

LCMS-8045 测定饲料中福莫特罗和阿福特罗含量

LCMSMS-538

摘要：本文参考《农业农村部公告第 197 号 -7-2019 饲料中福莫特罗、阿福特罗的测定 液相色谱 - 串联质谱法》，使用岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪，建立了饲料中福莫特罗、阿福特罗的分析方法。饲料中的福莫特罗、阿福特罗经盐酸甲醇提取液提取，混合型阳离子交换柱净化后，洗脱液氮气吹干，复溶后经 0.22 μm 滤膜过滤后待测。以保留时间和离子对相对丰度比为定性依据；配制不同浓度的标准样品溶液，制作校准曲线，内标法定量。结果表明：方法定量限低于 0.05mg/kg，满足标准要求；在 2-100 ng/mL 的线性范围内，各标点浓度准确度分别在 92.3-110.2% 之间，R 为 0.9984；残留考察结果表明 100 ng/mL 标准样品进样后无明显系统残留；空白样品添加不同浓度福莫特罗 / 阿福特罗后进行处理，检测结果满足标准关于定性和定量结果的要求。该方法灵敏度和准确度高，适合饲料中福莫特罗和阿福特罗检测。

关键词：LCMS-8045 饲料 福莫特罗 阿福特罗

福莫特罗（阿福特罗为外消旋福莫特罗 (R,R- 福莫特罗) 的单异构体）为常见的 β - 受体激动剂类药物之一，亦即常见的“瘦肉精”类药物之一。“瘦肉精”类药物在上世纪 90 年代广泛应用于鸭、猪、肉牛等动物的饲料中，可以减少动物脂肪生成，促进蛋白质合成，增加瘦肉率。但是此类药物会在动物组织中残留，通过食物链进入人体内后，有可能导致食用者心慌、战栗、头疼、呕吐等症状，“瘦肉精”中毒事件也时有报道。

2001~2002 年，农业部等国家部委先后下发了第 176 号公告、第 193 号公告和第 1519 号条例等禁止使用 β - 受体激动剂类药物作为兽药和饲料添加剂。

本文参照《农业农村部公告第 197 号 -7-2019 饲料中福莫特罗、阿福特罗的测定 液相色谱 - 串联质谱法》，使用岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪，建立了饲料中福莫特罗和阿福特罗的分析方法。该方法灵敏度和准确度高，适合饲料中福莫特罗和阿福特罗的检测。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40B X3 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为：

系统控制器：CBM-40

自动进样器：SIL-40C X3

输液泵：LC-40B X3

质谱仪：LCMS-8045

柱温箱：CTO-40S

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99 SP2

1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱：Shim-pack GIST C18, 100 mm \times 2.1 mm I.D., 2 μm (岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30001-04)

流动相：A-0.2% 甲酸水溶液 ; B- 甲醇

流速：0.30 mL/min

柱温：30 $^{\circ}\text{C}$

进样量：4 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 20%

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
3.00	Pumps	Pump B Conc.	80
5.50	Pumps	Pump B Conc.	80
5.60	Pumps	Pump B Conc.	20
10.00	Controller	Stop	

质谱条件:

分析仪器: LCMS-8045

加热模块温度: 300°C

离子源: ESI⁺

DL 温度: 250°C

雾化气流速: 3.0 L/min

离子源温度: 400°C

加热气流速: 10.0 L/min

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

干燥气流速: 10.0 L/min

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数

序号	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE	Q3 Pre Bias (V)
1	福莫特罗 / 阿福特罗	345.20	149.15*	-13.0	-19.0	-28.0
			327.20	-13.0	-13.0	-23.0
2	福莫特罗 -D6	351.30	155.20	-13.0	-21.0	-30.0

* 定量离子对

1.3 样品前处理

(1) 试样提取: 参照《农业农村部公告第 197 号 -7-2019 饲料中福莫特罗、阿福特罗的测定 液相色谱 - 串联质谱法》中“7.1 提取”部分, 称取 2 g 样品于 50 mL 离心管中, 加入内标工作液 100 μL、19 mL 盐酸甲醇提取液和 1 mL 饱和醋酸铅溶液, 摇匀, 充分振荡 20 min, 于 7000 r/min 离心 10 min, 取上清液备用。

