

# 猪肉中 $\beta$ - 受体激动剂残留量的测定 (Copure<sup>®</sup> MCX)

GB 31658.22-2022 《食品安全国家标准 动物性食品中  $\beta$  - 受体激动剂残留量的测定 液相色谱 - 串联质谱法》

## 一、样品前处理

### 1.1 样品酶解与提取

1) 称取 2g 样品于 50 mL 聚丙烯离心管中, 加入 0.2mol/L 的乙酸铵缓冲溶液 6mL、 $\beta$ - 葡萄糖醛酸酶 / 芳基硫酸酯酶 40 $\mu$ L, 涡旋混匀, 37°C 避光水浴振荡 16h, 放置至室温, 备用。

### 1.2 萃取、净化与浓缩

1) 取备用液, 加入 20ng/mL 内标工作液 125 $\mu$ L, 涡旋混匀, 于 9500r/min 离心 5min, 取上清液于另一个 50mL 离心管中, 加入 0.1mol/L 高氯酸溶液 5mL, 涡旋混匀, 用高氯酸调 pH 值至 1.0 $\pm$ 0.2, 于 9500r/min 离心 5min 后, 取上清液于另一个 50mL 离心管中, 用 10mol/L NaOH 溶液调 PH 值至 10 $\pm$ 0.5。

2) 用 15mL 乙酸乙酯提取, 振荡 5min, 9500r/min 离心 5min, 取上层有机相; 再加入 10mL 叔丁基甲醚提取, 振荡 5min, 9500r/min 离心 5min, 取上层有机相, 合并有机相, 40°C 下氮吹至近干, 用 2% 甲酸溶液 5mL 溶解, 备用。

3) 用 3mL 甲醇、3mL 2% 甲酸溶液依次活化 MCX 混合型阳离子交换固相萃取柱 (货号: COMCX360), 取全部备用液过柱; 用 3mL 2% 甲酸溶液、3mL 甲醇依次淋洗, 抽干; 用 5mL 5% 氨化甲醇溶液洗脱, 洗脱液于 40°C 下氮吹至近干, 加入 0.5mL 甲醇 -0.1% 甲酸溶液 (10+90, V/V) 溶解, 过 0.22 $\mu$ m 微孔滤膜, 上机测定。

### 1.3 标准曲线的制备

1) 精密量取混合标准工作液、混合内标工作液适量, 用甲醇 -0.1% 甲酸溶液 (10+90, V/V) 稀释成浓度为 0.500 ng/mL、1.00ng/mL、2.00 ng/mL、5.00 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL 的系列标准工作液, 内标为 5.00ng/mL, 上机测定。

## 二、仪器条件

仪器设备: 液相色谱串联质谱仪 (Triple Quad 5500+)

色谱柱: ZORBAX RRHD Eclipse Plus 95Å C18, 2.1 x 100 mm, 1.8  $\mu$ m

流动相: A: 0.1% 甲酸水 B: 乙腈

流动相梯度: 初始 98%A, 98%A (0 min~0.3min), 10%A (0.3 min~3.0 min), 10%A (3.0 min~4.0min), 98%A (4.0min~4.2min), 98%A (4.2min~6.0min)

流速: 0.3 mL/min 柱温: 室温 进样体积: 4.0 mL

质谱条件:

检测方式: 多反应离子监测 (MRM);

表 1 离子源控制条件

电离方式	ESI+
Curtain Gas(CUR)	40.0 psi
Collision Gas(CAD)	8 psi
IonSpray Voltage(IS)	5500.0 V
Temperature(TEM)	500.0°C
Ion Source Gas 1(GS1)	50.0 psi
Ion Source Gas 1(GS2)	50.0 psi

