

LCMS-8045 测定猪肉中赛庚啶和可乐定

LCMSMS-459

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赛庚啶和可乐定分析方法。参考《GB 31660.7—2019 猪组织和尿液中赛庚啶和可乐定残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》食品安全国家标准，猪肉样品经酸性乙腈提取，氮吹浓缩，流动相初始比例溶液复溶，液相色谱 - 串联质谱测定，内标法定量。结果显示赛庚啶和可乐定线性良好，标准曲线相关系数均 ≥ 0.995 ，1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度的加标回收率在 70.6 ~ 97.6% 之间，加标回收率相对标准偏差 (RSD) $<5.6\%$ 。该方法可满足猪肉样品中赛庚啶和可乐定的定性定量测定。

关键词： LCMS-8045 兽药残留 猪肉 可乐定 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。可乐定是一种 α_2 -受体激动剂，属于咪唑啉衍生物，在临床上，具有显著促进激素水平升高的作用，在畜禽养殖中使用可促进腺垂体生长激素分泌，提高生长性能，改善胴体品质。这两种化合物是市场上发现的新型违禁添加物。

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。2019年10月发布了《GB 31650-2019 食品中兽药最大残留限量》，将“不再收载禁止药物及化合物清单”，2020年4月1日起执行。这表明，赛庚啶和可乐定均不得用于动物养殖，且不应在动物性产品中检出。

本文参考《GB 31660.7—2019 猪组织和尿液中赛庚啶和可乐定残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》食品安全国家标准，建立了基于岛津 LCMS-8045 的猪肉中赛庚啶和可乐定的测定方法。该方法快速、稳定，适合动物性食品中赛庚啶和可乐定的测定。

■ 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-8045。具体配置为 LC-20AD_{XR}×2（输液泵），DGU-20A_{5R}（在线脱气机），SIL-20ACMP（自动进样器），CTO-20AC（柱温箱），CBM-20A 系统控制器，LCMS-8045 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：Shimadzu Shim-pack Velox C18（100 mm×2.1 mm I.D., 1.8 μm ）

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

流动相：流动相 A-0.1% 甲酸水溶液 流动相 B- 乙腈

流速：0.3 mL/min

柱温：40°C

进样量：2 μL

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
4.00	Pumps	Pump B Conc.	60
4.50	Pumps	Pump B Conc.	95
5.50	Pumps	Pump B Conc.	95
5.60	Pumps	Pump B Conc.	20
8.00	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器：LCMS-8045

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	赛庚啉	288.20	191.00*	-13.0	-30.0	-19.0
			215.00	-14.0	-51.0	-20.0
2	二苯拉林 (内标)	282.20	116.10	-12.0	-32.0	-11.0
3	可乐定	230.10	159.80*	-19.0	-37.0	-28.0
			213.00	-16.0	-23.0	-21.0
4	可乐定 -D4 (内标)	234.10	216.90	-11.0	-26.0	-22.0

* 定量离子对

1.3 标准品及试剂

标准品：盐酸赛庚啉 (Cyproheptadine hydrochloride, $C_{21}H_{21}N \cdot HCl$, CAS 号 :969-33-5)、盐酸可乐定 (Clonidine hydrochloride, $C_9H_{10}Cl_3N_3$, CAS 号 :4205-91-8)：含量均 $\geq 98.0\%$ ，购自中检院。盐酸二苯拉林 (Diphenylpyraline, $C_9H_{13}NO \cdot HCl$, CAS 号 :61-76-7)、盐酸可乐定 -D4 (Clonidine-D4 hydrochloride, $C_9H_6D_4Cl_3N_3$)：含量均 $\geq 98\%$ ，购自 TRC 公司。

