

实验技术与方法

UPLC-MS/MS 结合新型固相萃取技术快速确证猪肉中 17 种 β -受体阻断剂屠瑞莹^{1,2}, 范赛^{1,2}, 张楠^{1,2}, 赵海燕^{1,2}, 李兵^{1,2}, 吴国华^{1,2}, 赵榕^{1,2}

(1. 北京市预防医学研究中心, 北京 100013; 2. 北京市疾病预防控制中心, 北京 100013)

摘要:目的 建立新型固相萃取技术结合超高效液相色谱串联质谱测定猪肉中 17 种 β -受体阻断剂的测定方法。方法 猪肉样品经酶解, 乙腈沉淀蛋白并萃取后, 经 Oasis PRiME HLB 固相萃取柱通过式净化。以甲醇和 0.1% 甲酸水为流动相梯度洗脱, 采用迪马 Endeavorsil C18 色谱柱分离, ESI 源正离子模式进行多反应监测 (MRM), 内标法定量。结果 17 种 β -受体阻断剂的线性范围在 0.2~20 $\mu\text{g/L}$, 相关系数 (r) > 0.999, 检出限 (LOD) 为 0.05~0.07 $\mu\text{g/kg}$, 定量限 (LOQ) 为 0.15~0.2 $\mu\text{g/kg}$ 。3 个加标水平下 (0.2、0.4、2 $\mu\text{g/kg}$) 的回收率为 84.97%~123.40%, RSD 为 0.41%~13.94%。结论 本方法灵敏、快速、准确, 可用于猪肉中 β -受体阻断剂的定性、定量检测。

关键词:超高效液相色谱串联质谱; β -受体阻断剂; 猪肉; 固相萃取

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2021)05-0571-07

DOI: 10.13590/j.cjfh.2021.05.009

Rapid determination of the residues of β -blockers in porcine tissues by new solid phase extraction and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

TU Ruiying^{1,2}, FAN Sai^{1,2}, ZHANG Nan^{1,2}, ZHAO Haiyan^{1,2}, LI Bing^{1,2},
WU Guohua^{1,2}, ZHAO Rong^{1,2}

(1. Beijing Center for Preventive Medicine Research, Beijing 100013, China;

2. Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China)

Abstract: Objective A sensitive and rapid method was developed for the determination of 17 β -adrenergic receptor blockers (β -blockers) by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS). **Methods** The β -blockers were extracted from porcine sample with acetonitrile, purified by solid phase extraction column Oasis Prime HLB. The analytes were then separated by the Endeavorsil C18 chromatographic column with methanol and 0.1% formic acid as gradient mobile phase. The ion fragment information analytes were obtained using ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry under multiple reaction monitoring mode and the isotope internal standards were used to quantify by calibration curves. **Results** The linear ranges of 17 β -blockers were from 0.2 to 20 $\mu\text{g/kg}$, with correlation coefficient (R) > 0.999. The limits of detection (LOD) were 0.05-0.07 $\mu\text{g/kg}$, and the limits of quantification (LOQ) were 0.15-0.2 $\mu\text{g/kg}$. The average recoveries of β -blockers (added into blank porcine samples at three concentration levels) ranged from 84.97% to 123.40%, and the relative standard deviation (RSD) was 0.41% to 13.94%. **Conclusion** The method is simple, sensitive, accurate and is suitable for the confirmation and quantification of β -blockers in porcine samples.

Key words: Ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry; β -blockers; porcine; solid phase extraction

β -肾上腺素受体阻断剂 (β -adrenergic blocking agents) 简称 β -受体阻断剂 (β -blockers), 在临床常

用于治疗高血压、心绞痛、心率异常、充血性心力衰竭等心血管疾病, 还可用于预防心肌梗死^[1-2]。 β -受体阻断剂能阻止肾上腺素对 β -受体的激动作用, 从而减弱神经对心脏的刺激并减少心脏工作量^[3]。由于该类药物具有显著的镇静作用, 常被非法用于射箭、射击、滑雪等体育赛事中, 现已被世界反兴奋剂机构 (World Anti-Doping Agency, WADA) 禁用^[4]。

收稿日期: 2020-09-16

作者简介: 屠瑞莹 女 主管技师 研究方向为食品理化检验

E-mail: 471429441@qq.com

通信作者: 赵榕 女 主任技师 研究方向为食品理化检测

E-mail: lxyue@yeah.net

同时,β-受体阻断剂常被非法用于畜牧业中,这主要是由于β-受体阻断剂能缓解食源性动物(特别是猪)在运输至屠宰场过程中产生的压力,并可通过减少动物的运动量来提高饲料转化率^[5]。人体过量摄入β-受体阻断剂会产生心率过速、眩晕、恶心、肌肉震颤等中毒症状^[6],而且β-受体阻断剂通常在动物宰杀前数小时注射给药,一旦非法使用就会有较高的残留风险,威胁食用者的健康。尽管食品法典委员会和欧盟均已规定β-受体阻断剂类卡拉洛尔(Carazolol)在猪肉制品中的限量要求^[7-8],但我国并未颁布明确的限量法规,在利益的驱使下,β-受体阻断剂在畜牧养殖业尤其是猪养殖业中存在非法使用的风险。因此,研究和建立准确、快速的检测方法具有十分重要的意义。

