

- [7] 孙雷,朱馨乐,张骊,等. 牛奶中七种氟喹诺酮类药物残留检测高效液相色谱-串联质谱法研究[J]. 中国兽药杂志,2008, 42(11):16-19.
- [8] 曹彦忠,庞国芳,张进杰,等. 蜂蜜中 14 种氟喹诺酮类药物残留的高效液相色谱-串联质谱测定[J]. 分析测试学报,2008, 27(11):1141-1146.
- [9] 曹鹏,田德金,李佩暖,等. UPLC/MS/MS 测定动物组织中 4 种氟喹诺酮类药物残留量[J]. 检验检疫科学,2008,18(4):48-50.

实验技术与方法

高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱法同时测定
猪肉中 31 种 β -受体激动剂

刘畅,陈燕,李晓雯,秦峰,王柯
(上海市食品药品检验所,上海 201203)

摘要:目的 建立猪肉中 31 种 β -受体激动剂的高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱(HPLC-Q-TOF-MS)检测方法。方法 样品经葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶分解,乙腈提取,ODS-C₁₈、乙二胺-N-丙基硅烷粉末(PSA)和无水硫酸镁净化、浓缩后,用 Poroshell 120 EC-C₁₈ 柱(2.1 mm×150 mm,2.7 μ m)分离,以乙腈-0.1% 甲酸水溶液作为流动相进行梯度洗脱。在电喷雾正离子(ESI+)电离模式进行检测。高分辨质谱一级全扫描数据用于筛选及定量分析,信息相关扫描(IDA)获得的二级碎片离子信息用于定性确证。结果 31 种化合物的检出限(LOD)为 0.01~5 μ g/kg,定量限(LOQ)为 0.1~10 μ g/kg。所有化合物在 LOQ~100 μ g/kg 范围内,线性相关系数 $r > 0.99$ 。在低、中、高 3 个加标水平下,绝大部分化合物回收率为 39.0%~151.5%, $RSD < 15\%$ ($n=5$)。结论 该方法样品处理简单快速、灵敏、准确,适合于猪肉中 β -受体激动剂的筛查及定量测定。

关键词:高效液相色谱;飞行时间质谱; β -受体激动剂;猪肉;瘦肉精;违禁药物;食品安全
中图分类号:R155;TS251.51;O657.63 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-8456(2014)05-0464-06
DOI:10.13590/j.cjfh.2014.05.014

Determination of 31 β -agonists in pork by high performance liquid chromatography-Q-time of flight mass spectrometry

LIU Chang, CHEN Yan, LI Xiao-wen, QIN Feng, WANG Ke
(Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

Abstract: **Objective** A novel analytical method was developed for the determination of 31 β -agonists in pork by high performance liquid chromatography-Q-time of flight mass spectrometry. **Methods** The analytes were extracted from the samples using acetonitrile. After cleaning up with ODS-C₁₈, PSA and MgSO₄, samples were analyzed by HPLC-Q-TOF-MS using an electrospray interface in positive ionization mode. Gradient elution on a Poroshell C₁₈ column (2.1 mm×150 mm, 2.7 μ m) allowed to resolve 31 target compounds and 9 internal standards in a total chromatographic run time of 27 min. **Results** The regression coefficients (r) for the calibration curves (LOQ-100 μ g/kg) were above 0.99. The LODs for 31 validated compounds were from 0.01-5 μ g/kg. The recoveries were in the range of 39.0%-151.5% with $RSD < 15\%$ ($n=5$). **Conclusion** The results indicated that the method was simple, rapid, sensitive and suitable for the determination of β -agonists in pork.

Key words: High performance liquid chromatography; time of flight mass spectrometry; β -agonist; pork; clenbuterol; illegal drug; food safety

β -受体激动剂是一类化学合成的苯乙醇胺类物

质,可分为苯胺型、苯酚型和苯二酚型。其结构和生理功能类似肾上腺素和去甲肾上腺素,主要用于防治人和动物的支气管哮喘和痉挛。因其具有营养再分配作用,可显著提高动物的瘦肉率,故曾被作为促生长添加剂使用并受到广泛关注^[1]。但人类食用含有该类药物残留的动物源性食品后会出现不良反应,严重时会对健康造成极大伤害,因此,该类药物已被禁

收稿日期:2014-03-19
作者简介:刘畅 女 副主任药师 研究方向为食品安全质量控制与amp;方法 E-mail: ccchangchang@hotmail.com
通讯作者:王柯 男 主任药师 研究方向为食品、化妆品、药品分析 E-mail: wksifdc@163.com

