

# 超高效液相色谱串联质谱法测定饲料中 13 种 $\beta$ 受体激动剂

LCMSMS-080

**摘要:** 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定饲料中克伦特罗等 13 种  $\beta$  受体激动剂的方法。样品磨碎后,采用盐酸化甲醇提取,经混合型阳离子交换小柱净化,45°C 下氮气吹干,流动相溶解残渣,0.2% 甲酸 - 甲醇梯度洗脱分离,采用电喷雾离子源 (ESI+)、多反应离子监测模式 (MRM) 进行定量分析。基质加标配制工作曲线,克伦特罗等在 1 ~ 50  $\mu\text{g/L}$  范围内呈良好的线性关系,相关系数  $r$  均不低于 0.999; 在 0.01mg/kg 和 0.05mg/kg 两个加标水平下,回收率为 61.0% ~ 111.9%,相对标准偏差 (RSDs,  $n=8$ ) 均小于 12%,方法的适用性良好;定量下限 (LOQ) 为 0.01mg/kg,满足农业部 1063 号公告 -6-2008 中 0.05 mg/kg 要求。

**关键词:**  $\beta$  受体激动剂 饲料 三重四极杆质谱

$\beta$  受体激动剂是一类化学合成的苯乙醇胺类衍生物,主要有盐酸克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、西马特罗和班布特罗等十多种。一般来说,饲料中添加适量盐酸克伦特罗后,可使饲料转化率、生长速率和瘦肉率提高超过 10%,所以也称它为瘦肉精。 $\beta$  受体激动剂对人体危害大,因此在全球遭到禁用。我国也已经于 2002 年明确将其列入《禁止在饲料和动物饮用水中使用的药品物种目录》。对于饲料中瘦肉精的检测,农业部 1063 号公告 -6-2008 方法中规定的方法检出限是 0.01mg/kg,定量限是 0.05mg/kg。本文建立了使用岛津超高效液相色谱串联质谱联用法检测饲料中克伦特罗等 13 种的  $\beta$  受体激动剂方法,定量限为 0.01mg/kg,满足法规要求。

进样量: 1  $\mu\text{L}$

梯度条件: 如下

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	B Conc.	16
5.00	Pumps	B Conc.	60
5.50	Pumps	B Conc.	95
6.50	Pumps	B Conc.	95
6.51	Pumps	B Conc.	3
9.00	Controller	Stop	

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD  $\times$  2 输液泵, DGU-20A5 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30AC 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8040 三重四极杆质谱仪, LabSolutions ver. 5.50 色谱工作站。

### 1.2 分析条件

#### 液相条件

色谱柱: Shim-pack XR-ODSIII 2.0 mm I.D.  $\times$  75 mm L., 1.6  $\mu\text{m}$

流动相: A - 0.2% 甲酸水; B - 甲醇

流速: 0.4 mL/min

柱温: 40°C

#### 质谱条件

离子化模式: ESI 源, 正离子

离子喷雾电压: 4.5 kV

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 15 L/min

碰撞气: 氩气

DL 温度: 250°C

加热模块温度: 400°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

驻留时间: 15 ms

延迟时间: 1 ms

碰撞能量: 见表 1

### 1.3 标准品溶液的配制及样品前处理

13 种  $\beta$  受体激动剂用甲醇配制 1000  $\mu\text{g/mL}$  的单一标准溶液。用甲醇稀释为 1  $\mu\text{g/mL}$  的混合标准中间溶液。再用水稀释成浓度为 1、5、10、20 和 50 ng/mL 的混合标准工作液。

