

测试报告

样品信息			
样品名称	猪肉	编号	Z20220701-001
样品重量	/	剂型	/
收样日期	2022/07/01	测试期间	2022/07/01-2022/07/06
样品描述	/		
测试需求			
测试成分	金刚乙胺、阿昔洛韦、咪喹莫特、奥司他韦、美金刚		
参考标准			
参考标准	SN/T 4253-2015	标样	有
仪器信息			
测试仪器	高效液相色谱串联质谱仪	仪器型号	Xevo TQ-S micro

● 色谱条件:

色谱柱:	月旭 Boltimate® HILIC Core-Shell (2.1×100mm,2.7μm)		
流动相:	时间	流动相 A% (5mmol/L 0.2%甲酸溶液)	流动相 B% (乙腈溶液)
	0	5	95
	2	5	95
	4	30	70
	5	60	40
	6	5	95
	8	5	95



柱温:	30°C
流速:	0.4 mL/min
进样量:	2 μ L
注意事项:	样品受基质干扰严重且有可能和样品发生反应, 建议使用内标法, 本次测试采用基质曲线, 氮吹时不能完全吹干, 会导致回收率下降。

● 流动相的配置:

流动相 A : 称取 0.1926 g 乙酸铵, 加水 500 mL, 加 1.0 mL 甲酸, 混匀, 抽滤;

流动相 B : 取色谱级乙腈, 经 0.22 μ m 滤膜抽滤, 即得。

● 质谱条件:

离子源: ESI

检测方式: MRM

干燥气: 氮气, 400°C, 流速: 1000L/Hr

碰撞气: 氩气

离子喷雾电压: 0.5 kV

名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	Cone (V)	Collision (V)	Polarity
金刚乙胺	180.5	163.4	30	12	Positive
		107.3		24	
美金刚	180.4	163.3	28	14	Positive
		92.9		28	
阿昔洛韦	226.4	152.3	18	10	Positive
		135.2		30	
咪喹莫特	241.4	185.3	18	24	Positive
		168.2		30	
奥司他韦	313.5	166.3	26	18	Positive
		225.3		8	



● 溶液配置：

金刚乙胺储备液：称取 0.0010 g 标准品，加入 10 mL 甲醇溶解，混匀。

阿昔洛韦储备液：称取 0.0020 g 标准品，加入少量二甲基亚砜溶液，直到其溶解后，加入甲醇至 10 mL，混匀。

咪喹莫特储备液：称取 0.0014 g 标准品，加入 10 mL 甲醇溶解，混匀。

奥司他韦储备液：称取 0.0017 g 标准品，加入 10 mL 甲醇溶解，混匀。

美金刚储备液：称取 0.0016 g 标准品，加入 10 mL 甲醇溶解，混匀。

混合标准中间液 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ：移取金刚乙胺储备液 100 μL ，阿昔洛韦储备液 50 μL ，咪喹莫特储备液 70 μL ，奥司他韦储备液 85 μL ，甲醇稀释至 10 mL，混匀。

美金刚中间液：移取美金刚储备液 80 μL 加甲醇稀释至 10 mL，混匀。

2%甲酸水溶液：量取 98 mL 水加入 2 mL 甲酸，混匀。

1%甲酸乙腈溶液：量取 1 mL 甲酸乙腈稀释至 50 mL，混匀。

三氯乙酸溶液：10 g 三氯乙酸加 500 mL 水溶解混匀。

三氯乙酸乙腈溶液：450 mL 三氯乙酸溶液加入 50 mL 乙腈，混匀。

5 mol/L 乙酸铵溶液：称取乙酸铵 50.5 g 加适量水溶解，氨水调 pH=7.0，定容至 130 mL。

洗脱液：取 95 mL 甲醇、2.5 mL 5mol/L 乙酸铵溶液、2.5 mL 氨水混匀。

● 样品提取：

样品：称取 5.0 g 猪肉试样于 50 mL 离心管中，加入水 15 mL 三氯乙酸乙腈溶液，涡旋混匀，超声 10 min，4°C 条件 10000 r/min 离心 15 分钟，取出上清液，再加入 10 mL 三氯乙酸乙腈溶液重复提取一次，离心后合并上清液，乙腈定容至 25 mL。

