



动物源食品中 9 种 β -受体激动剂残留量的分析方法

AF10042

一. 实验目的

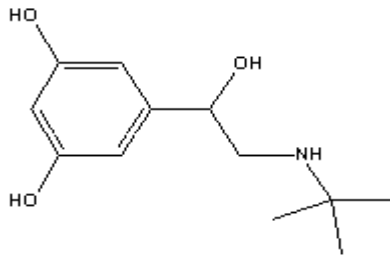
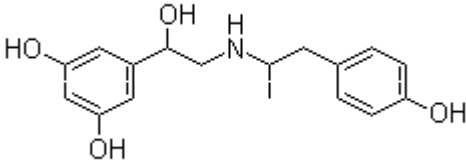
本文使用 Cleanert PCX 固相萃取柱, 按照中华人民共和国国家标准 农业部 1025 号公告-18-2008 公告《动物源食品中 9 种 β -受体激动剂残留检测方法—超高效液相色谱-串联质谱法》提供的方法, 检测猪肉、猪肝、牛肉、羊肉等四种组织中的 9 种 β -受体激动剂残留。

二. 实验方法

测定的 9 种 β -受体激动剂信息

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、妥布特罗和喷布特罗等 9 种 β -受体激动剂信息如表 1 所示。

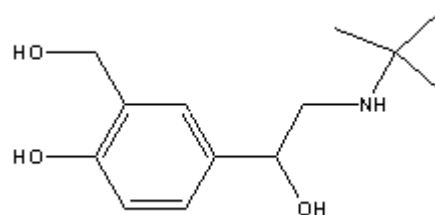
表 1 9 种 β -受体激动剂信息

物质名称	英文名	结构式
特布他林	Terbutalin	
西马特罗	Cimaterol	



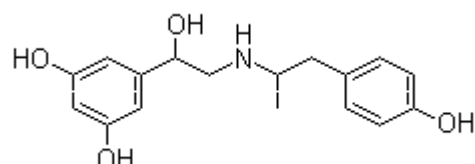
沙丁胺醇

Salbutamol



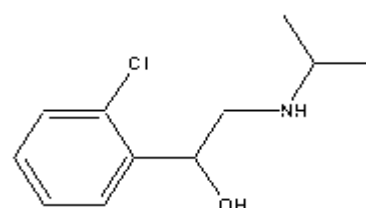
非诺特罗

Fenoterol



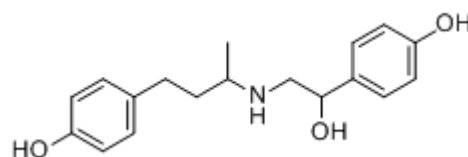
氯丙那林

Clorprenaline



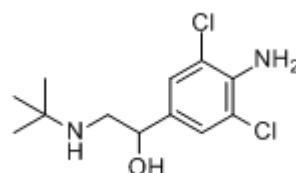
莱克多巴胺

Ractopamine



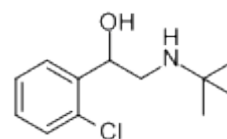
克仑特罗

Clenbuterol



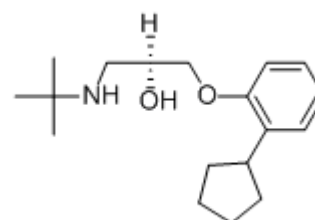
妥布特罗

Tulobuterol



喷布特罗

Penbutolol



样品酶解

分别称取猪肉、猪肝、牛肉和羊肉样品各 2 g（精确到 0.01 g），置于 50 mL 棕色



离心管中，加入 0.2 mol/L 乙酸铵缓冲液（pH 5.2）8.0 mL；再加入 β -盐酸葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶 40 μ L，涡旋混匀，于 37℃ 下避光水浴振荡约 16 h。

