量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配制浓度为 1 μg/mL 标准工作溶液。4℃以下避光保存，有效期 2 周。

6.1.2 内标工作溶液配制

精密量取 D₁₅- 金刚烷胺内标贮备液（100 μg/mL）0.1 mL，于 10 mL 棕色量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配制浓度为 1 μg/mL 的内标标准工作液。4℃以下避光保存，有效期 2 周。

6.1.3 空白基质溶液的制备

取空白基质样品，采用与样品同样的前处理方法制成空白基质溶液。

6.1.4 标准工作溶液配制

将标准工作溶液用空白基质溶液逐级稀释，得浓度分别为 2、4、10、20、100 和 200 μg/L 的基质标准工作溶液系列。现配现用。

6.2 仪器条件

液相条件

液相色谱条件：

色谱柱：Shim-pack GIST C18（150 mm×2.1 mm I.D., 3 μm, 岛津（上海）实验器材有限公司, P/N: 227-30008-07)

流动相：A 相 -0.1% 甲酸水溶液；B 相 - 甲醇

流速：0.30 mL/min

柱温：40℃

进样量：2 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 10%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.50	Pumps	Pump B Conc.	10
2.00	Pumps	Pump B Conc.	90
5.00	Pumps	Pump B Conc.	90
5.10	Pumps	Pump B Conc.	10
10.00	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：10.0 L/min

加热模块温度：400℃

DL 温度：250℃

离子源温度：300℃

扫描模式：多反应监测 (MRM)

干燥气流速：10.0 L/min

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 Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
金刚烷胺	Amantadine	768-94-5	152.1	135.2*	-10	-17	-24
				93.1	-10	-28	-16
D ₁₅ - 金刚烷胺	D ₁₅ - Amantadine	/	167.1	150.2	-13	-19	-21

* 表示定量离子

6.3 样品前处理

- 1) 1% 乙酸乙腈溶液配制：取冰乙酸 10 mL，用乙腈稀释至 1000 mL。
- 2) 称取约 200 g 新鲜的鸡肉，以碎肉机搅碎，备用。
- 3) 准确称取 2 g（精确至 20 mg）样品，置于 50 mL 聚苯乙烯聚塞离心管中。
- 4) 向离心管中加入 1 μg/mL D₁₅- 金刚烷胺内标工作液 20 μL。
- 5) 再加入 1% 乙酸乙腈溶液 10 mL，涡旋混合 2 min，3000 r/min 离心 5 min。
- 6) 上清液转入另一 50 mL 离心管中，重复提取一次，合并两次上清液，备用。
- 7) 备用液中加入无水硫酸钠 3 g，正己烷 10 mL，涡旋 1 min，3000 r/min 离心 5 min，弃去正己烷层。
- 8) 剩余溶液转至 100 mL 鸡心瓶中，40 °C 旋转蒸发至干后，用 1 mL 甲醇溶解残渣。
- 9) 加入 PSA 50 mg，涡旋 30 s，取上清液过 0.22 μm 滤膜至 1.5 mL 离心管中。
- 10) 量取滤液 0.5 mL 于 1.5 mL 离心管中，40 °C 氮气吹干后，加入 50% 乙腈水溶液 0.5 mL，涡旋 30 s，

10000 r/min 离心 5 min，上清液供上机测定。

6.4 加标试样

称取 2 g 鸡肉试样于 50 mL 离心管中，分别加入 1 μg/mL 的标准工作液 4、20 和 200 μL，使得加标量分别为 4、20 和 200 ng（加标浓度为 2、10 和 100 μg/kg），涡旋混合均匀，以下同样品前处理方法。

6.5 测定

按照 6.2 的仪器分析条件进行分析，得到响应的峰面积，以基质标准溶液中金刚烷胺与 D₁₅- 金刚烷胺的峰面积比为纵坐标，浓度比为横坐标，绘制内标法标准曲线。待测样品进样后，待测物峰面积、内标峰面积及内标浓度代入曲线得到相应的浓度。

6.6 计算和报告

6.6.1 定性分析

进行样品测定时，如果检出的色谱峰的保留时间与标准样品一致，并且在扣除背景后的样品质谱图中，所选择的离子对均出现，且离子丰度比与标准样品的离子丰度比满足下方表格中允许偏差要求的，则可判断样品中存在金刚烷胺。

离子对相对比例（和基峰比 %）	相对离子强度最大允许偏差
> 50%	±20%
> 20%~50%	±25%
> 10%~20%	±30%
≤ 10%	±50%

6.6.2 定量分析

本方法采用内标法定量测定。为减少基质的影响，定量用标准溶液应采用基质混合标准工作溶液。标准溶液的浓度应与待测化合物的浓度相近。

液相色谱串联质谱测定结果可由计算机按照内标法自动计算，也可按照下式计算：

$$X = \frac{C_s \times C_{is} \times A \times A'_{is} \times V}{C'_{is} \times A_{is} \times A_s \times m}$$

X — 试样中金刚烷胺残留量，单位为 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；

C_{is} — 试样中 D_{15} - 金刚烷胺的浓度，单位为 ng/mL ；

C_s — 基质标准工作溶液中金刚烷胺的浓度，单位为 ng/mL ；

C'_{is} — 基质标准工作溶液中 D_{15} - 金刚烷胺的浓度，单位为 ng/mL ；

A — 试样溶液中金刚烷胺的峰面积；

A_{is} — 试样溶液中 D_{15} - 金刚烷胺的峰面积；

A_s — 基质标准工作溶液中金刚烷胺的峰面积；

A'_{is} — 基质标准工作溶液中 D_{15} - 金刚烷胺的峰面积；

V — 溶解残渣的甲醇体积，单位为 mL ；

m — 试样质量，单位为 g 。

■ 质量控制

- 1) 在加标浓度为 $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ ~ $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 的范围内，回收率为 70%~120%。
- 2) 批内相对标准偏差 $\leq 15\%$ ，批间相对标准偏差 $\leq 20\%$ 。

岛津应用云

