

# 基质分离固相萃取-液相色谱-串联质谱法快速测定牛肉中4种 $\beta_2$ -受体激动剂类兽药残留

王莉莉<sup>1,2</sup>, 陈雪营<sup>3</sup>, 张楠<sup>1,2</sup>, 刘平<sup>1,2</sup>, 刘伟<sup>1,2</sup>, 李丽萍<sup>1,2</sup>, 吴国华<sup>1,2</sup>,  
赵榕<sup>1,2\*</sup>, 范赛<sup>1,2\*</sup>, 闫薪竹<sup>3</sup>

(1. 北京市疾病预防控制中心, 北京市预防医学研究中心, 北京 100013;  
2. 食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室, 北京 100013; 3. 上海安谱实验科技股份有限公司, 上海 201609)

**摘要:** **目的** 建立基质分离固相萃取结合液相色谱串联质谱法(liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)快速测定牛肉中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、特布他林等4种 $\beta_2$ -受体激动剂类兽药残留。**方法** 样品经葡萄糖醛苷酶/硫酸酯酶酶解、盐析后经CNW兽药定量检测分散固相萃取纯化包净化。采用LC-MS/MS电喷雾正离子模式、多反应监测采集(multiple reaction monitoring acquisition, MRM)测定。**结果** 当4种 $\beta_2$ -受体激动剂类兽药化合物空白样本加标水平在2.5、12.5、50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 回收率为95.39%~106.59%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为0.98%~13.26%。4种目标化合物的检出限为0.1~0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限为0.3~1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。针对市售66件牛肉样品中目标化合物进行检测, 结果均未检出。**结论** 与传统通过性固相萃取法相比, 兽药定量检测分散固相萃取纯化法净化效果更好, 基质效应更低。CNW兽药定量检测分散固相萃取法可用于牛肉中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、特布他林4种 $\beta_2$ -受体激动剂类兽药残留快速检测。

**关键词:**  $\beta_2$ -受体激动剂类兽药; 液相色谱-串联质谱法; CNW兽药定量检测分散固相萃取纯化包

## Rapid determination of 4 kinds of $\beta_2$ -agonist veterinary drug residues in beef by matrix separation solid phase extraction purification combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry

WANG Li-Li<sup>1,2</sup>, CHEN Xue-Ying<sup>3</sup>, ZHANG Nan<sup>1,2</sup>, LIU Ping<sup>1,2</sup>, LIU Wei<sup>1,2</sup>, LI Li-Ping<sup>1,2</sup>,  
WU Guo-Hua<sup>1,2</sup>, ZHAO Rong<sup>1,2\*</sup>, FAN Sai<sup>1,2\*</sup>, YAN Xin-Zhu<sup>3</sup>

(1. Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing Center for Prevention Medicine Research, Beijing 100013, China; 2. Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing 100013, China; 3. China Shanghai Anpu Experimental Technology Co., Ltd., Shanghai 201609, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the rapid determination of 4  $\beta_2$ -agonist veterinary drug residues in beef, including clenbuterol, ractopamine, salbutamol and terbutaline by matrix separation solid phase

\*通信作者: 赵榕, 主任技师, 主要研究方向为食品安全。E-mail: lxyue@yeah.net

范赛, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全。E-mail: fansai@163.com

\*Corresponding author: ZHAO Rong, Senior Technician, Beijing Center for Disease Prevention and Control/Beijing Center for Prevention Medicine Research/Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing, 100013 China, No.16, Hepingli, East District, Beijing 100013, China. E-mail: lxyue@yeah.net

FAN Sai, Ph.D, Professor, Beijing Center for Disease Prevention and Control/Beijing Center for Prevention Medicine Research/Key Laboratory of Diagnostic and Traceability Technologies for Food Poisoning, Beijing 100013, China, No.16, Hepingli, East District, Beijing 100013, China. E-mail: fansai@163.com

extraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Methods** The samples were hydrolyzed by gluconidase/sulfatase, salted out, purified by CNW veterinary drug quantitative detection and dispersive solid phase extraction purification method, and determined by LC-MS/MS electrospray positive ion mode and multiple reaction monitoring acquisition (MRM). **Results** When the standard levels of 4 kinds of  $\beta_2$ -agonist veterinary drug compounds in blank samples were spiked at 2.5, 12.5, and 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , the recoveries were 95.39%–106.46%, and the relative standard deviation were 0.98%–13.26%. The limits of detection of the 4 kinds of target compounds were 0.1–0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , and the limits of quantification were 0.3–1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . The target compounds were detected in 66 beef samples on the market, but the results were not detected. **Conclusion** Compared with the traditional solid-phase extraction method, quantitative determination of veterinary drugs dispersive solid phase extraction purification method has better purification effect and lower matrix effect. CNW veterinary drug quantitative detection dispersive solid-phase extraction method can be used for rapid detection of 4 kinds of  $\beta_2$ -agonist veterinary drug residues clenbuterol, ractopamine, salbutamol, and terbutaline in beef.