目前检测β-受体阻断剂的样品基质主要为尿液^[9-11]、环境水样^[3,12]及动物组织^[2,5-6],测定方法包括液相色谱法^[13]、气相色谱-质谱联用法^[10,13]、液相色谱-质谱联用法^[2,3,5-6,9,14-16]、毛细管电泳法^[17]等。毛细管电泳法尽管简便快捷,但方法的检出限较高;气相色谱质谱联用法大多受限于挥发性物质和极性官能团的复杂衍生过程;现有报道多采用液相色谱-质谱联用法测定动物组织中的β-受体阻断剂^[2,5-6]。由于液相色谱-质谱联用法需复杂的净化步骤以减少分析物在质谱上的基质效应,因此已知文献方法的处理通量都相对较低^[5-6,18]。Oasis PRiME HLB是一种新型的通过型固相萃取柱,能有效去除肉类样品中的磷脂和脂肪^[19-20]。而磷脂和脂肪在液质检测中会干扰目标物的测定,降低色谱柱的寿命。本方法基于乙腈提取液直接通过PRiME HLB萃取柱,无需活化、淋洗等步骤,简化了净化过程结合液相色谱串联质谱法同时检测17种β-受体阻断剂,并进行了方法学的优化和验证。

1 材料与方法

1.1 试剂

甲醇、乙腈(色谱纯,Dikma公司),甲酸(纯度为99%,Dikma公司),氯化钠、乙酸(优级纯,国药集团化学试剂有限公司),无水乙酸钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司),葡萄糖苷酸酶/芳基硫酸酯酶(116 400 unit/mL德国Sigma公司);实验室用水为超纯水,电阻率为18.2 MΩ·cm(美国Millipore公司超纯水器制备)。

1.2 标准溶液

1.2.1 标准品

β-受体阻断剂标准品:纳多洛尔(Nadolol,纯度>98%)、卡替洛尔(Carteolol,纯度>98%)、阿普洛尔

(Alprenolol,纯度>98%)、吲哚洛尔(Pindolol,纯度>98%)、倍他洛尔(Betaxolol,纯度>98%)、普萘洛尔(Propranolol,纯度>98%)、比索洛尔(Bisoprolol,纯度>98%)、噻利洛尔(Celiprolol,纯度>98%)、卡拉洛尔(Carazolol,纯度>98%)、艾司洛尔(Esmolol,纯度>98%)、氧烯洛尔(Oxprenolol,纯度>98%)、醋丁洛尔(Acebutolol,纯度>98%)、噻吗洛尔(Timolol,纯度>98%)、喷布洛尔(Penbutolol,纯度>98%)、美托洛尔(Metoprolol,纯度>98%)、奈比洛尔(Nebivolol,纯度>98%)、左布诺洛尔(Levobunolol,纯度>98%),均购自美国sigma公司。

同位素标准品:D₉-卡替洛尔(D₉-carteolol,纯度>98%)、D₇-吲哚洛尔(D₇-pindolol,纯度>98%)、D₅-倍他洛尔(D₅-betaxolol,纯度>98%)、D₇-普萘洛尔(D₇-propranolol,纯度>98%)、D₇-比索洛尔(D₇-bisoprolol,纯度>98%)、D₉-噻利洛尔(D₉-celiprolol,纯度>98%)、D₇-卡拉洛尔(D₇-carazolol,纯度>98%)、D₆-氧烯洛尔(D₆-oxprenolol,纯度>98%)、D₅-醋丁洛尔(D₅-acebutolol,纯度>98%)、D₇-美托洛尔(D₇-metoprolol,纯度>98%)、D₄-奈比洛尔(D₄-nebibolol,纯度>98%),均购自美国Sigma公司。

1.2.2 标准溶液的配制

精确称取β-受体阻断剂标准品各0.0100 g,甲醇溶解并定容至10 mL,得到1 000 mg/L的标准储备液,-18℃保存。实验前将储备液由甲醇稀释为10 mg/L的中间液。各中间液用甲醇稀释为100 μg/L的混合标准溶液。同位素标准品:用甲醇溶解得到10 mg/L的中间液,使用前用甲醇稀释成为100 μg/L的混合内标标准溶液。