试剂：WondaSep C18 粉末，购自岛津实验器材有限公司 (SGLC)，室温保存。

乙腈：色谱级，室温保存。

实验用水：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《GB 31660.7—2019 猪组织和尿液中赛庚啉和可乐定残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》标准前处理方法：取试料 2 g (准确至 ± 20 mg)，于 50 mL 离心管中，加 50 μ L 混合内标工作液，加 C18 粉 0.5 g，振荡混匀，加 1% 甲酸乙腈 10 mL，充分振荡，于 8000 r/min 离心 5 min，取上清液，于离心管中，50°C 水浴氮气吹干。加流动相初始比例溶液 1.0 mL 使溶解，0.22 μ m 滤膜滤过，液相色谱 - 串联质谱仪测定。

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、盐酸可乐定、盐酸二苯拉林和盐酸可乐定-D4 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、盐酸可乐定、盐酸二苯拉林和盐酸可乐定-D4 标准贮备液。4°C 下保存，有效期 6 个月。

1.4.2.2 混合标准工作液 (10 µg/mL)

分别精密量取盐酸赛庚啉和盐酸可乐定标准贮备液各 1 mL，于 100 mL 量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，制成浓度为 10 µg/mL 的盐酸赛庚啉和盐酸可乐定标准工作液。4°C 下保存，有效期 3 个月。

1.4.2.3 混合内标中间液

分别精密量取盐酸二苯拉林储备液 100 µL、盐酸可乐定-D4 储备液 1 mL，于 100 mL 量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配制成含盐酸二苯拉林 1 µg/mL 和盐酸可乐定-D4 10 µg/mL 的混合内标中间液。于 4°C 下保存，有效期 1 个月。

1.4.2.4 混合内标工作液

精密量取混合内标中间液 1 mL，于 10 mL 量瓶中，用乙腈-0.1%甲酸溶液稀释至刻度，配制成含盐酸二苯拉林 100 ng/mL 和盐酸可乐定-D4 1 µg/mL 的混合内标工作液，临用现配。

1.4.2.5 标准曲线制备

精密量取混合标准工作液和混合内标工作液适量，用乙腈-0.1%甲酸溶液稀释成赛庚啉和可乐定浓度为 0.5、1、5、10、50 和 100 µg/L 系列混合标准工作液，其中含盐酸二苯拉林的浓度和盐酸可乐定-D4 的浓度分别为 5 µg/L 和 50 µg/L，临用现配。

■ 结果讨论

2.1 标品质谱图与色谱图

对 100 µg/L 混标溶液进行分析，采用产物离子扫描模式确认赛庚啉、可乐定及其内标的碎片离子，如下图所示。对空白溶剂和 0.5 µg/L 混标溶液分析，MRM 色谱图如图 2 所示，色谱响应高，空白溶剂无干扰，赛庚啉和可乐定在 4.5 min 内实现了良好分离。

