

# 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定水产品中硝基呋喃类代谢物残留

**摘要:** 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用检测水产品中硝基呋喃类代谢物的残留量的测试方法。样品经处理后, 用超高效液相色谱 LC-30A 在 4.0 min 内完成分离, 三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 进行定量分析。对四种硝基呋喃类代谢物残留的线性、精密度、检出限 (LOD)、定量限 (LOQ) 进行了验证。3-氨基-2-恶唑酮 (AOZ)、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮 (AMOZ)、1-氨基-乙内酰脲 (AHD) 和氨基脲 (SEM) 在 1~200  $\mu\text{g/L}$  内线性良好, 相关系数均大于 0.999; 分别用浓度为 1  $\mu\text{g/L}$ 、10  $\mu\text{g/L}$  和 50  $\mu\text{g/L}$  的混合标准溶液进行了精密度实验, 实验结果表明连续 6 次进样保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.28 ~ 0.07% 和 4.76 ~ 1.68% 间, 仪器精密度良好。

**关键词:** 硝基呋喃代谢物 兽药残留 水产品 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

硝基呋喃类药物 (Nitrofurans) 是一类合成的抗菌药物, 它们作用于微生物酶系统, 抑制乙酰辅酶 A, 干扰微生物糖类的代谢, 从而起抑菌作用。目前在医疗上应用较广者有: 呋喃西林、呋喃妥因和呋喃唑酮。呋喃西林只供局部应用, 后两者则可供系统治疗应用。目前在医疗上应用较广者有: 呋喃西林、呋喃妥因和呋喃唑酮。呋喃西林只供局部应用, 后两者则可供系统治疗应用。

硝基呋喃类药物很不稳定, 很容易生成代谢物。硝基呋喃类药物在动物体内迅速分解产生代谢物, 代谢物在体内与细胞膜蛋白结合成结合态。由于代谢物比较稳定也有致癌作用,

所以在食品安全的检测中检测硝基呋喃代谢物。常见的硝基呋喃代谢物的衍生物有如下四种, 包括: 3-氨基-2-恶唑酮 (AOZ)、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮 (AMOZ)、1-氨基-乙内酰脲 (AHD) 和氨基脲 (SEM)。

本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用, 参考 GB/T 21311-2007, 建立了测定水产品中硝基呋喃代谢物, 包括: 3-氨基-2-恶唑酮 (AOZ)、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮 (AMOZ)、1-氨基-乙内酰脲 (AHD) 和氨基脲 (SEM) 残留量的检测方法, 供相关检测人员参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用。具体配置: LC-30AD $\times$ 2 输液泵, DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8030 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.53 色谱工作站。

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统

色 谱 柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS III 2.0 mmI.D.×150 mmL, 1.6 μm

流 动 相：A—（0.02%甲酸）水溶液；B—乙腈

流 速：0.4 mL/min

进样体积：20 μL

柱 温：40℃

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 40%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.01	Pumps	Pump B Conc.	40
1.50	Pumps	Pump B Conc.	95
1.51	Pumps	Pump B Conc.	40
4.00	Controller	Stop	

#### 质谱条件

分析仪器：LCMS-8030

离子源：ESI，正离子扫描

离子源接口电压：4.5 kV

喷雾针位置：3.0 mm

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 20 L/min

碰撞气：氩气

脱溶剂管温度：300℃

加热模块温度：500℃

扫描模式：多反应监测（MRM）

驻留时间：20 ms

延迟时间：3 ms

MRM 参数：见表 2

表 2 MRM 参数

编号	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	3-氨基-2-恶唑酮 (AOZ)	236	134.10 <sup>*</sup>	-18.0	-12.0	-29.0
			104.05	-18.0	-24.0	-22.0
2	5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮(AMTZ)	335	291.00 <sup>*</sup>	-13.0	-11.0	-22.0
			262.00	-18.0	-17.0	-19.0
3	1-氨基-乙内酰胺 (AHD)	249	134.00 <sup>*</sup>	-13.0	-13.0	-15.0
			103.95	-13.0	-22.0	-11.0
4	氨基脒(SEM)	209	166.10 <sup>*</sup>	-11.0	-11.0	-18.0
			192.00	-11.0	-12.0	-14.0

\*表示定量离子

### 1.3 样品制备

标准溶液配制：硝基呋喃衍生化标准物质：3-氨基-2-恶唑酮（AOZ）、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮(AMTZ)、1-氨基-乙内酰脲(AHD)和氨基脲(SEM)分别称取 10 mg 四种物质的标准品，用乙腈溶解并定容至 100 mL，得到浓度为 100 mg/L 的标准储备液。