样品前处理方法基本按照农业部 1063 号公告 -6-

2008《饲料中13种β受体激动剂的检测液相色谱-串联质谱法》进行。区别在于本法用氮吹代替了旋蒸。

表1 MRM参数列表

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
特布他林	226.00	152.15*	-23.0	-15.0	-29.0
		107.15	-23.0	-30.0	-18.0
沙丁胺醇	243.20	151.20*	-29.0	-17.0	-27.0
		225.25	-29.0	-9.0	-23.0
齐帕特罗	262.00	244.15*	-27.0	-12.0	-25.0
		185.15	-27.0	-23.0	-18.0
西马特罗	219.80	202.20*	-23.0	-9.0	-20.0
		160.15	-23.0	-14.0	-30.0
西布特罗	234.00	160.15*	-25.0	-13.0	-30.0
		143.05	-25.0	-24.0	-26.0
克伦普罗	262.90	245.10*	-27.0	-9.0	-25.0
		132.15	-27.0	-24.0	-24.0
莱克多巴胺	302.00	284.25*	-30.0	-12.0	-19.0
		164.15	-30.0	-16.0	-30.0
妥布特罗	227.70	154.10*	-24.0	-16.0	-28.0
		119.10	-24.0	-28.0	-21.0
克伦特罗	276.90	203.10*	-29.0	-15.0	-20.0
		259.15	-29.0	-10.0	-17.0
溴布特罗	366.90	292.90*	-17.0	-19.0	-30.0
		349.00	-17.0	-13.0	-24.0
班布特罗	368.10	294.20*	-17.0	-20.0	-30.0
		72.15	-17.0	-35.0	-27.0
马布特罗	310.80	237.10*	-30.0	-16.0	-24.0
		293.15	-30.0	-11.0	-30.0
氯丙那林	213.80	154.10*	-22.0	-15.0	-28.0
		196.15	-22.0	-10.0	-19.0

