

# 三重四极杆质谱测定猪肉中的 6 种玉米赤霉醇类物质

## LCMSMS-030

**摘要：**本文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 6 种玉米赤霉醇类物质的方法。该方法分析速度快，重复性和精密度良好；6 种玉米赤霉醇类物质均在两个数量级以上浓度范围内线性良好，所有样品的标准曲线的相关系数均在 0.999 以上；对 5  $\mu\text{g/L}$ 、10  $\mu\text{g/L}$  和 100  $\mu\text{g/L}$  混合标准溶液连续 6 次进样，3 个浓度标准品的峰面积和保留时间的相对标准偏差分别在 1.86 ~ 4.61% 和 0.04 ~ 0.29% 之间，仪器精密度良好。该仪器对猪肉空白样品中添加 1  $\mu\text{g/kg}$  混合标样有较好的响应，方法定量限满足《GB/T 21982-2008 动物源食品中  $\alpha$ - 玉米赤霉醇、 $\beta$ - 玉米赤霉醇、 $\alpha$ - 玉米赤霉烯醇、 $\beta$ - 玉米赤霉烯醇、玉米赤霉酮和赤霉烯酮残留量检测方法 液相色谱 - 质谱质谱法》中的要求。

**关键词：**玉米赤霉醇 猪肉 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

玉米赤霉醇 (zearanol) 系非固醇、非激素类化合物，常作为牛羊促生长剂，能提高体内生长激素和胰岛素水平，促进羊机体蛋白质的合成，提高胴体瘦肉率和饲料利用率。但是玉米赤霉醇具有弱雌激素作用，在动物尿液中的残留会引起人体性机能紊乱及影响第二性征的正常发育，在外部条件诱导下，还可能致癌。而且玉米赤霉醇排除动物体外后，还可经饮水和食物造成二次污染及环境污染。

1998 年欧盟禁止将玉米赤霉醇等激素类药物应用于禽畜养殖。我国农业部第 235 号公告明确规定玉米赤霉醇禁止用于所有食品动物，所有可食用动物不得检出。本文根据《GB/T 21982-2008 动物源食品中  $\alpha$ - 玉米赤霉醇、 $\beta$ - 玉米赤霉醇、 $\alpha$ - 玉米赤霉烯醇、 $\beta$ - 玉米赤霉烯醇、玉米赤霉酮和赤霉烯酮残留量检测方法 液相色谱 - 质谱质谱法》，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，建立了快速准确测定猪肉中玉米赤霉醇类物质的方法，供相关检测人员参考。

## 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

液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS III 2.0mmL. D.  $\times$  50 mmL., 1.6  $\mu\text{m}$

流动相：A - 水；B - 乙腈

流速：0.4 mL/min

进样体积：10  $\mu\text{L}$

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 25%，时间程序见表 1。

质谱条件

分析仪器：LCMS-8030

离子源：ESI，正离子扫描

离子源接口电压：4.5 kV

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 20 L/min

碰撞气：氩气

脱溶剂管温度：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：50 ms

延迟时间：3 ms

MRM 参数：见表 2

表1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
3.00	Pumps	Pump B Conc.	70
4.00	Pumps	Pump B Conc.	70
4.20	Pumps	Pump B Conc.	25
5.00	Controller	Stop	

表2 MRM参数

编号	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	β-玉米赤霉醇	323.20	305.15 <sup>*</sup>	13.0	10.0	23.0
			282.30	13.0	10.0	22.0
2	β-玉米赤霉烯醇	321.20	303.15 <sup>*</sup>	13.0	10.0	23.0
			285.15	13.0	10.0	22.0
3	α-玉米赤霉醇	323.20	305.15 <sup>*</sup>	13.0	10.0	23.0
			123.15	13.0	20.0	26.0
4	α-玉米赤霉烯醇	321.20	303.15 <sup>*</sup>	17.0	10.0	23.0
			285.15	17.0	10.0	22.0
5	玉米赤霉酮	321.20	303.15 <sup>*</sup>	13.0	15.0	23.0
			69.10	13.0	30.0	28.0
6	玉米赤霉烯酮	319.20	301.15 <sup>*</sup>	16.0	10.0	23.0
			283.15	16.0	15.0	22.0

