

超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源食品中 肾上腺素和去甲肾上腺素的残留

张海超, 魏欣欣, 王 敬, 贾海涛, 刘宝如, 张婧雯*

(石家庄海关技术中心, 石家庄 050051)

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)测定动物源食品中肾上腺素和去甲肾上腺素残留的方法。**方法** 样品经乙腈-1%三氯乙酸溶液提取, 用Bond Elut PBA固相萃取柱净化后, 以0.1%甲酸溶液与乙腈作为流动相, 经金刚烷基柱Capcellpak ADME色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm)分离, 采用多反应监测模式, 以¹³C₂, ¹⁵N-肾上腺素和去甲肾上腺素-D₆为内标进行定量测定。**结果** 肾上腺素和去甲肾上腺素在0~200.0 ng/mL范围内线性关系良好($r > 0.998$), 定量限为10 μg/kg。当肾上腺素和去甲肾上腺素添加水平为10、20和100 μg/kg时, 平均回收率为96.0%~109.5%, 相对标准偏差在1.23%~5.71%之间。**结论** 该方法前处理提取率高、重复性好, 适用于动物源性食品中肾上腺素和去甲肾上腺素的检测, 可为动物源性食品中非法添加的检测提供技术支持。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 动物源食品; 肾上腺素; 去甲基肾上腺素

Determination of epinephrine and norepinephrine residues in animal derived food by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHANG Hai-Chao, WEI Xin-Xin, WANG Jing, JIA Hai-Tao, LIU Bao-Ru, ZHANG Jing-Wen*

(Technical Center of Shijiazhuang Customs District, Shijiazhuang 050051, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of epinephrine and norepinephrine residues in animal derived food by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** The sample were extracted with acetonitrile-1% trichloroacetic acid solution, purified by Bond Elut PBA solid phase extraction column, and separated on a Capcell Pak ADME chromatographic column (150 mm×4.6 mm, 5 μm) with 0.1% formic acid solution and acetonitrile as mobile phases, the multiple reaction monitoring mode was adopted for the quantitative determination with ¹³C₂, ¹⁵N-epinephrine and norepinephrine-D₆ as internal standards. **Results** The epinephrine and norepinephrine had good linear relationships in range of 0–200.0 ng/mL ($r > 0.998$), the limit of quantification was 10 μg/kg. When the addition levels were 10.0, 20.0, and 100.0 μg/kg, the average recoveries were 96.0%–109.5%, and the relative standard deviations were 1.23%–5.71%. **Conclusion** This method has high extraction

基金项目: 河北省科技计划项目(21475501D)、海关总署科技计划项目(2019HK112)

Fund: Supported by the Hebei Science and Technology Program (21475501D), and the Scientific Research Projects of the General Administration of Customs (2019HK112)

*通信作者: 张婧雯, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: jingwen0415@163.com

*Corresponding author: ZHANG Jing-Wen, Master, Senior Engineer, Technical Center of Shijiazhuang Customs District, No.318, Hepingxi Road, Xinhua District, Shijiazhuang 050051, China. E-mail: jingwen0415@163.com

efficiency and good repeatability, and is suitable for the detection of epinephrine and norepinephrine residues in foodstuffs of animal origin, which can provide a technical support for determination of illegal additives.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; animal derived food; epinephrine; norepinephrine

0 引言

肾上腺素(epinephrine, EP)及去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)作为神经递质和激素,可提高心肌的兴奋性,与人们的健康与疾病密切相关,在人体的心血管系统、神经系统、内分泌腺、肾脏等组织系统的生理活动中起着广泛的调节作用^[1-2]。EP 能使心肌收缩力加强、兴奋性增高,能直接作用于冠状血管引起血管扩张^[3],改善心脏供血,利用其兴奋心脏收缩血管及松弛支气管平滑肌等作用,可以缓解血压下降、呼吸困难、心跳微弱等症状。NE 作为 EP 的前体,由肾上腺髓质分泌,是一种广泛分布的中枢和自主神经递质。EP 和 NE 均为儿茶酚胺类物质,其基本化学结构信息如图 1 所示。肾上腺素类药物在 20 世纪 60 年代曾被视为是增加恢复心跳机会的特效药^[4],但当其用量过大或皮下注射误入静脉时,可引起血压骤升、心律失常,严重者可发展为脑溢血、心室颤动,甚至死亡^[5-7]。