样品提取

酶解后放置至室温，涡旋混匀，10000 rpm 离心 10 min；转移上清液于另一 50 mL 离心管内，加入 0.1 mol/L 高氯酸溶液 5 mL，涡旋混匀，用高氯酸调 pH 至 1.0 ± 0.2 ，10000 rpm 离心 10 min；将上清液转移至另一 50 mL 离心管内；用 10 mol/L NaOH 溶液调 pH 至 9.5 ± 0.2 ；加入乙酸乙酯 15 mL，涡旋混匀，并振荡 10 min，5000 rpm 离心 5 min，取出上层有机相至另一 50 mL 离心管内；再在下层水相中加入叔丁基甲醚 10 mL，涡旋混匀，并振荡 10 min，5000 rpm 离心 5 min；合并有机相，50℃ 下氮气吹干，用 2% 甲酸水溶液 5 mL 溶解，备用。

净化处理

PCX 小柱依次用甲醇、水、2% 甲酸溶液各 3 mL 活化；取全部备用液过柱再依次用 2% 甲酸水溶液、甲醇各 3 mL 淋洗，减压抽干；用 3% 氨水甲醇溶液 2.5 mL 洗脱；洗脱液在 50℃ 下用氮气吹干，残余物用甲醇-0.1% 甲酸溶液（10+90，V/V）0.2 mL 溶解，涡旋混匀，15000 rpm 离心 10 min，取上清液适量，供超高效液相色谱-串联质谱仪测定。

检测方法

液相色谱条件

色谱柱：Bonshell C18，50 mm $\times$ 2.1 mm，1.7 μ m；

流动相：A: 甲醇；B: 0.1% 甲酸的水溶液。梯度洗脱步骤如表 2 所示。

表 2 梯度洗脱步骤

时间 (min)	A%	B%	流速 (mL/min)
0.00	5	95	0.30
0.50	5	95	0.30
4.00	45	55	0.30
7.00	80	20	0.30



7.10	5	95	0.30
9.00	5	95	0.30

质谱条件

离子源参考参数，见表3。

表3 离子源参考参数

离子源参数	参考数值
离子源类型	ESI+
毛细管电压	3.2kV
萃取电压	3.0V
RF透镜电压	0.5V
源温	110℃
雾化温度	350℃
锥孔气流速	50L/hr
雾化气流速	650L/hr

质量分析器参考参数见表4。

表4 质量分析器参考参数

质量分析器参数	参考数值
低质量数分辨率LM1	13.0
高质量数分辨率HM1	13.0
离子能量1	1.0
入口电压	3V
出口电压	1V
低质量数分辨率LM2	13.0
高质量数分辨率HM2	13.0
离子能量2	0.5
氦气示数	3.7e-3mbar

光电倍增器电压：650V

定性、定量离子对、锥孔电压和碰撞能量见表5。



表5 9种 β -受体激动剂的定性、定量离子对及驻留时间、锥孔电压、碰撞能量

药物	定性离子对 (m/z)	定量离子对 (m/z)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)
特布他林	226.15>124.67	226.15>151.74	25	22
	226.15>151.74			15
西马特罗	220.18>201.95	220.18>201.95	20	10
	220.18>129.77			16
沙丁胺醇	240.17>147.70	240.17>147.70	22	18
	240.17>221.97			10
非诺特罗	304.15>134.61	304.15>106.59	35	18
	304.15>106.59			30
氯丙那林	214.13>153.75	214.13>153.75	25	18
	214.13>195.97			12
莱克多巴胺	302.33>106.77	302.33>163.87	25	28
	302.33>163.87			15
克仑特罗	277.11>202.78	277.11>202.78	25	15
	277.11>258.94			10
妥布特罗	228.22>153.90	228.22>153.90	25	15
	228.22>171.88			12
喷布特罗	292.36>236.22	292.36>236.22	30	15
	292.36>201.00			20

