

## 猪肉中 $\beta$ -受体激动剂残留量的测定

SGLC-LC/MS-018

**摘要:** 参考国标 GB 22286-2008, 并对其方法进行优化, 建立了猪肉中  $\beta$ -受体激动剂残留量的测定方法。采用岛津的 WondaSep MCX 固相萃取小柱对猪肉样品进行净化, Shim-pack GIST C18 色谱柱进行分离, 串联质谱检测分析, 内标法定量。对空白样品 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  浓度加标后, 按照上述前处理方法处理后上机, 平行 3 份样品考察回收率和 RSD, 结果显示, 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  加标浓度的加标回收率为 88.95%-96.77%, RSD 为 0.59%-11.80%, 方法操作简单, 回收率高, 重现性好。该方法适用于猪肉中  $\beta$ -受体激动剂残留量的测定。

**关键词:**  $\beta$ -受体激动剂 猪肉 WondaSep MCX LC-MSMS

### 1. 实验部分

#### 1.1 实验仪器及耗材

仪器配置: Shimadzu LC-30A 与 LCMS-8050 联用系统;

色谱柱: Shim-pack GIST C18, 50 $\times$ 2.1 mm, 2  $\mu\text{m}$  (P/N: 227-30001-02);

固相萃取小柱: WondaSep MCX 60 mg/3mL (P/N: 5010-81931);

SHIMSEN Arc Disc HPTFE 针式过滤器 (P/N: 380-00341-05);

LC/MS 认证样品瓶 LabTotal Vial (P/N: 227-34001-01);

SHIMSEN Pipet 移液枪: SHIMSEN Pipet PMII-10 (P/N: 380-00751-02);

SHIMSEN Pipet PMII-100 (P/N: 380-00751-04);

SHIMSEN Pipet PMII-1000 (P/N: 380-00751-06)。

#### 1.2 分析条件

##### UHPLC 条件

色谱柱: Shim-pack GIST C18, 50 $\times$ 2.1 mm, 2  $\mu\text{m}$  (P/N: 227-30001-02)

流速: 0.3 mL/min

进样量: 5  $\mu\text{L}$

柱温: 40  $^{\circ}\text{C}$

流动相: A: 0.1% 甲酸水 B: 甲醇

梯度洗脱程序如下:

| 时间 (Min) | 0  | 1.5 | 5  | 5.5 | 5.55 | 7  |
|----------|----|-----|----|-----|------|----|
| A (%)    | 97 | 97  | 20 | 20  | 97   | 97 |
| B (%)    | 3  | 3   | 80 | 80  | 3    | 3  |

### 质谱条件

离子化模式: ESI, 正离子扫描

扫描模式: 多反应监测(MRM)

