

# 液相色谱串联质谱法测定动物源食品中的29种 $\beta$ -受体激动剂

## Determination 29 $\beta$ -Agonists in Animal Derived Food by LC-MSMS Method

郭琳琳, 刘冰洁, 李立军, 郭立海  
Guo Linlin, Liu Bingjie, Li Lijun, Guo Lihai

SCIEX 中国

**Keywords:** Animal derived food;  $\beta$ -Agonists

### 1. 前言

$\beta$ -受体激动剂属于苯乙醇胺类药物, 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, 使得用药个体增重。但是, 长期食用含有 $\beta$ -受体激动剂残留的食品, 将对人体健康产生极大的危害, 可致使用者发生肌肉震颤、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, 因此在各国在动物饲养过程中都严禁使用 $\beta$ -受体激动剂。

$\beta$ -受体激动剂具有苯乙醇胺结构母核, 按照苯环上取代基的不同, 可分为苯胺型和苯酚型, 而苯酚型 $\beta$ -受体激动剂有分为邻苯二酚型、间苯二酚型及水杨醇型, 基本结构如下图所示。

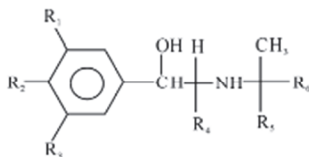


图1.  $\beta$ -受体激动剂基本结构图

动物源食品中残留 $\beta$ -受体激动剂的测定方法有气相色谱-质谱联用法, 高效液相色谱法, 免疫亲和色谱法, 液相色谱-质谱联用法, 放射免疫测试等。但是由于 $\beta$ -受体激动剂种类繁多, 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、操作繁琐等问题, 而难以满足对多种 $\beta$ -受体激动剂的同时检测要求。因此, 需要建立快速测定动物源食品中的多种 $\beta$ -受体激动剂的液相色谱串联质谱方法。

### 2. 本实验优势和特点

- 2.1 快速高通量, 采用ESI正模式扫描, 一针9分钟完成29种 $\beta$ -受体激动剂的准确定性和定量。
- 2.2 化合物多, 一针检测29种 $\beta$ -受体激动剂药物。
- 2.3 重现性好, 三个不同浓度下的多份添加质控样本的RSD在1.3-4.6%范围内。

### 3. 实验方法

#### 3.1. 样品前处理

准确称量2.0 g试样于50 mL离心管内, 加入0.2 mol/L乙酸铵溶液 (pH=5.2) 8 mL, 再加入 $\beta$ -盐酸葡萄糖醛苷酶-芳基硫酸酯酶40  $\mu$ L, 涡旋混匀, 于37  $^{\circ}$ C下避光水浴振荡16 h。

酶解后放置至室温, 涡旋混匀, 10000 r/min高速离心10 min, 倾出上清液于另一50 mL离心管内, 加入0.1 mol/L高氯酸溶液5 mL, 涡旋混匀, 用高氯酸调pH至 $1.0 \pm 0.2$ , 10000 r/min离心10 min后, 将上清液转移至另一50 mL离心管内。用10 mol/L NaOH溶液调pH至 $9.5 \pm 0.2$ , 加入乙酸乙酯15 mL, 涡旋混合, 并振荡10 min, 5000 r/min离心5 min, 取出上层有机相至另一50 mL离心管内。再在下层水相中加入叔丁基甲醚10 mL, 涡旋混匀, 并振荡10 min, 5000 r/min离心5 min, 合并有机相, 50  $^{\circ}$ C下氮气吹干, 用2%甲酸溶液5 mL溶解, 备用。

MCX固相萃取柱依次用甲醇、水、2% 甲酸溶液各3 mL活化，取备用液全部过柱，再依次用2%甲酸溶液、甲醇各3mL淋洗，抽干，用3% 氨水甲醇溶液2.5 mL洗脱；洗脱液再50℃下用氮气吹干。残余物用甲醇-0.1%甲酸溶液0.2 mL溶解，涡旋混匀，15000 r/min高速离心10 min，取上清液适量，供液相色谱-串联质谱仪测定<sup>[1]</sup>。

