

膜透析/高效液相色谱-串联质谱法测定畜产品中 9种 β -受体激动剂残留

杨丽君¹, 徐成钢¹, 安代志³, 胡巧茹¹, 梁君妮¹, 黄志强²

(1. 威海出入境检验检疫局技术中心, 山东威海 264200)(2. 湖南省检验检疫科学技术研究院, 湖南长沙 410000)

(3. 军事医学科学院疾病预防控制中心, 北京 100071)

摘要: 建立了膜透析/高效液相色谱-串联质谱法(MD/HPLC-MS/MS)检测畜产品中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇等9种 β -受体激动剂的新方法。样品经乙酸铵缓冲液提取和 β -葡萄糖苷醛酶/芳基硫酸酯酶酶解, 采用标准再生纤维素膜(RC, 截留分子量MWCO: 1000D)透析净化, β -受体激动剂通过膜渗入透析液中, 透析液用环己烷-乙酸乙酯(4:1)萃取, 经Waters Xbridge C18色谱柱进行分离, 以0.1%甲酸水和乙腈作为流动相进行梯度洗脱, 电喷雾正离子(ESI+)模式电离, 多反应监测(MRM)模式进行检测, 外标法定量。结果表明, 9种 β -受体激动剂在0.5-10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度范围内线性关系良好。方法的定量限为0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 在0.5、1.0、2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3个添加水平的回收率为72.5%~92.6%, 相对标准偏差($n=6$)在4.1%~12.7%之间。该方法采用膜透析技术进行净化, 无需使用昂贵的固相萃取柱, 适用于畜产品中9种 β -受体激动剂的经济、高灵敏度的分析检测。

关键词: 膜透析; 高效液相色谱-串联质谱; β -受体激动剂; 畜产品

文章编号: 1673-9078(2015)11-298-306

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.11.045

Analysis of Nine β -Agonist Residues in Livestock Products by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Coupled with Membrane Dialysis

YANG Li-jun¹, XU Cheng-gang¹, AN Dai-zhi³, HU Qiao-ru¹, LIANG Jun-ni¹, HUANG Zhi-qiang²

(1. Technology Center, Weihai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Weihai 264200, China)

(2. Hunan Inspection and Quarantine Institute of Science and Technology, Changsha 410000, China)

(3. Chinese Disease Control and Prevention Institute of Military Medical Sciences, Beijing 10007, China)

Abstract: A new method based on membrane dialysis/high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (MD/HPLC-MS/MS) was developed for the analysis of nine β -agonist residues (e.g., clenbuterol, ractopamine, salbutamol) in livestock products. The samples were extracted with ammonium acetate buffer, enzymolyzed by β -glucuronidase/arylsulfatase, and purified with a standard-grade regenerated cellulose dialysis membrane (RC, MWCO: 1000 D). The residues of β -agonists were infiltrated through the membrane into the dialysis solution, which was extracted with cyclohexane-ethyl acetate (4:1). The β -agonists were separated with Waters Xbridge C18 columns using a gradient elution with 0.1% formic acid-acetonitrile as the mobile phase. The β -agonists were detected by positive electrospray ionization (ESI+) in the multiple reaction monitoring (MRM) mode, and the quantification analysis was performed by an external standard method. The results showed that the nine β -agonists had good linearities in the range from 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ to 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The limits of quantitation for all β -agonists were 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The recoveries of these analytes varied from 72.5% to 92.6% at the spiked levels of 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and 2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The relative standard deviation of the method varied from 4.1% to 12.7% ($n = 6$). The method was based on membrane dialysis and expensive solid-phase extraction cartridges were not required. Thus, this method is economical, highly sensitive, and suitable for the determination of the nine β -agonists residues in livestock products.

Key words: membrane dialysis; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; β -agonists; livestock products

收稿日期: 2015-02-28

基金项目: 国家质检总局科技计划项目(2013IK178); 质检公益性行业科研专项(201310143); 国家科技支撑计划(2012BAK08B01)

作者简介: 杨丽君(1969-), 女, 高级工程师, 研究方向食品安全; 通讯作者: 黄志强(1962-), 男, 博士, 研究员, 研究方向食品安全

β -受体激动剂是天然的儿茶酚胺类化学合成的衍生物,选择性作用于 β -肾上腺受体。20世纪80年代以来 β -受体激动剂被用于畜牧生产以提高瘦肉率,但 β -受体激动剂会在动物组织中长时间残留,长期食用易出现毒副作用,损害人体健康^[1]。欧盟、日本、韩国等国家都禁止进口含有此类药物的肉制品。我国农业部公告第176号和农业部公告第1519号明确规定禁止在饲料和动物饮水中使用该类药物。目前,动物源性食品中 β -受体激动剂残留的检测方法主要有酶联免疫法^[2-3]、高效液相色谱法^[4-6]、气相色谱-串联质谱法^[7-9]和液相色谱-串联质谱法^[10-16]等。高效液相色谱-串联质谱法因具有抗干扰能力强、灵敏度高、确证能力强等优点,已成为 β -受体激动剂主要的检测和确证方法。检测包括样品前处理和上机检测两部分,而样品前处理技术严重落后于上机检测技术^[8]。目前, β -受体激动剂检测常用的前处理方法主要是酶解提取后,采用固相萃取柱净化(如MCX小柱),固相萃取法可有效的将分析物与干扰组分分离^[11-13],但目前市场上商品化的固相萃取柱一般只能一次性使用,价格较高,从而导致了高成本。另外,还有基质固相分散萃取、超临界流体萃取、固相微萃取、加速溶剂萃取和分子印迹固相萃取等较新的方法也应用于样品的净化中,但都处于研究阶段,技术尚不成熟^[14,15]。

