

# LCMS-8050 测定猪肉中 5 种 $\alpha_2$ -受体激动剂

## LCMSMS-458

**摘要：** 本文使用岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱仪 LCMS-8050，建立了动物源性食品中替扎尼定等 5 种  $\alpha_2$ -受体激动剂的测定方法。参考《GB 31660.6—2019 动物性食品中 5 种  $\alpha_2$ -受体激动剂残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》食品安全国家标准，猪肉样品经用碳酸钠缓冲溶液、乙酸乙酯提取，SHIMSEN Styra MCX (岛津实验器材有限公司，P/N: 380-00853-01) 固相萃取柱净化，液相色谱 - 串联质谱测定，外标法定量。结果显示该方法线性良好，标准曲线相关系数均  $\geq 0.995$ ，5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  加标回收率在 69.6% ~ 91.8% 之间，相对标准偏差 (RSD) < 5.7%。该方法可满足猪肉样品中  $\alpha_2$ -受体激动剂的定量。

**关键词：** LCMS-8050 兽药残留 猪肉  $\alpha_2$ -受体激动剂

社会各界对“瘦肉精”食品安全问题的关注，促使了  $\beta_2$ -受体激动剂的检测技术得到了飞速发展，从而有效遏止了  $\beta_2$ -受体激动剂在动物养殖中的非法使用。而  $\alpha_2$ -受体激动剂作为一种新型的具有促进生长及提高瘦肉率作用的药物也在逐步引起关注，且在饲料行业中已有非法添加使用的趋势。早在 2010 年，农业部 1519 号公告已明确把可乐定、赛庚啶等列入了农业部《禁止在饲料和动物饮水中使用的物质》清单。

《GB 31650-2019 食品中兽药最大残留限量》规定，仅赛拉嗪可用于非产奶期的牛、马等动物，其他  $\alpha_2$ -受体激动剂均禁止用于畜禽养殖，且不得检出。《GB

31660.6—2019 动物性食品中 5 种  $\alpha_2$ -受体激动剂残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》食品安全国家标准，提供了替扎尼定、赛拉嗪、溴莫尼定、安普乐定和可乐定在猪、鸡肌肉及内脏中残留检测方法，该标准已于 2020 年 4 月 1 日正式实施。

本文参考《GB 31660.6—2019 动物性食品中 5 种  $\alpha_2$ -受体激动剂残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》食品安全国家标准，建立了基于 LCMS-8050 的猪肉中 5 种  $\alpha_2$ -受体激动剂的测定方法。该方法快速、稳定，适合动物性食品中替扎尼定等 5 种  $\alpha_2$ -受体激动剂的测定。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8050。具体配置为 LC-30AD $\times$ 2 (输液泵)，DGU-20A<sub>SR</sub> (在线脱气机)，SIL-30ACMP (自动进样器)，CTO-30A (柱温箱)，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8050 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.91 色谱工作站。

### 1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱：Shim-pack Velox C18 (100 mm $\times$ 2.1 mm I.D., 1.8  $\mu\text{m}$ )

Shimadzu SGLC, P/N: 227-32010-04

流动相：流动相 A-0.2% 甲酸水溶液 流动相 B- 乙腈

流速：0.3 mL/min

柱温：35 $^{\circ}\text{C}$

进样量：5  $\mu\text{L}$

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 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
3.00	Pumps	Pump B Conc.	30
4.00	Pumps	Pump B Conc.	30
4.50	Pumps	Pump B Conc.	80
5.50	Pumps	Pump B Conc.	80
5.60	Pumps	Pump B Conc.	10
8.00	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器: LCMS-8050

