

# 超高效液相色谱 - 串联质谱法测定牛肉中氮哌酮及其代谢物残留量

## LCMSMS-1026

**摘要：**使用岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用系统建立了牛肉中氮哌酮及其代谢物残留量的分析方法。牛肉样品经氯化乙腈溶液提取，饱和氯化钠水溶液净化，正己烷除脂，使用 C18 色谱柱进行检测。采用电喷雾正离子 (ESI+) 模式进行电离，通过多反应监测模式 (MRM) 对目标化合物进行测定。结果表明：使用外标法定量，氮哌酮及其代谢物在 0.5 µg/L ~ 50 µg/L 浓度范围内线性良好，所得校准曲线线性相关系数均在 0.998 以上，各校准点准确度在 92.5%~116.4% 之间，且精密度和不同浓度水平的加标回收率实验结果良好。

**关键词：**三重四极杆质谱 牛肉 氮哌酮及代谢物

### 技术特点：

❖ 氮哌酮及其代谢物的检测限为 0.5 µg/kg，优于征求意见稿中的检测灵敏度。

氮哌酮 (azaperone) 是一种丁酰苯类神经安定药，动物使用后可消除紧张感，使其活动力下降，对环境淡漠并长期处于安静状态。该药物有助于降低因应激行为而引起的死亡率，因此在长途运输中常常给猪牛等动物使用。氮哌醇是氮哌酮在动物体内的代谢产物，与原药氮哌酮的化学结构相近，是氮哌酮的残留标志物。动物性食品中氮哌酮及其代谢产物氮哌醇的残留可能对人体健康产生潜在危害，如引发过敏反应、影响神经系统等，且残留该药的动物产品将不能进入欧盟等发达国家市场。因此，建立一种高效测定牛肉中氮哌酮及其代谢物的方法，对保障食品安全具有重要意义。

目前，氮哌酮及其代谢物的检测方法主要有薄层层析法 (TLC)、毛细管电泳法 (CE)、气相色谱法 (GC) 和高效液相色谱法 (HPLC) 等。液相色谱 - 串联质谱法 (LC-MS/MS) 检测复杂基质中痕量物质具有选择性好、灵敏度高和分析速度快的优势，且无需对样品进行衍生化处理。本文基于岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用技术，参考《食品安全国家标准 动物性食品中氮哌酮及其代谢物残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》征求意见稿，建立了牛肉中氮哌酮及其代谢物残留量的测定方法，供相关检测人员参考使用。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-8060RX 三重四极杆液质联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A <sub>5R</sub>
输液泵：	LC-30AD×2	自动进样器：	SIL-30AC
柱温箱：	CTO-20AC	检测器：	LCMS-8060RX
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.128		

### 1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack GISS C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 1.9 µm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30048-02)

流动相：A相 - 0.1% 甲酸水溶液； B相 - 0.1% 甲酸乙腈溶液

流速：0.30 mL/min  
 进样体积：1  $\mu$ L  
 柱温：35°C  
 洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为10%，时间程序见表1。

表1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
4.00	泵	B.Conc	60
4.50	泵	B.Conc	100
5.00	泵	B.Conc	100
5.50	泵	B.Conc	10
7.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子化模式：ESI+	接口温度：300°C
接口电压：1.0 kV	聚焦电压：2.0 kV
DL温度：250°C	加热块温度：400°C
雾化气流速：氮气 3.0 L/min	驻留时间：30 ms
加热气流速：空气 10 L/min	扫描模式：多反应监测 (MRM)
干燥气流速：氮气 10 L/min	MRM参数：见表2