用 0.02%甲酸水溶液配制 1.0 mg/L 的混合标准溶液，用 0.02%甲酸水溶液逐级稀释成浓度为 1、5、10、20、50、100 和 200  $\mu\text{g/L}$  的标准工作液。

样品前处理方法：

参考《GB/T 21311-2007 动物源性食品中硝基呋喃类药物代谢物残留量检验方法 高效液相色谱串联质谱法》。

## 2. 结果讨论

### 2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

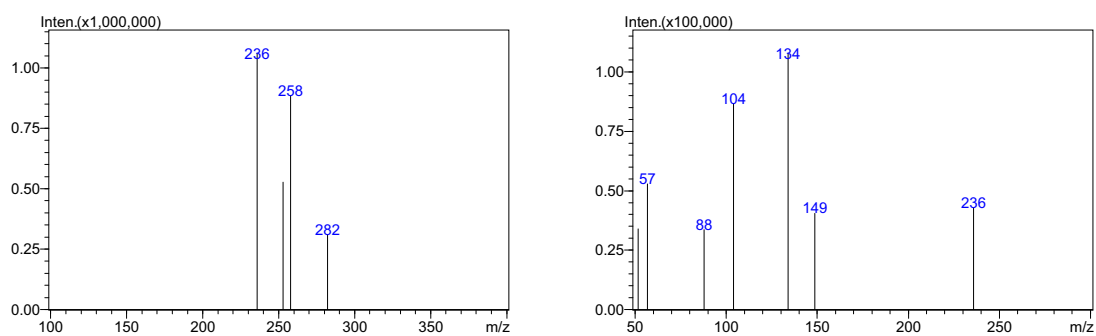


图 1 3-氨基-2-恶唑酮（AOZ）的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（右图）

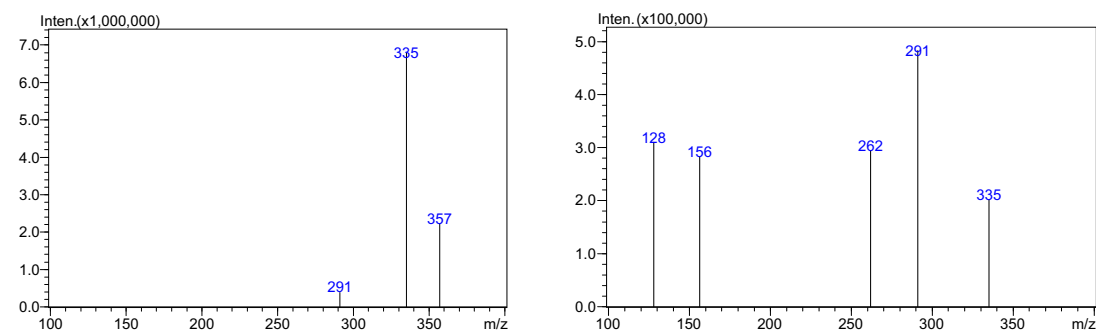


图 2 5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮(AMTZ)的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（右图）

