

高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉和猪肝中 22种 β -激动剂

黄泓, 夏苏捷, 刘畅*, 王柯

(上海市食品药品检验所, 上海 201203)

摘要: **目的** 建立一种用高效液相色谱-串联质谱法检测猪肉和猪肝中22种 β -激动剂(特布他林、西马特罗、沙丁胺醇、非诺特罗、氯丙那林、莱克多巴胺、克仑特罗、妥布特罗、喷布特罗、福莫特罗、异丙喘宁、苯乙醇胺A、沙美特罗、马喷特罗、马布特罗、溴布特罗、苯氧丙酚胺、班布特罗、溴代克仑特罗、克仑潘特、赛布特罗和卡布特罗)的方法。**方法** 样品粉碎后, 在pH 5.2的乙酸铵缓冲液中, 用 β -盐酸葡萄糖醛苷酶-芳基硫酸酯酶水解, 水解液经正己烷除脂后, 用阳离子交换柱净化, 再浓缩复溶后用高效液相色谱-串联质谱测定。采用内标法对克仑特罗、沙丁胺醇、莱克多巴胺、西马特罗、马布特罗、马喷特罗、赛布特罗和沙美特罗进行定量, 其余化合物采用外标法进行定量。**结果** 目标化合物的回收率为80%~125%, 线性范围为0.5~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 相关系数均大于0.992。方法的定量限均不大于0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。**结论** 本方法灵敏、快速、简便, 适合于同时定量检测猪肉和猪肝中多种 β -激动剂。

关键词: 高效液相色谱-串联质谱法; β -激动剂; 猪肉; 猪肝

Determination of 22 β -agonists in pork and pork liver by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

HUANG Hong, XIA Su-Jie, LIU Chang*, WANG Ke

(Shanghai Institute of Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: Objective An analytical method was developed for determination of 22 β -agonists in pork and pork liver, including terbutaline, cimaterol, salbutamol, fenoterol, clorprenaline, ractopamine, clenbuterol, tulobutero, penbutolol, formoterol, metaproterenol, phenylethanolamine A, salmeterol, mapenterol, mabuterol, brombuterol, isoxsuprine, bambuterol, bromoclenbuterol, clenpenterol, cimbuterol and carbuterol by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** Samples were enzymatically hydrolysed and extracted by acetic acid buffer (pH5.2). The supernatant was transferred and defatted by *n*-hexane, and then MCX was used as solid phase extraction cartridges to purify. The eluate was dried and reconstituted. Ractopamine, clenbuterol, salbutamol, salmeterol, mapentero, mabuterol, cimbuterol and cimaterol were determined by internal standard, others were determined by external standard. **Results** Average recoveries of the 22 β -agonists ranged from 80% to 125%, and the calibration curves were between the concentrations of 0.5~100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ with the correlation coefficient $r>0.992$. The limit of quantitation is not more than 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. **Conclusion** Due to its high sensitivity, accuracy and efficiency, the

*通讯作者: 刘畅, 博士, 副主任药师, 主要研究方向为食品、药品分析。E-mail: ccchangchang@hotmail.com

*Corresponding author: LIU Chang, Ph.D, Associate Chief Pharmacist, Shanghai Institute for Food and Drug Control, No.1500, Zhangheng Road, Shinan District, Shanghai 201203, China. E-mail: ccchangchang@hotmail.com

method is suitable for food safety control.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; β -agonists; pork; liver

1 引言

β -激动剂是一类化学合成的苯乙醇胺类物质,包括30多种化合物,主要用于治疗支气管哮喘和支气管痉挛,后发现可以明显提高动物的瘦肉率而被非法使用。因人食用了含有药物残留的禽畜产品后具有严重的不良反应,故很多国家都规定在禽畜类喂养时禁止使用克伦特罗、沙丁胺醇等 β -激动剂。随着对这类禁用物质的关注,作为克伦特罗替代品的其他 β -激动剂类药物使用逐渐增加。 β -激动剂的测定方法主要有气质联用法^[1,2]、液质联用法^[3,4]、免疫亲和色谱法(ELISA)^[5]等。免疫亲和色谱法测定的结果专属性差,气质联用法虽然灵敏度较高,但需要进行衍生化处理,操作过程繁琐。液质联用法因准确度和灵敏度高而被广泛应用于食品检测领域,但是目前文献检测方法多为同时测定几种 β -激动剂。本研究采用液相色谱串联三重四级杆质谱方法,可在一次实验中同时检测22种 β -激动剂。前处理方法简便,方法灵敏度高。其中8种化合物采用内标法定量,提高了方法准确性。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

AB Applied Biosystems 4000型高效液相色谱-串联质谱仪(液相色谱仪为Agilent 1290;配有电喷雾离子源);Waters Atlantis®dC₁₈色谱柱(2.1 mm×150 mm, 3 μ m);IKA涡旋混合器;ThermSorvall ST40R型离心机;Waters MCX柱(60 mg, 3 mL);oasis multivap 114氮吹仪。

正己烷购自于J.T.Baker;甲醇、甲酸均购自于美国Merck公司;乙酸乙酯购自于加拿大Caledon Laboratories公司;乙酸铵购自于美国Roe Scientific公司;氨水购自于上海凌峰化学试剂有限公司。克伦特罗、沙丁胺醇、氯丙那林和福莫特罗标准品均购自于中国生物制品检定研究院;特布他林、苯氧丙胺、喷布特罗、沙美特罗和异丙喘宁标准品均购自于美国药典;西马特罗、卡布特罗和苯乙醇胺A均购自于加拿大Toronto Reserch Chemicals公司;莱克多巴