**KEY WORDS:**  $\beta_2$ -agonist veterinary drugs; liquid chromatography tandem mass spectrometry; CNW veterinary drug quantitative detection and dispersive solid phase extraction purification method

## 0 引言

$\beta_2$ -受体激动剂在临床上多用于人类治疗支气管哮喘等临床疾病,通过兴奋气道平滑肌细胞膜和肥大细胞膜表面的  $\beta_2$ 受体,可舒张气道平滑肌血管、增加气道上皮纤毛的摆动等缓解哮喘症状<sup>[1-3]</sup>。动物实验表明, $\beta_2$ -受体激动剂类药物能改变牲畜自身代谢方式,促使牲畜肌肉生长,可以快速分解和转化脂肪,降低脂肪沉积,提高牲畜的瘦肉率<sup>[4-5]</sup>,因此  $\beta_2$ -受体激动剂类兽药曾作为促进生长添加剂被广泛使用,其中的克仑特罗也被称作瘦肉精。但后续引发了一系列的中毒事件,人类误食  $\beta_2$ -受体激动剂高残留的动物性食品后,多产生头晕心悸等中毒反应,特别是高血压人群,严重者甚至导致死亡。欧盟和我国均立法禁止养殖业使用  $\beta_2$ -受体激动剂类药物<sup>[4-5]</sup>。但美国和加拿大等美洲国家则允许使用莱克多巴胺作为饲料添加剂应用在猪、牛等动物的养殖过程中的。随着 2016 年国家质量监督检验检疫总局第 2447 号公告,将有条件解除美国牛肉进口禁令,美国牛肉将逐步进入到我国市场,因此亟需加强对进口牛肉  $\beta_2$ -受体激动剂的监管,以保障我国居民的身体健康。

目前,  $\beta_2$ -受体激动剂检测方法很多,包括胶体金快速检测卡法、酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、液相色谱法(liquid chromatography, LC)、液相色谱串联质谱法(liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)、气相色谱质谱联用法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)等<sup>[6-10]</sup>,其中我国先后发布的国标方法就有 30 多条,如 GB/T 22286—2008《动物源性食品中多种  $\beta_2$ -受体激动剂残留量的测定 液相色谱串联质谱法》,GB/T 21313—2007《动物源性食品中  $\beta_2$ -受体激动剂残留检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》等。目前的检测方法中,酶联免疫和胶体金快速检测卡法虽然简便快速,

但假阳性和交叉反应较多,容易造成误判,气相色谱-质谱联用法虽然之前作为检测的金标准,但由于方法需要衍生,操作较为复杂,逐步被超高效液相色谱质谱联用法取代<sup>[11-17]</sup>。样品前处理的净化过程是  $\beta_2$ -受体激动剂检测方法更新的最重要的研究内容,目前较新的前处理方法多为通过式固相萃取柱法<sup>[18-24]</sup>,即样本经提取后直接过柱浓缩后进行检测,但此方法省略了必要的酶解过程,因此只能作为筛查方法,不能作为定量方法。鉴于此,本研究采用分离固相萃取技术与液相色谱串联质谱技术相结合,并对样本进行了酶解,实现了结合态  $\beta_2$ -受体激动剂转变为游离态之后的同时净化,避免了由于缺少酶解过程而造成的定量不准确的情况,提高了检测的准确性,以期满足日益开放的国内进口牛肉市场的监管需要,并且更好地保障我国居民的身体健康。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器和试剂

Thermo Scientific™TMSQ Altis™三重四极杆质谱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); T25 Basic 型均质器(美国 Sigma 公司); Thermo Scientific™Accucore™ RP-MS 柱(2.1 mm×100 mm, 2.6  $\mu\text{m}$ , 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Milli-Q 超纯水制备系统(美国 Millipore 公司); ME204 分析天平(0.0001 g, 瑞士梅特勒-托利多公司)。

分散固相萃取(dispersive solid phase extraction, dSPE)兽药定量检测专用提取包、CNWdSPE 定制兽药净化管(上海安谱实验科技股份有限公司); 去磷脂小柱(6 mL 150 mg, 某国外品牌); 乙酸铵(优级纯, 北京试剂厂);  $\beta$ -葡萄糖醛苷酶/硫酸酯酶(100000 unit/m, 美国 Sigma 公司); 乙腈(色谱纯, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

克仑特罗(clenbuterol)、莱克多巴胺(ractopamine)、沙丁胺醇(salbutamol)、特布他林(terbutaline)标准品(纯度大于

98.0%)、克伦特罗-D9、沙丁胺醇-D3、莱克多巴胺-D6、特布他林-D9(纯度大于 99.0%)(加拿大 TRC 公司)。

## 1.2 标准溶液的配制

分别准确称取克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、特布他林标准品各 0.0100 g, 于 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 为标准品储备溶液(1.0 mg/mL)于-20 °C 冰箱保存。需要时各取储备液 0.1 mL 置于 10 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇稀释 100 倍后, 制成 10 mg/L 的混合中间液。使用前将中间液以甲醇稀释配制成 1 mg/L 的混合标准液于 4 °C 冰箱保存备用。

再分别精密称取克伦特罗-D9、沙丁胺醇-D3、莱克多巴胺-D6、特布他林-D9 标准品各 0.0100 g, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为标准品储备溶液(1.0 mg/mL)于-20 °C 冰箱保存。需要时各取储备液 0.1 mL 置于 10 mL 棕色容量瓶中, 制成 10 mg/L 的混合中间液。使用前将中间液以甲醇稀释配制成 1 mg/L 的混合标准液于 4 °C 冰箱保存备用。

