

# LCMS-8045 分析动物毛发中赛庚啶

## LCMSMS-516

**摘要:** 本文使用岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱仪 LCMS-8045, 建立了动物毛发中赛庚啶的测定方法。毛发样品经  $\beta$ - 葡萄糖苷酶 / 芳基硫酸酯酶酶解, 酸性乙腈提取, SHIMSEN Styra MCX 固相萃取柱净化浓缩, 液相色谱 - 串联质谱测定, 以二苯拉林为内标, 定量测定。结果显示该方法线性良好, 标准曲线相关系数 0.999, 1.25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  加标回收率为 105.7%。该方法可用于毛发样品中赛庚啶的定量。

**关键词:** LCMS-8045 兽药残留 毛发  $\alpha$ - 受体激动剂 赛庚啶

赛庚啶是一种 H1 受体拮抗剂, 临床上用于荨麻疹、湿疹、过敏性和接触性皮炎, 同时, 赛庚啶具有抗 5-羟色胺的作用, 可抑制下丘脑饱觉中枢而刺激食欲增加体重, 用于畜禽养殖可以促进生长。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。

农业农村部 197-8-2019 号公告《动物毛发中赛庚啶残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》, 规定了赛庚啶的含量测定方法。

本文参考 197-8-2019 公告, 使用 LCMS-8045 的建立了毛发中赛庚啶的测定方法。该方法灵敏度高、稳定, 适用于养殖过程监管。

## ■ 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-8045。具体配置为

输液泵 : LC-20ADXR $\times$ 2

系统控制器 : CBM-20A

自动进样器 : SIL-30ACMP

三重四极杆质谱仪 : LCMS-8045

柱温箱 : CTO-20AC

色谱工作站 : LabSolutions Ver. 5.97

### 1.2 分析条件

液相色谱条件:

色谱柱: Shim-pack GIST (100 mm $\times$ 2.1 mm I.D., 2.0  $\mu\text{m}$ )

岛津 (上海) 实验器材有限公司 P/N: 227-30001-04

流动相: 流动相 A-0.1% 甲酸水溶液 流动相 B- 甲醇

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40  $^{\circ}\text{C}$

进样量: 5  $\mu\text{L}$

洗针模式: 甲醇 / 水 = 1:1

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 30%, 时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
4.00	Pumps	Pump B Conc.	95
5.50	Pumps	Pump B Conc.	95
5.60	Pumps	Pump B Conc.	10
8.00	Controller	Stop	

质谱条件:

分析仪器: LCMS-8045

加热模块温度: 300  $^{\circ}\text{C}$

离子源: ESI $^{+}$ (1.5kV)

DL 温度: 150  $^{\circ}\text{C}$

雾化气流速: 3.0 L/min  
 加热气流速: 10.0 L/min  
 干燥气流速: 10.0 L/min

离子源温度: 400 °C  
 扫描模式: 多反应监测 (MRM)  
 MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数

序号	化合物名称	英文名	前体离子	产物离子	CE
1	赛庚啉	Cyproheptadine	288.20	191.00	-30
			288.20	96.10*	-28
			288.20	215.00	-51
2	二苯拉林 (内标)	Apraclonidine	282.20	116.10	-32
			282.20	167.00*	-25

\* 定量离子对

### 1.3 标准品及试剂

标准品: 盐酸赛庚啉 (Cyproheptadine hydrochloride, C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>N•HCl, CAS 号 :969-33-5) 含量 ≥ 98.0%, 购自中检院。盐酸二苯拉林 (Diphenylpyraline, C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>NO•HCl, CAS 号 :61-76-7) 含量 ≥ 98%, 购自 TRC 公司。

试剂: SHIMSEN Styra MCX( 岛津 (上海) 实验器材有限公司 PN: 380-00853-01) 固相萃取柱, 室温保存。

甲醇: 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。

0.2M 乙酸铵缓冲溶液: 取 15.4 g 乙酸铵, 至 1000 mL 水中, 乙酸调节 pH 至 5.2

β- 葡萄糖苷酶 / 芳基硫酸酯酶 : sigma

### 1.4 样品及标准曲线配制

#### 1.4.1 样品制备

取毛发 0.2 g (准确至 ±0.1mg), 于 50 mL 离心管中, 加 25 μL 二苯拉林内标工作液, 混匀。再加入 0.2M 乙酸铵缓冲溶液 5 mL, 加入 40μLβ- 葡萄糖苷酶 / 芳基硫酸酯酶, 混匀, 37 °C 恒温孵育 16 h, 备用。

在酶解液中加入 500 μL 5M 盐酸溶液, 终止酶解。再加入 5 mL 乙腈 /0.1M 盐酸水 (9: 1, v/v) 提取液, 混匀, 离心。取上清液, 用 SHIMSEN Styra MCX( 岛津 (上海) 实验器材有限公司, PN: 380-00853-01) 固相萃取柱净化浓缩。具体为: SHIMSEN Styra MCX 依次用甲醇、水各 3 mL 活化。取全部备用液过柱, 用水 3 mL、甲醇 3 mL 分别淋洗, 抽干, 5% 氨水甲醇溶液 5 mL 洗脱, 收集洗脱液, 50°C 氮吹至干, 500 μL 流动相初始溶液复溶, 过 0.22 μm 尼龙滤膜, 上机。

#### 1.4.2 标准曲线配制

##### 1.4.2.1 标准储备液 (1 mg/mL)

取盐酸赛庚啉、盐酸二苯拉林标准品各约 10 mg, 精密称定, 分别于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 配制成浓度分别为 1 mg/mL 的盐酸赛庚啉和盐酸二苯拉林标准储备液。4 °C 下保存, 有效期 6 个月。

