

# LCMS-8045 分析饲料中 9 种 $\alpha$ -受体激动剂

## 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，建立了动物源性食品中可乐定等 9 种  $\alpha$ -受体激动剂的测定方法。饲料样品经用乙腈提取，SHIMSEN Styra MCX 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  $\geq 0.990$ ，50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  加标回收率在 67.4% ~ 120.9% 之间，相对标准偏差 (RSD)  $< 3.59\%$ 。该方法可用于饲料中  $\alpha$ -受体激动剂的定量。

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

$\alpha$ -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逐步引起公众的关注，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  $\alpha$ -受体激动剂均禁止用于畜禽养殖，且不得检出。农业农村部

197-5-2019 号公告《饲料中可乐定等 7 种  $\alpha$ -受体激动剂的测定 液相色谱 - 串联质谱法》，规定了可乐定、赛拉嗪、美托米啉、胍那苄、利美尼定、胍法新、替扎尼定在饲料中的含量测定方法。

本文在 197-5-2019 公告基础上，增加了溴莫尼定、安普乐定两种  $\alpha$ -受体激动剂，使用 LCMS-8045 的建立了饲料中 9 种  $\alpha$ -受体激动剂的测定方法。该方法快速、稳定，适合饲料相关行业。

## ■ 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。具体配置如下

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-0.2% 甲酸水溶液 流动相 B- 乙腈

流速：0.3 mL/min

柱温：40  $^{\circ}\text{C}$

进样量：5  $\mu\text{L}$

洗针模式：R0+R3，R0 为甲醇 / 水 = 1:1，R3 为甲醇 / 乙腈 / 异丙醇 / 水 = 1:1:1:1(含 0.1% TFA)

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 20%，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-8045

离子源: ESI<sup>+</sup>(1.5 kV)

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

加热模块温度: 300 °C

DL 温度: 150 °C

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	可乐定	Clonidine	230.20	213.00*	-25
			230.20	160.00	-36
			221.20	90.00*	-23
2	赛拉嗪	Xylazine	221.20	147.10	-24
			221.20	164.00	-26
3	美托米啉	Dexmedetomidine	201.30	68.00*	-35
			201.30	95.10	-19
			231.20	85.10	-16
4	胍那苄	Guanabenz	231.20	171.90*	-23
			231.20	136.00	-32
5	利美尼定	Limenedine	181.30	67.10*	-22
			181.30	95.10	-14
			246.20	159.00	-30
6	胍法新	Guanfacine	246.20	60.10*	-17
			246.20	122.90	-47
7	替扎尼定	Tizanidine	254.20	44.10*	-27
			254.20	209.80	-29
8	溴莫尼定	Brimonidine	292.20	212.10*	-29
			292.20	170.10	-42
9	安普乐定	Apraclonidine	245.20	174.10*	-27
			245.20	208.50	-25

\* 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,  $C_9H_{10}Cl_3N_3$ , CAS:73218-79-8)、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；盐酸右美托米啉 (Dexmedetomidine hydrochloride,  $C_{13}H_{17}ClN_2$ , CAS:145108-58-3)，购自南京泽和医药科技有限公司；盐酸胍法新 (Guanfacine hydrochloride,  $C_9H_{10}Cl_3N_3O$ , CAS: 29110-48-3)，含量 $\geq 99.52\%$ ，购自 CFW LABORATORIES 公司；胍那苄 (Guanabenz,  $C_8H_8Cl_2N_4$ , CAS: 5051-62-7)，购自上海陶素生化科技有限公司；磷酸利美尼定 (Rilmenidine phosphate,  $C_{10}H_{19}N_2O_5P$ , CAS: 85409-38-7) 含量 $\geq 97\%$ ，购自凯立德生物医药技术有限公司。

