

同位素稀释-气相色谱-串联质谱法测定猪肉中残留的4种 β -受体激动剂

岳韩笑^{1,2}, 雷雯², 杜晓宁², 许旭¹

(1. 上海应用技术大学化学与环境工程学院, 上海 201418;

2. 上海化工研究院, 上海稳定性同位素工程技术研究中心, 上海 200062)

摘要:采用同位素稀释质谱法, 结合固相萃取技术, 建立了猪肉中克伦特罗、妥布特罗、溴布特罗、沙丁胺醇等4种 β -受体激动剂残留量的气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)检测方法。向绞碎的猪肉中加入同位素内标克伦特罗-D₉、妥布特罗-D₉、溴布特罗-D₉, 经 β -盐酸葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶酶解, 醋酸铵缓冲溶液提取, 高氯酸调pH, HLB-MCX固相萃取柱串联净化, 用N,O-双三甲基硅基三氟乙酰胺(BSTFA)+1%三甲基氯硅烷(TMCS)衍生化后, 进行GC-MS/MS测定, 使用内标法定量。结果表明, 猪肉中添加2.5~35.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 水平的 β -受体激动剂, 回收率为92.2%~112.8%, 批内变异系数(CV)为1.0%~12.6%, 批间变异系数(CV)为1.9%~13.2%。4种 β -受体激动剂的线性范围为1.35~158.00 $\mu\text{g}/\text{L}$, 相关系数 $R^2 \geq 0.9997$, 方法最低检测限为0.13~0.40 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 最低定量限为0.40~1.27 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该方法精密度好、灵敏度高, 可简便、准确地测定猪肉中4种 β -受体激动剂的残留量。

关键词:固相萃取; 气相色谱-质谱法; 同位素稀释; β -受体激动剂; 猪肉

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2018)01-0061-08

doi: 10.7538/zpzb.2016.0123

Multi-Residue Analysis of 4 β -Agonists in Pork Using Isotope Dilution Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

YUE Han-xiao^{1,2}, LEI Wen², DU Xiao-ning², XU Xu¹

(1. School of Chemical and Environmental Engineering, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418, China; 2. Shanghai Engineer and Technological Research Center for Stable Isotope, Shanghai Research Institute of Chemical Industry, Shanghai 200062, China)

Abstract: A method for multi-residue analysis of β -agonists, clenbuterol, brombuterol, tulobuterol, salbutamol in pork was established by using isotope dilution combined with gas chromatography-tandem mass spectrometry and based on solid phase extraction method. β -agonists, which are well-known for their ability to improve growth rate and reduce carcass fat when fed to farm animals, were often adulterated into animal feed ille-

收稿日期: 2016-07-21; 修回日期: 2016-10-29

基金项目: 稳定同位素标记试剂研发及产业化平台构建项目(科技部项目 2015BAK45B01-20); 上海市科委科学仪器专项(16142201600)资助

作者简介: 岳韩笑(1989—), 女(汉族), 山东枣庄人, 硕士研究生, 仪器分析专业。E-mail: yuehanxiao15@163.com

通信作者: 杜晓宁(1955—), 女(汉族), 江苏人, 教授级高级工程师, 从事稳定同位素化学研究。E-mail: xiaoningdu@163.com

网络出版时间: 2017-09-15; 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.2979.TH.20170915.1507.012.html>

gally. However, this misuse had caused some severe accidental poisoning in humans. Therefore, the use of β -agonists in animal breeding is banned in many countries, and the establishment of a high sensitivity, accurate of β -agonist detection method is very necessary. In this study, the homogenized samples were spiked with isotope-labeled internal standards clenbuterol-D₉, brombuterol-D₉, tulobuterol-D₉, enzymatically hydrolysed and extracted by acetic acid-buffer, adjusted pH by perchloric acid, and cleaned-up on HLB and MCX cartridge, and derivatized with *N, O*-bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA) + 1% trimethylchlorosilane (TMCS), finally analyzed by GC-MS/MS. The experimental results showed that spiking with the 4 β -agonists at 2.5-35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in blank samples, the recoveries were 92.2%-112.8%, and intra-day and inter-day coefficients were 1.0%-12.6% and 1.9%-13.2%, respectively. Using isotope as the internal standard for the determination of the material, it can effectively reduce the sample errors in the pretreatment, derivatization and instrumentation process. And under the certain conditions, 4 β -agonists can be effectively separated. The linear ranges of 4 β -agonists were 35-158.00 $\mu\text{g}/\text{L}$, the coefficient of correlation was not less than 0.999 7, detection limits were in the range of 0.13-0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the quantitative limits were in the range of 0.40-1.27 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The method is demonstrated to be suitable for the determination of clenbuterol, brombuterol, tulobuterol, salbutamol in pork.

