# DB21

# 辽 宁 省 地 方 标 准

DB 21/2394-2014

# 食品安全地方标准
# 鸡肝和鸡肉中金刚烷胺、金刚乙胺的检测
# 超高效液相色谱串联质谱法

2014-12-29 发布 2015-06-29 实施

辽宁省卫生和计划生育委员会发布

# 前　　言

本标准由辽宁省卫生和计划生育委员会发布。

本标准起草单位：辽宁省兽药饲料畜产品质量安全检测中心。

本标准主要起草人：张秀芹、何为、杜柏林、刘雪红、刘笑、苗翠、徐丽佳、张天姝、韩春晓、李云龙、杨慧杰。

# 辽宁省食品安全地方标准
# 鸡肝和鸡肉中金刚烷胺、金刚乙胺的检测
# 超高效液相色谱串联质谱法

## 1 范围

本标准规定了鸡肝、鸡肉中金刚烷胺、金刚乙胺残留量的超高效液相色谱串联质谱检测方法。

本标准适用于鸡肝、鸡肉中金刚烷胺、金刚乙胺残留量的检测。

## 2 原理

试样中的金刚烷胺和金刚乙胺，采用1%三氯乙酸和甲醇混合溶液提取，混合型阳离子交换回相萃取（MCX）小柱净化，采用液相色谱串联质谱仪测定，基质添加外标法定量。

## 3 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T6682规定的一级水。

### 3.1 试剂

3.1.1 金刚烷胺、金刚乙胺对照品纯度≥99.0%。

3.1.2 甲醇(色谱纯)

3.1.3 盐酸

3.1.4 氨水

3.1.5 异丙醇

3.1.6 三氯乙酸

### 3.2 试剂配制

3.2.1 1%三氯乙酸：取1g三氯乙酸加入100mL水，完全溶解。

3.2.2 提取液：1%三氯乙酸+甲醇，以体积比1：1混匀。

3.2.3 洗脱液：氨水：甲醇：异丙醇（V:V:V）＝5：90：5。

3.2.4 复溶液：甲醇：水：甲酸(V:V:V)＝10：90：0.2。

3.2.5 2%盐酸水溶液：取2mL盐酸加入98mL的水中，混匀。

3.2.6 高纯氮气：纯度99.99%。

3.2.7 高纯氩气：纯度99.99%。

### 3.3 标准品

3.3.1 金刚烷胺对照品纯度≥99.0%。

3.3.2 金刚乙胺对照品纯度≥99.0%。

### 3.4 标准溶液配制

3.4.1　金刚烷胺、金刚乙胺标准贮备液(100.0μg /mL):取标准品各10mg，用甲醇溶解并定容至100mL。贮存于－20℃冰箱中，有效期30天。

3.4.2　金刚烷胺、金刚乙胺工作液配制：工作液用甲醇稀释，现用现配，上机用标准品浓度根据样品浓度配制。

## 4　仪器和设备

4.1　离心机：高速低温离心机，离心转速10000rpm/min。

4.2　分析天平：感量0.01g和感量0.00001g。

4.3　移液器及配套枪头：单道10μL～1000μL。

4.4　绞肉机。

4.5　超声波发生器。

4.6　涡旋振荡器。

4.7　液相色谱－串联质谱仪：配有电喷雾电离源。

4.8　SPE小柱：Waters Oasis MCX（60mg/3mL）。

4.9　1mL注射器。

4.10　0.22μm水性滤膜。

## 5　分析步骤

### 5.1　试样的制备

取新鲜鸡肉、鸡肝脏组织，去除脂肪和筋膜后，分别绞碎并均质，－20℃贮存备用。

### 5.2　仪器参考条件

#### 5.2.1　色谱条件

色谱柱：C18柱，50×2.1mm,1.7um.