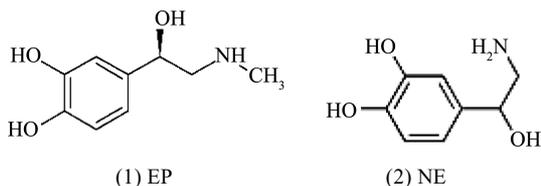


图 1 EP 和 NE 的化学结构信息

Fig.1 Chemical constructions of EP and NE

在养殖业中,一些不法商贩为谋取暴利,利用儿茶酚胺类等 β 受体激动类药物促进生长的特性,将该类药物掺水并注入猪牛等畜体内,使得畜体倍感口渴后大量饮水,以此来提高畜肉中的含水量。用药后的畜体在宰杀后,肉质呈现质地水润、色泽鲜红等特点。因此,不法商贩利用以上方法既可以诱引消费者购买^[8],又可以躲避相关机构对注水肉的监管及处罚。肾上腺素类药物的残留不仅对普通消费者的身体健康存在安全隐患,而且对职业运动员来说,无论有意或者无意摄入该类物质都会对比赛成绩造成影响。目前,针对 EP 和 NE 的检测研究多见于尿液^[9-10]和血液^[11-12]等生物基质,为了减少药物残留引发的食品安全问题,亟需建立一种针对动物源性食品中的 EP 和 NE 残留量的高效可靠的检测方法。

目前,国内外报道的针对肾上腺素和去甲肾上腺素等儿茶酚胺的检测方法有分光光度法^[13]、离子色谱法^[14-15]、电化学法^[16-17]、毛细管电泳法^[18]、放射免疫和酶免疫^[19]、化学

发光法^[20]、荧光光度法^[21]、高效液相色谱法^[9,22]、气相色谱-质谱法^[23]和液相色谱-串联质谱法^[24-28]。其中酶联免疫法的结果需要其他方法进行验证;液相色谱法常与电化学法和荧光光度法联用^[29]以提高方法灵敏度,但阳性结果最终仍需要质谱确证;气相色谱-质谱法灵敏度高,但前处理过程需要衍生,实验时间长,操作烦琐。液相色谱-串联质谱技术在特异性、灵敏度、多组分检测能力等方面具有明显的优势,已成为国际上兽药残留检测技术的主流。例如,何志霞^[28]对猪肉中的肾上腺素、去甲肾上腺素、多巴胺残留进行了测定;何亮娜等^[30]利用 WCX 固相萃取(solid phase extraction, SPE)柱结合超高效液相色谱-串联质谱法对畜禽肉及肉制品中的肾上腺素和多巴胺的残留量进行了测定。而对于动物源性食品中肾上腺素和去甲肾上腺素的同时测定研究较少,国内现行相关标准只有 SN/T 5170—2019《出口动物源食品中肾上腺素和去甲肾上腺素的测定》,该标准采用液相色谱法定量、阳性样品液相色谱-串联质谱法确证,方法定量限水平较高(100 $\mu\text{g}/\text{kg}$),检测周期较长。因此,本研究通过固相萃取柱选择对样品进行净化并结合超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)和同位素内标法定量确证,为动物源食品中 EP 和 NE 本底值的痕量分析提供检测方法,对市场监管和食品安全标准的建立提供有效的技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

实验所用猪肉、牛肉、羊肉、鸡蛋购于当地超市。

Bond Elut PBA 固相萃取柱(100 mg, 3 mL, 美国 Agilent 公司); 0.22 μm 有机滤膜(天津博纳艾杰尔公司); 玻璃纤维滤纸(北京中检维康生物技术有限公司); 乙酸铵、氨水、甲酸、三氯乙酸、乙酸铵(分析纯, 广州化学试剂厂); 乙腈、甲醇(色谱纯, 美国 Sunrise Chemical 公司); 甲酸(色谱纯, 美国 DIKMA 公司)。

EP 标准品(纯度 99.4%, 德国 Dr. Ehrenstorfer 公司); NE 标准品(纯度 98%, 上海阿拉丁公司); $^{13}\text{C}_2$, ^{15}N -EP 标准品(纯度 99.5%, 上海安谱实验科技股份有限公司); NE- D_6 标准品(纯度 85%, 加拿大 TRC 公司)。

1.2 仪器与设备

ACQUITY UPLC 超高效液相色谱仪、Waters Xevo TQ-S 串联四极杆质谱仪[配有电喷雾离子源(electron spray

ionization, ESI)]、Waters ACQUITY C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)、Waters ACQUITY HSS T3 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)(美国沃特世公司); Capcell Pak ADME 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm)、Capcell Pak ADME 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 2.7 μm)(日本资生堂公司); CR22GIII 冷冻离心机(日本日立公司); Vortex-Genie2 涡旋振荡器(美国 Scientific Industries 公司); PT3100D 均质器(瑞士 KINMATICA 公司); Milli-Q Element 超纯水系统(美国 Millipore 公司); XS205DU 电子分析天平(感量分别为 0.1 mg 和 0.001 g, 瑞士 Mettler Toledo 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

分别称取适量 EP 和 NE 标准品用 1%甲酸甲醇溶解配制成 200 μg/mL 单标准储备液, -18℃冷冻保存。准确吸取上述标准储备液各 0.50 mL, 置于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 配制成 10 μg/mL 的混合标准中间液, -18℃冷冻保存。使用前根据需要稀释为适当浓度的混合标准工作溶液。

分别称取适量 ¹³C₂, ¹⁵N-EP 和 NE-D₆ 标准品用 1%甲酸甲醇溶解配制成 100 μg/mL 单标准储备液, -18℃冷冻保存。准确吸取上述内标标准储备液各 0.50 mL, 置于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 配制成 5 μg/mL 的混合标准中间液, -18℃冷冻保存。

