

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定鸡肉中的二十四种 β -受体激动剂

LCMSMS-178

摘要: 本文建立了一种使用岛津液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用测定鸡肉中的二十四种 β -受体激动剂的方法。二十四种 β -受体激动剂在 0.1~10.0 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性良好; 不同浓度下精密度实验得到的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.07~0.40 % 和 0.44~4.12 % 之间, 结果表明仪器精密度良好; 方法检出限和方法定量限分别介于 0.004~0.025 $\mu\text{g/kg}$ 和 0.014~0.082 $\mu\text{g/kg}$ 之间。

关键词: 超高效液相色谱仪三重四极杆质谱仪鸡肉 β -受体激动剂

β -受体激动剂是一组选择性 β_2 肾上腺素受体激动剂, 因能与动物机体内绝大多数组织细胞膜上的 β -受体结合而得名, 是一类结构和生理功能上类似肾上腺素和去甲肾上腺素的化学合成苯乙醇胺类物质。欧盟 96/22/EC 指令中已颁布法规禁止使用, 我国农业部和国家质检总局也出台规定禁止在动物饲料或生长过程中使用这类药物。因此, 建立快速、高灵敏度的鸡肉中 β -

受体激动剂检测技术十分必要。本文参考《GBT 22286-2008 动物源性食品中多种 β -受体激动剂残留量的测定液相色谱串联质谱法》的方法, 使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱 LCMS-8050 联用, 建立了鸡肉中二十四种 β -受体激动剂的超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱联用的分析方法, 供相关人员参考。

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-8050 联用系统。具体配置为: LC-30AD \times 2 输液泵, DGU-20A_{SR} 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8050 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.60 SP2 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: Shim-pack XR-ODS III, 2.0 mm \times 75 mm L, 1.6 μm

流动相: A 相 -0.1 % 甲酸水溶液; B 相 - 甲醇

流速: 0.3 mL/min

进样体积: 5 μL

柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 5 %, 时间程序见表 1。

质谱条件

离子源: ESI, 正离子扫描

雾化气: 3 L/min

加热气: 12 L/min

干燥气: 8 L/min

碰撞气: 氩气

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.0	Pumps	Pump B Conc	5
4.0	Pumps	Pump B Conc	35
6.0	Pumps	Pump B Conc	90
8.0	Pumps	Pump B Conc	90
8.1	Pumps	Pump B Conc	5
10.0	Controller	Stop	

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: 15 ms

延迟时间: 3 ms

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数

编号	中文名称	英文名称	CAS	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	西马特罗	cimaterol	54239-37-1	220.2	202.1*	-11	-11	-22
					143.1	-26	-23	-27
2	特布他林	terbutamol	148-79-8	226.1	152.0*	-11	-16	-28
					125.1	-26	-23	-24
3	沙丁胺醇	salbutamol	18559-94-9	240.0	222.1*	-12	-11	-24
					166.1	-12	-13	-30
4	西布特罗	cimbuterol	54239-39-3	234.2	143.1*	-27	-25	-26
					160.1	-24	-15	-29
5	非诺特罗	fenoterol	13392-18-2	304.0	135.0*	-15	-14	-20
					286.0	-15	-18	-25
6	丙卡特罗	procaterol	72332-33-3	291.1	273.0*	-22	-12	-30
					231.2	-15	-21	-26
7	利托君	ritodrine	26652-09-5	288.0	270.1*	-14	-13	-30
					150.0	-14	-19	-28
8	克伦塞罗	clencyclohexerol	157877-79-7	319.1	203.0*	-15	-14	-21
					301.1	-16	-21	-22
9	NA-1411	NA		293.1	203.0*	-30	-12	-30
					275.1	-15	-19	-22
10	克伦丙罗	clenproperol	38339-11-6	263.1	245.0*	-13	-12	-27
					203.0	-14	-19	-22
11	氯丙那林	clorprenaline	3811-25-4	214.1	154.1*	-21	-13	-21
					196.1	-25	-18	-29
12	克伦特罗	clenbuterol	37148-27-9	277.1	203.0*	-28	-11	-28
					259.0	-28	-17	-22
13	福莫特洛	formoterol	73573-87-2	345.0	149.0*	-17	-14	-23
					327.1	-17	-21	-28
14	溴布特罗	bromchlorbuterol	41937-02-4	323.0	249.0*	-15	-12	-22
					305.0	-15	-18	-27
15	妥布特罗	tulobuterol	41570-61-0	228.1	154.0*	-22	-16	-29
					118.0	-26	-28	-22
16	溴布特罗	brombuterol	41937-02-4	367.0	349.0*	-18	-13	-25
					293.0	-18	-19	-21
17	马布台诺	mabuterol	56341-08-3	311.0	237.0*	-30	-12	-21
					293.0	-15	-18	-26
18	克伦潘特	clenpenterol	37158-47-7	291.1	203.1*	-21	-12	-30
					273.1	-22	-16	-22
19	班布特罗	bambuterol	81732-65-2	368.0	294.1*	-18	-15	-22
					312.1	-18	-24	-30

