

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

金玉娥¹, 郭德华², 郑 焱³, 汪国权¹

(1. 上海市疾病预防控制中心, 上海 200335; 2. 上海出入境检验检疫局, 上海 200135; 3. 上海大学, 上海 200444)

摘要:建立了同时检测 11 种 β_2 -受体激动剂物质(包括沙丁胺醇、特布它林、塞曼特罗、塞布特罗、莱克多巴胺、克仑特罗、溴布特罗、苯氧丙酚胺、马布特罗、马贲特罗、溴代克仑特罗)在猪肉及猪肝脏中残留量的液相色谱-串联质谱(HPLC/MS-MS)方法。将样品粉碎后,用 pH 5.2 的乙酸钠缓冲液提取,经 β -盐酸葡萄糖苷酶-芳基硫酸酯酶水解,以高氯酸调节 pH 值,离心沉淀蛋白,分离得上清液用 V(异丙醇):V(乙酸乙酯)=6:4 的溶液萃取,再过阳离子交换柱净化,吹干后用高效液相色谱-串联质谱法测定,同时使用同位素内标(clenbuterol-D9、salbutamol-D3)进行定量分析。目标化合物的回收率在 89.4%~110.5%,RSD 为 1.1%~2.8%,方法的最低检出限为 0.25 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,能满足食品安全法规的需要。

关键词: β_2 -受体激动剂;残留量;液相色谱-串联质谱

中图分类号:O657.63 文献标识码:A 文章编号:1004-2997(2007)04-193-09

Determination of 11 β_2 -agonists in Foodstuff of Animal Origin by Liquid Chromatograph with Tandem Mass Spectrometric Detection

JIN Yu-e¹, GUO De-hua², ZHENG Ye³, WANG Guo-quan¹

(1. Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200335, China;

2. Shanghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shanghai 200135, China;

3. Shanghai University, Shanghai 200444, China)

Abstract: The method for determination of β_2 -agonists (salbutamol, terbutaline, cimaterol, cimbuterol, ractompamine, clenbuterol, bromobuterol, isoxsuprine, mabuterol, mapenterol, bromclenbuterol) residues in liver and meat of pig was developed by HPLC/MS-MS. The sample was extracted in acetate buffer (pH 5.2), hydrolyzed by β -glucuronidase-aryl sulfatase. The protein was precipitated with perchloric acid. The extraction passed through a cation exchange column (MCX 3 mL, 60 mg), Clenbuterol-D9 & Salbutamol-D3 were used as an internal standard, then eleven β_2 -agonists can be determined at one time by HPLC/MS-MS. The experimental results from spiked liver sample indicate that the recoveries range from 89.4%-110.5% and the RSD is 1.1%-2.8%. The limits of detection (LODs) is 0.25 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. The method is suitable for food safety.

Key words: β_2 -agonists; residues; HPLC/MS-MS

β_2 -受体激动剂(β_2 -agonists)作为一类临床使用的平喘性药物,在医学或兽医学临床上主要用于扩张支气管和增加肺通气量,可治疗支气管哮喘、阻塞性肺炎、平滑肌痉挛和休克等病症^[1]。 β_2 -受体激动剂在生物体内具有“再分配效应”,可使营养组分由脂肪组织向肌肉组织转移,能直接导致体内的脂肪分解代谢增强、蛋白质合成增加、明显提高酮体瘦肉率、提高饲料转化率,即使得用药个体增重,因而常被一些动物饲养者使用^[2]。由于 β_2 -受体激动剂在动物体内有较长的残留时间和短期内的较大残留量,可致食用者发生肌肉震颤、行走不稳、心律失常、恶心、晕眩等中毒症状,尤其对特殊人群,如孕妇、老人、体质虚弱者等,影响更加严重,因此各国在动物饲养过

程中都严禁使用 β_2 -受体激动剂。
 β_2 -受体激动剂具有苯乙醇胺结构母核,为苯乙醇胺类(phenylethanolamines)物质。按照苯环上取代基的不同,可分为苯胺型(aniline-type)和苯酚型(phenol-type),而苯酚型 β_2 -受体激动剂又分为邻苯二酚型、间苯二酚型及水杨醇型,结构如下图所示。 β_2 -受体激动剂的母核结构及其主要的化合物列于表 1。