流动相：A相: 0.2%甲酸水溶液

B相：甲醇

柱温:30℃。

进样量：5μL

洗脱程序见表1。

表1洗脱程序

| 时间 min | 流速(mL/min) | A 相% | B 相% |
|---|---|---|---|
| —— | 0.3 | 90 | 10 |
| 1 | 0.3 | 20 | 80 |
| 3.1 | 0.3 | 20 | 80 |
| 3.2 | 0.3 | 90 | 10 |
| 4.0 | 0.3 | 90 | 10 |

### 5.2.2 质谱条件

离子源：电喷雾离子源

电离方式：正离子电离 ESI+。

监测模式：MRM

毛细管电压：3.5KV

脱溶剂温度：350℃

脱溶剂气流量：600L/H

锥孔气流量：50L/H

质谱采集参数见表 2。

表 2 金刚烷胺、金刚乙胺质谱采集参数

| 化合物 | 母离子（m/z） | 子离子（m/z） | 锥孔电压(V) | 碰撞能量(eV) |
|---|---|---|---|---|
| 金刚烷胺（amantadine） | 152.0 | 152.0＞135.0 | 36 | 28 |
| | | 152.0＞92.9 | 36 | 18 |
| 金刚乙胺（Rimantadine） | 180.0 | 180.0＞163.0 | 36 | 28 |
| | | 180.0＞80.9 | 36 | 28 |

### 5.3 标准曲线配制

取空白样品 6 份，每份约 2.00g，加入适量的标准品，制备成含金刚烷胺 1.0 ng/g 、3 ng/g 、5 ng/g、10 ng/g 、30 ng/g 和 50ng/g，含金刚乙胺 0.2 ng/g 、0.5ng/g 、1.0 ng/g、5.0 ng/g 、20 ng/g 和 50ng/g 的样品，按照 5.1 进行前处理，得到标准添加曲线。

### 5.4 试样溶液制备及测定

称取样品 2.00g（精确至 0.01g）于 50mL 离心管中，组织样品加入 10mL 的提取液，先涡旋 30s，使样品与提取液混合均匀，然后超声 30min。4℃低温离心，7000rpm/min 离心 10min，上清液待用。

ＭＣＸ小柱在净化之前分别用 3mL 甲醇和 3mL 水进行活化，取 5mL 提取液过柱，再依次用 3mL2%盐酸和 3mL 甲醇淋洗，流速每分钟不超过 1mL。取 5mL 洗脱液进行洗脱，50℃水浴氮气吹干。取 1mL

复溶液进行溶解。用 0.22μm 水膜过滤，上机。平行测定次数不少于两次。

## 6 分析结果表述

样品中金刚烷胺、金刚乙胺的含量以微克每千克计，按以下公式计算：

$$X(\mu g/kg)=\frac{Ai \times C \times V \times f}{As \times M} \quad \cdots\cdots(1)$$

式中：

*Ai*—样品的峰面积；

*C*—标准溶液浓度（*ng/mL*）；

*V*—定容体积（*mL*）；

*f*—样品稀释倍数；

*As*—标液峰面积；

*M*—样品质量（*g*）。

## 7 偏差

在同一实验室由同一操作人员完成的两个平行测定的相对偏差不大于 15%。

## 8 其他

### 8.1 定性

每种被测组分选择 1 个母离子、2 个以上子离子，在仪器最佳工作条件下，以保留时间和离子比率相结合进行定性。样品图谱中各组分定性离子的相对离子丰度与浓度接近的对照品工作液中对应的定性离子的相对离子丰度进行比较，若偏差不超过规定的范围，则可判定为样品中存在对应的待测物。相对离子丰度偏差范围见表 3。

**表 3 相对离子丰度偏差范围**

| 相对丰度% | 允许偏差% |
|---|---|
| ＞50 | ±20 |
| 20～50 | ±25 |
| 10～20 | ±30 |
| ≤10 | ±50 |