止用于畜禽生产。在农业部第 235 号公告^[2]中, β -受体激动剂已列入禁止使用的兽药范畴。

目前国内外对 β -受体激动剂残留的检测报道较多,主要有气相色谱-质谱法(GC-MS)^[3-4]、高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)^[1,5-7]等。其中,HPLC-MS/MS 因其灵敏度高、特异性好等特点,受到越来越多实验室的青睐。但该技术只适合检测已知的化合物,无法对可能存在的非目标化合物进行检测,无法对未知风险进行识别。

高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱法(HPLC-Q-TOF-MS)是具有高质量分辨率、高质量精确度的高分辨质谱,能提供化合物的精确相对分子质量。其参数设定简单、获得的数据具有可回顾性,可对样品进行高灵敏度、高质量精度的全扫描分析^[8]。结合自建的精确相对分子质量数据库,通过比较精确相对分子质量、保留时间、同位素峰以及特征碎片离子等信息,进行筛选检测,适合于动物源性食品中可能存在的 β -受体激动剂的筛选,具有重要的意义。因此,本方法针对 31 种 β -受体激动剂建立了快速、灵敏、准确的 HPLC-Q-TOF-MS 方法,并建立了精确相对分子质量数据库,适用于动物源性食品中该类药物残留的检测。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

TripleTOF™ 5600 质谱系统(美国 AB SCIEX,配有电喷雾离子源)、Agilent 1260 高压液相色谱仪(美国 Agilent)、多位氮气浓缩仪(德国 Organomation)、高速冷冻离心机。

乙腈、甲酸(HPLC 级)均购自德国 Merc,醋酸铵(HPLC 级,德国 CNW),去离子水由 Milli-Q 超纯水系统制得。ODS-C₁₈ 粉末、乙二胺-N-丙基硅烷粉末(PSA)均购自美国 Agela,葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶(活力 $\geq 100\ 000$ U/ml,美国 Sigma),无水硫酸镁(国药集团化学试剂有限公司)。

标准品:克伦特罗(纯度 $>98.5\%$)、莱克多巴胺(纯度 $>97.0\%$)、沙丁胺醇(纯度 $>99\%$)、妥布特罗(纯度 $>99.0\%$)、马布特罗(纯度 $>99\%$)均购自德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH;西马特罗(纯度 $>99.9\%$)、氯丙那林(纯度 $>99.8\%$)、溴代克伦特罗(纯度 $>99\%$)、马喷特罗(纯度 $>99\%$)、西布特罗(纯度 $>99.9\%$)、溴布特罗(纯度 $>99\%$)、克伦异磅特罗(纯度 $>99\%$)、克伦塞罗(纯度 $>99.5\%$)、克伦普罗(纯度 $>99\%$)、克伦磅特罗(纯度 $>99\%$)、羟甲基克伦特罗(纯度 $>99\%$)、clenhexerol(纯度 $>99\%$)、福莫特罗(纯度 $>99\%$)均购自德国

WITEGA;非诺特罗(纯度为 100%)、丙卡特罗(纯度 $>99.2\%$)均购自美国 Sigma;异丙喘宁(纯度为 100%)、喷布特罗(纯度 $>99.7\%$)、心得安(纯度为 100%)、特布他林(纯度 $>99.5\%$)、沙美特罗(纯度 $>99.7\%$)、苯氧丙酚胺(纯度 $>99.5\%$)、利托君(纯度 $>99.4\%$)、拉贝洛尔(纯度为 100%)均购自美国 USP;苯乙醇 A(纯度 $>98\%$)、齐帕特罗(纯度 $>95\%$)、班布特罗(纯度 $>98\%$)均购自加拿大 Toronto Research Chemical Inc。

同位素内标物质:克伦特罗-D₉、西马特罗-D₇、沙丁胺醇-D₃均购自德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH;马喷特罗-D₉、马布特罗-D₉、西布特罗-D₉均购自美国 Sigma;克伦普罗-D₇(德国 WITEGA);沙美特罗-D₃(加拿大 Toronto Research Chemical Inc);莱克多巴胺-D₃(加拿大 CDN)。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理

称取 2.0 g 均匀样品于 50 ml 离心管中,精密加入混合内标工作溶液 100 μ l,葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶 40 μ l,醋酸铵缓冲溶液(pH=5.2)1 ml,涡旋振荡 10 min,37 $^{\circ}$ C 水浴避光酶解 16 h。取出后加入乙腈 6 ml,涡旋振荡 1 min,4 600 r/min 离心 10 min,转移上清液至另一 50 ml 离心管中,加入 PSA 150 mg,ODS-C₁₈ 200 mg,无水硫酸镁 1 200 mg,涡旋振荡 1 min,静置 15 min 使样液与粉末接触,4 600 r/min 离心 10 min,将清液转移至 15 ml 离心管中,于 50 $^{\circ}$ C 氮气流下浓缩至近干,用 0.5 ml 0.1% 甲酸-乙腈(5:95, V/V)溶解残渣,以 14 500 r/min 离心 5 min,取上清液供 HPLC-Q-TOF-MS 检测。