透析(dialysis)是通过小分子经过半透膜扩散到水(或缓冲液)的原理,将小分子与生物大分子分开的一种分离纯化技术。目前透析在医学上^[17]和废水处理方面^[18]应用较多,国外也有将膜透析与气质联用检测兽药残留的报道^[19],但是将膜透析技术与HPLC-MS/MS结合应用于兽残检测的研究较少。

本研究建立了膜透析与高效液相色谱-串联质谱法结合检测畜产品中9种 β -受体激动剂的新方法。根据检测物的分子量大小选用适当截留分子量的标准再生纤维素膜对提取液进行透析,提取液中的 β -受体激动剂通过膜渗入透析液中,将杂质截留在膜内,以达到净化的目的。该方法简化了前处理过程且经济实惠,灵敏度高、重现性好,适用于畜产品中9种 β -受体激动剂的定量和确证检测。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent1200高效液相色谱仪(美国Agilent公司);API4000串联四极杆质谱仪(美国AB公司);配有电喷雾离子源(ESI);CR22G II高速冷冻离心机(日立公司);BUCHI 旋转蒸发仪(瑞士BUCHI公司);

MS3 旋涡混合器(IKA公司)。

甲醇、乙腈、乙酸乙酯、环己烷均为色谱纯(美国默克公司);甲酸为色谱纯(CNW公司);乙酸胺为分析纯(天津市巴斯夫化工有限公司); β -葡萄糖苷酶/芳基硫酸酯酶为德国Sigma公司生产。 β -受体激动剂标准品:克伦特罗(Clenpenterol CLEN)、莱克多巴胺(Ractompamine RACT)、沙丁胺醇(Salbutamol SAL)、溴布特罗(Brombuterol BRO)、特布它林(Terbutaline TER)、苯乙醇胺A(Phenylethanolamine A PHE)、班布特罗(Bambuterol BAM)均购自Dr. Ehrenstorfer;马布特罗(Mabuterol MAB)、氯丙那林(Clorprenaline CLO)均购自加拿大TRC公司。0.02 mol/L乙酸铵缓冲液:称取1.54 g 乙酸铵于900 mL水中,用冰乙酸调至pH值(5.2 \pm 0.1),用水稀释至1 L;实验用水均为超纯水(Millipore公司)。透析膜:标准再生纤维素膜(RC),截留分子量(MWCO)为1000D;纤维素酯膜(CE),MWCO为100-500D,均购自美国Cellu.Sep公司。

1.2 标准溶液的配制

准确称取适量上述标准品,用甲醇溶解并定容,配成100 mg/L的单标储备液,准确移取各标准品储备液1.0 mL,混合于100 mL容量瓶中,用甲醇定容,配置成10 mg/L的混合标准工作液。

1.3 透析袋制备

把透析膜剪成适当长度(10 cm左右)的小段,用蒸馏水彻底清洗,不使用的透析膜放回储存液中,密封保存。接触透析膜过程中必须戴手套。使用前,一端用下沉透析袋夹子夹紧,在袋内放几粒玻璃珠,使透析袋处于悬浮状态,灌满水后,用手指适当加压,检查不漏,方可装入样品。装完样品后,用上浮夹子夹紧袋口,透析袋内要留三分之一至一半的空间,以防透析过程中,袋外的缓冲液过量进入袋内将袋涨破。

1.4 样品前处理

准确称取5.00 g粉碎好的样品,在透析袋中加入20 mL 0.02 mol/L乙酸铵缓冲液(用乙酸调成pH 5.2)和50 μ L β -葡萄糖苷酶/芳基硫酸酯酶,混匀后,超声20 min,然后将透析袋浸入盛有400~450 mL 0.02 mol/L乙酸铵缓冲液(pH 5.2)的烧杯中,放入转子,将烧杯置于磁力搅拌器上进行透析,搅拌转速以杯内形成涡旋带动透析袋转动为宜,37 $^{\circ}$ C透析6 h。透析完成后取出透析袋,将烧杯中的透析液调pH至9~10,移入1 L的梨形分流漏斗中,加入40 mL环己烷-乙酸乙酯

(4:1, V/V) 萃取2次, 合并萃取液旋蒸, 氮气流吹干, 用体积比为0.1%甲酸水溶液定容成1.0 mL, 供HPLC-MS/MS测定分析。

1.5 色谱和质谱条件

Waters Xbridge C18色谱柱(3.5 μ m 3.0 \times 150 mm); 柱温35 $^{\circ}$ C; 进样体积20 μ L; 流动相A为0.1%甲酸水溶液, 流动相B为乙腈, 梯度洗脱条件见表1, 流速为0.2 mL/min。