注：准确质量数在每次实验前进行调谐确认。

9 种 β -受体激动剂特征离子质量色谱图

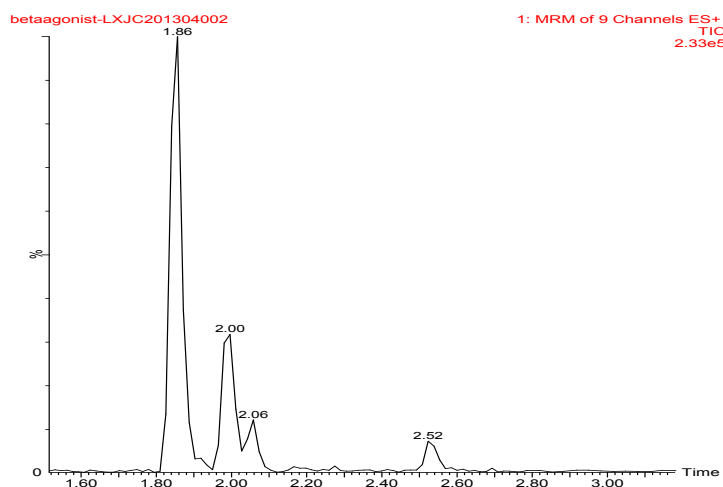


图1 空白猪肉添加试液中 9 种 β -受体激动剂 (0.5 ng/g) 总离子 (TIC) 图

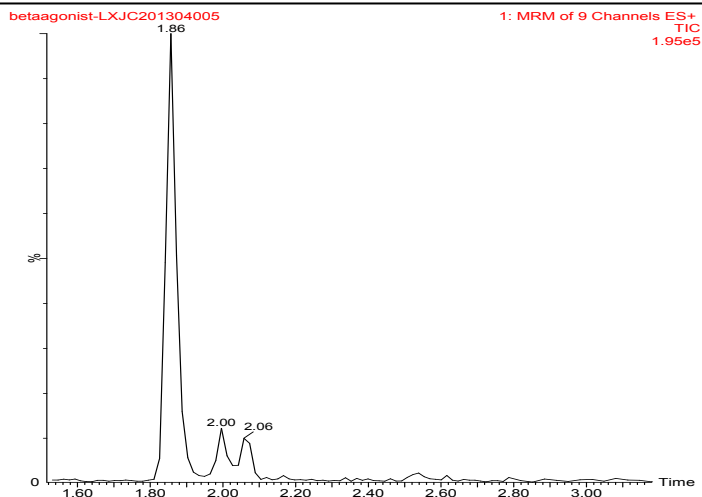


图2 空白猪肝添加试液中 9 种 β -受体激动剂 (0.5 ng/g) 总离子 (TIC) 图

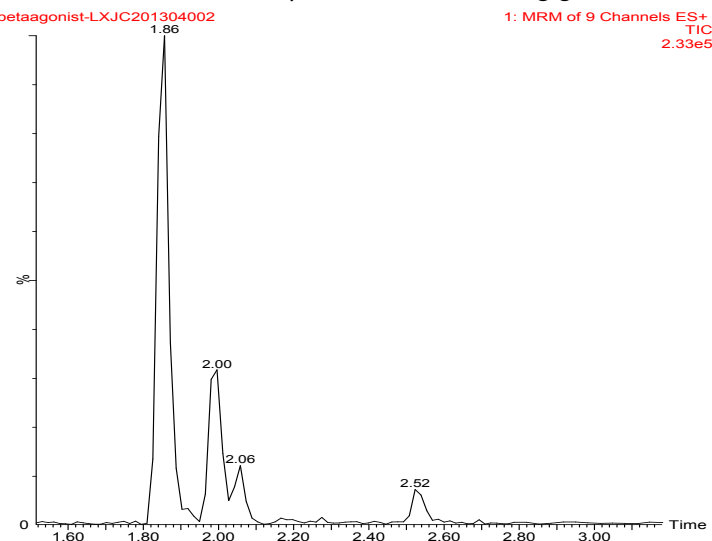


图3 空白牛肉添加试液中 9 种 β -受体激动剂 (0.5 ng/g) 总离子 (TIC) 图