1.2.2 仪器条件

液相色谱条件:采用 Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱(2.1 mm \times 150 mm,2.7 μ m),以乙腈(A)、0.1% 甲酸水溶液(B)为流动相,流速 250 μ l/min,梯度洗脱(0~3 min,5% A;3~8 min,A 线性增至 20%,保持 3 min;11~20 min,A 线性增至 90%,保持 2 min;20~20.1 min,A 线性降至 5%,保持 5 min),柱温 40 $^{\circ}$ C,进样量 10.0 μ l。

质谱条件:电喷雾离子源(ESI,正离子扫描,全离子扫描检测,扫描范围 m/z 100~1 000,电喷雾电压 5 500 V,雾化气流量(GS1)、辅助气流量(GS2)均为 55 L/h,气帘气流速(CUR)35 L/h,离子源温度 600 $^{\circ}$ C。去簇电压(DP)80 V,碰撞能量(CE)10 V。离子累积加速时间为 0.25 s。在上述质谱条件下,增加信息相关扫描(IDA),监测响应值超过 1 000 的化合物,得到其子离子信息,扫描范围 m/z 100~450,DP:80 V,CE:30 V,碰撞能量散射(CES)15 V,

离子累积加速时间为 0.1 s。一级全扫描获得的高质量精度质谱数据用于筛选及定量分析,IDA 全扫描获得的二级碎片离子信息用于定性确证。

2 结果与分析

2.1 样品前处理优化

由于苯酚型 β -受体激动剂在动物体内代谢时会发生各种轭合反应,药物以结合态存在于体内^[5],因此本方法首先通过酶解的方式破坏这种结构,使化合物解离呈游离态后,再对样品进行提取、测定。

猪肉中富含蛋白质、脂肪及多种矿物质,为了破坏残留药物与蛋白大分子之间的共价键,选用乙腈作为蛋白沉淀剂,同时作为提取溶剂。但是采用乙腈作为提取溶剂时会有许多同萃物,测定时会产生较强的基质效应,影响目标物的分离与离子化,因此需要采取净化方法除去这些干扰物。本试验比较了 SN/T 2624—2010《动物源性食品中多种碱性药物残留量的检测方法》^[9] 的前处理方法与分散固相萃取法,发现前者前处理方法复杂,过程繁琐,且有机溶剂用量大。而分散固相萃取法操作简单,且能够有效净化多种同萃物,各化合物回收率均较高,满足检测需求。

猪肉成分复杂,含有大量蛋白质、脂肪、碳水化合物等营养成分。本试验选用的 ODS- C_{18} 可有效除去脂类、糖类亲脂性杂质,PSA 可有效去除基质中的脂肪酸和甾醇类干扰物,无水硫酸镁去除基质中的水分^[10]。本试验对 ODS- C_{18} 、PSA、无水硫酸镁的用量进行了考察,针对三因素三水平设计了 Box-Behnken 试验^[11] (见表 1)。结果显示,当 ODS- C_{18} 为 200 mg, PSA 为 150 mg,无水硫酸镁为 1 200 mg 时,各化合物总响应最高,且各类化合物响应均较高。

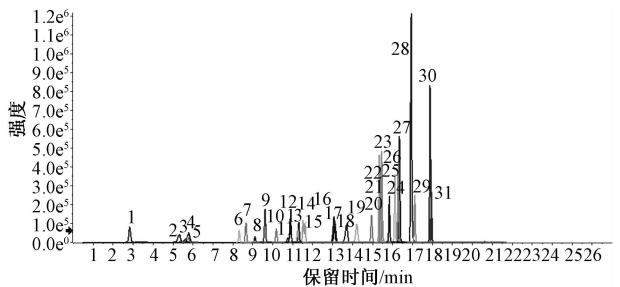
表 1 Box-Behnken 试验设计的因素和水平

Table 1 Factors and levels of Box-Behnken design			
水平	ODS- C_{18} /mg	PSA/mg	无水硫酸镁/mg
1	50	50	900
2	150	150	1 200
3	300	300	1 500

2.2 仪器条件优化

分别比较了 Zorbax-Eclipse XDB- C_{18} 色谱柱、Phenomenex-Luna C_{18} 色谱柱以及 Poroshell C_{18} 色谱柱,结果在酸性流动相下,各化合物在 Poroshell C_{18} 色谱柱响应最好,且峰型良好,故选用 Poroshell C_{18} 柱对 31 种化合物进行色谱分离。由于测得化合物多为碱性化合物,所以在流动相中加入适量甲酸,提高响应。通过精确相对分子质量对总离子流图进行各化合物信号提取,证明该色谱柱能将本研究绝大部分化合物基线分离,且峰形良好 (见图 1),各