碰撞气: 氩气

加热气: 氮气 10 L/min

雾化气: 氮气 3 L/min

干燥气: 氮气 10 L/min

接口温度: 300℃

DL 温度: 250 ℃

加热模块温度: 400 ℃

各化合物 MRM 参数见下表

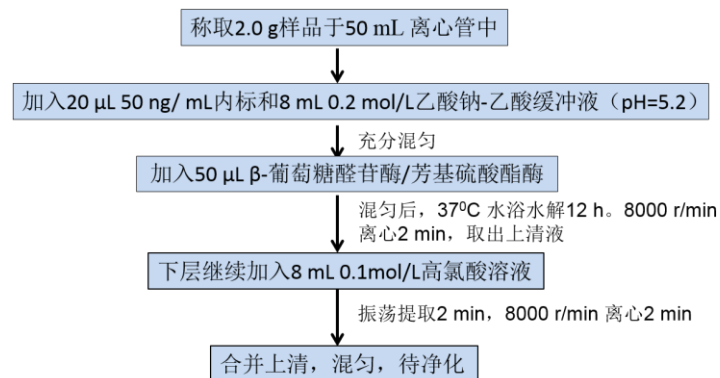
| 序号 | 兽药名称    | 前体离子<br>(m/z) | 产物离子<br>(m/z) | Q1 Pre Bias | CE    | Q3 Pre Bias |
|----|---------|---------------|---------------|-------------|-------|-------------|
| 1  | 沙丁胺醇    | 240.00*       | 148.10        | -10.0       | -18.0 | -25.0       |
|    |         | 240.00        | 222.15        | -10.0       | -11.0 | -21.0       |
| 2  | 克伦特罗    | 276.90*       | 203.20        | -11.0       | -16.0 | -19.0       |
|    |         | 276.90        | 259.10        | -11.0       | -11.0 | -26.0       |
| 3  | 莱克多巴胺   | 302.00        | 107.05        | -10.0       | -34.0 | -17.0       |
|    |         | 302.00*       | 164.20        | -11.0       | -17.0 | -15.0       |
| 4  | 沙丁胺醇-D3 | 243.10*       | 151.25        | -11.0       | -19.0 | -28.0       |
| 5  | 西马特罗    | 220.00*       | 202.15        | -10.0       | -10.0 | -18.0       |
|    |         | 220.00        | 160.20        | -10.0       | -17.0 | -14.0       |
| 6  | 塞布特罗    | 233.90*       | 160.20        | -11.0       | -15.0 | -30.0       |
|    |         | 233.90        | 143.20        | -11.0       | -25.0 | -12.0       |
| 7  | 马贲特罗    | 325.00*       | 237.20        | -10.0       | -17.0 | -23.0       |
|    |         | 325.00        | 217.00        | -11.0       | -27.0 | -20.0       |
| 8  | 马布特罗    | 310.80*       | 237.25        | -15.0       | -18.0 | -23.0       |
|    |         | 310.80        | 216.95        | -13.0       | -25.0 | -20.0       |
|    |         | 310.80        | 293.05        | -12.0       | -13.0 | -28.0       |
| 9  | 特步他林    | 225.90*       | 152.00        | -10.0       | -16.0 | -13.0       |
|    |         | 225.90        | 107.10        | -11.0       | -32.0 | -16.0       |
|    |         | 225.90        | 125.20        | -11.0       | -23.0 | -20.0       |
| 10 | 苯氧丙酚胺   | 302.00        | 284.35        | -12.0       | -15.0 | -26.0       |
|    |         | 302.00*       | 107.05        | -12.0       | -29.0 | -17.0       |
|    |         | 302.00        | 150.25        | -12.0       | -22.0 | -27.0       |
| 11 | 溴布特罗    | 366.70*       | 292.85        | -11.0       | -19.0 | -29.0       |
|    |         | 366.70        | 349.00        | -11.0       | -13.0 | -21.0       |
| 12 | 溴代克伦特罗  | 322.90*       | 249.00        | -13.0       | -18.0 | -25.0       |
|    |         | 322.90        | 305.00        | -10.0       | -13.0 | -30.0       |
|    |         | 322.90        | 168.05        | -14.0       | -29.0 | -15.0       |
| 13 | 克伦特罗-D9 | 286.00*       | 204.15        | -13.0       | -18.0 | -19.0       |

\*定量离子对

### 1.3 样品前处理

#### 1.3.1 样品提取

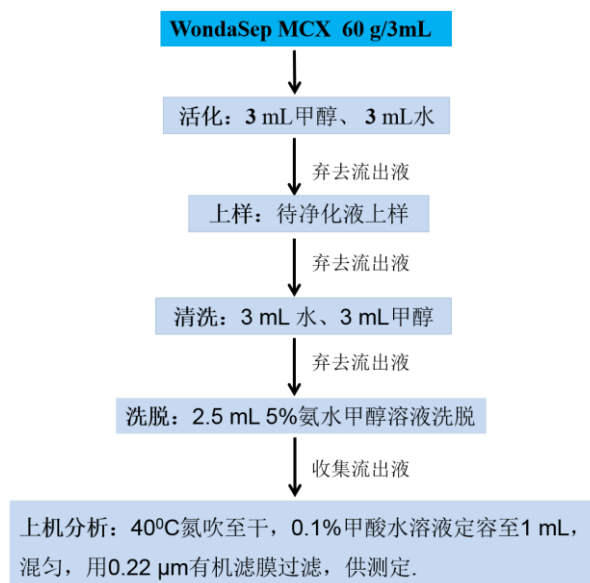
取 2.0 g 均质猪肉，加入 20  $\mu$ L 50 ng/mL 内标和 8 mL 0.2 mol/L 乙酸钠-乙酸缓冲液 (pH=5.2)，充分混匀，再加入 50  $\mu$ L  $\beta$ -葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶，混匀后，37 $^{\circ}$ C 水浴水解 12 h。8000 r/min 离心 2 min，取出上清液，下层继续加入 8 mL 0.1mol/L 高氯酸溶液，振荡提取 2 min，8000 r/min 离心 2 min，合并 2 次上清液，混匀，待净化。流程图见下图。