胺和溴布特罗均购自于德国Dr. Ehrenstorfer公司;克伦潘特和妥布特罗均购自于美国Witega公司;马步特罗、塞布特罗、溴代克伦特罗、非诺特罗标准品均购自于美国Sigma公司;班布特罗标准品购自于欧洲药典;马喷特罗标准品购自于美国Santa Cruz Biotechnology公司。纯度均大于97%。克伦特罗-D9购自于德国Dr. Ehrenstorfer公司;沙丁胺醇-D3、莱克多巴胺-D3购自于加拿大C/D/NISOTopes公司;马布特罗-D9、西马特罗-D7、赛布特罗-D9、马喷特罗-D11和沙美特罗-D3均购自于美国Witega公司。

0.2 mol/L乙酸铵缓冲液(称取15.4 g乙酸铵,溶解于1000 mL水中,用适量乙酸调pH至5.2);甲酸水溶液(2:98, v/v);5%氨水乙酸乙酯溶液(5:95, v/v);甲醇-0.1%甲酸溶液(10:90, v/v)。

标准贮备液的配制:分别称取适量标准品(精确至0.0001 g),用甲醇配制成100 μ g/mL的标准储备液。

混合内标溶液的配制:分别称取克伦特罗-D₉、沙丁胺醇-D₃、莱克多巴胺-D₃、西马特罗-D₇、马布特罗-D₉、马喷特罗-D₁₁、赛布特罗-D₉、沙美特罗-D₃标准品各约10 mg,用甲醇配制成100 μ g/mL的内标储备液。分别精密量取适量,置同一容量瓶中,用甲醇稀释制成每1 mL中含50 ng的溶液,作为混合内标溶液。

2.2 检测条件

色谱条件:色谱柱为Waters Atlantis®dC₁₈ (3 μ m, 2.1 mm×150 mm),柱温为30 $^{\circ}$ C,进样量10 μ L。

流动相(1):A为5 mmol/L醋酸铵水溶液,B为甲醇;洗脱程序为0~15 min B从10%升至90%,15~16 min保持B为90%,16.1~21 min,保持B为10%。

流动相(2):A为0.1%甲酸水溶液,B为甲醇;洗脱程序为0~11 min B从5%升至60%,11~12 min保持B为60%,12.1~21.0 min,保持B为5%。

质谱条件:离子源为电喷雾离子源,扫描方式为正离子模式,电离电压为5000 V,离子源温度为500 $^{\circ}$ C,碰撞气为高纯氮气,碰撞气流量为5 L/min,气帘气流速为35 L/min。各化合物定性定量离子参数见表1。

表 1 各化合物质谱采集参数					续表 1					
Table 1 The parameters of compounds spectrum					名称	母离子	子离子	DP	CE	
名称	母离子	子离子	DP	CE						
克仑特罗	276.8	203.1	60	22	非诺特罗	304.2	134.6*	70	35	
		259.1	60	15			286.2	70	28	
		168.1*	60	38			107.1	70	20	
沙丁胺醇	240.1	222.1	70	10	喷布特罗	292.2	236.2*	85	25	
		166.1*	70	20			168.1	85	25	
		148.0	70	26			201.2	85	29	
莱克多巴胺	302.2	164.2*	65	25	氯丙那林	214.1	154.1*	70	25	
		284.2	65	20			196	70	25	
		121.2	65	34			327.1	40	19	
特布他林	226.2	152.1*	64	25	福莫特罗	345.2	149.2*	40	24	
		170.1	64	18			121.1	40	43	
		125.0	70	37			327.1*	60	21	
西马特罗	220.2	202.2	75	30	苯乙醇胺 A	345.2	150	60	32	
		160.2	75	25			294.2	60	26	
		143.1*	75	36			312.2	60	20	
赛布特罗	234.1	160.1*	80	22	班布特罗	368.1	72.0*	50	36	
		216.1	40	13			268.2	194.1*	51	20
		237.0*	80	23			268.2	250.2	47	20
马布特罗	311.2	293.2	80	16	卡布特罗	268.2	152	25	21	
		194.2	80	16			194.1*	10	21	
		237.1*	100	22			125.1	47	30	
马喷特罗	325.2	307.2	100	16	异丙喘宁	212.1	204.8*	20	18	
		349	80	17			275.2	20	15	
		293.0*	80	25			227.2	161.1	30	24
溴代克仑特罗	323	305.0*	125	17	西马特罗内标	227.2	203.9	86	25	
		249	120	12			243.3	151.1	65	25
		284.2*	37	20			305.2	167.2	65	25
苯丙氧酚胺	302.3	150.1	34	29	莱克多巴胺内标	305.2	243.2	161.2	60	18
		398.3	30	21			320.0	237.9	60	25
		380.2*	40	27			336.2	238	50	23
沙美特罗	416.3	232.1	40	30	塞布特罗内标	243.2	419.2	383.3	60	25
		154.1*	85	26						
		172.1	85	18						
妥布特罗	228.2	118.1	85	35	沙美特罗内标	419.2				
					*号为定量离子通道。					

