

QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定 牛羊肉中 36 种瘦肉精残留量

程江闯, 胡启立, 吴海平*

(普研(上海)标准技术服务有限公司, 上海 201318)

摘 要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)测定牛羊肉中 36 种传统和新型瘦肉精残留量的分析方法。**方法** 样品酶解后, 用甲酸乙腈溶液进行提取, EMR-Lipid 增强型脂质去除剂净化除脂, 与甲酸水溶液(1:1, *V/V*)混合后过滤。采用 ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm)色谱柱为固定相, 0.1%甲酸水(含 5 mmol/L 乙酸铵)(A)和乙腈(B)作为流动相进行梯度洗脱, 质谱采用电喷雾正离子模式(electron spray ionization positive mode, ESI+), 动态多反应监测模式(dynamic multiple reaction monitoring, dMRM)进行测定。**结果** 36 种瘦肉精在 10 min 内完成分离分析, 其在 0.5、1.0 和 5.0 μg/kg 添加水平的回收率为 62.4%~116%之间, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)在 1.1%~20%之间(*n*=6), 方法检出限为 0.5 μg/kg。**结论** 该方法简便快速, 准确度和精密密度均满足食品检测要求, 适用于牛羊肉中多组分瘦肉精残留量的测定。

关键词: 多组分瘦肉精; QuEChERS; 牛羊肉样品; 超高效液相色谱-串联质谱法; 食品安全

Determination of 36 clenbuterol residues in beef and mutton samples by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

CHENG Jiang-Chuang, HU Qi-Li, WU Hai-Ping*

(Shanghai Gratech Standard Co., Ltd., Shanghai 201318, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 36 traditional and new clenbuterol residues in beef and mutton by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** After enzymatic hydrolysis, the sample was extracted with formic acid-acetonitrile mixture, and degreased and purified with EMR-Lipid enhanced lipid remover, it was mixed with formic acid aqueous solution by volume ratio of 1:1 and then filtered. Using ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) chromatographic column as the stationary phase, 0.1% formic acid water (containing 5 mmol/L ammonium acetate) (A) and acetonitrile (B) as mobile phases for gradient elution, and electron spray ionization positive mode (ESI+) and dynamic multiple reaction monitoring mode (dMRM) were selected for determination. **Results** The separation and analysis of 36 target compounds was completed within 10 minutes, and the recoveries at the addition levels of 0.5, 1.0 and 5.0 μg/kg were between 62.4%~116%, and the relative standard deviations (RSDs) were between 1.1%~20% (*n*=6). The limit of determination of the method was 0.5 μg/kg. **Conclusion** This method is simple and fast, with its

*通讯作者: 吴海平, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全与检测。E-mail: haiping.wu@gratech.com.cn

*Corresponding author: WU Hai-Ping, Senior Engineer, Shanghai Gratech Standard Co., Ltd., Shanghai 201318, China. E-mail: haiping.wu@gratech.com.cn

accuracy and precision meeting the requirements of food testing, and is suitable for the determination of multi-component clenbuterol residues in beef and mutton samples.

KEY WORDS: multi-component clenbuterol; QuEChERS; beef and mutton samples; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; food safety

1 引言

传统瘦肉精是以克伦特罗为代表的一类人工合成的 β -受体激动剂类化合物,由于其可促进动物体肌肉生长、脂肪分解,增加瘦肉比例^[1],被滥用于食品动物的饲养中。当人们食用含有瘦肉精残留的动物产品时,其对消费者心血管和中枢神经系统会产生不利影响,严重的可引发中毒^[2,3]。我国农业部已禁止 β -受体激动剂类瘦肉精在畜牧生产中的使用^[4-6],然而其滥用情况却屡禁不止。目前我国瘦肉精监管主要集中在克伦特罗等传统瘦肉精,一些饲料生产商、养殖户为躲避监管,将苯乙醇胺 A、赛庚啶、巴氯芬和可乐定等新型瘦肉精^[7,8]作为替代非法添加在动物饲料中。且我国瘦肉精监管的对象主要是饲料和生猪,牛羊肉由于其监管技术的相对缺乏,存在较高的瘦肉精检出风险^[9,10]。随着我国居民肉类消费结构逐渐升级,以及受非洲猪瘟的影响,牛羊肉消费需求不断增加^[11]。为了确保牛羊肉的食品质量与安全,亟需开展同时测定其食用肉组织中多组分传统和新型瘦肉精的方法研究。

目前瘦肉精的测定主要有酶联免疫法^[12,13]、胶体金试纸条法^[14,15]、气相色谱-质谱联用法^[16,17]和液相色谱-质谱联用法^[18-20]等。酶联免疫法和胶体金试纸条法是基于抗原-抗体特异性结合的免疫快筛方法,此类方法具有操作简便快捷、特异性强且价格适中等特点,但其存在难以一次分析多个化合物且存在一定假阳性的缺点。气相色谱-质谱联用法通常需要复杂的衍生化步骤以增强目标物的挥发性,然而分析物不稳定且分析耗时较长。液相色谱-质谱联用法以其高灵敏度和专一性在复杂样品基质中低浓度目标物测定方面具有优势,近几年来在瘦肉精检测方法研究中应用越来越多。牛羊肉基质较为复杂,净化除脂是关键,常用净化方法有固相萃取法^[21]和 QuEChERS 法^[22]。固相萃取法耗时较长,而 QuEChERS 法具有快速、高效、灵敏等特点,被广泛应用于农兽药残留的检测中。QuEChERS 法一般采用 C_{18} 吸附剂净化除脂。相对于普通 C_{18} 吸附剂,EMR-Lipid 增强型去除脂质吸附剂可高选择性去除样品中脂类,减少基质效应,目前已用于水产品中镇静剂^[23]和猪肉中兽药残留^[24]等的样品净化。本研究基于超高效液相色谱-串联质谱法 (ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS),采用酶水解将瘦肉精释放出来,EMR-Lipid 吸附剂改进 QuEChERS 法提取净化,对牛羊肉中 36 种传统和新型瘦肉精进行分离测