1.3 样品前处理方法

称取牛肉试样 5.0 g，置于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 1% 氨化乙腈溶液，涡旋混合 1 min，超声 10 min，8000 r/min 离心 5 min，转移上清液至另一个 50 mL 离心管。残渣再用 10 mL 1% 氨化乙腈溶液重新提取一次，合并上清液。在上清液中加入 10 mL 水和 4 g NaCl，涡旋混合 1 min，振荡 10 min，4500 r/min 离心 5 min，转移 4 mL 上层有机相至另一个 15 mL 离心管，于 40°C 下氮气吹干。残渣加入 1 mL 2% 甲酸水溶液和 2 mL 正己烷，超声 1 min，涡旋混合 1 min，4500 r/min 离心 5 min，弃去上层有机相，下层溶液过 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜，供液相色谱 - 串联质谱仪测定。

表2 氮哌酮及其代谢物的 MRM 采集参数

No.	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE(V)	Q3 Pre Bias (V)
1	氮哌醇	330.10	121.10*	-10.0	-25.0	-12.0
			312.10	-10.0	-16.0	-22.0
2	氮哌酮	328.20	165.10*	-10.0	-22.0	-16.0
			123.10	-10.0	-37.0	-12.0

注：\* 表示定量离子对

1.4 校准曲线的制备

精密量取适量混合标准工作溶液，使用经过提取净化后的牛肉空白样品溶液稀释配制成氮哌酮及其代谢物浓度为 0.5  $\mu$ g/L、1  $\mu$ g/L、5  $\mu$ g/L、10  $\mu$ g/L、25  $\mu$ g/L 和 50  $\mu$ g/L 的系列标准工作液，供液相色谱 - 串联质谱仪测定。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 标准样品的 MRM 色谱图

将氮哌酮及其代谢物浓度为 5 μg/L 的标准样品溶液，按照 1.2 分析条件上机分析，所得氮哌酮及其代谢物的 MRM 图谱如图 1 和图 2 所示。

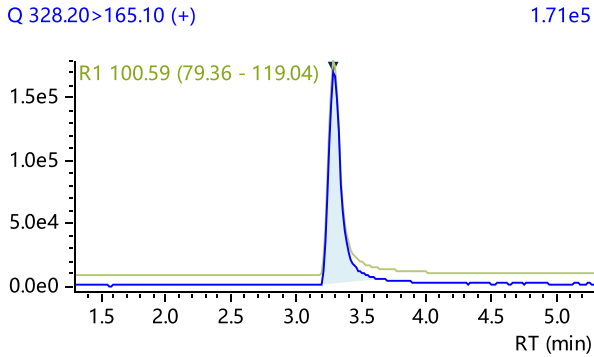


图 1 氮哌酮 (5 μg/L) 的 MRM 色谱图

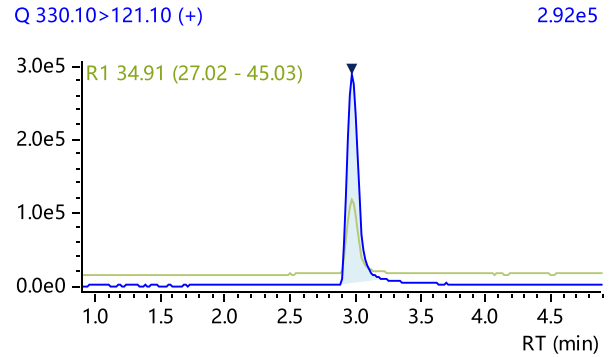


图 2 氮哌醇 (5 μg/L) 的 MRM 色谱图

### 2.2 线性范围

将浓度分别为 0.5 μg/L、1 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、25 μg/L、50 μg/L 不同浓度氮哌酮及其代谢物的混合标准工作溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，使用外标法定量，绘制校准曲线如图 3 所示。所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。

