

三重四极杆液质联用测定猪肉中氯丙嗪和地西洋两种镇定剂

LCMSMS-102

摘要：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-8040 联用测定猪肉中氯丙嗪和地西洋的方法。样品均质后，经乙酸乙酯提取，45℃下氮气吹干，甲醇溶解后冰箱 -18℃冷冻 10 分钟除脂，取出过滤直接进样分析。使用电喷雾离子源正模式 (ESI+)，多反应离子监测 (MRM)，以 D6-氯丙嗪为内标物，内标法定量分析。1 ng/mL 和 5 ng/mL 混合标准溶液连续 6 次进样，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07 ~ 0.21% 和 1.48 ~ 4.73% 之间，仪器精密度良好；基质加标配制工作曲线，氯丙嗪和地西洋在 0.1 ~ 50 μg/L 浓度范围内线性良好，标准曲线的相关系数 r 在 0.99 以上；方法的检出限和定量限分别为 0.03 和 0.1 ng/mL。空白猪肉基质加标结果显示氯丙嗪和地西洋在 1.0 和 5.0 μg/kg 的加标回收率数据良好，猪肉基质不干扰检测。

关键词：氯丙嗪 地西洋 猪肉 三重四极杆质谱仪

氯丙嗪和地西洋是兽医中常用的吩噻嗪类镇定剂，具有镇吐、抗晕眩和间接催肥的作用，另外可降低动物运输过程中的死亡率。该类物质脂溶性高，易蓄积于脂肪组织中，停药数周乃至半年后，仍能检出。动物源性食品中微量的吩噻嗪类残留能引起白细胞减少和粒细胞缺乏症，从而引起人体肝脏和肾脏的病变，还会引发眼部并发症等。日本的一律标准中规定地西洋和氯丙嗪均不得检出。目前动物源性食品中的氯丙嗪和地西洋检

测方法较少，大部分研究局限于法医检测，样品为血液和尿液，相对食品类样品较为干净。我国目前适用的国标为《SN/T 2113-2008 进出口动物源性食品中镇定剂类药物残留量的检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》。国标中氯丙嗪和地西洋的检测限均为 1.0 μg/kg。本文参考国标，使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用，建立了快速准确测定猪肉中氯丙嗪和地西洋的方法，供相关检测人员参考。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A5 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.50 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统
色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS II
2.0 mm I.D. × 75 mm L., 2.2 μm
流动相：A - 0.1% 甲酸，2 mM 乙酸铵水溶液；
B - 0.1% 甲酸乙腈
流速：0.4 mL/min
进样体积：5 μL

柱温：40℃

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)	B.Conc.
3.00	90
4.00	90
4.10	20
6.00	Stop

质谱条件

分析仪器：LCMS-8040
离子源：ESI，正离子扫描
离子源接口电压：4.5 kV
雾化气：氮气 3.0 L/min
干燥气：氮气 15 L/min
碰撞气：氩气

脱溶剂管温度：250℃

驻留时间：20 ms

加热模块温度：400℃

延迟时间：3 ms

扫描模式：多反应监测 (MRM)

MRM 参数：见表 2

表2MRM参数

编号	名称	英文名称	CAS	母离子	子离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	D ₆ -氯丙嗪	D ₆ -Chlorpromazine	1228182-46-4	325.10	92.20	-17	-21	-16
2	地西洋	Diazepam	439-14-5	285.10	193.10* 154.10	-15 -15	-32 -28	-19 -29
3	氯丙嗪	Chlorpromazine	69-09-0	319.10	86.20* 58.20	-17 -17	-22 -37	-15 -21

*表示定量离子

1.3 样品制备

标准溶液配制：

取适量单标储备液，用甲醇配制成 100 mg/L 的混合标准溶液，用流动相 A 逐级稀释成标准工作溶液。基质加标工作曲线由空白基质溶液配制而成。

样品前处理方法：

准确称取猪肉样品 5.0 g 于 50 mL 的离心管中，加入 100 μL 的 0.05 μg/mL D₆-氯丙嗪溶液，再加入 10 mL 乙酸乙酯，1 mL 1M 的 NaOH 水溶液。10000 转均质 2 分钟，5000 r/min 离心 10 分钟，准确吸取上层清液 1 mL 于 10 mL 玻璃试管中，用氮气在 45℃ 下吹干，再用 1 mL 甲醇，加盖涡旋 30 s，-18℃ 冷冻 5 分钟后，取出用 0.22 μm 微孔滤膜过滤除脂，进样分析。

结果讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

1 ng/mL 混合标准样品的 MRM 色谱如图 1 所示。

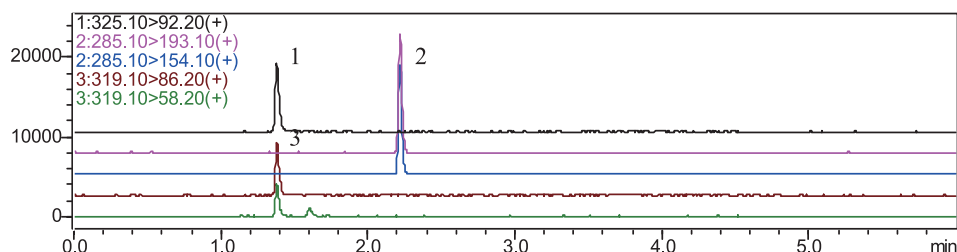


图1 1 ng/ml混合标准样品的MRM色谱图 (1、D₆-氯丙嗪;2、地西洋;3、氯丙嗪)