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。

### 1.4 样品及标准曲线配制

#### 1.4.1 样品制备

参考农业农村部 197-5-2019 号公告《饲料中可乐定等 7 种  $\alpha$ -受体激动剂的测定 液相色谱-串联质谱法》前处理方法：取试料 2 g (准确至  $\pm 1mg$ )，于 50 mL 离心管中，加 20 mL 甲醇/0.2% 甲酸水 (9: 1, v/v) 提取液，涡旋混匀，振荡 20 min，于 8000 r/min 离心 10 min，取上清液。

SHIMSEN Styra MCX(岛津(上海)实验器材有限公司 P/N: 380-00853-01) 固相萃取柱依次用甲醇、水各 3 mL 活化。取备用液 2 mL 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，1.0 mL 流动相初始溶液复溶，过 0.22  $\mu m$  尼龙滤膜，上机。

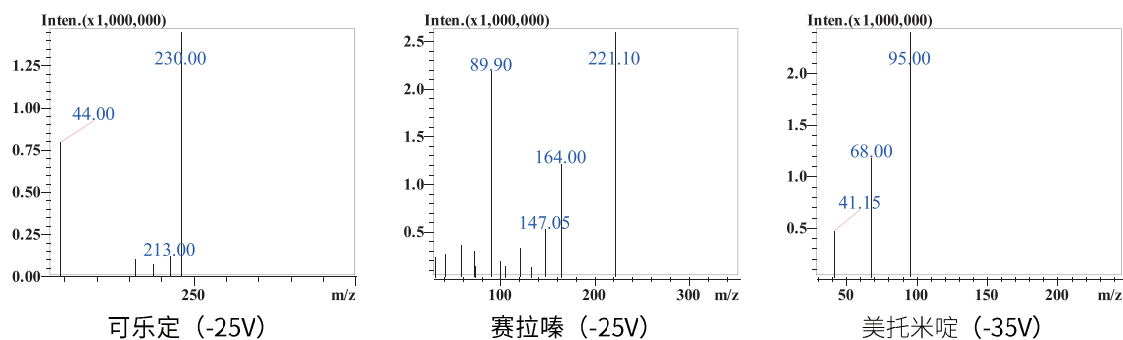
#### 1.4.2 标准曲线制备

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、和 50  $\mu g/L$  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  $\mu g/L$  混标溶液进样分析，采用产物离子扫描模式确认可乐定等 9 种  $\alpha$ -受体激动剂的碎片离子，如下图所示，产物离子清晰可辨。对空白溶剂和 0.5  $\mu g/L$  混标溶液分析，MRM 色谱图如图 2 所示，空白溶剂无干扰，且 9 种  $\alpha$ -受体激动剂在 4 min 内实现了良好分离。