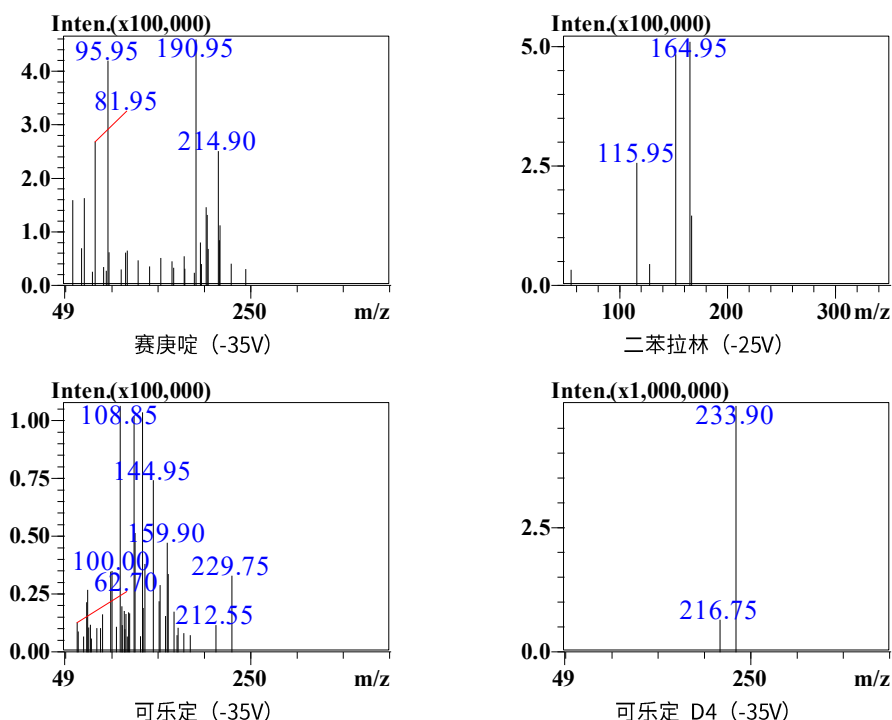


图 1 赛庚啉和可乐定及相应内标 MS2 质谱图

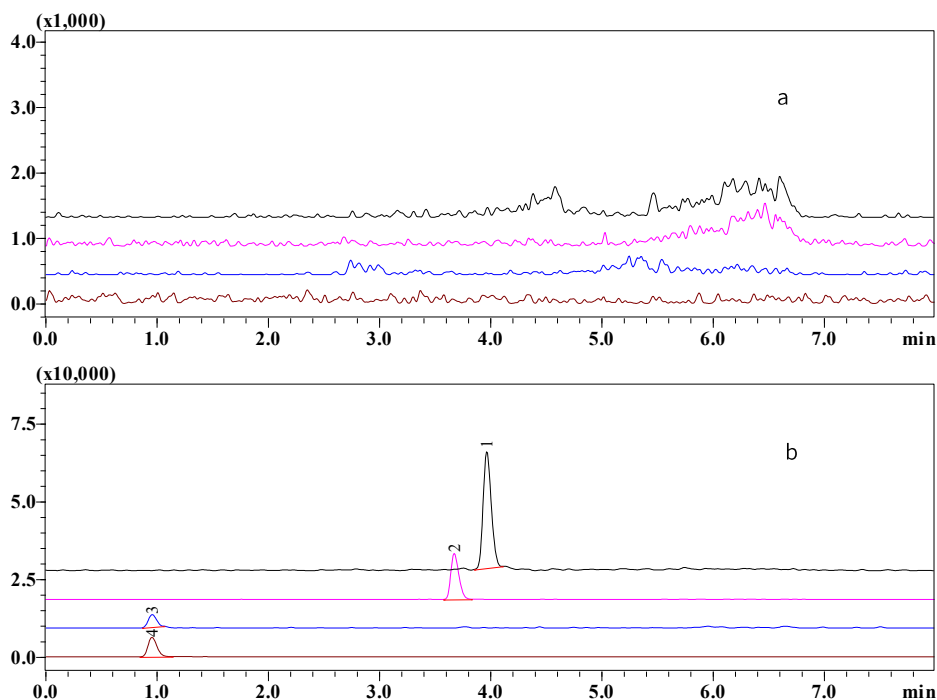


图2 空白溶剂 (a)、0.5 µg/L 混标 (b) 色谱图 (1、赛庚啉, 2、二苯拉林, 3、可乐定, 4、可乐定 -D4)

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, 以面积比为纵坐标, 浓度比为横坐标, 进行线性拟合。结果如表 3 所示, 赛庚啉及可乐定在 0.5-100 µg/L 范围内, 线性良好, 线性相关系数均 > 0.995。以 0.5 µg/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 0.5 µg/kg, 完全满足标准要求。