## 1.3 样品前处理

称取匀质样品 2.00 g 于 50 mL 离心管中, 分别加 25  $\mu$ L 100  $\mu$ g/L  $\beta_2$  受体激动剂混和内标静置 10 min。加入 10 mL 0.2 mol/L 乙酸铵(pH=5.2)溶液和 100  $\mu$ L  $\beta$ -葡萄糖醛基酶/硫酸酯酶。37 °C 下酶解过夜, 静置至室温后取出, 加入 CNW dSPE 瘦肉精等兽药定量检测专用提取包, 加入 10 mL 乙腈, 超声 5 min, 混合 30 s, 8000 r/min 离心 10 min, 转移上清液于 50 mL 离心管, 重复提取一次, 合并提取液, 用乙腈定容至 20 mL, 10 mL 酶解液过 CNW dSPE 定制兽药净化管净化。混合 30 s, 8000 r/min 离心 5 min, 取全部上清液氮吹。35 °C 氮吹至近干, 加入 1 mL 50%乙腈水定容。再取 10 mL 酶解液, 过传统固相萃取柱, 过柱后收集滤液混合 30 s。8000 r/min 离心 5 min, 取全部上清液氮吹, 加入 1 mL 50%乙腈水溶液定容进行对比实验。

## 1.4 仪器条件

采用 LC-MS/MS 电喷雾正离子模式, 多反应监测采集(multiple reaction monitoring, MRM)测定。液相色谱条件: 色谱柱: Thermo Scientific <sup>TM</sup>AccuCore<sup>TM</sup> RP-MS 柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 2.6  $\mu$ m)或相当色谱柱; 柱温: 40 °C。流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液, B 为 0.1%甲酸甲醇溶液, 采用梯度洗脱, 梯度洗脱程序: 5% B $\rightarrow$ 50% B (0~5 min); 50% B $\rightarrow$ 100% B (5~6 min); 100% B (6~8 min); 100% B $\rightarrow$ 5% B (8~9 min); 5% B (9~10 min)。流速: 0.3 mL/min, 进样体积: 10  $\mu$ L。

质谱条件: 离子源: 电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI); 毛细管电压: 3.5 kV; 离子传输管温度: 350 °C; 辅助气加热温度: 325 °C; 鞘气: 50 Arb; 辅助气: 10 Arb; 扫描方式: 正离子扫描; 检测方式: 多反应检测(multiple reaction monitoring, MRM); 定性离子对、定量离子对, 碰撞能量见表 1。

表 1 质谱参数  
Table 1 MS parameters

名称	保留时间 /min	母离子 ( <i>m/z</i> )	子离子 ( <i>m/z</i> )	碰撞能量 /V
特布他林-D9	2.50	235	108.0	32
			125.9	25
			153.1*	17
特布他林	2.50	226	107.0	31
			125.0	25
			152.0*	17
沙丁胺醇	2.54	240	148.0*	19
			165.9	14
			222.1	10
沙丁胺醇-D3	2.53	243	151.0*	20
			169.1	14
			225.1	11
莱克多巴胺	4.18	302	150.1	22
			164.1	16
			284.1*	14
莱克多巴胺-D6	4.18	308	120.9	24
			168.1	17
			290.1*	13
克伦特罗	4.40	277	168.0	30
			202.9*	17
			259.0	10
克伦特罗-D9	4.37	286	169.0	31
			203.9*	17
			268.1	12

注: \*为定量离子。

## 2 结果与分析

### 2.1 方法的优化

现阶段对于  $\beta_2$ -受体激动剂的检测逐步以开发更高效快速的检测方法为主, 通过性的传统去磷脂小柱兼容多种兽药残留的快速检测技术便是其中的一种发展方向, 但由于传统去磷脂小柱选择性较差, 针对的是多种化合物的残留筛查, 而 CNW dSPE 瘦肉精等定量检测专用提取包和净化管, 在阴性样本加入 25  $\mu$ g/kg 混标, 经酶解后进行方法前处理, 目标化合物的绝对响应均高于传统去磷脂小柱。从 4 种兽药残留面积对比图(图 1)可明显看到克伦特罗(clenbuterol)、莱克多巴胺(ractopamine)、沙丁胺醇(salbutamol)、特布他林(terbutaline)4 种物质峰面积, CNW dSPE 法均高于传统去磷脂小柱法, 尤其是克伦特罗和莱克多巴胺 2 个物质比较明显。传统去磷脂小柱的绝对回收率为 21%~41%, 而 CNW dSPE 法则为 42%~102%, 整体而言, CNW dSPE 前处理法均高于传统去磷脂小柱前处理法, 相对净化效果更好、回收率更高。同时从图 2、3 对比传统去磷脂小柱净化法与 CNW dSPE 净化法可以看到, CNW dSPE 净化法出峰规则, 特别是在沙丁胺醇与莱克多巴胺内标对比中可以看到较大差异, dSPE 净化法没有明显的杂质干扰峰, 而传统去磷脂小柱则干扰明显。从原理上看,