20	克伦异磅 特罗	clenisopenterol	157664-68-1	291.1	273.1*	-30	-12	-30
					188.1	-15	-22	-21
21	马贵特罗	mapenterol	54238-51-6	325.1	237.0*	-16	-17	-26
					217.1	-17	-26	-24
22	苯乙醇胺 A	PA	1346746-81-3	345.1	150.1*	-18	-24	-28
					327.1	-18	-13	-23
23		clenhexerol	78982-88-4	305.1	287.1*	-30	-14	-20
					203.0	-16	-22	-22
24	沙美特罗	salmeterol	89365-50-4	416.2	398.1*	-20	-16	-29
					380.1	-20	-20	-27

*表示定量离子

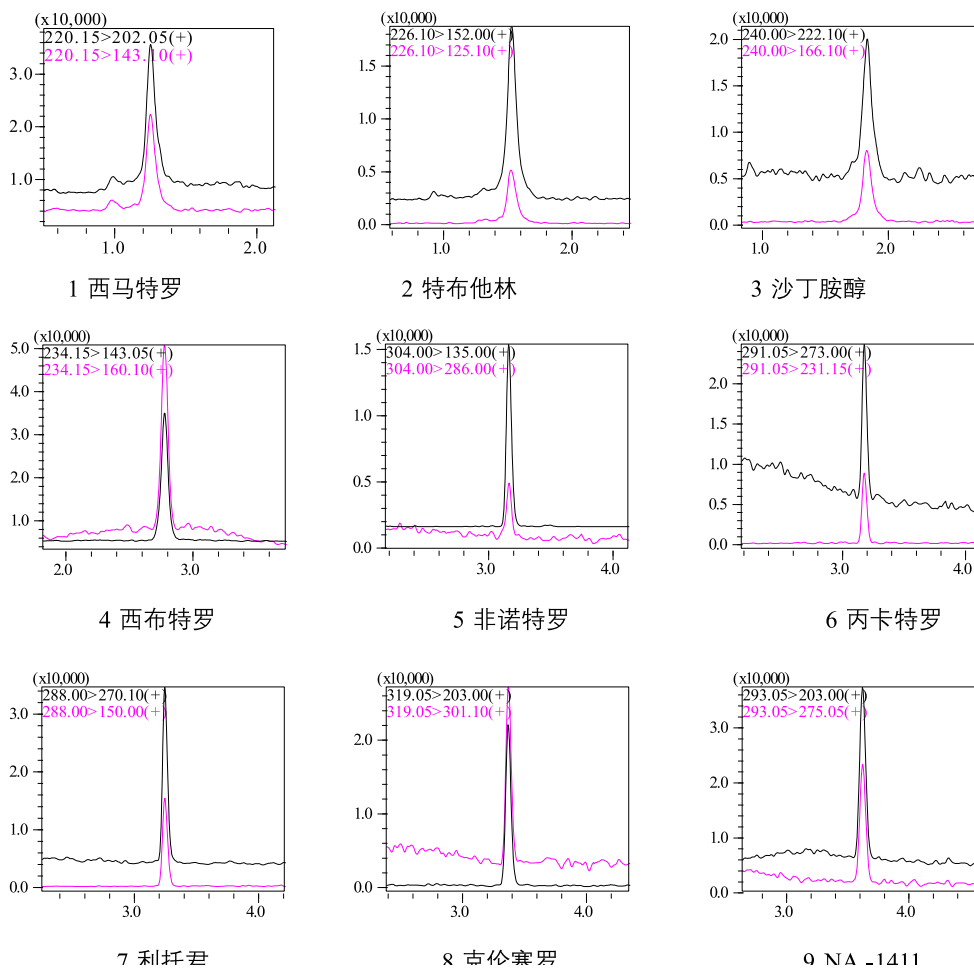
1.3 样品制备

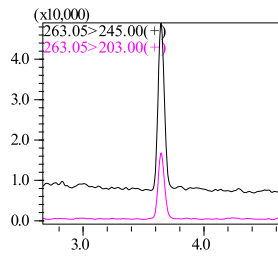
样品前处理方法：参照《GBT 22286-2008 动物源性食品中多种β-受体激动剂残留量的测定液相色谱串联质谱法》中样品前处理方法。