化合物质量偏差均 < 3 ppm,结果见表 2。



注:1. 异丙喘宁; 2. 特布他林; 3. 西马特罗; 4. 沙丁胺醇; 5. 齐帕特罗; 6. 丙卡特罗; 7. 西布特罗; 8. 非诺特罗; 9. 利托君; 10. 克伦塞罗; 11. 羟甲基克伦特罗; 12. 克伦普罗; 13. 氯丙那林; 14. 莱克多巴胺; 15. 克伦特罗; 16. 妥布特罗; 17. 苯乙醇胺 A; 18. 溴代克伦特罗; 19. 溴布特罗; 20. 苯氧丙酚胺; 21. 马布特罗; 22. 克伦磅特罗; 23. 班布特罗; 24. 拉贝洛尔; 25. 克伦异磅特罗; 26. 心得安; 27. 马喷特罗; 28. 福莫特罗; 29. clenhexrol; 30. 喷布特罗; 31. 沙美特罗

图 1 β -受体激动剂类提取离子流色谱图

Figure 1 Total ion chromatogram of β -agonists

虽然较窄的质量提取窗口能够有效降低基质干扰,提高选择性,但是对于分子量相近的同分异构体,需通过保留时间进行确证。其中包括莱克多巴胺与苯氧丙酚胺、克伦磅特罗与克伦异磅特罗等。通过调整流动相梯度,可将上述所有同分异构体均分离完全,能够满足准确定性及准确定量的要求,见图 2。

2.3 精确相对分子质量数据库的建立

数据库收录了本试验涉及的 31 种化合物的分子式及其理论精确相对分子质量。通过对化合物标准品进行检测,获得二级特征碎片离子质谱图以及保留时间等信息,用于筛选以及进一步的定性确证。得到的高分辨质谱数据由 PeakViewTM 软件进行筛选。当筛选结果为阳性时,通过二级特征碎片离子对化合物进行进一步确证分析,特征离子信息见表 2。

2.4 方法学验证

2.4.1 待测样品的选择

本试验选择来源于批发市场、大型超市、菜场等地的猪肉作为研究对象。经测试,选择其中不含待测化合物的样品作为空白样品。

2.4.2 检测限与线性范围

取猪肉空白样品,分别加入不同体积混合标准溶液制成含目标化合物 0.01、0.05、0.1、0.5、1.0、5.0、10.0、20.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品,涡旋混匀,避光静置 30 min 使其接触充分,与样品同法,按照 1.2.1 方法处理后进样测定信噪比。以信噪比 ≥ 3 时的浓度为检测限 (LOD),以信噪比 ≥ 10 时的浓度为定量限 (LOQ),结果见表 3。