定,方法简便快速,可准确定性定量,为牛羊肉中多组分瘦肉精的监测提供了技术手段。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

Exion LCTMAD-SCIEX Triple QuadTM 6500 型超高效液相色谱-三重四级杆质谱联用仪(美国 SCIEX 公司); CU-600 型电热恒温水槽(上海一恒科学仪器有限公司); WH-861 涡旋混合器(太仓市华利达实验设备有限公司); TGL-20M 台式高速冷冻离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司); ANPEL-EFAA-DC24-RT 型氮吹仪(上海安谱实验科技股份有限公司); VisiprepDL24 位固相萃取装置固相萃取装置(美国 SUPELCO 公司); 明澈-D24UVMilli-Q 纯水仪(德国默克 Millipore 公司); ZORBAX Eclipse Plus C_{18} (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8 μ m)色谱柱(美国安捷伦公司); MCX 固相萃取小柱(60 mg/3 mL, 美国沃特世公司)。

36 种瘦肉精标准品:

(1)传统瘦肉精: 特布他林(纯度 96.7%)、西马特罗、克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、氯丙那林、喷布特罗、齐帕特罗、班布特罗、利托君、沙美特罗、马布特罗、克伦潘罗、克伦丙罗、溴氯布特罗、溴布特罗、奥西那林、西布特罗、克仑塞罗、妥布特罗、马喷特罗、非诺特罗、福莫特罗、拉贝特罗、异克伦潘罗和丙卡特罗。

(2)新型瘦肉精: 苯乙醇胺 A、赛庚啶(纯度 92.2%)、可乐定、巴氯芬、R-美托洛尔、多巴胺(纯度 98.8%)、异克舒令(纯度 95.4%)、甲氧酰胺、普萘洛尔和阿替洛尔。

上述标准品除了标示纯度的其余纯度均大于 99%, 均购自北京振翔公司。

内标物质: 二苯拉林(1 mL, 纯度 97.3%)、甲醇中盐酸可乐定-D₄(1 mL, 纯度 98.0%)、乙腈中克伦特罗-D₉(1 mL, 纯度 99.9%)、甲醇中莱克多巴胺-D₃(1 mL, 纯度 99.0%)、沙丁胺醇-D₃(1 mL, 纯度 98.1%)(北京振翔公司)。

甲醇、乙腈、异丙醇、乙酸乙酯(色谱纯, 德国 Merk 公司); 甲酸(质谱纯, 美国 Fisher 公司); 乙酸铵(色谱纯, 上海麦克林生化科技有限公司); 盐酸、氨水、氢氧化钠(分析纯, 上海凌峰公司); 乙酸钠、高氯酸(分析纯, 国药集团); β -盐酸葡萄糖醛苷酸酶/芳基硫酸酯酶(β -葡萄糖醛苷酸酶>100000 units/mL, 芳基硫酸酯酶<20000 units/mL, 上海安谱实验科技股份有限公司); EMR-Lipid SPE 管(内含增强型脂类去除剂)、EMRpolish 粉包(内含无水硫酸镁)(美

续表 1

序号	化合物	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	保留时间/min	去簇电压/V	碰撞电压/V
4	溴氯布特罗	323.1	249*/304.9	4.31	25	26
						20
5	溴布特罗	367	292.9*/348.9	4.57	50	30
						20
6	奥西那林	212.1	152.2*/125.2	1.57	56	19
						28
7	西布特罗	234.1	160.1*/216.2	2.92	59	24
						14
8	异克舒令	302	284.3*/150	4.76	120	26
						28
9	克仑塞罗	319.1	203*/301	3.22	53	33
						16
10	妥布特罗	228.2	154*/172.2	4.02	57	21
						17
11	马喷特罗	325.1	237*/307	5.75	45	25
						17
12	非诺特罗	304.2	107*/135	2.96	73	43
						26
13	福莫特罗	345.1	149*/121	4.06	120	26
						52
14	拉贝特罗	329.1	311*/207	5.21	87	18
						26
15	异克伦潘罗	291.1	273.1*/188.2	5.56	80	24
						32
16	丙卡特罗	291.2	273.3*/231.1	2.73	81	21
						29
17	特布他林	226.1	151.9*/170.2	2.5	99	28
						18
18	西马特罗	220.2	202.1/160.1 /143.3*	2.57	80	16
						26
19	氯丙那林	214.2	196*/153.9	3.56	59	31
						18
20	齐帕特罗	262.2	244*/185	2.54	35	25
						17
21	班布特罗	368.2	294.1*/72	4.7	86	39
						28
						71