标准溶液配制：用甲醇配制 500 mg/L 24 种混合标准溶液。再用甲醇 / 水溶液 (5/95, V/V) 逐步稀释成 0.1 μg/L、0.5 μg/L、1.0 μg/L、5.0 μg/L 和 10.0 μg/L 不同浓度的混合标准工作液。

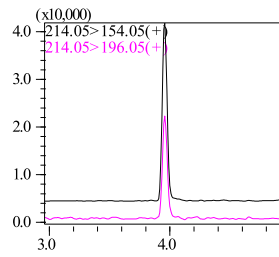
结果讨论

2.1 标准样品 MRM 色谱图

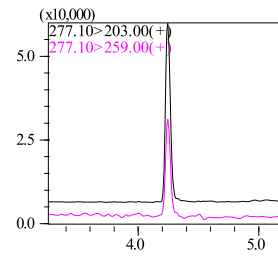




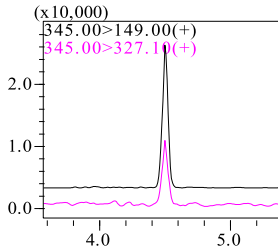
10 克伦丙罗



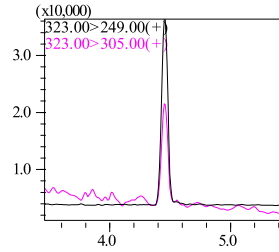
11 氯丙那林



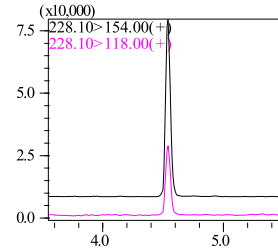
12 克伦特罗



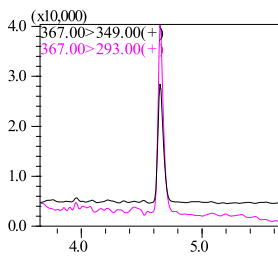
13 福莫特洛



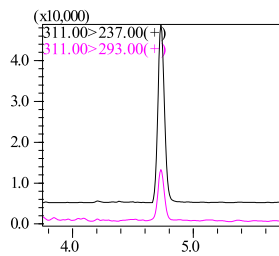
14 溴布特罗



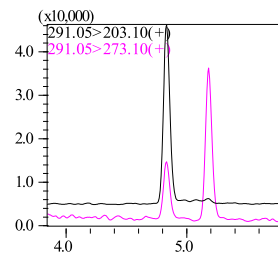
15 妥布特罗



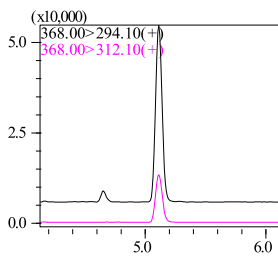
16 溴布特罗



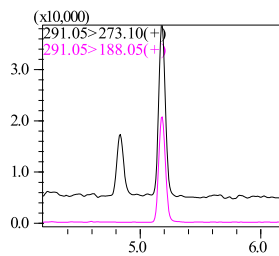
17 马布台诺



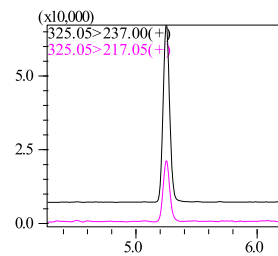
18 克伦潘特



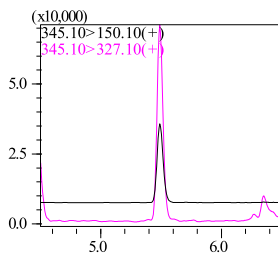
19 班布特罗



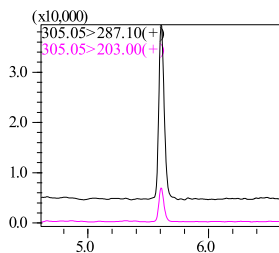
20 克伦异磅特罗



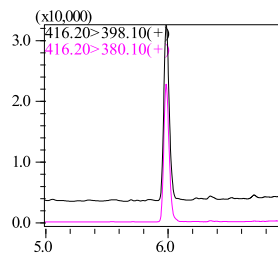
21 马贵特罗



22 苯乙醇胺 A



23 Clenhexerol



24 沙美特罗

图 2 二十四种标准样品 MRM 色谱图 (0.5 μg/L)