表1 流动相梯度条件

时间/min	流速/(mL/min)	0.1% 甲酸水	乙腈
0	0.2	90.0	10.0
2.0	0.2	90.0	10.0
5.0	0.2	77.0	23.0
8.0	0.2	44.0	56.0
12.0	0.2	5.0	95.0
20.0	0.2	5.0	95.0
20.1	0.2	90.0	10.0
28.0	0.2	90.0	10.0

质谱采用电喷雾电离源(ESI), 正离子扫描方式, 多反应监测模式(MRM); 电喷雾电压为5.5 kV; 离子源温度为550 $^{\circ}$ C, 雾化气压力(GSI)为40 psi; 辅助气流速(GS2)为60 psi, 气帘气压力(CUR)为40 psi; 碰撞室入口电压(EP)为10 V; 碰撞室出口电压(CXP)为13 V。9种 β -受体激动剂母离子、子离子、去簇电压(DP)、碰撞能量(CE)见表2。

表2 9种受体激动剂优化的质谱分析参数

名称	母离子 /(m/z)	子离子 /(m/z)	去簇电压 DP/V	碰撞能量 CE/eV
CLEN	277.0	168.1*/203.1/132.0	48	38/22/36
RACT	302.1	164.1*/284.1/121.1	48	17/23/30
SAL	240.1	148.1*/166.1/222.1	48	24/18/14
MAB	311.2	293.2*/237.1/217.1	60	16/24/36
PHE	345.1	327.3*/150.2/118	60	18/30/40
BRO	367.1	349.1*/293.0/212.1	60	17/26/42
TER	226.0	152.1*/170.2/107.2	60	20/16/40
BAM	368.2	312.2*/294.2	60	20/26
CLO	214.1	196.1*/154.1/118.1	60	15/23/38

注: *定量离子(Quantitative ion)。

2 结果与讨论

2.1 样品前处理条件的比较

2.1.1 膜材质及截留分子量的选择

分别截取CE膜(MWCO为100-500D)和RC膜(MWCO为1000D)约10 cm各2段, 做成4个透析袋。在样品中添加9种 β -受体激动剂混标(添加浓度为10.0 μ g/kg), 按1.4进行样品前处理, 按前述的色谱质谱条件进行分析。检测结果表明, 样品经RC膜透析后, 9种 β -受体激动剂的回收率均在70%以上, 采用CE膜透析的样品, 9种 β -受体激动剂的回收率均小于10%, 虽两种膜材质不一样, 但在适宜的透析液中, 透析效率只与MWCO有关, 所购膜推荐选择膜的MWCO为大于两倍于透过物质的分子大小, 9种 β -受体激动剂的分子量均在200-400之间, 根据实验效果, 选用MWCO为1000D的RC膜作为透析膜。

2.1.2 萃取溶剂的选择

在样品中添加9种 β -受体激动剂混标(添加浓度为1.0 μ g/kg), 按1.4进行样品前处理, 透析后分别用不同有机溶剂进行萃取, 按前述的色谱质谱条件进行检测。

因透析液中水溶液量较大, 萃取时需要充分考虑有机溶剂在水中的溶解度, 有机溶剂在水中的溶解度越小, 提取效率越高, 常用的有机溶剂氯仿、乙醚、乙酸乙酯、环己烷在水中的溶解度为0.81%、6.89%、8.08%和2%, 故选用溶解度较小的氯仿和环己烷进行提取实验, 但是仅用氯仿或环己烷提取时, 有些待测物回收率不理想。考虑到环己烷可以和乙酸乙酯互溶, 可降低乙酸乙酯在水中的溶解度, 而部分待测物用乙酸乙酯提取比较好, 因而选用环己烷和乙酸乙酯混合液进行提取, 通过实验最终确定环己烷和乙酸乙酯体积比4:1来做为提取溶剂, 经检测各种待测物回收率均在70%以上。不同溶剂提取效率结果见图1。

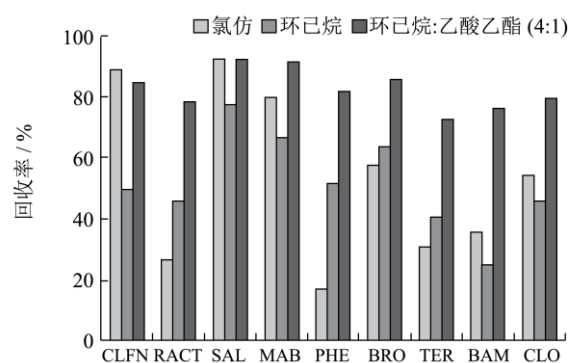


图1 不同溶剂提取回收率对比

Fig.1 Comparison of extraction efficiency of different solvents

2.1.3 膜透析时间的选择

在样品中添加9种 β -受体激动剂混标(添加浓度为20.0 μ g/kg), 按1.4进行透析, 每隔2 h取透析袋中溶液进行检测。检测结果表明, 透析2 h后, 袋内 β -受体