2.2 线性关系

配制基质加标工作曲线，地西洋和氯丙嗪加标浓度分别为 0.1、1、5、10 和 50 ng/mL，内标物 D₆-氯丙嗪的浓度为 0.5 ng/mL。按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，内标法制作校准曲线，如图 2~3 所示。地西洋和氯丙嗪线性良好。线性方程、相关系数及由软件计算得检出限和定量限见表 3。

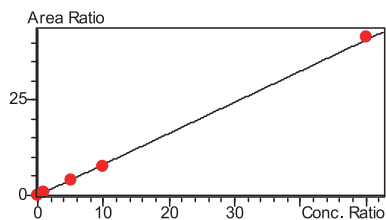


图2 地西洋的标准工作曲线

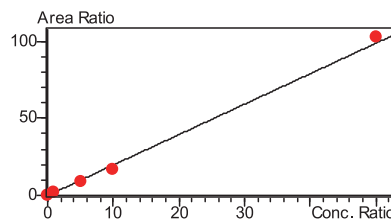


图3 氯丙嗪的标准工作曲线

表3 地西洋和氯丙嗪的校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	相关系数r	检出限(ng/ml)	定量限(ng/ml)
1	地西洋	$Y = (0.815387)X + (-0.0272927)$	0.9993	0.03	0.1
2	氯丙嗪	$Y = (1.97371)X + (-0.0414930)$	0.9976	0.03	0.1

2.3 精密度实验

对 1 ng/mL 和 5 ng/mL 混合基质加标溶液连续 6 次进样，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07 ~ 0.21% 和 1.48 ~ 4.73% 之间，仪器精密度良好。

表4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

名称	RSD% (1ng/mL)		RSD% (5 ng/mL)	
	R.T	Area	R.T	Area
地西洋	0.10	4.73	0.07	1.48
氯丙嗪	0.21	3.89	0.20	2.90

2.4 回收率考察

以空白猪肉按照 1.3 的方法进行前处理，地西洋和氯丙嗪的加标浓度分别为 1.0 μg/kg 和 5.0 μg/kg，各重复两次样品前处理，地西洋和氯丙嗪的加标回收率见表 5。猪肉空白色谱图和 1.0 μg/kg 加标猪肉色谱图见图 4~5。猪肉中基质成分不干扰地西洋和氯丙嗪的检测。

表5 加标回收率数据

回收率%	1.0μg/kg		5.0μg/kg	
地西洋	98.1	107.0	90.7	100.7
氯丙嗪	83.6	81.5	82.8	88.5

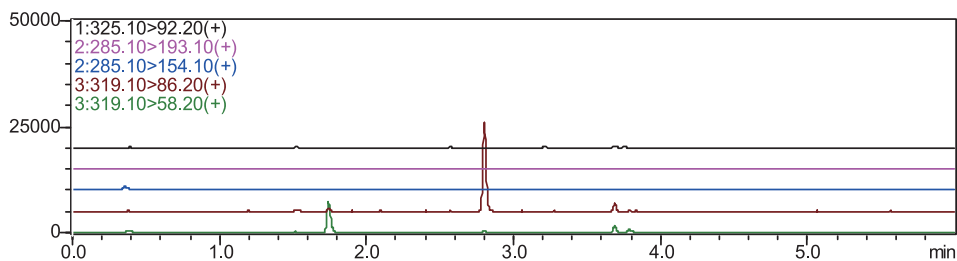


图4 基质空白样品的色谱图

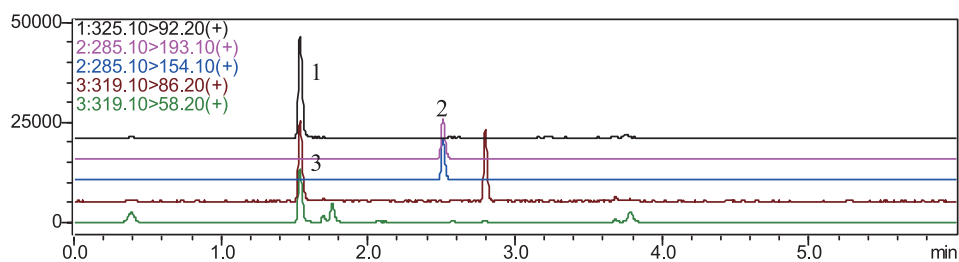


图5 基质加标样品的色谱图 (1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 1、D₆-氯丙嗪; 2、地西洋; 3、氯丙嗪)

结论

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-8040 联用内标法测定猪肉中地西洋和氯丙嗪两种镇定剂的方法。选用同位素内标 D₆-氯丙嗪内标法定量分析, 猪肉中基质成分不干扰检测。2 种镇定剂在 0.1 ~ 50 ng/mL 浓度范围内线性良好, 在 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标浓度下考察方法回收率, 基质加标回收率良好; 1 ng/mL 和 5 ng/mL 浓度下的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.07 ~ 0.21% 和 1.48 ~ 4.73% 之间, 仪器精密度良好。方法检出限满足国标要求。