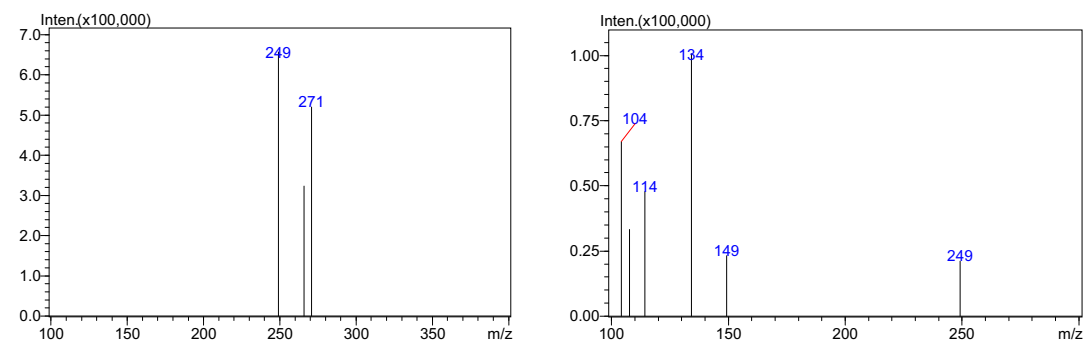


图 3 1-氨基-乙内酰脲(AHD)的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（右图）

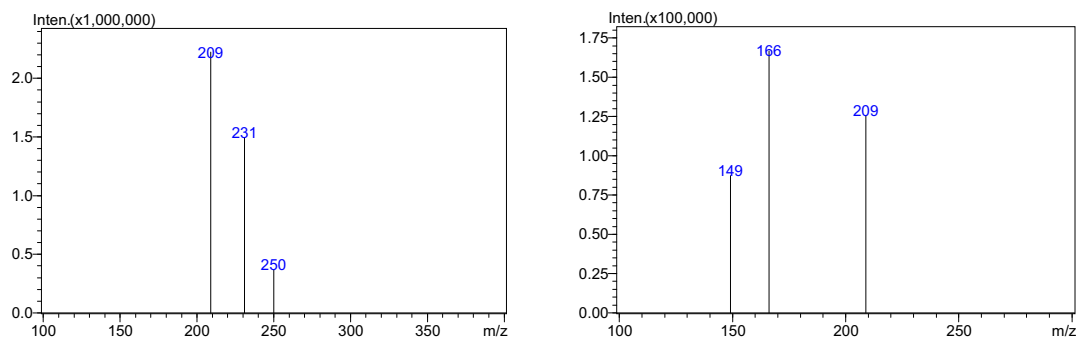


图4 氨基脲(SEM)的一级质谱图(左图)和产物离子扫描质谱图(右图)

## 2.2 标准样品的MRM色谱图

1.0  $\mu\text{g/L}$  混合标准样品的MRM色谱如图5所示。

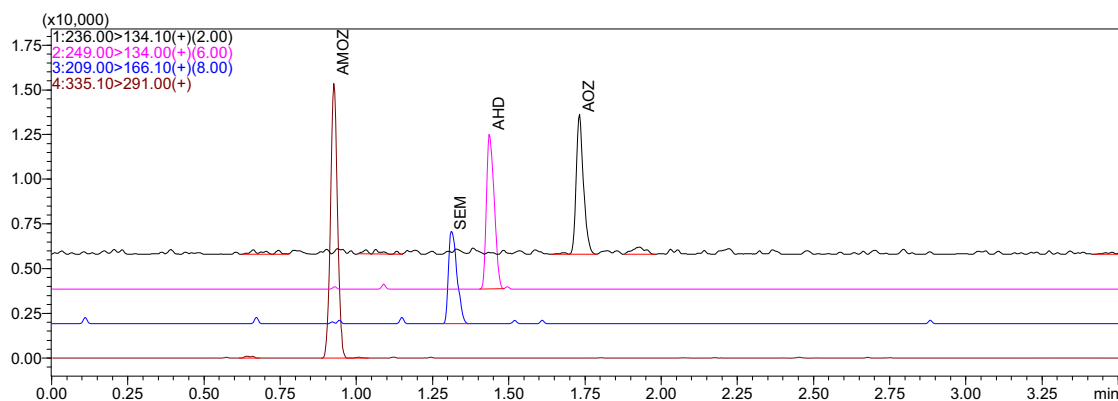


图5 1.0  $\mu\text{g/L}$  混合标准样品的MRM色谱图

## 2.3 线性关系

将浓度为1、5、10、20、50、100和200  $\mu\text{g/L}$  的混合标准工作液，按1.2中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法制作校准曲线，如图6~9所示。四种硝基呋喃代谢物在1~200  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好。线性方程、相关系数见表3。