1.3 仪器与设备

超高相液相色谱-质谱仪(Xevo TQ-S质谱仪,配Acquity型液相色谱仪,美国waters公司),天平(FA2004型,上海精科天平公司),离心机(3-18 K型,Sigma公司),Oasis PRiME HLB固相萃取柱(200 mg,6 mL,美国waters公司)。

1.4 样品制备

称取阴性猪肉绞碎样品2.5 g于50 mL离心管内,加入100 ng/mL内标混合液10 μL,加入β-葡萄糖苷酸/芳基硫酸酯酶液40 μL和0.1 mol/L醋酸钠缓冲溶液(pH 5.2)5 mL,涡漩1 min,37℃振荡水解12 h,冷却至室温。加入20 mL乙腈振荡15 min后,超声15 min。加入2 g NaCl盐析分层,以10 000 r/min速率4℃离心10 min。

准确量取8 mL乙腈层上清液,加入到PRiME HLB柱中。收集流出液并在40℃下氮吹浓缩至近干,用1 mL初始流动相溶液(甲醇:0.1%甲酸水溶

液,5:95)复溶残余物,经过 0.22 μm 有机滤膜过滤,上机测定。

1.5 仪器条件

1.5.1 色谱条件

迪马公司 Endeavorsil C18 色谱柱 (30 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm); 流速 0.35 mL/min; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 10 μL ; 以甲醇为流动相 A, 0.1% 甲酸水溶液为流动相 B, 线性梯度洗脱, 洗脱程序: 0~6 min, 5% A~50% A; 6~9 min, 50% A~100% A; 9~10 min, 100% A; 10~10.5 min, 100% A~5% A; 10.5~12 min, 5% A。

1.5.2 质谱条件

离子化模式: 电喷雾电离, 正离子模式 (ESI^+); 质谱扫描方式: 二级质谱多反应离子监测 (MRM); 干燥气温度: 350 $^{\circ}\text{C}$; 喷雾气流速: 1 000 L/Hr; 干燥气流速: 150 L/Hr; 毛细管电压: 3.2 kV。其他质谱条件见表 1。

2 结果与分析

2.1 仪器条件的优化

β -受体阻断剂类通常含有 R-O-CH₂-CH(OH)-CH₂-NH-CH(CH₃)₂ 结构, 在 ESI^+ 模式下易解离成特征碎片离子 m/z 116 [(N-异丙基-N-2-羟丙基胺)+H]⁺ (如表 1 所示), 因此选择 ESI^+ 模式进行质谱扫描^[2]。将质量浓度为 50.0 $\mu\text{g/L}$ 的单标标准液依次流动注射进入质谱, 确定 17 种 β -受体阻断剂的母离子和子离子, 两个子离子中选择响应值高且干扰较小的子离子作为定量离子, 另一个作为定性离子。优化锥孔电压、碰撞能量、毛细管电压等各项质谱参数, 建立 MRM 的检测模式, 详细质谱条件见表 1。各目标物均具有一个母离子和两个子离子, 符合欧盟 2002/657/EC 条例规范^[21], 能够满足猪肉样品中的 β -受体阻断剂类药物残留的确证要求。

17 种 β -受体阻断剂标准及 11 种同位素内标物的提取离子流色谱图见图 1。每种 β -受体阻断剂对应的内标物见表 2。

2.2 色谱条件的确定

17 种 β -受体阻断剂均为碱性化合物^[1], 且极性相差较大, 因此选择具有较高分离度的硅胶基质 C18 色谱柱 (Endeavorsil C18 色谱柱) 进行分离。碱性化合物的分析大多采用酸性流动相以减少硅醇残基对离子化目标物的吸附作用^[2], 参考 FAN 等^[6]的研究, 流动相选择甲醇和甲酸水, 控制出峰时间在 8 min 以内。