样品+标（混合标准中间液）：称取 5.0 g 猪肉试样于 50 mL 离心管中，加入混合标准中间液 10 μL ，加入水 15 mL 三氯乙酸乙腈溶液，涡旋混匀，超声 10 min，4°C 条件 10000 r/min 离心 15 分钟，取出上清液，再加入 10 mL 三氯乙酸乙腈溶液重复提取一次，离心后合并上清液，乙腈定容至 25 mL。

样品+标（美金刚中间液）：称取 5.0 g 猪肉试样于 50 mL 离心管中，加入美金刚中间液 10 μL ，加入水 15 mL 三氯乙酸乙腈溶液，涡旋混匀，超声 10 min，4°C 条件 10000 r/min 离心 15 分钟，取出上清液，再加入 10 mL 三氯乙酸乙腈溶液重复提取一次，离心后合并上清液，乙腈定容至



25 mL。

● 样品净化：

- 1) 活化：月旭 P-SCX 60 mg/3mL 固相萃取柱依次用 3 mL 甲醇、3 mL 水、3 mL 2%甲酸水活化，保持柱体湿润。
- 2) 净化：准确移取 5 mL 上清液加入到混合阳离子交换固相萃取小柱，以每秒一滴速率过柱，依次用 5 mL 2%甲酸水溶液、3 mL 1%甲酸乙腈淋洗，抽干小柱，用 4 mL 洗脱液洗脱，收集洗脱液，在 50 °C 氮吹浓缩近干，加入乙腈-甲醇-水（7:1:2）定容至 1 mL，涡旋后过 0.22 μm 滤膜，供液相色谱-质谱测定。此样应在 48 h 内测定完毕。