加热模块温度: 300°C

离子源: ESI+

DL 温度: 250°C

雾化气流速: 3.0 L/min

离子源温度: 400°C

加热气流速: 10.0 L/min

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

干燥气流速: 10.0 L/min

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数

序号	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE	Q3 Pre Bias (V)
1	替扎尼定	254.00	44.10*	-19.0	-26.0	-16.0
			210.00	-10.0	-28.0	-20.0
2	赛拉嗪	221.10	90.00*	-16.0	-23.0	-16.0
			164.10	-17.0	-26.0	-29.0
3	溴莫尼定	292.00	170.00*	-11.0	-35.0	-17.0
			212.00	-22.0	-28.0	-21.0
4	安普乐定	245.00	174.10*	-18.0	-28.0	-17.0
			209.00	-10.0	-23.0	-21.0
5	可乐定	230.00	159.90*	-17.0	-34.0	-28.0
			213.00	-18.0	-24.0	-21.0

\* 定量离子对

1.3 标准品及试剂

标准品: 盐酸替扎尼定 (Tizanidine hydrochloride,  $C_9H_8ClN_5S \cdot HCl$ , CAS:64461-82-1)、溴莫尼定 (Brimonidine,  $C_{11}H_{10}BrN_5$ , CAS:59803-98-4)、盐酸安普乐定 (Apraclonidine hydrochloride,  $C_9H_{10}N_4Cl_2 \cdot HCl$ , CAS:73218-79-8) 和盐酸可乐定 (Clonidine hydrochloride,  $C_9H_{10}Cl_3N_3$ , CAS:4205-91-8), 含量均  $\geq 98\%$ , 购自中检院。盐酸赛拉嗪 (Xylazine Hydrochloride,  $C_{12}H_{16}N_2S$ , CAS:7361-61-7), 含量  $\geq 98\%$ , 购自 TRC 公司。

试剂: SHIMSEN Styra MCX(SGLC 货号, 380-00853-01) 固相萃取柱, 室温保存。

乙腈: 色谱级, 室温保存。

超纯水: 蒸馏水由 Milli-Q Plus 水净化系统经去离子与二次净化制得。

甲酸: 色谱级, 纯度 98%, 室温保存。

碳酸钠缓冲溶液: 取无水碳酸钠 10.6 g, 用水溶解并稀释至 100 mL, 为 A 液; 取碳酸氢钠 8.4 g, 用水溶解并稀释至 100 mL, 为 B 液。取 A 液 90 mL、B 液 10 mL, 混匀, 现用现配。

## 1.4 样品及标准曲线配制

### 1.4.1 样品制备

参考《GB 31660.6—2019 动物性食品中 5 种  $\alpha_2$ -受体激动剂残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》标准前处理方法：取试料 2 g（准确至  $\pm 20\text{mg}$ ），于 50 mL 离心管中，加碳酸钠缓冲液 5 mL，振荡混匀，加乙酸乙酯 10 mL，充分振荡，于 8000 r/min 离心 5 min，取上清液于鸡心瓶中，下层溶液中加乙酸乙酯 10 mL 重复提取一次，合并两次上清液。于 55°C 旋转蒸发至干，加初始流动相溶液 4.0 mL 溶解残余物，备用。SHIMSEN Styra MCX(SGLC 货号，380-00853-01) 固相萃取柱依次用甲醇、水各 3 mL 活化。取备用液过柱，用水 3 mL、甲醇 3 mL 分别淋洗，抽干，5% 氨水甲醇溶液 6 mL 洗脱，收集洗脱液，并用 5% 氨水甲醇定容至 6 mL，上机。