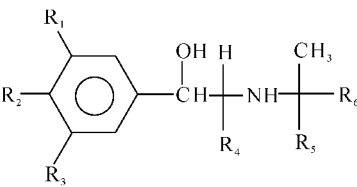


表 1 β_2 -受体激动剂的母核结构及其主要的化合物
Table 1 Chemical structures of β_2 -agonists

名称 Name		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
苯 酚 型	沙丁胺醇	CH ₂ OH	OH	H	H	CH ₃	CH ₃
	特布它林	OH	H	OH	H	CH ₃	CH ₃
	莱克多巴胺	H	OH	H	H	H	CH ₂ -CH ₂ -p-OH
	苯氧丙酚胺	H	OH	H	CH ₃	H	CH ₂ -O-p
	奥西那林	OH	H	OH	H	H	CH ₃
	异丙肾上腺素	H	OH	OH	H	H	CH ₃
	甲磺酸盐异他林	H	OH	OH	CH ₂ -CH ₃	H	CH ₃
苯 胺 型	塞布特罗	CN	NH ₂	H	H	CH ₃	CH ₃
	塞曼特罗	CN	NH ₂	H	H	H	CH ₃
	克仑特罗	Cl	NH ₂	Cl	H	CH ₃	CH ₃
	溴代克仑特罗	Cl	NH ₂	Br	H	CH ₃	CH ₃
	溴布特罗	Br	NH ₂	Br	H	CH ₃	CH ₃
	马布特罗	Cl	NH ₂	CF ₃	H	CH ₃	CH ₃
	马贲特罗	Cl	NH ₂	CF ₃	H	CH ₃	CH ₂ -CH ₃

动物源性食品中残留 β_2 -受体激动剂的测定方法有气相色谱-质谱联用法(GC/MS)^[3-5],反相高效液相色谱法(HPLC)^[6],免疫亲和色谱法(ELISA)^[7],液相色谱-质谱联用法(HPLC/MS)^[8-10],放射免疫测试^[11]等。但是由于 β_2 -受体激动剂的种类繁多、性质差异较大,因此原有的测定方法常会有灵敏度较低、检测化合物种类少、操作需衍生等问题,而难以满足对多种 β_2 -受体激动剂的同时检测要求。本工作采用高效液

相色谱-串联质谱法^[12-13],对动物源性食品中 11 种 β_2 -受体激动剂的残留量进行研究。

1 仪器与试剂

1.1 主要仪器与装置

高效液相色谱-串联四极杆质谱联用仪(Waters 2695/Quattro Premier);均质器(IKA);旋涡混匀器(IKA);离心机(RJ-TDL-5A 型及 Anke TGL-16C 型);水浴氮气吹干仪(Zy-

mark);固相萃取装置(Supelco);pH计(REX PHS-3C型)。

1.2 主要材料与试剂

水解酶(β -glucuronidase/aryl sulfatase):美国Sigma公司产品;沙丁胺醇(salbutamol),特布它林(terbutaline),塞曼特罗(cimaterol),塞布特罗(cimbuterol),莱克多巴胺(ractompamine),克仑特罗(clenbuterol),溴布特罗(bromobuterol),苯氧丙酚胺(isoxsuprine),马布特罗(mabuterol),马贲特罗(mapenterol),溴代克仑特罗(bromclenbuterol);意大利拉齐奥和托斯卡纳大区动物预防试验研究所提供;Oasis MCX固相萃取柱(60 mg, 3 mL);美国Waters公司产品;乙酸钠、氯化钠、甲酸、高氯酸、氨水、异丙醇、乙酸乙酯、甲醇均为分析纯;同位素内标物:clenbuterol-D9, salbutamol-D3, 纯度大于98%(Dr. Ehrenstorfer);去离子水由Millipore纯水机制得。

1.3 标准溶液

1.3.1 β_2 -受体激动剂标准溶液 分别准确吸取1.00 mL沙丁胺醇、特布它林、塞曼特罗、塞布特罗、莱克多巴胺、克仑特罗、溴布特罗、苯氧丙酚胺、马布特罗、马贲特罗、溴代克仑特罗的标准储备溶液($100\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)至100 mL容量瓶中,用甲醇稀释至刻度, $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 避光保存。

1.3.2 同位素内标标准溶液 准确称取适量的clenbuterol-D9, salbutamol-D3, 用甲醇配制成 $100\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准储备液。将上述同位素内标储备溶液用甲醇稀释成浓度为 $10\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的同位素内标工作溶液。

1.3.3 标准曲线的制备 用50%的甲醇水溶液将混合标准储备溶液($100\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)分别稀释成 $100\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $10\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 将内标标准储备溶液($100\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)稀释成 $100\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。吸取一定量上述浓度的混合标准溶液和同位素内标溶液,用水稀释成浓度为1.0、2.5、5.0、10、20 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准工作曲线,每毫升该标准工作曲线溶液含有克仑特罗-D9和沙丁胺醇-D3同位素内标各5.0 ng。

1.4 样品处理

1.4.1 酶解 取2 g粉碎好的样品,加入8 mL

$0.2\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pH 5.2的乙酸钠缓冲液,充分混匀后,加入50 μL β -盐酸葡萄糖醛苷酶-芳基硫酸酯酶混匀,于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中水解过夜。