混合标准工作溶液配制: 准确量取适量混合标准中间液, 用 0.1 mol/L 甲酸水溶液配制成质量浓度为 2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0、200.0 ng/mL 的系列标准工作溶液, 内标含量为 50 ng/mL, 现用现配。

1.3.2 样品前处理

称取匀浆后的动物源样品 2.0 g(精确至 0.01 g)于 50 mL 具塞塑料离心管中, 加入 10 mL 乙腈-1%三氯乙酸溶液, 均质提取 1 min, 小心调节 pH 至 8.5±0.05, 4℃低温 10000 r/min 离心 10 min, 待净化。

分别用 3 mL 甲醇、3 mL 水和 3 mL 0.1 mol/L 乙酸铵溶液(pH 8.5)活化 PBA 柱, 分取 5 mL 上述提取液过柱, 流速控制在 2 mL/min, 如样品油脂较多可先用玻璃纤维滤纸过滤后再上柱净化。分别用 3 mL 水和 3 mL 甲醇淋洗, 真空泵抽干 2 min, 用 2 mL 0.1 mol/mL 甲酸溶液洗脱, 经 0.22 μm 滤膜过滤, 混匀, 待测。

1.3.3 液相色谱条件

色谱柱为 Capcell Pak ADME 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流速 0.30 mL/min; 柱温 35℃; 进样体积 5 μL; 流动相 A 为 0.1%甲酸水溶液, 流动相 B 为乙腈, 梯度洗脱: 0~1.5 min, 92%A; 1.5~2.0 min, 92%~10%A; 2.0~4.0 min, 10%A; 4.0~4.01 min, 92%A; 4.01~5.50 min, 92%A。

1.3.4 质谱条件

电喷雾电离(electrospray ionization, ESI), 正离子扫描

模式(ESI+); 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)扫描; 毛细管电压: 0.5 kV; 锥孔电压: 30 V; 离子源温度 150℃; 去溶剂气(N₂)温度: 500℃; 去溶剂气流速: 800 L/h; 锥孔气流速: 150 L/h; 碰撞气(Ar)流速 1.7 mL/min; 肾上腺素、去甲肾上腺素及同位素内标的 MRM 参数见表 1。

表 1 EP、NE 及同位素内标的 MRM 参数
Table 1 MRM parameters of EP, NE and internal standards

分析物	保留时间 /min	离子对 (<i>m/z</i>)	碰撞气能量 /eV
EP	1.43	184.1/107.1	20
		184.1/166.1*	10
NE	1.37	152.0/107.0*	15
		152.0/135.0	12
¹³ C ₂ , ¹⁵ N-EP	1.44	187.0/108.1*	20
NE-D ₆	1.36	157.9/110.9*	18

注: *表示定量离子。

1.4 数据分析

本研究采用 Waters 公司的 Masslynx 4.1 软件采集实验数据并导出色谱图, 采用 Target Lynx 4.1 软件进行定性定量分析; 采用 Microsoft Word 2016 软件对实验数据进行表格绘制; 采用 Microsoft Excel 2016 软件对实验数据进行柱状图的绘制。所有实验至少重复 3 次, 数据以平均值±标准偏差表示。

2 结果与分析

2.1 仪器条件的优化

2.1.1 质谱条件的建立

EP 和 NE 化合物均为含氨基的弱碱性化合物, 易带正电荷, 在正模式扫描下响应值较高, 得到相应的[M+H]⁺的准分子离子峰。以分子离子峰为母离子, 对离子源参数(毛细管电压, 离子源温度、去溶剂气温度及流量、锥孔气流量、源内碰撞能)等参数进行优化, 使质谱仪的测定灵敏度达到最高; 然后在一定的碰撞能量下对二者的子离子进行全扫描, 得到二级质谱图, 选择丰度强且干扰较少的两对子离子, 以 MRM 正离子模式优化各质谱参数, 使样品溶液中的离子化效率和峰形达到最佳。NE 由于高温易失水, 所以母离子选择 *m/z* 152.0, 各化合物离子参数见表 1。由于动物源基质中 NE 会在 2 min 后出现响应很强的干扰峰, 所以 NE 采用分段扫描, 只在 0~2 min 进行扫描。

2.1.2 色谱柱的选择

EP 和 NE 均带有 3 个羟基, 均为极性化合物, 在非极性色谱柱上保留较弱, 为使化合物更好分离和得到良好峰形, 本研究对比采用色谱柱 Waters ACQUITY C₁₈ (100 mm×

2.1 mm, 1.7 μm), Waters ACQUITY HSS T3 (100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm)、Capcell Pak ADME (150 mm \times 4.6 mm, 5 μm)和 Capcell Pak ADME (150 mm \times 4.6 mm, 2.7 μm) 4 种色谱柱的, C_{18} 保留较弱, T3 和 ADME 柱对目标物形成有效保留, 但其中 5 μm 的 ADME 色谱柱峰形良好且稳定。因此, 选择粒径为 5 μm 的 Capcell Pak ADME 色谱柱分离待测化合物。