2.2 线性关系

配制 0.1 µg/L、0.5 µg/L、1.0 µg/L、5.0 µg/L 和 10.0 µg/L 不同浓度的混合标准溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法制作校准曲线，在 0.1~10.0 µg/L 浓度范围内线性良好。部分标准曲线如下图。线性方程、相关系数和线性范围见表 3。

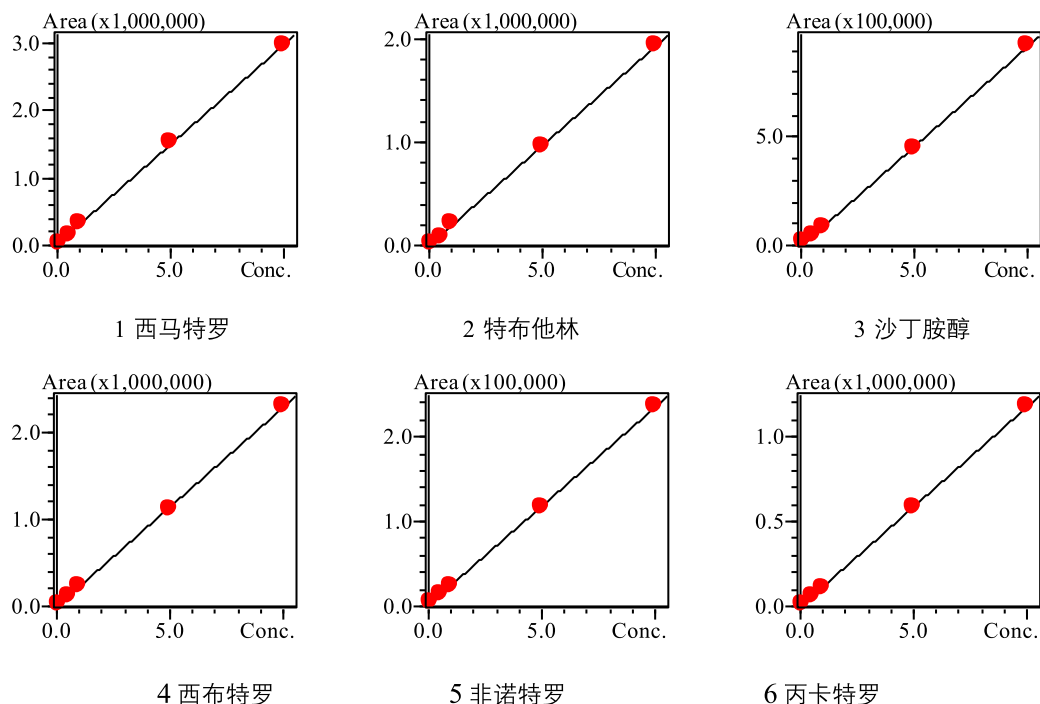


图 3 部分标准工作曲线

表 3 二十四种物质的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	相关系数 R	线性范围 (µg/L)
1	cimaterol	$Y = (295392)X + (22965.8)$	0.9996	0.1~10.0
2	terbutamol	$Y = (193158)X + (785.557)$	0.9997	0.1~10.0
3	salbutamol	$Y = (92096.7)X + (-4196.98)$	0.9990	0.1~10.0
4	cimbuterol	$Y = (228666)X + (49.6517)$	0.9993	0.1~10.0
5	fenoterol	$Y = (23336.1)X + (1754.60)$	0.9997	0.1~10.0
6	procaterol	$Y = (117874)X + (-1056.10)$	0.9997	0.1~10.0
7	ritodrine	$Y = (168469)X + (-2714.09)$	0.9998	0.1~10.0
8	clencyclohexerol	$Y = (140613)X + (6007.49)$	0.9981	0.1~10.0
9	NA	$Y = (142095)X + (9475.16)$	0.9997	0.1~10.0
10	clenproperol	$Y = (276702)X + (5397.33)$	0.9994	0.1~10.0
11	clorprenaline	$Y = (120122)X + (2530.85)$	0.9991	0.1~10.0
12	clenbuterol	$Y = (165991)X + (3818.39)$	0.9993	0.1~10.0
13	formoterol	$Y = (63694.2)X + (967.377)$	0.9991	0.1~10.0
14	bromchlorbuterol	$Y = (134267)X + (5363.64)$	0.9991	0.1~10.0
15	tulobuterol	$Y = (395663)X + (-10450.5)$	0.9997	0.1~10.0
16	brombuterol	$Y = (149063)X + (613.530)$	0.9995	0.1~10.0
17	mabuterol	$Y = (87975.6)X + (2167.41)$	0.9994	0.1~10.0
18	clenpenterol	$Y = (98120.2)X + (7456.52)$	0.9998	0.1~10.0
19	bambuterol	$Y = (110622)X + (-5098.32)$	0.9992	0.1~10.0