激动剂浓度剩余40~50%；透析4 h后，袋内浓度剩余15~30%；透析6 h后，袋内浓度剩余5%~10%，袋内外浓度基本平衡。实验结果表明，9种 β -受体激动剂均可自由通过RC膜，透析时间6 h为最佳。不同透析时间透析袋内 β -受体激动剂剩余浓度见图2。

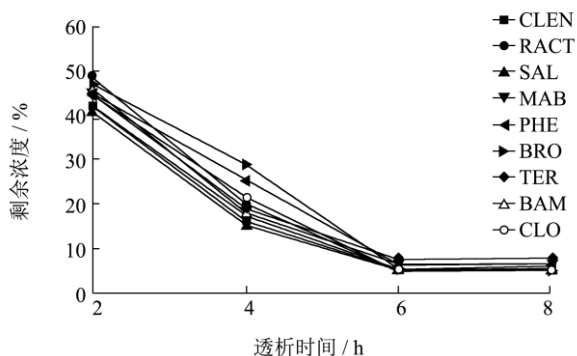
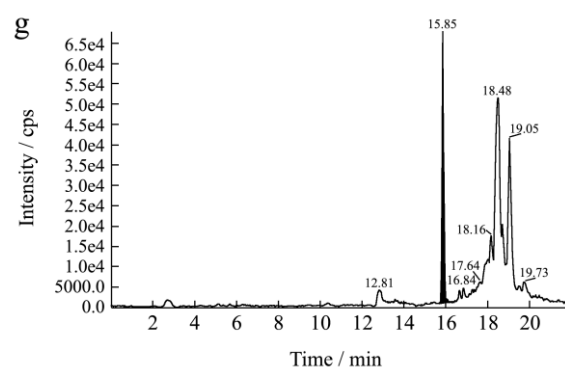
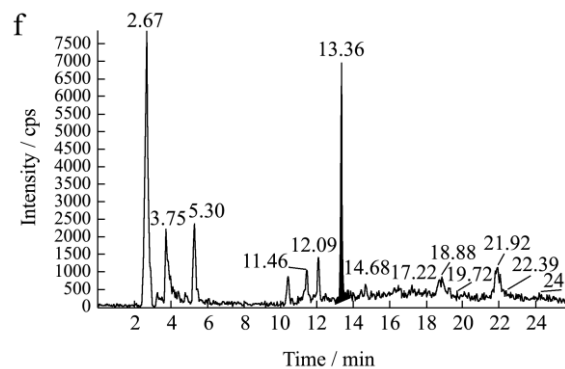
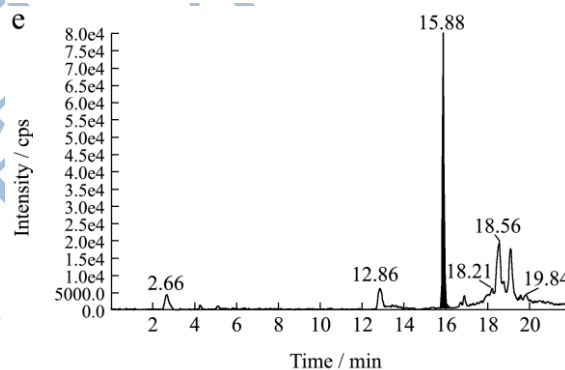
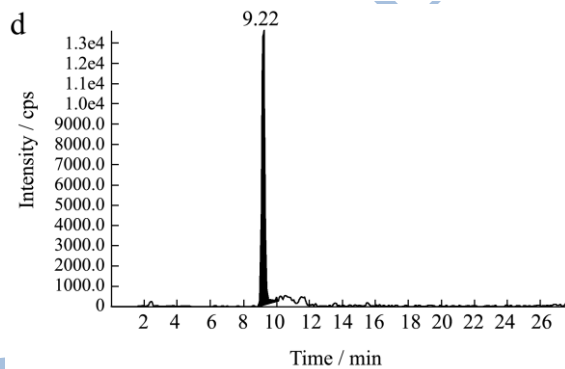
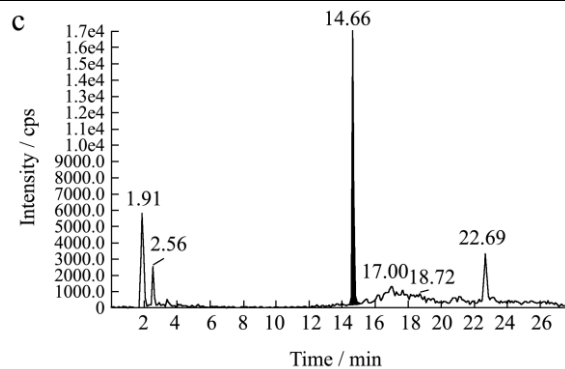
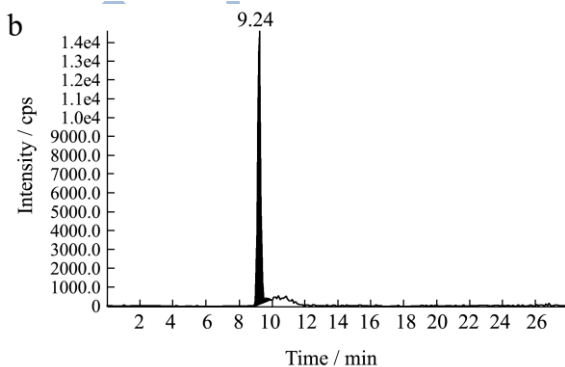
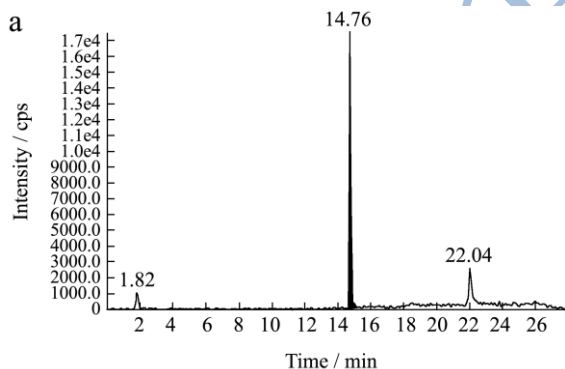