\*表示定量离子

### 1.3 样品制备

标准溶液配制:

用乙腈配制 10 mg/L 的混合标准溶液,然后逐级稀释成浓度为 500, 250, 100, 50, 25, 10, 5, 2 和 1 g/L 的标准工作液。

样品前处理方法:

同《GB/T 21982-2008 动物源食品中 α- 玉米赤霉醇、β- 玉米赤霉醇、α- 玉米赤霉烯醇、β- 玉米赤霉烯醇、玉米赤霉酮和赤霉烯酮残留量检测方法 液相色谱 - 质谱质谱法》。

## 结果讨论

### 2.1 标准样品的 MRM 色谱图

100 μg/L 混合标准样品的 MRM 色谱如图 1 所示。

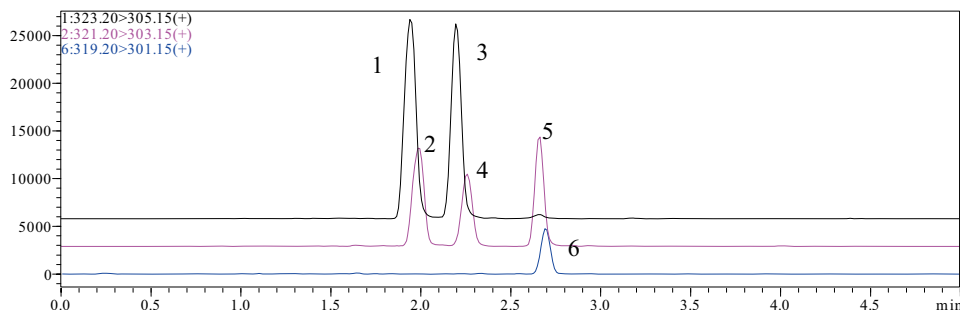


图1 100μg/L混合标准样品的MRM色谱图

(1β-玉米赤霉醇;2β-玉米赤霉烯醇;3α-玉米赤霉醇;4α-玉米赤霉烯醇;5 玉米赤霉酮;6 玉米赤霉烯酮)