*号为定量离子通道。

2.3 样品前处理

称取均质试样 2 g (精确至 0.01 g), 于 50 mL 螺旋盖聚乙烯离心管中, 精密加入混合内标溶液(50 ng/mL)100 μ L, 加入 0.2 mol/L 醋酸铵溶液(pH 5.2)20 mL, 再加入 40 μ L 的 β -盐酸葡萄糖醛苷酶-芳基硫酸酯酶加盖后, 涡旋振荡 10 min 混匀, 于 37 $^{\circ}$ C 下避光水浴振荡 16 h。放置至室温, 涡旋混匀, 4600 r/min 高速离心 15 min, 倾出上清液于另一 50 mL 离心管内。加入正己烷 15 mL, 缓慢震荡混匀。4600 r/min 离心 10 min, 弃去正己烷层, 样液立即用德国 Membrana 公司孔径为 0.8 μ m 的聚醚砜滤膜过滤, 收集全部滤液, 作为备用液待净化。取 MCX 小柱(3 cc, 60 mg), 依次用甲醇、水、2%甲酸溶液各 3 mL 活化, 取备用液全部过柱, 再依次用 2%甲酸溶液、甲醇各 3 mL 淋洗, 抽干, 用 5%氨水乙酸乙酯溶液 6 mL 洗脱; 收集洗脱液在 45 $^{\circ}$ C 下用氮气吹干。残余物用甲醇-0.1%甲酸溶液(10:90, v/v)0.5 mL 溶解, 涡旋混匀, 15000 r/min 高速离心 10 min, 取上清液 10 μ L, 供液相色谱-串联质谱测定。

3 结果与讨论

3.1 样品前处理方法的选择

β -激动剂为苯乙醇胺类物质, 在 pH 5.2 的缓冲液中用 β -盐酸葡萄糖醛苷酶-芳基硫酸酯酶水解, 可以使与组织结合的 β -激动剂游离出来。酶解的时间及温度, 多数文献^[5,6]采用加入 20~40 μ L 葡萄糖醛酸酶 37 $^{\circ}$ C 水浴中保温 16 h, 也有研究^[7]采用 37 $^{\circ}$ C 水浴中保温 1 h。本次试验比较了水解 3 h 和水解 16 h 对结果的影响, 结果发现水解 16 h 比 3 h 得到的上层清液干净, 且得到的色谱图杂质峰明显少于水解 3 h 的图谱。很多文献采用酶解提取后的上清液中加入高氯酸除去蛋白, 降低基质效应。然后调节 pH 至碱性使 β -激动剂呈游离状态, 用乙酸乙酯和异丙醇或叔丁基甲醚混合溶剂提取, 吹干重组后在酸性条件下用 SPE 柱进行净化。我国现行的 GB/T 22286-2008^[8]、GB/T 21313-2007^[9]和农业部 1025 号公告-18-2008^[10]都采用这种方法。固相萃取柱有仅使用 MCX^[11]柱, 也有研究^[12]采用 HLB 柱和 MCX 柱串联。

本研究实验中发现, 上 SPE 柱前采用高氯酸沉淀蛋白虽然能降低基质效应, 但同时降低了检测灵

敏度。由于 SPE 柱同样具有去除蛋白的能力, 所以本方法采用酶解后的提取液用正己烷除脂后直接用 SPE 柱进行净化。同时比较了用 MCX 柱和用 HLB 柱和 MCX 柱串联进行净化后的差异, 结果发现在净化效果和回收率方面均无明显差异, 所以选择只用 MCX 柱。上柱后的洗脱溶剂比较了含 5%氨水的乙酸乙酯溶液和含 5%氨水的甲醇溶液。虽然含 5%氨水的甲醇溶液能提高回收率, 但同时更多杂质会被洗脱下来, 故选择用含 5%氨水的乙酸乙酯溶液作为洗脱剂。经试验, 这样的前处理方法操作简便, 得到的上样溶液较干净, 方法的灵敏度高, 能满足大批量样品检测的需要。

3.2 色谱柱的选择

本次研究比较了 Atlantis dC₁₈、Agilent HC-C₁₈ 和 Agilent XDB-C₁₈ 色谱柱的分离效果。结果表明 Atlantis dC₁₈ 的分离效果最佳。

3.3 流动相的选择

比较了 0.1%甲酸-甲醇、0.1%甲酸-乙腈、0.1%甲酸+5mmol/L 醋酸铵-甲醇、5 mmol/L 醋酸铵-甲醇、10 mmol/L 醋酸铵-甲醇洗脱系统。0.1%甲酸-甲醇和 5 mmol/L 醋酸铵-甲醇系统较好, 且能将其中的两对同分异构体(福莫特罗和苯乙醇胺 A; 莱克多巴胺和苯丙氧酚胺)完全分离。考虑到基质的干扰, 当测定猪肉或猪肝中的异丙喘宁时, 需用 0.1%甲酸-甲醇为流动相; 而测定猪肉或猪肝中的菲诺特罗时, 用 5 mmol/L 醋酸铵-甲醇为流动相较为适宜。其余组分两种流动相均可选用。本次统计的数据除异丙喘宁用甲酸-甲醇系统, 其余化合物用醋酸铵-甲醇系统。总离子流图见图 1, 提取离子流图见图 2。

3.4 线性范围

精密量取标准储备液, 分别用甲醇稀释制成 1 μ g/mL 和 10 ng/mL 的溶液。分别精密量取适量加至 2 g (精确至 0.01 g)均质试样中, 按样品处理步骤操作, 配制浓度为 0.5~100.0 ng/g 的系列混合标准溶液, 绘制标准曲线。克仑特罗、沙丁胺醇、莱克多巴胺、西马特罗、马布特罗、马喷特罗、赛布特罗和沙美特罗以样品的浓度(μ g/kg)为横坐标, 以目标化合物与内标物的峰面积比值为纵坐标, 进行线性回归计算。特布他林、非诺特罗、氯丙那林、妥布特罗、喷布特罗、