1.4.2 提取 将水解液振荡15 min,在 $5\text{ }000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下离心分离10 min后,取4 mL上清液,加入100 μL $10\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的内标溶液(clenbuterol-D9, salbutamol-D3),混匀,再加入5 mL $0.1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 高氯酸混合均匀,并调节溶液pH值至 1 ± 0.3 。在 $5\text{ }000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下离心分离10 min后,移取上清液,用 $10\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液调节pH值至11。加入10 mL饱和氯化钠溶液和10 mL异丙醇-乙酸乙酯(6:4)混合溶液,离心分离后取有机相,在 $40\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴下用氮气将其吹干。

1.4.3 净化 提取的残渣中加入5 mL $0.2\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸钠缓冲液(pH 5.2),超声混匀溶解残渣。将经甲醇活化、去离子水洗涤的MCX固相萃取柱(3 mL, 60 mg)小柱连接到固相萃取装置上,将样品溶液全部移入萃取柱。依次用2 mL水和2 mL 2%甲酸水溶液洗涤柱子并彻底抽干,最后用2 mL 5%氨水甲醇溶液洗脱,洗脱液在 $40\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中用氮气吹干溶剂后,加入200 μL 含0.1%甲酸的 $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=5:95$,超声混匀,以 $15\text{ }000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min,待测。

1.5 实验条件

1.5.1 色谱条件 色谱分析柱:ATLANTICS C_{18} ($2.1 \times 150\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$, Waters);预柱:ATLANTICS C_{18} ($2.1 \times 10\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$, Waters);柱温: $35\text{ }^\circ\text{C}$;流动相A:0.1%甲酸和水溶液,流动相B:0.1%甲酸和乙腈溶液;梯度洗脱: $t=0\text{ min}$, 4%B; $t=2\text{ min}$, 4%B; $t=8\text{ min}$, 23%B; $t=21\text{ min}$, 23%B; $t=22\text{ min}$, 95%B; $t=25\text{ min}$, 95%B; $t=25.5\text{ min}$, 4%B;流速: $0.2\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;进样体积:20 μL ;

1.5.2 质谱条件 电喷雾ESI正电子电离模式;毛细管电压:3.44 kV;锥孔电压:25 V;RF透镜:0.2 V;离子源温度: $100\text{ }^\circ\text{C}$;脱溶剂气温度: $350\text{ }^\circ\text{C}$;锥孔吹气流量: $20\text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$;脱溶剂气流量: $600\text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$; β_2 -受体激动剂的检测条件列于表2。

表 2 β_2 -受体激动剂的检测条件
Table 2 Detection conditions of β_2 -agonists

编号	名称	t_R/min	定量离子	定性验证离子	碰撞能量/eV
1	沙丁胺醇	6.16	240/148	240/222	18
2	特布它林	6.24	226/152	226/125	18
3	塞曼特罗	7.01	202/160	202/1 143	18
4	塞布特罗	11.07	234/160	234/143	18
5	莱克多巴胺	14.65	302/164	302/284	18
6	克伦特罗	15.66	277/203	277/259	18
7	溴代克伦特罗	16.52	323/249	323/168	18
8	溴布特罗	17.47	367/293	367/349	18
9	苯氧丙酚胺	18.72	302/150	302/284	22
10	马布特罗	18.77	311/237	311/293	18
11	马贲特罗	23.11	325/237	325/217	18
12	沙丁胺醇-D3(内标)	6.10	243/151	243/151	18
13	克伦特罗-D9(内标)	15.60	286/204	286/204	18

1.6 结果计算

1.6.1 定性结果 在采用本方法进行样品处理和检测过程中,除与标准品具有相同的保留时间外,测定得到的定性离子与定量离子的强度比值关系应在标准品相同离子间丰度比值的 25% 之内。

1.6.2 定量计算 按照式(1)计算样品中各 β_2 -受体激动剂的残留量。沙丁胺醇、特布它林、莱克多巴胺计算时使用 salbutamol-D3 为内标物;塞曼特罗、塞布特罗、克伦特罗、溴布特罗、苯氧丙酚胺、马布特罗、马贲特罗、溴代克伦特罗计算时则使用 clenbuterol-D9 为内标物。

$$X=\frac{C\times C_2\times A_0\times A_1\times V}{C_1\times A_2\times A\times W}$$

(1)

式中: X ——样品中待测组分残留量, $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; C ——标准工作溶液中 β_2 -受体激动剂的浓度, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; C_1 ——标准工作溶液中内标物质的浓度, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; C_2 ——样品溶液中内标物质的浓度, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; A ——标准工作溶液中各 β_2 -受体激动剂的峰面积; A_0 ——样品溶液中测得的各 β_2 -受体激动剂的峰面积; A_1 ——标准工作溶液中内标物质的峰面积; A_2 ——样品溶液中内标物质的峰面积; V ——样品最终定容体积, mL; W ——样品的称样量, g。