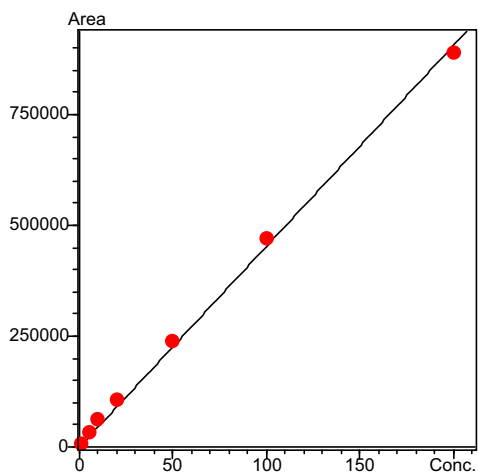


图6 AOZ的标准工作曲线

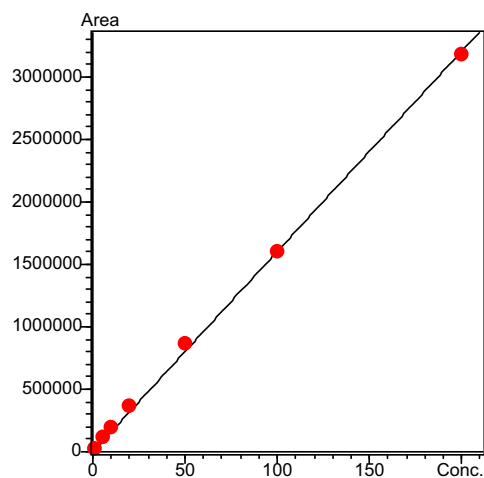


图7 AMOZ的标准工作曲线

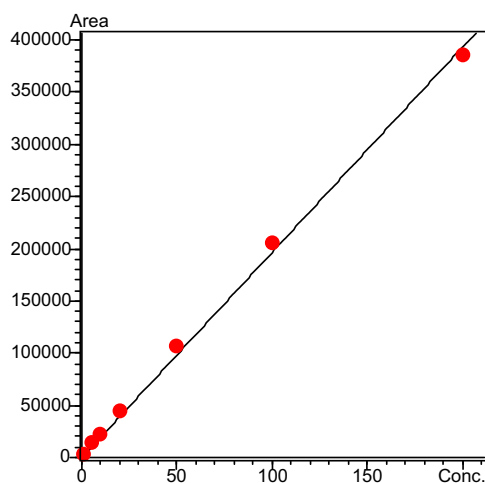


图 8 AHD 的标准工作曲线

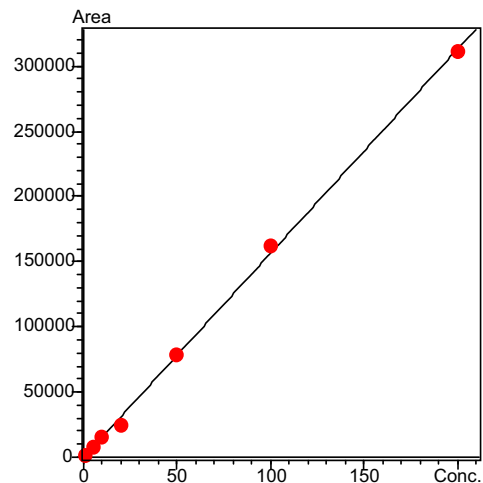


图 9 SEM 的标准工作曲线

表 3 4 种硝基呋喃代谢物的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	相关系数 R
1	AOZ	$Y = 4530.67X$	0.9996
2	AMOZ	$Y = 16043.7X$	0.9998
3	AHD	$Y = 1967.93X$	0.9994
4	SEM	$Y = 1566.74X$	0.9996

## 2.3 检出限和定量限

配制浓度为 5.0  $\mu\text{g/L}$  标样，直接进样分析，对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算硝基呋喃四种化合物的标准偏差 S。此时检出限  $\text{MDL} = 3.14 \times S$ ，定量限  $\text{LOQ} = 4 \times \text{MDL}$ 。测定结果如表 4 所示。

表 4 4 种硝基呋喃代谢物的检出限和定量限

No.	名称	标准偏差(S)	检出限( $\mu\text{g/L}$ )	定量限( $\mu\text{g/L}$ )	标准限值( $\mu\text{g/L}$ )
1	AOZ	0.06	0.19	0.76	1.0
2	AMOZ	0.07	0.22	0.88	1.0
3	AHD	0.04	0.12	0.48	1.0
4	SEM	0.05	0.16	0.64	1.0

## 2.4 精密度实验

平行制备浓度为 1  $\mu\text{g/L}$ 、10  $\mu\text{g/L}$  和 50  $\mu\text{g/L}$  标样各 6 份，依次进样。得到统计结果如表 5 所示，四种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.28 ~ 0.07% 和 4.76 ~ 1.68% 之间，仪器精密度良好。

表 5 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No.	样品名称	RSD% (1 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (10 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (50 $\mu\text{g/L}$ )	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	AOZ	0.13	3.84	0.15	2.36	0.09	2.16

2	AMTZ	0.11	4.24	0.09	2.13	0.07	1.69
3	AHD	0.14	3.56	0.27	3.49	0.12	2.24
4	SEM	0.27	4.76	0.28	4.66	0.12	1.68

### 2.5 基质加标实验

为了考察方法的灵敏度，在按照 1.3 中样品制备方法提取净化的空白鱼肉基质样品中添加混合标样，加标含量为 0.5  $\mu\text{g/kg}$ ，水产品基质空白色谱图如图 10 所示，基质加标样品色谱图如图 11 所示。从图中可以看到，0.5  $\mu\text{g/kg}$  基质加标样品有良好的响应。

