

LCMS-8045 测定鸡肉中金刚烷胺的残留

LCMSMS-461

摘要：本文建立了一种使用岛津液相色谱串联质谱 LCMS-8045 测定鸡肉中金刚烷胺的方法。市售鸡肉样品经提取和净化后，用超高效液相色谱 LC-40 进行分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 进行定性和定量分析。金刚烷胺在 2 $\mu\text{g/L}$ ~200 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好，标准曲线的相关系数为 0.9999；对 2.0、10 和 100 $\mu\text{g/L}$ 低中高不同浓度的标准工作液连续测定 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06%~0.09% 和 0.46%~1.56% 之间；添加浓度为 2、10 和 100 $\mu\text{g/kg}$ 鸡肉样品，回收率在 89.7~95.6% 之间，该方法可适用于鸡肉样品中金刚烷胺残留测定。

关键词：鸡肉 金刚烷胺 三重四极杆质谱

金刚烷胺 (Amantadine) 是饱和三环癸胺的氨基衍生物，是首个被 FDA 批准的抗流感病毒药物，对动物禽流感等病毒性疾病有预防效果。虽然许多国家禁止在家禽养殖中使用金刚烷胺，但伴随着畜禽规模化养殖，金刚烷胺仍被非法用于家禽 (尤其是鸡) 养殖中。被代谢的药物在鸡肉中残留通过食物链传递在人体内积蓄，造成机体的耐药性，我国已有 20% 的动物源性甲型流感病毒对金刚烷胺产生耐药性。2012 年 12 月，山东一些地方养鸡场被曝违规使用金刚烷胺等抗病毒兽药养殖“速成鸡”，并供给肯德基、麦当劳，引起了巨大的轰动效应。早在 2005 年，我国农业部曾发出

《关于清查金刚烷胺等抗病毒药物的紧急通知》，明确要求立即停止生产、经营和使用金刚烷胺、金刚乙胺等，违者按生产、经营假兽药和使用禁用兽药处理。

目前，金刚烷胺的检测多为柱前衍生化后，采用 HPLC- 荧光法或 GC 法测定，不仅操作繁琐、费时，而且灵敏度不高。本文根据 GB 31660.5-2019 《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》，建立了高灵敏度、高选择性的液相色谱 - 串联质谱方法，用于测定鸡肉中金刚烷胺的残留，供广大分析检测人员参考使用。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为 LC-40D X3 \times 2 输液泵，DGU-405 在线脱气机，SIL-40C X3 自动进样器，CTO-40C 柱温箱，SCL-40 系统控制器，LCMS-8045 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.97 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件色谱柱：

Shim-pack GIST C18 (150 mm \times 2.1 mm I.D., 3 μm , SGLC, 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

进样体积：2 μL

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 10%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time	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

离子源：ESI，正离子模式

DL 管温度：250°C

离子源接口电压：0.5 kV

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

驻留时间：74 ms

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

* 表示定量离子

1.3 标准品溶液的配制及样品前处理

标准工作溶液配制：

用甲醇配制 1 mg/L 的金刚烷胺和 D₁₅- 金刚烷胺的标准工作溶液，再用 50% 乙腈水溶液稀释成 2 μg/L、4 μg/L、10 μg/L、20 μg/L、100 μg/L 和 200 μg/L 不同浓度的标准工作液，D₁₅- 金刚烷胺的浓度均为 20 μg/L。

鸡肉样品前处理：

称取试料 2 g（准确至 ±20 mg），于 50 mL 离心管中，加 D₁₅- 金刚烷胺标准工作液 20 μL，加 1% 乙酸乙腈溶液 10 mL，漩涡 2 min，3000 r/min 离心 5 min，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。取备用液，加无水硫酸钠 3 g、正己烷 10 mL，涡旋 1 min，3000 r/min 离心 5 min，弃去正己烷层，剩余溶液转至 100 mL 鸡心瓶中，40°C 水浴下旋转蒸干，用 1.0 mL 甲醇溶解残渣。加入 PSA 50 mg，涡旋 30 s，取上清液过滤膜至 1.5 mL 试管中，量取滤液 0.5 mL 于离心管中，40°C 氮气吹干，加入 50% 乙腈水溶液 0.5 mL，涡旋 30 s，10000 r/min 离心 5 min，取上清液供上机测定。

■ 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

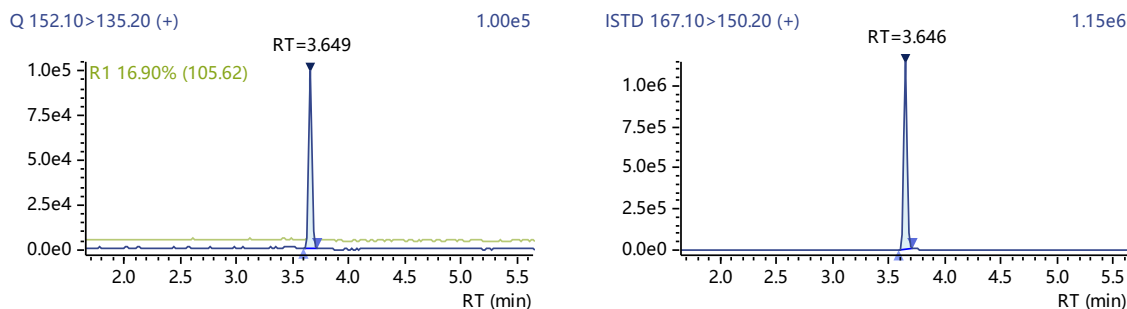


图 1 2 µg/L 金刚烷胺标准样品的色谱图（内标 20 µg/L）

2.2 线性关系

将 2、4、10、20、100 和 200 µg/L 不同浓度的标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，内标法定量。以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示；所得校准曲线线性关系良好，线性方程为 $Y = (0.0415)X - (0.0027)$ ；相关系数 $R^2 = 0.9999$ 。