Key words: solid phase extraction; gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS); isotope dilution; β -agonists; pork

随着社会的发展和进步,人们对动物源性食物的需求量大幅增加,畜产品生产过程中滥用 β -受体激动剂等兽药的违法行为也随之日益严重。 β -受体激动剂主要包括克伦特罗(俗称“瘦肉精”)、妥布特罗、沙丁胺醇、溴布特罗等,该类化合物曾经作为药物用于治疗支气管哮喘^[1]。这些药物的高合成代谢潜能使其可被用于运动学和动物饲养学,以提高肌肉合成、减少身体脂肪^[2],但大剂量的使用会导致其在动物体内残留蓄积,其在肌肉、肾脏、肝脏、肺脏中的残留蓄积量依次升高^[3],残留蓄积浓度可达100~500 ng/g,人食用了这种猪肉后可能会产生剧烈腹痛,肌肉震颤等症状^[4],因此许多国家或组织限制或禁止在食用动物养殖中使用 β -受体激动剂^[5]。我国针对 β -受体激动剂的使用有明确的规定,农业部在2001年12月27日、2002年2月9日、2002年4月9日三次下发文件禁止将 β -受体激动剂类药物作为食用动物饲料添加剂(农业部176号、193号公告、1519号条例),但是尚未对生猪肉中“瘦肉精”的残留限量做出明确规定。现在普遍采用的是农业部第

38号文件,以1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 为限。

目前国内外用于检测 β -受体激动剂的方法很多^[6],如高效液相色谱法(HPLC)^[7],气相色谱-质谱联用法(GC/MS)^[8-11],液相色谱-质谱联用法(LC/MS)^[12-15]等。猪肉中 β -受体激动剂的残留量检测为痕量分析,样品的基质比较复杂,同位素内标的引入可以显著提高样品的回收率,消除基质的干扰^[16-18]。吴平谷等^[19]使用克伦特罗-D₉、沙丁胺醇-D₃、莱克多巴胺-D₃作为内标,用GC-MS检测了猪肉中的10种 β -受体激动剂。但目前利用同位素内标试剂的气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)测定 β -受体激动剂残留量的方法还未见报道。

本工作拟选取上海化工研究院自行研制的同位素标记试剂作为内标,采用气相色谱-串联质谱法多反应监测模式(MRM)检测猪肉中克伦特罗、溴布特罗、沙丁胺醇、妥布特罗4种 β -受体激动剂的残留量,并对方法的线性范围、回收率、精密度和检出限等进行考察,希望建立一种高灵敏度和高准确性的 β -受体激动剂的检测方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

7000C型GC-MS/MS;美国Agilent公司产品;DC-12-OA型氮吹仪;上海安谱科学仪器有限公司产品;AR2140型电子天平;美国OhausTM公司产品;SK2200H型超声波清洗器;上海科导超声仪器有限公司产品;230V型涡旋混匀器;美国Talboy公司产品;F6/10超细匀浆机;上海弗鲁克流体机械制造有限公司产品;TGL-20B高速离心机;上海安亭科学仪器厂产品;12位SPE固相萃取真空装置;上海安谱科学仪器有限公司产品;Poly-Sery HLB SPE柱,Poly-Sery MCX SPE柱;均为德国CNW科技公司产品。