2.1.3 流动相的选择

本研究选择了水-甲醇、水-乙腈体系作为流动性, 分别考察了待测物在不同流动相中的响应值。对比发现, 水-乙腈作为流动相时出峰响应值更高。由于 EP 和 NP 均为含氨基的弱碱性化合物易带正电荷, 流动相中加入甲酸可以提高目标物的电离效果, 改善样品出峰时的拖尾、峰形对称性差等情况, 还可提高实验灵敏度。因此, 本研究还比较了在流动相中加入不同浓度的甲酸溶液对色谱分离和质谱响应的影响。结果发现, 乙腈中加入 0.1% 的甲酸后使得目标物的质谱响应均有显著提高, 峰形也较好, 保留稳定。因此实验最终确定以乙腈和 0.1% 甲酸溶液作为流动相梯度洗脱, EP 和 NP 可以有效分离且峰形和对称性较好, 干扰较小。

2.2 提取条件的优化

EP 及 NE 均含有羟基和氨基, 易溶于水溶液和有机溶剂属于强极性化合物, 常用的提取溶剂涉及乙腈、乙酸铵溶液和高氯酸溶液等, 本研究只考察常用提取溶剂乙腈、乙腈-水(95:5, $V:V$)、乙腈-1%三氯乙酸溶液(7:3, $V:V$)的提取效果。实验选用 6 份 2.0 g 牛肉加标(添加 100 ng EP 和 100 ng NP)分别用上述 3 种提取溶液进行前处理提取, 实验发现乙腈水与乙腈-1%三氯乙酸溶液的提取回收率都较高, 但是考虑到 EP 和去 NE 易被氧化, 所以在提取溶液中加入适量酸以防止氧化, 实验最终选用乙腈-三氯乙酸溶液(7:3, $V:V$)提取, 且沉淀蛋白效果良好。

动物源食品中脂肪、蛋白含量比较高, 容易对样品提取过程造成影响。实验对均质提取法与超声提取法进行考察, 发现样品经过均质提取, 提取效果高, 因此从实验效果、提取时间和实验成本等因素考虑, 最终选择均质提取 1 min。

2.3 净化条件的选择

大部分动物源食品富含蛋白质、磷脂和油脂, 样品过脏会堵塞 SPE 小柱, 因此在过 SPE 柱之前要对样品进行净化, 利用 10000 r/min 4 $^{\circ}\text{C}$ 低温离心 10 min 去油, 如油脂过多则选用玻璃纤维滤纸过滤后再过 SPE 柱净化。

查文献得知 EP 的酸解离常数 pK_a 值为 8.55^[31], NP 的 pK_a 值为 8.58, 因此在离子交换萃取柱上应有保留; 另外, HLB 亲水亲酯柱对极性有机碱类化合物也具有一定的吸附能力, PBA 苯硼酸柱中的苯硼酸与 EP 和 NP 可形成硼酸酯键, 在碱性和中性环境下相对稳定, 而在酸性环境下发生裂解, 对肾上腺素类药物有较好的选择性。因此, 本研

究比较了 HLB 柱、PCX 强阳离子交换柱、WCX 弱阳离子交换柱和 PBA 苯硼酸柱 4 种固相萃取柱的萃取回收率。选用 12 份 2.0 g 牛肉加标(添加 100 ng EP 和 100 ng NP)经过各种上样条件和洗脱条件处理, 其回收率如图 2 所示。结果发现, PBA 苯硼酸柱作为固相萃取柱对目标物有较高的选择性, 绝对回收率相对较高。因此最终选择 PBA 固相萃取柱进行净化。

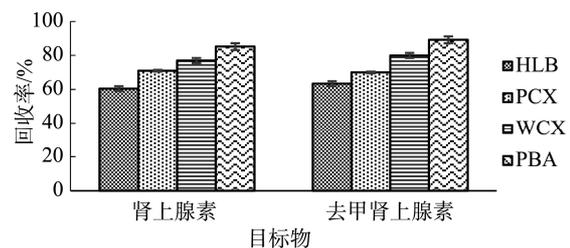


图 2 不同 SPE 柱对目标物绝对回收率的比较($n=3$)

Fig.2 Comparisons of the absolute recoveries of targets with different SPE columns ($n=3$)

从提取溶剂、提取方式、SPE 柱的选择看, EP 和 NE 回收率具有相似的规律, 这可能是由于它们的结构和化学性质相似。EP 在不同的影响因素中回收率较低, 可能是其化学性质相比更不稳定, 更容易被外界(基质/环境)因素干扰。因此, 在利用氨水溶液和盐酸溶液调节提取溶液 pH 时, 将 pH 控制在 8.5 ± 0.1 , 调节过程中 pH 最大值不能超过该范围。