### 8.2 定量

取同种基质的空白样品，加入适当浓度的标准溶液，按样品测定步骤进行操作，吹干后加入 1mL 复溶液溶解残留物，此为标准品溶液，用单点或曲线对样品进行定量，试样溶液中待测物的响应值均应在仪器测定的线性范围内。如果样品中含有待测物质，建议用单个标准品进行定量。

$$\frac{\text{标准吸光度值（或试样萃取液吸光度值）}}{\text{空白吸光度值}}\times 100$$

8.3 检出限和定量限

本标准金刚烷胺检测限为 0.5μg/kg,定量限为 1.0μg /kg。金刚乙胺检测限为 0.2μg /kg，定量限为0.5μg /kg。

# 附 录 A

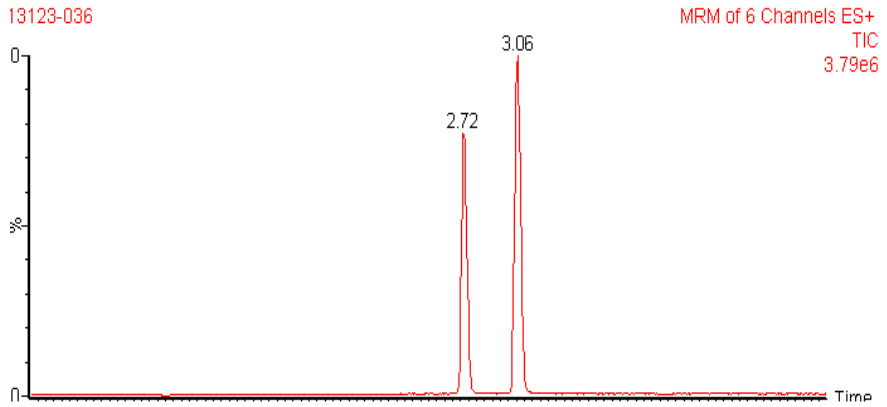


图1：金刚烷胺和金刚乙胺的总离子流色谱图（2.72min为金刚烷胺，3.06min为金刚乙胺）

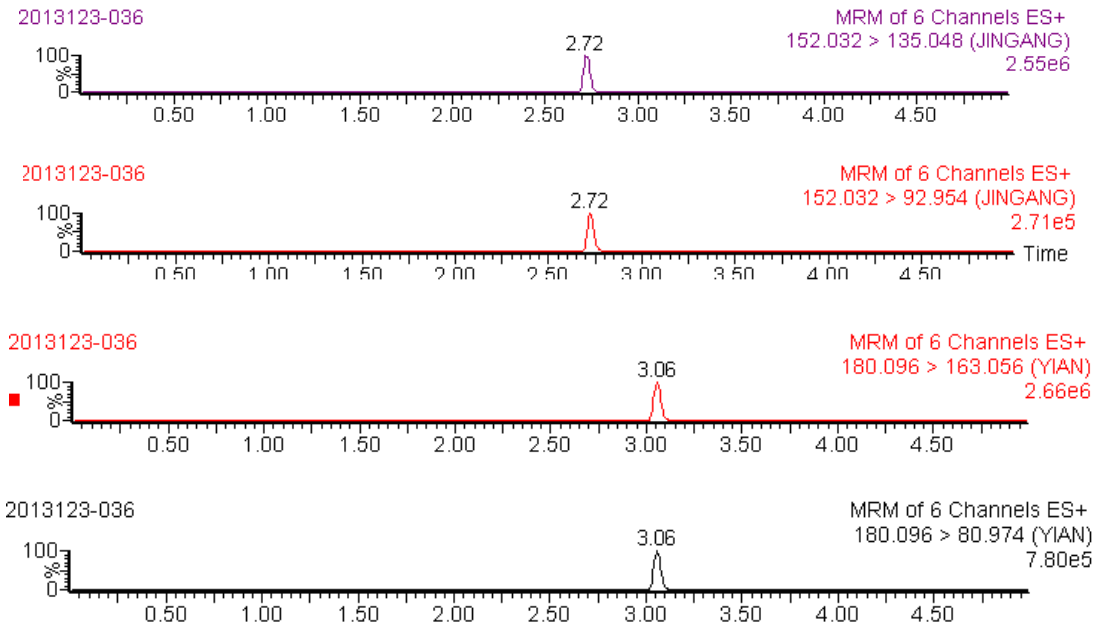


图2：金刚烷胺和金刚乙胺的选择离子流色谱图（2.72min为金刚烷胺，3.06min为金刚乙胺）