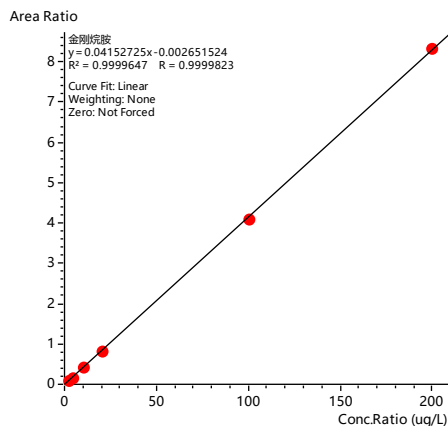


图 2 金刚烷胺校准曲线

2.3 精密度试验

对 2 µg/L、10 µg/L 和 100 µg/L 三个浓度标准工作液连续测定 6 次，考察仪器精密度。结果显示：不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06%~0.09% 和 0.46%~1.56% 之间，仪器精密度良好。

表 3 金刚烷胺保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

Conc.(µg/L)	RSD% (R.T.)	RSD% (Area)
2.0	0.06	1.56
10	0.09	0.46
100	0.07	0.52

2.4 灵敏度实验

图 3 为 0.1 $\mu\text{g/L}$ 金刚烷胺的 MRM 色谱图。根据检出限 $\text{MDL} = 3.3 \text{ S/N}$ ，定量限 $\text{LOQ} = 10 \text{ S/N}$ 计算检出限和定量限，分别为 0.03 和 0.08 $\mu\text{g/L}$ 。

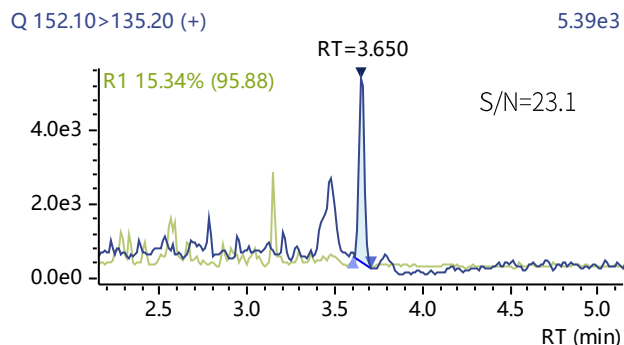


图 3 0.1 $\mu\text{g/L}$ 金刚烷胺标样 MRM 色谱图

2.5 基质加标实验

取空白鸡肉样品 2 g，加入少量金刚烷胺标准工作液，使加标浓度为 2、10 和 100 $\mu\text{g/kg}$ ，样品经提取与净化后，按照 1.2 中的分析条件测定金刚烷胺的加标回收率，回收率在 89.7~95.6% 之间。图 4 为空白鸡肉的 MRM 色谱图，加标浓度为 2 $\mu\text{g/kg}$ 样品 MRM 色谱图如 5 所示。

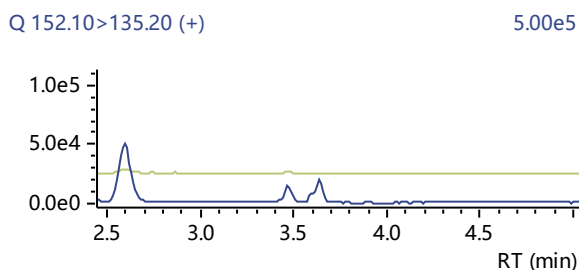


图 4 空白鸡肉样品 MRM 色谱图

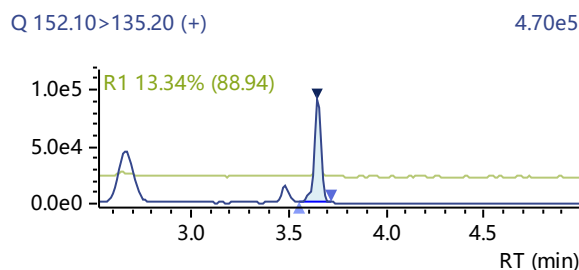


图 5 2 $\mu\text{g/kg}$ 加标样品 MRM 色谱图

■ 结论

建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 测定鸡肉中金刚烷胺残留的方法。鸡肉样品经提取和净化后，用超高效液相色谱 LC-40 进行分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 进行定性和定量分析。金刚烷胺在 2 $\mu\text{g/L}$ ~200 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好；对不同浓度的标准工作液连续测定 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06%~0.09% 和 0.46%~1.56% 之间。添加浓度为 2、10 和 100 $\mu\text{g/kg}$ 鸡肉样品，回收率在 89.7~95.6% 之间。本方法操作简单，可用于鸡肉中金刚烷胺的快速高灵敏度检测。

岛津应用云