图2 不同透析时间透析袋内 β -受体激动剂剩余浓度

Fig.2 Residual concentration of β -agonists for different dialysis times in the dialysis bag

2.1.4 膜透析对样品的净化

根据膜透析原理，样品中大分子的脂溶性物质和水溶性物质均不会进入透析液中。在膜透析过程中，提取液中的 β -受体激动剂通过膜渗入透析液中，将杂质截留在膜内，因此提取后的定容液中没有蛋白质等大分子物质的干扰，在设定液相分离梯度时，不需要考虑待测物避开生物大分子物质，待测物出峰后也不需要洗脱生物大分子物质，既节省时间又能延长色谱柱寿命。



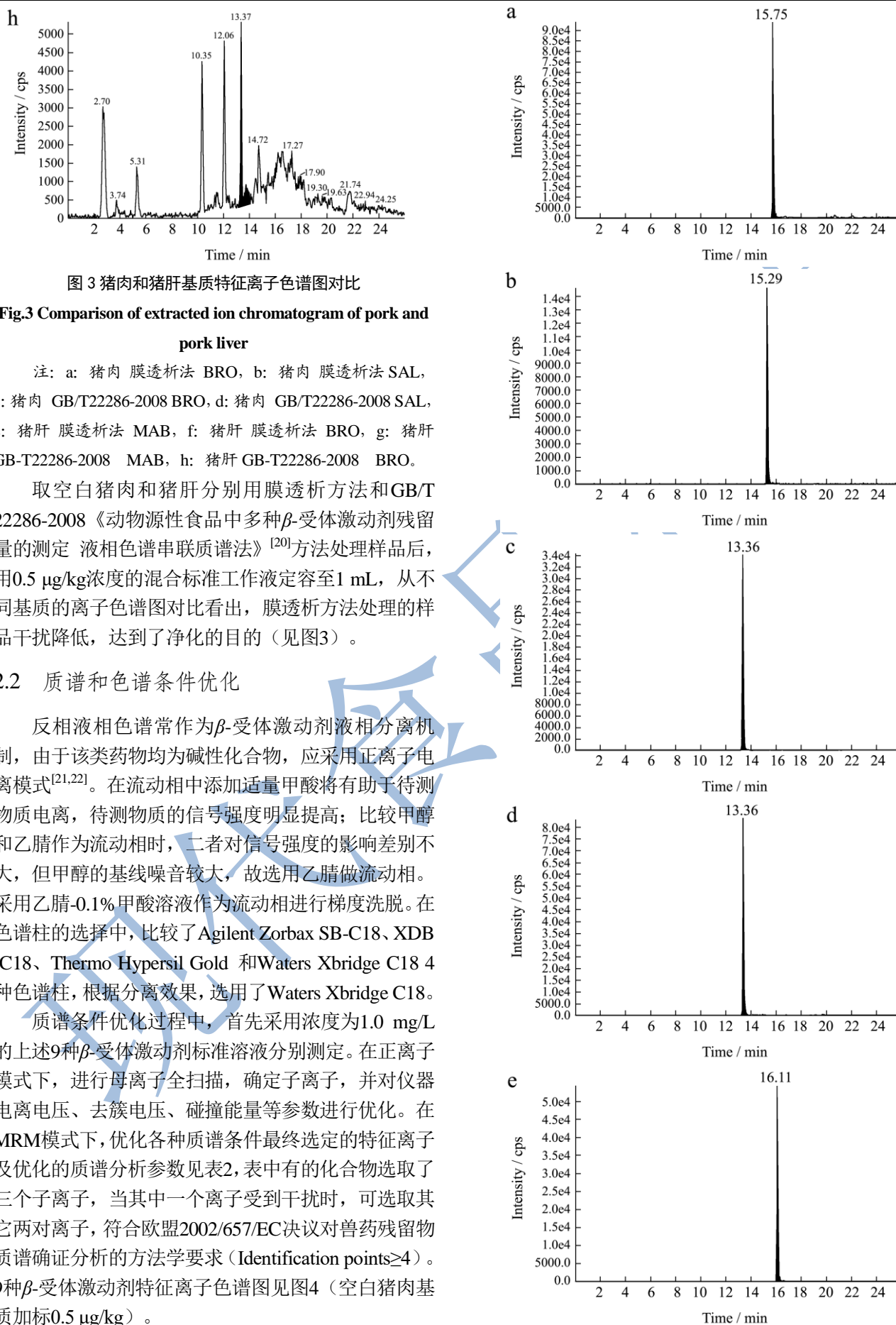


图3 猪肉和猪肝基质特征离子色谱图对比

Fig.3 Comparison of extracted ion chromatogram of pork and pork liver

注: a: 猪肉 膜透析法 BRO, b: 猪肉 膜透析法 SAL, c: 猪肉 GB/T22286-2008 BRO, d: 猪肉 GB/T22286-2008 SAL, e: 猪肝 膜透析法 MAB, f: 猪肝 膜透析法 BRO, g: 猪肝 GB-T22286-2008 MAB, h: 猪肝 GB-T22286-2008 BRO。