克伦特罗标准品(clenbuterol,纯度99.0%)、溴布特罗标准品(brombuterol,纯度99.0%)、妥布特罗标准品(tulobuterol,纯度99.0%)、沙丁胺醇标准品(salbutamol,纯度99%);德国Dr. Ehrenstorfer公司产品;克伦特罗-D₉(clenbuterol-D₉,纯度98.1%,丰度97.7%)、溴布特罗-D₉(brombuterol-D₉,纯度99.0%,丰度98.8%)、妥布特罗-D₉(tulobuterol-D₉,纯度93.9%,丰度98.4%);上海化工研究院研制;N,O-双三甲基硅基三氟乙酰胺(BSTFA)+1%三甲基氯硅烷(TMCS);百灵威科技有限公司产品; β -盐酸葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶(酶活性>100 000单位/毫升);美国Soltec Ventures公司产品;甲醇(HPLC级);格耐博生物科技有限公司产品;醋酸铵(AR级);江苏强盛化工有限公司产品;高氯酸(AR级);金鹿化工有限公司产品;氨水(AR级);上海凌峰化学试剂有限公司产品;甲苯(AR级);江苏强盛化工有限公司产品。

1.2 标准溶液的配制

β -受体激动剂标准储备溶液:分别准确称取溴布特罗、克伦特罗、妥布特罗、沙丁胺醇标准品9.46、12.34、5.28、3.73 mg于10 mL容量瓶中,用甲醇溶解、定容,配制成0.946、1.234、0.528、0.373 g/L的标准储备液,储存于-20℃冰箱中,备用。

β -受体激动剂混合标准储备溶液:各取适量上述溶液于25 mL容量瓶中,用甲醇稀释、定容,储存于-20℃冰箱中,备用。

氘标记 β -受体激动剂储备溶液:分别准确称取溴布特罗-D₉、妥布特罗-D₉、克伦特罗-D₉ 12.18、11.20、5.28 mg于10 mL容量瓶中,用甲醇溶解、定容,配制成1.218、1.120、0.528 g/L的储备溶液,储存于-20℃冰箱中,备用。

氘标记 β -受体激动剂混合工作溶液:各取上述适量溶液于25 mL容量瓶中,用甲醇稀释、定容,储存于-20℃冰箱中,备用。

1.3 样品前处理

1.3.1 样品提取 称取2.0 g经绞碎均匀的猪肉样品于50 mL离心管中,先加入8 mL浓度为0.02 mol/L、pH 5.2的醋酸铵缓冲水溶液,再加入40 μ L β -盐酸葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶,50 μ L混合同位素内标溶液(克伦特罗-D₉、溴布特罗-D₉、妥布特罗-D₉),涡旋振荡1 min,然后在37℃及避光的条件下水浴振荡16 h。将酶解好的产物充分涡旋振荡混匀,以10 000 r/min离心10 min,将上层清液转移至另一50 mL的离心管中,加入0.1 mol/L的高氯酸,调节pH值至1,涡旋振荡1 min混匀后,以10 000 r/min离心10 min,取上层清液进行下一步净化处理。

1.3.2 样品净化 用6 mL甲醇活化HLB(亲水-亲脂平衡固相柱)和MCX(混合型阳离子交换固相柱)串联的固相萃取小柱(HLB在上,MCX在下),加入4 mL超纯水淋洗,然后将1.3.1节得到的上清液全部加入小柱,使液体以2 s/滴的速率流出。之后用4 mL纯净水洗涤上样后的固相萃取柱,抽干1 min。用4 mL 15%的氨水甲醇溶液淋洗小柱,收集洗脱液,于40℃水浴下氮气吹干。

1.3.3 样品衍生化 向1.3.2节中制得的蒸发剩余物中加入100 μ L甲苯和50 μ L BSTFA+1% TMCS,在80℃的烘箱中加热衍生1 h,衍生后的产物用氮吹仪吹干,加入1 mL甲苯溶解,过0.22 μ m孔径滤膜,待测。

