

LCMSMS 测定猪尿中巴氯酚残留

LCMSMS-565

摘要：本文建立了使用岛津超高效液相色谱三重四极杆质谱联用测定猪尿中巴氯酚残留量的方法，该方法可在 8 min 内完成对待测物的检测。巴氯酚在 0.1 $\mu\text{g/L}$ ~50.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好，校准曲线线性相关系数 r 在 0.999 以上，且精密度和回收率实验结果良好。该方法灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于猪尿中的巴氯酚残留的快速检测。

关键词：三重四极杆质谱 猪尿 巴氯酚

巴氯酚 (Baclofen)，化学名 4-氨基-3-(4-氯苯基)-丁酸 (结构式见图 1)，是一种人用处方药，广泛应用于痉挛症的治疗，也是一种中枢神经镇静剂。研究表明，它具有安定、抗惊厥、促进生长激素分泌等作用。在动物上非法使用，具有抗热应激、增加采食量、促进动物生长及提高瘦肉率等功效。目前，巴氯酚并未被批准为饲料添加剂使用，动物性食品中的巴氯酚残留将对消费者造成较大危害。

本文参照国家标准检测方法《猪尿中巴氯酚残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》征求意见稿，试料中残留的巴氯酚，经酸化、提取，固相萃取柱净化，液相色谱-串联质谱法测定，内标法定量。此方法可

从养殖源头监测兽药残留情况，另外具有灵敏度高，分析时间短，结果准确的特点，可应用于猪尿中的巴氯酚检测。

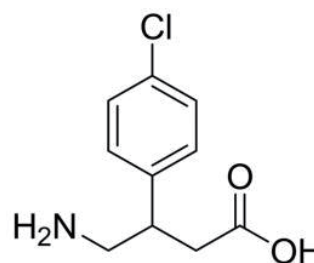


图 1 巴氯酚的结构式

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 X3 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为：

系统控制器：SCL-40

自动进样器：SIL-40C X3

输液泵：LC-40BX3

质谱仪：LCMS-8050

柱温箱：CTO-40S

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99

在线脱气机：DGU-405

1.2 分析条件

液相条件

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

流动相：A 相 -0.1% 甲酸水溶液，B 相 - 甲醇

流速：0.25 mL/min

柱温：35 $^{\circ}\text{C}$

进样体积：5 μL

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 20%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
3.00	Pumps	Pump B Conc.	50
4.00	Pumps	Pump B Conc.	90
4.50	Pumps	Pump B Conc.	90
5.00	Pumps	Pump B Conc.	20
8.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源：ESI，正离子模式

离子源接口电压：0.5 kV

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 10 L/min

加热气：空气 10 L/min

碰撞气：氩气 (230 kPa)

DL 管温度：250°C

加热模块温度：400°C

接口温度：300°C

扫描模式：多反应监测 (MRM)

MRM 参数：见表 2

表 2 MRM 参数

化合物名称	英文名称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
巴氯酚	Baclofen	1134-47-0	214.0	151.0	-16	-18	-29
				179.0	-16	-14	-18
巴氯酚 -D4	D4- Baclofen	/	218.0	155.1	-16	-19	-30

* 表示定量离子

■ 标准品溶液的配制及样品前处理

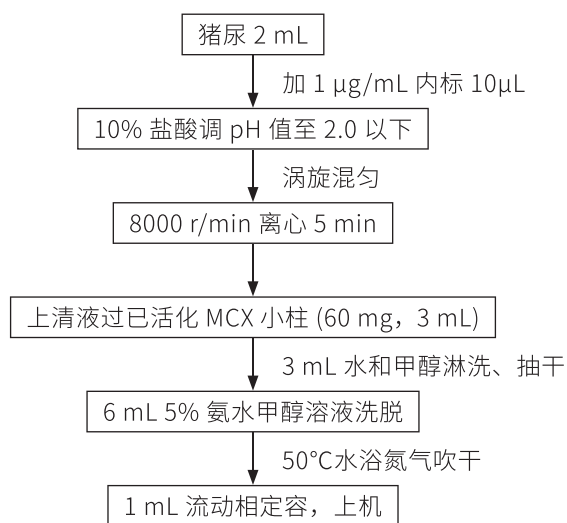
标准工作溶液配制：

巴氯芬标准贮备液 (1 mg/mL)：取巴氯芬标准品约 10 mg，精密称定，于 10 mL 容量瓶中，加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 1 mL 使溶解，用甲醇稀释至刻度。