20	clenisopenterol	$Y = (241675)X + (3963.42)$	0.9996	0.1~10.0
21	mapenterol	$Y = (437827)X + (4879.97)$	0.9996	0.1~10.0
22	PA	$Y = (197828)X + (501.809)$	0.9996	0.1~10.0
23	clenhexerol	$Y = (213666)X + (5003.71)$	0.9996	0.1~10.0
24	salmeterol	$Y = (189691)X + (-5054.86)$	0.9999	0.1~10.0

2.3 精密度实验

对 0.1 μg/L、1.0 μg/L、和 10.0 μg/L 混合标准溶液连续 6 次进样，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。高、中、低 3 个浓度标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07~0.40 % 和 0.44~4.12 % 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)

编号	样品名称	RSD% (0.1 μg/L)		RSD% (1.0 μg/L)		RSD% (10.0 μg/L)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	cimaterol	0.40	3.90	0.24	2.18	0.29	1.08
2	terbutamol	0.35	2.93	0.13	2.44	0.23	1.17
3	salbutamol	0.11	3.85	0.19	1.87	0.18	2.49
4	cimbuterol	0.13	4.12	0.25	1.91	0.19	1.80
5	fenoterol	0.08	3.84	0.18	2.13	0.12	1.18
6	procatamol	0.07	2.74	0.19	1.95	0.08	0.44
7	ritodrine	0.13	3.80	0.12	2.88	0.09	0.87
8	clencyclohexerol	0.14	3.03	0.09	1.17	0.08	1.91
9	NA	0.11	2.10	0.12	2.09	0.13	2.13
10	clenproperol	0.16	2.87	0.10	1.80	0.14	1.85
11	clorprenaline	0.17	2.52	0.09	3.18	0.08	1.40
12	clenbuterol	0.15	3.27	0.14	1.44	0.10	1.76
13	formoterol	0.20	1.52	0.07	1.76	0.09	1.66
14	bromchlorbuterol	0.12	1.73	0.09	2.06	0.14	0.71
15	tulobuterol	0.10	2.78	0.07	1.71	0.07	1.47
16	brombuterol	0.09	2.12	0.10	1.47	0.08	1.11
17	mabuterol	0.14	2.83	0.18	1.61	0.09	2.03
18	clenpenterol	0.12	1.98	0.09	2.03	0.06	0.66
19	bambuterol	0.10	1.82	0.13	1.17	0.09	1.15
20	clenisopenterol	0.19	1.09	0.09	0.49	0.07	0.94
21	mapenterol	0.17	1.69	0.06	1.80	0.10	1.66
22	PA	0.14	0.69	0.09	1.18	0.14	1.57
23	clenhexerol	0.08	1.78	0.07	0.94	0.12	0.78
24	salmeterol	0.03	1.46	0.08	0.87	0.53	0.63

2.4 灵敏度分析

用鸡肉基质稀释得到浓度为 0.1 μg/kg 的基质加标溶液进样分析，24 种物质的最低检出限 (S/N=3, LOD 表示)、最低定量限 (S/N=10, LOQ 表示) 结果如表 5 所示。

表 5 二十四种物质的检出限和定量限

编号	名称	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	cimaterol	0.010	0.034
2	terbutamol	0.006	0.020
3	salbutamol	0.025	0.082
4	cimbuterol	0.020	0.067
5	fenoterol	0.009	0.030
6	procaterol	0.017	0.056
7	ritodrine	0.011	0.037
8	clencyclohexerol	0.021	0.069
9	NA	0.015	0.051
10	clenproperol	0.010	0.032
11	clorprenaline	0.012	0.039
12	clenbuterol	0.009	0.031
13	formoterol	0.012	0.040
14	bromchlorbuterol	0.004	0.014
15	tulobuterol	0.006	0.020
16	brombuterol	0.011	0.036
17	mabuterol	0.008	0.027
18	clenpenterol	0.012	0.040
19	bambuterol	0.009	0.030
20	clenisopenterol	0.010	0.033
21	mapenterol	0.006	0.019
22	PA	0.004	0.015
23	clenhexerol	0.012	0.038
24	salmeterol	0.010	0.034

