

# 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定猪肉中的瘦肉精

## LCMSMS-002

**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-8030联用测定猪肉中克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇的方法。样品经提取后，用超高效液相色谱LC-30A快速分离，三重四极杆质谱仪LCMS-8030进行定量分析。克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇在0.05~100 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好，标准曲线的相关系数为0.999以上；对0.1  $\mu\text{g/L}$ 、0.5  $\mu\text{g/L}$ 、1  $\mu\text{g/L}$ 、5  $\mu\text{g/L}$ 和10  $\mu\text{g/L}$ 标准溶液进行精密度实验，连续6次进样保留时间和峰面积相对标准偏差分别在0.42%和5.47%以下，系统精密度良好；方法定量限满足SNT1924—2007中0.5  $\mu\text{g/kg}$ 要求，其中对于克伦特罗方法定量限为0.05  $\mu\text{g/kg}$ 。

**关键词：**瘦肉精 克伦特罗  $\beta$ -受体激动剂 三重四极杆质谱 超高效液相色谱

瘦肉精是一类动物用药，将瘦肉精添加于饲料中，可以增加动物的瘦肉量、减少饲料使用、使肉品提早上市、降低成本。在中国，通常所说的“瘦肉精”则是指克伦特罗，它曾经作为药物用于治疗支气管哮喘，后由于其副作用太大而遭禁用。目前，能够实现这种功能的物质是一类叫做 $\beta$ -受体激动剂的药物，例如莱克多巴胺和沙丁胺醇等，同样能起到“瘦肉”作用、却对人体健康危害过大，因而造成安全隐患。它们也因而在全球遭到禁用。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品种目录》。对于瘦肉精的检测，我国的SNT 1924—2007方法标准中规定的定量限一律是0.5 $\mu\text{g/kg}$ 。日本肯定列表中克伦特罗限量标准较严格，为0.05  $\mu\text{g/kg}$ ，因此对于出口到日本的产品中克伦特罗的检测要求更高。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猪肉中克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇的方法，可以满足食品进出口的要求。

## 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-8030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-8030三重四极杆质谱仪，LabSolutions ver. 5.41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. $\times$  50 mm L.,

#### 1.6 $\mu\text{m}$

流动相：A—0.1%甲酸水；B—0.1%甲酸乙腈

流速：0.4 mL/min

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

进样量：20  $\mu\text{L}$

梯度条件：如下

| Time(min) | Module     | Command | Value |
|-----------|------------|---------|-------|
| 0.56      | Pumps      | B Conc. | 50%   |
| 0.90      | Pumps      | B Conc. | 50%   |
| 0.95      | Pumps      | B Conc. | 10%   |
| 1.80      | Controller | Stop    |       |

#### 质谱条件

离子化模式：ESI(+)

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 $^{\circ}\text{C}$

加热模块温度：400 $^{\circ}\text{C}$

扫描模式：多反应监测(MRM)

驻留时间：20 ms

延迟时间：3 ms

MRM参数：见表1

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) |
|----------|--------|---------|----------------|-------|----------------|
| 沙丁胺醇     | 239.95 | 148.10  | -13.0          | -20.0 | -18.0          |
|          |        | 222.10* | -13.0          | -10.0 | -18.0          |
| D3-沙丁胺醇  | 243.20 | 151.10  | -13.0          | -20.0 | -18.0          |
| 莱克多巴胺    | 302.15 | 164.15  | -12.0          | -15.0 | -13.0          |
|          |        | 107.15* | -12.0          | -30.0 | -23.0          |
| D6-莱克多巴胺 | 307.90 | 168.15  | -25.0          | -15.0 | -13.0          |
| 克伦特罗     | 277.10 | 203.00  | -11.0          | -15.0 | -16.0          |
|          |        | 259.05* | -11.0          | -10.0 | -20.0          |
| D9-克伦特罗  | 286.10 | 204.00  | -15.0          | -20.0 | -16.0          |

\*表示定性离子

## 结果与讨论

### 2.1 混合标准工作液的色谱图

1 ng/mL混合标准工作液色谱图如图1-6所示，沙丁胺醇、D3-沙丁胺醇、莱克多巴胺、D6-莱克多巴胺、克伦特罗和D9-克伦特罗的保留时间分别为0.476、0.475、0.869、0.867、0.911和0.910分钟。