表 2 化合物信息
Table 2 Information of the target compounds

名称	保留时间 /min	分子式	[M + H] ⁺	母离子 质量偏差/ppm	碎片离子	子离子 质量偏差/ppm
西马特罗	5.6	C ₁₂ H ₁₇ N ₃ O	220.144 4	-0.6	143.060 4	1.4
克伦特罗	13.1	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O	277.086 9	0.9	203.013 7	0.5
氯丙那林	11.6	C ₁₁ H ₁₆ ClNO	214.099 3	0.8	154.041 8	5.8
非诺特罗	9.2	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	304.154 3	0.7	107.049 1	7.5
福莫特罗	16.9	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₄	345.180 9	2.1	121.064 8	5.0
异丙喘宁	2.8	C ₁₁ H ₁₇ NO ₃	212.128 1	0.5	194.117 6	0.0
喷布特罗	17.9	C ₁₈ H ₂₉ NO ₂	292.227 1	2.1	236.164 5	1.3
苯乙醇胺 A	13.7	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₄	345.180 9	0.8	327.170 3	0.6
心得安	16.3	C ₁₆ H ₂₁ NO ₂	260.164 5	1.9	183.080 4	1.6
莱克多巴胺	11.6	C ₁₈ H ₂₃ NO ₃	302.175 1	1.2	284.164 5	2.1
沙丁胺醇	5.8	C ₁₃ H ₂₁ NO ₃	240.159 4	0.8	148.075 7	3.4
特布他林	5.3	C ₁₂ H ₁₉ NO ₃	226.143 8	0.5	152.070 6	3.3
妥布特罗	13.1	C ₁₂ H ₁₈ ClNO	228.115 0	0.9	154.041 8	4.5
沙美特罗	17.9	C ₂₅ H ₃₇ NO ₄	416.279 5	1.0	380.258 4	1.3
齐帕特罗	5.8	C ₁₄ H ₁₉ N ₃ O ₂	262.155 0	-0.2	244.144 4	0.4
溴代克伦特罗	14.2	C ₁₂ H ₁₈ ClBrN ₂ O	323.034 2	1.1	248.961 2	4.4
苯氧丙酚胺	15.4	C ₁₈ H ₂₃ NO ₃	302.175 1	1.2	284.164 5	3.2
马布特罗	15.4	C ₁₃ H ₁₈ ClF ₃ N ₂ O	311.113 3	1.2	237.040 1	3.0
马喷特罗	16.3	C ₁₄ H ₂₀ ClF ₃ N ₂ O	325.128 9	0.9	237.040 1	2.1
西布特罗	8.6	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O	234.160 1	1.4	143.060 4	4.9
溴布特罗	14.9	C ₁₂ H ₁₈ Br ₂ N ₂ O	366.983 9	0.3	348.973 3	0.9
克伦异磅特罗	16.1	C ₁₃ H ₂₀ Cl ₂ N ₂ O	291.102 6	1.4	273.091 5	4.4
克伦塞罗	10.1	C ₁₄ H ₂₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	319.097 5	1.0	301.086 4	1.0
clenhexrol	17.1	C ₁₄ H ₂₂ Cl ₂ N ₂ O	305.118 2	2.1	287.107 1	0.0
克伦普罗	11.3	C ₁₁ H ₁₆ Cl ₂ N ₂ O	263.071 3	0.5	245.060 2	1.2
克伦磅特罗	15.4	C ₁₃ H ₂₀ Cl ₂ N ₂ O	291.102 6	0.6	273.091 5	1.5
丙卡特罗	8.3	C ₁₆ H ₂₂ N ₂ O ₃	291.170 3	1.7	273.091 0	2.9
班布特罗	15.4	C ₁₈ H ₂₉ N ₃ O ₅	368.218 0	2.3	294.144 8	2.7
利托君	9.5	C ₁₇ H ₂₁ NO ₃	288.159 4	1.0	121.064 8	2.5
羟甲基克伦特罗	10.8	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O ₂	293.081 8	1.3	203.013 7	3.0
拉贝洛尔	15.6	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₃	329.186 0	1.2	311.175 4	1.9

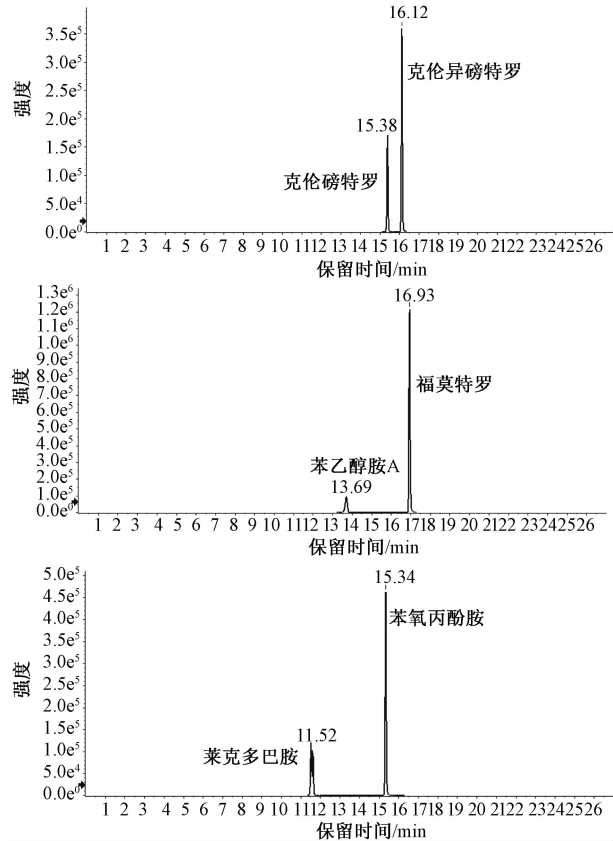


图 2 各同分异构体提取离子流图

Figure 2 Total ion chromatogram of isomers

取猪肉空白样品,分别加入不同体积标准混合标准溶液配制成 0.1、0.5、1.0、5.0、10.0、20.0、50、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品,加入内标,涡旋混匀,避光静置 30 min 使其接触充分,与样品同法处理后进样测定。结果表明,在 LOQ ~ 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度范围内,各化合物面积与内标峰面积的比值与浓度之间呈良好的线性关系,见表 3。

2.4.3 精密度与回收率

称取同一起来源的空白猪肉样品 15 份,每份 2.0 g,分别添加混合标准溶液及混合内标溶液,制成 1、5、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (非诺特罗、异丙喘宁、齐帕特罗为 5、10、20 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 的加标样品各 5 份,与样品同法,按照 1.2.1 方法处理后进样测定。带入以线性提取液配制的标准曲线计算回收率和 *RSD*,结果表明本方法回收率、重复性均较好,见表 4。

