

# LC-MS/MS 法检测鱼肉中甲苯咪唑及其代谢物残留量

## LCMSMS-767

**摘要：** 本文建立了使用三重四极杆液质联用法测定鱼肉中甲苯咪唑及其代谢物羟基甲苯咪唑和氨基甲苯咪唑残留量的方法。各目标组分检出限在 0.008~0.05 ng/mL 之间；在 0.5 ng/mL~100 ng/mL 浓度范围内，内标法校准曲线相关系数 R 在 0.9998~1.0000 之间，准确度在 94.6~112.3% 之间；在高、中、低三个浓度下，化合物的保留时间和峰面积的 RSD 值分别在 0.04%~0.13% 和 0.63%~3.08% 之间；加标浓度为 10 和 100 μg/kg 的样品，回收率在 77.0%~108.5% 之间，满足标准 70~120% 的要求。该方法灵敏度高，重复性好，准确度高，可满足鱼肉中甲苯咪唑及其代谢物残留量的检测要求。

**关键词：** 三重四极杆液质联用仪 鱼肉 甲苯咪唑

### 技术特点：

- ❖ 相较《GB 31656.15-2022》，本方法检测甲苯咪唑及其代谢物的灵敏度更高。
- ❖ 进样时使用更小的进样体积，可减少样品基质对仪器的污染。

甲苯咪唑是一种高效广谱的抗蠕虫药，在水产养殖中被广泛使用。其用于海水养殖鱼类时可治疗由双鳞盘吸虫、贝尼登氏吸虫引发的病症，用于淡水养殖鱼类时可治疗由指环虫、三代虫、粘孢子虫引发的寄生虫病。甲苯咪唑对哺乳动物毒性较低，但如果长期频繁使用，会使病原产生耐药性，而且水域环境中的一些浮游动物

对这些药品的耐受能力也会不断提高。

本文参照《GB 31656.15-2022 食品安全国家标准水产品中甲苯咪唑及其代谢物残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》，使用岛津 LCMS-8045 建立了鱼肉中甲苯咪唑及其主要代谢物羟基甲苯咪唑和氨基甲苯咪唑的检测方法。

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津三重四极杆液质联用仪，具体配置为：

|        |           |        |                         |
|--------|-----------|--------|-------------------------|
| 系统控制器： | SCL-40    | 自动进样器： | SIL-40C X3              |
| 输液泵：   | LC-40B X3 | 质谱仪：   | LCMS-8045               |
| 柱温箱：   | CTO-40S   | 色谱工作站： | LabSolutions Ver. 5.114 |
| 在线脱气机： | DGU-405   |        |                         |

### 1.2 分析条件

液相条件

色谱柱： Shim-pack Velox SP-C18 (100 mm × 2.1 mm I.D, 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

柱温： 30°C

流速： 0.3 mL/min

洗脱方式： 梯度洗脱, 初始浓度为 B 相 45%, 进样体积： 5 μL  
 时间程序见表 1

表 1 梯度洗脱程序

| Time | Module | Command      | Value |
|------|--------|--------------|-------|
| 5.00 | Pumps  | Pump B Conc. | 65    |
| 5.50 | Pumps  | Pump B Conc. | 95    |

|       |            |              |    |
|-------|------------|--------------|----|
| 6.50  | Pumps      | Pump B Conc. | 95 |
| 6.60  | Pumps      | Pump B Conc. | 45 |
| 10.00 | Controller | Stop         |    |

|                  |                  |
|------------------|------------------|
| 离子源：ESI, 正离子模式   | DL管温度：250°C      |
| 接口电压：+4KV        | 加热模块温度：400°C     |
| 雾化气：氮气 3.0 L/min | 接口温度：300°C       |
| 干燥气：氮气 10 L/min  | 扫描模式：多反应监测 (MRM) |
| 加热气：空气 10 L/min  | MRM参数：见表 2       |
| 碰撞气：氩气 (230 kPa) |                  |

表 2 MRM 参数

| 编号 | 化合物        | 化学式  | CAS No.      | 前体离子   | 产物离子    | Q1 Pre Bais(V) | CE(V) | Q3 Pre Bais(V) |
|----|------------|--|--------------|--------|---------|----------------|-------|----------------|
| 1  | 甲苯咪唑       | C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>                | 31431-39-7   | 296.10 | 104.95* | -11.0          | -34.0 | -18.0          |
|    |            |  |              |        | 77.10   | -20.0          | -49.0 | -28.0          |
| 2  | 羟基甲苯咪唑     | C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>                | 60254-95-7   | 298.10 | 160.00* | -11.0          | -35.0 | -30.0          |
|    |            |  |              |        | 266.05  | -11.0          | -23.0 | -29.0          |
| 3  | 氨基甲苯咪唑     | C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O                             | 52329-60-9   | 238.10 | 105.05* | -17.0          | -25.0 | -19.0          |
|    |            |  |              |        | 77.05   | -17.0          | -36.0 | -13.0          |
| 4  | D3- 甲苯咪唑   | C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> D <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> | 1173021-87-8 | 299.10 | 105.00  | -11.0          | -34.0 | -18.0          |
| 5  | D3- 羟基甲苯咪唑 | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> D <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> | 1173020-86-4 | 301.20 | 266.05  | -11.0          | -22.0 | -30.0          |