续表 1

序号	化合物	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	保留时间/min	去簇电压/V	碰撞电压/V
22	利托君	288.2	269.9*/121.2	3.08	110	19
						32
23	可乐定	230.1	213*/160	2.95	102	36
						50
24	巴氯芬	214	151*/179	3.09	62	31
						21
25	赛庚定	288.2	191.1*/214.9	6.59	80	42
						68
26	沙美特罗	416.2	398.2*/380.1	6.6	100	20
						26
27	苯乙醇胺 A	345.2	327.2*/150	6.3	90	17
						29
28	喷布特罗	292.2	236.2*/201.1	6.7	100	25
						30
29	克伦特罗	277.1	203*/132.1	4	95	23
						41
30	莱克多巴胺	302.1	284.1*/164.3	3.5	80	18
						22
31	沙丁胺醇	240.2	148*/166.1	2.4	78	26
						18.5
32	r-美托洛尔	268.2	116.1*/191	4.04	70	21
						23
33	多巴胺	154	91*/118.3	4.01	144	44
						30
34	甲氧酪胺	151.1	119*/91	1.3	80	18
						27
35	普萘洛尔	260	116.2*/183.1	5.84	108	23
						30
36	阿替洛尔	267.2	190.2*/225.3	2.5	130	26
						23
内标物质	可乐定-D ₄	234	217	2.8	120	41
	克伦特罗-D ₉	286	203.9	4	95	23
	沙丁胺醇-D ₃	243.2	151	2.3	85	25
	莱克多巴胺-D ₃	305.2	167.1	3.5	68	24
	二苯拉林	282.1	167.1/115.9	6.49	55	33
						43

注: “*”表示定量离子。

3.2 色谱条件优化

由于 36 种传统和新型瘦肉精均是极性或者弱极性化合物, 常用 C₁₈ 色谱柱进行色谱分离^[18-24]。流动相中添加甲酸可提高目标化合物的离子化效率, 同时添加乙酸铵可调节流动相 pH, 使目标化合物峰形对称。甲醇和乙腈是常用的有机相, Zhang 等^[25]分别用甲醇和乙腈作有机相, 0.1% 甲酸水为水相, 在同一梯度洗脱程序下分离 14 种 β -受体激动剂药物和 2 种 β -阻滞剂药物, 结果发现氯丙那林、克伦特罗和溴布特罗等在甲醇作流动相时不能完全分离, 而乙腈作为流动相时上述几种目标物均可有效分离, 且目标物峰形较好。本研究选择 0.1% 甲酸水(含有 5 mmol/L 乙酸铵)-乙腈作为流动相, ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱作为固定相, 在 40 °C 柱温下, 36 种传统和新型瘦肉精在 10 min 内

实现较好分离, 见图 1。

3.3 水解条件的选择

β -受体激动剂类药物在动物体内部分通过代谢物的形式排出, 部分与葡萄糖醛酸或者硫酸结合成轭合物, 特别是苯酚型药物如沙丁胺醇和奥西那林等轭合比例较高, 需经水解后将目标物以游离态释放出来再进行提取和净化。水解提取方式有酸分解和酶分解。酸水解主要用高氯酸^[18]、三氯乙酸^[21]和盐酸^[26]等稀的无机酸将 β -受体激动剂药物由结合态变成游离态, 同时无机酸还可以起到沉淀蛋白的作用。但酸水解反应较为剧烈, 会引起部分待测物分解。而酶水解条件比较温和, 常用 β -葡萄糖醛苷酶和芳基硫酸酯酶的混合酶解体系进行酶解。本研究采用 pH 5.2 的乙酸钠缓冲液中混合酶解体系, 37 °C 下对牛羊肉样品避光水解 12~16 h。