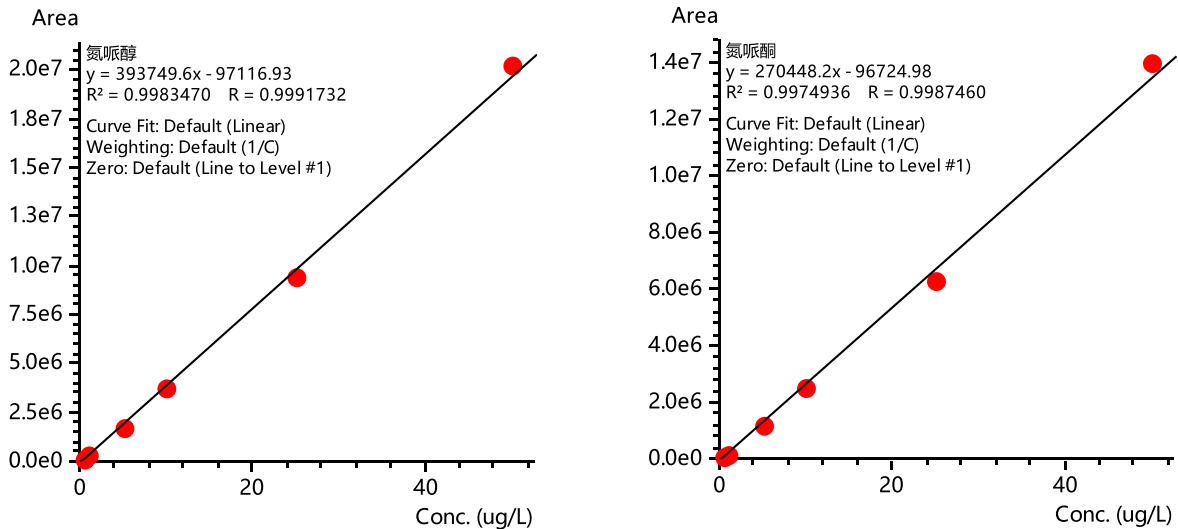


图 3 氮哌酮及其代谢物的校准曲线

表 3 标准曲线信息

No.	化合物名称	校准曲线	相关系数 R	准确度 (%)	检出限 (μg/kg)
1	氮哌醇	$Y = (393749.6)X + (-97116.9)$	0.9991	92.5~114.8	0.5
2	氮哌酮	$Y = (270448.2)X + (-96725.0)$	0.9987	93.9~116.4	0.5

### 2.3 精密度实验

对 1 µg/L、5 µg/L 和 10 µg/L 不同浓度的氮哌酮及其代谢物混合标准工作溶液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：氮哌酮及其代谢物的保留时间和峰面积相对标准偏差 (RSD) 不高于 0.07% 和 3.42%，显示仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6, RSD/%)

No.	化合物名称	1 µg/L		5 µg/L		10 µg/L	
		R. T.	Aera	R. T.	Aera	R. T.	Aera
1	氮哌醇	0.13	2.78	0.09	0.88	0.06	0.81
2	氮哌酮	0.07	3.42	0.07	1.64	0.08	2.18

### 2.4 加标回收率实验

取空白牛肉样品，加入适量氮哌酮及其代谢物的混合标准储备溶液，使牛肉试样中添加浓度为分别为 5 µg/kg 和 10 µg/kg，平行做 3 份。按照 1.3 样品前处理方法完成处理后上机分析，测定氮哌酮及其代谢物的添加回收率，各化合物的平均加标回收率结果为 75.0% ~ 102.3% 之间（见表 5）。

表 5 氮哌酮及其代谢物平均加标回收率结果 (n=3)

No.	化合物名称	添加浓度水平	
		5 µg/kg	10 µg/kg
1	氮哌醇	75.7%	75.0%
2	氮哌酮	92.5%	102.3%

## ■ 结论

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-8060RX 联用系统建立了测定牛肉中氮哌酮及其代谢物残留量的分析方法，样品中氮哌酮及其代谢物可在 7 min 内完成分析。该方法灵敏度高、分析速度快、结果准确，能够为牛肉中氮哌酮及其代谢物残留量的分析提供有效的技术手段。

岛津应用云