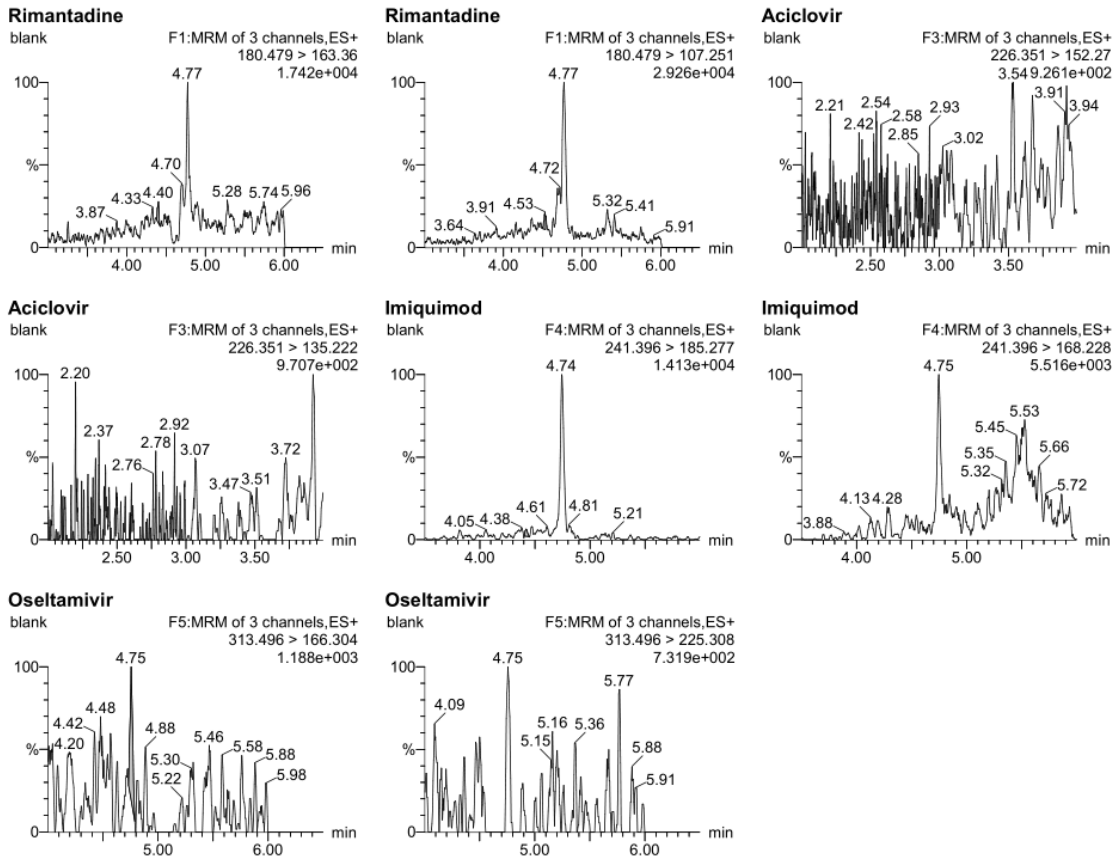
注：

- 1、固相萃取柱流速控制在每秒一滴。



● 谱图和数据

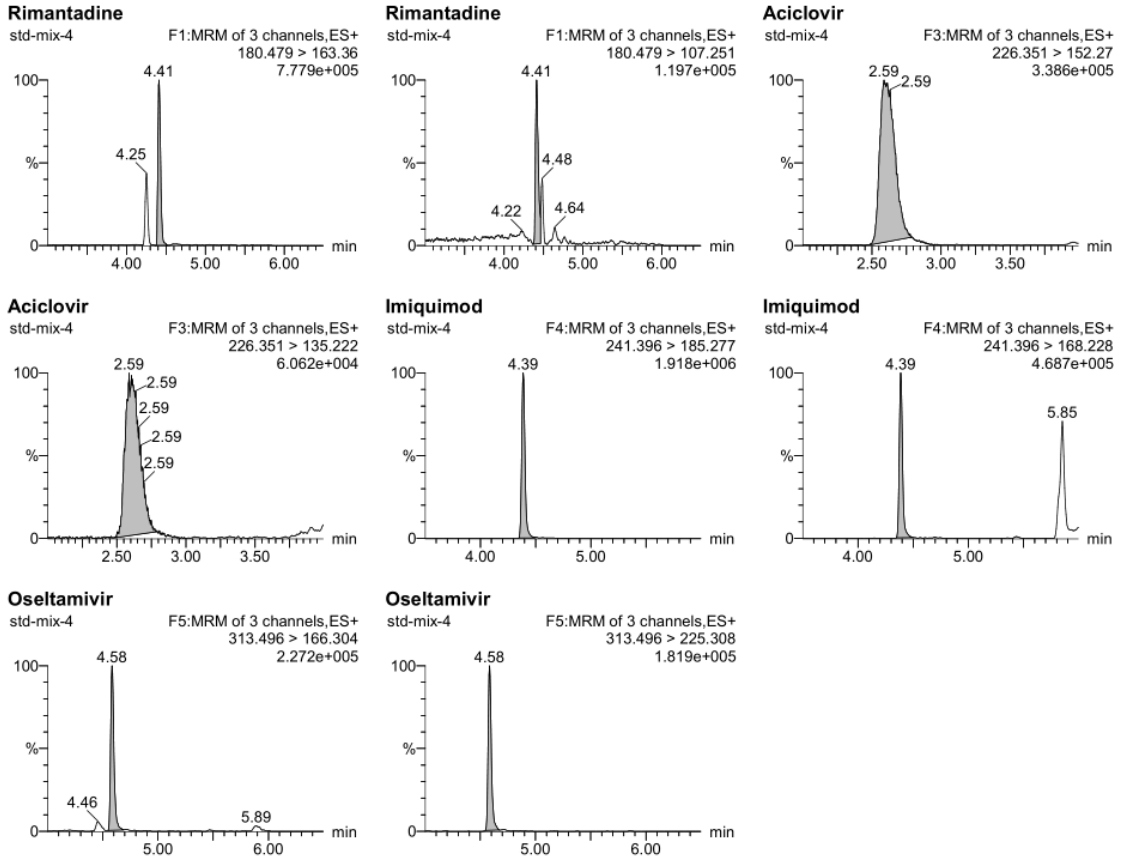
(1) 试剂空白。



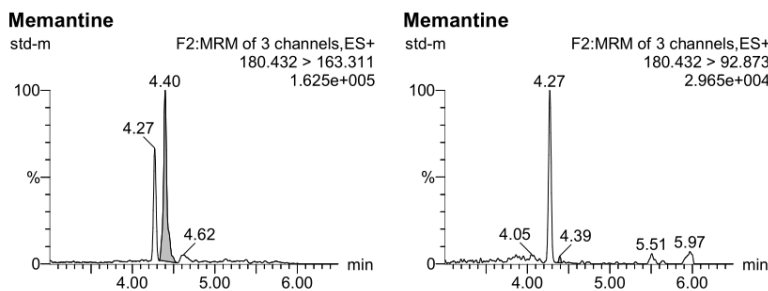
Sample Text	Name	Trace	RT	Area	Primar...	ng/mL	%Dev	1° Ratio (A...	2° Ratio (A...
blank	Rimantadine	180.479 > 163.36	4.40	45.338	bb	0.003		0.786	