2.3 前处理条件的优化

β -受体阻断剂在体内经代谢后易与葡萄糖醛

表 1 化合物的主要质谱条件参数及保留时间

Table 1 Parameters of MS and retention times for all analytes

化合物	保留时间 /min	母离子 /(m/z)	子离子 /(m/z)	锥孔电压 /V	碰撞能量 /V
吲哚洛尔 pindolol	2.9	249.2	116.0* 74.0	20 20	16 22
阿普洛尔 alprenolol	2.9	250.2	116.2* 71.6	26 26	14 18
D ₇ -吲哚洛尔 D ₇ -pindolol	2.9	256.2	123.2* 172.1	12 12	18 18
卡替洛尔 carteolol	3.3	293.2	237.1* 74.1	30 30	14 20
D ₉ -卡替洛尔 D ₉ -carteolol	3.2	302.2	238.0* 202.1	30 30	15 22
纳多洛尔 nadolol	3.5	310.0	254.2* 236.1	30 30	16 20
普萘洛尔 propranolol	5.8	260.1	116.1* 183.1	20 20	18 18
D ₇ -普萘洛尔 D ₇ -propranolol	5.8	267.2	123.2* 183.1	8 8	18 18
倍他洛尔 betaxolol	6.0	308.3	116.1* 98.0	20 20	18 22
D ₅ -倍他洛尔 D ₅ -betaxolol	6.0	313.3	121.1* 79.1	52 52	20 26
比索洛尔 bisoprolol	5.4	326.3	116.1* 74.0	20 20	16 24
D ₇ -比索洛尔 D ₇ -bisoprolol	5.4	333.3	123.2* 79.1	40 40	18 26
氧烯洛尔 oxprenolol	5.1	266.2	72.1* 116.1	30 30	18 16
D ₆ -氧烯洛尔 D ₆ -oxprenolol	5.1	273.2	79.0* 123.1	20 20	19 16
艾司洛尔 esmolol	4.7	296.2	145.1* 219.1	22 22	26 16
卡拉洛尔 carazolol	5.0	299.2	116.2* 222.1	20 20	20 18
D ₇ -卡拉洛尔 D ₇ -carazolol	5.0	306.2	123.1* 222.1	40 40	18 18
噻利洛尔 celiprolol	5.0	380.3	251.2* 306.9	20 20	22 16
D ₉ -噻利洛尔 D ₉ -celiprolol	5.0	389.3	316.2* 252.0	40 40	18 24
美托洛尔 metoprolol	4.3	268.2	116.1* 133.1	20 20	16 26
D ₇ -美托洛尔 D ₇ -metoprolol	4.3	275.3	123.1* 105.2	52 52	20 20
喷布洛尔 pentbutolol	4.5	292.1	236.2* 201.1	20 20	16 22
噻吗洛尔 timolol	4.3	317.2	74.0* 261.1	30 30	22 14
醋丁洛尔 acebutolol	4.3	337.2	116.1* 319.2	26 20	20 16
D ₅ -醋丁洛尔 D ₅ -acebutolol	4.3	342.2	121.1* 324.2	12 12	22 18
左布诺洛尔 levobunolol	7.4	292.0	236.2* 201.1	20 20	16 22
萘比洛尔 neбивolol	7.3	406.1	151.0* 123.1	30 30	30 40
D ₄ -萘比洛尔 D ₄ -neбивolol	7.3	410.3	151.1* 103.0	12 12	28 54

注: * 表示定量离子 (quantitative ion)

表2 目标分析物及对应的内标

Table 2 Internal labels for all analytes

化合物	内标化合物
吲哚洛尔	D ₇ -吲哚洛尔
阿普洛尔	D ₇ -吲哚洛尔
卡替洛尔	D ₉ -卡替洛尔
纳多洛尔	D ₉ -卡替洛尔
普萘洛尔	D ₇ -普萘洛尔
倍他洛尔	D ₅ -倍他洛尔
比索洛尔	D ₇ -比索洛尔
氧烯洛尔	D ₆ -氧烯洛尔
艾司洛尔	D ₇ -卡拉洛尔
卡拉洛尔	D ₇ -卡拉洛尔
噻利洛尔	D ₉ -噻利洛尔
美托洛尔	D ₇ -美托洛尔
喷布洛尔	D ₅ -醋丁洛尔
噻吗洛尔	D ₅ -醋丁洛尔
醋丁洛尔	D ₅ -醋丁洛尔
左布诺洛尔	D ₄ -萘比洛尔
萘比洛尔	D ₄ -萘比洛尔

酸或硫酸形成共轭物^[9],需通过水解使待测物变为游离态,本方法选用酶解法水解猪肉样品,与研究报道一致^[2,22-23]。选用乙腈作为萃取溶剂一方面由于乙腈能较好的提取全部待测物^[5],另一方面由于乙腈对于 PRiME HLB 固相萃取柱有更好的上样效果。

本研究比较了含有不同比例乙腈(80%、90%、100%)提取液的上柱净化效果,其中纯乙腈通过提取液中加入 NaCl 促使水相与有机相分层得到,回收率见图 2。结果表明纯乙腈对于除 Carteolol、Bisoprolol、Carazolol、Esmolol、Levobunolol 以外的 12 种 β -受体阻断剂均有较好的回收率,为建立一次检测 17 种目标物的方法,选择纯乙腈进行固相萃取。因此在 1.4 前处理过程中乙腈提取后进行盐析,以获得纯乙腈提取液。