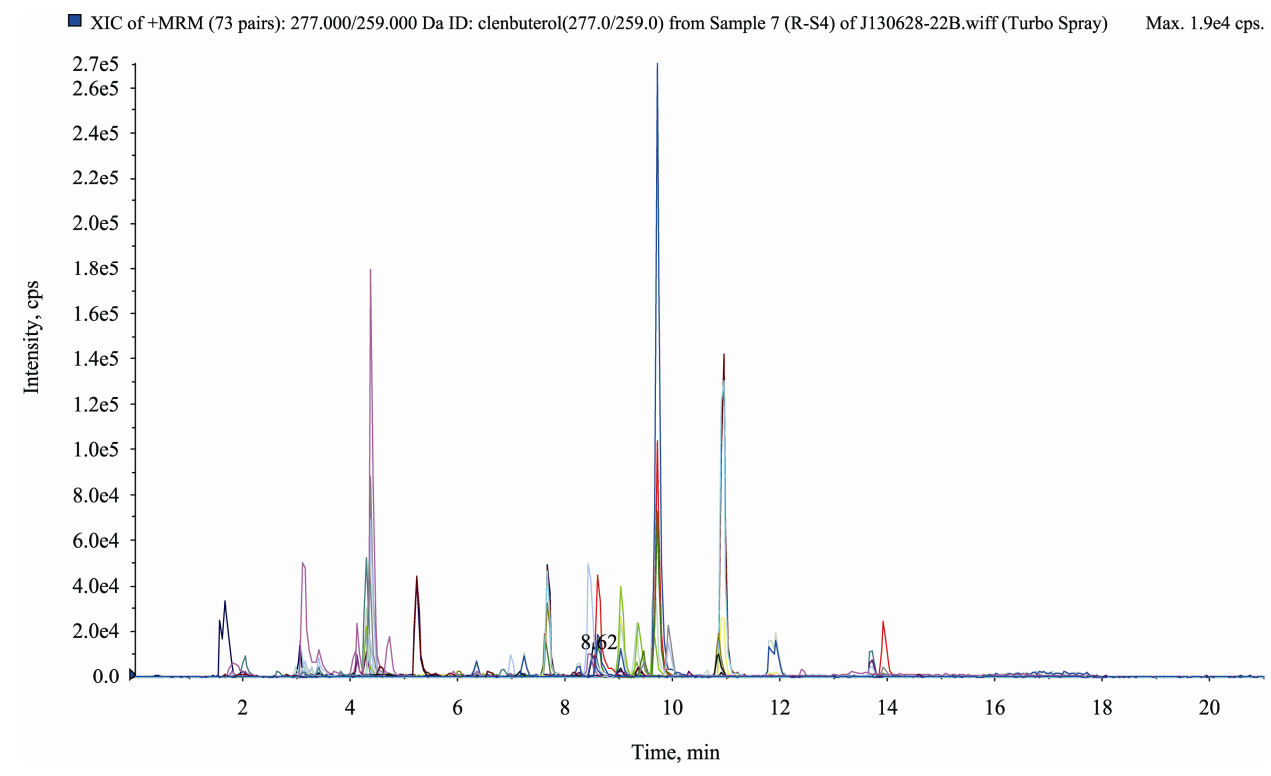


图 1 22 种 β -激动剂的总离子流图

Fig. 1 Total ion flow chart of 22 