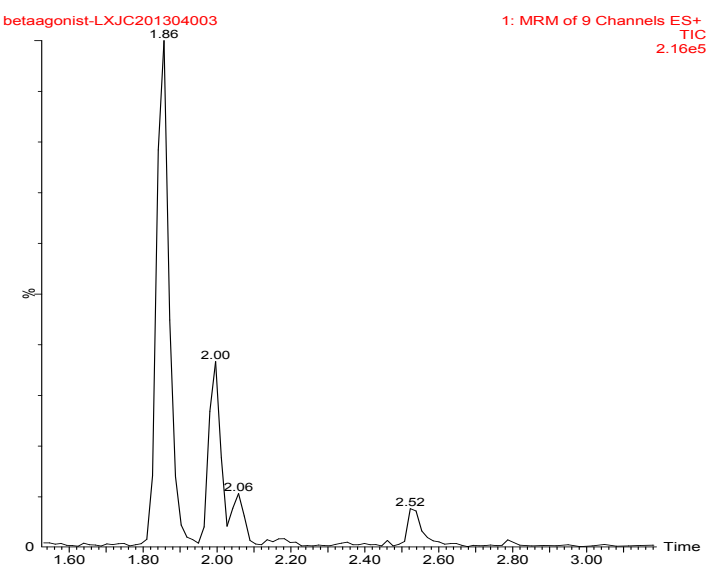


图4 空白羊肉添加试液中 9 种 β -受体激动剂 (0.5 ng/g) 总离子 (TIC) 图



博纳艾杰尔产品应用案例

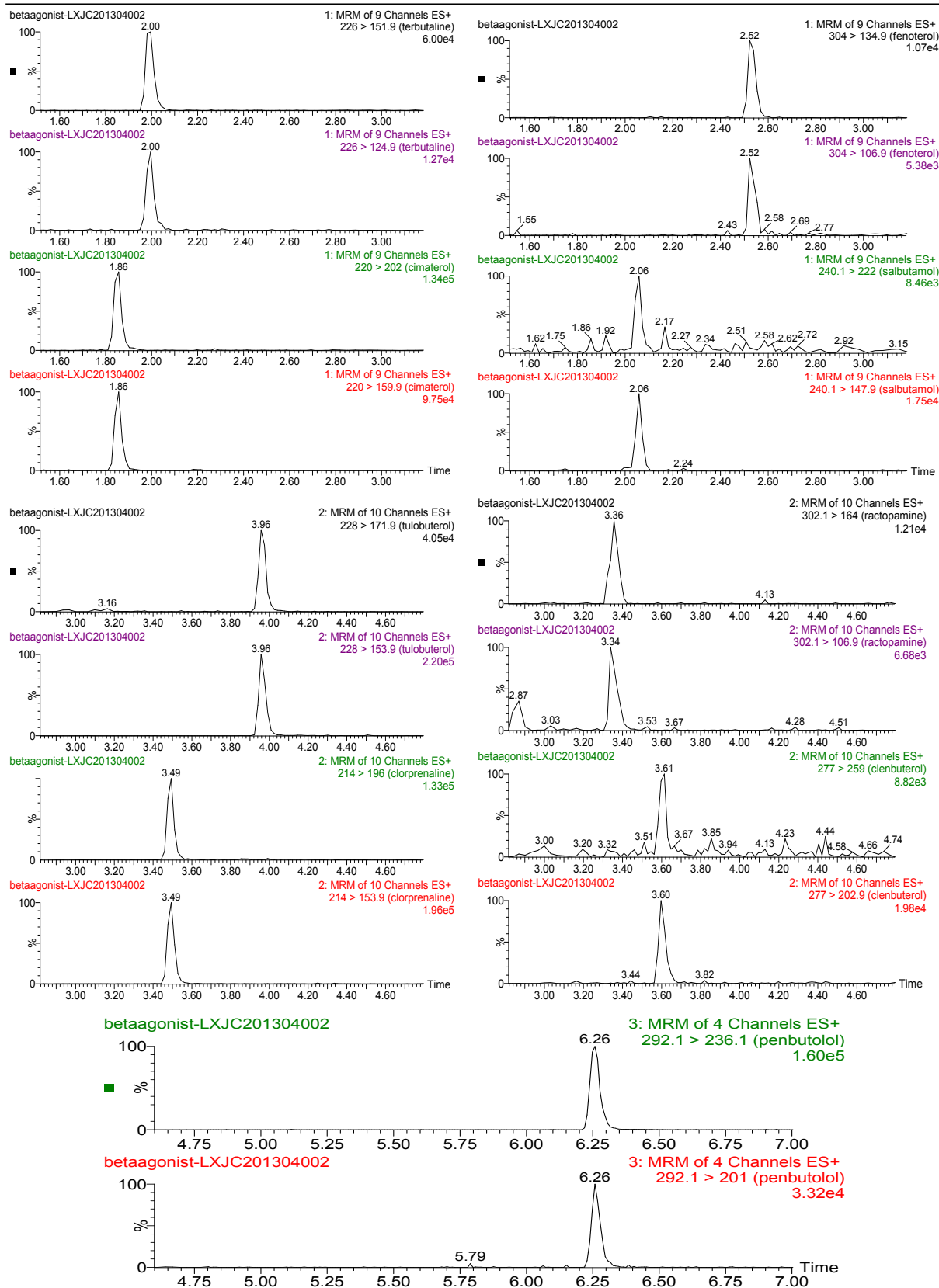


图 5 空白猪肉添加试液中 9 种 β -受体激动剂 (0.5 ng/g) 特征离子质量色谱图



博纳艾杰尔产品应用案例

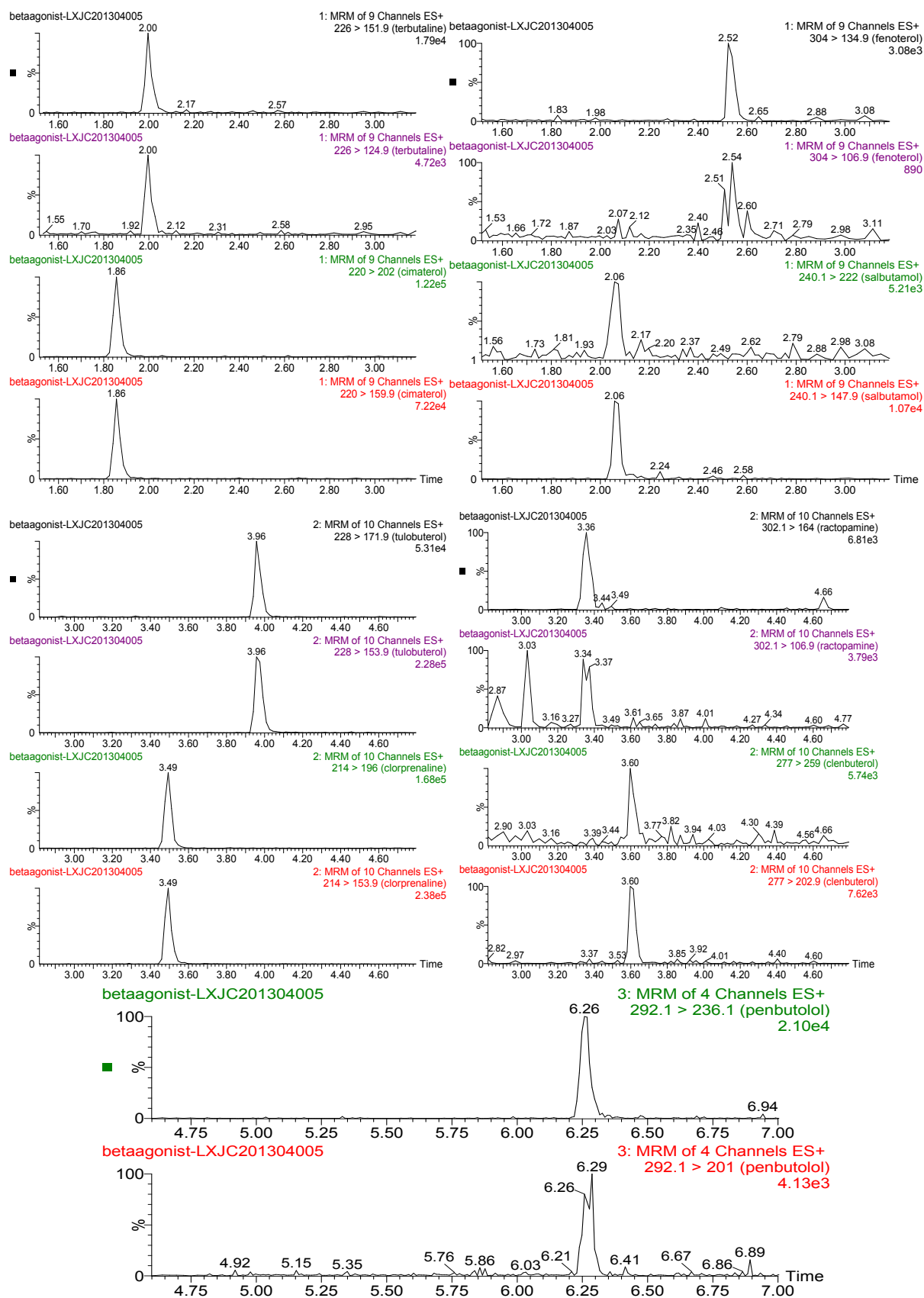


图 6 空白猪肝添加试液中 9 种 β -受体激动剂 (0.5 ng/g) 特征离子质量色谱图



博纳艾杰尔产品应用案例