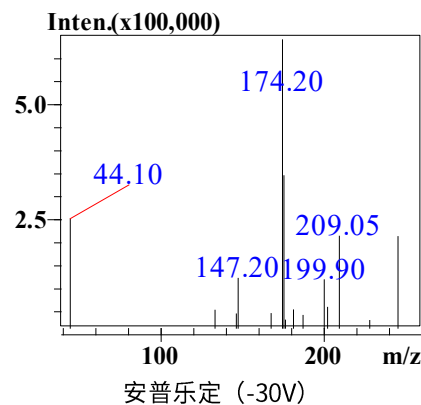
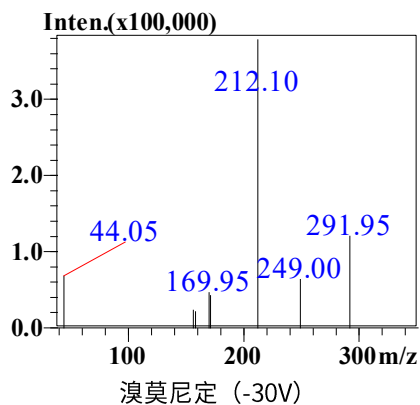
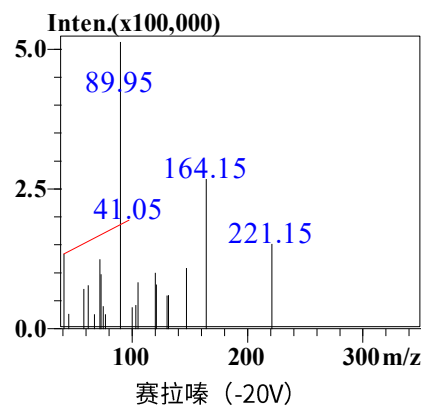
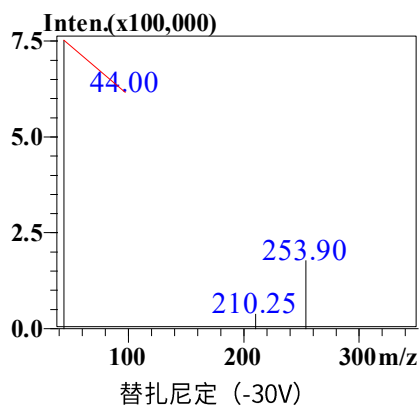
### 1.4.2 标准曲线制备

分别精密量取混合标准工作液适量，用初始比例流动相稀释配制浓度为 0.5、1、2、10、50 和 100  $\mu\text{g/L}$  系列混合标准工作液，临用现配。

## ■ 结果讨论

### 2.1 标品质谱图与色谱图

将 100  $\mu\text{g/L}$  混标溶液进样分析，采用产物离子扫描模式确认替扎尼定等 5 种  $\alpha_2$ -受体激动剂的碎片离子，如下图 1 所示，可找到标准推荐的产物离子。对空白溶剂和 0.5  $\mu\text{g/L}$  混标溶液分析，MRM 色谱图如图 2 所示，空白溶剂无干扰，且 5 种  $\alpha_2$ -受体激动剂在 4 min 内实现了良好分离。