kinds of β -agonists

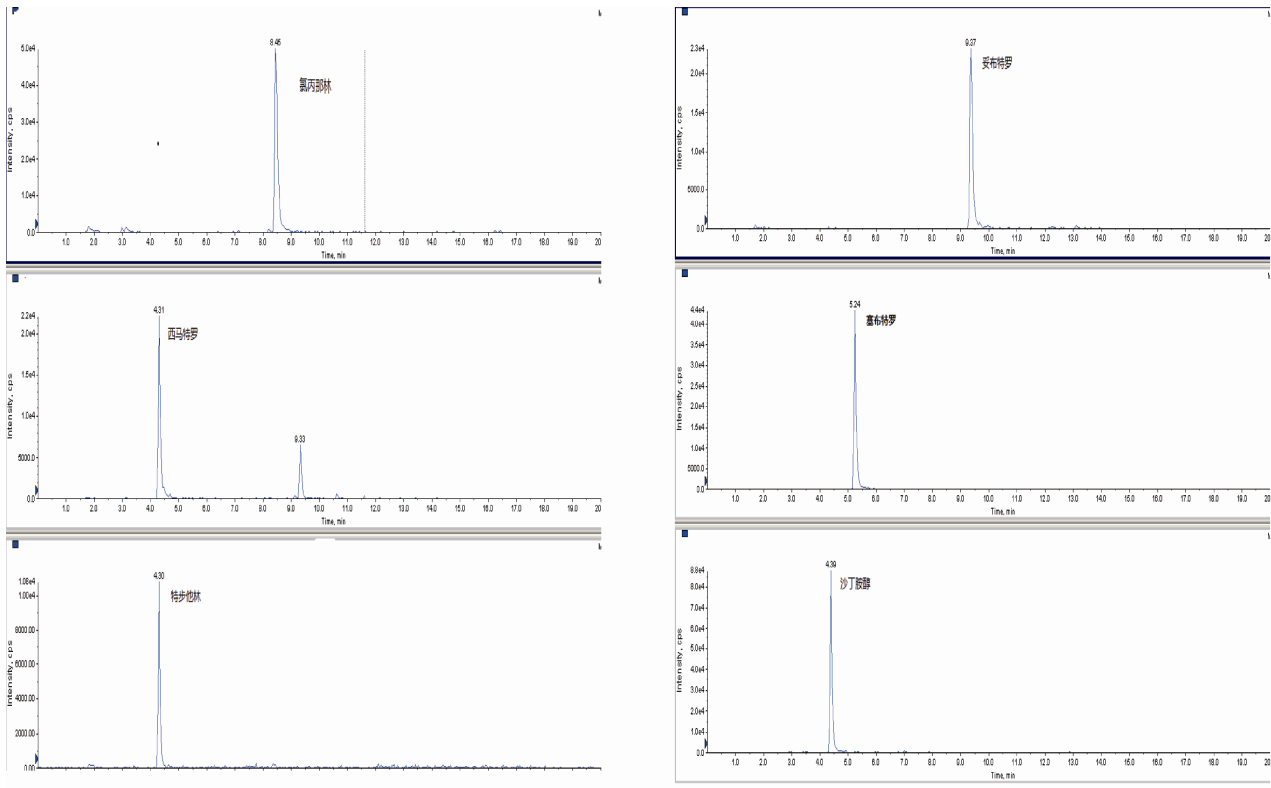
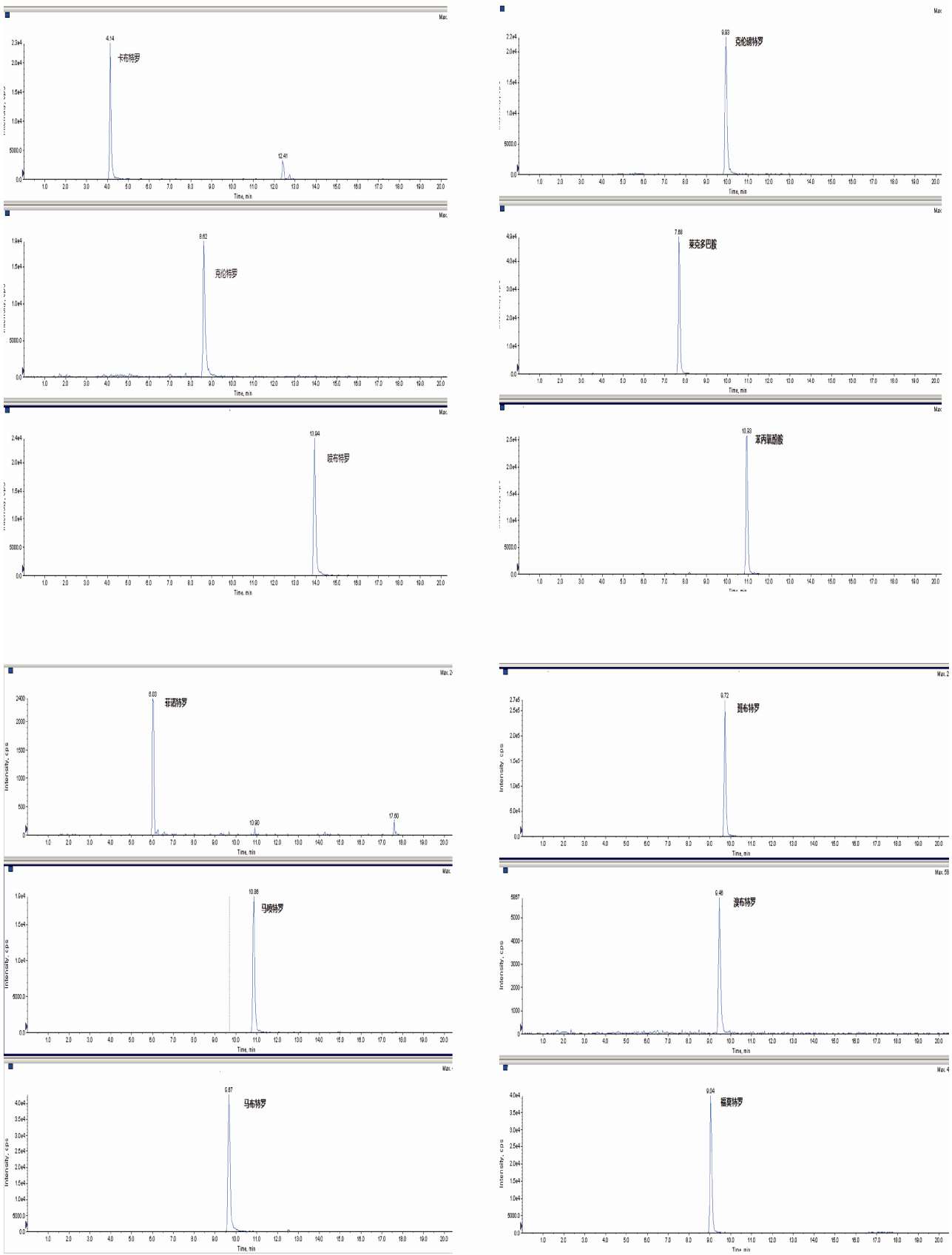