2.5 方法应用

应用本试验建立的 HPLC-Q-TOF-MS 技术,按照 1.2 方法对 20 份猪肉样品进行前处理及测定,结果表明样品中均未检出目标化合物。

3 小结

本试验建立了利用 HPLC-Q-TOF-MS 技术筛

表 3 各化合物 LOD、LOQ、线性方程、*r*、线性范围、内标信息
Table 3 LOD, LOQ, standard curves, *r* and IS for the target compounds

名称	LOD/(μg/kg)	LOQ/(μg/kg)	线性方程	<i>r</i>	线性范围/(μg/kg)	内标
西马特罗	0. 50	1. 00	$y=0.07563x+0.00586$	0. 999 0	0. 5 ~ 100	西马特罗-D ₇
克伦特罗	0. 50	1. 00	$y=0.39982x+0.12703$	0. 995 4	0. 5 ~ 50	克伦特罗-D ₉
氯丙那林	0. 05	0. 10	$y=0.14371x+0.00494$	0. 999 9	0. 1 ~ 100	克伦普罗-D ₇
非诺特罗	5. 00	10. 00	$y=0.04116x+ -0.17023$	0. 998 0	5. 0 ~ 20	克伦普罗-D ₇
福莫特罗	0. 05	0. 10	$y=0.61443x+0.08279$	0. 994 5	0. 1 ~ 100	莱克多巴胺-D ₃
异丙喘宁	5. 00	10. 00	$y=0.11110x+ -0.02233$	0. 998 3	5. 0 ~ 20	莱克多巴胺-D ₃
喷布特罗	0. 01	0. 10	$y=0.11552x+0.01546$	0. 992 1	0. 1 ~ 100	沙美特罗-D ₃
苯乙醇胺 A	0. 05	0. 10	$y=0.27568x+ -0.00835$	0. 991 3	0. 1 ~ 50	克伦普罗-D ₇
心得安	0. 05	0. 10	$y=0.44156x+0.01725$	0. 997 1	0. 1 ~ 50	莱克多巴胺-D ₃
莱克多巴胺	0. 50	1. 00	$y=0.29583x+0.20435$	0. 999 9	0. 5 ~ 100	莱克多巴胺-D ₃
沙丁胺醇	0. 50	1. 00	$y=0.22061x+0.01399$	0. 998 5	0. 1 ~ 100	沙丁胺醇-D ₃
特布他林	1. 00	5. 00	$y=0.09337x+0.07813$	0. 998 0	1. 0 ~ 100	沙丁胺醇-D ₃
妥布特罗	0. 05	1. 00	$y=0.26194x+0.00276$	0. 999 5	0. 1 ~ 100	克伦普罗-D ₇
沙美特罗	0. 50	1. 00	$y=0.04569x+0.01135$	0. 999 8	0. 5 ~ 100	沙美特罗-D ₃
齐帕特罗	5. 00	10. 00	$y=0.18687x+0.13078$	0. 999 9	5. 0 ~ 100	西马特罗-D ₇
溴代克伦特罗	0. 50	1. 00	$y=0.19987x+ -0.00171$	0. 999 3	0. 5 ~ 100	克伦普罗-D ₇
苯氧丙酚胺	0. 50	1. 00	$y=0.36132x+0.24624$	0. 991 1	0. 5 ~ 50	莱克多巴胺-D ₃
马布特罗	0. 01	0. 05	$y=0.15288x+0.00692$	0. 999 4	0. 1 ~ 100	马布特罗-D ₉
马喷特罗	0. 05	0. 10	$y=0.16015x+3.09308e^{-4}$	0. 999 7	0. 1 ~ 100	马喷特罗-D ₁₁
西布特罗	0. 50	1. 00	$y=0.09727x+0.04999$	0. 996 4	0. 5 ~ 100	西布特罗-D ₉
溴布特罗	0. 05	0. 10	$y=0.04307x+ -3.64577e^{-4}$	1. 000 0	0. 1 ~ 50	马布特罗-D ₉
克伦异磅特罗	0. 05	0. 10	$y=0.09869x+0.00215$	0. 999 8	0. 1 ~ 100	马喷特罗-D ₁₁
克伦塞罗	0. 50	1. 00	$y=0.10322x+0.08837$	0. 995 8	1. 0 ~ 100	西马特罗-D ₇
clenhexrol	0. 10	0. 50	$y=0.04132x+ -0.00219$	0. 994 2	0. 5 ~ 100	马喷特罗-D ₁₁
克伦普罗	0. 05	0. 10	$y=0.08493x+0.01711$	0. 999 1	0. 1 ~ 100	克伦普罗-D ₇
克伦磅特罗	0. 10	0. 50	$y=0.03577x+0.00479$	0. 998 9	0. 5 ~ 100	马布特罗-D ₉
丙卡特罗	0. 50	1. 00	$y=0.12284x+0.00839$	0. 996 4	0. 5 ~ 100	沙丁胺醇-D ₃
班布特罗	0. 50	1. 00	$y=0.43048x+ -0.05602$	0. 997 5	0. 5 ~ 100	克伦普罗-D ₇
利托君	0. 50	1. 00	$y=0.20400x+0.15348$	0. 996 7	0. 5 ~ 100	沙丁胺醇-D ₃
羟甲基克伦特罗	0. 05	0. 10	$y=0.10781x+0.00818$	0. 998 1	0. 1 ~ 50	克伦普罗-D ₇
拉贝洛尔	0. 50	1. 00	$y=0.16979x+0.10635$	0. 997 9	0. 5 ~ 100	莱克多巴胺-D ₃