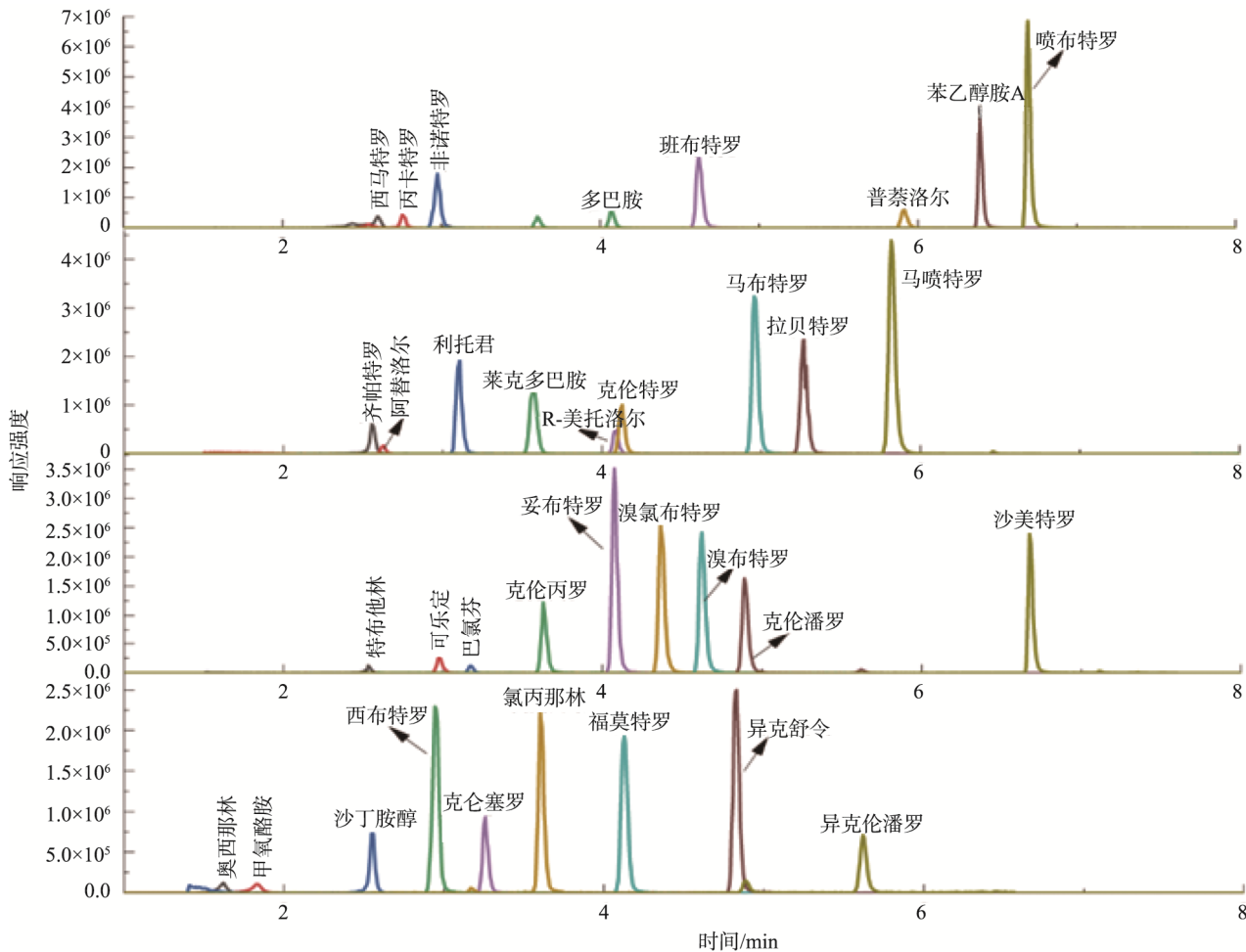


图 1 36 种瘦肉精提取流色谱图
Fig.1 Extraction chromatogram of 36 clenbuterols

3.4 提取净化方法的选择

动物样品经过预处理后采用固相萃取法或者 QuEChERS 法进行提取和净化。QuEChERS 方法一般采用乙腈或者酸化乙腈进行提取, C₁₈ 进行除脂净化。本研究采用 EMR-Liquid 增强型脂质去除吸附剂改进传统 QuEChERS 法, 对酶解后的样品溶液进行净化, 所得样品溶液经过氮气吹干并用 0.1% 甲酸水溶液复溶后过滤, 按照仪器条件进行测定, 发现 36 种瘦肉精的回收率不理想。后将改进 QuEChERS 法所得样品溶液与 0.1% 甲酸水溶液按体积比 1:1 混合后过滤, 所得 36 种瘦肉精的平均回收率在 70% 以上。本研究分别按照 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》^[27] 中的 SPE 方法和改进 QuEChERS 法对酶解后样品进行提取净化, 2 种方法对其中 10 种瘦肉精的回收率影响见图 2。SPE 法净化时, 奥西那林、苯乙醇胺 A、赛庚定、巴氯芬等化合物的回收率很低, 而采用改进 QuEChERS 法可净化牛羊肉等脂质含量高的动物样品, 36 种瘦肉精的回收率均满足定量分析要求。

3.5 基质效应、线性关系和检出限

采用质谱 ESI 源进行定量分析时需要考虑样品基质效应的影响。本研究分别以空白牛肉和空白羊肉为样品基质, 以 10 mg/L 36 种瘦肉精混合标准中间液配制质量浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1、2 μg/L 基质加标系列溶液, 按仪器条件进行测定, 考察样品基质效应。结果表明牛肉和羊肉的样品基质对大多数瘦肉精具有抑制作用。为消除样品基质的干扰, 选择内标法或者基质匹配曲线进行定量。本研究选取 5 种常规的内标物进行定量, 对于与内标不能匹

配的物质用基质匹配曲线外标法进行定量(见表 2)。

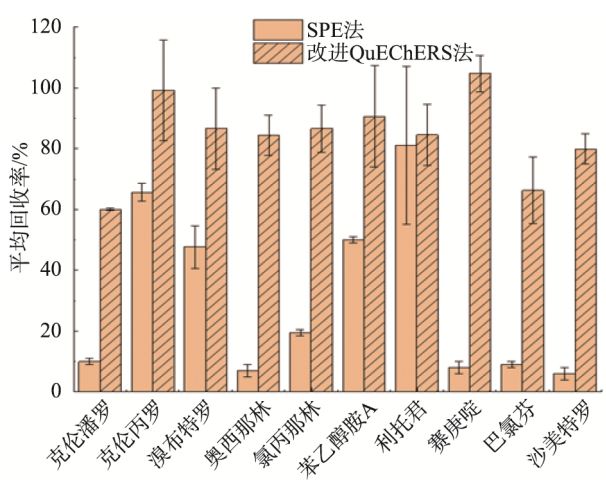


图 2 SPE 法和改进 QuEChES 法净化效果(n=3)
Fig.2 Purification effect of SPE method and improved QuEChES method (n=3)

分别用空白牛肉基质溶液和空白羊肉基质溶液配制质量浓度为 0.1、0.2、1、2、5 μg/L 的标准溶液系列, 按照仪器条件进行测定, 以 36 种瘦肉精的质量浓度(μg/kg)为横坐标, 以其中 25 种瘦肉精的峰面积与内标峰面积之比为纵坐标, 其余 11 种瘦肉精以其峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 并以 3 倍标准偏差作为方法的检出限, 结果见表 2。结果表明, 25 种瘦肉精质量浓度与其相应峰面积之比在 0.1~5 μg/L 质量浓度范围内呈线性关系, 11 种瘦肉精质量浓度与其峰面积在 0.1~5 μg/L 质量浓度范围内呈线性关系; 线性相关系数 r^2 均大于 0.988, 检出限在 0.026~0.30 μg/kg 之间。

表 2 36 种瘦肉精的线性参数和检出限
Table 2 Linear parameters and detection limits of 36 clenbuterols