传统固相萃取柱反应机制单一, 不能满足复杂基质的净化要求<sup>[21-23]</sup>, 而 CNW dSPE 净化方法不仅能够较好地去除牛肉基质中蛋白质、磷脂、脂肪类杂质, 同时与传统定量检测方法对比, 减少前处理所用的时间。CNW dSPE 净化方法避免了固相萃取柱烦琐的上样淋洗脱过程, 扣除相同的酶解与浓缩复溶时间后, 一份样本的前处理仅为 30 min, 而传统的定量方法则需要 2 h 以上, 如遇到样品离心不彻底, 或脂肪含量过高, 极易堵塞固相萃取柱导致净化时间更长, 因此 CNW dSPE 法对环境更友好, 操作简便快速, 取样后仅需涡旋震荡就可上机(对比图见图 4), 更适合于牛肉样品中相关兽药残留的快速定量检测。

## 2.2 方法的线性范围和检出限

分别吸取 100.0  $\mu\text{g/L}$   $\beta_2$ -受体激动剂混合标准应用液, 加入 100  $\mu\text{g/L}$   $\beta_2$ -受体激动剂内标混和应用液, 制备成  $\beta_2$  受体激动剂含量的标准溶液(含 5 ng/mL 的内标溶液)供样品测定分析后绘制标准曲线, 以系列标准溶液中分析物的浓度( $\mu\text{g/L}$ )与对应的氘代同位素内标的峰面积比值绘制校正

曲线, 按内标法计算试样中受体激动剂的含量。如表 2, 各离子对的峰面积对其质量浓度绘制标准曲线, 以  $Y$  轴为峰响应信号,  $X$  轴为提取液中兽残浓度( $\mu\text{g/L}$ ), 制定标准回归方程, 4 种目标物的线性回归方程的相关系数( $r$ )均大于 0.9990, 表明各种目标物在 1.0~100.0  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内呈良好的线性

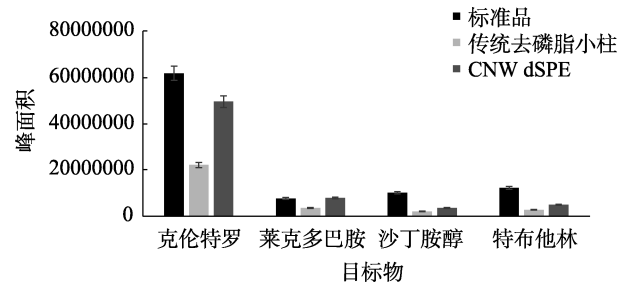


图 1 4 种兽药残留在不同方法净化下 LC-MS/MS 上峰面积 (25  $\mu\text{g/kg}$ ,  $n=3$ )

Fig.1 LC-MS/MS upper peak area of 4 kinds of veterinary drug residues purified by different methods (25  $\mu\text{g/kg}$ ,  $n=3$ )