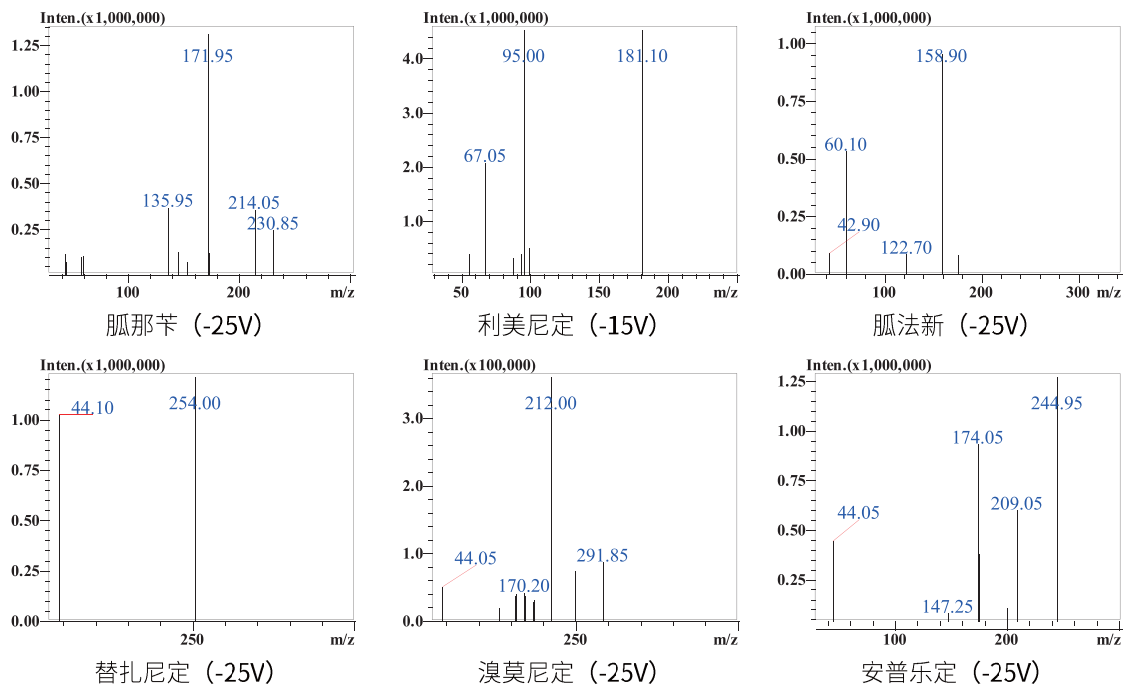


图 1 9种  $\alpha$ -受体激动剂 MS<sup>2</sup> 质谱图

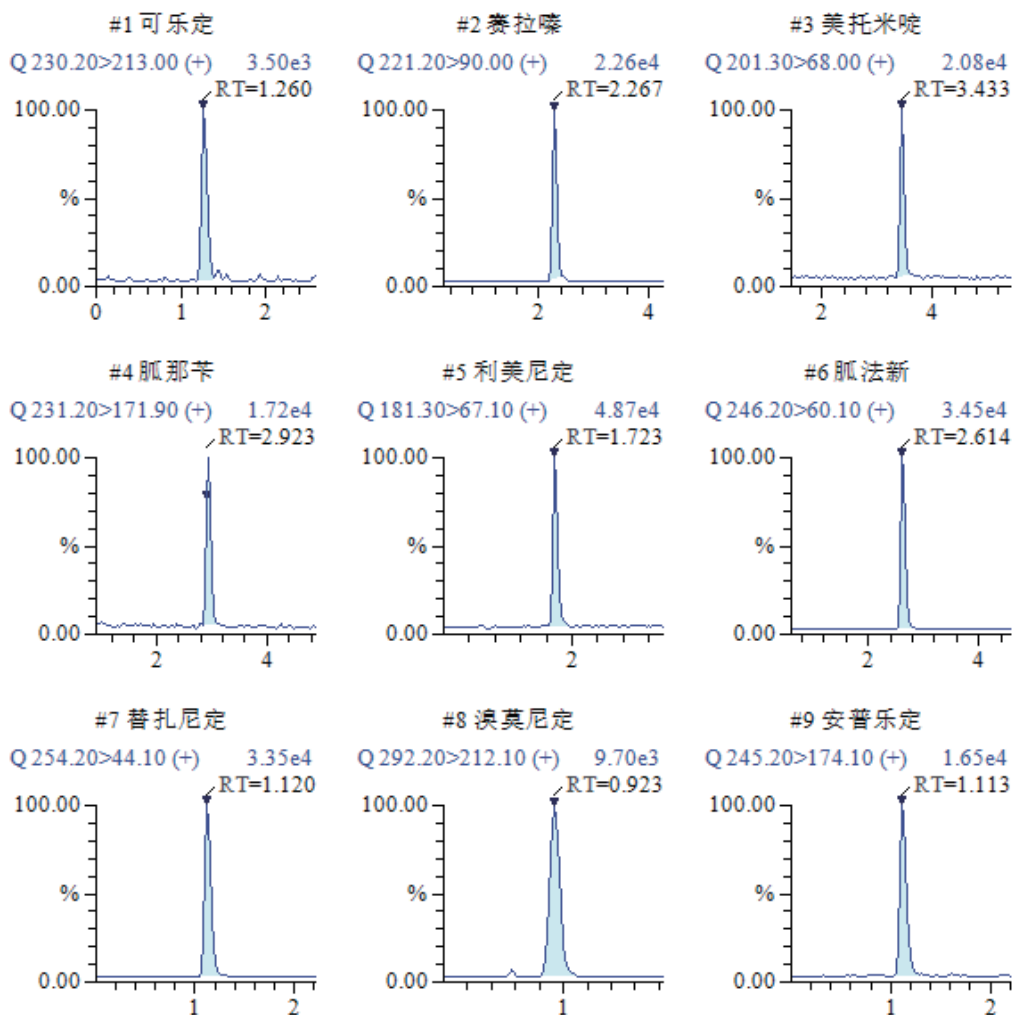


图 2 0.5 µg/L 混标色谱图

## 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，可乐定等 5 种目标物在 0.5-50  $\mu\text{g/L}$  范围内，线性良好，线性相关系数均  $\geq 0.990$ 。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 1.45  $\mu\text{g/kg}$ ，满足测定需求。