\* 代表定量离子对

## 结果与讨论

### 2.1 混合标准工作液的色谱图

20 ng/mL 混合标准工作液色谱图如图 1-13 所示。各组分峰形对称，响应良好。

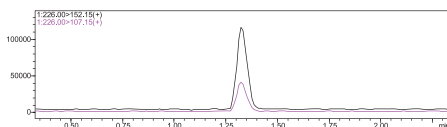


图1 20 ng/mL 的特布他林色谱图

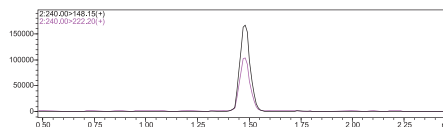


图2 20 ng/mL 的沙丁胺醇色谱图

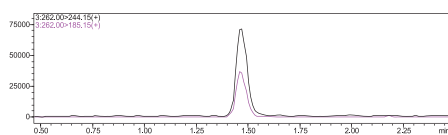


图 3 20 ng/mL 的齐帕特罗色谱图

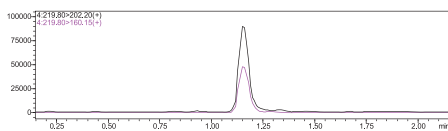


图 4 20 ng/mL 的西马特罗色谱图

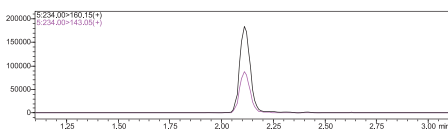


图 5 20 ng/mL 的西布特罗色谱图

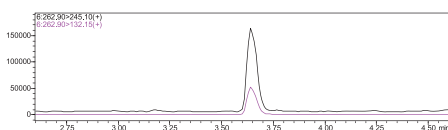


图 6 20ng/mL 的克伦普罗色谱图

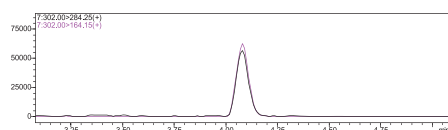


图 7 20 ng/mL 的莱克多巴胺色谱图

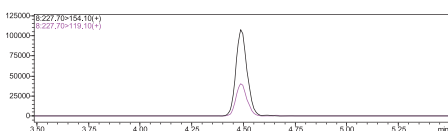


图 8 20 ng/mL 的妥布特罗色谱图

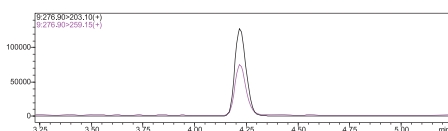


图 9 20 ng/mL 的克伦特罗色谱图

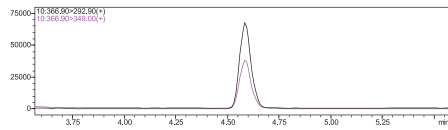


图 10 20 ng/mL 的溴布特罗色谱图

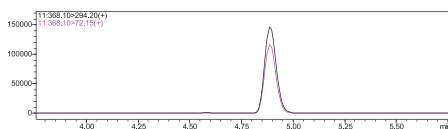


图 11 20 ng/mL 的班布特罗色谱图

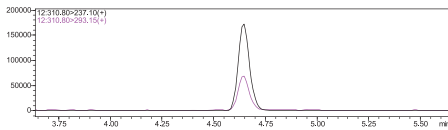


图 12 20 ng/mL 的马布特罗色谱图

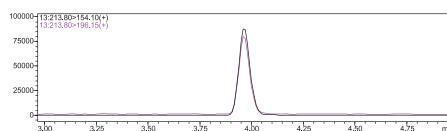


图 13 20 ng/mL 的氯丙那林色谱图

## 2.2 线性关系

使用空白基质配制基质加标工作曲线，浓度为 1、5、10、20 和 50 ng/mL 的混合基质加标溶液按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线。所得校准曲线线性关系良好，相关信息见表 2。