表 2 待测药物定性离子对、定量离子对、保留时间、去簇电压和碰撞能量参考值

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	保留时间 (min)	DP (V)	CE(V)
克仑特罗	277.0	203.0 *	2.20	40	21
		168.1			38
克仑特罗 -D9	286.0	204.0	2.18	40	23
莱克多巴胺	302.2	164.1 *	2.09	40	23
		107.1			51
莱克多巴胺 -D6	308.1	168.1	2.07	40	23
沙丁胺醇	240.2	148.1 *	1.75	40	24
		222.1			15
沙丁胺醇 -D3	243.1	151.0	1.74	40	25
西马特罗	220.0	160.0*	1.81	40	22
		202.0			13
西马特罗 -D7	227.2	161.1	1.80	40	23
齐帕特罗	262.1	185.0*	1.75	40	32
		202.1			25
齐帕特罗 -D7	269.1	185.0	1.74	40	32
氯丙那林	214.0	154.1 *	2.10	40	23
		118.0			34
氯丙那林 -D7	221.0	155.0	2.09	40	23
特布他林	226.2	152.0*	1.76	40	21
		107.1			36
特布他林 -D9	235.2	153.1	1.75	40	20
西布特罗	234.0	160.1 *	1.92	40	21
		143.0			34
西布特罗 -D9	243.2	161.1	1.90	40	21
马布特罗	311.1	237.2 *	2.30	40	24
		202.1			40
马布特罗 -D9	320.1	238.0	2.28	40	24
班布特罗	368.2	294.1*	2.21	40	26
		72.2			37
班布特罗 -D9	377.2	295.1	2.20	40	26
克仑丙罗	263.1	203.0 *	2.11	40	24
		245.1			15
克仑丙罗 -D7	270.0	204.0	2.10	40	25
妥布特罗	228.0	154.0 *	2.17	40	21
		118.0			35
妥布特罗 -D9	237.0	155.0	2.16	40	21
羟甲基克仑特罗	293.0	203.0*	2.06	40	23
		132.1			38
羟甲基克仑特罗 -D6	299.0	203.0	2.05	40	25
溴布特罗	367.0	293.0 *	2.25	40	24
		349.2			17
克仑潘特	291.0	203.0*	2.28	40	21
		132.1			38
克仑赛罗	319.1	203.0 *	2.01	40	26
		132.0			39
利托君	288.1	121.1 *	1.97	40	29
		150.1			25
马喷特罗	325.0	237.0 *	2.38	40	24
		217.0			37

注: \* 为定量离子。

### 三、实验结果

表 3 1.50μg/kg 猪肉中 β- 受体激动剂加标回收实验结果

检测项目	回收率 (%)			平均回收率 (%)	RSD (%)
	1	2	3		
克仑特罗	90.2	95.2	96.5	94.0	3.54
莱克多巴胺	99.5	98.8	100	99.4	0.608
沙丁胺醇	92.7	97.2	100	96.6	3.81
西马特罗	95.2	100	101	98.7	3.15
齐帕特罗	95.7	93.0	99.2	96.0	3.24
氯丙那林	97.3	96.8	102	98.7	2.91
特布他林	95.0	101	94.0	96.7	3.92
西布特罗	100	92.5	93.3	95.3	4.32
马布特罗	96.0	89.0	93.8	92.9	3.85
班布特罗	96.3	97.5	97.3	97.0	0.664
克仑丙罗	97.5	93.7	98.7	96.6	2.70
妥布特罗	89.2	97.7	93.5	93.5	4.55
羟甲基克仑特罗	93.0	98.7	101	97.6	4.22
溴布特罗	68.8	73.0	65.7	69.2	5.29
利托君	65.2	63.5	62.3	63.7	2.29
克仑赛罗	79.8	81.5	78.5	79.9	1.88
马喷特罗	113	118	114	115	2.30
克仑潘特	101	106	99.8	102	3.24