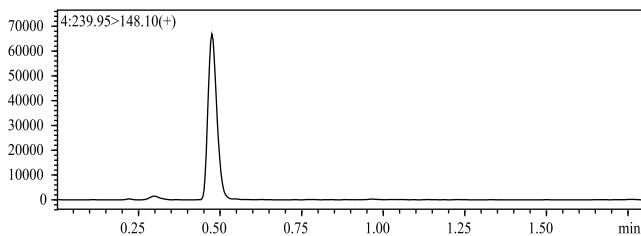


图1 1 ng/mL的沙丁胺醇色谱图(239.95&gt;148.10)

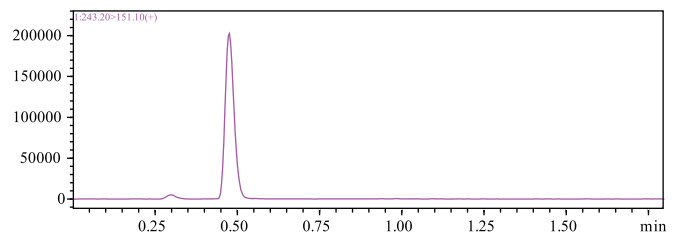


图2 1 ng/mL的D3-沙丁胺醇色谱图(243.20&gt;151.10)

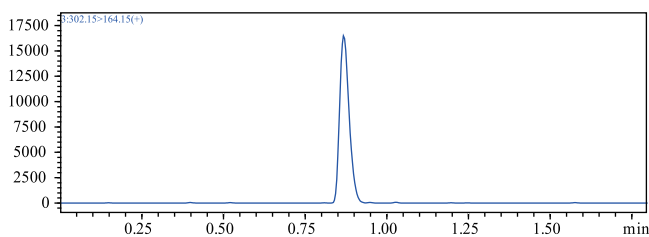


图3 1 ng/mL的莱克多巴胺色谱图(302.15&gt;164.15)

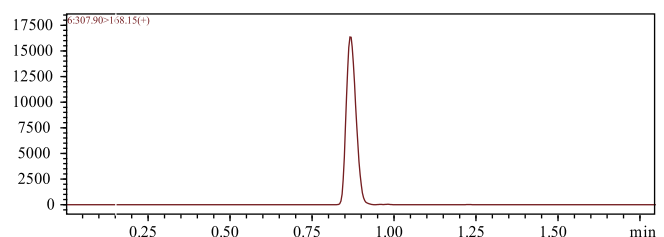


图4 1 ng/mL的D6-莱克多巴胺色谱图(307.90&gt;168.15)

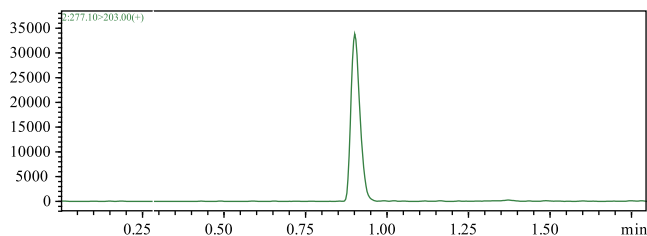


图5 1 ng/mL的克伦特罗色谱图(277.10&gt;203.00)

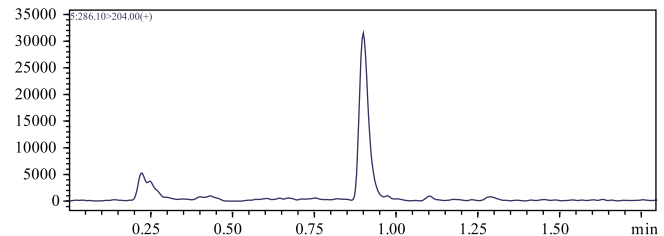


图6 1 ng/mL的D9-克伦特罗色谱图(286.10&gt;204.00)

## 2.2线性关系

将浓度为0.05、0.1、0.5、1、5、10、50和100 ng/mL的混合标准工作液按1.2中的分析条件进行测定，以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，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。