取空白猪肉和猪肝分别用膜透析方法和GB/T 22286-2008《动物源性食品中多种β-受体激动剂残留量的测定 液相色谱串联质谱法》^[20]方法处理样品后,用0.5 μg/kg浓度的混合标准工作液定容至1 mL,从不同基质的离子色谱图对比看出,膜透析方法处理的样品干扰降低,达到了净化的目的(见图3)。

2.2 质谱和色谱条件优化

反相液相色谱常作为β-受体激动剂液相分离机制,由于该类物质均为碱性化合物,应采用正离子电离模式^[21,22]。在流动相中添加适量甲酸将有助于待测物质电离,待测物质的信号强度明显提高;比较甲醇和乙腈作为流动相时,二者对信号强度的影响差别不大,但甲醇的基线噪音较大,故选用乙腈做流动相。采用乙腈-0.1%甲酸溶液作为流动相进行梯度洗脱。在色谱柱的选择中,比较了Agilent Zorbax SB-C18、XDB-C18、Thermo Hypersil Gold 和Waters Xbridge C18 4种色谱柱,根据分离效果,选用了Waters Xbridge C18。

质谱条件优化过程中,首先采用浓度为1.0 mg/L的上述9种β-受体激动剂标准溶液分别测定。在正离子模式下,进行母离子全扫描,确定子离子,并对仪器电离电压、去簇电压、碰撞能量等参数进行优化。在MRM模式下,优化各种质谱条件最终选定的特征离子及优化的质谱分析参数见表2,表中有的化合物选取了三个子离子,当其中一个离子受到干扰时,可选取其它两对离子,符合欧盟2002/657/EC决议对兽药残留物质谱确证分析的方法学要求(Identification points≥4)。9种β-受体激动剂特征离子色谱图见图4(空白猪肉基质加标0.5 μg/kg)。