## 2.2 标准样品的扫描及产物离子扫描质谱图

6 种玉米赤霉醇类物质标准品的扫描 (SCAN, ESI+) 及产物离子扫描谱图如下所示。

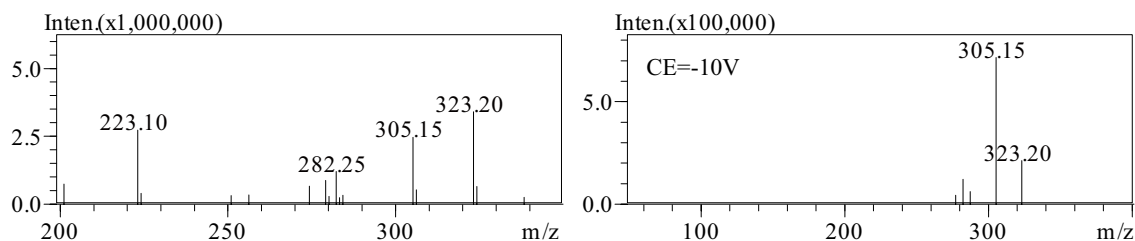


图2  $\beta$ -玉米赤霉醇的扫描 (左图) 及产物离子扫描 (右图) 谱图

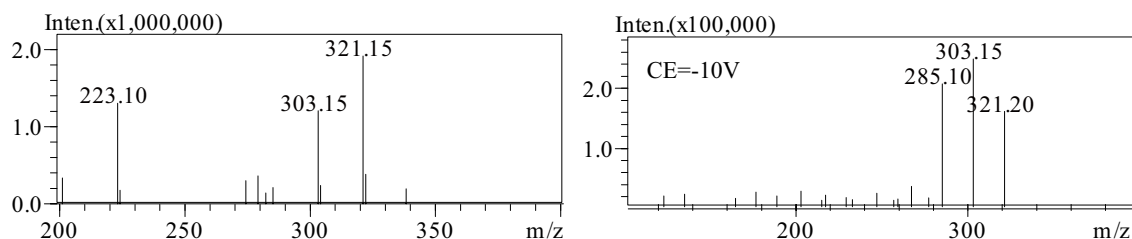


图3  $\beta$ -玉米赤霉烯醇的扫描 (左图) 及产物离子扫描 (右图) 谱图

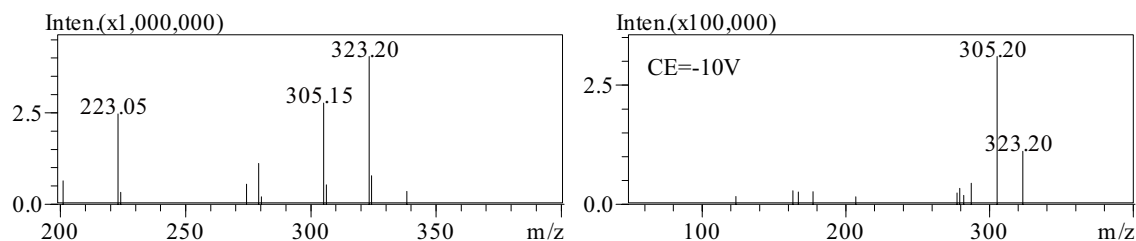


图4  $\alpha$ -玉米赤霉醇的扫描 (左图) 及产物离子扫描 (右图) 谱图

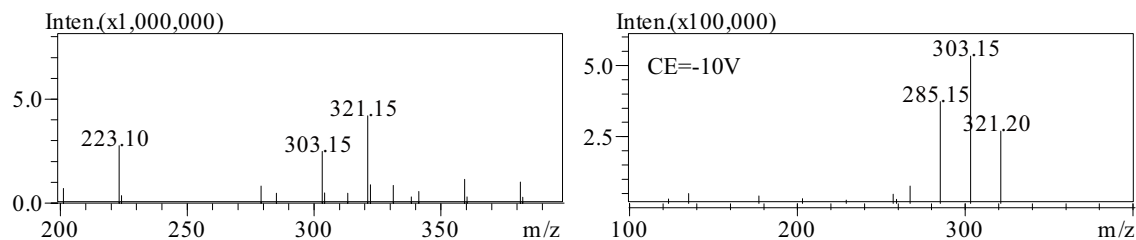