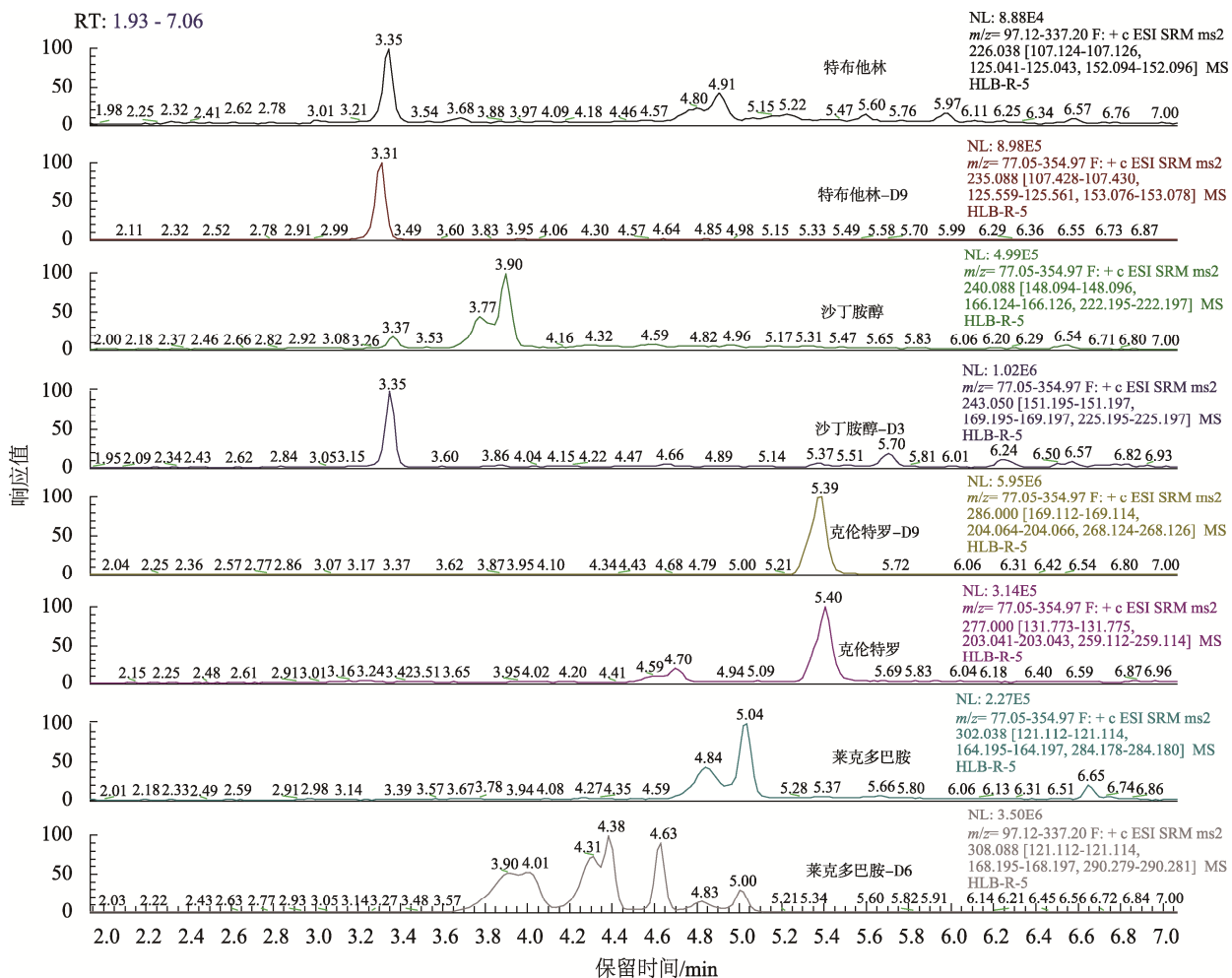


图 2 传统去磷脂小柱净化法 4 种兽药残留 LC-MS/MS 标准品峰内标峰图(2.5  $\mu\text{g/kg}$ )

Fig.2 Internal standard peaks of 4 kinds of veterinary drug residues in LC-MS/MS standard by traditional de-phospholipid column purification method (2.5  $\mu\text{g/kg}$ )

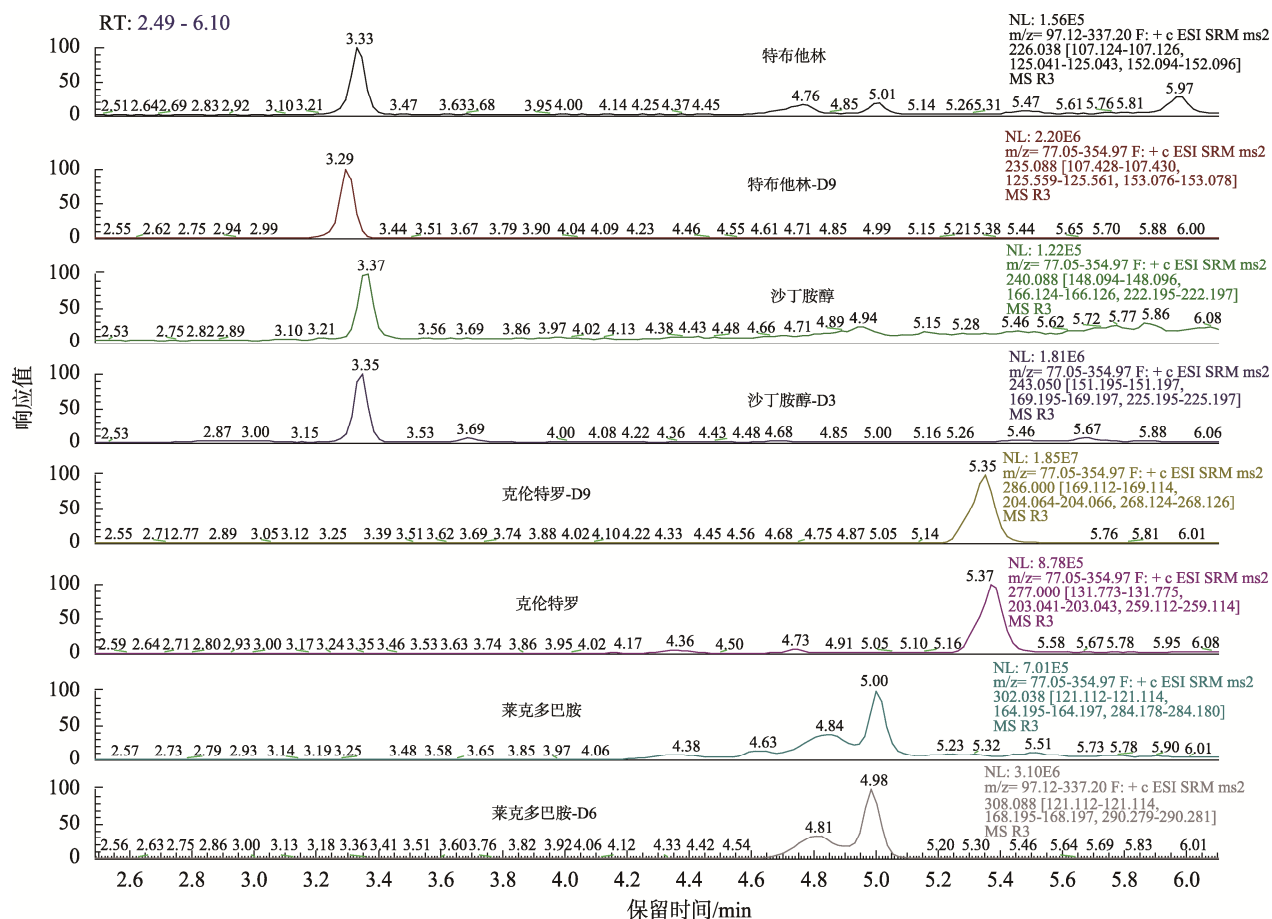


图 3 CNW dSPE 净化法 4 种兽药残留 LC-MS/MS 标准品峰内标峰图(2.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