根据文献报道^[6,20], β -受体阻断剂的净化方法多采用 MCX 固相萃取柱,MCX 柱对于 β -受体阻断剂等碱性化合物具有较高的选择性。但由于 MCX 为混合型阳离子交换反相吸附剂,对动物组织中的磷脂有吸附作用,干扰目标物的检测。PRiME HLB 固相萃取柱是 HLB 萃取柱的升级产品,可有效去除蛋白、脂肪、磷脂及非极性杂质^[24-25]。依据既往研究^[9,20]报道,动物组织通过 MCX 固相萃取柱净化后,目标化合物的回收率不足 60%,PRiME HLB 回收效果明显优于 MCX 柱。另有文献选择 NH₂ 固相萃取法^[5]和硅藻土与 BondElut 分散固相萃取填料双重净化法^[2,11],PRiME HLB 固相萃取柱是通过式净化处理,免去了活化、淋洗和洗脱的步骤。本方法相较于传统方法具有更好的回收率,但仍需酶解、净化等步

骤。净化过程选择 PRiME HLB 固相萃取柱操作更简便,试剂消耗更少,环境友好度更高。

2.4 基质效应、线性范围与检出限

ESI 源质谱分析过程中,由于共萃取组分之间存在电离竞争,会产生基质效应,导致目标离子的信号抑制或增强。通常采用同位素内标校正法或基质匹配标准曲线校正法降低基质效应的影响。本方法选用阴性猪肉样品按照 1.2.2 步骤制备基质匹配的标准曲线,同时采用同位素内标校正,能有效减少基质效应的影响。

选用阴性猪肉样品添加 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ β -受体阻断剂混合标准溶液,按照 1.4 步骤进行前处理,在 1.5 的质谱条件上机测定。采用信噪比(S/N)为 10 得到 17 种化合物的定量下限(Limit of quantitation, LOQ)为 0.15~0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$,信噪比(S/N)为 3 得到检出限为 0.05~0.07 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

基质匹配的标准曲线上机测定,以待测物峰面积与内标物峰面积比值(y)为纵坐标,对应的质量浓度(x, $\mu\text{g}/\text{L}$)为横坐标绘制标准工作曲线。17 种待测物的线性范围均为 0.2~20 $\mu\text{g}/\text{L}$,相关系数(r)均>0.999,线性关系良好,见表 3。

表3 17种 β -受体阻断剂的回归方程、相关系数
Table 3 Regression equations, correlation coefficients(r) of the 17 β -blockers

化合物	回归方程	相关系数(r)
纳多洛尔	$y = 0.37x + 0.0011$	0.999
卡替洛尔	$y = 0.56x + 0.0061$	0.999
阿普洛尔	$y = 0.020x + 0.00015$	0.999
吲哚洛尔	$y = 0.51x - 0.0030$	0.999
倍他洛尔	$y = 0.24x + 0.0050$	0.999
普萘洛尔	$y = 0.71x + 0.0040$	0.999
比索洛尔	$y = 0.78x + 0.0057$	0.999
噻利洛尔	$y = 0.73x + 0.010$	0.999
卡替洛尔	$y = 1.61x - 0.0021$	0.999
艾司洛尔	$y = 0.69x + 0.034$	0.999
氧烯洛尔	$y = 0.39x + 0.0021$	0.999
醋丁洛尔	$y = 0.43x + 0.0089$	0.999
噻吗洛尔	$y = 0.31x + 0.0069$	0.999
喷布洛尔	$y = 0.74x - 0.013$	0.999
美托洛尔	$y = 0.28x + 0.0049$	0.999
萘比洛尔	$y = 1.17x + 0.0033$	0.999
左布诺洛尔	$y = 0.58x - 0.020$	0.999

2.5 回收率与精密度

在阴性猪肉基质样品中分别添加质量浓度为 0.2、0.4、2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 17 种 β -受体阻断剂混合标准溶液,每个浓度水平进行 6 次平行测定,测定回收率。结果见表 4,17 种 β -受体阻断剂的回收率范围为 84.97%~123.40%,RSD 范围为 0.41%~13.94%。本方法的回收率和精密度良好,优于其他报道中猪肉样品 β -受体阻断剂的检测方法^[5]。

