

超高效液相色谱 - 串联质谱法测定牛肉中 异丙嗪残留量

LCMSMS-630

摘要： 本文建立了使用岛津三重四极杆液质联用系统测定牛肉中异丙嗪残留量的方法。异丙嗪在优化后的色谱及质谱条件下，采用正离子模式进行电离，通过多反应监测 (MRM) 模式进行测定。结果表明：使用外标法定量，异丙嗪在 0.5 ng/mL~20 ng/mL 浓度范围内峰面积与其质量浓度线性关系良好，所得校准曲线线性相关系数均在 0.999 以上，各校准点准确度在 96.7% ~ 113.1% 之间，且精密度和回收率实验结果良好。

关键词： 牛肉 异丙嗪 三重四极杆质谱

随着现代养殖业不断发展，为了加快猪、牛、羊等畜类动物生长、提高生产效率，兽药已被广泛应用。然而，盲目追求经济效益、缺乏科学知识，兽药滥用现象时有发生，产生了严重的兽药残留问题，既危害了人民群众的身体健康，又阻碍了畜牧业的健康发展。异丙嗪 (Promethazine) 是一种吩噻嗪类的抗组胺类药物，是对中枢神经系统有抑制作用的镇定剂，临床上可用于镇吐、抗晕眩、晕动症以及镇静催眠，以及腹泻、哮喘、食物过敏等症状的治疗。在饲料中添加此类药物，不但可间接起到催肥作用，还能降低动物在运输过程中的死亡率。吩噻嗪类的镇定剂可引起过敏反应，对人的内分泌、运动和循环等系统以及肝脏

器官造成不良影响。我国农业部第 176 号公告规定，盐酸异丙嗪禁止在饲料和动物饮用水中使用。

当前，吩噻嗪类的镇定剂检测方法主要有酶联免疫法、高效液相色谱法、气相色谱 - 质谱法、液相色谱 - 质谱法和红外光谱法等。高效液相色谱 - 串联质谱 (LC-MS/MS) 法由于具有检测灵敏度高、结果选择性好的特点，已成为食品类复杂基质中痕量物质检测的主流方法。本文基于岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用技术，建立了测定牛肉中异丙嗪残留量的方法。该方法样品前处理过程简单，且准确度高，可用于牛肉中异丙嗪残留量的快速测定，供相关检测人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8045 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_{5R}

输液泵：LC-30AD×2

自动进样器：SIL-30AC

柱温箱：CTO-20AC

检测器：LCMS-8045

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 2 μm)，P/N：227-30001-04，岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A相 -0.1% 甲酸水溶液；B相 - 乙腈

流速：0.4 mL/min

进样体积：2 μL

柱温：30℃

洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为 35%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
1.20	Pumps	Pump B Conc.	35
3.70	Pumps	Pump B Conc.	90
4.50	Pumps	Pump B Conc.	90
4.60	Pumps	Pump B Conc.	35
6.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI +

接口电压: 4.0 kV

雾化气流速: 氮气 3.0 L/min

加热模块温度: 400 °C

脱溶剂管温度: 250 °C

MRM 参数: 见表 2

接口温度: 350 °C

加热气: 空气 10 L/min

干燥气流速: 氮气 10 L/min

碰撞气: 氩气 270 kPa

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

驻留时间: 100 ms

表 2 MRM 参数

化合物	英文名称	CAS No.	监测离子对	Q1 pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
异丙嗪	Promethazine	58-33-3	285.2>198.1*	-14.0	-21.0	-22.0
			285.2>240.1	-14.0	-16.0	-18.0

* 表示定量离子

1.3 样品前处理方法

参照市场监管总局发布的食品补充检验方法《BJS 202005 畜肉及内脏中异丙嗪的测定》。

1.4 基质校准曲线的制备

取阴性试样 2 g (准确至 ±0.02 g) 于 50 mL 离心管, 按 1.3 样品前处理方法操作后获得空白试样的基质溶液。精密量取标准工作液适量, 用空白试样基质溶液配制成为分别 0.5、1.0、2.0、5.0、10、20 ng/mL 的系列标准工作液, 上机测定。以定量特征离子质量色谱峰面积为纵坐标, 标准溶液浓度为横坐标, 绘制校准曲线。