表 4 1.50μg/kg 猪肝中 β- 受体激动剂加标回收实验结果

检测项目	回收率 (%)			平均回收率 (%)	RSD (%)
	1	2	3		
克仑特罗	97.8	98.0	98.0	97.9	0.125
莱克多巴胺	95.5	94.0	100	96.5	3.24
沙丁胺醇	98.8	98.8	91.2	96.3	4.56
西马特罗	104	106	106	105	1.17
齐帕特罗	104	101	97.8	101	3.07
氯丙那林	104	103	103	103	0.687
特布他林	88.5	97.2	93.7	93.1	4.70
西布特罗	88.8	100	102	96.9	7.34
马布特罗	98.3	89.5	90.2	92.7	5.28
班布特罗	101	99.2	88.5	96.2	7.02
克仑丙罗	110	102	103	105	4.15
妥布特罗	96.0	102	106	101	5.00
羟甲基克仑特罗	97.2	106	102	102	4.33
溴布特罗	63.2	66.8	67.0	65.7	3.26
利托君	63.5	62.5	62.8	62.9	0.818
克仑赛罗	67.5	69.8	69.3	68.9	1.76
马喷特罗	101	108	106	105	3.43
克仑潘特	92.8	87.8	96.7	92.4	4.83

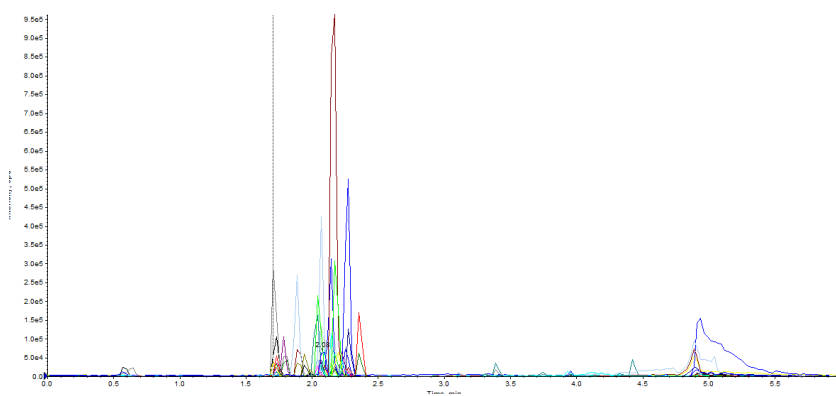
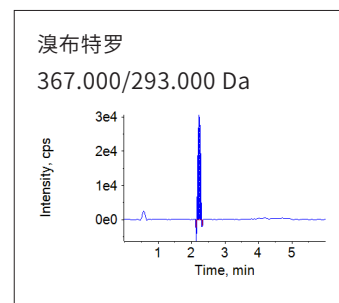
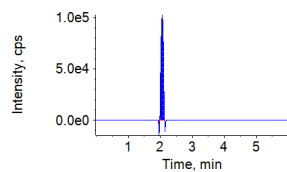