Fig.3 Internal standard peak diagram of 4 kinds of veterinary drug residues LC-MS/MS standards by CNW dSPE purification method (2.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

关系。将空白样品依托前处理过程进行净化, 得到基质净化液。用混合标准溶液和基质液配制成浓度为 0.0、1.0、2.0、5.0  $\mu\text{g}/\text{L}$  的标准溶液, 注入高效液相色谱串联质谱仪进行分析, 以信噪比为 3 时的空白样品基质加标的含量定为检出限 (limit of detection, LOD), 信噪比为 10 的空白样品基质加标的含量为定量限 (limit of quantitation, LOQ), 4 种目标化合物的检出限在 0.1~0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间, 定量限在 0.3~1.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间, 方法灵敏度较高。

### 2.3 方法的准确率和精密度

通过向空白牛肉样品基质中添加分析物进行测定, 以确定方法的准确度和精密度。按传统去磷脂小柱和 CNW dSPE 法对加标样品进行处理和测定, 采用内标法进行计算, 结果见表 3。该类小柱虽然通过内标校准后, 回收率能达到 80%~120%, 能够满足检测的需要, 但绝对回收通常相对较低, 克伦特罗和莱克多巴胺的干扰明显减低, 基质效应下降明显, 且对回收率在 70%以上, 但出峰较为靠前的沙丁胺醇和特布他林依旧干扰较为严重, 但 CNW dSPE 法依旧较传统去磷脂小柱效果明显改善。4 种  $\beta_2$ -受体激动剂类兽药化合物阴性加标水平在 2.5、12.5、50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  下,

CNW dSPE 法回收率为 95.39%~106.59%, 相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 为 0.98%~13.26%。加标回收实验结果表明本方法的精密度和准确度基本良好, 符合欧盟 2002/657/EC 对残留检测方法的规定。

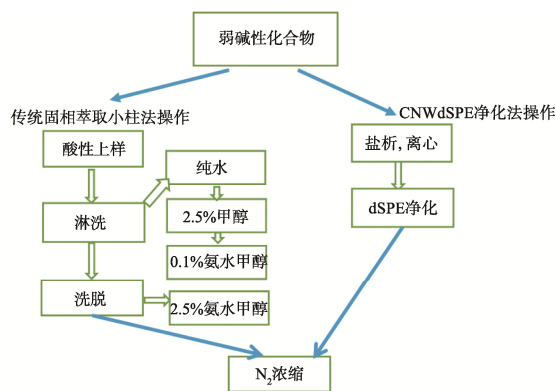


图 4 传统固相萃取小柱法操作和 CNW dSPE 净化法操作流程  
Fig.4 Flow chart of SPE method and CNW dSPE purification method

表 2 4 种兽药的线性方程、线性范围、相关系数、定量限、检出限

Table 2 Linear equations, linear ranges, correlation coefficients, limits of quantification and limits of detection of 4 species of animal residues

化合物	线性方程	线性范围 ( $\mu\text{g/L}$ )	$r$	LOD/ ( $\mu\text{g/kg}$ )	LOQ/ ( $\mu\text{g/kg}$ )
莱克多巴胺	$Y=21.52X-5.35$	1~100	0.9999	0.2	0.6
特布他林	$Y=3.72X+0.61$	1~100	0.9991	0.3	1.0
沙丁胺醇	$Y=12.45X-5.06$	1~100	0.9994	0.2	0.6
克伦特罗	$Y=2.29X-0.70$	1~100	0.9991	0.1	0.3

## 2.4 实际样品测定

采集北京地区不同区域、不同市场的进口牛肉样品 66 件进行检测, 均未检出  $\beta_2$ -受体激动剂。

表 3 4 种兽药残留在 3 个添加水平的平均回收率、绝对回收率和相对标准偏差( $n=3$ )

Table 3 Average recoveries, absolute recoveries and relative standard deviations of 4 kinds of veterinary drug residues at three supplemental levels ( $n=3$ )

化合物	加标水平 ( $\mu\text{g/kg}$ )	传统去磷脂小柱			CNW dSPE		
		平均回收率/%	RSD/%	绝对回收率/%	平均回收率/%	RSD/%	绝对回收率/%
克伦特罗	2.5	99.66	3.93	37.98	103.93	4.25	94.46
	12.5	94.71	0.83	30.25	96.07	1.01	72.53
	50	97.68	2.67	36.66	100.43	2.68	79.21
莱克多巴胺	2.5	103.88	2.89	54.71	104.61	4.51	127.34
	12.5	95.22	1.29	37.77	95.39	0.98	77.70
	50	98.28	2.87	45.74	98.99	3.14	93.54
沙丁胺醇	2.5	104.43	3.44	22.23	106.46	7.62	37.98
	12.5	99.05	2.07	14.23	97.13	2.53	19.72
	50	105.64	2.61	17.80	101.88	4.24	26.47
特布他林	2.5	117.11	6.99	26.00	96.79	13.26	43.82
	12.5	106.59	1.59	17.40	97.27	7.65	26.11
	50	109.29	4.84	19.73	105.17	6.65	31.52