2 结果与讨论

2.1 质谱和色谱行为

为了提高分析的灵敏度和专一性,选用多反应监测模式(MRM)进行检测,根据目前食品检测法规的要求,同时检测两对传输离子通道,进行定性和定量分析。

在选定的仪器条件下,混合标准溶液色谱图示于图 1、图 2。各目标化合物的色谱保留时间分别列于表 2,由表 2 可以看出,色谱分离行为良好。

2.2 线性范围

在空白溶剂中添加不同量的混合标准溶液进行测定。其中沙丁胺醇、特布它林、莱克多巴胺使用 salbutamol-D3 为内标物;塞曼特罗、塞布特罗、克伦特罗、溴布特罗、苯氧丙酚胺、马布特罗、马贲特罗、溴代克伦特罗使用 clenbuterol-D9 为内标物。以样品的浓度($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)为横坐标,以目标化合物与内标物的峰面积比值为纵坐标,进行线性回归方程计算。结果表明,所有化合物在 $1.0\sim20\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围内线性关系良好,相关系数 $r>0.998$,回归方程和线性关系列于表 3。

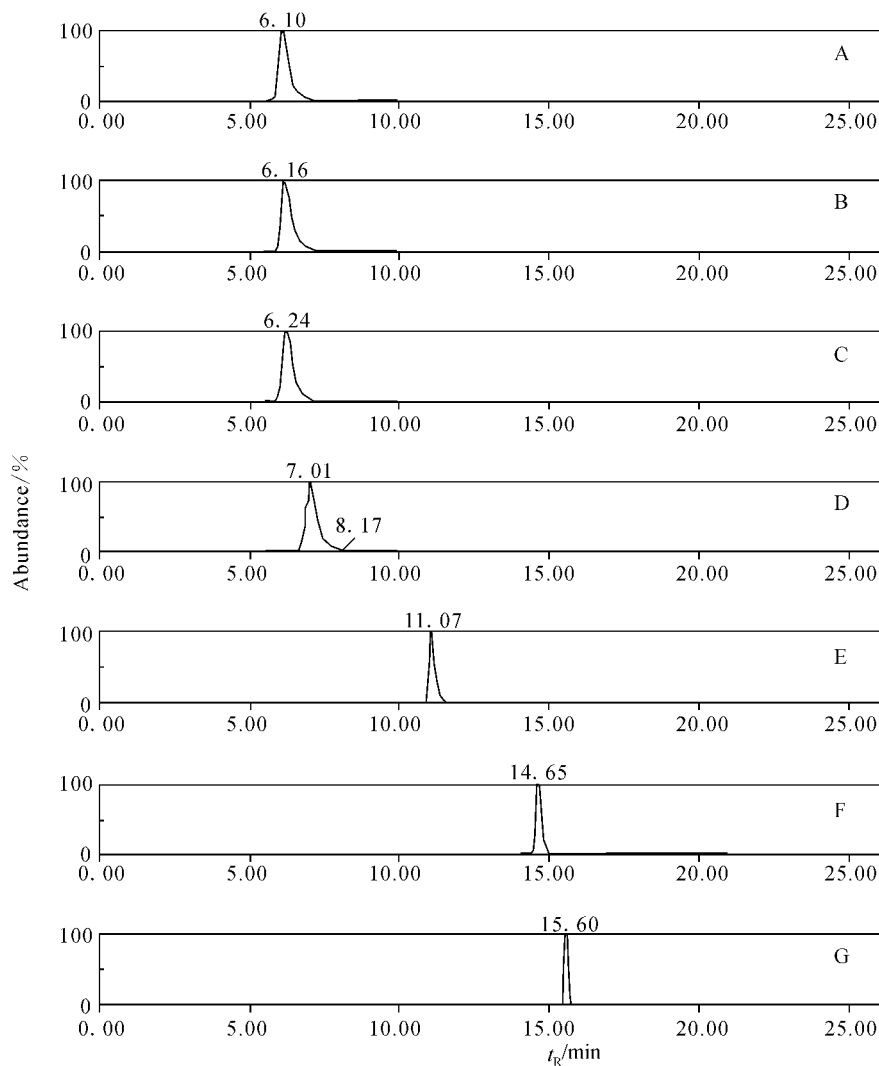


图 1 多反应监测模式下 7 种 β_2 -受体激动剂色谱图
(A) 沙丁胺醇-D3;(B) 沙丁胺醇;(C)特布它林;(D)塞曼特罗;(E)塞布特罗;(F)莱克多巴胺;(G)克仑特罗-D9

Fig. 1 Chromatograms of 7 kinds of β_2 -agonists by multiple reaction monitoring (MRM) scan mode