图 1 β- 受体激动剂药物总离子流图



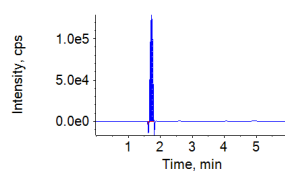
莱克多巴胺 -D6

308.100/168.100 Da



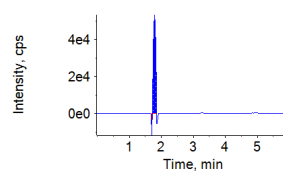
沙丁胺醇 -D3

243.100/151.000 Da



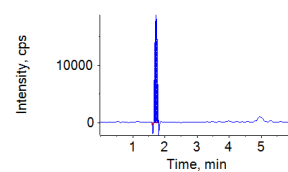
西马特罗 -D7

227.200/161.100 Da



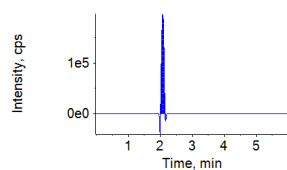
齐帕特罗 -D7

269.100/185.000 Da



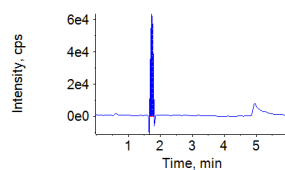
氯丙那林 -D7

221.000/155.000 Da



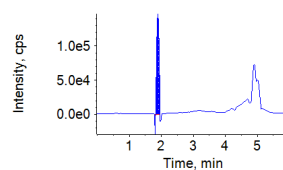
特布他林 -D9

235.200/153.100 Da



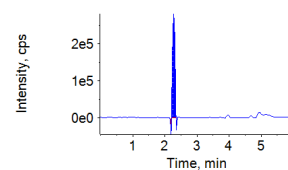
西布特罗 -D9

243.200/161.100 Da

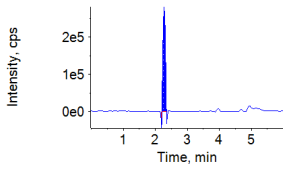


马布特罗 -D9

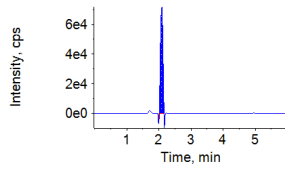
320.100/238.000 Da



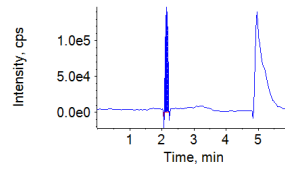
马布特罗 -D9  
320.100/238.000 Da



克仑丙罗 -D7  
270.000/204.000 Da



妥布特罗 -D9  
237.000/155.000 Da



妥布特罗 -D9  
237.000/155.000 Da

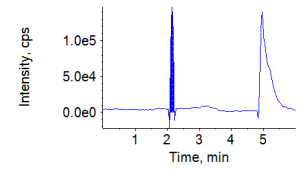
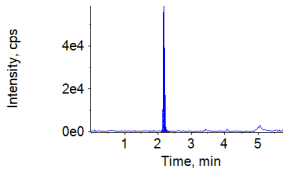
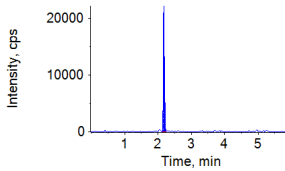


图 2 β-受体激动剂药物同位素内标标准溶液特征离子质量色谱图 (5.00ng/mL)