blank	Aciclovir	226.351 > 152.27	2.58	0.556	bb	0.000		0.821	
blank	Imiquimod	241.396 > 185.277	4.42	14.168	bb	0.000			
blank	Oseltamivir	313.496 > 166.304	4.75	24.495	bb	0.006			



(2) 金刚乙胺、阿昔洛韦、咪喹莫特、奥司他韦、美金刚标准品溶液 2 ng/mL。(因为金刚乙胺和美金刚特征离子峰相同, 出峰时间相同, 所以无法完全分离(与检测标准一致), 建议分开进样检测。)



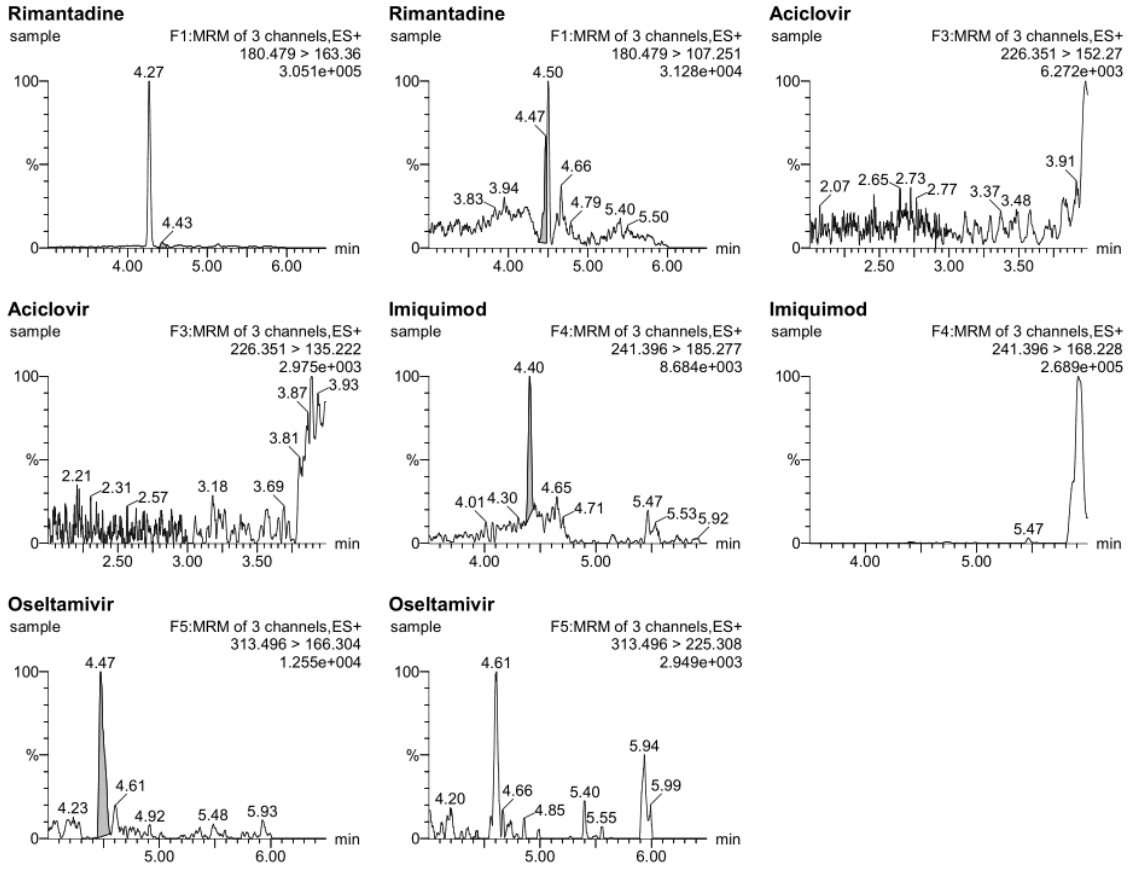
Sample Text	Name	Trace	RT	Area Primar...	ng/mL	%Dev	1° Ratio (A...	2° Ratio (A...
std-mix-4	Rimantadine	180.479 > 163.36	4.41	29335.256	bb	2.000	0.0	6.174
std-mix-4	Aciclovir	226.351 > 152.27	2.59	41144.844	bb	2.000	0.0	5.826
std-mix-4	Imiquimod	241.396 > 185.277	4.39	64400.879	bd	2.000	0.0	4.167
std-mix-4	Oseltamivir	313.496 > 166.304	4.58	7553.675	bb	2.000	0.0	1.272