(A) salbutamol-D3; (B) salbutamol; (C) terbutaline; (D) cimaterol;
(E) cimbuterol; (F) ractompamine; (G) clenbuterol-D9

表 3 β_2 -受体激动剂的线性回归方程
Table 3 The calibration curves of β_2 -agonists

名称	定量离子 Target ion m/z	线性方程	相关系数
特布它林	226/152	$Y = 0.071\ 5X - 0.004\ 7$	0.999 2
沙丁胺醇	240/148	$Y = 0.088\ 7X + 0.004$	0.999 1
塞曼特罗	202/160	$Y = 0.042\ 9X - 0.003\ 1$	0.999 7
塞布特罗	234/160	$Y = 0.144\ 2X - 0.026\ 6$	0.999 7
莱克多巴胺	302/164	$Y = 0.314\ 9X - 0.037\ 7$	0.999 6
克仑特罗	277/203	$Y = 0.104\ 4X - 0.037$	0.997 6
溴代克仑特罗	323/249	$Y = 0.098\ 8X - 0.029\ 2$	0.995 8
溴布特罗	367/293	$Y = 0.102\ 5X - 0.023\ 2$	0.998 0
苯氧丙酚胺	302/150	$Y = 0.071\ 3X - 0.009\ 2$	0.999 9
马布特罗	311/237	$Y = 0.069\ 1X - 0.024\ 8$	0.999 6
马赉特罗	325/237	$Y = 0.198\ 3X - 0.042$	0.999 6

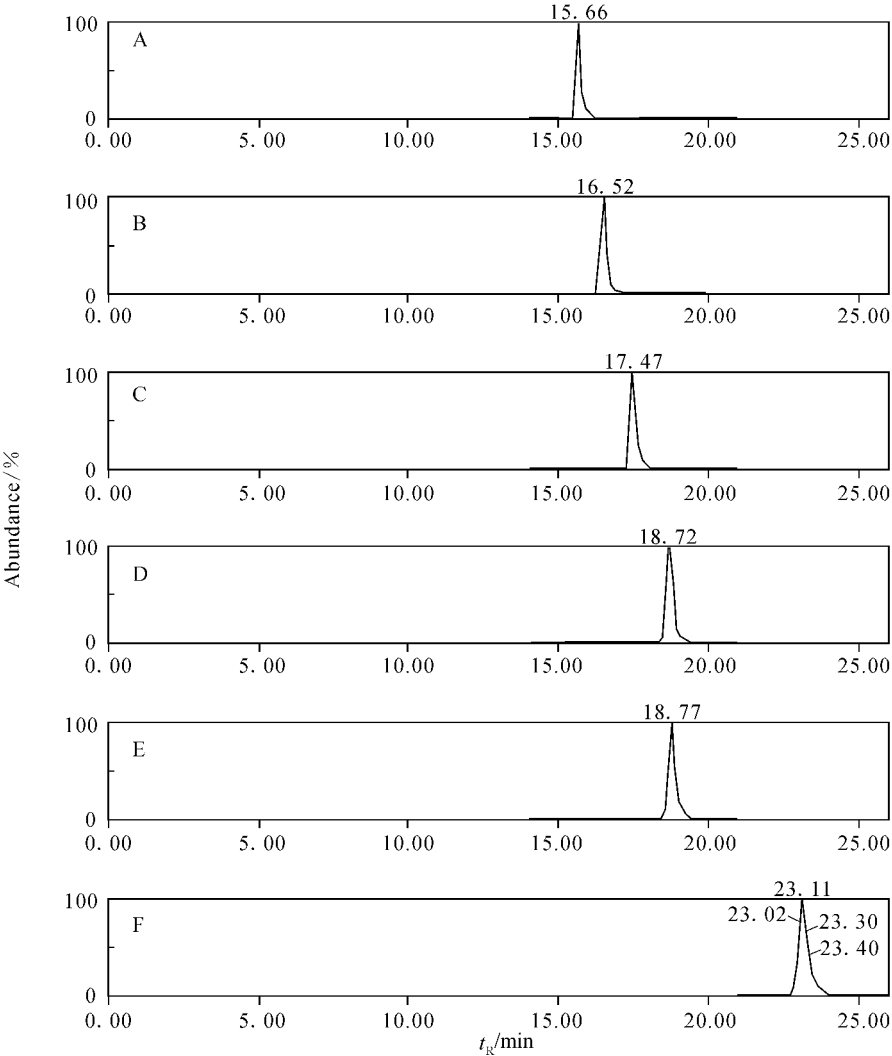


图 2 多反应监测模式下 6 种 β_2 -受体激动剂色谱图

(A) 克仑特罗; (B) 溴代克仑特罗; (C) 溴布特罗; (D) 苯氧丙酚胺; (E) 马布特罗; (F) 马赞特罗

Fig. 2 Chromatograms of 6 kinds of β_2 -agonists by multiple reaction monitoring (MRM) scan mode