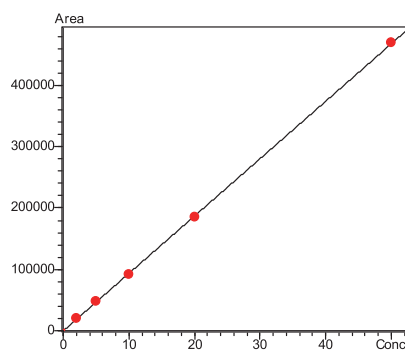


图 14 特布他林的标准曲线

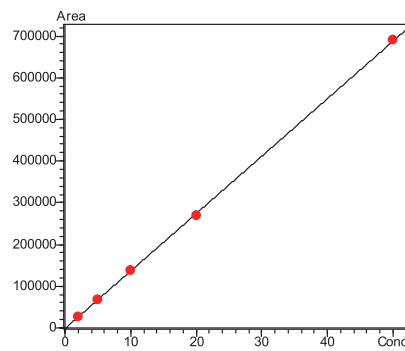


图 15 沙丁胺醇的标准曲线

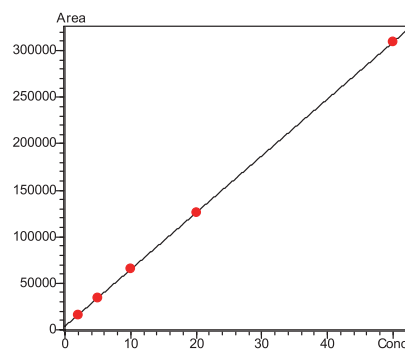


图 16 齐帕特罗的标准曲线

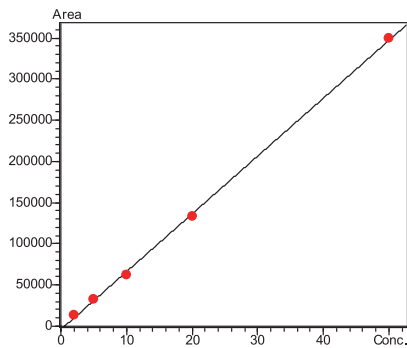


图 17 西马特罗的标准曲线

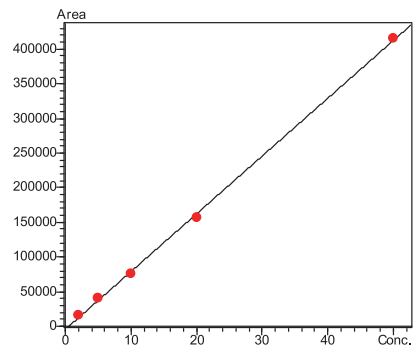


图 21 妥布特罗的标准曲线

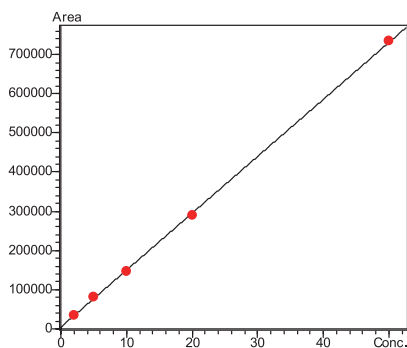


图 18 西布特罗的标准曲线

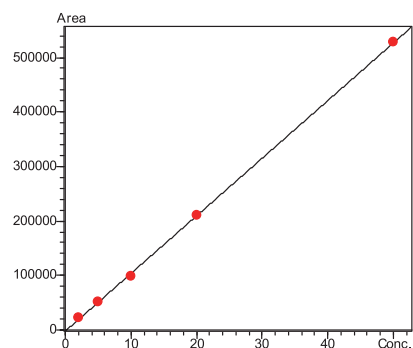


图 22 克伦特罗的标准曲线

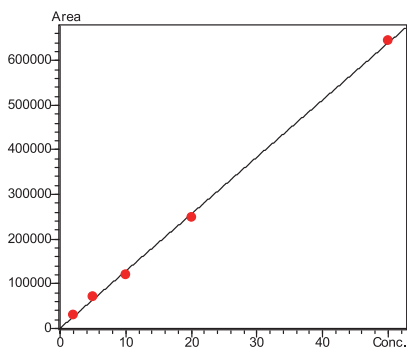


图 19 克伦普罗的标准曲线

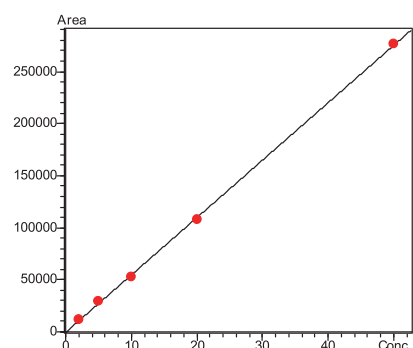


图 23 溴布特罗的标准曲线

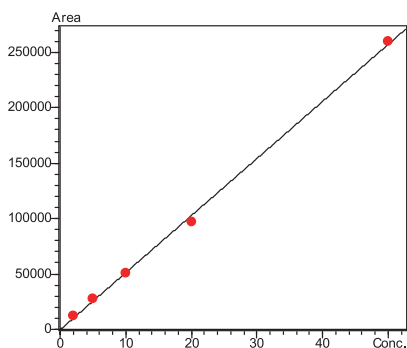


图 20 莱克多巴胺的标准曲线

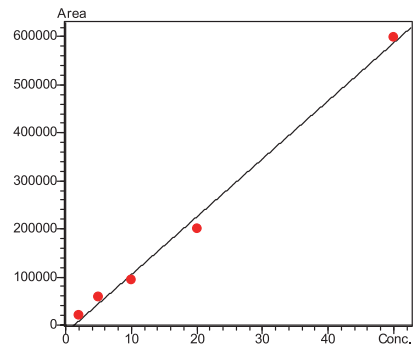


图 24 班布特罗的标准曲线

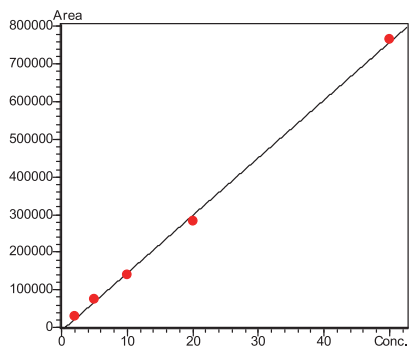


图 25 马布特罗的标准曲线

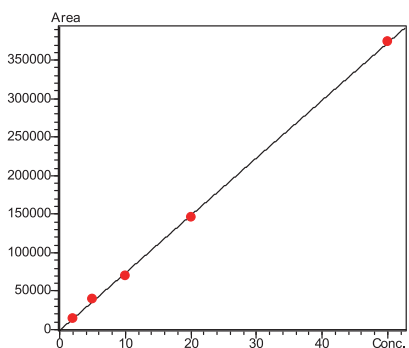


图 26 氯丙那林的标准曲线

表 2 13 种 β 受体激动剂的校准曲线信息

名称	校准曲线	相关系数
特布他林	$Y = (8677.74)X + (8510.66)$	0.9999
沙丁胺醇	$Y = (15263.7)X + (14409.9)$	0.9999
齐帕特罗	$Y = (5729.03)X + (4590.08)$	0.9999
西马特罗	$Y = (4402.70)X + (-3371.67)$	0.9998
西布特罗	$Y = (17946.0)X + (5670.37)$	0.9999
克伦普罗	$Y = (8800.96)X + (8520.94)$	0.9999
莱克多巴胺	$Y = (3496.88)X + (3771.73)$	0.9999
妥布特罗	$Y = (6407.66)X + (7807.28)$	0.9999
克伦特罗	$Y = (13103.5)X + (9273.56)$	0.9999
溴布特罗	$Y = (4607.60)X + (2947.62)$	0.9999
班布特罗	$Y = (10498.4)X + (9675.91)$	0.9999