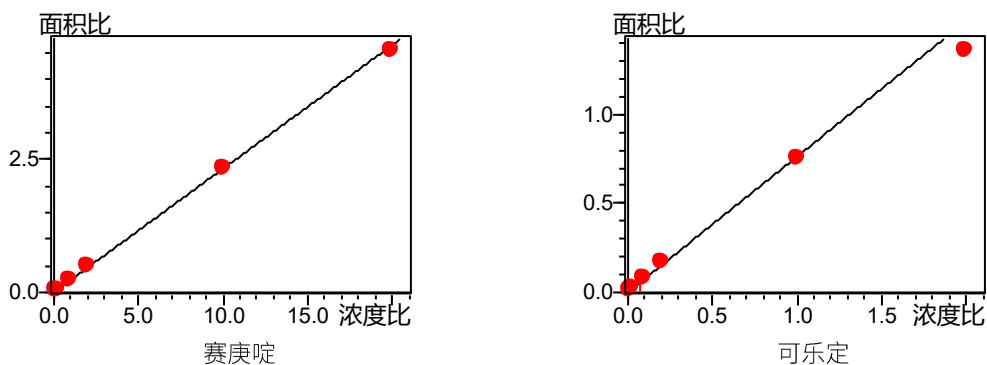


图3 赛庚啉和可乐定标准曲线

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	$Y = (0.232364)X + (0.004906)$	0.999	96.7-104.7	0.01	0.03
可乐定	$Y = (0.760552)X + (0.00230698)$	0.997	90.4-108.2	0.12	0.36

2.3 重复性考察

对 5 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，赛庚啉、可乐定的保留时间 RSD< 0.2%，峰面积的 RSD< 4.1%。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	赛庚啉	0.08	0.81
2	二苯拉林(内标)	0.10	0.75
3	可乐定	0.19	4.05
4	可乐定-D4(内标)	0.12	1.17

2.4 加标回收率考察

在空白猪肉样品上进行低、高水平 (1 µg/kg、10 µg/kg) 的加标回收试验，每个浓度平行 3 次。结果见表 5，赛庚啉及可乐定平均回收率在 70.6 ~ 97.6% 之间，RSD 均小于 5.6%。

表 5 猪肉加标回收率结果

中文名称	低水平 (1 µg/kg)		高水平 (10 µg/kg)	
	加标回收率 /%	重复性 /%	加标回收率 /%	重复性 /%
赛庚啉	70.9	1.7	70.6	4.3
可乐定	97.6	5.6	95.4	4.8

2.5 实际样品测定

取 2 份猪肉样品，各平行制备两份，上机测定，两份样品均未检出赛庚啉和可乐定，如图 4 所示。

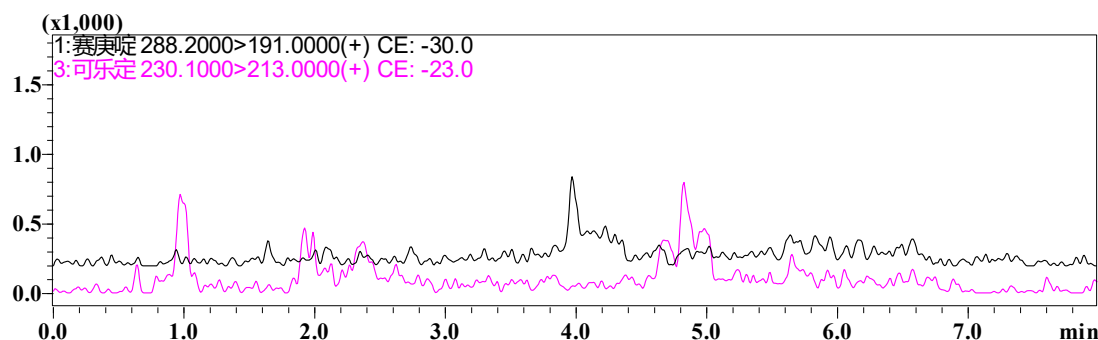


图 4 猪肉样品色谱图

■ 结论

本文使用岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱仪 LCMS-8045，参考《GB 31660.7—2019 猪组织和尿液中赛庚啉和可乐定残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》食品安全国家标准，建立了猪肉中赛庚啉和可乐定的测定方法。该方法可供相关行业参考。

岛津应用云