(A) clenbuterol; (B) bromclenbuterol; (C) bromobuterol; (D) isoxsuprine; (E) mabuterol; (F) mapenterol

2.3 最低检测浓度(LOQ)

采用在空白样品中添加目标化合物的方法,按样品处理方法进行处理和检测,得到本方法样品中最低检出浓度为 $0.25\ \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,当计算结果小于本标准检出限时,则视为未检出。

2.4 方法回收率和精密度

在空白猪肝基质中分别添加混合标准,使样品中各 β_2 -受体激动剂浓度分别为 0.5、1.0 和 $2.0\ \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,按样品处理方法进行处理和检测。进行方法回收率实验,得到 11 种目标化合物的回收率在 89.4%~110.5%,RSD 为 1.1%~2.8%。

2.5 β_2 -受体激动剂的质谱裂解方式

β_2 -受体激动剂的质谱裂解规律基本相同,苯酚型或苯胺型的 β_2 -受体激动剂在碰撞电压作用下都是先脱去一分子水,然后再裂解成胺类物质,示于图 3。

2.6 水解的选择

在动物源性食品中,各类药物在生物体内一部分以代谢物的形式排出体外,还有一部分通过与蛋白质结合,以轭合物或组织成分形式长期存在。有研究表明,苯酚型的 β_2 -受体激动剂,如沙丁胺醇,有 40%~45% 以结合物的形式存在于动物源性食品中,但其他的则无相关数据报道。

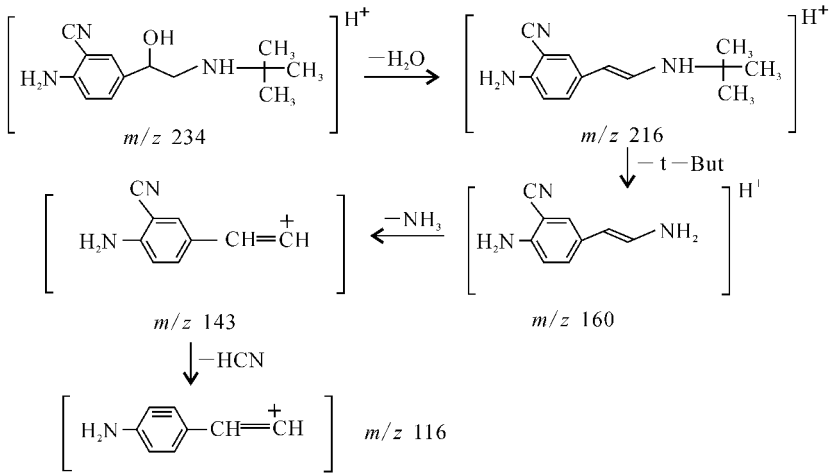


图 3 塞布特罗的裂解途径

Fig. 3 Fragmentation pathway of cimbuterol

为了消除轭合物对检测的影响,有必要进行水解处理,常用的水解方法有酶解法和酸解法。 β_2 -受体激动剂常用酶解法进行水解,常用的水解生物酶包括枯草杆菌蛋白酶(枯草杆菌溶素)、葡萄糖苷酸酶、硫酸酯蛋白酶和芳基硫酸酯酶等。其中葡萄糖苷酸酶、芳基硫酸酯酶和它们的混合酶系是用于水解轭合物最多的酶。本实验使用 β -盐酸葡萄糖醛苷酶-芳基硫酸酯酶作为水解酶系,pH 5.2 条件下在 37 ℃ 水浴中过夜,从而实现样品的水解过程。

2.7 净化方法的选择

2.7.1 液-液萃取法 β_2 -受体激动剂作为含氮的生物碱类化合物,具有弱碱性,在强酸性溶液中呈现离子状态。当溶液 pH 高于 pK_a 时呈现中性分子状态,易用具有一定极性的疏水溶剂(如氯仿、二氯甲烷、乙醚、乙酸乙酯或异丁醇等)进行直接萃取净化,可消除样品中其他杂质对测定的影响。但由于莱克多巴胺的 pK_a 较大,在溶液 pH 9 以上才能成为游离状态^[14],因此萃取溶液的 pH 必须在 9 以上。苯酚型 β_2 -受体激动剂的结构中有一 $-CH_2OH$ 基团,需要在提取有机溶液中添加适量的高极性溶剂(如异丙醇等)来针对性地提高苯酚型 β_2 -受体激动剂的回收率。