马布特罗  $Y = (17391.0)X + 0.9999$   
(13189.9)

氯丙那林  $Y = (9339.98)X + 0.9999$   
(8815.97)

### 2.3 标样重复性实验

对浓度为 5 和 20 ng/mL 的混合标准溶液进行 12 次连续测定，保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSDs, n=12) 分别在 0.06 ~ 0.73% 和 1.41 ~ 6.93% 之间，表明仪器的精密度良好。实验结果见表 3。

表 3 溶液标准的重复性数据 (n=12)

名称	5 ng/mL		20 ng/mL	
	%RSD	%RSD	%RSD	%RSD
	RT	Area	RT	Area
特布他林	0.39	3.61	0.44	1.63
沙丁胺醇	0.37	2.28	0.45	1.90
齐帕特罗	0.36	6.20	0.46	2.38
西马特罗	0.73	6.93	0.61	2.23
西布特罗	0.28	5.97	0.32	2.11
克伦普罗	0.15	4.87	0.14	2.34
莱克多巴胺	0.17	6.83	0.09	2.96
妥布特罗	0.10	4.37	0.09	2.40
克伦特罗	0.09	3.62	0.11	2.32
溴布特罗	0.11	4.66	0.09	2.55
班布特罗	0.06	2.82	0.06	2.25
马布特罗	0.09	3.05	0.09	1.42
氯丙那林	0.16	3.15	0.11	2.63

## 2.4 回收率和精密度实验

对饲料样品分别在 0.01 mg/kg 和 0.05 mg/kg 两个加标浓度下重复 8 次平行试验考察方法的回收率和精密度, 试验结果如表 4 所示。

表 4 前处理方法的回收率及精密度 (n=8)

名称	0.01 mg/kg		0.05 mg/kg	
	回收率	精密度	回收率	精密度
	%	%	%	%
特布他林	61.8	7.74	61.0	1.23
沙丁胺醇	74.9	7.72	69.1	6.19
齐帕特罗	98.8	6.09	111.9	2.02
西马特罗	90.2	11.95	90.0	3.56
西布特罗	80.6	10.48	89.9	2.14
克伦普罗	85.5	7.73	78.6	1.74
莱克多巴胺	83.8	3.66	89.8	3.40
妥布特罗	87.4	7.33	99.0	3.07
克伦特罗	86.8	4.92	77.8	2.04
溴布特罗	87.2	6.83	87.3	2.61
班布特罗	82.5	8.72	97.2	1.37
马布特罗	87.7	7.09	84.7	2.74
氯丙那林	90.6	6.53	81.4	2.13

## 2.5 灵敏度实验

为了考察方法的灵敏度, 在饲料空白样品中添加 0.01 mg/kg 的 13 种  $\beta$  受体激动剂, 得到色谱图如图 27 和图 28 所示。在相应的保留时间内, 空白饲料对目标组分无任何干扰, 对于 13 种  $\beta$  受体激动剂, 方法定量限为 0.01 mg/kg。

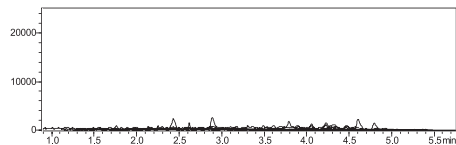


图 27 饲料空白样品的色谱图

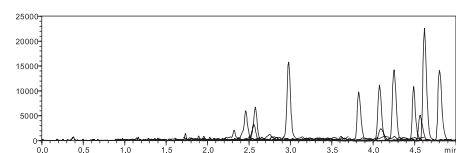


图 28 0.01 mg/kg 饲料加标样品的色谱图

## 结论

建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定饲料中的 13 种  $\beta$  受体激动剂的方法。该方法分析速度快, 回收率高, 精密度良好, 校准曲线的相关系数在 0.999 以上。方法定量限为 0.01 mg/kg, 满足农业部 1063 号公告 -6-2008 中 0.05 mg/kg 的要求。岛津超高效液相色谱串联质谱联用仪可以满足饲料中  $\beta$  受体激动剂的检测要求。