1.4 GC-MS/MS条件

1.4.1 色谱条件 色谱柱:毛细管柱HP-5MS(30 m \times 250 μ m \times 0.25 μ m);载气:高纯He,流速1.0 mL/min;进样口温度:280℃;进样方式:不分流进样;进样量:1 μ L;升温程序:起始温度70℃,保持1 min,以25℃/min升至230℃,保持1 min,以25℃/min升至280℃,

保持 2 min。

1.4.2 质谱条件 多反应监测模式(MRM), 电子轰击离子源温度 230 °C, 溶剂延迟 5 min, 接口温度 290 °C, 电子倍增器电压为 1 506 V。

2 结果与讨论

2.1 样品净化

由于猪肉样品基质比较复杂, 含有大量蛋白质等内源性物质, 而且猪肉中 β -受体激动剂的残留量检测大多属于痕量分析, 所以有效成分的提取和样品净化至关重要。目前猪肉中 β -受体激动剂类药物残留分析的净化方法多采用固相萃取法, 文献报道的用于样品净化处理的萃取柱包括 HLB^[3]、SLS^[19-20]、C18^[4]、MCX^[13-15] 等多种作用模式的固相萃取柱。由于 Poly-Sery HLB 可用于吸附大量油脂, Poly-Sery MCX 对碱性化合物具有较高的选择性和灵敏度, 而本实验中的 4 种目标 β -受体激动剂均为碱性化合物(pKa 均大于 9.0), 因此分别考察了 MCX、HLB、MCX 和 HLB 串联的净化方式对猪肉样品的净化效果, 结果列于表 1。可以看出, 样品经 MCX 和 HLB

串联柱净化后得到的 4 种 β -受体激动剂的回收率均大于 80%, 明显高于单独的 MCX 和 HLB 柱, 所以本实验选择 Poly-Sery HLB 柱在上、Poly-Sery MCX 柱在下, 两柱串联的方式对样品进行净化处理。

本实验还对洗脱溶剂进行了优化, 分别对 5%、15%、25% 三种不同比例的氨水-甲醇溶液的洗脱效果进行了比较。结果显示, 当氨水-甲醇浓度为 5% 时, 沙丁胺醇的洗脱效果不理想, 回收率较低; 浓度为 25% 时, 固相萃取柱上的部分杂质也会被洗脱下来, 背景噪音较高, 影响检出限的测定; 浓度为 15% 时, 4 种 β -受体激动剂的回收率均大于 80%, 所以本实验选择浓度 15% 的氨水-甲醇溶液作为样品的洗脱溶剂。

2.2 检测离子的确定

先对 7 种物质进行全扫描(Scan), 然后选择这 7 种物质的一级碎片离子峰强度最高的离子作为母离子, 在碰撞室电压分别为 5、15、25、35 V 的条件下进行产物离子扫描, 确定这 7 种化合物的定性和定量离子, 结果列于表 2。利用 MRM 模式在优化的色谱和质谱

表 1 三种不同净化方式对 4 种 β -受体激动剂回收率的影响

Table 1 Comparison of recoveries by 3 different purification methods for 4 β -agonists

β -受体 激动剂 β -agonists	HLB			MCX			HLB-MCX		
	添加值 Added value/ μ g	计算值 Calculated value/ μ g	回收率 Recoveries/ %	添加值 Added value/ μ g	计算值 Calculated value/ μ g	回收率 Recoveries/ %	添加值 Added value/ μ g	计算值 Calculated value/ μ g	回收率 Recoveries/ %
妥布特罗	0.283	0.043	15.2	0.283	0.166	58.7	0.283	0.243	85.3
克伦特罗	0.100	0.013	13.0	0.100	0.071	71.0	0.100	0.110	109.6
沙丁胺醇	0.088	0.001	1.2	0.088	0.036	41.1	0.088	0.072	82.4
溴布特罗	0.082	0.007	8.3	0.082	0.034	41.0	0.082	0.066	80.7