图5  $\alpha$ -玉米赤霉烯醇的扫描 (左图) 及产物离子扫描 (右图) 谱图

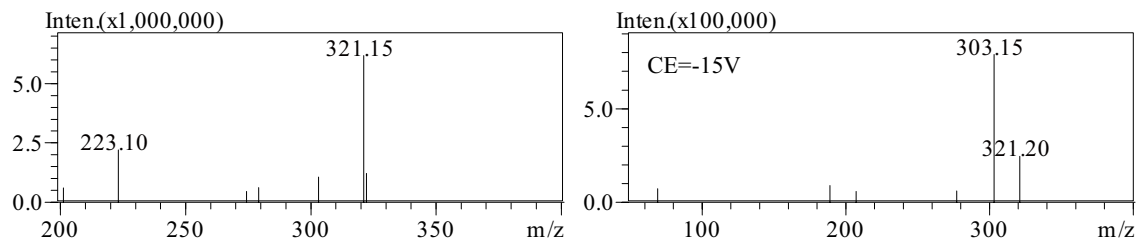


图6 玉米赤霉酮的扫描 (左图) 及产物离子扫描 (右图) 谱图

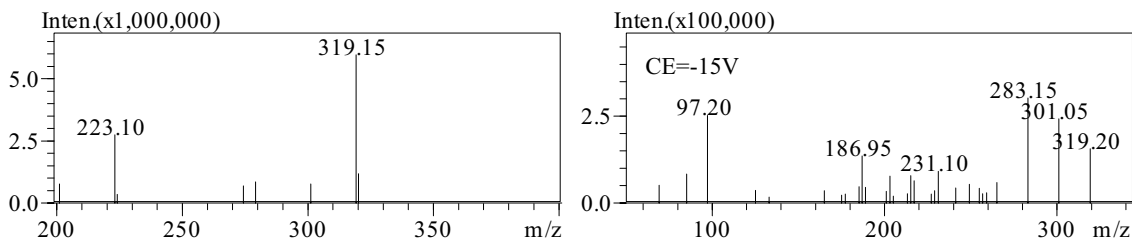


图7 玉米赤霉烯酮的扫描（左图）及产物离子扫描（右图）谱图

### 2.3 线性关系

将浓度为 500, 250, 100, 50, 25, 10, 5, 2 和 1 g/L 的混合标准工作液按 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, 外标法制作校准曲线, 如图 8~13 所示。6 种玉米赤霉醇类物质在一定浓度范围内线性良好。线性方程、线性范围、相关系数及由软件计算得检出限和定量限见表 3。