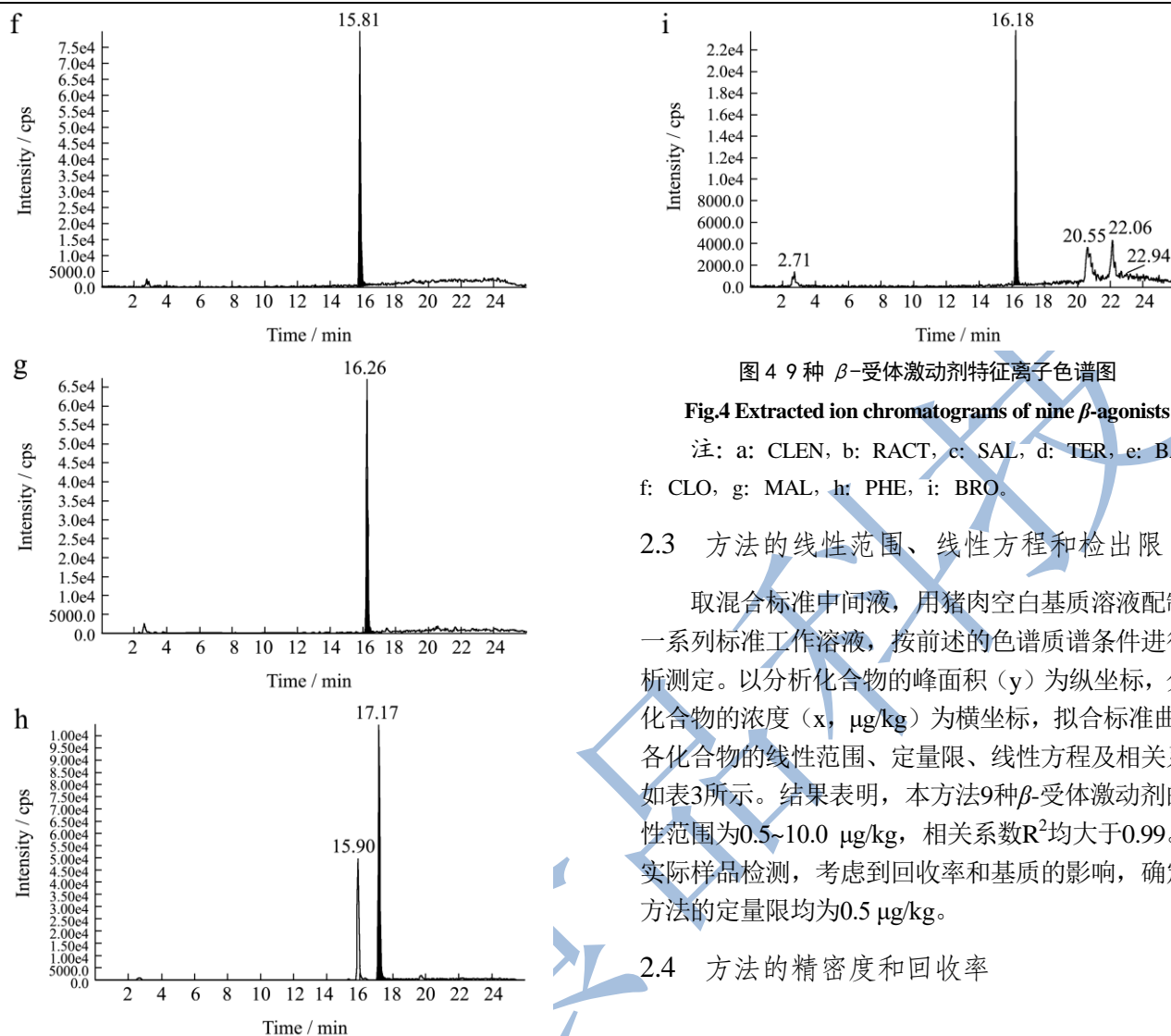


图4 9种β-受体激动剂特征离子色谱图

Fig.4 Extracted ion chromatograms of nine β-agonists

注: a: CLEN, b: RACT, c: SAL, d: TER, e: BAM, f: CLO, g: MAL, h: PHE, i: BRO.

2.3 方法的线性范围、线性方程和检出限

取混合标准中间液,用猪肉空白基质溶液配制成一系列标准工作溶液,按前述的色谱质谱条件进行分析测定。以分析化合物的峰面积(y)为纵坐标,分析化合物的浓度(x, μg/kg)为横坐标,拟合标准曲线,各化合物的线性范围、定量限、线性方程及相关系数如表3所示。结果表明,本方法9种β-受体激动剂的线性范围为0.5~10.0 μg/kg,相关系数R²均大于0.99。经实际样品检测,考虑到回收率和基质的影响,确定本方法的定量限均为0.5 μg/kg。

2.4 方法的精密度和回收率

表3 猪肉中9种β-受体激动剂的线性范围、定量限、线性方程及相关系数

Table 3 Linear range, LOQ, linear equations, and correlation coefficients of nine β-agonists in pork

名称	线性范围/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)	线性方程	相关系数/r ²
clen	0.5~10.0	0.5	y = 1510000 x + 165000	0.9987
ract	0.5~10.0	0.5	y = 679000 x + 25100	0.9975
sal	0.5~10.0	0.5	y = 1640000 x + 87400	0.9978
mab	0.5~10.0	0.5	y = 1810000 x + 186000	0.9987
phe	0.5~10.0	0.5	y = 771000 x + 20200	0.9991
bro	0.5~10.0	0.5	y = 617000 x + 34200	0.9991
ter	0.5~10.0	0.5	y = 2690000 x + 465000	0.9942
bam	0.5~10.0	0.5	y = 4710000 x + 666000	0.9985
clo	0.5~10.0	0.5	y = 1960000 x + 190000	0.9971

选用不同基质(牛肉、猪肉、猪肝、牛肾)的空白样品,分别添加浓度为0.5、1.0和2.5 μg/kg 3个浓度水平的混合标准溶液,每个水平重复测定6次,计算其回收率和精密度的。不同浓度水平下,各待测物回收率

在72.5%~92.6%之间,相对标准偏差(RSD)在4.1%~12.7%之间,说明该方法具有较好的回收率、稳定性和重复性,完全可以满足畜产品中9种β-受体激动剂的日常检测要求。

表4 9种β-受体激动剂的加标回收率和相对标准偏差 (n=6)

Table 4 Recoveries and RSDs of nine β-agonists (n = 6)