表 4 各化合物平均回收率、精密度(*n* = 5)
Table 4 Recoveries and accuracies for the target compounds

名称	回收率/%			RSD/%		
	1	2	3	1	2	3
西马特罗	127. 2	117. 2	109. 0	1. 3	0. 8	2. 0
克伦特罗	56. 6	103. 3	108. 7	5. 5	0. 4	2. 7
氯丙那林	85. 5	97. 8	93. 0	5. 7	3. 0	1. 9
非诺特罗	79. 9	92. 5	85. 0	11. 8	1. 9	3. 2
福莫特罗	71. 6	67. 1	56. 8	11. 0	2. 7	8. 7
异丙喘宁	102. 5	114. 8	107. 2	4. 9	1. 1	3. 9
喷布特罗	58. 5	75. 5	87. 6	5. 8	5. 7	2. 5
苯乙醇胺 A	150. 1	109. 8	92. 5	4. 2	1. 4	8. 0
心得安	68. 5	63. 5	65. 4	1. 5	2. 0	8. 7
莱克多巴胺	95. 2	107. 2	105. 2	6. 6	2. 9	1. 8
沙丁胺醇	88. 6	91. 4	96. 2	3. 6	1. 3	4. 8
特布他林	129. 0	100. 2	100. 1	5. 6	3. 2	3. 5
妥布特罗	85. 6	104. 0	98. 2	2. 8	2. 7	4. 1
沙美特罗	112. 8	104. 4	105. 4	3. 9	1. 2	0. 5
齐帕特罗	151. 5	146. 0	145. 9	4. 5	2. 1	1. 7
溴代克伦特罗	91. 7	92. 5	88. 3	3. 3	0. 9	1. 5
苯氧丙酚胺	99. 7	100. 1	100. 7	5. 9	2. 4	4. 1
马布特罗	114. 3	97. 3	101. 2	1. 9	1. 4	1. 2
马喷特罗	101. 9	103. 1	109. 1	2. 0	1. 0	1. 2
西布特罗	106. 5	100. 4	113. 1	3. 9	1. 9	1. 5
溴布特罗	100. 0	93. 0	91. 4	3. 6	2. 2	1. 6
克伦异磅特罗	78. 3	80. 8	85. 3	3. 6	1. 4	2. 7
克伦塞罗	94. 1	96. 9	98. 4	2. 0	2. 6	2. 6
clenhexerol	60. 0	49. 2	39. 0	4. 8	4. 8	3. 8
克伦普罗	114. 9	109. 3	104. 8	5. 6	2. 1	3. 0
克伦磅特罗	102. 2	98. 6	98. 8	6. 2	0. 8	1. 2
丙卡特罗	109. 7	86. 8	87. 1	1. 9	1. 1	2. 0
班布特罗	110. 1	98. 4	101. 1	1. 9	1. 1	3. 6
利托君	97. 8	97. 2	102. 2	2. 6	0. 6	7. 0
羟甲基克伦特罗	104. 9	105. 7	97. 7	6. 7	2. 9	6. 9
拉贝洛尔	81. 6	75. 5	68. 4	2. 6	4. 1	5. 0

选、确证及定量测定猪肉中的 31 种β-受体激动剂类兽药残留的方法。猪肉样品经过分散固相萃取技术处理后,用 HPLC-Q-TOF MS 对 31 种化合物进行分离和检测,并通过检测限、精密度、回收率等指标对方法学进行了验证考察。并同时建立了包含 31 种β-受体激动剂类化合物的精确相对分子质量数据库,可用于筛选分析。该方法前处理简单、选择性高、准确、快速、灵敏度高,结合精确相对分子质量数据库,可应用于猪肉中β-受体激动剂类药物残留的筛选,适于作为动物源性食品中可能由于该类兽药残留引起的风险因素的筛选方法。

参考文献

[1] 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β₂-受体激动剂的研究[J].质谱学报,2007,28(4):193-201.
[2] 中华人民共和国农业部.第 235 号公告 动物性食品中兽药最高残留限量[S].2002-12-24.
[3] Amendola L, Colamonici C, Rossi F, et al. Determination of clenbuterol in human urine by GC-MS-MS-MS: confirmation analysis in antidoping control [J]. J Chromatogr B, 2002, 733 (1):7-16.
[4] 梁亚莉,殷斌志,胡小钟,等.衍生化固相微萃取-色谱质谱法快速检测猪尿中的β-受体兴奋剂[J].分析化学,2003,31 (3):326-328.
[5] 孙雷,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.