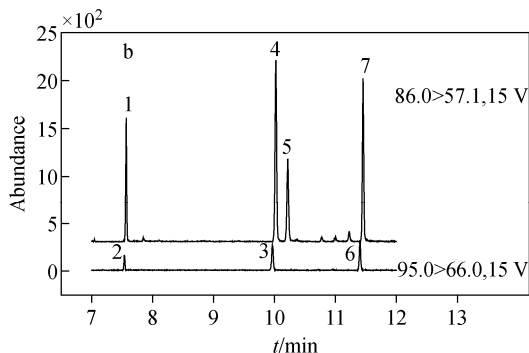
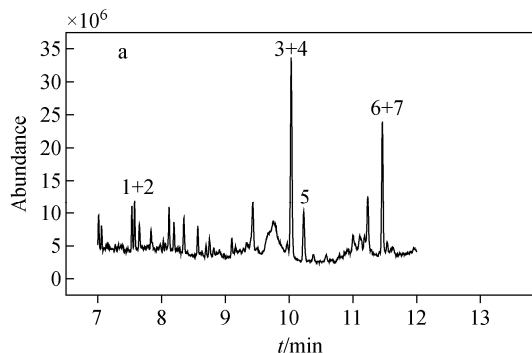
表 2 串联质谱多反应离子监测模式下的检测条件

Table 2 Triplequadrapole mass spectrometric parameters in MRM mode

化合物 Compounds	保留时间 t_R /min	定性离子对 Qualitative ions (m/z)	定量离子对 Quantitative ions (m/z)	碰撞电压 Collision voltage/eV
妥布特罗	7.676	86.0/30.2	86.0/57.1	15
妥布特罗-D ₉	7.705	95.0/31.0	95.0/66.0	15
克伦特罗	10.252	86.0/30.2	86.0/57.1	15
克伦特罗-D ₉	10.196	95.0/31.0	95.0/66.0	15
沙丁胺醇	10.454	86.0/30.2	86.0/57.1	15
溴布特罗	11.640	86.0/30.2	86.0/57.1	15
溴布特罗-D ₉	11.590	95.0/31.0	95.0/66.0	15

条件下可以有效分离溴布特罗、克伦特罗、妥布特罗、沙丁胺醇以及溴布特罗-D₉、克伦特罗-D₉、妥布特罗-D₉等7种化合物,其离子流图示

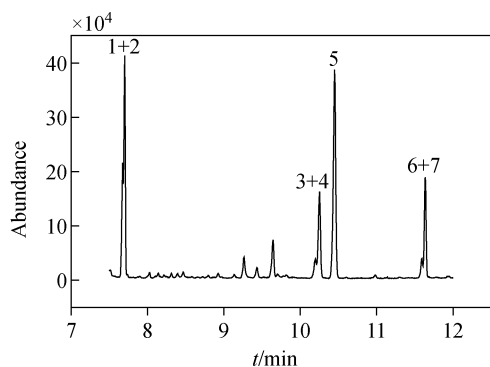
于图1;7种化合物在空白样品基质中的离子流图示于图2。结果表明,采取MRM模式可有效降低基线噪声。



注:1. 溴布特罗;2. 溴布特罗-D₉;3. 克伦特罗-D₉;4. 克伦特罗;5. 沙丁胺醇;6. 妥布特罗-D₉;7. 妥布特罗

图1 4种 β 受体激动剂标准品及3种内标标准品在Scan(a)和MRM(b)模式下的衍生物离子流图

Fig. 1 Ion current chromatograms of the derivatives of 4 β -agonists and 3 internal standards in Scan (a) and MRM (b) modes



注:各数字代表的化合物同图1

图2 MRM模式下在空白样品中添加3种同位素内标和4种 β 受体激动剂标准品的离子流图

Fig. 2 Ion current chromatograms of blank samples spiked with 3 internal standards and 4 β -agonists in MRM mode

2.3 方法学考察

2.3.1 方法的线性范围 精密量取 β 受体激动剂混合标准储备溶液,分别用甲醇稀释。使其中克伦特罗的浓度分别为158.00、88.00、35.20、17.60、8.80、1.76 $\mu\text{g/L}$;溴布特罗的浓度分别为122.00、67.50、27.00、13.50、6.75、1.35 $\mu\text{g/L}$;妥布特罗的浓度分别为136.00、75.50、32.30、15.10、7.55、1.51 $\mu\text{g/L}$;沙丁胺