用乙酸乙酯及异丙醇-乙酸乙酯(6 : 4)两种溶剂在 pH 9.5 及 pH 11 的条件下进行提取效率比较,结果列于表 4。在 pH 11 的条件下用异丙醇-乙酸乙酯(6 : 4)的混合溶液萃取,各类 β_2 -受体激动剂可得到较高的回收率。

表 4 不同提取溶剂在不同 pH 条件下的 β_2 -受体激动剂的提取效率

Table 4 Efficiency of β_2 -agonists extraction in different pH by different solutions

	乙酸乙酯/% 异丙醇-乙酸乙酯(6:4)/%			
	pH 9.5	pH 11	pH 9.5	pH 11
沙丁胺醇	16.6	10.0	61.1	48.7
特布它林	22.1	8.2	16.5	41.5
塞曼特罗	67.0	70.9	31.9	72.8
塞布特罗	62.6	68.8	42.6	70.0
溴代克仑特罗	70.8	66.8	49.3	72.5
溴布特罗	78.9	71.1	50.1	76.6
马布特罗	69.6	68.4	62.1	76.6
莱克多巴胺	61.3	52.0	53.5	63.3
苯氧丙酚胺	71.2	64.9	92.1	71.0
克仑特罗	70.7	64.9	46.9	72.1
马贵特罗	72.3	61.0	59.9	73.3

2.7.2 固相萃取的选择 β_2 -受体激动剂因含有仲胺的生物碱,而具有一定的弱碱性,利用其在弱酸环境中离子化性能和碱性条件下的分子化性能,可采用强阳离子交换树脂或疏水吸附树脂,在不同的溶液环境中进一步的净化处理。用固相萃取柱进行净化,可以采用多种方式,如反相 C_{18} 柱、强阳离子交换柱(SCX)、串联萃取柱和混合萃取柱等。本研究中采用混合型固定相 Oasis MCX 柱,充分利用 β_2 -受体激动剂的特殊化学性能,达到理想的净化效果。

萃取溶液的种类、pH 值等因素对固相萃取有显著的影响。本研究分别使用了 $0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸钠溶液(pH 5.2)和 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸氢二钾溶液(pH 5.2),对 $1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 标准样品溶液进行回收率实验,结果表明,乙酸钠溶液 pH 5.2 时的回收率明显高于磷酸氢二钾溶液,其结果列于表 5。

表 5 优化萃取液实验的回收率
Table 5 Recoveries for the experiment
of selecting the extraction solution

	乙酸钠(pH 5.2)/%		磷酸氢二钾(pH 5.2)/%	
	平行 1	平行 2	平行 1	平行 2
沙丁胺醇	95.4	86.8	57.5	62.9
特布它林	89.5	82.2	56.9	61.3
塞曼特罗	97.9	86.6	53.8	61.3
塞布特罗	99.3	88.7	41.9	48.2
溴代克仑特罗	95.9	89.2	56.8	62.2
溴布特罗	89.9	82.2	52.7	61.7
马布特罗	100.8	86.6	62.2	69.9
莱克多巴胺	86.4	83.1	48.5	56.5
苯氧丙酚胺	91.9	87.6	52.4	58.5
克仑特罗	94.5	91.2	58.6	67.6
马贵特罗	90.7	83.0	61.2	68.1

在样品前处理过程中,分别将酶解溶液用直接固相萃取法、沉淀蛋白结合固相萃取法、沉淀蛋白结合液液萃取和固相萃取法进行处理。比较后发现,最后一种方法所获得的样品溶液,无论是颜色,还是分析中的杂质含量都明显优于前两者。

2.8 儿茶酚型 β_2 -受体激动剂结构的特殊性质
儿茶酚型 β_2 -受体激动剂包括有异丙肾上腺素、甲磺酸异他林等,均具有很强的还原性,遇到空气或日光极易自动氧化成醌类物质。在酸性介质中,酚羟基与质子形成氢键,还原性会有所减弱;但在碱性介质中,酚羟基电离增强,苯环上电子云密度的增加会加快氧化,成为红色的醌式结构物质^[1]。

本方法在固相萃取的洗脱过程中使用到碱性溶液,会发生相应化合物的结构变化,因此本方法并不适宜于儿茶酚型 β_2 -受体激动剂的测定。

3 结 论

本研究通过酶解、酸沉淀、有机溶剂提取和固相萃取等方法进行处理,采用液相色谱-串联质谱法对 11 种主要的 β_2 -受体激动剂进行检测。所建立方法的最低检测浓度达到了 $0.25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,完全符合目前许多先进国家或地区的监控要求,为管理部门制定和执行动物源性食品安全法规和年度动物源性食品中有毒有害残留物质的监控计划提供了准确有效的科学依据。

参考文献:

[1] 李俊锁,邱月明,王 超. 兽药残留分析[M]. 上海:上海科技出版社,2002.