\* 表示定量离子

## ■ 样品前处理

参考《GB 31656.15-2022 食品安全国家标准 水产品中甲苯咪唑及其代谢物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》中“8.1 提取”和“8.2 净化”部分对鱼肉样品进行处理。

## ■ 结果与讨论

### 3.1 专属性

空白样品和 0.5 ng/mL 标准溶液（含内标 D3- 甲苯咪唑和 D3- 羟基甲苯咪唑，浓度分别为 2.5 ng/mL 和 0.5 ng/mL）的 MRM 色谱图如图 1 所示，色谱峰分离良好，通道无干扰。

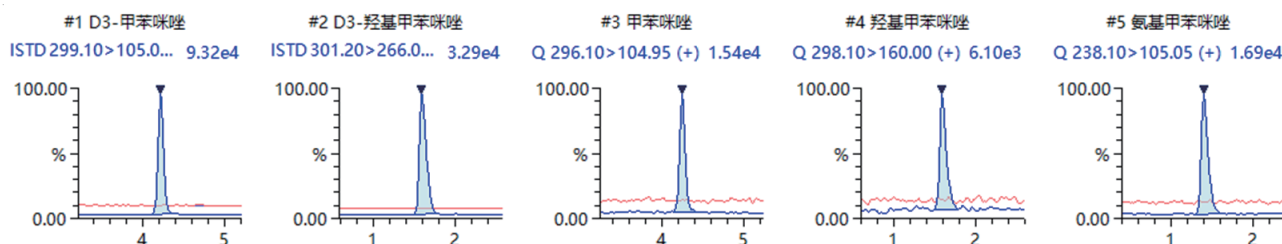


图 1 空白样品和 0.5 ng/mL 标准溶液的 MRM 色谱图

### 3.2 灵敏度

0.05 ng/mL 混合标准溶液，甲苯咪唑及其代谢物定量离子色谱峰的 S/N 为 3~17，定性离子色谱峰的 S/N 均大于 3，计算可得其检出限为 0.008~0.05 ng/mL，灵敏度优于标准要求 (0.5 ng/mL)。

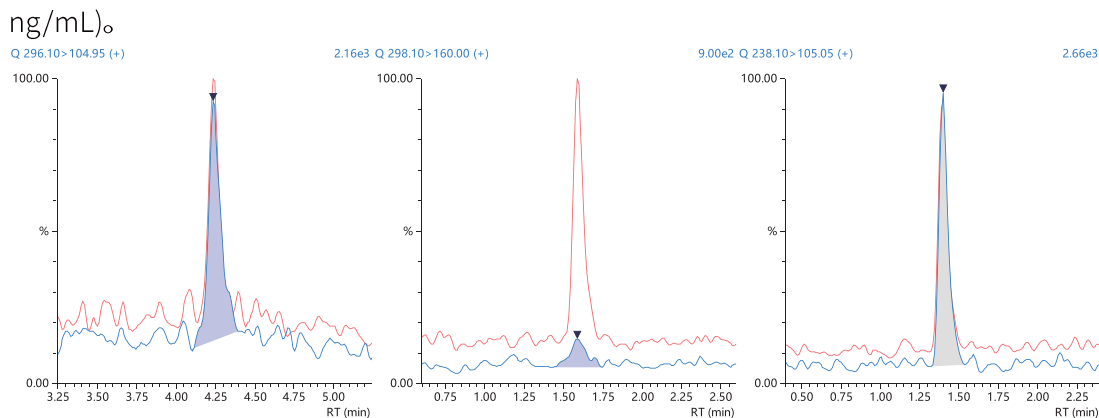


图2 0.05 ng/mL 混合标准溶液 MRM 色谱图 (蓝: 定量离子, 红: 定性离子)  
 (左: 甲苯咪唑, 中: 羟基甲苯咪唑, 右: 氨基甲苯咪唑)

### 3.3 校准曲线

按照标准要求, 配制浓度分别为 0.5、1、2、5、10、20、50、100 ng/mL 的混合标准溶液 (含内标 D3- 甲苯咪唑和 D3- 羟基甲苯咪唑, 浓度分别为 2.5 ng/mL 和 0.5 ng/mL), 建标曲线, 其结果如表 3 和图 3 所示。