化合物	内标	牛肉			羊肉		
		线性方程	线性系数(r^2)	检出限/(μg/kg)	线性方程	线性系数(r^2)	检出限/(μg/kg)
马布特罗	克伦特罗-D ₉	$Y=1.39X-0.0207$	0.9964	0.035	$Y=1.48987X-0.02636$	0.9994	0.11
克伦潘罗	/	$Y=6.35e^5X+1872$	0.9985	0.090	$Y=6.56e^5X-8883.15$	0.9988	0.089
克伦丙罗	/	$Y=3.30X+0.04399$	0.9986	0.085	$Y=3.52096X+0.10046$	0.9962	0.16
溴氯布特罗	克伦特罗-D ₉	$Y=1.04X-0.01278$	0.9983	0.050	$Y=1.16678X-0.02070$	0.9989	0.051
溴布特罗	克伦特罗-D ₉	$Y=0.946X-0.00853$	0.9988	0.065	$Y=1.04431X-0.01570$	0.9996	0.055
奥西那林	/	$Y=9.348e^4X-8338$	0.9948	0.056	$Y=1.14e^5X-1725.06$	0.9940	0.063
西布特罗	可乐定-D ₄	$Y=5.22X+0.03665$	0.9977	0.14	$Y=5.47548X+0.10149$	0.9906	0.11
异克舒令	/	$Y=1.61e^6X-24516$	0.9988	0.042	$Y=1.70e^6X-28970.88$	0.9985	0.088
克仑塞罗	可乐定-D ₄	$Y=1.46X+0.03934$	0.9971	0.18	$Y=1.42665X+0.03232$	0.9954	0.10
妥布特罗	克伦特罗-D ₉	$Y=1.19X-0.01907$	0.9970	0.03	$Y=1.34406X-0.01734$	0.9992	0.11
马喷特罗	克伦特罗-D ₉	$Y=13.5X+0.05599$	0.9975	0.04	$Y=12.85X+0.12646$	0.9955	0.10

续表 2

化合物	内标	牛肉			羊肉		
		线性方程	线性系数(r^2)	检出限/($\mu\text{g/kg}$)	线性方程	线性系数(r^2)	检出限/($\mu\text{g/kg}$)
非诺特罗	克伦特罗-D ₉	$Y=0.267X-0.01041$	0.9958	0.065	$Y=0.562X+3.67\text{e}^{-4}$	0.9978	0.076
福莫特罗	沙丁胺醇-D ₃	$Y=0.367X-0.01385$	0.9982	0.055	$Y=0.513X-0.00576$	0.9997	0.11
拉贝特罗	/	$Y=1.27\text{e}^6X-3.94\text{e}^4$	0.9987	0.052	$Y=1.66\text{e}^6X-14089.082$	0.9996	0.098
异克伦潘罗	/	$Y=6.89\text{e}^5X+2309$	0.9981	0.17	$Y=6.95\text{e}^5X-15647.99$	0.9991	0.12
丙卡特罗	克伦特罗-D ₉	$Y=0.278X-0.01650$	0.9887	0.12	$Y=0.451X-0.00239$	0.9974	0.31
特布他林	可乐定-D4	$Y=1.45X+0.15137$	0.9966	0.092	$Y=2.37409X+0.32916$	0.9931	0.11
西马特罗	莱克多巴胺-D ₃	$Y=0.078X+9.99\text{e}^{-5}$	0.9995	0.17	$Y=0.08943X-0.00254$	0.9978	0.097
氯丙那林	莱克多巴胺-D ₃	$Y=0.372X+8.94\text{e}^{-4}$	0.9992	0.042	$Y=0.43216X-0.00547$	0.9997	0.17
齐帕特罗	/	$Y=7.26\text{e}^5X+1.16\text{e}^6$	0.9992	0.15	$Y=5.81\text{e}^5X+9.410\text{e}^4$	0.9994	0.071
班布特罗	克伦特罗-D ₉	$Y=3.27X-0.04018$	0.9972	0.035	$Y=3.64519X-0.04403$	0.9993	0.10
利托君	莱克多巴胺-D ₃	$Y=0.12X+0.00738$	0.9976	0.19	$Y=0.27959X+6.011\text{e}^{-4}$	0.9978	0.21
可乐定	可乐定-D4	$Y=0.525X+0.004$	0.9974	0.070	$Y=0.56X+0.01150$	0.9931	0.22
巴氯芬	/	$Y=3.79\text{e}^4X+837$	0.9955	0.14	$Y=3.81\text{e}^4X-1085.69$	0.9991	0.10
赛庚定	二苯拉林	$Y=0.175X-0.00199$	0.9983	0.032	$Y=0.19X-0.00191$	0.9999	0.026
沙美特罗	/	$Y=1.55\text{e}^6X-23440$	0.9991	0.10	$Y=1.49\text{e}^6X-9878.98$	0.9971	0.18
苯乙醇胺 A	二苯拉林	$Y=0.40X+0.0012$	0.9986	0.065	$Y=0.43689X-0.00276$	0.9997	0.099
喷布特罗	/	$Y=3.93\text{e}^6X-9737$	0.9979	0.058	$Y=2.77\text{e}^6X-8.819\text{e}^4$	0.9987	0.043
克伦特罗	克伦特罗-D ₉	$Y=0.465X+0.0016$	0.9989	0.059	$Y=0.542X-0.00445$	0.9994	0.087
莱克多巴胺	莱克多巴胺-D ₃	$Y=0.305X+0.0047$	0.9985	0.086	$Y=0.34669X+0.00406$	0.9997	0.072
沙丁胺醇	沙丁胺醇-D ₃	$Y=0.51X-0.004$	0.9992	0.039	$Y=0.57706X-0.00141$	0.9999	0.10
R-美托洛尔	克伦特罗-D ₉	$Y=0.16X-0.002$	0.9986	0.035	$Y=0.17X-3.18\text{e}^{-4}$	0.9993	0.30
多巴胺	克伦特罗-D ₉	$Y=0.194X+6.28\text{e}^{-4}$	0.9979	0.10	$Y=0.22X-0.0016$	0.9980	0.14
甲氧酪胺	/	$Y=12167X+1416$	0.9981	0.14	$Y=29692X+14182$	0.9969	0.13
普萘洛尔	莱克多巴胺-D ₃	$Y=0.12X-7.4\text{e}^{-4}$	0.9992	0.047	$Y=0.13X-0.0012$	0.9997	0.065
阿替洛尔	可乐定-D ₄	$Y=0.47X+0.018$	0.9938	0.22	$Y=0.59X+0.0058$	0.9989	0.13