(2) 试样净化: 参照《农业农村部公告第 197 号 -7-2019 饲料中福莫特罗、阿福特罗的测定 液相色谱 - 串联质谱法》中“7.2 净化”部分, 将 MCX 固相萃取小柱 (60 mg / 3 mL) 依次用 3 mL 甲醇、3 mL 水活化, 准确移取 5 mL 备用液过柱, 依次用 2 mL 水、2 mL 甲醇淋洗, 真空抽干 2 min, 用 5% 氨水甲醇溶液 5 mL 洗脱, 收集洗脱液, 50°C 氮吹至干, 用 1 mL 的 0.2% 甲酸水溶液溶解, 过 0.22 μm 滤膜后上机测定。若进样溶液浓度超出校准曲线线性范围, 进样前以 0.2% 甲酸水溶液稀释后检测。

■ 结果讨论

2.1 专属性与灵敏度

空白样品和 0.05 mg/kg (方法定量限) 加标样品处理后进样的 MRM 色谱图如图 1 所示, 空白样品无干扰。目标组分该浓度色谱峰 S/N 远大于 10, 满足灵敏度要求。

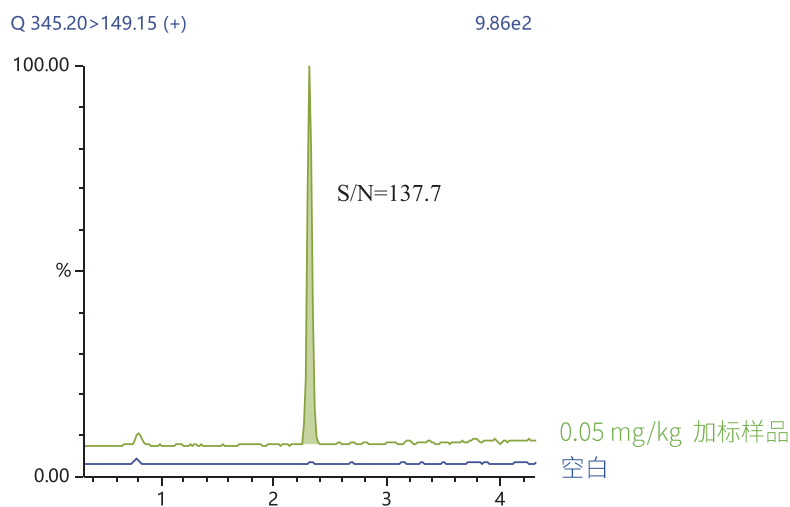


图1 空白样品和 0.05 mg/kg 加标样品 MRM 色谱图

2.2 校准曲线

以 0.2% 甲酸水溶液为溶剂，配制浓度分别为 2、5、10、20、50、100 ng/mL 的标准样品（内标浓度 25 ng/mL），内标法建立校准曲线如图 2 所示。

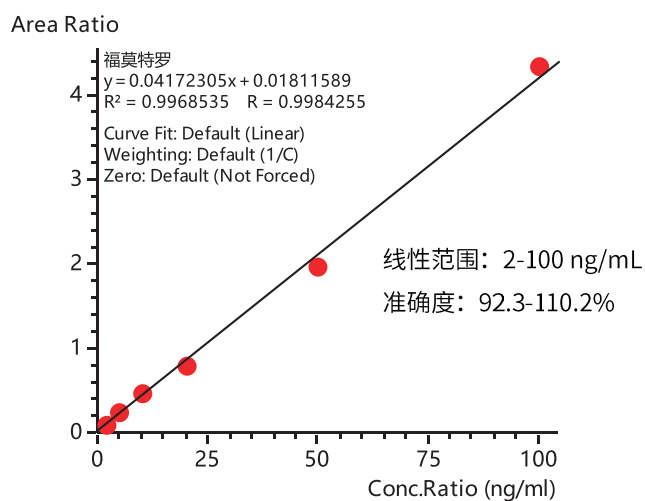


图2 校准曲线

2.3 残留考察

100 ng/mL 标准样品进样后，空白样品和 2 ng/mL 样品（校准曲线最低浓度点）进样得色谱图如图 3 所示，福莫特罗 / 阿福特罗保留时间处无明显色谱峰。