表 3 校准曲线信息

| 化合物      | 内标         | 线性方程             | 相关系数 R | 准确度 (%)    |
|----------|------------|------------------|--------|------------|
| 1 甲苯咪唑   | D3- 甲苯咪唑   | $Y=0.820X-0.003$ | 1.0000 | 96.7~108.4 |
| 2 羟基甲苯咪唑 | D3- 羟基甲苯咪唑 | $Y=0.158X-0.010$ | 0.9999 | 94.6~110.4 |
| 3 氨基甲苯咪唑 | D3- 羟基甲苯咪唑 | $Y=0.495X-0.056$ | 0.9998 | 95.7~112.3 |

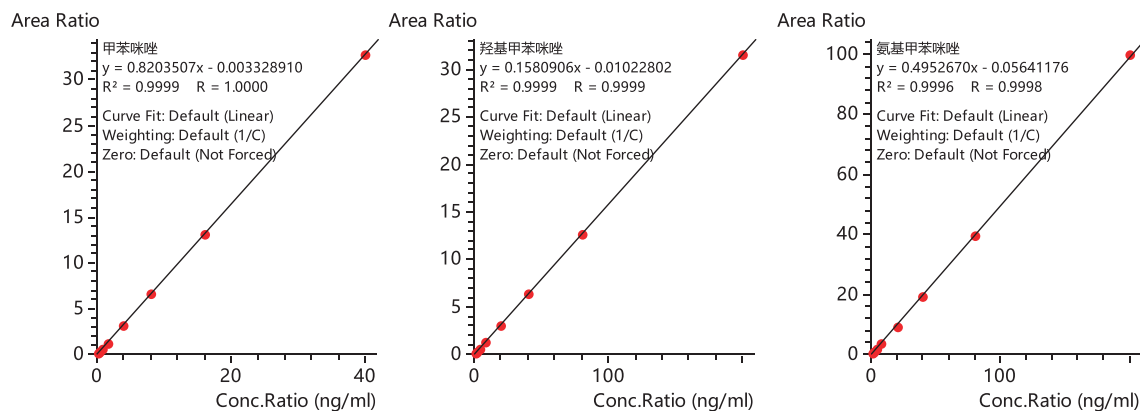


图 3 校准曲线

### 3.4 重复性实验

以 1、10 和 100 ng/mL 标准溶液, 各连续进样 6 次, 考察仪器的重复性, 保留时间和峰面积 RSD 值分别在 0.04~0.13% 和 0.63~3.08% 之间, 测定结果见表 4。

表 4 标准溶液保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

| 编号 | 化合物  | 浓度 (ng/mL) | 保留时间 RSD(%) | 峰面积 RSD(%) |
|----|------|------------|-------------|------------|
| 1  | 甲苯咪唑 | 1          | 0.05        | 2.95       |
|    |      | 10         | 0.04        | 0.63       |
|    |      | 100        | 0.09        | 0.88       |

|   |        |     |      |      |
|---|--------|-----|------|------|
| 2 | 羟基甲苯咪唑 | 1   | 0.12 | 3.08 |
|   |        | 10  | 0.06 | 1.10 |
|   |        | 100 | 0.13 | 1.57 |
| 3 | 氨基甲苯咪唑 | 1   | 0.08 | 1.54 |
|   |        | 10  | 0.07 | 0.78 |
|   |        | 100 | 0.11 | 0.72 |

### 3.5 回收率

空白样品分别加标 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 前处理后进样分析, 考察方法的回收率, 结果在 77.0~108.5% 之间, 具体如表 5 所示。

表 5 回收率

| 编号 | 化合物    | 加标浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | 检测浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) | 回收率 (%) |
|----|--------|----------------------------------|----------------------------------|---------|
| 1  | 甲苯咪唑   | 10                               | 7.7                              | 77.0    |
|    |        | 100                              | 79.2                             | 79.2    |
| 2  | 羟基甲苯咪唑 | 10                               | 8.3                              | 83.0    |
|    |        | 100                              | 92.5                             | 92.5    |
| 3  | 氨基甲苯咪唑 | 10                               | 10.3                             | 103.0   |
|    |        | 100                              | 108.5                            | 108.5   |

## ■ 结论

本文参照《GB 31656.15-2022 食品安全国家标准 水产品中甲苯咪唑及其代谢物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》, 使用岛津 LCMS-8045 建立了鱼肉中甲苯咪唑及其主要代谢物羟基甲苯咪唑和氨基甲苯咪唑的检测方法。该方法灵敏度高, 重复性好, 准确度高, 可满足鱼肉中甲苯咪唑及其代谢物残留量的检测要求。

岛津应用云