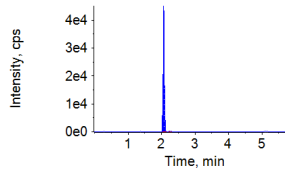
克仑特罗  
277.000/203.000 Da



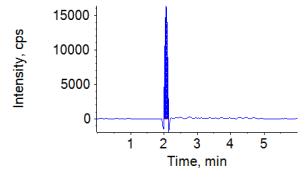
克仑特罗 (定性)  
277.000/168.100 Da



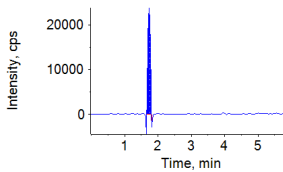
莱克多巴胺  
302.200/164.100 Da



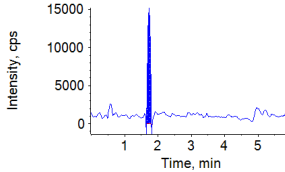
莱克多巴胺 (定性)  
302.200/107.100 Da



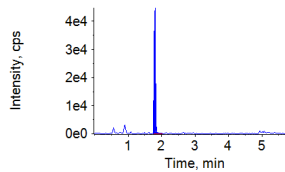
沙丁胺醇  
240.200/148.100 Da



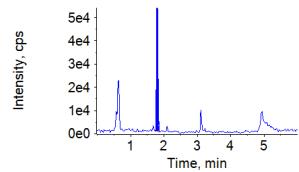
沙丁胺醇 (定性)  
240.200/222.100 Da



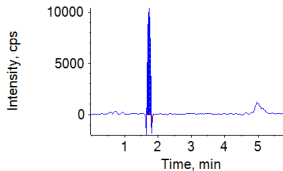
西马特罗  
220.000/160.000 Da



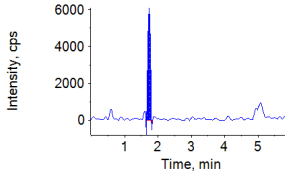
西马特罗 (定性)  
220.000/202.000 Da



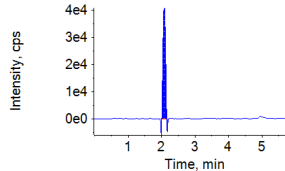
齐帕特罗  
262.100/185.000 Da



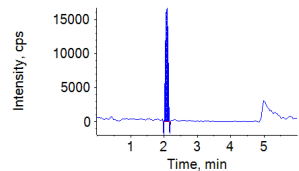
齐帕特罗 (定性)  
262.100/202.100 Da



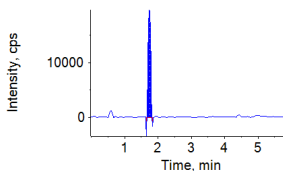
氯丙那林  
214.000/154.100 Da



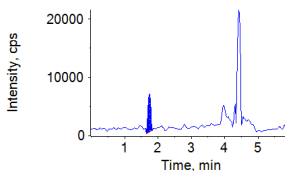
氯丙那林 (定性)  
214.000/118.000 Da