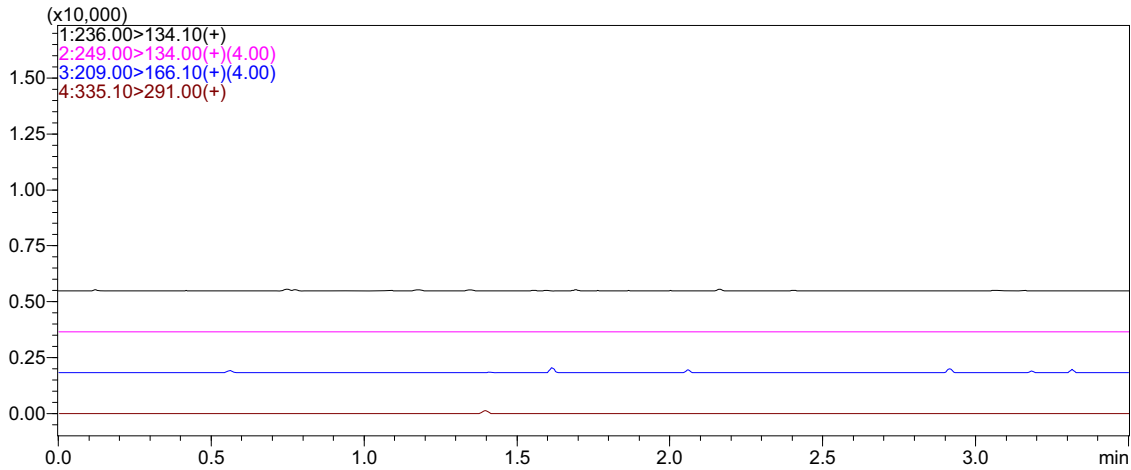


图 10 鱼肉样品空白基体色谱图

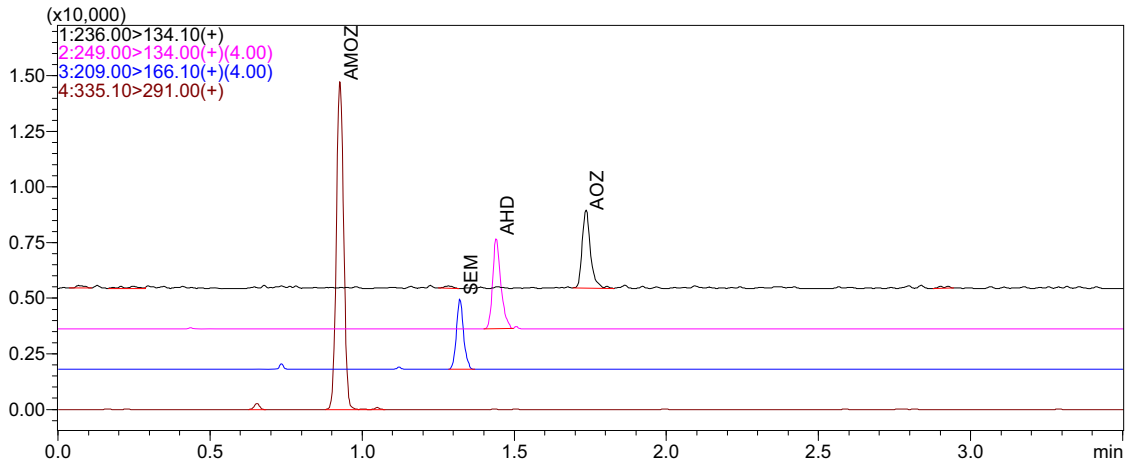


图 11 样品基质加标 0.5  $\mu\text{g/kg}$  色谱图

### 3. 结论

使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用测定水产品中四种硝基咪唑代谢物残留量。3-氨基-2-恶唑酮（AOZ）、5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮（AMTZ）、1-氨基-乙内酰脲（AHD）和氨基脲（SEM）四种物质在 1~200  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好，相关系数均大于 0.999。在经样品前处理后的鱼肉基体中添加标液，基质加标样具有良好的响应，满足《GB/T 21311-2007 动物源性食品中硝基咪唑类药物代谢物残留量检验方法 高效液相色谱串联质谱法》的检测要求。