2.4 基质效应的考察

液相色谱-串联质谱法分析检测时存在基质效应(matrix effect, ME), 该效应会引发信号的抑制或增强。基质效应影响大时会降低方法的灵敏度和准确性, 给测定带来误差, 因此, 为保证数据结果的可靠性和稳定性, 实验对 ME 做出评价。ME/%=(基质匹配标准曲线的斜率/纯溶剂标准曲线的斜率) $\times 100\%$ 。一般认为, ME 在 85%~115% 之间则认为基质效应不明显。本研究对牛肉、羊肉、猪肉和鸡蛋 4 种基质进行 ME 评价。如图 3 所示, 羊肉和牛肉中 EP 和 NE 基质抑制效应最为明显。因此本方法采用单点同位素内标法对基质抑制进行补偿, 从而达到准确定量。

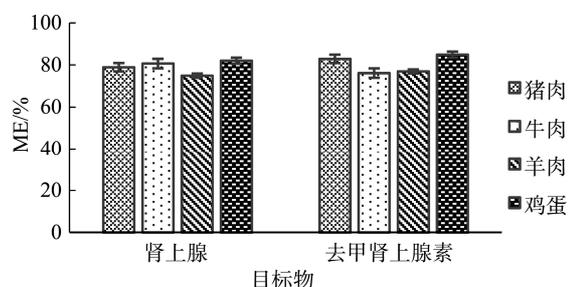


图 3 不同基质中肾上腺素和去甲肾上腺素的基质效应($n=3$)

Fig.3 Matrix effects of EP and NE in different matrices ($n=3$)

2.5 方法学验证

2.5.1 线性关系及定量限

在本方法所确定的实验条件下, 分别配制质量浓度为 2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0、200.0 ng/mL 7 个标准系列进行液相色谱-串联质谱法测定, 以定量离子的响应峰面积与内标响应峰面积比(Y)对相应的质量浓度(X, ng/mL)绘制标准曲线。在 0~200.0 ng/mL 范围内, EP 的线性方程为 $Y=1.25743X-0.6515615$, 线性相关系数为 0.9986; NE 的线性方程为 $Y=1.43578X-0.018175$, 线性相关系数为 0.9983。EP 和 NE 均在线性范围内线性关系良好。

根据前处理过程中提取净化的稀释倍数及测定时所受的干扰情况, 实验以空白添加法确定了 UPLC-MS/MS

测定 EP 和 NE 的定量限为 10 μg/kg, 满足检测的要求。

2.5.2 回收率

肾上腺素和去甲肾上腺素是内源性物质, 因此无法得到完全不含有目标物的空白基质。因此, 本研究采用标准加入法进行方法学验证, 更真实反映样品基质。实验分别选取猪肉、牛肉、羊肉和鸡蛋为样品基质, 在 1、2、10 倍测定低限的添加水平上进行添加回收率实验, 每个水平重复做 6 次, 测得方法的平均回收率为 96.0%~109.5%, 相对标准偏差 (relative standard deviations, RSDs) 为 1.23%~5.71%, 符合规定的要求, 其检测结果见表 2。以牛肉基质为例, 牛肉空白基体和加标基体样品的 MRM 色谱图见图 4。

表 2 动物性食品中肾上腺素和去甲肾上腺素的平均回收率和精密度(n=6)
Table 2 Average recoveries and RSDs of EP and NE in animal derived food (n=6)

化合物	添加水平/(μg/kg)	猪肉		牛肉		羊肉		鸡蛋	
		平均回收率/%	RSDs/%	平均回收率/%	RSDs/%	平均回收率/%	RSDs/%	平均回收率/%	RSDs/%
EP	10.0	102.1	3.01	106.9	4.03	96.0	4.85	101.1	5.42
	20.0	104.0	2.50	103.0	2.94	99.3	3.76	99.5	3.62
	100.0	99.5	1.23	101.1	3.20	98.8	2.45	101.2	3.47
NE	10.0	109.5	4.82	106.2	4.83	97.9	4.71	102.2	5.71
	20.0	108.0	3.52	105.2	3.27	100.1	3.27	100.8	3.61
	100.0	101.6	3.03	105.9	2.71	98.2	2.75	101.5	4.15