注: “/”表示未采用内标。

3.6 精密度和回收实验

分别向空白牛肉样品和空白羊肉样品添加 36 种瘦肉精 100 $\mu\text{g/L}$ 混合标准溶液使最终浓度为 0.5、1、5 $\mu\text{g/kg}$, 进行加标回收和精密密度实验, 同时做空白实验。结果表明, 36 种瘦肉精在上述 2 种样品基质中回收率在 62.4%~116%($n=6$)之间, RSD 在 1.1%~20%($n=6$)之间, 满足 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》^[28]附录 F 中回收率在 60%~120%范围内和相对标准偏差(relative standard deviation,

RSD)(又称变异系数)小于 21%的要求。

3.7 实际样品分析

称取质控样品(编号为 QC-RG-701903RG04016)1.25 g, 加入 3.75 g 超纯水搅拌 15 min 混匀, 得到肉糜状复原样品 5.00 g, 然后按照本研究方法进行测定, 质控样品中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和特布他林的检出色谱图见图 3, 其含量分别为 2.75、3.42、3.84、4.44 $\mu\text{g/kg}$, 均在其相应特性值区间范围内, 结果满意。

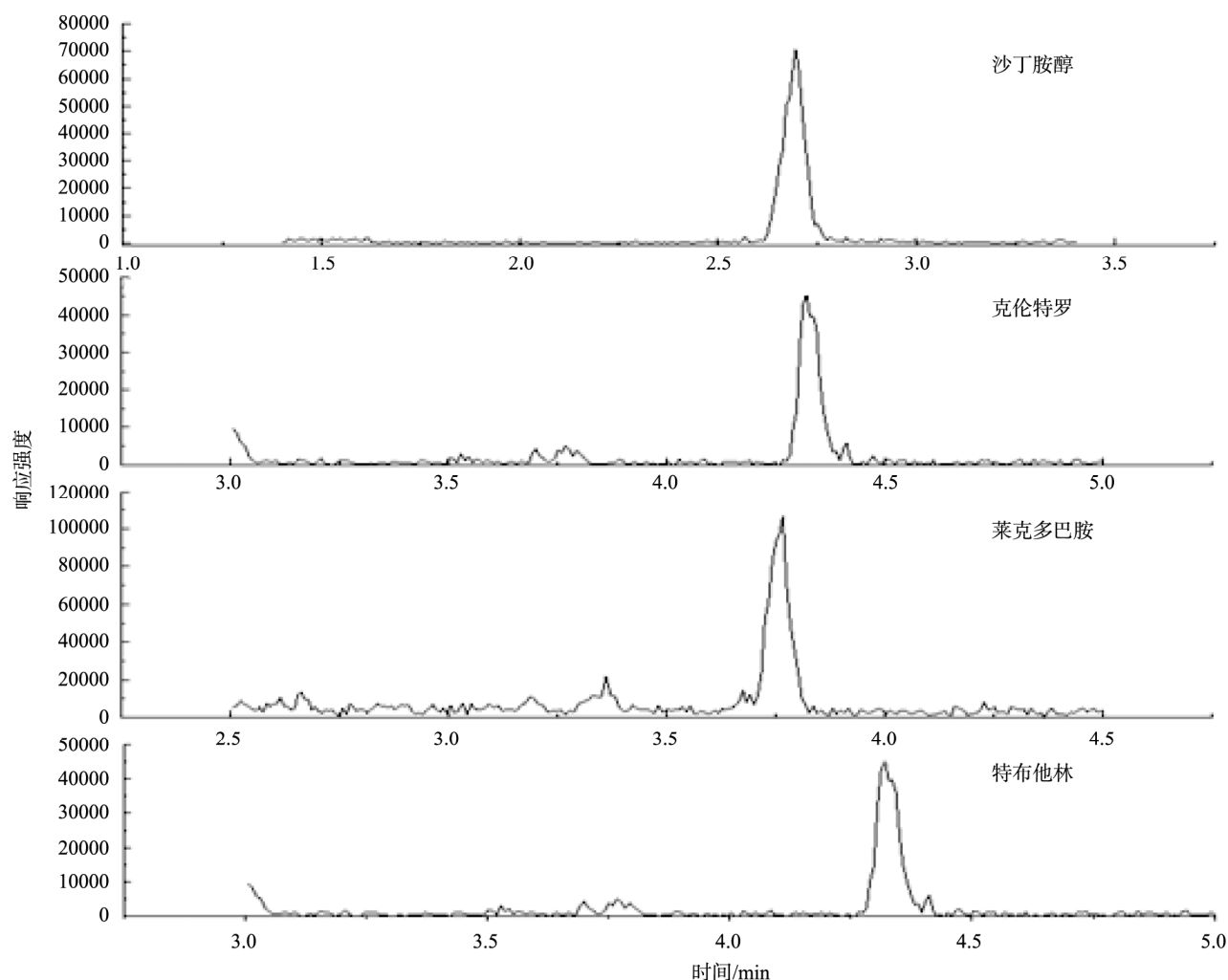


图 3 质控样品中 4 种瘦肉精色谱图

Fig.3 Chromatograms of 4 clenbuterols in quality control samples

4 结 论

本研究通过酶解、改进 QuEChERS 法对牛羊肉中 36 种传统和新型瘦肉精进行提取净化,采用超高效液相色谱-串联质谱法对样品中 36 种瘦肉精残留量进行测定。相对于传统固相萃取方法,该方法简化了实验步骤,有效降低了基质干扰,具有良好的准确度和精密度,可满足日常对牛羊肉中多组分瘦肉精残留的监测需要。