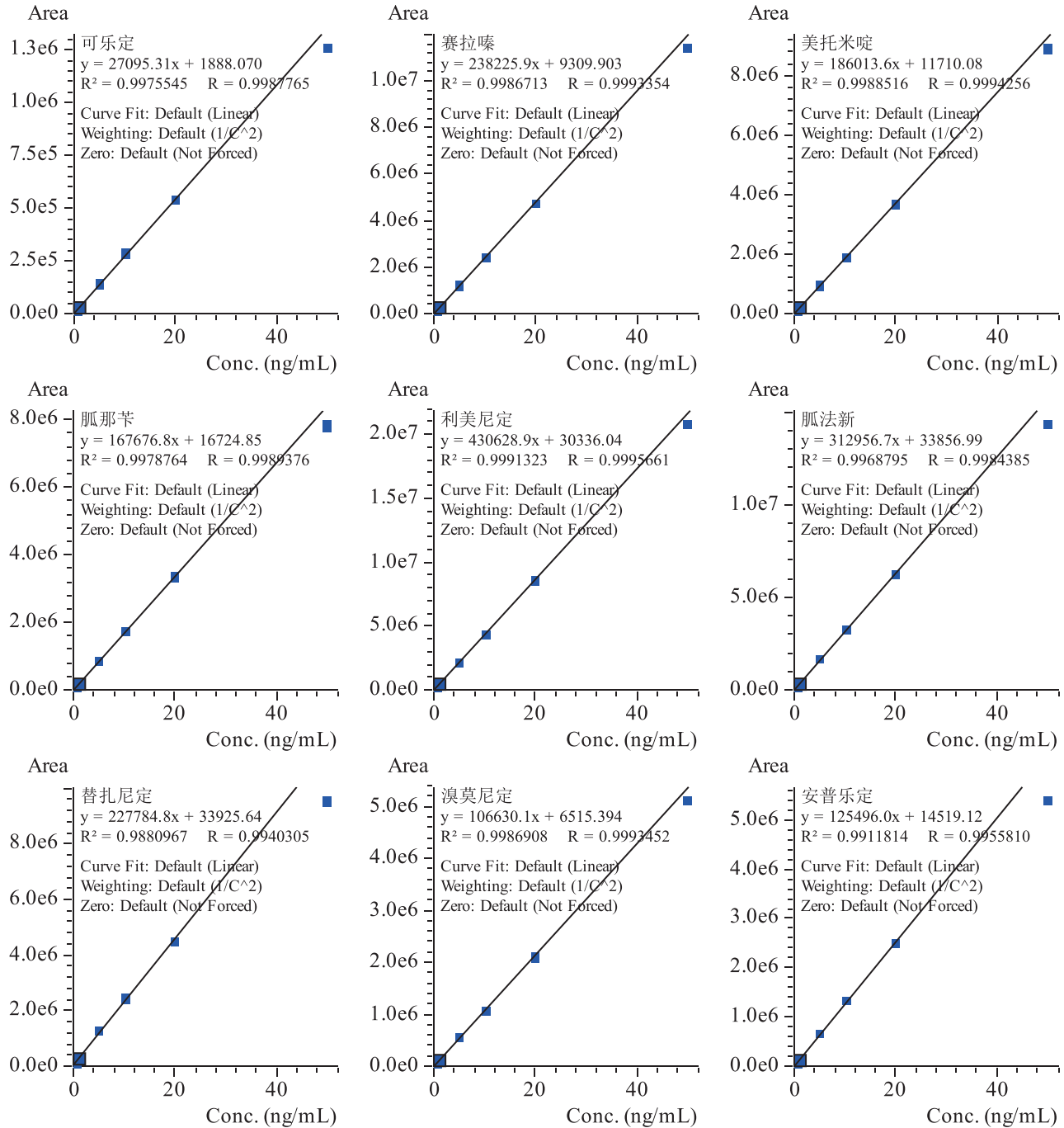


图 3 标准曲线

表 3 标准曲线、检出限及定量限

序号	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)
1	可乐定	$Y = (27095.3)X + (1888.07)$	0.999	92.89 -106.8	0.5	1.45
2	赛拉嗪	$Y = (238226)X + (9309.90)$	0.999	93.04 -105.22	0.05	0.1
3	美托米啉	$Y = (186014)X + (11710.1)$	0.999	95.48 -103.63	0.2	0.55
4	胍那苳	$Y = (167677)X + (16724.9)$	0.999	92.6 -105.18	0.2	0.6
5	利美尼定	$Y = (430629)X + (30336.0)$	1.000	95.95 -103.97	0.1	0.35
6	胍法新	$Y = (312957)X + (33857.0)$	0.998	91.36 -106.47	0.02	0.05
7	替扎尼定	$Y = (227785)X + (33925.6)$	0.994	83.21 -109.91	0.1	0.25
8	溴莫尼定	$Y = (106630)X + (6515.39)$	0.999	95.74 -105.04	0.005	0.02
9	安普乐定	$Y = (125496)X + (14519.1)$	0.996	85.73 -107.04	0.1	0.3

### 2.3 重复性考察

对 1 μg/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<0.6%，峰面积的 RSD<3.59%。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	可乐定	0.55	3.58