##### 1.4.2.2 标准工作液 (10 μg/mL)

精密量取盐酸赛庚啉标准储备液各 10 μL, 于 100 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 制成浓度为 100 ng/mL 的盐酸赛庚啉标准工作液。4 °C 下保存, 有效期 1 个月。

##### 1.4.2.3 内标工作液

精密量取盐酸二苯拉林储备液 10 μL, 于 100 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 配制成含盐酸二苯拉林 100 ng/mL 内标中间液。于 4°C 下保存, 有效期 1 个月。

### 1.4.2.4 标准曲线制备

精密量取标准工作液和内标工作液适量，用乙腈-0.1%甲酸溶液稀释成赛庚啉浓度为0.1、0.2、0.5、1、5和10 ng/mL 系列标准工作液，其中含盐酸二苯拉林的浓度的浓度均为5 ng/mL，临用现配。

## ■ 结果讨论

### 2.1 标品质谱图与色谱图

将100 ng/mL 赛庚啉和二苯拉林溶液进样分析，采用产物离子扫描模式确认碎片离子，如下图1所示，产物离子清晰可辨。对0.1 ng/mL 标准溶液分析，MRM 色谱图如图2所示，赛庚啉响应良好，S/N=40.25，无通道干扰。

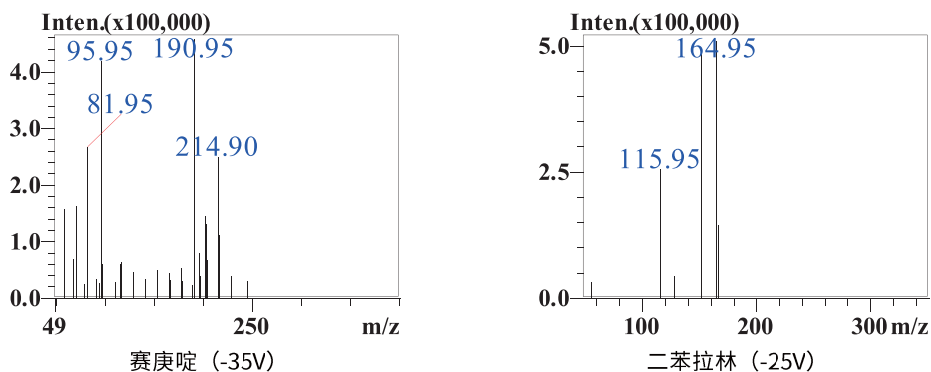


图1 赛庚啉和二苯拉林 MS<sup>2</sup> 质谱图

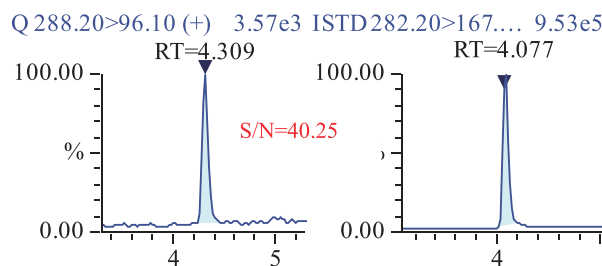


图2 0.5 ng/mL 赛庚啉和二苯拉林混标色谱图

### 2.2 线性关系及检出限、定量限

对系列标准曲线溶液进行分析，以面积比为纵坐标，浓度比为横坐标，进行线性拟合。结果如表3和图3所示，赛庚啉在0.1-10 ng/mL 范围内，线性良好，线性相关系数0.999。以0.1 ng/mL 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0.25 μg/kg，满足测定需求。

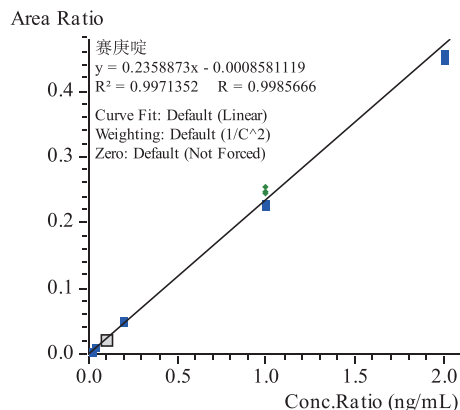


图3 标准曲线

表 3 标准曲线、检出限及定量限

中文名称	线性方程	相关系数 r	准确度 (%)	检出限 (µg/kg)	定量限 (µg/kg)
赛庚啉	$Y = (0.2358873)X + (-0.00085811119)$	0.999	91.4-108.2	0.025	0.075

### 2.3 重复性考察

对 0.5 ng/mL 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=0.14%，峰面积的 RSD=1.92%。仪器稳定性良好。

表 4 保留时间和面积 RSD

中文名称	保留时间 RSD(%)	面积 RSD (%)
赛庚啉	0.14	1.92

### 2.4 加标回收率考察

在空白毛发样品上进行 1.25 µg/kg 的加标回收试验，平行 3 份。赛庚啉回收率 105.7% 之间，RSD=3.43%。满足测定需要。

表 5 饲料加标回收率结果

样品名称	加标浓度 (1.25 µg/kg)		
	加标回收率 /%	平均值 %	RSD/%
加标 1	103.3	105.7	3.43
加标 2	103.6		
加标 3	109.7		

## ■ 结论

本文使用岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱仪 LCMS-8045，建立了毛发中赛庚啉测定方法。方法检出限 0.025 µg/kg，定量限 0.075 µg/kg，在 0.1-10 ng/mL 范围内，线性相关系数 0.999。该方法灵敏度高，线性良好，加标回收率高，定量准确。该方法可供农口相关行业参考。

岛津应用云