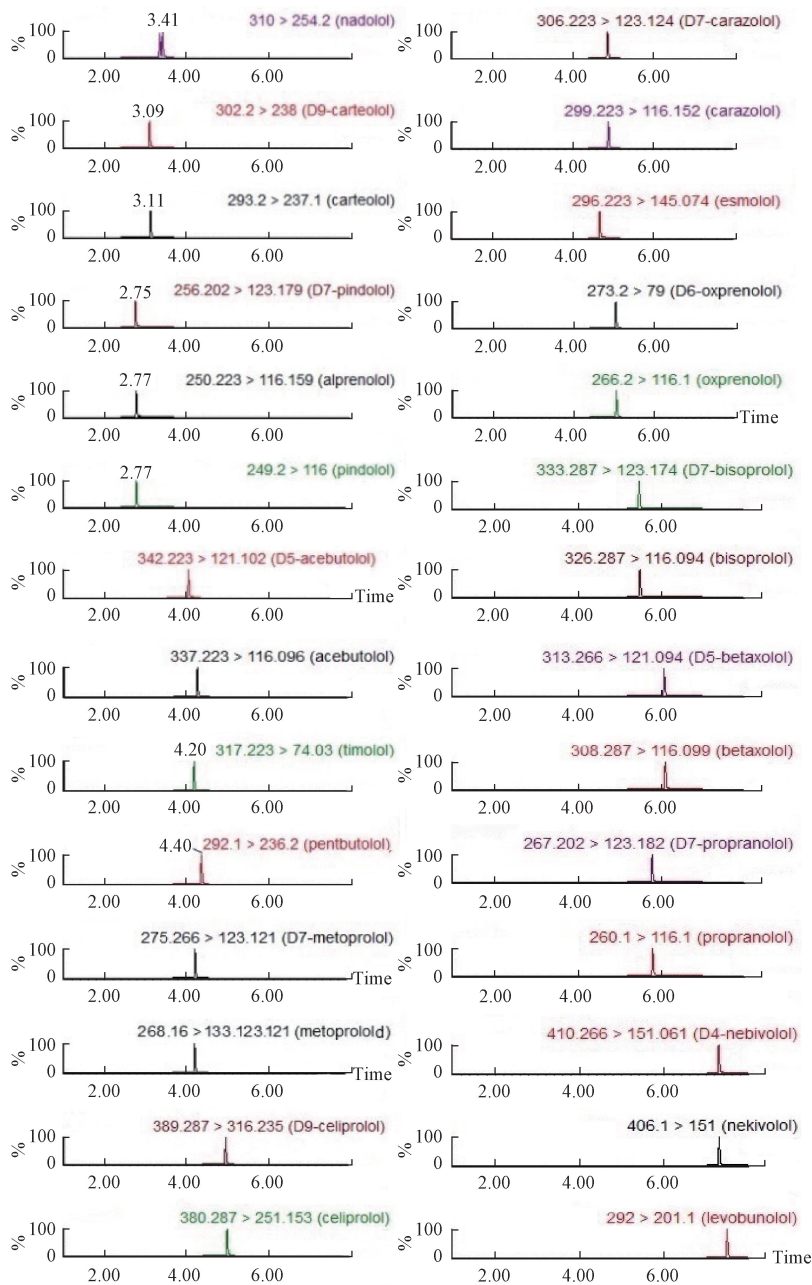


图 1 目标化合物及同位素内标的色谱图

Figure 1 Chromatogram of compounds

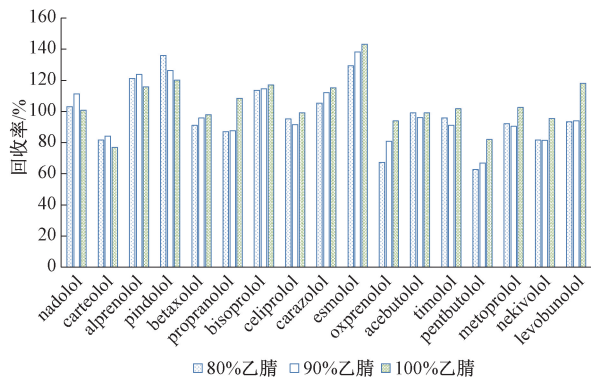


图 2 不同含量乙腈提取液的回收率

Figure 2 Recoveries of β -blockers using different content of acetonitrile

2.6 实际样品测定

采用本文建立的方法对北京市随机采购的 60 件猪肉样品进行检测, 均未检出上述 17 种 β -受体阻断剂。

3 小结

本研究采用酶解法水解猪肉样品, 用乙腈萃取后一次性通过 PRiME HLB 固相萃取柱, 相比传统方法省略了活化、淋洗和洗脱等步骤, 回收率增加, 溶剂消耗和提取过程减少了近 50%, 在短时间内实现大批量样品处理。超高效液相色谱串联质谱法检测 β -受体阻断剂的灵敏度高, 准确性好, 出峰时间均控制在 8 min 以内。本方法优化了前处理条件,

表 4 17 种 β -受体阻断剂的回收率和相对标准偏差 ($n=6$)

Table 4 Recovery ranges and RSDs of 17 β -blockers in a blank spiked matrix sample ($n=6$)