2.5 基质加标实验

用空白基质按照 1.3 进行处理后加混标至浓度为 $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ ，平行 3 份样品测定回收率和 RSD。具体结果如表 6，样品加标回收率在 90.1~104.7% 之间。空白基质的色谱图如图 4 所示，标准品的色谱图如图 5 所示。

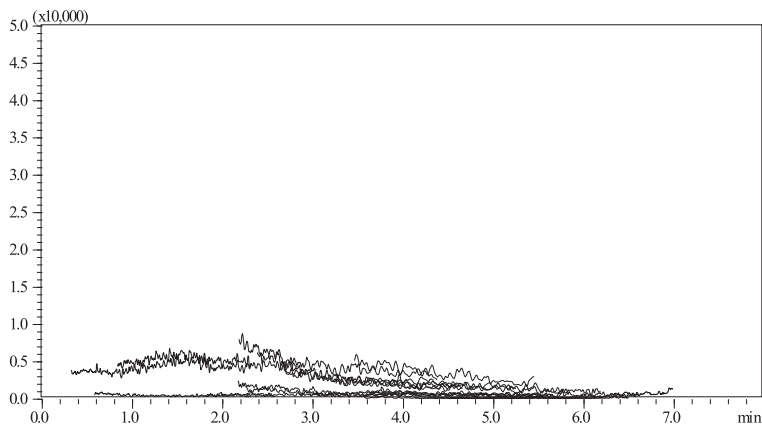


图 4 空白基质色谱图

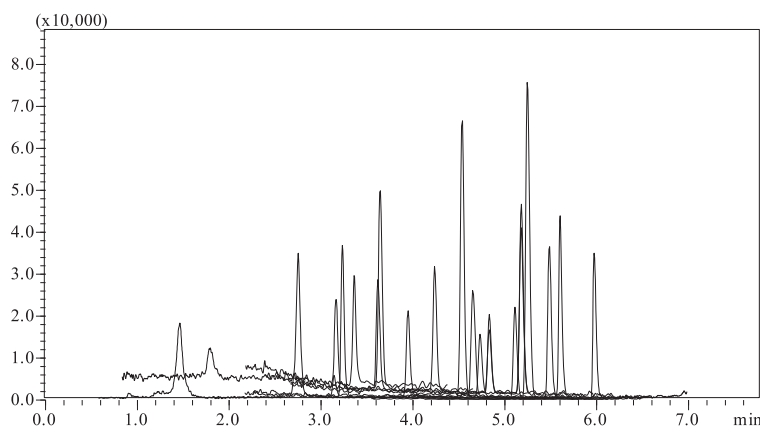


图 5 加标回收色谱图

表 6 加标样的回收率结果 (n=3)

编号	名称	回收率 (%)	RSD%	编号	名称	回收率 (%)	RSD%
1	cimaterol	102.4	2.01	13	formoterol	95.3	1.93
2	terbutamol	104.7	2.09	14	bromchlorbuterol	93.1	1.71
3	salbutamol	94.8	2.02	15	tulobuterol	96.3	1.85
4	cimbuterol	91.5	1.02	16	brombuterol	94.8	0.95
5	fenoterol	99.5	2.04	17	mabuterol	102.5	1.63
6	procaterol	96.8	0.65	18	clenpenterol	99.5	1.17
7	ritodrine	98.5	1.11	19	bambuterol	96.1	1.58
8	clencyclohexerol	90.1	0.16	20	clenisopenterol	98.5	0.91
9	NA	98.6	0.74	21	mapenterol	99.1	1.53
10	clenproperol	101.9	0.92	22	PA	103.9	0.53
11	clorprenaline	97.2	0.63	23	clenhexerol	95.4	1.06
12	clenbuterol	94.1	1.14	24	salmeterol	100.3	1.79

结论

建立了一种使用岛津液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用测定鸡肉中二十四种 β -受体激动剂的方法。该方法在 10 min 内完成二十四种 β -受体激动剂的分离。不同浓度的精密度实验结果表明：保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07~0.40 % 和 0.44~4.12 % 之间，仪器精密度良好；基质加标校准曲线相关系数均大于 0.9981，方法检出限和方法定量限分别在 0.004~0.025 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 0.014~0.082 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。该方法分析速度快、重复性好、灵敏度高，适合鸡肉中 β -受体激动剂的高灵敏度检测。