醇的浓度分别为144.00、80.00、32.00、16.00、8.00、1.60 $\mu\text{g/L}$ 。分别在上述溶液中加入50 μL 混合的氘标记内标溶液,依次对系列标准工作溶液进样分析,记录离子流图的峰面积。以溶液浓度为横坐标,标样和内标物的峰面积比值为纵坐标,绘制标准曲线。4种 β 受体激动剂的线性方程、相关系数、检出限(LOD)及定量限(LOQ)列于表3。由表3可见,4种 β 受体激动剂在1.76~122.00 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性关系良好,相关系数 $R^2 \geq 0.9997$ 。

2.3.2 检出限(LOD)和定量限(LOQ) 采用向空白猪肉样品中加入目标化合物的方法,按照1.3、1.4节的方法进行样品处理和检测。以信噪比 $S/N \geq 3$ 测得方法检出限(LOD),以 $S/N \geq 10$ 测得方法定量限(LOQ)。4种 β 受体激动剂的LOD在0.13~0.40 $\mu\text{g/kg}$ 之间,LOQ在0.40~1.27 $\mu\text{g/kg}$ 之间。与单级GC/MS相比^[19](文献中克伦特罗的检出限1.0 $\mu\text{g/kg}$ 、沙丁胺醇的检出限0.5 $\mu\text{g/kg}$),本方法所得的检出限更低,并且检出限低于GB/T 22286—2008中克伦特罗、沙丁胺醇和溴布特罗的检出限0.5 $\mu\text{g/kg}$ 。农业部规定我国动物源食品中瘦肉精的残留限量为1 $\mu\text{g/kg}$,本方法的检出限可满足该检测要求。

表3 4种 β -受体激动剂的线性方程、相关系数、检出限(LODs)及定量限(LOQs)Table 3 Linear equations, correlation coefficients(R^2), limits of detection (LODs) and limits of quantitation (LOQs) of 4 β -agonists

化合物 Compounds	线性范围 Linear ranges/ $(\mu\text{g/L})$	线性方程 Linear equations	相关系数 R^2	检出限 LODs/ $(\mu\text{g/kg})$	定量限 LOQs/ $(\mu\text{g/kg})$
溴布特罗	1.35~122.00	$y=41.2015x-0.0052$	0.9999	0.24	0.72
妥布特罗	1.51~136.00	$y=59.0014x+0.0056$	0.9999	0.13	0.40
克伦特罗	1.76~158.00	$y=43.4949x-0.0007$	0.9998	0.28	0.87
沙丁胺醇	1.60~144.00	$y=24.0872x-0.1665$	0.9997	0.40	1.27

2.3.3 方法回收率和精密度 在猪肉中添加高、中、低3个不同质量浓度的克伦特罗、溴布特罗、妥布特罗、沙丁胺醇标准品,每个浓度水平进行5次平行实验,考察方法的回收率和精密度,结果列于表4。结果表明,3种添加水平的回收率为92.2%~112.8%,批内变异系数

(CV)为1.0%~12.6%,批间变异系数(CV)为1.9%~13.2%。利用同位素作为内标测定各物质,可以有效地减少样品在前处理、衍生化以及仪器测定过程中产生的误差,此外,同位素内标试剂的加入,可显著提高被测样品的回收率。

表4 4种 β -受体激动剂的加标回收率及变异系数(CV)($n=5$)Table 4 Recoveries and variation coefficients of 4 β -agonists ($n=5$)