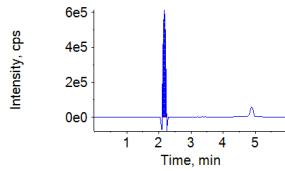
特布他林  
226.200/152.000 Da



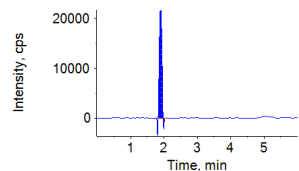
特布他林 (定性)  
226.200/107.100 Da



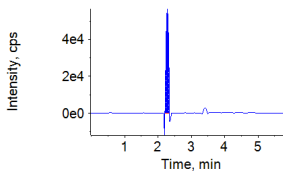
克仑特罗 -D9  
286.000/204.000 Da



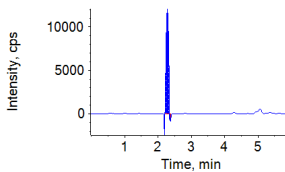
西布特罗 (定性)  
234.000/143.000 Da



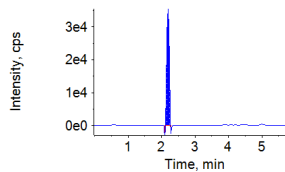
马布特罗  
311.100/237.200 Da



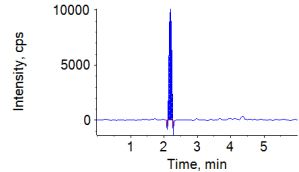
马布特罗 (定性)  
311.100/202.100 Da

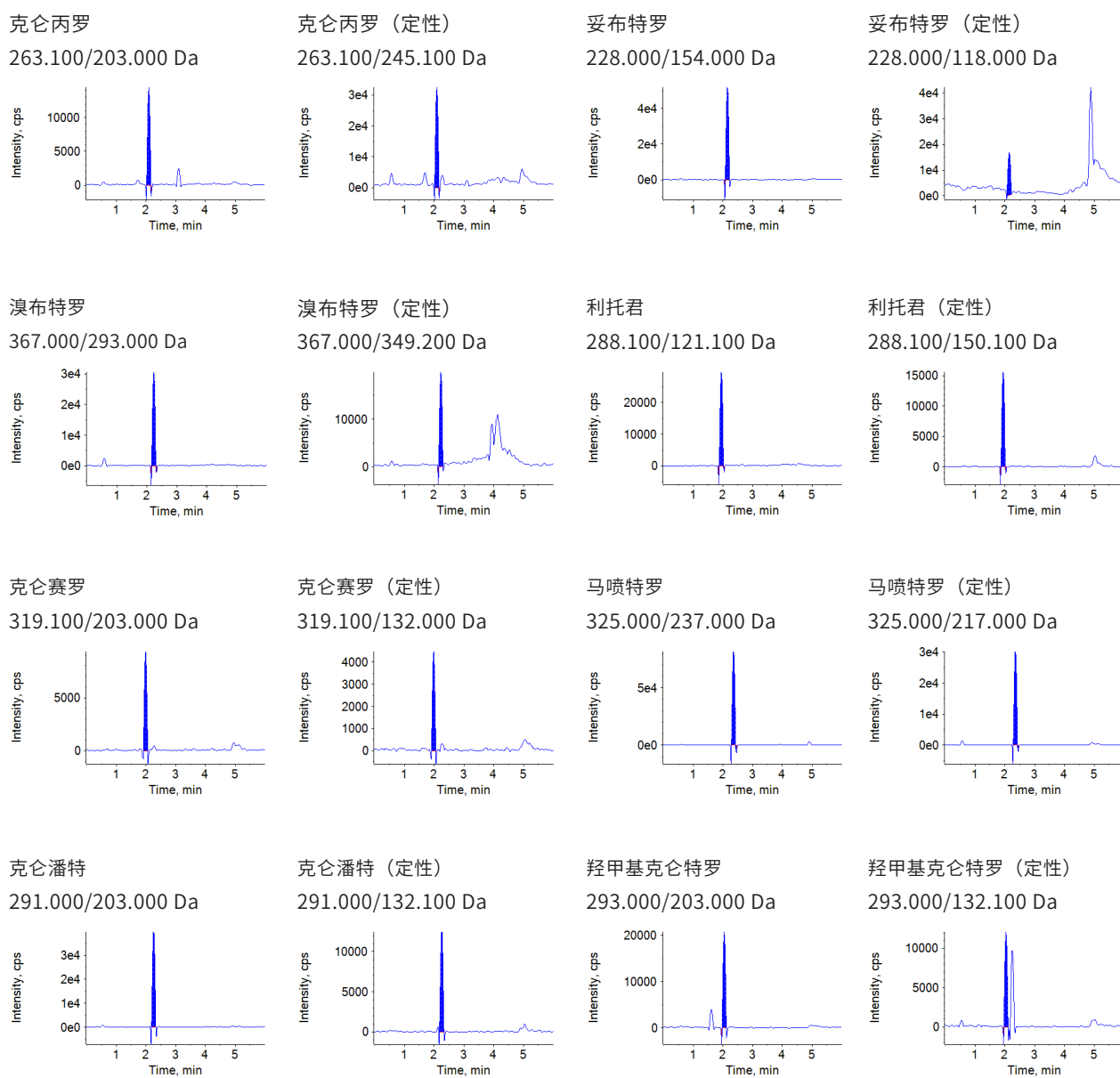


班布特罗  
368.200/294.100 Da



班布特罗 (定性)  
368.200/72.200 Da



图 3  $\beta$ -受体激动剂药物标准溶液特征离子质量色谱图 (0.500ng/mL)

## 订购信息

货号	描述	包装
COMCX360	Copure®MCX 固相萃取柱, 60mg/3mL	50 支 / 盒
SDC-3000-D	biocomma® 多管涡旋混匀仪	1 台 / 箱
SF130-22-NL	尼龙针式过滤器, 直径 13 mm, 孔径 0.22 $\mu$ m, 有机系	100 个 / 盒
SC2-1	2mL 蓝色聚丙烯盖, 白色 PTFE/ 红色硅胶垫, 9-425	100 个 / 盒
V2-AL	2 mL 螺纹棕色样品瓶, 带书写处 11.6*32 mm, 9-425	100 个 / 盒