## 参考文献

- [1] 钟南山, 沈华浩, 申昆玲, 等. 上-下气道慢性炎症性疾病联合诊疗与管理专家共识[J]. 中华医学杂志, 2017, 97(26): 2001-2022.  
ZHONG NS, SHEN HH, SHEN KL, *et al.* Joint diagnosis, treatment and management of upper and lower airway chronic inflammatory diseases [J]. Chin J Med, 2017, 97(26): 2001-2022.
- [2] NOZOMI K, KATSUHIRO M, SHUHEI H, *et al.*  $\beta_2$ -adrenergic receptor-mediated histamine H1 receptor down-regulation: Another possible advantage of  $\beta_2$  agonists in asthmatic therapy [J]. J Pharm Sci, 2019, 94(4): 449-458
- [3] DAVID C, POUCHOT J, RANQUE B. Hyperlactatemia induced by inhaled  $\beta_2$  agonists: An under recognized side effect. Report of two cases [J]. La Revue Med Inter, 2019, 40(6): 400-403.
- [4] SILLENCE MN. Technologies for the control of fat and lean deposition in livestock [J]. Veter J, 2004, 167: 242.
- [5] 孙晓亮, 李雪莲, 曹旭敏, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定猪尿液中 30 种不同种类“瘦肉精”药物残留[J]. 分析化学, 2017, 45(1): 124-132.  
SUN XL, LI XL, CAO XM, *et al.* An ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for fast determination of 30 different species of lean meat agents residues in pig urine [J]. Anal Chem, 2017, (1): 124-132.
- [6] KAUL N, DHANESHWAR SR, AGRAWAL H, *et al.* Application of HPLC and HPTLC for the simultaneous determination of tizanidine and rofecoxib in pharmaceutical dosage form [J]. J Pharm Biomed Anal, 2005, 37(1): 27-38.
- [7] RODRÍGUEZ N, VIDOT JV, PANELLI J, *et al.* GC-MS confirmation of xylazine (rompun), a veterinary sedative, in exchanged needles [J]. Drug Alcohol Depen, 2008, 96(3): 290-293.
- [8] 王瑞, 曹旭敏, 徐军, 等.  $\beta_2$ -受体激动剂类药物多残留间接竞争 ELISA 检测方法的建立[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2020, 48(7):

## 3 结论

本研究建立了 CNW 兽药定量检测分散固相萃取纯化包结合 LC-MS/MS 法快速测定牛肉中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、特布他林等  $\beta_2$ -受体激动剂类兽药残留量的方法, 并与目前传统通过性固相萃取柱进行了方法比对。2 种前处理技术均可用于牛肉中多种(克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、特布他林)兽药残留快速定量检测, 相对回收率均较高, 但与绝对回收率则差异较大, 由于 2 种净化方式采用的为同一样本, 因此绝对回收率的差异主要体现在了净化效果上, CNW dSPE 兽药定量检测方法净化效果更好, 对牛肉基质中的复杂干扰物质有更好的祛除效果, 基质抑制大为降低, 对于机器更为友好, 并且与传统定量法相比, CNW dSPE 兽药定量检测方法实验操作更加简便、快速, 更加适用于该类化合物的快速定量检测, 为今后牛肉制品中  $\beta_2$ -受体激动剂类兽药残留的监管提供了技术支持。