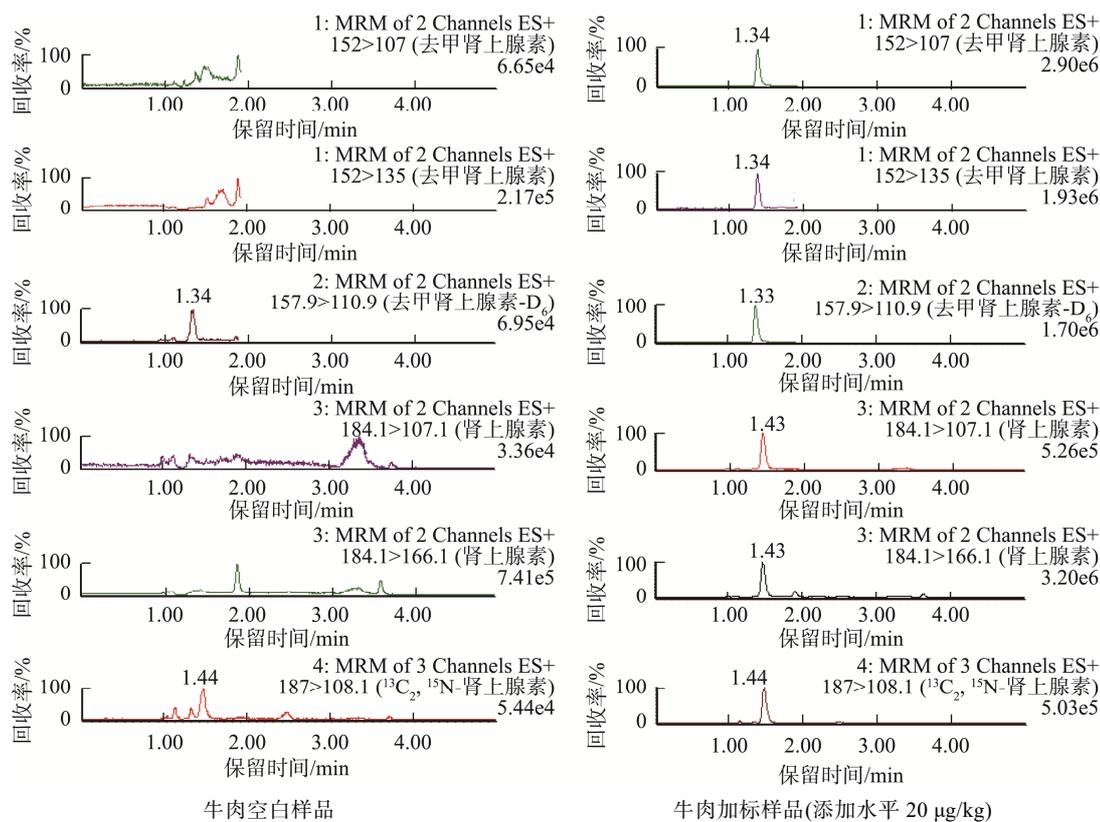


图 4 牛肉空白基体及加标样品多反应监测色谱图

Fig.4 MRM chromatograms of beef blank matrix and spiked sample

2.6 实际样品检测

分别对市售的 20 批次猪肉、10 批次牛肉、10 批次羊肉和 10 批鸡蛋样品进行了 EP 和 NE 的检测。结果显示, 50 批次动物源性食品中猪肉检出 NE 3 批, 含量范围为 10.2~15.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 未检出 EP; 牛肉中 NE 的检出 1 批, 含量为 12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 未检出 EP; 其余样品均未检出肾上腺素类药物, 实际样品检测中 NE 总检出率在 8%。

NE 属于天然内源性激素, 在循环血液中的 NE 主要来自肾上腺髓质, 而神经末梢释放的 NE 也有一小部分进入血液循环。当动物体在应激的情况下, 交感神经兴奋可导致 NE 升高, 引起血压上升以及心率加快等不适, 因此在动物源性的食品中具有一定比例的检出率。目前国内和国际对肾上腺素类药物尚未有明确的限量规定。

3 结 论

本研究经过对色谱条件和提取条件的优化及选择, 建立了以固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源食品中 EP 和 NE 残留量的分析方法。样品用乙腈-1%三氯乙酸溶液(3:7, *V:V*)提取后, PBA 固相萃取柱净化, 以金刚烷基填料色谱柱进行分离并用同位素内标法校正, 较大程度降低了动物源基质对于同时测定 EP 和 NE 两物质的基质效应影响。经方法验证, 该方法前处理提取率高、准确度和灵敏度高、重复性好, 与现行 SN/T 5170—2019 标准比较, 具有更低的定量限, 可实现对肾上腺素类药物的痕量分析检测及确证, 并且缩短了检测周期, 可适用于不同动物源食品基质, 为体育赛事的食品保障工作及动物食品的市场监管提供有效的技术支持, 但对于如何有效区分内源性和外源性注射肾上腺素类药物还有待进一步的研究。

