

# LC-MS/MS 法分析鸡肉中抗球虫药二硝托胺及代谢物的残留量

LCMSMS-743

**摘要：**采用岛津三重四极杆液质联用仪，建立了鸡肉中抗球虫药二硝托胺残留量的测定方法。样品经磷酸缓冲液提取，HLB 固相萃取柱净化，液相色谱 - 串联质谱法测定。结果显示该方法在 5~200 ng/mL 浓度范围内建立校准曲线，线性相关系数均大于 0.999，线性良好；10 ng/mL 二硝托胺及代谢物 3-ANOT 保留时间 RSD 均为 0.07%，峰面积 RSD 为 4.0%、3.0%；二硝托胺及代谢物 3-ANOT 的检出限分别为 1.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、4.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限分别为 4.85  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、14.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  加标回收率分别为 65%、67%。该方法分析速度快，灵敏度高，适用于鸡肉中二硝托胺的残留量测定。

**关键词：**三重四极杆液质联用仪 二硝托胺 鸡肉 抗球虫药

## 技术特点：

- ◆ 二硝托胺及 3-ANOT 灵敏度高，检出限 <5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，优于 GB-31613.3-2021 标准要求。
- ◆ 岛津串联质谱正负极性切换速度快，适合同时正负同时采集。

二硝托胺 (Nitromid)，又称球痢灵，是一种既有预防又有治疗效果的抗球虫药物。对鸡多种艾美耳球虫有效，尤其对毒害艾美耳球虫和柔嫩艾美耳球虫作用较强。二硝托胺在肉鸡、蛋鸡、火鸡养殖中广泛使用，按照《GB-31650 2019 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》规定，二硝托胺及其代谢物在鸡肉、脂肪、肝脏、肾脏中残留限量分别是 3、2、6、6  $\text{mg}/\text{kg}$ 。

目前，二硝托胺的检测方法以液相色谱 - 串联质谱法、液相色谱法为主。本文参考标准《GB-31613.3-2021 食品安全国家标准 鸡可食性组织中二硝托胺残留量的测定》建立了二硝托胺及其代谢物的液相色谱 - 串联质谱法测定方法。对回收率、基质效应等进行了研究，该方法快速、准确、灵敏度高，供相关行业参考。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器配置

岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8045。具体配置为

输液泵：	LC-40D XR×2	系统控制器：	CBM-40
自动进样器：	SIL-40C XR	三重四极杆质谱仪：	LCMS-8045
柱温箱：	CTO-40C	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.113

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GISS-HP (100 mm x 2.1 mm I.D., 3  $\mu\text{m}$ )，  
岛津 (上海) 实验器材有限公司，P/N: 227-30084-02

流动相：A 相 -0.1% 甲酸水溶液；B 相 - 乙腈

流速：0.3 mL/min

进样量：5  $\mu\text{L}$

柱温：35 $^{\circ}\text{C}$

洗针液：水 / 乙腈 (1: 1)

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 20%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	20
2.50	Pumps	Pump B Conc.	80
3.10	Pumps	Pump B Conc.	20
5.00	Controller	Stop	

质谱条件

质谱仪：	LCMS-8045	脱溶剂管温度：	250℃
离子源：	ESI+/- (1.5 kV)	加热模块温度：	400℃
雾化气：	氮气 3 L/min	接口温度：	300℃
干燥气：	氮气 10 L/min	扫描模式：	MRM
加热气：	空气 10 L/min	MRM 参数：	见表 2

表 2 MRM 参数

序号	名称	CAS 号	前体离子 (m/z)	产物离 (m/z)	CE (V)
1	二硝托胺	148-01-6	224.00	181.10*	24
				77.10	20
				150.8	10
2	3-ANOT	3572-44-9	196.00	107.20*	-17
					-19

\* 定量离子对

### 1.3 样品前处理

准确称取样品 2.0 g, 参考标准《GB-31613.3-2021 食品安全国家标准 鸡可食性组织中二硝托胺残留量的测定》进行前处理。

### 1.4 标准溶液制备

基质标准系列工作液的配制：取空白样品，按照前处理净化，分别准确加入混合标准中间工作液适量，配制成浓度为 5、10、25、50、100、200 ng/mL 的标准工作曲线，待上机分析。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 质谱条件优化

二硝托胺是硝基苯酰胺化合物，属于两性化合物，在正负模式均有电离，但负离子模式响应更高，因此选择 ESI- 模式，连接色谱柱，扫描二级质谱图。如下图 1 所示，m/z 181.1 响应良好，作为定量离子，响应优于标准推荐的 m/z 77.0。3-ANOT 易受到背景离子干扰，连接色谱柱扫描，可准确获得碎片离子 m/z 107.05、m/z 133.10。

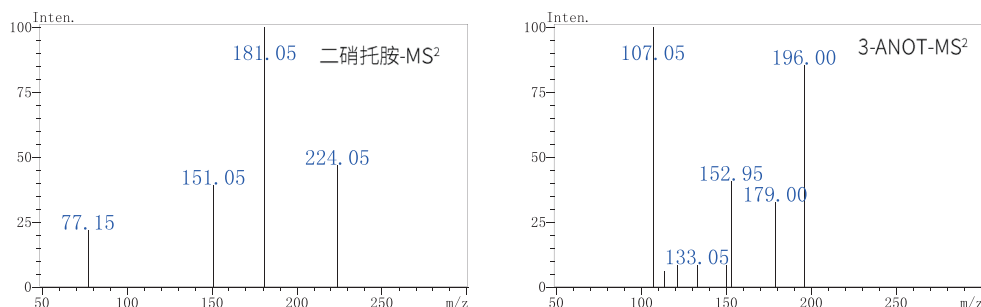


图 1 二硝托胺、3-ANOT 二级质谱图 (CE 分别为 15 eV 和 -15 eV)