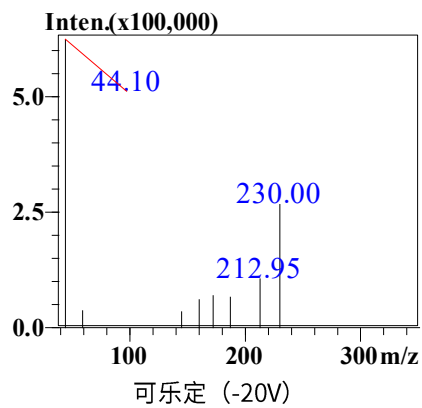


图1 5种  $\alpha_2$ -受体激动剂 MS2 质谱图

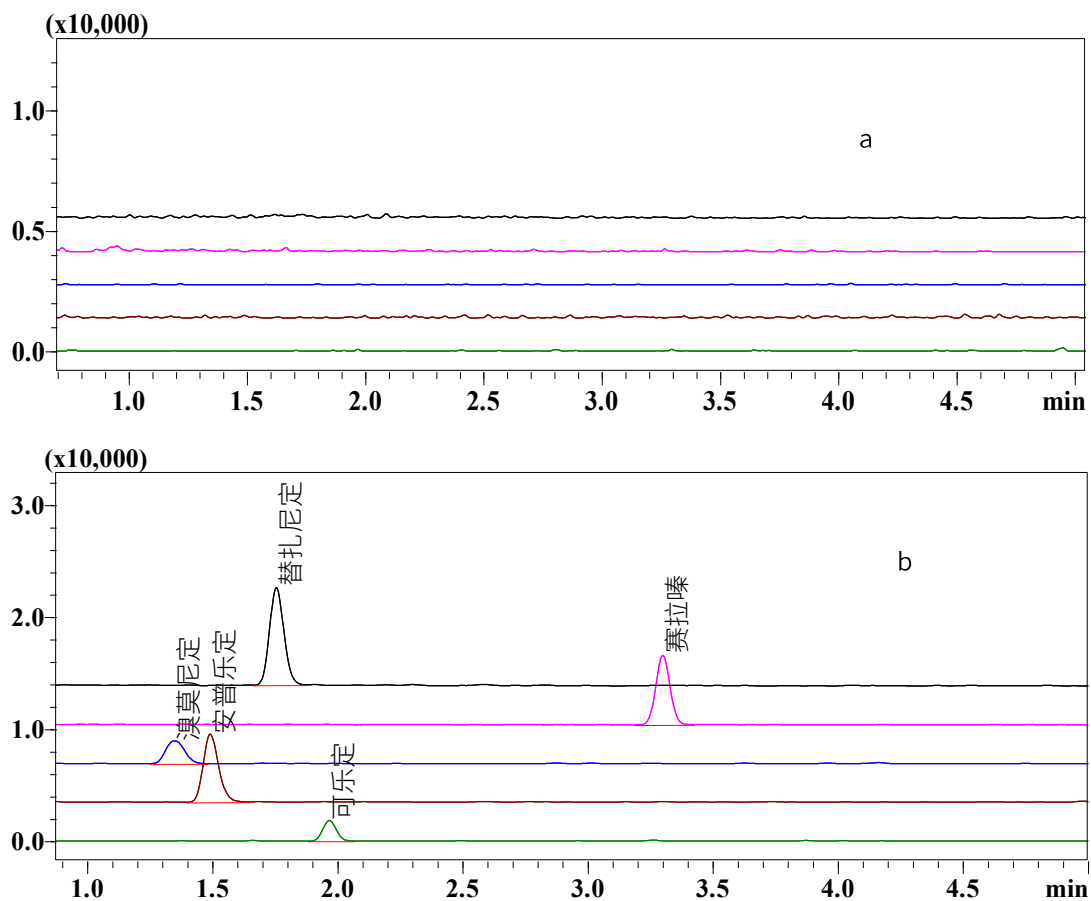


图2 空白溶剂 (a)、0.5  $\mu\text{g/L}$  混标 (b) 色谱图

## 2.2 线性关系及检出限、定量限

对系列混合标准曲线溶液进行分析,以面积为纵坐标,浓度为横坐标,进行线性拟合。结果如表3和图3所示,替扎尼定等5种目标物在0.5-100  $\mu\text{g/L}$  范围内,线性良好,线性相关系数均 $\geq 0.995$ 。以0.5  $\mu\text{g/L}$  数据为依据,根据信噪比  $S/N=3$ 、 $S/N=10$  计算检出限 (LOD)、定量限 (LOQ),检出限和定量限均低于0.44  $\mu\text{g/kg}$ ,满足标准要求。