Sample Text	Name	Trace	RT	Area Primar...	ng/mL	%Dev	1° Ratio (A...	2° Ratio (A...
std-m	Memantine	180.432 > 163.311	4.40	7682.292	bb	2.000	0.0	290.215



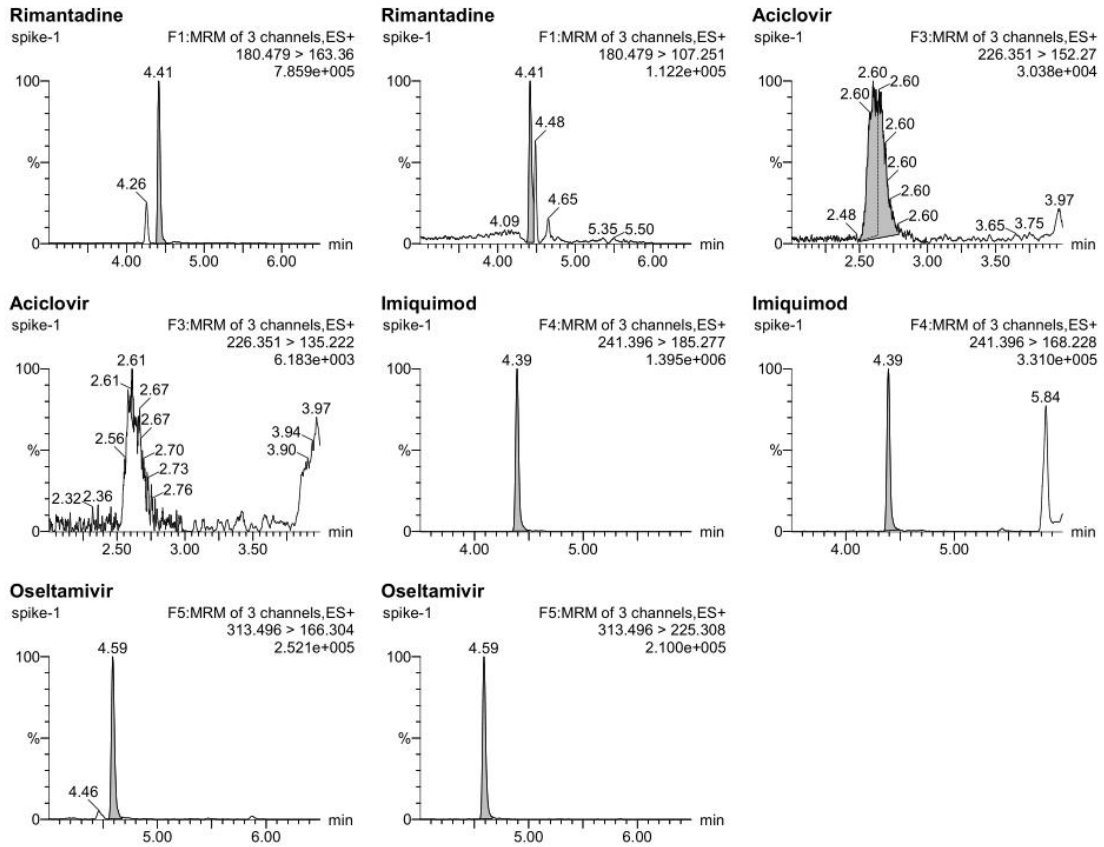
(3) 猪肉本底。



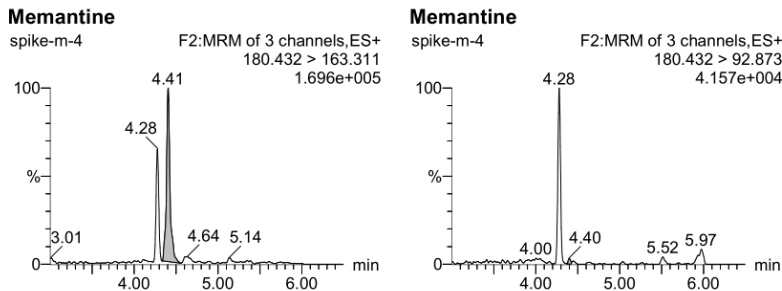
Sample Text	Name	Trace	RT	Area	Primar...	ng/mL	%Dev	1° Ratio (A...	2° Ratio (A...
sample	Rimantadine	180.479 > 163.36	4.43	572.098	bd	0.039		0.868	
sample	Aciclovir	226.351 > 152.27	2.65	8.831	bb	0.000		2.007	
sample	Imiquimod	241.396 > 185.277	4.40	222.338	bb	0.007		1.976	
sample	Oseltamivir	313.496 > 166.304	4.47	622.639	bb	0.165		179.074	



