

LC-MS/MS 检测猪肉中曲美他嗪残留

LCMSMS-769

摘要：本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪测定猪肉中曲美他嗪残留量的方法，考察了方法的专属性、基质效应、线性、灵敏度、精密度和回收率。结果显示曲美他嗪在 0.2 ng/mL~40 ng/mL 线性范围内线性良好，标准曲线相关系数大于 0.999，方法灵敏度及精密度均满足检测需求。该方法操作简单，特异性好，灵敏度高，分析速度快，可以为检测动物源性食品中曲美他嗪的残留量提供参考。

关键词：三重四极杆液质联用仪 兴奋剂 猪肉 曲美他嗪

技术特点：

❖ 参照《大型赛事食源性兴奋剂防控工作指南》中对肉制品中曲美他嗪检测限要求，该方法具有更低检出限和宽线性范围。

❖ 整个分析时间仅 5 min，分析时间短，且前处理简单。

曲美他嗪 (Trimetazidine) 是一种临床用于治疗冠脉功能不全、心绞痛、陈旧性心肌梗塞等疾病的药物，能促进心肌代谢及心肌能量的产生，降低心肌耗氧量及心肌能量的消耗，从而改善心肌氧的供需平衡。其对运动员而言，具有提高运动员心肌细胞能量储备，改善心脏功能，提高运动耐力的作用，在 2014 年 1 月 WADA 将其列入禁用清单。

国家体育总局也于 2021 年发布了《大型赛事食源性兴奋剂防控工作指南》，要求大型赛事举办方对肉食品中食源性兴奋剂进行检测，其中曲美他嗪参考

检出限 2 µg/kg。

目前，曲美他嗪的检测方法包括液相色谱 - 串联质谱法、液相色谱 - 轨道离子阱质谱法，仅尿液、血浆等基质有少量文献研究。但是动物源性食品基质的研究尚未见报道。

本文采用液相色谱 - 串联质谱，建立了猪肉中曲美他嗪残留的检测方法，该方法快速、准确、灵敏度高，可实现对肉制品中曲美他嗪残留的有效检测，为相关行业提供参考。

■ 实验部分

1.1 仪器配置

岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8050。具体配置为

输 液 泵：LC-30AD×2

系 统 控 制 器：CBM-20A

自动进样器：SIL-30AC

质 谱 仪：LCMS-8050

柱 温 箱：CTO-20AC

色 谱 工 作 站：LabSolutions Ver. 5.114

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱：Shim-pack GISS C18 (100 mm × 2.1 mm I.D., 1.9 µm)，
岛津 (上海) 实验器材有限公司，P/N: 227-30048-02

流 动 相：A 相 -0.1% 甲酸水溶液；B 相 - 甲醇

流 速：0.3 mL/min

进 样 量：1 µL

柱 温：40°C

洗 脱 方 式：梯度洗脱，初始 20%B，时间程序
见表 1

表1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	20
1.50	Pumps	Pump B Conc.	100
2.50	Pumps	Pump B Conc.	100
2.60	Pumps	Pump B Conc.	20
5.00	Controller	Stop	

质谱条件

质谱仪：	LCMS-8050	DL管温度：	250℃
离子源：	ESI+	加热模块温度：	400℃
雾化气：	氮气 3 L/min	接口温度：	300℃
干燥气：	氮气 10 L/min	扫描模式：	MRM
加热气：	空气 10 L/min	MRM参数：	见表2

表2 MRM参数

中文名	英文名	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
曲美他嗪	Trimetazidine	267.18	181.05*	-10.0	-15.0	-18.0
			166.00	-10.0	-28.0	-17.0

* 表示定量离子对

1.3 样品前处理方法

准确称取 2 g 左右猪肉样品置于 50 mL 离心管中，准确加入 10 mL 甲醇，涡旋 1 min，超声 30 min，4000 r/min 离心 5 min，取上清液过 0.22 μm 有机滤膜，上液相色谱串联质谱分析。

1.4 标准溶液的制备

基质标准系列工作液的配制：取空白猪肉样品，按照前处理净化得空白基质溶液。吸取适量混合标准中间工作液，使用上述空白基质溶液稀释定容，配制成浓度为 0.2、0.8、2、4、8、16、40 ng/mL 的标准工作溶液，上液相色谱串联质谱分析。