2	赛拉嗪	0.37	3.13
3	美托米啉	0.40	2.75
4	胍那苳	0.48	2.34
5	利美尼定	0.49	1.40
6	胍法新	0.46	2.26
7	替扎尼定	0.45	1.21
8	溴莫尼定	0.45	1.99
9	安普乐定	0.38	2.28

### 2.4 加标回收率考察

在空白饲料样品上进行 50 μg/kg 的加标回收试验，平行 3 份。结果见表 5，可乐定等 5 种目标物平均回收率在 67.4% ~ 120.9% 之间，RSD 均 <3.5%。满足测定需要。

表 5 饲料加标回收率结果

序号	中文名称	加标浓度 (50 μg/kg)	
		加标回收率 /%	重复性 /%
1	可乐定	112.0	3.46
2	赛拉嗪	105.2	1.93
3	美托米啉	120.9	0.64
4	胍那苳	109.4	1.86
5	利美尼定	72.1	1.23
6	胍法新	108.2	0.30
7	替扎尼定	94.4	1.35

8	溴莫尼定	67.4	0.70
9	安普乐定	97.4	2.12

## ■ 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，建立了饲料中 9 种  $\alpha$ -受体激动剂测定方法。方法定量限均低于 1.45  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，线性良好，线性相关系数均  $\geq 0.990$ ，50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  加标回收率在 67.4% ~ 120.9% 之间。该方法灵敏度高、准确，可供相关行业参考。

岛津应用云

