

## 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

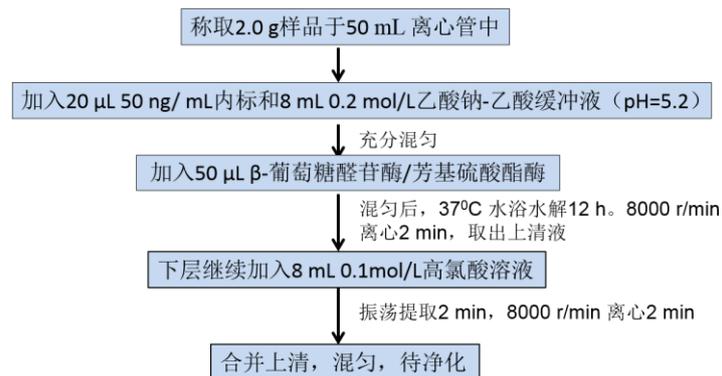
序号	兽药名称	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	Q1 Pre Bias	CE	Q3 Pre Bias
1	沙丁胺醇	240.00*	148.10	-10.0	-18.0	-25.0
		240.00	222.15	-10.0	-11.0	-21.0
2	克伦特罗	276.90*	203.20	-11.0	-16.0	-19.0
		276.90	259.10	-11.0	-11.0	-26.0
3	莱克多巴胺	302.00	107.05	-10.0	-34.0	-17.0
		302.00*	164.20	-11.0	-17.0	-15.0
4	沙丁胺醇-D3	243.10*	151.25	-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

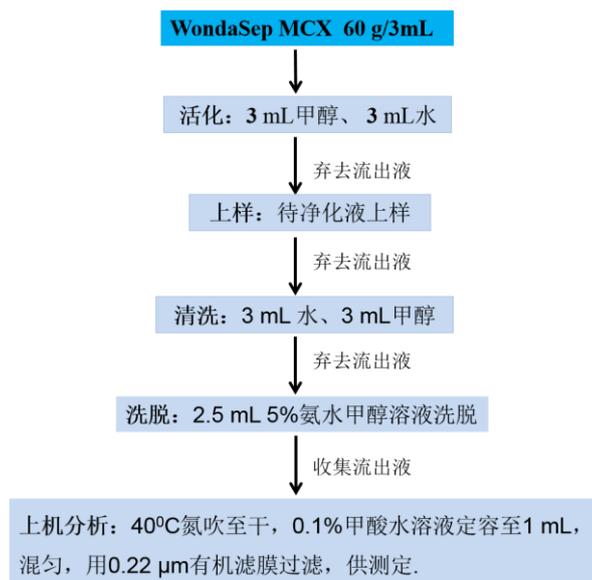
取 2.0 g 均质猪肉，加入 20  $\mu$ L 50 ng/mL 内标和 8 mL 0.2 mol/L 乙酸钠-乙酸缓冲液（pH=5.2），充分混匀，再加入 50  $\mu$ L  $\beta$ -葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶，混匀后，37°C 水浴水解 12 h。8000 r/min 离心 2 min，取出上清液，下层继续加入 8 mL 0.1mol/L 高氯酸溶液，振荡提取 2 min，8000 r/min 离心 2 min，合并 2 次上清液，混匀，待净化。流程图见下图。



#### 1.3.2 样品净化

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

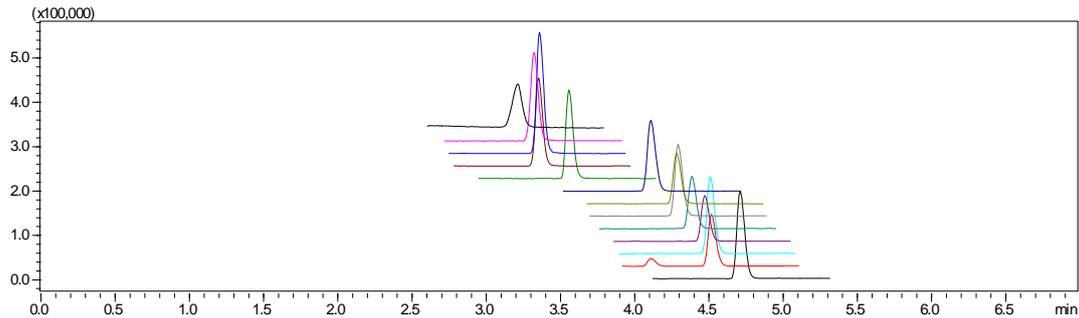
3 mL 甲醇、3 mL 水活化；待净化液上样，弃去流出液；3 mL 水、3 mL 甲醇淋洗，弃去流出液；2.5 mL 5%氨水甲醇溶液洗脱，收集洗脱液，40°C 氮吹至干，0.1%甲酸水溶液定容至 1 mL，混匀，用 0.22  $\mu$ m 有机滤膜过滤，供测定。流程图见下图。





## 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。