■ 结果与讨论

2.1 标准溶液的 MRM 色谱图

空白样品和 0.2 ng/mL 曲美他嗪标准品的 MRM 色谱图如图 1 所示，色谱峰分离良好，空白无干扰。

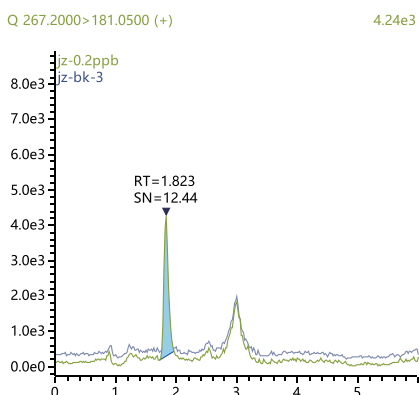


图1 空白样品和 0.2 ng/mL 曲美他嗪标准品的 MRM 色谱图

2.2 基质效应

基质是样品中被分析物以外的组分，常对分析物的分析有显著干扰，并影响分析结果的准确性，这些影响和干扰被称为基质效应，且有研究发现液相色谱串联质谱法普遍存在基质效应。目前，基质效应的评定主要为2种方法：柱后注射法和提取后添加法，其中后者在液相色谱串联质谱中使用最多，主要是通过比较2个不同条件下的信号峰面积平均值，其中，Set¹：纯的标准品溶液峰面积，Set²：样品基质提取后添加等浓度标准品的峰面积，则基质效应 (ME) = Set²/Set¹，要求各条件重复测定5次，这种考察方法可更全面、客观的量化评价基质效应。若比值小于1.0，说明基质对待测物的响应产生抑制作用；若大于1.0，说明基质的存在增强了待测物的响应；若等于1.0，说明待测物的响应未受影响，这是最为理想的一种情况，也是建立检测方法时所追求的最高目标。但在实际中，很难得到这样的结果，一般相对比值在0.85 ~ 1.15之间则认为基质效应不明显。

表3 基质效应

测定次数	峰面积		ME
	Set ¹ (平均值)	Set ²	
1	326908	538807	1.65
2		548520	1.68
3		542823	1.66
4		546291	1.67
5		546182	1.67
平均值			1.67
RSD %			0.70

结果显示，基质效应ME为1.67，存在明显的基质增强效应。为了平衡基质效应对定量准确性的影响，本文采用基质匹配外标曲线法定量。

2.3 线性范围和检出限

按照1.4方法配制标准系列溶液，上机分析得出曲美他嗪在猪肉基质中线性范围和线性关系。结果表明，曲美他嗪在0.2 ~ 40 ng/mL范围内，线性良好，相关系数R>0.999，准确度94.1%~106.4%之间，同时通过LabSolutions软件依据信噪比(ASTM)自动计算，曲美他嗪检出限(S/N=3)为0.06 ng/mL，定量限(S/N=10)为0.17 ng/mL，曲美他嗪基质校准曲线见图2。

表4 曲美他嗪基质校准曲线的线性关系

化合物	基质	线性方程	相关系数 R	准确度 (%)	检出限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
曲美他嗪	猪肉	Y=133153.4X - 6955.740	0.9999	94.1~106.4	0.06	0.17

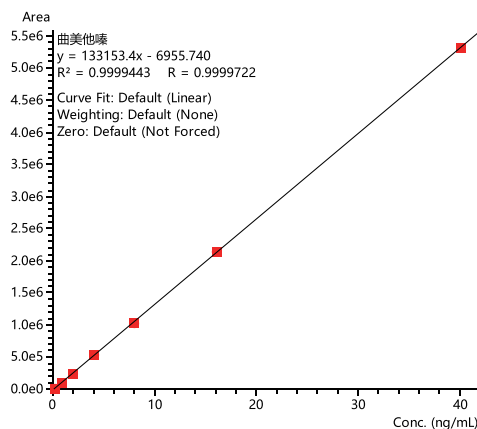


图2 曲美他嗪基质校准曲线

2.4 精密度考察

取 0.2、4、40 ng/mL 的标准溶液，注入液相色谱串联质谱仪，平行测定 6 次，计算保留时间 (R.T.) 和峰面积 (Area) 的 RSD%。结果显示曲美他嗪的保留时间 (R.T.) 的 RSD 不大于 1.19%，峰面积 (Area) 的 RSD 不大于 1.72%，实验结果表明仪器条件稳定性良好。

表 5 曲美他嗪保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

化合物	RSD% (0.2 ng/mL)		RSD% (4 ng/mL)		RSD% (40 ng/mL)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
曲美他嗪	1.19	1.72	0.38	0.42	0.64	0.70

2.5 加标回收率

选择空白猪肉，进行 2、4、20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度的加标回收试验，每个加标浓度 6 个平行，按照前述前处理方式处理，上机测定，以基质外标曲线法定量，计算回收率。曲美他嗪加标回收率在 89.0%~106.0% 之间，符合《大型赛事食源性兴奋剂防控工作指南》要求。

表 6 曲美他嗪加标回收率结果 (n=6)

基质	检出浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	加标浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	测得浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 (%)	RSD (%)
猪肉	N.D.	2	2.12	106.0	0.85
		4	3.56	89.0	2.38
		20	18.93	94.7	0.30

注释：N.D. 表示未检出

■ 结论

本实验使用岛津 LCMS-8050 三重四极杆液质联用系统，建立了猪肉中曲美他嗪残留量的检测方法。实验结果表明，猪肉基质对曲美他嗪化合物存在一定的基质增强效应，因此采用基质匹配外标曲线定量。方法学实验结果显示，该方法操作简单，特异性好，灵敏度高，分析速度快，可以为检测动物源性食品中曲美他嗪的残留量提供参考。

岛津应用云