巴氯芬 -D4 贮备液 (1 mg/mL)：取巴氯芬 -D4 对照品约 10mg，精密称定，于 10 mL 容量瓶中，加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 1 mL 使溶解，用甲醇稀释至刻度。

混合标准工作液：分别精密量取巴氯芬和巴氯芬 -D4 溶液适量，用 0.2% 甲酸 - 乙腈溶液 (8:2) 配制成含巴氯芬 -D4 10 ng/mL，含巴氯芬分别为 1.0、2.0、5.0、10.0、25.0 和 50.0 ng/mL 的系列混合标准工作液。

样品前处理：



■ 结果与讨论

3.1 巴氯酚标准溶液谱图

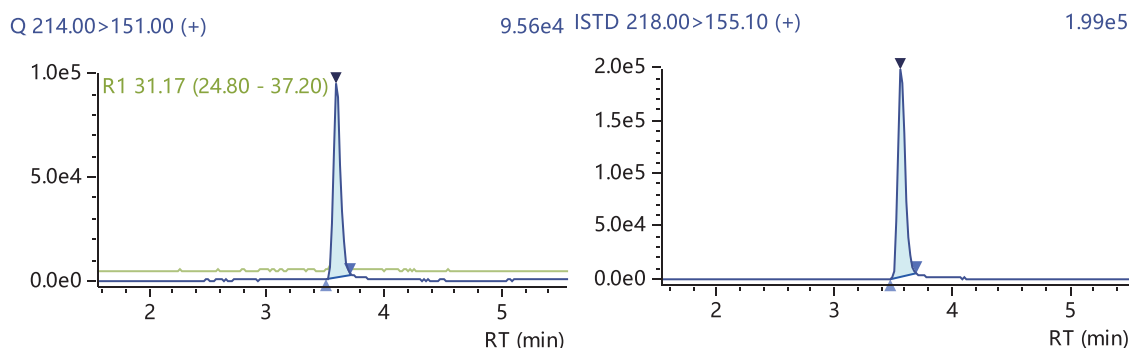


图2 1 ng/mL 巴氯酚标准品溶液质量色谱图 (内标巴氯酚-D4 10 ng/mL)

3.2 线性关系

将 1.0、2.0、5.0、10.0、25.0 和 50.0 ng/mL 的系列混合标准工作液 (内标 10 ng/mL) 按 1.2 中的分析条件进行测定, 内标法定量。以浓度比为横坐标, 峰面积比为纵坐标, 绘制校准曲线如图 3 所示; 所得校准曲线线性关系良好, 线性方程为 $Y = (0.4619613)X + (-0.03947536)$, 相关系数 $R^2 = 0.9994$, 准确度在 95.8~117.4% 之间。

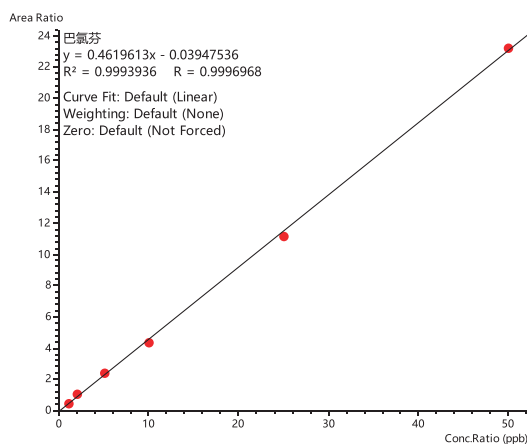


图3 巴氯酚校准曲线

3.3 精密度

对 1 $\mu\text{g/L}$ 、10 $\mu\text{g/L}$ 和 50 $\mu\text{g/L}$ 三个浓度标准工作液连续测定 6 次, 考察仪器精密度。结果显示: 不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05%~0.07% 和 0.40%~2.84% 之间, 仪器精密度良好。