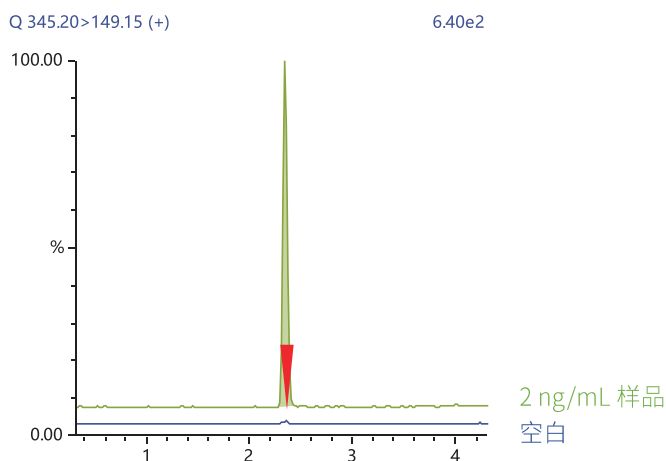


图3 残留考察

2.4 重复性考察

对不同浓度的标准样品分别连续分析 6 次，计算保留时间和峰面积的 RSD。结果见表 3，保留时间 RSD 均不高于 0.17%，峰面积 RSD 均不高于 1.82%。

表 3 保留时间和面积 RSD

名称	浓度 (ng/mL)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD (%)
福莫特罗 / 阿福特 罗标准溶液	2	0.13	1.82
	10	0.17	1.41
	100	0.09	1.07

2.5 平行样考察

空白样品中添加不同浓度的福莫特罗后进行前处理，各平行制备两份，上机测定。

参照标准规定，以保留时间（与标曲样品保留时间平均值相对偏差不高于 2.5%）和离子对相对丰度比（范围由标曲样品离子丰度比平均值确定，本文中离子丰度比为 20~50%，要求最大允许相对偏差范围为 25%）为定性依据，定性结果如表 4 所示。保留时间以及离子丰度比相对偏差均未超出规定范围，符合要求。

表 4 定性结果

No.	样品	保留时间 (min)	保留时间相对偏差 (%)	离子丰度比	离子丰度比相对偏差 (%)
1	标曲样品	2.332	-	45.00	-
2	SA1- 平行 1	2.317	0.64	44.21	1.76
3	SA1- 平行 2	2.318	0.60	50.10	11.33
4	SA2- 平行 1	2.316	0.69	46.98	4.40
5	SA2- 平行 2	2.320	0.51	47.67	5.93

参照标准规定，各待测样品均记录 2 份平行处理样品中目标物的含量，按公式 $RD = (|C1 - C2| / C \text{ 平均}) * 100\%$ 计算相对相差，结果应不超过 20%，结果如表 5 所示，实际样品的双平行处理样相对相差均不高于 20%，符合要求。

表 5 定量结果及相对相差

No.	样品	含量 (ng/g)			双样相对相差 (%)
		平行 1	平行 2	平均值	
1	SA1	14.66	19.19	16.93	13.38
2	SA2	176.84	165.59	171.22	3.29

■ 结论

本文参考《农业农村部公告第 197 号 -7-2019 饲料中福莫特罗、阿福特罗的测定 液相色谱 - 串联质谱法》，使用岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪，建立了饲料中福莫特罗和阿福特罗的分析方法。尿液中的福莫特罗、阿福特罗经盐酸甲醇提取液提取，混合型阳离子交换柱净化后，洗脱液氮气吹干，复溶后经 0.22 μm 滤膜过滤后待测。以保留时间和离子对相对丰度比为定性依据；配制不同浓度的标准样品溶液，制作校准曲线，内标法定量。结果表明：方法定量限低于 0.05 mg/kg，满足标准要求；在 2-100 ng/mL 的线性范围内，各标点浓度准确度分别在 92.3-110.2% 之间，R 为 0.9984；残留考察结果表明 100 ng/mL 标准样品进样后无明显系统残留；空白样品添加不同浓度福莫特罗 / 阿福特罗后进行处理，检测结果满足标准关于定性和定量结果的要求。该方法灵敏度和准确度高，适合饲料中福莫特罗和阿福特罗检测。

岛津应用云