## 2.2 色谱条件优化

二硝托胺及代谢物色谱分离良好，通道干扰可分离，系统无残留。5 ng/mL 基质标如下图 2 所示。

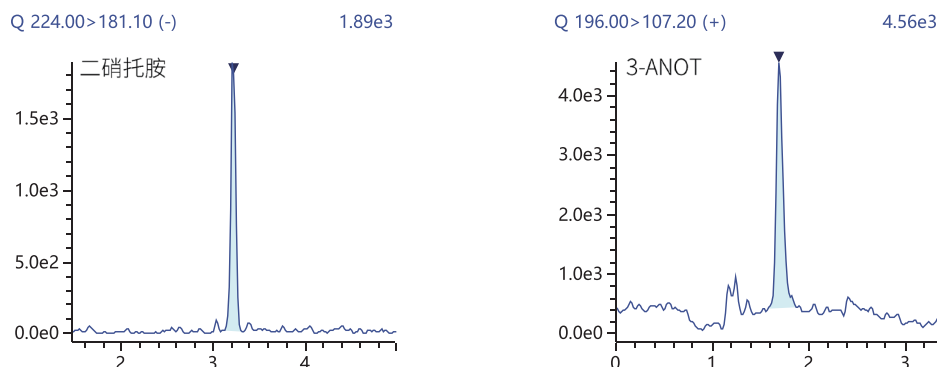


图 2 5 ng/mL 基质加标的 MRM 色谱图

## 2.3 基质效应

基质中共流出组分影响离子化效率，对目标物测定产生一定影响，称为绝对基质效应。绝对基质效应 (ME) = 样品提取后添加 / 纯的标准溶液。当 ME 介于 80%~120% 之间时，通常认为不存在明显的基质增强或基质抑制效应，当超出此范围时表明存在较强基质效应，须进行基质效应补偿。对比净化前后的基质效应，结果显示，净化后，二硝托胺基质效应得到明显的改善，如下表 3，可以采用溶液标定量。为了匹配标准的要求，本文采用基质匹配外标曲线法定量。

表 3 基质效应

目标物	净化前	净化后
二硝托胺	18%	117%
3-ANOT	92%	96%

## 2.4 线性及灵敏度

按照 1.4 方法配制标准系列溶液，上机分析得出二硝托胺、3-ANOT 在鸡肉基质中线性范围和线性关系。结果表明，二硝托胺、3-ANOT 在 5~200 ng/mL 范围内，线性良好，相关系数 R 均 >0.999，准确度 90.8%~108.2% 之间。二硝托胺基质校准曲线见图 3。根据信噪比，计算其检出限 (S/N=3) 和定量限 (S/N=10)。

表 4 二硝托胺基质校准曲线的线性关系

化合物	线性方程	相关系数 R	准确度 (%)	检出限 $\mu\text{g}/\text{kg}$	定量限 $\mu\text{g}/\text{kg}$
二硝托胺	$Y = (1589.49)X + (-1294.90)$	0.9994	95.9~106.1	4.8	14.6
3-ANOT	$Y = (3276.92)X + (2669.55)$	0.9992	90.8~108.2	1.6	4.85

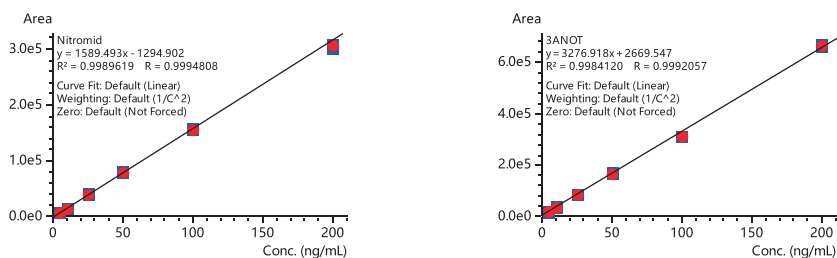


图 3 二硝托胺、3-ANOT 基质校准曲线

## 2.5 精密度考察

取 10 ng/mL 的标准溶液，平行测定 6 次，计算保留时间和峰面积的 RSD。二硝托胺及代谢物 3-ANOT 保留时间 RSD 均为 0.07%，峰面积 RSD 为 4.0%、3.0%，仪器稳定性良好。

## 2.6 加标回收率

选择不含二硝托胺及代谢物的空白鸡肉，进行 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  浓度的加标回收试验，经计算，二硝托胺、3-ANOT 加标回收率在分别为 65%、67%，符合标准要求。

## ■ 结论

本实验使用岛津 LCMS-8045 液质联用系统，开发了鸡肉中二硝托胺及代谢物残留量的检测方法。实验结果表明，在 5~200 ng/mL 浓度范围内建立基质匹配校准曲线，线性相关系数均大于 0.999，线性良好；10 ng/mL 二硝托胺及代谢物 3-ANOT 保留时间 RSD 均为 0.07%，峰面积 RSD 为 4.0%、3.0%；二硝托胺及代谢物 3-ANOT 的检出限分别为 1.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、4.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限分别为 4.85、14.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  加标回收率分别为 65%、67%，满足定量要求。

岛津应用云