参考文献

- [1] CORSSMIT EP, ROMIJIN JA. Management of endocrine disease: Clinical management of paragangliomas [J]. *Eur J Endocrinol*, 2014, 171(6): 231-243.
- [2] NACHON-GARCIA F, HUTADO-ALVARADO G, ACOSTA-HERNANDEZ ME, *et al.* Characterization of sleep-pattern and neuro-immune-endocrine markers at 24 hour post-injection of a single low dose of lipopolysaccharide in male Wistar rats [J]. *J Neuroimmunol*, 2018, 320(15): 15-18.
- [3] 唐卉, 周满红. 成人心肺复苏中肾上腺素应用的最新研究进展[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2019, 26(5): 632-634.
TANG H, ZHOU MH. Advances in the application of epinephrine in adult cardiopulmonary resuscitation [J]. *Chin J TCM WM Crit Care*, 2019, 26(5): 632-634.
- [4] GOUGH CJR, NOLAN JP. The role of adrenaline in cardiopulmonary resuscitation [J]. *Crit Care*, 2018, 22: 139-146.
- [5] 牛晋阳, 郭文萍, 孙焕, 等. 液质法测定动物源性食品中肾上腺素、多巴胺[J]. *食品科学*, 2009, 30(20): 322-324.
NIU JY, GUO WP, SUN H, *et al.* HPLC-MS-MS determination of adrenalin and dopamine in animal-derived foods [J]. *Food Sci*, 2009, 30(20): 322-324.
- [6] 位佳静, 曹艳云, 王祎娟, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中肾上腺素残留量[J]. *肉类工业*, 2019, (8): 51-53.
WEI JJ, CAO YY, WANG YJ, *et al.* Determination of epinephrine residues in pork by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Meat Ind*, 2019, (8): 51-53.
- [7] 陈少娟, 向力, 江森, 等. 异丙肾上腺素在 C2C12 细胞中分化的作用及机制[J]. *中国细胞生物学学报*, 2017, 39(9): 1178-1187.
CHEN SJ, XIANG L, JIANG M, *et al.* Isoprenaline induced muscle atrophy by inhibiting the differentiation of C2C12 cells into skeletal muscle cells [J]. *Chin J Cell Biol*, 2017, 39(9): 1178-1187.
- [8] 李志刚, 任南, 马燕红, 等. 高效液相色谱-串联质谱法检测鲜冻肉中违禁注水药物[J]. *食品科学*, 2018, 39(12): 308-312.
LI ZG, REN N, MA YH, *et al.* Determination of illegal water-retaining drugs in frozen meat by UPLC-MS/MS [J]. *Food Sci*, 2018, 39(12): 308-312.
- [9] 陈静, 丘宏强. 高效液相色谱-电化学法测定人尿液中儿茶酚胺的浓度[J]. *中国药房*, 2016, 27(26): 3627-3629.
CHEN J, QIU HQ. Concentration determination of catecholamine in human urine by HPLC-electrochemistry [J]. *Chin Pharm*, 2016, 27(26): 3627-3629.
- [10] 毕月玲, 许桐, 陈利琴. 纳米纤维在线固相萃取检测尿液中 3 种儿茶酚胺和 5-羟色胺[J]. *色谱*, 2021, 39(12): 1306-1313.
BI YL, XU T, CHEN LQ. Determination of three urinary catecholamines and serotonin by on-line packed-fiber solid-phase extraction [J]. *Chin J Chromatogr*, 2021, 39(12): 1306-1313.
- [11] 吴朝阳, 丘宏强, 刘茂柏. 阳离子交换-高效液相色谱-电化学法测定人血浆中儿茶酚胺的浓度[J]. *中国医院药学杂志*, 2015, 35(14): 1278-1282.
WU ZY, QIU ZQ, LIU MB. Determination of catecholamine in human plasma by HPLC-ECD and cation exchanged solid phase extraction [J]. *Chin Hosp Pharm J*, 2015, 35(14): 1278-1282.
- [12] 李泰锋, 刘雪梅, 胡蕾, 等. HPLC-MS/MS 法测定人血浆中儿茶酚胺浓度的方法学建立[J]. *中国新药杂志*, 2019, 28(17): 2120-2125.
LI TF, LIU XM, HU L, *et al.* Establishment of a LC-MS/MS method to determine content of catecholamines in human plasma [J]. *Chin J New Drugs*, 2019, 28(17): 2120-2125.
- [13] 孙瑞玲, 倪永年. 化学计量学-动力学分光光度法同时测定两种儿茶酚胺类物质[J]. *南昌大学学报(理科版)*, 2012, 36(5): 440-444.
SUN RL, NI YN. Chemometric assisted kinetic spectrophotometric method for simultaneous analysis two catecholamines [J]. *J Nanchang Univ (Nat Sci)*, 2012, 36(5): 440-444.
- [14] 童囊伦, 朱岩, 郭丹, 等. 离子色谱荧光检测法测定肾上腺素和多巴胺[J]. *分析化学*, 2001, 29(10): 1237-1237.
TONG SL, ZHU Y, GUO D, *et al.* Determination of adrenaline and dopamine by ion chromatography with fluorescence detection [J]. *Chin J Anal Chem*, 2001, 29(10): 1237-1237.
- [15] 曾文芳, 王小芳, 缪磊, 等. 碳纳米管修饰电极安培检测器离子色谱法测定儿茶酚胺类化合物[J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26(5): 628-630.
ZENG WF, WANG XF, MIAO L, *et al.* Determination of catecholamines by electrochemical modified ion chromatography [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2016, 26(5): 628-630.