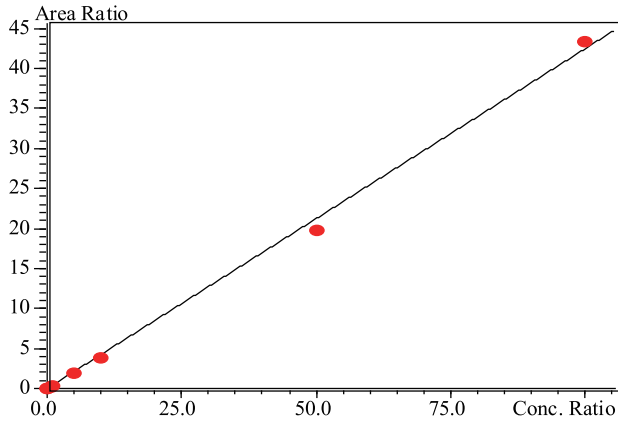


图7 沙丁胺醇的标准曲线

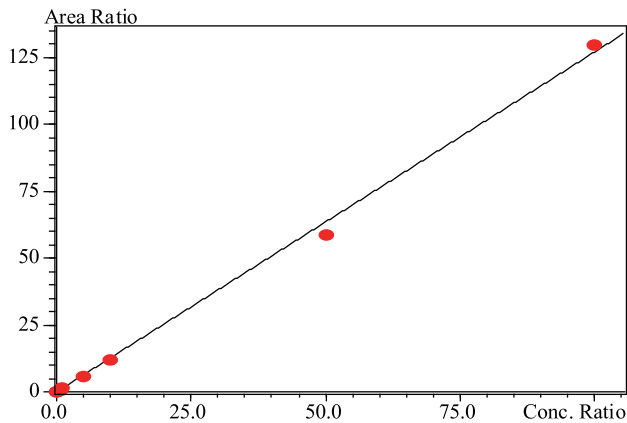


图8 莱克多巴胺的标准曲线

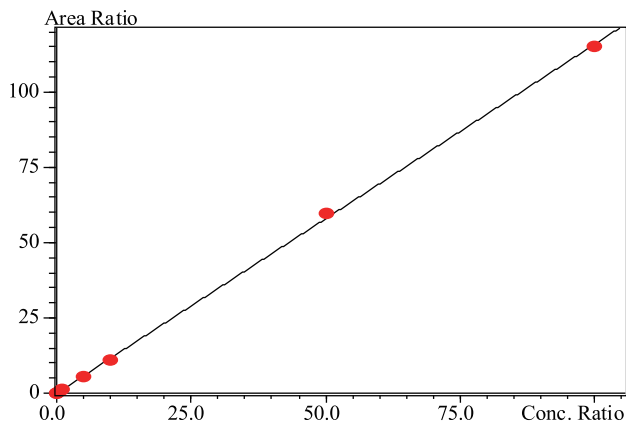


图9 克伦特罗的标准曲线

表2 三种β-受体激动剂的校准曲线信息

| 名称    | 校准曲线            | 相关系数 r |
|-------|-----------------|--------|
| 沙丁胺醇  | $Y=(0.424827)X$ | 0.9991 |
| 莱克多巴胺 | $Y=(1.27146)X$  | 0.9991 |
| 克伦特罗  | $Y=(1.15869)X$  | 0.9998 |

## 2.3精密度试验

对0.1、0.5、1、5和10 ng/mL的混合标准工作液连续测定6次，考察方法的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表3所示。

表3 沙丁胺醇重现性数据(n=6)

| Conc.(ng/mL) | RSD% (RT) | RSD% (Area) |
|--------------|-----------|-------------|
| 0.1          | 0.12      | 2.43        |
| 0.5          | 0.18      | 2.98        |
| 1            | 0.12      | 0.81        |
| 5            | 0.07      | 1.26        |
| 10           | 0.14      | 1.05        |

表4 莱克多巴胺重现性数据(n=6)

| Conc.(ng/mL) | RSD% (RT) | RSD% (Area) |
|--------------|-----------|-------------|
| 0.1          | 0.15      | 5.47        |
| 0.5          | 0.13      | 2.08        |
| 1            | 0.10      | 1.89        |
| 5            | 0.08      | 1.70        |
| 10           | 0.06      | 1.91        |