参考文献

- [1] Mersmann HJ. Overview of the effects of beta-adrenergic receptor agonists on animal growth including mechanisms of action [J]. J Anim Sci, 1998, 76(1): 160–172.
- [2] 顾振华, 郑雷军. 上海盐酸克伦特罗食物中毒事件的分析与思考[J]. 中国食品卫生杂志, 2007, (1): 10–12.
Gu ZH, Zheng LJ. Lessons from outbreak of food poisoning caused by clenbuterol in Shanghai [J]. Chin J Food Hyg, 2007, (1): 10–12.
- [3] 刘如春, 张锡兴, 陈田木, 等. 一起盐酸克伦特罗导致食物中毒事件调查[J]. 实用预防医学, 2013, 20(9): 1091–1096.
Liu RC, Zhang XX, Chen TM, *et al.* Survey on a food poisoning incident caused by misuse of human poisoning of clenbuterol [J]. Pract Prev Med, 2013, 20(9): 1091–1096.
- [4] 国家药品监督管理局. 中华人民共和国农业部公告第 176 号[EB/OL]. [2002-02-09].
http://jiuban.moa.gov.cn/zwllm/tzgg/gg/201104/t20110422_1976307.htm
State Drug Administration. Announcement No. 176 of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China [EB/OL]. [2002-02-09].
http://jiuban.moa.gov.cn/zwllm/tzgg/gg/201104/t20110422_1976307.htm
- [5] 国家药品监督管理局. 中华人民共和国农业部公告第 193 号[EB/OL]. [2002-04-09].
http://jiuban.moa.gov.cn/zwllm/tzgg/gg/201104/t20110422_1976324.htm
State Drug Administration. Announcement No. 193 of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China [EB/OL]. [2002-04-09].
http://jiuban.moa.gov.cn/zwllm/tzgg/gg/201104/t20110422_1976324.htm
- [6] 国家药品监督管理局. 中华人民共和国农业部公告第 1519 号[EB/OL]. [2010-12-27]. <http://jiuban.moa.gov.cn/zwllm/tzgg/gg/201104>