- [16] RUAN YJ, SHI PY, LEI Y, *et al.* Polyvinyl butyral/ graphene oxide nanocomposite modified electrode for the integrate determination of terminal metabolites of catecholamines in human urine [J]. *J Electroanal Chem*, 2019, 848: 113267–113274.
- [17] TOLMACHEVA VV, YARYKINA DI, GORBUNOVA MV, *et al.* Preconcentration of catecholamine on hypercrosslinked polystyrene and their determination by high performance liquid chromatography [J]. *J Anal Chem*, 2019, 74(11): 1057–1063.
- [18] 黄颖, 张晓丽, 占春荣, 等. 毛细管电泳-安培检测法测定 3 种拟肾上腺素药物[J]. *色谱*, 2010, 28(11): 1084–1088.
HUANG Y, ZHANG XR, ZHAN CR, *et al.* Determination of three adrenergic drugs using capillary electrophoresis with amperometric detection [J]. *Chin J Chromatogr*, 2010, 28(11): 1084–1088.
- [19] 陈建芸, 李林海, 石玉玲, 等. 尿甲氧基肾上腺素及甲氧基去甲肾上腺素在嗜铬细胞瘤诊断中的作用[J]. *生物技术通讯*, 2016, 27(5): 693–695.
CHEN JY, LI LH, SHI YL, *et al.* Significance of uric normetanephrine and metanephrine in diagnosis of pheochromocytoma [J]. *Lett Biotechnol*, 2016, 27(5): 693–695.
- [20] AMJADI M, HALLAJ T, MANZOORI JL, *et al.* An amplified chemiluminescence system based on Si-doped carbon dots for detection of catecholamines [J]. *Spectrochim Acta A*, 2018, 201: 223–228.
- [21] 连宁, 张明, 张雅琦, 等. 儿茶酚胺敏化发光性质的研究及分析应用[J]. *光谱学与光谱分析*, 2019, 39(11): 3487–3492.
LIAN N, ZHANG M, ZHANG YH, *et al.* Study on terbium sensitized luminescence properties of catecholamine and its application [J]. *Spectrosc Spect Anal*, 2019, 39(11): 3487–3492.
- [22] 丘秀珍, 华永标, 郭会时, 等. 分子印迹纳米管膜的制备及对人体尿液中儿茶酚胺类药物的检测[J]. *高等学校化学学报*, 2018, 39(4): 653–659.
QIU XZ, HUA YB, GUO HS, *et al.* Preparation of a molecularly imprinted polymer nanotubes membrane and its application in the determination of catecholamines in urine samples [J]. *Chem J Chin Univ*, 2018, 39(4): 653–659.
- [23] ZAMECNIK J. Quantitation of epinephrine, norepinephrine, dopamine, metanephrine and normetanephrine in human plasma using negative ion chemical ionization GC-MS [J]. *Can J Anal Sci Spect*, 1997, 42(4): 106–112.
- [24] 任南, 赵文涛, 陈超, 等. 固相萃取联合超高效液相色谱-串联质谱法测定畜肉中 3 种儿茶酚胺类物质[J]. *食品科学*, 2019, 40(24): 300–305.
REN N, ZHAO WT, CHEN C, *et al.* Determination of three catecholamines in livestock meat by solid phase extraction combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2019, 40(24): 300–305.
- [25] 李双, 刘忠义, 李露青, 等. 液相色谱-串联质谱法检测猪肉中肾上腺素及其代谢物残留[J]. *环境化学*, 2019, 38(3): 701–703.
LI S, LIU ZY, LI LQ, *et al.* Determination of adrenaline and its metabolites residues in pork by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Environ Chem*, 2019, 38(3): 701–703.
- [26] CHEUK MY, LO YC, POON WT. Determination of urine catecholamines and metanephrines by reversed-phase liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2017, 35(10): 1042–1047.
- [27] 王聪, 赵晓宇, 孙磊, 等. 高效液相色谱-三重四级杆质谱法测定猪肉及肝脏中肾上腺素代谢物[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(21): 7909–7914.
WANG C, ZHAO XY, SUN L, *et al.* Determination of metabolites of adrenaline in pork and liver by high performance liquid chromatography-trip quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(21): 7909–7914.
- [28] 何志霞. 超高效液相色谱串联质谱法测定猪肉中儿茶酚胺类的残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(16): 5608–5613.
HE ZX. Determination of the catecholamines residue in pork by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(16): 5608–5613.
- [29] 周慧, 董佳, 贺茂芳, 等. 生物样品中儿茶酚胺的分析方法研究进展[J]. *化工科技*, 2020, 28(5): 75–80.
ZHOU H, DONG J, HE MF, *et al.* Advances in catecholamines analysis in biological samples [J]. *Sci Technol Chem Ind*, 2020, 28(5): 75–80.
- [30] 何亮娜, 马俊美, 范力欣, 等. 固相萃取结合超高效液相色谱-质谱法测定畜禽肉及肉制品中肾上腺素和多巴胺的残留量[J]. *肉类研究*, 2021, 35(9): 27–32.
HE LN, MA JM, FAN LX, *et al.* Determination of epinephrine and dopamine residues in meat and meat products by solid phase extraction combined with ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Meat Res*, 2021, 35(9): 27–32.
- [31] HAJRATWALA BR. Kinetics of sulfite-induced anaerobic degradation of epinephrine [J]. *J Pharm Sci US*, 1975, 64(1): 45–48.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)

作者简介



张海超, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: haichao0602@163.com



张婧雯, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: jingwen0415@163.com