(4) 加标回收：金刚乙胺、阿昔洛韦、咪喹莫特、奥司他韦、美金刚标准品溶液 2 ng/mL。

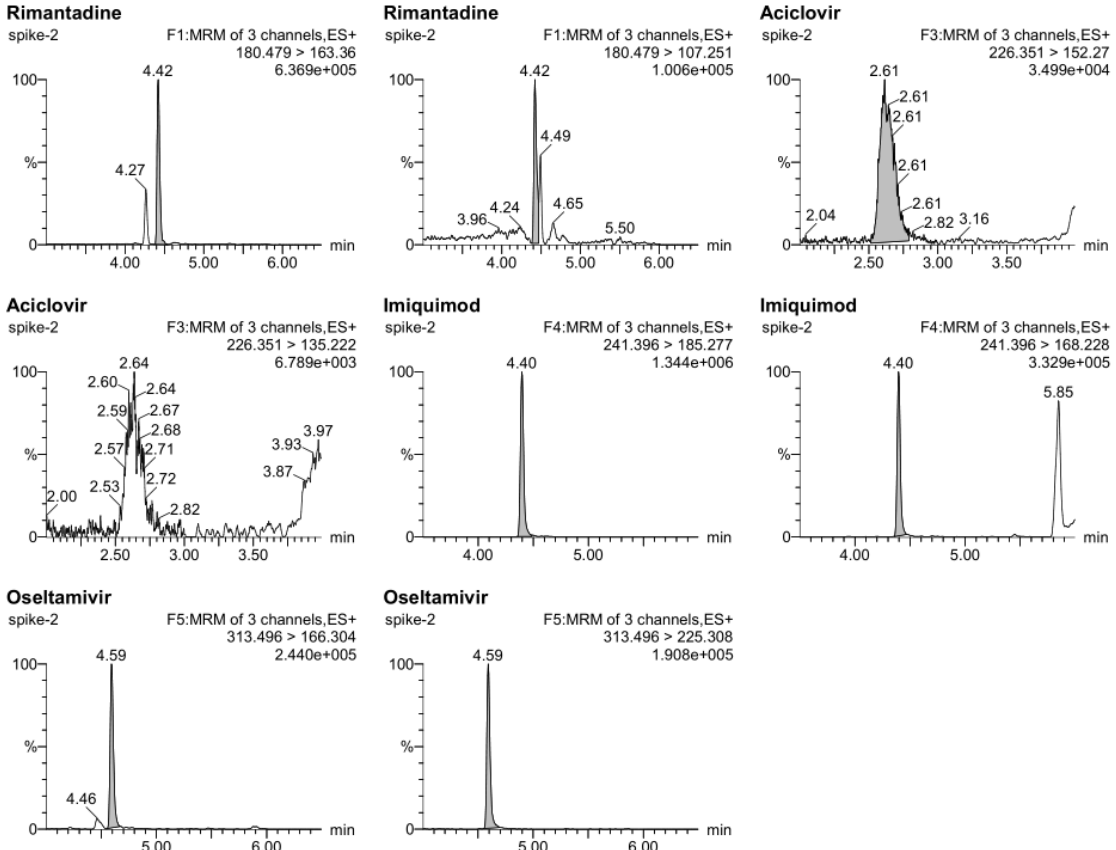


Sample Text	Name	Trace	RT	Area	Primar...	ng/mL	%Dev	1° Ratio (A...	2° Ratio (A...
spike-1	Rimantadine	180.479 > 163.36	4.41	29049.818	bb	1.981		6.447	
spike-1	Aciclovir	226.351 > 152.27	2.60	3828.529	MM	0.186		157.158	
spike-1	Imiquimod	241.396 > 185.277	4.39	46811.281	bd	1.454		4.241	
spike-1	Osetamivir	313.496 > 166.304	4.59	8437.464	bd	2.234		1.216	

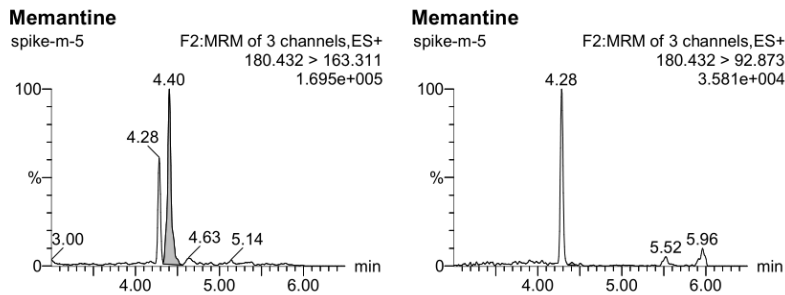


Sample Text	Name	Trace	RT	Area	Primar...	ng/mL	%Dev	1° Ratio (A...	2° Ratio (A...
spike-m-4	Memantine	180.432 > 163.311	4.41	8042.679	bb	2.094		196.518	





Sample Text	Name	Trace	RT	Area	Primar...	ng/mL	%Dev	1° Ratio (A...	2° Ratio (A...
spike-2	Rimantadine	180.479 > 163.36	4.42	24271.320	bb	1.655		5.958	
spike-2	Aciclovir	226.351 > 152.27	2.61	3879.378	MM	0.189			
spike-2	Imiquimod	241.396 > 185.277	4.40	45105.004	bd	1.401		4.217	
spike-2	Oseltamivir	313.496 > 166.304	4.59	7940.894	bb	2.103		1.274	



Sample Text	Name	Trace	RT	Area	Primar...	ng/mL	%Dev	1° Ratio (A...	2° Ratio (A...
spike-m-5	Memantine	180.432 > 163.311	4.40	8428.691	db	2.194		360.201	



● 结论:

化合物	实际浓度 ng/mL	理论浓度 ng/mL	平均回收率, %
金刚乙胺	1.981	2	90.9
	1.655		
美金刚	2.094		107.2
	2.194		
阿昔洛韦	0.186		9.4
	0.189		
咪喹莫特	1.454		71.4
	1.401		
奥司他韦	2.234		108.4
	2.103		

使用 Welchrom® P-SCX 60 mg/3 mL 检测猪肉中金刚乙胺、美金刚、咪喹莫特、奥司他韦, 净化效果好, 回收率符合要求, 但在实验中发现氮吹吹干的情况下, 样品加标回收率会严重下降, 因此只能吹至近干, 建议使用内标法校准基质效应; 在检测阿昔洛韦时回收率低, 原因可能是由于阿昔洛韦与样品基质发生反应引起, 建议使用内标法进行校准。

日期: 2022/07/10