#### 1.3.2 样品净化

##### WondaSep MCX 60 mg/3 mL

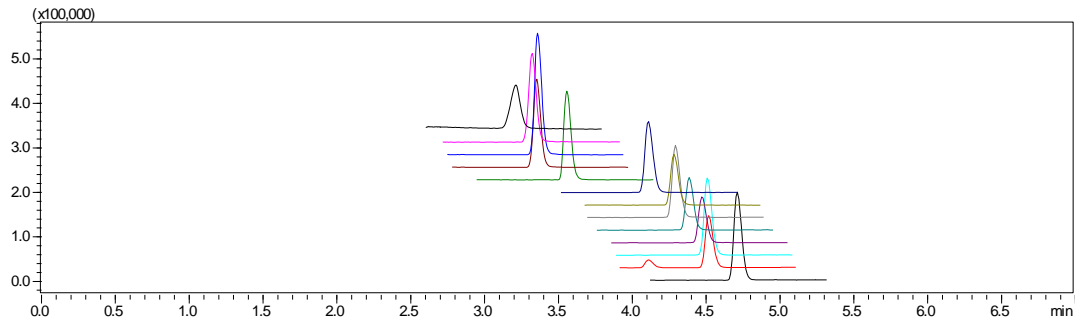
3 mL 甲醇、3 mL 水活化；待净化液上样，弃去流出液；3 mL 水、3 mL 甲醇淋洗，弃去流出液；2.5 mL 5%氨水甲醇溶液洗脱，收集洗脱液，40 $^{\circ}$ C 氮吹至干，0.1%甲酸水溶液定容至 1 mL，混匀，用 0.22  $\mu$ m 有机滤膜过滤，供测定。流程图见下图。





## 2. 结果及讨论

### 2.1 标准品的 MRM 色谱图



11 个  $\beta$ -受体激动剂和 2 个内标标准溶液的 MRM 色谱图 (0.5  $\mu\text{g/L}$ )

### 2.2 猪肉中 $\beta$ -受体激动剂的 LC-MS/MS 检测添加回收结果

将猪肉空白样品进行 0.5  $\mu\text{g/kg}$  浓度加标后, 按照上述前处理方法处理后上机, 平行 3 份样品考察回收率和 RSD, 具体结果如下: 0.5  $\mu\text{g/kg}$  加标浓度的加标回收率为 88.95%-96.77%, RSD 为 0.59%-11.80%。

| 兽药名称   | 添加水平 (0.5 $\mu\text{g/kg}$ ) |         |
|--------|------------------------------|---------|
|        | 回收率 (%)                      | RSD (%) |
| 沙丁胺醇   | 92.49                        | 2.89    |
| 克伦特罗   | 93.29                        | 10.40   |
| 莱克多巴胺  | 90.28                        | 5.71    |
| 西马特罗   | 90.78                        | 8.55    |
| 塞布特罗   | 92.56                        | 4.20    |
| 马奔特罗   | 95.31                        | 0.59    |
| 马布特罗   | 96.77                        | 6.65    |
| 特步他林   | 94.82                        | 4.69    |
| 苯氧丙酚胺  | 88.95                        | 4.05    |
| 溴布特罗   | 93.84                        | 0.67    |
| 溴代克伦特罗 | 93.98                        | 11.80   |

## 3. 结论

本文参考国标 GB 22286-2008, 并对其方法进行优化, 建立了猪肉中  $\beta$ -受体激动剂残留量的测定方法。采用岛津的 WondaSep MCX 固相萃取小柱对猪肉样品进行净化, Shim-pack GIST C18 色谱柱进行分离, 串联质谱检测分析, 内标法定量。对空白样品 0.5  $\mu\text{g/kg}$  浓度加标后, 按照上述前处理方法处理后上机, 平行 3 份样品考察回收率和 RSD, 结果显示, 0.5  $\mu\text{g/kg}$  加标浓度的加标回收率为 88.95%-96.77%, RSD 为 0.59%-11.80%, 方法操作简单, 回收率高, 重现性好。该方法适用于猪肉中  $\beta$ -受体激动剂残留量的测定。