分析物	0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$		0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$		2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
	回收率 /%	相对标准偏差 /%	回收率 /%	相对标准偏差 /%	回收率 /%	相对标准偏差 /%
纳多洛尔	84.97	5.77	98.22	10.10	102.19	9.46
卡替洛尔	98.47	3.98	106.67	12.66	102.08	13.26
阿普洛尔	90.95	9.22	115.65	3.84	112.38	8.01
呋洛洛尔	95.45	3.08	110.27	8.16	109.12	8.27
倍他洛尔	86.38	6.55	85.70	13.31	96.38	6.65
普萘洛尔	100.63	12.22	104.88	10.07	109.21	10.71
比索洛尔	107.20	8.04	116.34	4.95	104.59	7.12
噻利洛尔	99.83	4.77	119.02	6.00	122.68	3.59
卡替洛尔	117.12	5.51	111.98	8.36	114.68	3.30
艾司洛尔	90.40	5.45	96.87	11.81	89.44	5.75
氧烯洛尔	115.28	3.59	118.55	3.32	106.31	10.63
醋丁洛尔	95.52	6.43	101.90	5.88	102.39	5.02
噻吗洛尔	91.65	5.44	105.14	10.33	105.97	7.69
喷布洛尔	116.2	3.01	120.53	2.02	120.01	1.28
美托洛尔	85.85	7.10	105.15	9.50	101.07	4.85
萘比洛尔	99.22	10.04	106.92	3.38	102.83	5.02
左布诺洛尔	92.79	13.94	113.17	7.69	123.40	0.41

并通过检出限、线性、准确度、精密度和实际样品测定,验证了方法的可行性。本方法可快速、高效地对猪肉中的 β -受体阻断剂进行定性、定量分析,为 β -受体阻断剂的残留监测提供了可行的技术支持。

参考文献

[1] ANDERSON A C. Management of beta-adrenergic blocker poisoning[J]. Clinical Pediatric Emergency Medicine, 2008, 9 (1): 4-16.

[2] 张鸿伟, 许辉, 高建国, 等. 超快速液相色谱-四极杆/线性离子阱质谱同时检测猪组织中 9 种 β -受体阻断剂残留[J]. 色谱, 2014, 32(6): 573-581.

[3] MUNTEAN D L, HANCU G, KELEMEN H, et al. Cyclodextrine screening for the chiral separation of beta-blocker derivatives[J]. Revista de Chimie-Bucharest, 2015, 66(7): 1019-1023.

[4] World Anti-Doping Agency. World Anti-Doping Code: International Standard, Prohibited List[EB/OL]. (2014-07-01) [2020-08-18]. <http://www.wada-ama.org>, 2016.

[5] ZHANG J, SHAO B, YIN J, et al. Simultaneous detection of residues of β -adrenergic receptor blockers and sedatives in animal tissues by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2009, 877(20-21): 1915-1922.

[6] FAN S, MIAO H, ZHAO Y F, et al. Simultaneous detection of residues of 25 β_2 -agonists and 23 β -blockers in animal foods by high-performance liquid chromatography coupled with linear ion trap mass spectrometry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(8): 1898-1905.

[7] Commission Regulation (EU). No. 37/2010 of 22 December 2009 on Pharmacologically Active Substances and Their Classification Regarding Maximum Residue Limits in Foodstuffs of Animal Origin [S]. Official Journal of the European

Union, 2010.

[8] Codex Alimentarius Commission (CAC). Maximum Residue Limits (MRLs) and Risk Management Recommendations (RMRs) for Residues of Veterinary Drugs in Foods[EB/OL]. (2015-07-01) [2020-08-18]. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/veterinary-drugs-mrls/en>, 2016.

[9] 范赛, 邹建宏, 苗虹, 等. 液相色谱-三级质谱法分析尿液中 β_2 -受体激动剂及 β -受体阻断剂多组分残留[J]. 分析化学, 2011, 39(8): 1153-1158.

[10] LIU W, ZHANG L, WEI Z Y, et al. Analysis of beta-agonists and beta-blockers in urine using hollow fibre-protected liquid-phase microextraction with *in situ* derivatization followed by gas chromatography/mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(28): 5340-5346.

[11] 苗虹, 邹建宏, 范赛, 等. 高效液相色谱-离子阱质谱法测定尿液中 β_2 -受体激动剂及 β -受体阻断剂[J]. 色谱, 2010, 28(6): 572-578.

[12] GROS M, PIZZOLATO T M, PETROVIĆ M, et al. Trace level determination of β -blockers in waste waters by highly selective molecularly imprinted polymers extraction followed by liquid chromatography-quadrupole-linear ion trap mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1189(1-2): 374-384.

[13] BOONJOB W, SKLENÁŘOVÁ H, LARA F J, et al. Retention and selectivity of basic drugs on solid-phase extraction sorbents: Application to direct determination of β -blockers in urine[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2014, 406(17): 4207-4215.

[14] 钱哲元, 张明勇, 李升妮, 等. 基于直链淀粉衍生物手性固定相的高效液相色谱-串联质谱法拆分 4 种 β -受体阻滞剂对映体及其分离机制的探讨[J]. 色谱, 2018, 36(3): 261-267.