- /t20110422_1976294.htm
- State Drug Administration. Announcement No. 1519 of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China [EB/OL]. [2010-12-27]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwl/m/tzgg/gg/201104/t20110422_1976294.htm
- [7] 李阳, 苏晓鸥, 王培龙, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定饲料中 3 种氯丙那林异构体和巴氯芬[J]. 分析化学, 2014, 42(4): 525–530.
- Li Y, Su XO, Wang PL, *et al.* Simultaneous determination of 3 kinds of isomers of clorprenaline and baclofen residues in feed by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2014, 42(4): 525–530.
- [8] 曹金博, 王耀, 李燕虹, 等. 食品中“新型瘦肉精”的检测方法研究进展[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(8): 1–4.
- Cao JB, Wang Y, Li YH, *et al.* Research progress of new type lean meat powder detection methods in food [J]. J Anhui Agric Sci, 2019, 47(8): 1–4.
- [9] 李宏通, 汪健, 芦丹, 等. 2015–2017 年北京市昌平区食品中化学污染物及有害因素监测结果[J]. 职业与健康, 2019, 35(9): 1189–1192.
- Li HT, Wang J, Lu D, *et al.* Monitoring results of chemical contaminants and harmful factors in foods of Changping district from 2015–2017 [J]. Occup Health, 2019, 35(9): 1189–1192.
- [10] 李士凯, 孙婷, 张鑫, 等. 2014—2019 年济南市市售畜肉中 β -受体激动剂含量调查[J]. 实用预防医学, 2020, 27(8): 943–946.
- Li SK, Sun T, Zhang X, *et al.* Survey on contents of β -receptor agonists in livestock-meat marketed in Jinan city, 2014–2019 [J]. Pract Prev Med, 2020, 27(8): 943–946.
- [11] 卢艳平, 肖海峰. 我国居民肉类消费特征及趋势判断——基于双对数线性支出模型和 LA/AIDS 模型[J]. 中国农业大学学报, 2020, 25(1): 180–190.
- Lu YP, Xiao HF. Chinese residents' meat consumption characteristics and trend judgment: Based on the double-log linear expenditure model and LA/AIDS model [J]. J Chin Agric Univ, 2020, 25(1): 180–190.
- [12] Wang X, Liu FT, Beloglazova NV, *et al.* Development of a competitive indirect enzyme-linked immunosorbent assay for screening phenylethanolamine a residues in pork samples [J]. Food Anal Method, 2016, 9(11): 3099–3106.
- [13] Zvereva EA, Shpakova NA, Zherdev AV, *et al.* Highly sensitive immunochromatographic assay for qualitative and quantitative control of beta-agonist ractopamine in foods [J]. Appl Biochem Micro, 2018, 54(4): 436–441.
- [14] 聂雯莹, 罗晓琴, 李金超, 等. 动物尿液中苯乙醇胺 A 胶体金快速检测方法的建立[J]. 中国农业科学, 2015, 48(19): 3931–3940.
- Nie WY, Luo XQ, Li JC, *et al.* Establishment of a detection method for the immune colloidal gold of phenylethanolamine A in animal urine [J]. Sci Agric Sin, 2015, 48(19): 3931–3940.
- [15] Dai M, Gong Y, Liu A, *et al.* Development of a colloidal gold-based lateral-flow immunoassay for the rapid detection of phenylethanolamine A in swine urine [J]. Anal Method UK, 2015, 7(10): 4130–4137.
- [16] 王培龙, 范理, 苏晓鸥, 等. 分子印迹固相萃取-气相色谱-质谱法测定猪尿中 4 种 β -受体激动剂[J]. 分析化学, 2012, 40(3): 470–473.
- Wang PL, Fan L, Su XO, *et al.* Determination of four kinds of β -agonists in swine urine by molecularly imprinted solid phase extraction followed gas chromatography coupled mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2012, 40(3): 470–473.
- [17] 郭蓉, 孙谦, 赵宇鑫, 等. 三重四极杆气质联用法测定熟肉及其制品中多组分 β -受体激动剂残留量[J]. 环境化学, 2019, 38(1): 231–234.
- Guo R, Sun Q, Zhao YX, *et al.* Determination of multi-component beta-agonist residues in meat and its products by triple quadrupole gas chromatography-mass spectrometry [J]. Env Chem, 2019, 38(1): 231–234.
- [18] Chu L, Zheng S, Qu B, *et al.* Detection of β -agonists in pork tissue with novel electrospun nanofibers-based solid-phase extraction followed ultra-high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Food Chem, 2017, 227: 315–321.
- [19] Mastrianni KR, Metavarayuth K, Brewer WE, *et al.* Analysis of 10 β -agonists in pork meat using automated dispersive pipette extraction and LC-MS/MS [J]. J Chromatogr B, 2018, 1084: 64–68.
- [20] Yikilmaz Y, Kuzukiran O, Erdogan E, *et al.* The determination of β agonist residues in bovine tissues using liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Biomed Chromatogr, 2020, 1: 6.
- [21] Fan S, Miao H, Zhao YF, *et al.* Simultaneous detection of residues of 25 beta(2)-agonists and 23 beta-blockers in animal foods by high-performance liquid chromatography coupled with linear ion trap mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(8): 1898–1905.
- [22] Guo P, Wan JC, Zhan CR, *et al.* A simplified sample pretreatment for the rapid determination of 22 β -agonist residues in swine muscle and liver tissues by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2018, 1096: 122–134.
- [23] 何晓明, 余鹏飞, 刘强欣, 等. 改良 QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中的 13 种镇静剂[J/OL]. 食品工业科技: 1–11 [2020-08-24]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20200628.1630.032.html>.
- He XM, Yu PF, Liu QX, *et al.* Simultaneous determination of 13 sedative residues in aquatic products by modified QuEChERS combined with high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J/OL]. Sci Technol Food Ind: 1–11 [2020-08-24]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20200628.1630.032.html>.
- [24] 王飞, 宓捷波, 李淑静, 等. 改良的 QuEChERS 样本前处理/高效液相色谱-串联质谱法检测猪肉中四环素类兽药的残留[J]. 分析测试学报, 2017, 36(2): 272–275.
- Wang F, Mi JB, Li SJ, *et al.* Determination of tetracyclines residues in pork by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with modified QuEChERS sample pretreatment [J]. J Instrum Anal, 2017, 36(2): 272–275.
- [25] Zhang Z, Zhang Z, Yan H, *et al.* Analysis of multiple β -agonist and β -blocker residues in porcine muscle using improved QuEChERS method

and UHPLC-LTQ orbitrap mass spectrometry [J]. Food Anal Method, 2016, 9(4): 915-924.

(责任编辑: 于梦娇)

- [26] Wang XJ, Zhang F, Ding F, *et al.* Simultaneous determination of 12 β -agonists in feeds by ultra-high-performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2013, 1278: 82-88.

- [27] 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 residues in food stuff of animal origin-Liquid chromatography with tandem-mass spectrometric method [S].

- [28] GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测[S].

GB/T 27404-2008 Criterion on quality control of laboratories-Chemical testing of food [S].

作者简介



程江闯, 研发专员, 主要研究方向为食品安全与检测。

E-mail: 360030688@qq.com



吴海平, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全与检测。

E-mail: haiping.wu@gratech.com.cn

“生物毒素研究”专题征稿函

随着社会经济的发展, 人民越来越关注食品的安全问题。在日常生活中, 食物中毒事件时有发生。在食品安全事件中, 生物毒素中毒事件占一定比例。生物毒素是生物体内所产生的有毒代谢产物, 包括微生物毒素、植物毒素、动物毒素和海洋毒素。生物毒素不仅对消费者的健康造成危害, 还会对养殖业、种植业、畜牧水产业等行业造成巨大的经济损失。因此, 关注食品中生物毒素的安全, 是一项具有重大经济意义和科学意义的事情。

鉴于此, 本刊特别策划“生物毒素研究”专题。专题将围绕生物毒素的产生与调控机制、生物毒素的快速检测与筛查技术、生物毒素的脱毒方法与机制、生物毒素的毒理研究与风险评估、生物毒素的标准物质研发、生物毒素型药物的开发研究等问题展开讨论, 计划在 2021 年 1~2 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 学报主编国家食品安全风险评估中心吴永宁研究员及编辑部全体成员特别邀请有关食品领域研究人员为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述及研究论文均可, 请在 2020 年 12 月 30 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。再次感谢您的关怀与支持!

投稿方式(注明专题**生物毒素研究**):

网站: www.chinafoodj.com(备注投稿请登录食品安全质量检测学报主页-作者登录-注册投稿-投稿选择“专题: 生物毒素研究”)

邮箱投稿: E-mail: jfoodsq@126.com(备注: **生物毒素研究**专题投稿)

《食品安全质量检测学报》编辑部