表5 克伦特罗重现性数据(n=6)

| Conc.(ng/mL) | RSD% (RT) | RSD% (Area) |
|--------------|-----------|-------------|
| 0.1          | 0.15      | 4.55        |
| 0.5          | 0.04      | 3.05        |
| 1            | 0.11      | 1.50        |
| 5            | 0.04      | 1.16        |
| 10           | 0.05      | 1.14        |

#### 2.4灵敏度实验

为了考察方法的灵敏度，在猪肉基质空白样品中添加0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的克伦特罗，得到色谱图如图10和图11所示。对于克伦特罗，方法定量限为0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

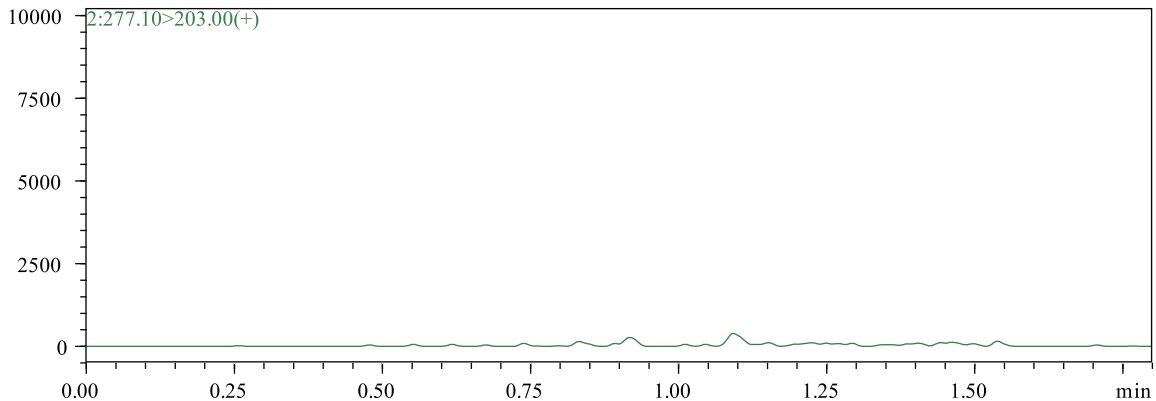


图10 猪肉基质空白样品克伦特罗的色谱图(277.10>203.00)

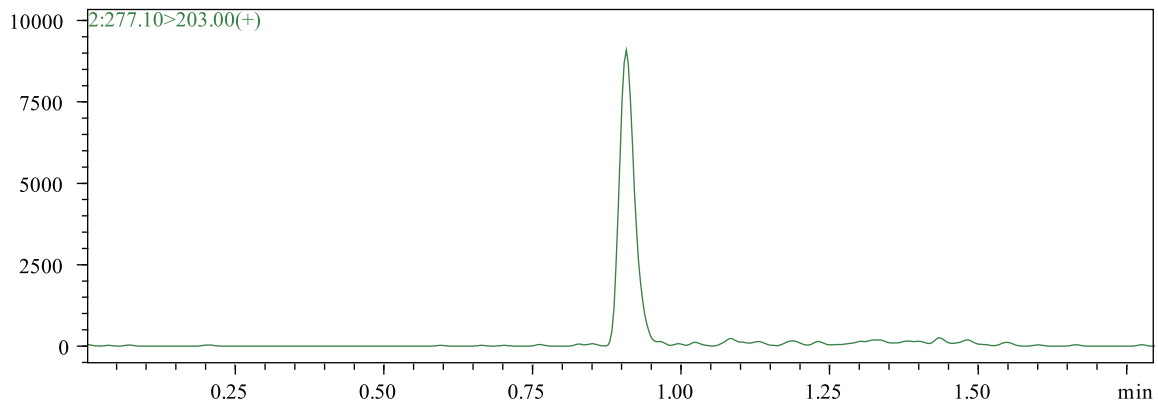


图11 0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 猪肉基质加标样品克伦特罗的色谱图(277.10>203.00)

#### 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-8030联用测定猪肉中的三种 $\beta$ -受体激动剂的方法。该方法分析速度快，精密度良好，线性范围宽(0.05~100 ng/mL)，校准曲线的相关系数在0.999以上。方法定量限满足国标0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的要求，并且对于猪肉中克伦特罗的检测方法定量限可以达到0.05  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。岛津超高效液相色谱串联质谱联用仪可以满足进出口食品中瘦肉精的检测要求。