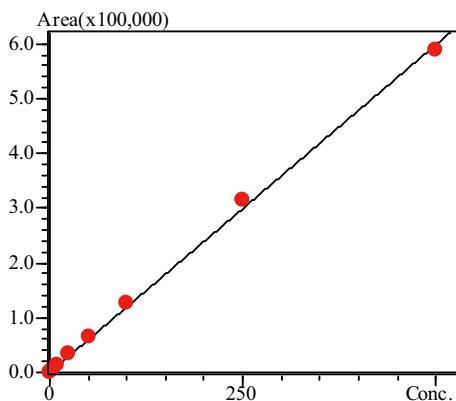


图8  $\beta$ -玉米赤霉醇的标准工作曲线

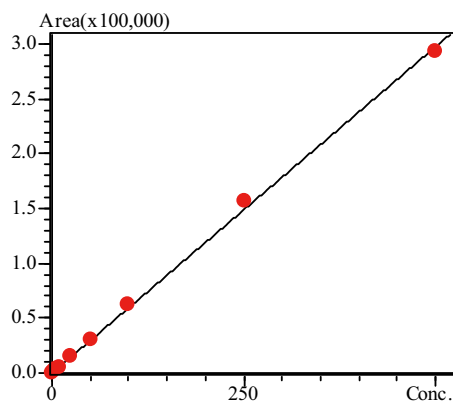


图9  $\beta$ -玉米赤霉烯醇的标准工作曲线

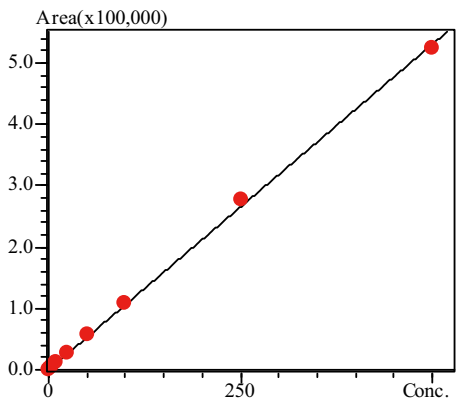


图10 玉米赤霉醇的标准工作曲线

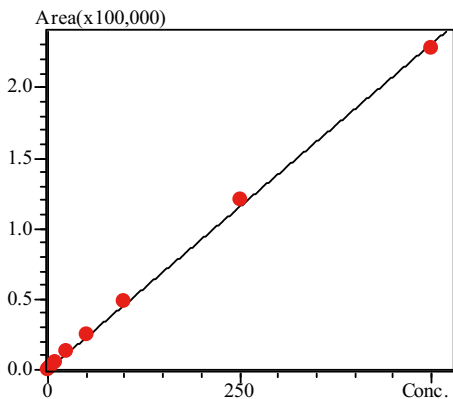


图11  $\alpha$ -玉米赤霉烯醇的标准工作曲线

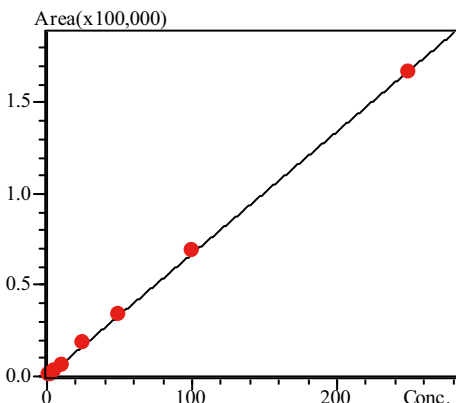


图12 玉米赤霉酮的标准工作曲线

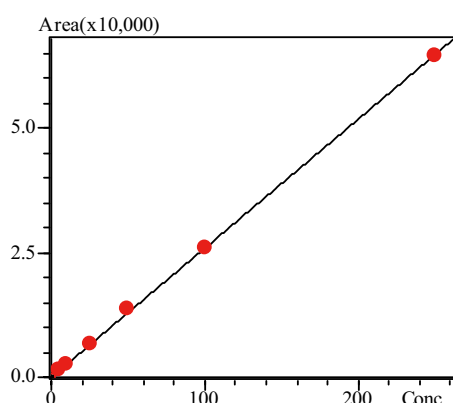


图13 玉米赤霉烯酮的标准工作曲线

表3 6种玉米赤霉醇类物质的校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	相关系数 r	线性范围 ( μg/L )	检出限 (μg/kg)	定量限 (μg/kg)
1	β-玉米赤霉醇	Y = (1197.30)X	0.9994	1-500	0.31	1.05
2	β-玉米赤霉烯醇	Y = (595.740)X	0.9994	2-500	0.58	1.92
3	α-玉米赤霉醇	Y = (1061.59)X	0.9996	1-500	0.32	1.05
4	α-玉米赤霉烯醇	Y = (462.248)X	0.9995	2-500	0.55	1.85
5	玉米赤霉酮	Y = (670.969)X	0.9998	1-250	0.31	1.02
6	玉米赤霉烯酮	Y = (258.828)X	0.9999	5-250	1.47	4.90

#### 2.4 精密度实验

对 5 μg/L、10 μg/L 和 100 μg/L 混合标准溶液连续 6 次进样，3 个浓度标准品的峰面积和保留时间的相对标准偏差分别在 1.86 ~ 4.61% 和 0.04 ~ 0.29% 之间，仪器精密度良好。

表4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% ( 5 μg/L )		RSD% ( 10μg/L )		RSD% ( 100 μg/L )	
	Area	R.T	Area	R.T	Area	R.T
β-玉米赤霉醇	4.42	0.28	3.96	0.23	2.26	0.17
β-玉米赤霉烯醇	4.15	0.25	3.93	0.27	2.70	0.16
玉米赤霉醇	3.70	0.28	3.29	0.18	1.90	0.15
α-玉米赤霉烯醇	2.80	0.29	2.23	0.22	2.27	0.04
玉米赤霉酮	4.61	0.26	3.08	0.11	1.86	0.05
玉米赤霉烯酮	3.07	0.29	3.03	0.08	3.03	0.07