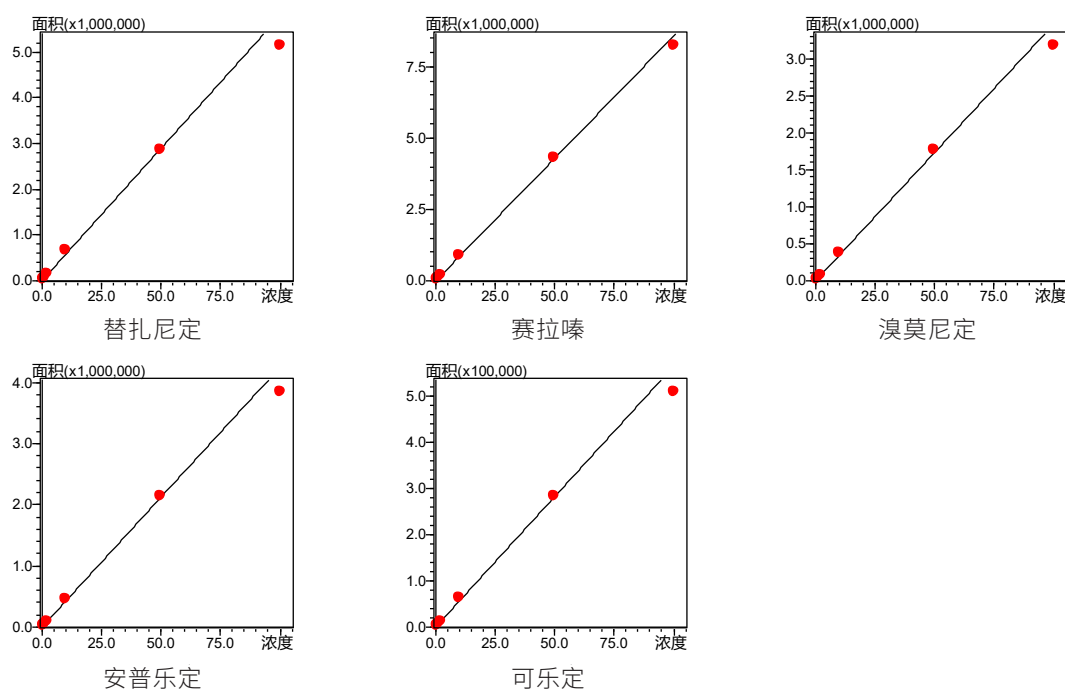


图3 标准曲线

表3 标准曲线、检出限及定量限

序号	中文名称	线性方程	相关系数 r	准确度 (%)	检出限 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	定量限 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
1	替扎尼定	$Y = (58001.0)X + (8238.45)$	0.995	89.0-111.4	0.04	0.10
2	赛拉嗪	$Y = (85806.3)X + (6096.82)$	0.999	95.7-104.2	0.02	0.06
3	溴莫尼定	$Y = (34668.4)X + (3641.28)$	0.998	91.7-107.6	0.04	0.12
4	安普乐定	$Y = (42533.9)X + (4399.56)$	0.997	90.7-108.8	0.06	0.18
5	可乐定	$Y = (5687.90)X + (666.671)$	0.997	90.7-110.3	0.14	0.44

### 2.3 重复性考察

对  $1 \mu\text{g}/\text{L}$  的标准溶液连续分析 6 次，计算保留时间和峰面积的 RSD。结果见表 4，保留时间 RSD<0.27%，峰面积的 RSD<4.86%。仪器稳定性良好。

表4 保留时间和面积 RSD

序号	中文名称	保留时间 RSD(%)	面积 RSD (%)
1	替扎尼定	0.08	1.69
2	赛拉嗪	0.05	1.91
3	溴莫尼定	0.17	4.05
4	安普乐定	0.27	4.86
5	可乐定	0.08	4.81

## 2.4 加标回收率考察

在空白猪肉样品上进行 2 µg/kg 的加标回收试验，平行 3 份。结果见表 5，替扎尼定等 5 种目标物平均回收率在 69.6% ~ 91.8% 之间，RSD 均 <5.7%。完全满足标准对于回收率的要求 (60%~100%)。

表 5 猪肉加标回收率结果

序号	中文名称	低水平 (2 µg/kg)	
		加标回收率 /%	重复性 /%
1	替扎尼定	87.2	3.3
2	赛拉嗪	78.7	2.7
3	溴莫尼定	81.9	3.5
4	安普乐定	69.6	2.7
5	可乐定	91.8	5.6

## ■ 结论

本文使用岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱仪 LCMS-8050，参考 GB 31660.6—2019 标准，建立了猪肉中 5 种  $\alpha_2$ -受体激动剂测定方法。该方法可供相关行业参考。

岛津应用云