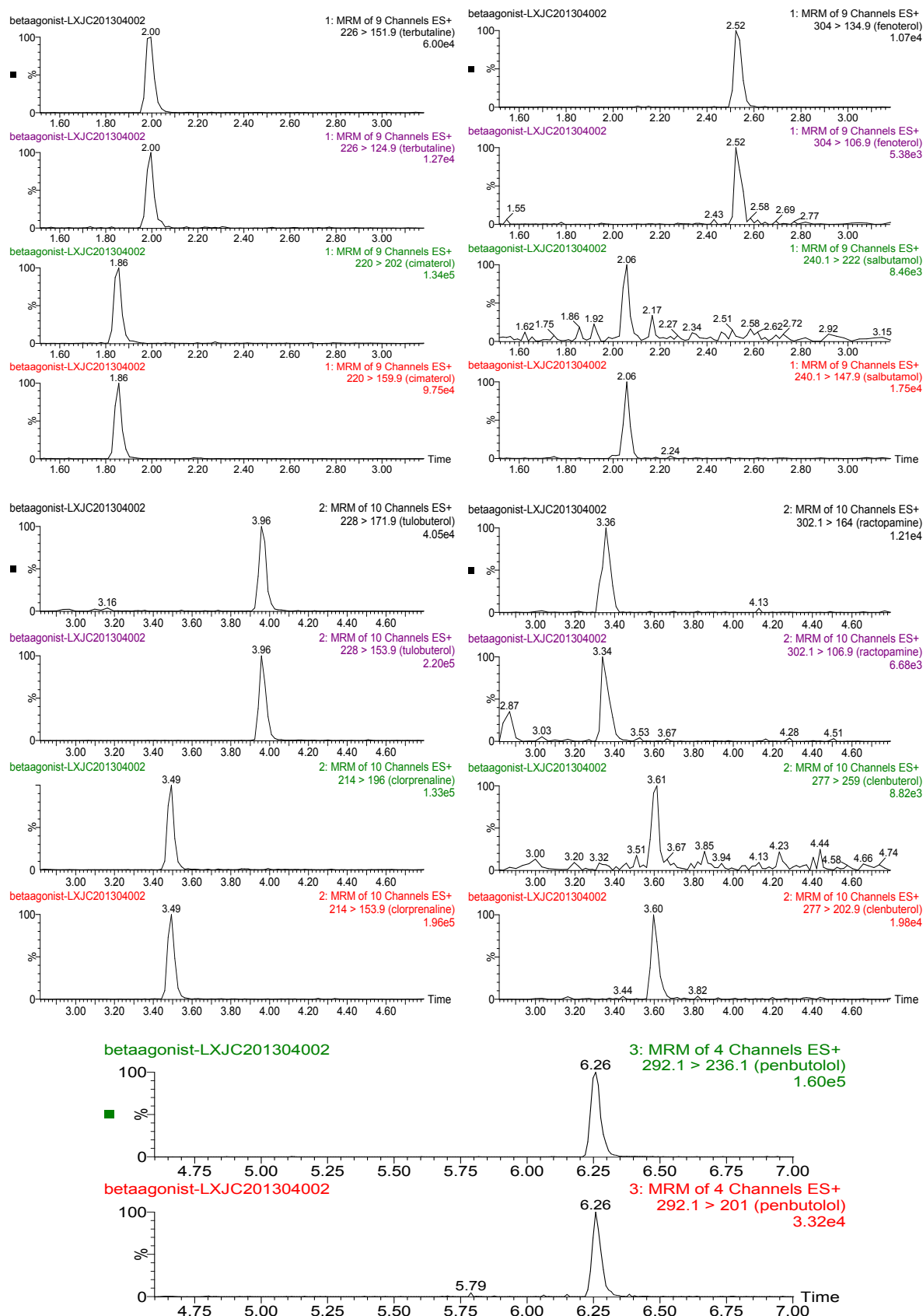


图 7 空白牛肉添加试液中 9 种 β -受体激动剂 (0.5 ng/g) 特征离子质量色谱图

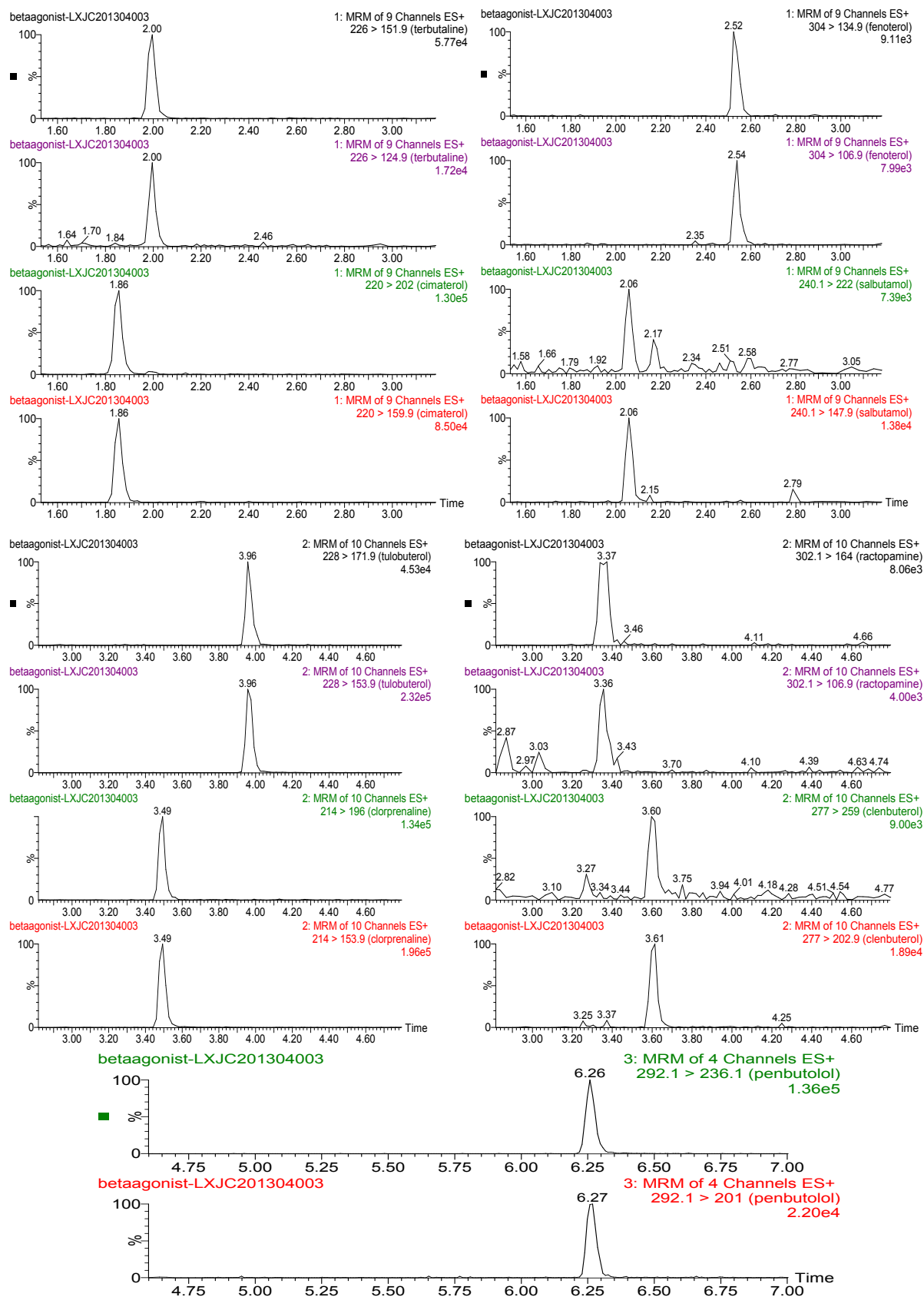


图 8 空白羊肉添加试液中 9 种 β -受体激动剂 (0.5 ng/g) 特征离子质量色谱图



实验结果

检测数据的质量控制

基质线性考察

分别精密量取9种 β -受体激动剂混合标准工作液适量，添加到2 g空白试料中，制得浓度为0.25、0.5、1、2、5 $\mu\text{g/kg}$ 