化合物 Compounds	添加质量 Added value/ $(\mu\text{g/kg})$	同一批次 In the same batch		批次之间 Between batches	
		平均回收率 Average recoveries/%	变异系数 CV/%	平均回收率 Average recoveries/%	变异系数 CV/%
克伦特罗	1.17	92.8	9.1	92.6	11.6
	7.0	97.0	5.5	98.7	3.5
	35.0	105.8	1.2	101.8	2.7
妥布特罗	1	99.0	11.0	99.0	11.0
	6.0	99.4	4.4	99.4	4.4
	30.0	105.0	4.8	104.6	4.8
溴布特罗	0.9	92.2	12.6	93.8	13.2
	5.4	101.4	3.9	100.0	4.4
	27.0	98.5	1.0	99.7	1.9
沙丁胺醇	1.1	96.8	10.4	95.8	9.8
	6.4	112.8	4.0	104.2	6.3
	32.0	97.8	4.2	101.4	5.2

3 结论

建立了同位素稀释-气相色谱-串联质谱法,检测猪肉中克伦特罗、溴布特罗、妥布特罗、沙丁胺醇的残留量。通过对样品的前处理条件和质谱条件进行优化,4种 β -受体激动剂可得

到有效分离,最低检出限可达0.13 $\mu\text{g/kg}$ 。该检测方法在回收率、精密度等方面均可满足我国相关部门对兽药残留的检测限量要求,同时也可为其他 β -受体激动剂类药物的检测提供技术支持。

参考文献:

- [1] POLETTINI A. Bioanalysis of β_2 -agonists by hyphenated chromatographic and mass spectrometric techniques[J]. *Journal of Chromatography B Biomedical Sciences & Applications*, 1996, 687(1): 27-42.
- [2] FRAGKAKI A G, GEORGAKOPOULOS C, STERK S, et al. Sports doping: emerging designer and therapeutic β_2 -agonists[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2013, 425(Complete): 242-258.
- [3] 聂建荣,朱铭立,连槿,等. 高效液相色谱-串联质谱法检测动物尿液中的15种 β 受体激动剂[J]. *色谱*, 2010, 28(8): 759-764.
- NIE Jianrong, ZHU Mingli, LIAN Jin, et al. Determination of fifteen β -agonists in animal urine by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2010, 28(8): 759-764 (in Chinese).
- [4] 白凌,陈大舟,李蕾. 液相色谱-质谱法检测肝脏中5种 β 受体激动剂[J]. *质谱学报*, 2008, 29(1): 11-17.
- BAI Ling, CHEN Dazhou, LI Lei. Detection of five β -agonists in liver by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2008, 29(1): 11-17 (in Chinese).
- [5] LI C, WU Y L, YANG T, et al. Simultaneous determination of clenbuterol, salbutamol and racotopamine in milk by reversed-phase liquid chromatography tandem mass spectrometry with isotope dilution[J]. 2010, 1 217(50) : 7 873-7 877.
- [6] 罗宿星,黄丽娟,伍远辉. 肉制品中瘦肉精的检测方法[J]. *遵义师范学院学报*, 2014, 16(6): 74-77.
- LUO Suxing, HUANG Lijuan, WU Yuanhui. Detection method of clenbuterol in meat products [J]. *Journal of Zunyi Normal College*, 2014, 16(6): 74-77 (in Chinese).
- [7] 李媛,邓安平. 免疫亲和柱分离技术-高效液相色谱法测定牛奶、猪肉及猪肝中的盐酸克伦特罗[J]. *分析化学*, 2009, 37(增刊1): 254.
- LI Yuan, DENG Anping. Determination of clenbuterol hydrochloride in milk, pork and liver by high performance liquid chromatography with immunoaffinity column separation technique[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2009, 37(Suppl1): 254 (in Chinese).
- [8] 朱坚,李波,方晓明,等. 气相色谱-质谱法测定肝、肾和肉中11种 β 受体激动剂残留量[J]. *质谱学报*, 2005, 26(3): 130-137.
- ZHU Jian, LI Bo, FANG Xiaoming, et al. Analysis of 11 β -agonist residues in liver, kidney and meat by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2005, 26(3): 130-137 (in Chinese).
- [9] LIU W, ZHANG L, WEI Z, et al. Analysis of β -agonists and β -blockers in urine using hollow fibre-protected liquid-phase microextraction with in situ derivatization followed by gas chromatography/mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1 216(28) : 5 340-5 346.
- [10] 王培龙,范理,叶志华,等. 分子印迹固相萃取-气相色谱-质谱法测定猪尿中4种 β 受体激动剂[J]. *分析化学*, 2012, 40(3): 470-473.
- WANG Peilong, FAN Li, YE Zhihua, et al. Determination of 4 β -agonists in pig urine by gas chromatography-mass spectrometry with molecular imprinting and solid phase extraction[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2012, 40(3): 470-473 (in Chinese).
- [11] GONZÁLEZ-ANTUÑA A, RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ P, LAVANDERA I, et al. Development of a routine method for the simultaneous confirmation and determination of clenbuterol in urine by minimal labeling isotope pattern deconvolution and GC-EI-MS[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 402(5): 1 879-1 888.
- [12] GONZÁLEZ-ANTUÑA A, RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ P, CENTINEO G, et al. Simultaneous determination of seven β_2 -agonists in human and bovine urine by isotope dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry using compound-specific minimally ^{13}C -labelled analogues[J]. *Journal of Chromatography A*, 2014, 1 372: 63-71.
- [13] FAN S, HONG M, ZHAO Y, et al. Simultaneous detection of residues of 25 β_2 -agonists and 23 β -blockers in animal foods by high-performance liquid chromatography coupled with linear ion trap mass spectrometry[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2013, 60(8): 1 898-1 905.
- [14] BING S, JIA X, JING Z, et al. Multi-residual

