

高效液相色谱-串联质谱法检测 动物源性食品中 β -受体激动剂类药物残留

徐锦忠¹, 丁涛¹, 刘飞²

1. 江苏出入境检验检疫局食品实验室; 2. 赛默飞世尔科技(上海)公司色谱质谱部

关键词: TSQ Quantum, β -受体激动剂, LC/MS/MS

β -受体激动剂, 又称为 β -兴奋剂(β -agonists)是一类人工合成药物, 主要用于防治人、兽支气管哮喘和支气管痉挛, 在药理学上称为 β -肾上腺素兴奋剂。 β -受体激动剂在体育比赛中可用于增强运动员、动物(如马)肌肉, 提高运动成绩, 国际奥委会将 β -受体激动剂列为禁用药物。 β -受体激动剂根据苯环取代基结构分为苯胺型(如: 克伦特罗, 俗称: 瘦肉精)、苯酚型(沙丁胺醇)、间苯二酚型(如: 特布他林)。

80年代, 国内外研究表明, 在饲料中添加 β -受体激动剂具有营养再分配作用, 可以明显提高瘦肉率。1992年, 西班牙首次发生多人食用含 β -受体激动剂的畜产品中中毒事件; 1997年, 香港发生进食大陆供港猪的内脏引起人中毒等事件。随着中国加入WTO后, 国外对于中国出口的食品提出更高的要求, 最近我国因兽药残留问题出口欧盟肉制品受阻; 普通大众也需要无公害食品。因此, 对 β -受体激动剂的分析研究不仅在临床药物代谢动力学上、体育运动中, 而且在食品安全方面都有重要意义。目前, 对 β -受体激动剂的分析方法有高效液相色谱法(HPLC)、高效液相色谱-质谱法(LC/MS)、酶联免疫法(ELISA)、气相色谱-质谱法(GC/MS)等。

本文建立了猪肝、猪肉、牛奶和鸡蛋等动物源性食品组织中特布他林、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、心得安共10种 β -受体激动剂LC-MS/MS法残留检测方法。

1. 实验部分

1.1 仪器与试剂

TSQ Quantum三重四极杆串联质谱仪(赛默飞世尔科技Thermo Fisher Scientific公司), 配置有电喷雾电离源(ESI); Surveyor MS Pump液相色谱系统, 包括Surveyor AS自动进样器。标准品特布他林(Turbuterol)、西马特罗(Cimaterol)、沙丁胺醇(Salbutamol)、非诺特罗(Fenoterol)、氯丙那林(Clorprenaline hydrochloride)、莱克多巴胺(Rackdopamine)、克仑特罗(Clenbuterol)、妥布特罗(Tulobuterol)、喷布特罗(Penbuterol)、心得安(Propranolol)纯度均大于98%。用甲醇溶解并配制成1.0 mg/mL标准储备液, 再根据需要稀释成适当含量的混合标准工作液。其他试剂均为HPLC色谱纯。

1.2 样品制备

1.2.1 酶解

准确称取经均质化的动物源性样品2 g(精确到0.01 g)于50 mL离心管中, 加入0.2 mol/L乙酸铵溶液(pH 5.2) 10 mL, 然后加入 β -盐酸葡萄糖醛苷酶/.芳基硫酸酯酶 40 μ L, 涡旋混匀3 min, 于37 $^{\circ}$ C下水浴避光振荡16 h。

1.2.2 提取

样品酶解后放置至室温, 涡旋混匀3 min, 高速离心10 min(10000 rpm), 取出上清液于另一50 mL离心管中, 加入1 mol/L高氯酸溶液1 mL, 涡旋混匀, 高速离心10min后, 转移上清液至另一50mL离心管内。

1.2.3 净化

用MCX固相萃取柱进行SPE净化。用甲醇5 mL活化固相萃取柱后, 上样, 抽干, 然后用5%氨水甲醇溶液5 mL洗脱。洗脱液在40 $^{\circ}$ C下N₂吹干, 以20%乙腈水溶液1.0 mL溶解残渣, 过0.45 μ m滤膜, 供LC/MS/MS法测定。

1.3 液相色谱及质谱条件

1.3.1 色谱条件

Key Words

- TSQ Quantum
- LC/MS/MS
- β -受体激动剂

色谱柱: Thermo Hypersil Gold (150 × 2.1 mm, 5 μm); 梯度洗脱见表1, 其中A: 水 (5 mM乙酸铵); B: 甲醇; 流速: 250 μL/min; 进样量: 10 μL。

表1 流动相梯度洗脱条件

Time (min)	A (%)	B (%)
0	90	10
0.5	90	10
5	10	90
10	10	90
10.1	90	10
12	90	10

1.3.2 质谱条件

电喷雾电离源 (ESI), 正离子模式; 选择反应监控 (SRM) 扫描模式, 喷雾电压: 4500 V; 离子传输管温度: 350 °C; 氮气作为鞘气和辅助气, 其中鞘气为30 arb, 辅助气为5 arb, 氩气用作碰撞气, 碰撞压力为1.5 mTorr; 选择反应监测 (SRM) 离子对见表2。