### 3.2. 液相方法

色谱柱：Phenomenex F5, 2.6 μm, 3.0mm × 100mm

流动相：A：水（1 mmol/L甲酸铵 + 0.01%甲酸）

B：乙腈

流速：0.6 mL/min

进样量：5 μL

梯度洗脱程序：如表1所示

表1. 液相梯度设置

Time/min	A/%	B/%
0.00	95	5
0.50	95	5
0.60	80	20
5.00	50	50
5.50	5	95
7.00	5	95
7.10	95	5
9.00	95	5

### 3.3. 质谱方法

扫描方式：MRM采集模式，正离子扫描

离子源：ESI源

离子源参数：

IS电压: 5500 V

源温度 TEM: 600℃

气帘气 CUR: 30 psi

碰撞气 CAD: Medium

雾化气 GS1: 55 psi

辅助气 GS2: 60 psi

离子对参数如表2所示

表2. 化合物离子对参数

中文名	英文名	Q1	Q3	时间 (msec)	ID	去簇电压	碰撞能量
氯丙那林	Clorprenaline	214.1	119	3	Clorprenaline	41	37
		214.1	154	3	Clorprenaline	41	23
西马特罗	Cimaterol	220.1	202	3	Cimaterol	26	13
		220.1	143	3	Cimaterol	31	31
特布他林	Terbutaline	226.1	152	3	Terbutaline	31	21
		226.1	107	3	Terbutaline	31	39
妥布特罗	Tulobuterol	228.1	154	3	Tulobuterol	51	23
		228.1	119	3	Tulobuterol	36	39
塞布特罗	Cimbuterol	234.1	160	3	Cimbuterol	26	19
		234.1	143	3	Cimbuterol	36	35
沙丁胺醇	Salbutamol	240.1	148	3	Salbutamol	41	25
		240.1	166	3	Salbutamol	31	19
齐帕特罗	Zilpaterol	262.1	244	3	Zilpaterol	51	17
		262.1	185	3	Zilpaterol	36	33
克仑丙罗	Clenproperol	263.1	245	3	Clenproperol	46	15
		263.1	203	3	Clenproperol	46	25

表2. 化合物离子对参数 (续)

中文名	英文名	Q1	Q3	时间 (msec)	ID	去簇电压	碰撞能量
克伦特罗	Clenbuterol	277.1	203	3	Clenbuterol	46	23
		277.1	132	3	Clenbuterol	51	37
利托君	Ritodrine	288.1	121	3	Ritodrine	46	29
		288.1	270	3	Ritodrine	46	17
喷布特罗	Penbutolol	292.1	236	3	Penbutolol	51	23
		292.1	133	3	Penbutolol	41	33
莱克多巴胺	Ractopamine	302.1	164	3	Ractopamine	61	21
		302.1	284	3	Ractopamine	66	27
马布特罗	Mabuterol	311.1	237	3	Mabuterol	51	23
		311.1	217	3	Mabuterol	61	35
克仑赛罗	clencyclohexerol	319.1	301	3	clencyclohexerol	46	17
		319.1	203	3	clencyclohexerol	61	27
马喷特罗	Mapenterol	325.1	237	3	Mapenterol	51	23
		325.1	217	3	Mapenterol	61	35
拉贝洛尔	Labetalol	329.1	311	3	Labetalol	56	19
		329.1	162	3	Labetalol	61	33
苯乙醇胺A	Phenylethanolamine A	345.1	327	3	Phenylethanolamine A	56	19
		345.1	150	3	Phenylethanolamine A	56	31
溴布特罗	Bromobuterol	367.1	293	3	Bromobuterol	66	25
		367.1	349	3	Bromobuterol	56	17
班布特罗	Bambuterol	368.1	294	3	Bambuterol	66	27
		368.1	312	3	Bambuterol	56	19
沙美特罗	Salmeterol	416.1	398	3	Salmeterol	56	21
		416.1	380	3	Salmeterol	61	25
3-甲氧酪胺	3-Methoxytyramine	168.2	91	3	3-Methoxytyramine	30	31
		168.2	119.1	3	3-Methoxytyramine	30	23
福莫特罗	Arformoterol	345.2	149	3	Arformoterol	40	25
		345.2	121.1	3	Arformoterol	40	37
非诺特罗	Fenoterol	304.2	107	3	Fenoterol	40	35
		304.2	135.1	3	Fenoterol	40	23
溴氯布特罗	Bromchlorbuterol	323.1	168	3	Bromchlorbuterol	30	36
		323.1	249.1	3	Bromchlorbuterol	30	21
克仑潘特	Clenpenterol	291.1	203.1	3	Clenpenterol	40	20
		291.1	168	3	Clenpenterol	40	40
多巴胺	Dopamine	154.1	119	3	Dopamine	40	23
		154.1	91	3	Dopamine	40	30
奥西那林	Metaproterenol	212.1	152.1	3	Metaproterenol	30	22
		212.1	125	3	Metaproterenol	30	30
异克仑潘特	Clenisopenteol	291	188	3	Clenisopenteol	50	28
		291	217	3	Clenisopenteol	50	23
丙卡特罗	Procateol	291	231	3	Procateol	50	27
		291	162.1	3	Procateol	50	34