[2] COURTHEYN D, IE-BIZEC B, BRAMBILLA G, et al. Recent developments in the use and abuse of growth promoters[J]. Analytica Chimica Acta, 2002, 473(1): 71-82.

[3] 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): 129-137.

[4] DAMASCENO L, VENTURA R, ORTUNO J. Determination of clenbuterol in cattle, sheep, and swine tissues by electron ionization gas chromatography/mass spectrometry[J]. J Mass Spectrom, 2000, 35: 1 285-1 294.

[5] BATIJOENS P, COURTHEYN D, BRABANDER H F, et al. Gas chromatographic-tandem mass. spectrometric analysis of clenbuterol residues in faeces[J]. Journal of Chromatography A, 1996, 750(1/2): 133-139.

[6] LIN L A, TOMLINSON J A, SATZGER R D. Detection of clenbuterol in bovine retinal tissue by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection[J]. J Chromatogr A, 1997, 762(1/2): 275-280.

[7] HAASNOOT W, STOUTEN P, LOMMEN A. Determination of fenoterol and rectopamine in urine by enzyme immunoassay[J]. Analyst, 1994, 119(12): 2 675-2 680.

[8] 余建新,胡小钟. HPLC/ MS 测定动物组织及尿样中的 β_2 兴奋剂[J]. 分析测试技术与仪器, 2004, 10(4): 244-247.

[9] KOOTSTRA P R, KUIJPERS CJPF, WUBS K L, et al. The analysis of beta-agonists in bovine muscle using molecular imprinted polymers with ion trap LC-MS screening[J]. Anal Chimica Acta, 2005, 529(1/2): 75-81.

[10] WILLIAMS L D, CHURCHWELL M I, DOERGE D R. Multiresidue confirmation of β -ago-

- nists in bovine retina and liver using LC-ESI/MS/MS[J]. Journal of Chromatography, 2004, 813(1/2): 35-45.
- [11] COLLINS S, O'KEEFFE M, SMYTH M R. Multi-residue analysis for beta-agonists in urine and liver samples using mixed phase columns with determination by radioimmunoassay [J]. Analyst, 1994, 119(12): 2 671-2 674.
- [12] DOCRGC D R, CHURCHWELL M I, HOLDER C L, et al. Detection and confirmation of β -agonists in bevine retina using LC/APCI-MS[J]. Anal Chem 1996, 68(11): 1 918-1 923.
- [13] CHURCHWELL M I, HOLDER C L, LITTLE D, et al. Liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometric analysis of incurred ractopamine residues in livestock tissues [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2002, 16(13): 1 261-1 265.
- [14] 张苏华, 黄士新, 沈富林, 等. 饲料中莱克多巴胺的 LC-MS 法测定[J]. 分析测试学报, 2003, 22(增刊): 261-263.

中国科技核心期刊
CODEN: YACEEK

《岩矿测试》

ISSN 0254-5357
CN 11-2131/TD

欢迎订阅 欢迎投稿 承接广告

《岩矿测试》杂志是中国地质学会岩矿测试专业委员会和国家地质实验测试中心共同主办的分析测试技术科技期刊。国际标准刊号:ISSN 0254-5357;国际刊名代码 CODEN:YACEEK;国内统一刊号:CN 11-2131/TP。

《岩矿测试》的宗旨是突出服务于地球科学和地质找矿事业以及促进岩矿测试技术的发展;根据国家地质工作的重点由单一资源向资源环境并重的转变,《岩矿测试》的内容有所拓宽,主要报道国内与分析科学、资源环境、地球科学相关的新技术、新方法、新理论和新设备等研究成果、动态、评述及相关实践经验。

《岩矿测试》1982 年创刊,为国内外公开发行人刊物。近年来刊物地位不断提高,是中国科技核心期刊,中国期刊方阵双效期刊。目前被列为中国科技论文统计用期刊,美国《化学文摘》、美国《剑桥科学文摘》、英国《分析文摘》、俄罗斯《文摘杂志》等数据库收录期刊。曾先后被评为国家、原地矿部、北京市、中国科协的优秀科技刊物。适合于地质、冶金、环保、石油、化工、煤炭等部门从事分析测试的科技工作者及大专院校分析化学、环境资源、地球科学等相关专业的师生阅读。

《岩矿测试》为双月刊,大 16 开版本,80 页/期,逢双月出版;国内邮发代号 2-313;国际书店发行代号 BM4089;广告经营许可证:京西工商广字第 0227 号;定价 10.00 元/本,全年 60.00 元。漏订的读者可直接与编辑部联系。

《岩矿测试》编辑部地址:北京阜外百万庄大街 26 号 国家地质实验测试中心

邮政编码: 100037

电话：010-68999562；传真：010-68999563

E-mail: ykcs_zazhi@sina.com, ykcs_zazhi@163.com