- 37-43.  
WANG R, CAO XM, XU J, *et al.* Establishment of indirect competitive ELISA for detection of multiple residues of  $\beta_2$ -receptor agonist drugs [J]. J Northwest A & F Univ (Nat Sci Ed), 2020, 48(7): 37-43.
- [9] 彭涛. 胶体金免疫层析法快速定量检测猪尿中  $\beta_2$ -受体激动剂残留的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2015.  
PENG T. Study on rapid and quantitative determination of  $\beta_2$ -agonist residues in pig urine by colloidal gold immunochromatography [D]. Nanchang: Nanchang University, 2015.
- [10] 郭建博, 薛晓文, 刘开, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定清咽类保健食品中 14 种  $\beta_2$ -受体激动剂非法添加物[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(19): 6767-6774.  
GUO JB, XUE XW, LIU K, *et al.* Determination of illegal  $\beta_2$ -agonists in health food by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(19): 6767-6774.
- [11] VALERIA B, PIER LC, MARIAGRAZIA G.  $\beta_2$  and  $\alpha_2$  adrenergic receptors mediate the proneurogenic *in vitro* effects of norquetiapine [J]. Neural Regener Res, 2021, 16(10): 2041-2047.
- [12] HOU DY, XU L, YONG Z, *et al.* Clinical value of detecting autoantibodies against  $\beta$ -(1-),  $\beta$ -(2-), and  $\alpha$ -1-adrenergic receptors in carvedilol treatment of patients with heart failure [J]. J Geriatr Cardiol, 2020, 17(6): 305-312.
- [13] 刘新辉, 马小岭, 季秋红. 超高效液相色谱-串联质谱法检测动物源性食品中的  $\beta$ -受体激动剂类和喹诺酮类药物[J]. 邵阳学院学报(自然科学版), 2020, 17(2): 55-66.  
LIU XH, MA XL, JI QH. Determination of  $\beta$ -agonists and quinolones in food of animal origin by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Shaoyang Univ (Nat Sci Ed), 2020, 17(2): 55-66.
- [14] 李艳明, 王坤, 朱富强, 等. 通过式固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中多种受体激动剂药物残留[J/OL]. 食品工业科技: 1-10. [2021-05-08]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020090182>.  
LI YM, WANG K, ZHU FQ, *et al.* Determination of receptor agonist residues in pork by solid-phase extraction coupled with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J/OL]. Sci Technol Food Ind: 1-10. [2021-05-08]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020090182>.
- [15] 叶妮, 孙雷, 尹晖, 等. UPLC-MS/MS 法检测动物性食品中 19 种  $\beta$ -受体激动剂残留[J]. 中国兽药杂志, 2015, 49(9): 51-59.  
YEN N, SUN L, YIN H, *et al.* Determination of 19  $\beta$ -agonist residues in animal food by UPLC-MS/MS [J]. Chin J Veter Med, 2015, 49(9): 51-59.
- [16] 熊琳, 李维红, 高雅琴, 等. 肉制品中  $\beta$ -受体激动剂类药物残留检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(2): 528-533.  
XIONG L, LI WH, GAO YQ, *et al.* Progress in detection of  $\beta$ -agonist residues in meat products [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(2): 528-533.
- [17] ZHANG ZH, YAN H, CUI FY, *et al.* Analysis of multiple  $\beta$ -Agonist and  $\beta$ -blocker residues in porcine muscle using improved QuEChERS method and UHPLC-LTQ orbitrap mass spectrometry [J]. Food Anal Method, 2016, 9(4): 915-924.
- [18] 刘新辉, 史永晖, 丁文慧, 等. 超高效液相色谱串联质谱法检测动物源性食品中  $\beta$ -受体激动剂类药物残留[J]. 农产品质量与安全, 2020, (5): 68-73.  
LIU XH, SHI YH, DING WH, *et al.* Determination of  $\beta$ -agonist residues in food of animal origin by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Qual Saf Agric Prod, 2020, (5): 68-73.
- [19] 范赛, 张楠, 李丽萍, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测动物性食品中  $\alpha_2$ -受体激动剂残留[J]. 卫生研究, 2020, 49(4): 591-596, 602.  
FAN S, ZHANG N, LI LP, *et al.* Determination of  $\alpha_2$ -receptor agonist residues in animal food by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Health Res, 2020, 49(4): 591-596, 602.
- [20] 励炯, 孙岚, 王红青, 等. 分散固相萃取净化/高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中的 5 种硝基咪唑类药物残留[J]. 分析测试学报, 2017, 36(11): 1357-1362.  
LI J, SUN L, WANG HQ, *et al.* Determination of five nitroimidazoles in aquatic products by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry combined with dispersive solid phase extraction [J]. J Instrum Anal, 2017, 36(11): 1357-1362.
- [21] 范赛, 张楠, 刘平, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定动物性食品中 20 种  $\beta$ -阻断剂残留[J]. 卫生研究, 2020, 49(5): 829-835, 867.  
FAN S, ZHANG N, LIU P, *et al.* Determination of 20  $\beta$ -blockers residues in animal foods by UPLC-MS/MS [J]. Health Res, 2020, 49(5): 829-835, 867.
- [22] 朱富强, 丁卫平, 韩岩君, 等. 脂质去除分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中 5 种  $\alpha_2$ -受体激动剂[J/OL]. 应用化学: 1-9. [2021-05-09]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1128.O6.20210112.1427.007.html>.  
ZHU FQ, DING WP, HAN YJ, *et al.* Determination of five  $\alpha_2$ -receptor agonists in food of animal origin by lipid removal dispersion solid phase extraction coupled with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J/OL]. Appl Chem: 1-9. [2021-05-09]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1128.O6.20210112.1427.007.html>.
- [23] SEN Q, ZHU XF, ZHAO QL, *et al.* Development of a QuEChERS-LCMS/MS method for simultaneous estimation of tebuconazole and chlormequat chloride in wheat crop [J]. J Environ Sci Health B, 2021, 56(3): 1-10.
- [24] 张再永, 马俊美, 李强, 等. 通过式固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉和牛肉中 9 种类固醇激素[J]. 肉类研究, 2020, 34(7): 58-63.  
ZHANG ZY, MA JM, LI Q, *et al.* Determination of nine steroid hormones in pork and beef by solid-phase extraction coupled with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Meat Res, 2020, 34(7): 58-63.

(责任编辑: 韩晓红)

## 作者简介

王莉莉, 主管技师, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: analyze0705@163.com

赵榕, 主任技师, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: lxyue@yeah.net

范赛, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: fansai@163.com