[6] 聂建荣,朱铭立,连槿,等.高效液相色谱-串联质谱法检测动物尿液中的15种 β -受体激动剂[J].色谱,2010,28(8):759-764.

[7] 王凤美,张鸿伟,庞士平,等.超高效液相色谱-串联质谱测定动物源性食品和尿液中4种 β -受体激动剂残留[J].分析化学,2008,36(12):1629-1635.

[8] 李晓雯,沈宝华,江峥,等.HPLC-LTQ Orbitrap MS对血液、尿液中精神药品的筛选及确证[J].法医学杂志,2012,28(1):44-48.

[9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.SN/T 2624—2010 动物源性食品中多种碱性药物残留量的检测方法-液相色谱-质谱/质谱法[S].北京:中国标准出版社,2010.

[10] 张毅,岳振峰,蓝芳,等.分散固相萃取净化与液相色谱/串联质谱法测定牛奶中8类禁用药物残留[J].分析化学,2012,40(5):724-729.

[11] 郭洁,洪子雯,方晓玲.Box-Behnken 实验设计法优化表阿霉素脂质体的处方工艺[J].复旦学报:医学版,2007,34(6):816-820.

实验技术与方法

超高压液相色谱-串联质谱法同时测定鸡蛋中4种硝基呋喃代谢物残留

刘柏林,谢继安,单晓梅

(安徽省疾病预防控制中心,安徽 合肥 230601)

摘 要:目的 建立超高压液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)同时测定鸡蛋中4种硝基呋喃代谢物的方法。方法 鸡蛋中与蛋白质结合的硝基呋喃代谢物经盐酸水解后,与邻硝基苯甲醛(2-NBA)反应,产生稳定的衍生物,用乙酸乙酯提取,4℃冷冻离心后取下层澄清液测定。待测物采用电喷雾电离正离子、多反应监测模式检测,基质内标法定量。结果 4种待测物浓度在0.1~50.0 μg/L范围内与其峰面积比值呈良好的线性关系,相关系数均不低于0.995,回收率范围为74.1%~97.6%,RSD<13.4%。氨基脒(SEM)与1-氨基-乙内酰脲(AHD)最低检出限均为0.1 μg/kg,5-吗啉甲基-3-氨基-2-恶唑烷基酮(AMOZ)与3-氨基-2-恶唑烷基酮(AOZ)最低检出限均为0.05 μg/kg。结论 该方法具有样品前处理简单、灵敏度高、重现性好等优点,满足鸡蛋中4种硝基呋喃代谢物残留定量检测的要求。

关键词:超高压液相色谱-串联质谱法;鸡蛋;硝基呋喃代谢物;兽药残留;食品安全

中图分类号:R155;R155.56;TS207.3;S859.79⁺6 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2014)05-0469-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2014.05.008

Determination of four nitrofuran residues in eggs using ultra pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIU Bo-lin, XIE Ji-an, SHAN Xiao-mei

(Anhui Provincial Center for Disease Control and Prevention, Anhui Hefei 230601, China)

Abstract: Objective A rapid analytical method for the simultaneous detection of four metabolites of nitrofuran in eggs by the ultra pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was established. **Methods** The metabolites in egg samples were released in HCl solution, and reacted with the 2-nitrobenzaldehyde (2-NBA). The stable derivatives were extracted by ethyl acetate, and centrifuged at. The transparent liquid was detected. The identification was achieved by electro spray ionization in positive mode using multiple reaction monitoring. The quantification was performed by the matrix matched internal standards. **Results** The calibration curves of the four analytes showed a good linearity between 0.1 and 50 μg/L, and the correlation coefficient was above 0.995. Recoveries were between 74.1% and 97.6% with RSD less than 13.4%. The limits of detection of SEM and AHD were 0.1 μg/kg, and the limits of detection of AMOZ and AOZ were 0.05 μg/kg. **Conclusion** The method has the advantages of simple pretreatment, high sensitivity and good reproducibility, which is suitable for the determination of four nitrofuran metabolites in eggs.

Key words: Ultra pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry; egg; nitrofuran metabolites; residue of veterinary drug; food safety