- analysis of 16 β -agonists in pig liver, kidney and muscle by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2009, 114(3): 1 115-1 121.
- [15] 金玉娥,郭德华,郑焯,等. 液质联用仪测定动物源性食品中 11 种 β_2 -受体激动剂的研究[J]. 质谱学报, 2007, 28(4): 194-201.
JIN Yu'e, GUO Dehua, ZHENG Ye, et al. Determination of 11 β_2 -agonists in foodstuff of animal origin by liquid chromatograph with tandem mass spectrometric detection[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2007, 28(4): 194-201(in Chinese).
- [16] 王盛君,雷雯,杜晓宁,等. 同位素稀释-气相色谱-三重四极杆串联质谱法测定白酒中的塑化剂含量[J]. 化学试剂, 2015, 37(5): 443-446, 480.
WANG Shengjun, LEI Wen, DU Xiaoning, et al. Determination of phthalate ester residues in liquor by gas chromatography-tandem triple quadruple mass spectrometry (GC-MS/MS) with isotopic internal standards[J]. Chemical Reagents, 2015, 37(5): 443-446, 480(in Chinese).
- [17] 徐锐锋,方向,徐蓓,等. 同位素稀释质谱法在痕量有机物测量国际比对中的应用[J]. 质谱学报, 2000, 21(3/4): 167-168.
XU Ruifeng, FANG Xiang, XU Bei, et al. Application of isotope dilution mass spectrometry in international comparison of trace organic compounds[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2000, 21(3/4): 167-168(in Chinese).
- [18] 孙雪晴,胡高飞,宋德伟,等. 高效液相色谱-同位素稀释-串联质谱法测定人源瘦素的含量[J]. 质谱学报, 2015, 36(1): 17-22.
SUN Xueqing, HU Gaofei, SONG Weide, et al. Quantification of human leptin by HPLC-ID MS [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2015, 36(1): 17-22(in Chinese).
- [19] 吴平谷,陈慧华,王强,等. 气相色谱-质谱法测定猪肉中残留的 10 种 β_2 -兴奋剂[J]. 色谱, 2008, 26(1): 39-42.
WU Pinggu, CHEN Huihua, WANG Qiang, et al. Multi-residue analysis of 10 β_2 -agonists in animal tissues using gas chromatography-mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2008, 26(1): 39-42(in Chinese).
- [20] 吴平谷,虞晓珍. 气相色谱-质谱法同时测定动物尿样中的 4 种 β_2 -兴奋剂[J]. 色谱, 2005, 24(6): 684.
WU Pinggu, YU Xiaozhen. Simultaneous determination of 4 β_2 -agonists in animal urine by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2005, 24(6): 684 (in Chinese).