图 2 提取离子流图

Fig. 2 Ion flow chart of extract



续图 2

福莫特罗、异丙喘宁、苯乙醇胺 A、溴布特罗、苯氧丙酚胺、班布特罗、溴代克伦特罗、克仑潘特和卡布特罗以样品的浓度($\mu\text{g/kg}$)为横坐标, 以目标化合物的峰面积为纵坐标, 进行线性回归计算。结果表明, 化合物均在 $0.5\sim 100.0\ \mu\text{g/kg}$ 范围内呈良好线性, 线性方程见表 2。

3.5 方法回收率

在空白猪肉或猪肝基质中添加混合标准储备溶液, 使样品中化合物的浓度分别为 0.5 、 5.0 、 $50.0\ \mu\text{g/kg}$, 按样品处理方法进行处理和检测。结果 22 种 β -激动剂的回收率均在 $80\%\sim 125\%$ 之间; 最低定量限均为 $0.5\ \mu\text{g/kg}$ 。回收率测定结果见表 3。

表 2 22 种 β -受体激动剂线性方程和 r 值
Table 2 Linear equation and r value of 22 kinds β -agonists

名称	线性范围	猪肉		猪肝	
	$/(\text{ng}\cdot\text{g}^{-1})$	线性方程	r	线性方程	r
克仑特罗	$0.5\sim 100.0$	$Y=0.19X-0.00917$	0.998	$Y=0.153X-0.00604$	0.9956
沙丁胺醇	$0.5\sim 100.0$	$Y=0.248X-0.0188$	0.9997	$Y=0.208X+0.0134$	0.9995
莱克多巴胺	$0.5\sim 100.0$	$Y=0.442X+0.0622$	0.9993	$Y=0.369X+0.0395$	0.9961
特布他林	$0.5\sim 100.0$	$Y=6.44\text{e}+004X+1.46\text{e}+004$	0.9975	$Y=6.38\text{e}+004X+1.67\text{e}+004$	0.9968
西马特罗	$0.5\sim 100.0$	$Y=0.19X+0.0167$	0.9991	$Y=0.142X+0.0215$	0.999
赛布特罗	$0.5\sim 100.0$	$Y=0.0786X-0.00868$	0.9977	$Y=0.165X+0.0121$	0.9983
马布特罗	$0.5\sim 100.0$	$Y=0.382X+0.0661$	0.9996	$Y=0.331X+0.0477$	0.9992
马喷特罗	$0.5\sim 100.0$	$Y=0.181X+0.028$	0.9952	$Y=0.145X+0.0323$	0.9933
溴布特罗	$0.5\sim 100.0$	$Y=1.89\text{e}+004X-826$	0.9997	$Y=1.37\text{e}+004X+1.03\text{e}+003$	0.9976
溴代克伦特罗	$0.5\sim 100.0$	$Y=4.39\text{e}+003X+4.58\text{e}+003$	0.9959	$Y=3.72\text{e}+003X+1.26\text{e}+003$	0.9967
苯丙氧酚胺	$0.5\sim 100.0$	$Y=1.35\text{e}+005\ X+4.3\text{e}+004$	0.9922	$Y=7.09\text{e}+004X+2.17\text{e}+004$	0.9955
沙美特罗	$0.5\sim 100.0$	$Y=0.0682X+0.0027$	0.9989	$Y=0.426X+0.102$	0.9938
妥布特罗	$0.5\sim 100.0$	$Y=5.09\text{e}+004X+1.05\text{e}+003$	0.9976	$Y=3.73\text{e}+004X+3.51\text{e}+003$	0.9964
非诺特罗	$0.5\sim 100.0$	$Y=3.2\text{e}+003X-266$	0.9987	$Y=2.48\text{e}+003X+47.7$	0.9952
喷布特罗	$0.5\sim 100.0$	$Y=4.04\text{e}+004X-2.83\text{e}+003$	0.9995	$Y=1.01\text{e}+004X-952$	0.9985
氯丙那林	$0.5\sim 100.0$	$Y=9.48\text{e}+004X+1.01\text{e}+004$	0.9994	$Y=8.48\text{e}+004X+1.86\text{e}+003$	0.9978
福莫特罗	$0.5\sim 100.0$	$Y=4.75\text{e}+004X-3.56\text{e}+003$	0.9916	$Y=0.661X-0.034$	0.9917
苯乙醇胺 A	$0.5\sim 100.0$	$Y=3.99\text{e}+004X-4.44\text{e}+003$	0.9993	$Y=8.75\text{e}+003X+2.17\text{e}+003$	0.9996
班布特罗	$0.5\sim 100.0$	$Y=5.52\text{e}+004X+2.74\text{e}+004$	0.9925	$Y=4.68\text{e}+004X+2.39\text{e}+004$	0.9934
卡布特罗	$0.5\sim 100.0$	$Y=4.36\text{e}+004X-1.05\text{e}+004$	0.9978	$Y=3.63\text{e}+004X-1.71\text{e}+003$	0.9946
异丙喘宁	$0.5\sim 100.0$	$Y=5.41\text{e}+004\ X+4.43\text{e}+003$	0.9993	$Y=3.53\text{e}+004\ X+9.27\text{e}+003$	0.9962
克伦潘特	$0.5\sim 100.0$	$Y=2.97\text{e}+004\ X+2.11\text{e}+003$	0.9995	$Y=2.24\text{e}+004\ X+3.64\text{e}+003$	0.9985