结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

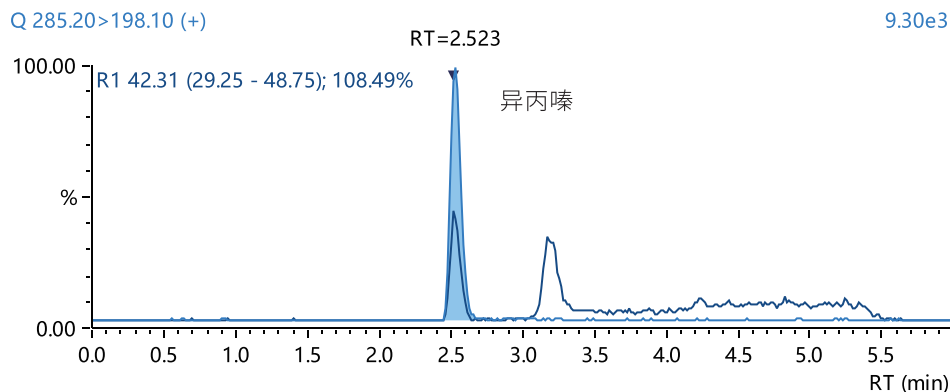


图 1 异丙嗪 (1 ng/mL) 的 MRM 图谱

2.2 线性范围与检出限

将不同浓度的异丙嗪基质匹配标准工作液，按照 1.2 中的分析条件进行测定，使用外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 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。

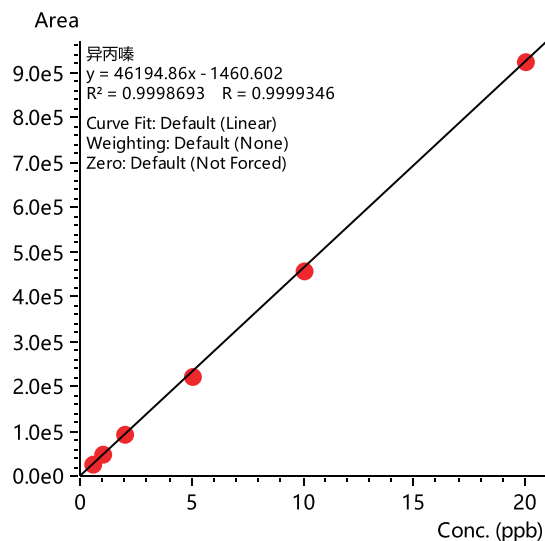


图 2 异丙嗪的校准曲线

表 3 校准曲线与检出限信息

化合物	校准曲线	r	线性范围 (ng/mL)	准确度 (%)	检出限 (ng/mL)
异丙嗪	$Y = (46194.9)X + (-1460.60)$	0.9999	0.5~20	96.7% ~ 113.1%	0.17

2.3 精密度实验

对不同浓度的异丙嗪基质标准工作液连续测定 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：不同浓度样品溶液中异丙嗪的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.09% ~ 0.18% 和 0.87% ~ 1.36% 之间，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)

化合物	Conc.(ng/mL)	RSD% (R.T.)	RSD% (Area)
异丙嗪	2	0.18	1.36
	5	0.09	0.91
	10	0.13	0.87

2.4 加标回收率实验

准确称取 2 g 阴性试样，加入少量异丙嗪的标准工作溶液，使得异丙嗪的加标浓度分别为 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。加标样品经过 1.3 样品前处理操作后，测得异丙嗪的加标回收率在 80.6% ~ 84.1% 之间，加标回收率结果见表 5。

表 5 异丙嗪的加标回收率结果 (n=3)

化合物	加标水平 (µg/kg)	平均回收率 (%)
异丙嗪	4	81.1
	7	84.1
	10	80.6

■ 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用同时测定牛肉中异丙嗪残留量的方法。使用外标法定量, 异丙嗪在 0.5 ng/mL~20 ng/mL 浓度范围内峰面积与其质量浓度线性关系良好, 所得校准曲线线性相关系数均在 0.999 以上, 各校准点准确度在 96.7% ~ 113.1% 之间, 且精密度和回收率实验结果良好。方法学结果表明, 本方法操作简便, 且准确度高, 可用于牛肉中异丙嗪残留量的快速测定。

岛津应用云