## 4. 结果与讨论

4.1. 总离子流图如图2所示，29种β-受体激动剂均很好的分离，且保证了良好的峰形。

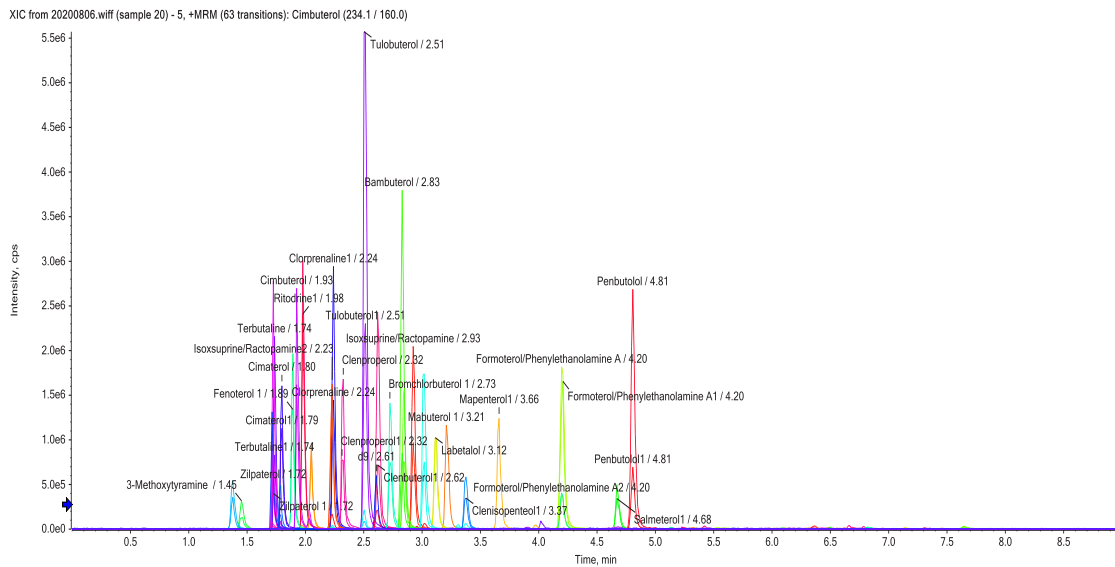


图2. 29种β-受体激动剂的总离子流图

## 4.2. 方法线性

该方法中，29种β-受体激动剂线性关系良好，相关系数R均大于0.995，保证了不同浓度样品的定量准确性。

- Calibration for Clorprenaline:  $y = 5.00222e5 x + 2870.63832$  ( $r = 0.99809$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Cimaterolol:  $y = 3.32376e5 x + 1009.62078$  ( $r = 0.99892$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Cimbuterol1:  $y = 5.10508e5 x + -3347.45848$  ( $r = 0.99795$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Salbutamol1:  $y = 2.66926e5 x + 11587.74961$  ( $r = 0.99507$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Zilpaterol:  $y = 1.62855e5 x + 11315.70677$  ( $r = 0.99705$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Clenproperol1:  $y = 3.16658e5 x + -411.60585$  ( $r = 0.99819$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Clenbuterol1:  $y = 3.33061e5 x + -1932.14666$  ( $r = 0.99842$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Penbutolol:  $y = 1.25563e6 x + -5.01917e4$  ( $r = 0.99964$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Isoxuprine/Ractopamine1:  $y = 3.61594e5 x + -80.39136$  ( $r = 0.99853$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Mabuterol 1:  $y = 5.17394e5 x + -17571.94294$  ( $r = 0.99952$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for clen cyclohexanol:  $y = 2.85004e5 x + 2230.22887$  ( $r = 0.99828$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Mapenterol1:  $y = 5.10279e5 x + -3498.46548$  ( $r = 0.99913$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Labetalol:  $y = 4.86887e5 x + 983.77600$  ( $r = 0.99964$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Formoterol/Phenylethanolamine A:  $y = 9.76556e5 x + -29376.79780$  ( $r = 