表 3 22 种 β -受体激动剂回收率($n=6$)
Table 3 Recoveries of 22 kinds of β -agonists($n=6$)

名称	猪肉		猪肝	
	添加量/(ng·g ⁻¹)	平均回收率/%	添加量/(ng·g ⁻¹)	平均回收率/%
克仑特罗	0.5	113.9±4.5	0.5	105.2±5.9
	5	109.4 ±3.6	5	118.8± 6.6
	50	105.8±3.7	50	107.3±4.5
沙丁胺醇	0.5	121.8 ±5.2	0.5	102.8 ±3.9
	5	99.8 ±3.3	5	116.0 ±4.1
	50	102.7± 3.8	50	99.6 ±5.1
莱克多巴胺	0.5	87.4 ±3.5	0.5	92.2 ±2.2
	5	110.6± 2.8	5	111.7±3.2
	50	102.9±3.4	50	108.6±3.1
特布他林	0.5	93.5 ±6.5	0.5	90.1±5.4
	5	98.0±4.8	5	110.7±5.3
	50	102.1±4.6	50	106.7±4.6
西马特罗	0.5	82.3 ±4.3	0.5	86.1 ±6.1
	5	106.2±3.4	5	104.0 ±7.8
	50	104.0 ±3.8	50	105.0±3.5
赛布特罗	0.5	115.0 ±5.5	0.5	98.1 ±4.7
	5	106.3± 4.8	5	103.3±6.3
	50	97.0± 4.9	50	103.1±5.2
马布特罗	0.5	84.7± 6.5	0.5	87.5±3.4
	5	117.1±4.9	5	109.3±5.8
	50	106.5± 4.3	50	104.5 ±6.7
马喷特罗	0.5	90.8 ±5.2	0.5	82.0 ±5.3
	5	113.1±3.3	5	108.4 ±5.2
	50	105.2 ±4.7	50	119.8 ±3.7
溴布特罗	0.5	121.0±8.8	0.5	104.8 ±7.8
	5	113.3± 7.5	5	112.8 ±6.9
	50	106.8 ±6.9	50	114.2±5.4
溴代克仑特罗	0.5	114.5 ±9.5	0.5	89.1 ±7.7
	5	111.2 ±6.7	5	96.9 ±8.5
	50	110.6 ±6.8	50	104.2±6.0
苯丙氧酚胺	0.5	87.8 ±8.3	0.5	89.0 ±7.8
	5	114.4± 6.3	5	111.0 ±8.5
	50	100.6± 5.5	50	124.8 ±7.3

表 3

名称	猪肉		猪肝	
	添加量/(ng·g ⁻¹)	平均回收率/%	添加量/(ng·g ⁻¹)	平均回收率/%
沙美特罗	0.5	115.5 ±7.5	0.5	110.6 ±10.3
	5	103.2 ±4.5	5	109.5 ±7.4
	50	106.6± 5.2	50	123.3± 7.5
妥布特罗	0.5	96.8± 3.5	0.5	122.8 ±5.0
	5	113.1± 4.4	5	108.6 ±3.8
	50	107.6± 5.4	50	110.8 ±4.4
非诺特罗	0.5	105.6± 10.2	0.5	87.0 ±8.9
	5	104.5±8.9	5	108.6 ±10.6
	50	104.6± 5.9	50	103.3±7.4
喷布特罗	0.5	109.7 ±3.2	0.5	122.7±5.7
	5	113.2± 3.5	5	122.0±6.4
	50	105.4± 4.1	50	121.7±3.2
氯丙那林	0.5	100.2 ±3.8	0.5	116.7±4.9
	5	106.7 ±4.1	5	93.4±6.1
	50	106.6 ±5.9	50	106.8±6.4
福莫特罗	0.5	122.8±6.7	0.5	114.2±3.7
	5	99.2 ±5.9	5	89.3 ±4.4
	50	95.3±4.4	50	103.1 ±5.2
苯乙醇胺 A	0.5	124.0±8.1	2	87.5 ±3.6
	5	98.9±7.2	20	102.9±3.8
	50	96.0 ±4.4	200	114.1±3.0
班布特罗	0.5	90.1 ±7.4	0.5	85.4 ±5.6
	5	116.5 ±6.6	5	111.7 ±4.0
	50	106.9±4.5	50	109.2±5.5
卡布特罗	0.5	85.5±6.7	0.5	123.6±7.2
	5	105.5± 5.0	5	99.9 ±5.7
	50	104.7± 4.2	50	113.1±7.3
异丙喘宁	0.5	100.5 ±9.5	2	123.6 ±10.8
	5	89.1 ±5.9	20	87.2 ±8.2
	50	88.3 ±4.9	200	94.3 ±6.5
克伦潘特	0.5	112.2±5.3	0.5	116.4±6.9
	5	109.4±3.8	5	110.6±5.3
	50	103.6± 6.7	50	114.0±6.1