表3 巴氯酚保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

Conc. ($\mu\text{g/L}$)	RSD% (R.T.)	RSD% (Area)
1.0	0.06	2.84
10.0	0.07	0.40
50.0	0.05	1.30

3.4 专属性和灵敏度

图 4 和图 5 分别为空白样品和 0.05 $\mu\text{g/L}$ 巴氯酚 MRM 色谱图, 可见空白样品无干扰。根据检出限 $\text{MDL} = 3.3 \text{ S/N}$, 定量限 $\text{LOQ} = 10 \text{ S/N}$ 计算检出限和定量限, 分别为 8.21 和 24.9 ng/L。

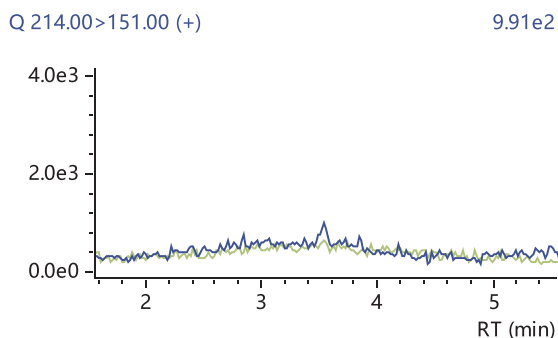


图4 空白样品 MRM 色谱图

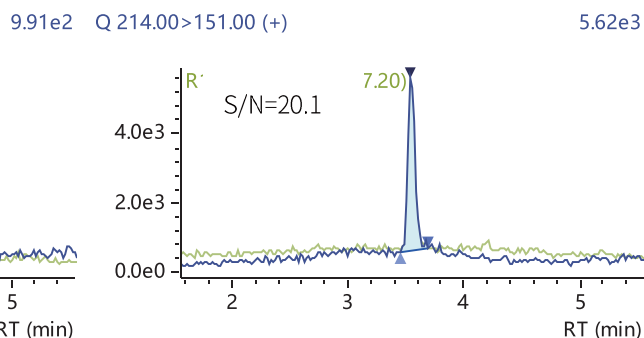


图5 0.05 µg/L 巴氯酚标样 MRM 色谱图

3.5 回收率

取空白猪尿样品 2 mL，加入少量巴氯酚标准工作液，使加标浓度为 1、5 和 25 ng/mL，样品经提取与净化后，按照 1.2 中的分析条件测定巴氯酚的加标回收率，平行测定 3 次。巴氯酚的回收率在 99.5~109.4% 之间，具体结果见表 4。

表 4 巴氯酚回收率结果 (n=3)

加标浓度 (ng/mL)	回收率 (%)	RSD (%)
1.0	99.5	5.13
5	105.3	3.13
25	109.4	2.60

■ 结论

依据国家标准《猪尿中巴氯酚残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》征求意见稿，建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪测定猪尿中巴氯酚残留的方法。猪尿经提取和净化后，用超高效液相色谱 LC-40 进行分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 进行定性和定量分析。巴氯酚在 1 µg/L~50 µg/L 浓度范围内线性良好；对不同浓度的标准工作液连续测定 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05%~0.07% 和 0.40%~2.84% 之间。添加浓度为 1、5 和 25 ng/mL 尿液样品，回收率在 99.5~109.4% 之间。本方法操作简单，可用于猪尿中巴氯酚的快速高灵敏度检测。

岛津应用云