0.99871$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Brombuterol1:  $y = 3.23447e5 x + 1994.05031$  ( $r = 0.99761$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Bambuterol1:  $y = 3.05965e5 x + -3624.64214$  ( $r = 0.99773$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Salmeterol:  $y = 2.65253e5 x + -18296.54862$  ( $r = 0.99871$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for 3-Methoxytyramine:  $y = 1.60813e5 x + 8907.95481$  ( $r = 0.99892$ ) (weighting:  $1/x$ )
- Calibration for Arformoterol 1:  $y = 2.33107e5 x + -12174.55393$  ( $r = 0.99968$ ) (weighting:  $1/x$ )

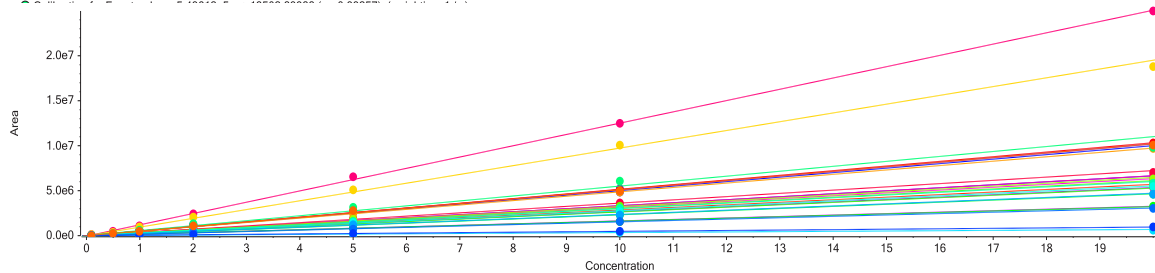


图3. 29种β-受体激动剂的线性图

## 4.2 实际样本前处理回收率和重复性

称取不含待测物组分的试样各2.0 g，分别添加三个浓度水平，每水平6个平行样。充分混匀后，按照前方法进行处理，按照仪器条件进行测定。结果表明，不同基质分析方法的回收率为78-109%，相对标准偏差RSD为1.3-4.6%，说明方法的回收率高，通用性强，完全可以满足日常不同动物源性食品中的29种 $\beta$ -受体激动剂残留检测的需要。

## 5. 实际样本的检测

测试石家庄超市中购买的猪肉和鸡肉产品中的29种 $\beta$ -受体激动剂的含量，结果均未检出。

## 6. 总结

本文采用SCIEX液相色谱串联三重四极杆质谱系统，建立了测定动物源食品中的29种 $\beta$ -受体激动剂的方法；一针进样，9分钟完成了29种 $\beta$ -受体激动剂准确定性和定量的测定；本实验验证了实际样品在三个浓度范围的添加回收率，结果均在78-109%，相对标准偏差为1.3-4.6%。经过检测实际样本，未检出 $\beta$ -受体激动剂。该方法快速、准确、全面的完成了动物源食品中的29种 $\beta$ -受体激动剂的测定。

SCIEX液相色谱串联质谱系统优良的仪器性能，保证了实验的高灵敏度、高稳定性和数据的高准确性。

## 参考文献

- [1] 中国兽医药品监察所.动物源性食品中 $\beta$ -受体激动剂残留检测液相色谱-串联质谱法:农业部1025号公告-18-2008 [s].北京:中国农业出版社, 2008.

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。© 2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

RUO-MKT-02-12411-ZH-A



### SCIEX中国

北京分公司  
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话: 010-5808-1388  
传真: 010-5808-1390  
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话: 021-2419-7200  
传真: 021-2419-7333  
官网: [sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州分公司  
广州市天河区珠江西路15号  
珠江城1907室  
电话: 020-8510-0200  
传真: 020-3876-0835  
官方微信: [ABSciex-China](https://www.absciex.com.cn)