[15] MURRAY G J, DANACEAU J P. Simultaneous extraction and screening of diuretics, beta-blockers, selected stimulants and steroids in human urine by HPLC-MS/MS and UPLC-MS/MS

- [J]. Journal of Chromatography B, 2009, 877 (30): 3857-3864.
- [16] BADOUD F, GRATA E, PERRENOUD L, et al. Fast analysis of doping agents in urine by ultra-high-pressure liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry II: Confirmatory analysis[J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(25):4109-4119.
- [17] 宋子旺, 童萍, 郑丽辉, 等. 毛细管电泳安培法用于尿样中β-阻断剂类兴奋剂药物的研究[J]. 分析化学, 2008, 36 (12): 1624-1628.
- [18] BUSZEWSKI B, WELEROWICZ T, TEGOWSKA E, et al. Determination of selected beta-receptor antagonists in biological samples by solid-phase extraction with cholesterolic phase and LC/MS[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2009, 393 (1): 263-272.
- [19] CHEN Z Y, YING S, LIU J H, et al. PRiME pass-through cleanup for the fast determination of aflatoxins in human serum by using LC-MS/MS[J]. Anal Methods, 2016, 8(7): 1457-1462.
- [20] 王智, 施宗伟, 郗存显, 等. PRiME HLB 固相萃取/超高效液相色谱-串联质谱法快速检测牛肝中 18 种促生长剂类药物残留[J]. 分析测试学报, 2017, 36(10): 1219-1223.
- [21] Commission Regulation (EC). No. 657/2002, implementing council directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results[S]. Official Journal of the European Union, 2002, L221: 8-36.
- [22] 祝伟霞, 张莉, 李睢, 等. 超高效液相色谱-多反应选择离子监测同步在线全扫描质谱技术测定保健品中的类安非他命和匹卡米隆[J]. 色谱, 2016, 34(7): 681-685.
- [23] 史娜, 郝杰, 姜洁, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时检测动物源性食品中残留的 35 种 β-受体激动剂和 11 种 β-受体阻断剂[J]. 分析仪器, 2018(1): 20-31.
- [24] 杜珍妮, 苗宏健, 吴永宁. 含乳食品中 17 种塑化剂的检测[J]. 卫生研究, 2016, 45(3): 465-469.
- [25] 郝杰, 姜洁, 余建龙, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物源性食品中多种兽药残留[J]. 食品科学, 2017, 38(12): 266-272.

实验技术与方法

高效液相色谱-电感耦合等离子体串联质谱法测定富硒大蒜中硒形态

张珂, 张钦龙, 张蜀, 张慢玲, 高舸

(成都市疾病预防控制中心, 四川 成都 610041)

摘要:目的 建立大蒜中硒形态的高效液相色谱-电感耦合等离子体串联质谱测定方法。方法 采用 ZORBAX SB-Aq 反相离子对色谱柱作为分析柱, 10.00 mmol/L 柠檬酸(铵)+5.00 mmol/L 己烷磺酸钠+2.00% 甲醇为流动相, 梯度洗脱, 可在 10.00 min 内完成对硒酸根(SeO_4^{2-})、亚硒酸根(SeO_3^{2-})、硒代胱氨酸(SeCys_2)、甲基-硒代半胱氨酸(MeSeCys)、硒代蛋氨酸(SeMet)和硒代乙硫氨酸(SeEt)的分离分析。采用恒温振荡辅助酶提取法对大蒜进行提取。结果 SeO_4^{2-} 、 SeO_3^{2-} 、 SeCys_2 、 MeSeCys 、 SeMet 和 SeEt 的方法检出限分别为 0.40、0.40、0.44、0.47、0.35 和 0.45 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 0.00~100.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 范围内线性相关系数(r)均>0.999, 线性关系良好。除 SeCys_2 , 加标回收率为 79.00%~104.00%, 相对标准偏差为 2.20%~5.00% ($n=7$)。结论 该方法稳定性好, 灵敏度和准确度高, 适用于大蒜中 5 种硒形态分析。

关键词: 高效液相色谱-电感耦合等离子体串联质谱; 富硒; 大蒜; 硒形态; 酶提取

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2021)05-0577-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2021.05.010

Determination of selenium species in Se-enriched garlic with high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma tandem mass spectrometry

ZHANG Ke, ZHANG Qinlong, ZHANG Shu, ZHANG Manling, GAO Ge

(Chengdu Center for Disease Control and Prevention, Sichuan Chengdu 610041, China)

Abstract: Objective To establish a method for the determination of selenium species in Se-enriched garlic with high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma tandem mass spectrometry (HPLC-ICP-MS/MS). **Methods** ZORBAX SB-Aq column was used as analytical column; 10 mmol/L citric acid (ammonium citrate), 5 mmol/L sodium

收稿日期: 2021-01-11

作者简介: 张珂 男 主管技师 研究方向为光谱和色谱分析 E-mail: 406400216@qq.com

通信作者: 高舸 女 主任技师 研究方向为光谱和色谱分析 E-mail: 1002348124@qq.com