3.6 基质效应

猪肉和猪肝对 22 种化合物的测定存在基质效应^[13]。本实验过程中亦发现猪肝中沙美特罗和喷布特罗的基质效应较为严重;其他成分在猪肉和猪肝的响应基本相同。

4 结 论

本研究建立了用高效液相色谱-串联质谱法检测猪肉和猪肝中 22 种 β -激动剂的方法。用一种前处理方法,经过正己烷除脂,MCX 固相萃取柱的净化,除异丙喘宁以外的 21 种成分可以基本消除猪肉或猪肝基质对被测成分离子化的干扰。当需测定异丙喘宁时,应选用 0.1%甲酸-甲醇为流动相,以使基质峰与异丙喘宁峰分离。而测定猪肉或猪肝中的菲诺特罗时,用 5 mmol/L 醋酸铵-甲醇为流动相可提高测定灵敏度。两种流动相的选择提高了方法的专属性和灵敏度。与大部分文献方法和国标方法相比,该方法无需高氯酸沉淀蛋白。该方法操作简单,快速、准确、灵敏,适用于猪肉和猪肝中 β -激动剂的残留的定量测定。

参考文献

- [1] 朱坚,李波,方晓明,等.气相色谱-质谱法测定肝、肾和肉中 β -受体激动剂残留量[J].质谱学报,2005,26(3):129-137.
Zhu J, Li B, Fang XM, *et al.* Analysis of 11 β -agonist residues in liver, kidney and meat by gas chromatography-mass spectrometry[J]. J Chin Mass Spectrom Soc, 2005, 26(3): 129-137.
- [2] NY/T468-2006 动物组织中盐酸克仑特罗的测定气相色谱-质谱法[S].
NY/T468-2006 Determination of residual clenbuterol in animal tissues gas chromatography /mass spectrometry[S].
- [3] 金玉娥,郭德华,郑烨,等.液质联用仪测定动物源性食品中 11 种 β_2 -受体激动剂的研究[J].质谱学报,2007,28(4):193-201.
Jin YE, Guo DH, Zheng Y, *et al.* Determination of 11 β_2 -agonists in foodstuff of Animal Origin by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometric Detection[J]. J Chin Mass Spectrom Soc, 2007, 28(4): 193-201.
- [4] 张国华,赖卫华,金晶,等.免疫亲和色谱的原理及其在食品安全检测中的应用[J].食品科学,2007,28(10):577-581.
Zhang GH, Lai WH, Jin J, *et al.* Principles of immunoaffinity chromatography and its application in food safety monitoring[J]. Food Sci, 2007, 28(10): 577-581.
- [5] 王远,邢丽杰,郝家勇,等.高效液相色谱-串联质谱法测定卤肉中 3 种 β -受体激动剂残留[J].食品科学,2013,34(8):216-219.
Wang Y, Xing LJ, Hao JY, *et al.* Determination of β -Agonists in Cooked Meat by HPLC-MS/MS[J]. Food Sci, 2013, 34(8): 216-219.
- [6] 孙累,张骊,朱永林,等.超高效液相色谱-串联质谱法检测动物源性食品中残留的 9 种 β -受体激动剂[J].色谱,2008,26(6):709-713.
Sun L, Zhang L, Zhu YL, *et al.* Simultaneous determination of nine β -agonists in animal derived foods by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chin J Chromatogr, 2008, 26(6): 709-713.
- [7] 甘盛,施晓光.液相色谱-串联质谱法测定羊肉中的瘦肉精[J].现代食品科技,2011,27(9):1146-1149.
Gan S, Shi XG. Determination of β -agonists in Mutton by Liquid Chromatography[J]. Mod Food Sci Technol, 2011, 27(9): 1146-1149.
- [8] Lee D, Williams MI, Churchwell DR, *et al.* Multiresidue confirmation of β -agonists in bovine retina and liver[J]. J Chromatogr B, 2004, 813(1): 35-45.
- [9] GB/T 22286-2008 动物源性食品中多种 β -受体激动剂残留量的测定 液相色谱串联质谱法[S].
GB/T 22286-2008 Determination of β -agonists residuals in foodstuff of animal origin liquid chromatography with tandem-mass spectrometric method[S].
- [10] GB/T 21313-2007 动物源性食品中 β -受体激动剂残留检测方法 液相色谱-质谱/质谱法[S].
GB/T 21313-2007 Analysis of β -agonists in foods of animal origin by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[S].
- [11] 农业部 1025 号公告-18-2008 所附标准 动物源性食品中 β -受体激动剂残留检测 液相色谱-串联质谱法[S].
Department of Agriculture Bulletin No.1025-18-2008 attaching standard Determination of β -agonists residuals in animal derived food by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[S].
- [12] 蔡增轩,贾晓飞,潘红锋,等.超高效液相色谱-电喷雾串联四级杆质谱法检测动物组织中 20 种 β_2 -兴奋剂残留[J].中国卫生检验杂志,2009,19(11):2461-2467.
Cai ZX, Jia XF, Pan HF, *et al.* Simultaneous determination of

20 β_2 -agonists residues in animal tissues by ultra performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry[J]. Chin J Health LabTechnol, 2009, 19(11): 2461–2467.

- [13] Bing S, Xiao J, Jing Z, *et al.* Multi-residual analysis of 16 β -agonists in pig liver, kidney and muscle by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Food Chem, 2009, 114: 1115–1121.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



黄泓, 副主任药师, 主要研究方向为食品药品分析。

E-mail: huanghong8907@163.com



刘畅, 博士, 副主任药师, 主要研究方向为食品、药品分析。

E-mail: ccchangchang@hotmail.com

更正启事

《食品安全质量检测学报》第 5 卷第 3 期, 912 页, 标题为《高效液相色谱法检测呋虫啉在稻田水、土壤、稻米和小麦粉中的残留》文章, 作者更正为:

丛路静, 刘纪松, 朱健, 王美云, 王鸣华*

(南京农业大学植物保护学院, 南京 210095)