的各系列空白添加试料，按9.2~9.4步骤操作，从低浓度到高浓度测定，每一浓度进样3针，按其所得峰面积与相应的添加浓度作标准曲线，并依次计算回归方程及相关系数。

定量方法

采用空白添加单点校准或标准曲线校准，按峰面积比计算，即得。采用空白添加标准曲线校准时试样溶液及对照溶液中9种 β -受体激动剂的峰面积均应在仪器检测的线性范围之内。

检测数据的结果

空白猪肉、猪肝、牛肉和羊肉添加（0.5、1、10 ng/g ）标准液后，基质同步定量批内回收实验结果见表6

表6 猪肉、猪肝、牛肉和羊肉添加（0.5、1、10 ng/g ）批内回收实验结果

基质	添加浓度 ng/g	回收率%					平均值%	批内 RSD (%)
猪肉	0.5	88.3	102	105	98.7	87.8	96.4	8.21
	1	114	117	109	107	112	112	3.54
	10	95	104	108	109	97.3	103	6.12
猪肝	1	93.3	93.1	97.1	108	96.4	97.6	6.25
	2	105	106	110	108	105	107	2.03
	10	95.2	103	96.3	96.3	98.7	97.9	3.19
牛肉	1	110	89.9	95.4	88.1	105	97.7	9.75
	2	92.1	93.4	94.4	92.5	105	95.5	5.65
	10	96.3	102	112	108	99.3	104	6.19
羊肉	1	85.6	102	89.1	102	104	96.5	8.82
	2	108	108	111	102	114	109	4.10
	10	101	94.8	95.5	99.3	102	98.5	3.28

注：以上数据保留三位有效数字



实验结论

本实验选用 Cleanert PCX 固相萃取柱（60 mg/3 mL），按照农业部 1025 号公告-18-2008 公告《动物源食品中 9 种 β -受体激动剂残留检测方法—超高效液相色谱-串联质谱法》提供的方法，验证测定猪肉、猪肝、牛肉、羊肉等四种组织中的 9 种 β -受体激动剂残留回收率。通过不同基质的样品添加回收率实验，结果显示 Cleanert PCX 固相萃取柱性能良好，完全能够符合兽药残留检测的要求并应用在动物产品的残留监控工作中。