#### 2.5 仪器灵敏度考察

依照国标《GB/T 21982-2008 动物源食品中 α- 玉米赤霉醇、β- 玉米赤霉醇、α- 玉米赤霉烯醇、β- 玉米赤霉烯醇、玉米赤霉酮和赤霉烯酮残留量检测方法 液相色谱 - 质谱质谱法》对猪肉样品进行前处理，得到空白猪肉样品的检测结果，如图 14 所示。空白猪肉中未检测到 6 种玉米赤霉醇类物质。为了考察方法的灵敏度，在猪肉空白样品中添加 1 μg/kg 混合标样，得到色谱图如图 15 所示。从图中可以看到，基质加标样品在定量限上均有很好的响应，满足 GB/T 21982-2008 中的要求。

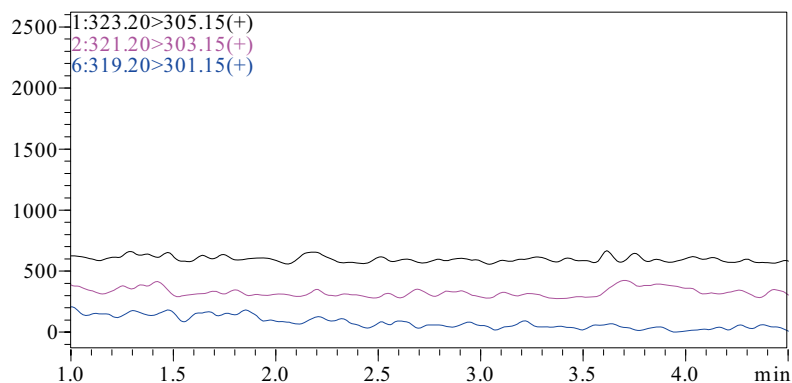


图 14 空白猪肉样品的色谱图

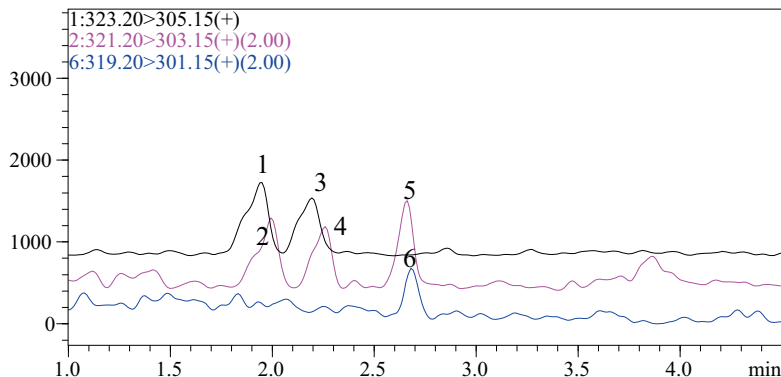


图 15 猪肉空白基质加标样品的色谱图

## ■ 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-8030 联用测定猪肉中 6 种玉米赤霉醇类物质的方法。该方法分析速度快，重复性和精密度良好；玉米赤霉醇和  $\beta$ - 玉米赤霉醇在 1 ~ 500  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好， $\alpha$ - 玉米赤霉烯醇和  $\beta$ - 玉米赤霉烯醇在 2 ~ 500  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好，玉米赤霉酮在 2 ~ 250  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好，玉米赤霉烯酮在 5 ~ 250  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好，所有样品的标准曲线的相关系数均在 0.999 以上；为了考察方法的灵敏度，在猪肉空白样品中添加 1  $\mu\text{g/kg}$  混合标样，6 种物质均得到较好的响应，方法定量限满足《GB/T 21982-2008 动物源食品中玉米赤霉醇、 $\beta$ - 玉米赤霉醇、 $\alpha$ - 玉米赤霉烯醇、 $\beta$ - 玉米赤霉烯醇、玉米赤霉酮和赤霉烯酮残留量检测方法 液相色谱 - 质谱质谱法》中的要求。