表2 β-受体激动剂类药物的SRM质谱条件

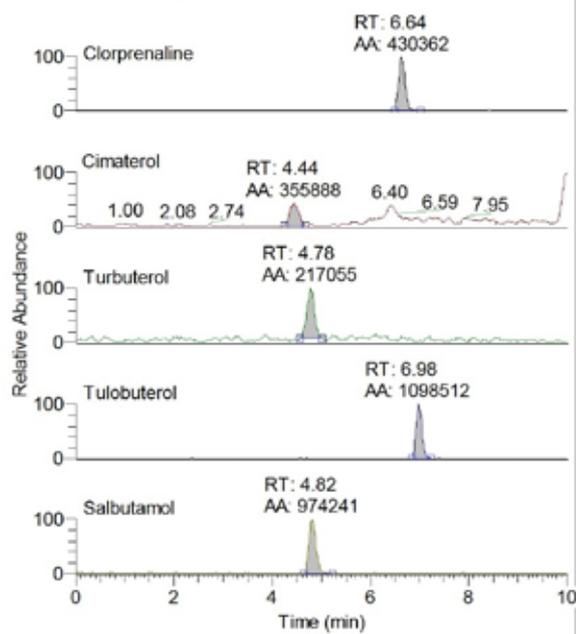
	药物名称	母离子	碎片离子 (碰撞能量 V)
1	特布他林 (Turbuterol)	226	107 (31), 152 (35), 152 (15)
2	西马特罗 (Cimaterol)	220	143 (22), 202 (10), 160 (18)
3	沙丁胺醇 (Salbutamol)	240	148 (18), 166 (14), 222 (11)
4	非诺特罗 (Fenoterol)	304.1	107.1 (30), 135.1 (18)
5	氯丙那林 (Clorprenaline hydrochloride)	214.1	119.1 (27), 154 (17)
6	莱克多巴胺 (Rackdopamine)	302	121 (20), 164 (14), 284 (8)
7	克伦特罗 (Clenbuterol)	277	132 (27), 168 (26), 203 (16), 259 (8)
8	妥布特罗 (Tulobuterol)	228.1	119 (28), 154 (16), 172 (14)
9	喷布特罗 (Penbuterol)	292.2	201 (21), 236.2 (16)
10	心得安 (Propranolol)	260.2	183 (18), 116.2 (18)

注: 下划线碎片离子为定量离子

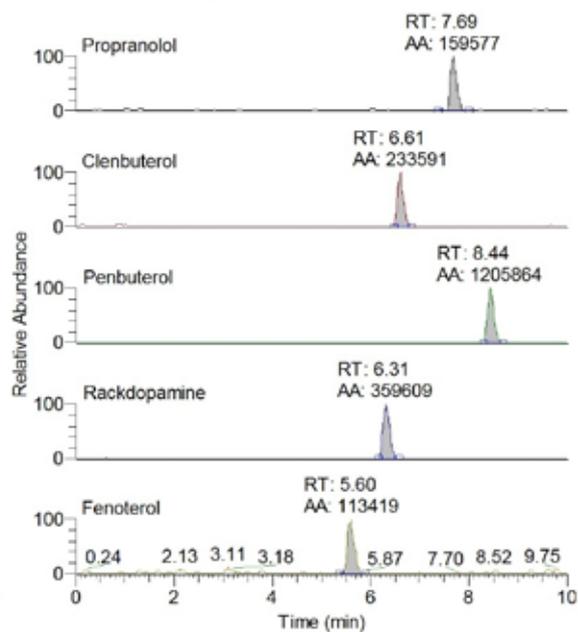
2 结果与讨论

2.1 方法灵敏度 (定量限, LOQ): 本方法沙丁胺醇、非诺特罗、氯丙那林、莱克多巴胺、克伦特罗、妥布特罗、喷布特罗和心得安在猪肝、猪肉、牛奶和鸡蛋等动物源性食品组织中的定量限均可达0.1 μg/kg, 西马特罗、特布他林为0.5 μg/kg。图2为得到的典型LC/MS/MS色谱图。

RT: 0.00 - 10.01 SM: 7B



RT: 0.00 - 10.01 SM: 7B

图2 β -受体激动剂药物LC/MS/MS色谱图 (1ng/mL)

2.2 方法准确度：本方法 β -受体激动剂药物在猪肝、猪肉、牛奶和鸡蛋等动物源性食品组织中的提取回收率均可达75 - 120 %，满足国内外的最低检出限要求，并且定量定性准确，重现性好。

3 结论

本方法建立了 β -受体激动剂药物在猪肝、猪肉、牛奶和鸡蛋等动物源性食品中的LC/MS/MS检测方法，其基本原理为：组织样品中的 β -受体激动剂残留药物经酶解，用高氯酸调节pH值后，在酸性条件下沉淀蛋白，上清液再用MCX固相萃取柱净化，高效液相色谱-串联质谱 (LC/MS/MS) 法检测。方法灵敏度、提取回收率、重现性等均满足国内外监控和检测要求。

In addition to these offices, Thermo Fisher Scientific maintains a network of representative organizations throughout the world.

赛默飞世尔科技

上海
上海浦东新金桥路27号6号楼
电话：86-21-6865 4588
传真：86-21-6445 7830

北京
北京市东城区安定门东大街28号
雍和大厦西楼702-715室
电话：86-10-8419 3588
传真：86-10-8419 3589

广州
广州东风中路410-412号
健力宝大厦3003-3004室
电话：86-20-8348 7138
传真：86-20-8348 6621

服务热线：
800 810 5118 400 650 5118

www.thermo.com
analyze.cn@thermofisher.com



Thermo Fisher Scientific,
San Jose, CA USA is ISO Certified.

View additional Thermo Scientific LC/MS application notes at: www.thermo.com/apnotes