名称	添加浓度 (μg/kg)	牛肉		猪肉		猪肝		牛肾	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
CLEN	0.5	74.3	10.2	80.3	10.8	78.2	9.2	77.0	10.2
	1.0	76.5	6.7	75.6	5.4	75.5	7.3	70.5	7.0
	2.5	83.9	5.1	80.3	5.9	81.9	5.6	82.3	4.4
RACT	0.5	72.8	12.5	73.2	11.8	79.7	11.7	74.3	12.7
	1.0	72.5	7.3	72.1	8.3	75.5	7.8	77.5	9.2
	2.5	78.2	8.6	77.3	7.4	76.5	7.6	73.2	6.4
SAL	0.5	76.5	6.4	75.3	6.7	78.5	9.4	76.5	7.4
	1.0	81.4	7.2	87.4	5.2	85.2	7.5	86.4	7.5
	2.5	89.6	7.2	91.4	6.2	84.6	6.3	92.6	4.1
MAB	0.5	73.6	9.9	73.8	11.5	76.6	11.9	76.4	9.9
	1.0	74.1	5.4	76.3	7.5	74.6	7.4	75.2	7.5
	2.5	75.4	6.1	79.8	8.6	82.4	5.5	84.1	6.6
PHE	0.5	72.5	12.1	77.9	11.7	74.5	11.6	73.6	12.4
	1.0	77.0	8.4	74.0	7.8	76.0	8.1	77.9	9.1
	2.5	79.8	8.7	81.3	8.1	80.1	5.7	79.2	8.2
BRO	0.5	73.3	10.3	77.3	9.3	75.3	11.3	73.2	9.3
	1.0	77.4	8.2	79.1	8.7	77.8	8.9	74.9	7.3
	2.5	78.3	6.9	82.3	6.2	81.3	6.9	77.2	7.1
TER	0.5	75.6	8.9	78.7	11.2	75.4	9.9	74.3	10.2
	1.0	79.5	6.4	71.5	8.4	76.9	6.7	77.3	8.5
	2.5	80.7	4.5	75.7	5.9	79.7	5.9	78.3	5.9
BAM	0.5	74.8	10.6	72.3	8.6	78.2	12.6	80.1	8.6
	1.0	72.5	8.5	74.5	7.2	72.1	9.5	78.6	9.0
	2.5	76.1	5.8	78.5	6.8	72.1	7.5	82.2	6.3
CLO	0.5	75.4	11.2	78.5	8.8	76.4	11.2	81.4	10.6
	1.0	80.3	6.3	82.3	6.6	83.2	7.3	80.5	5.3
	2.5	88.3	6.1	89.1	5.1	84.2	6.6	81.7	5.7

2.5 实际样品

表5 阳性样品中克伦特罗的测定数据和相对偏差

Table 5 Measurement data and RDs of clenbuterol in positive samples

阳性样品	本方法测定 (μg/kg)	国家标准方法 测定值/(μg/kg)	相对偏差 /%
1	2.25	2.41	6.87
2	2.83	2.74	3.23
3	3.76	3.62	3.79
4	4.25	4.47	5.05
5	2.63	2.85	8.03
6	9.62	9.41	2.21

采用本方法和国家标准方法分别对市售的20份样

品(猪肉、牛肉、猪肝等)以及本实验室保留的6份阳性样品进行检测,20份市售样品均未检出9种β-受体激动剂,本实验室的阳性样品分别检出克伦特罗(2.25~9.62 μg/kg),本方法测定结果与采用国家标准方法的测定结果对比,测定值相对偏差(RD)≤10%,说明了该方法检测结果的准确性。阳性样品的检测结果和相对偏差见表5。

3 结论

国内有关β-受体激动剂检测标准有很多,但涉及种类较多的有GB/T 22286-2008《动物源性食品中多种β-受体激动剂残留量的测定液相色谱串联质谱法》,其规定了11种β-受体激动剂检出限为0.5 μg/kg。本研究通过对透析膜的选择、透析时间的确定、萃取溶剂

的选择、色谱和质谱的方法优化,建立了完整的应用膜透析技术检测畜产品中9种 β -受体激动剂的高效液相色谱-串联质谱检测方法。该方法灵敏度高、重现性好,且快速、简便、经济实惠,能满足 β -受体激动剂类药物的残留检测任务。由于膜透析技术透过的物质仅与分子量有关,与物质的其它性质无关,因此本方法可扩展到其它兽药残留的检测,膜透析技术可去除任何样品中所有生物大分子物质如蛋白质等,能有效降低样品干扰,在复杂基质中应用效果更明显。

参考文献

- [1] 蔡欣欣,张秀尧.超高效液相色谱三重四级杆质谱法同时快速测定动物源食品中6种 β -受体兴奋剂残留[J].中国卫生检验杂志,2008,18(7):1252-1255
CAI Xin-xin, ZHANG Xiu-rao. Rapid simultaneous determination of six β -agonists in foodstuffs of animal origin by ultra-performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2008, 18(7): 1252-1255
- [2] 刘文卫,钮伟民,蒋立凤,等.酶联免疫与气质联用法测定猪尿中的克伦特罗[J].中国卫生检验杂志,2006,16(5):564-565
LIU Wen-wei, NIU Wei-ming, JIANG Li-feng, et al. [J]. Determination of the clenbuterol residue in swine urine with GC/MS using enzyme-linked immune assay [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2006, 16(5): 564-565
- [3] 张慧嫦,张少恩,吴忠华,等.胶体金免疫层析法快速检测盐酸克伦特罗残留[J].中国国境卫生检验杂志, 2008, 31(1): 39-42
ZHANG Hui-chang, ZHANG Shao-en, WU Zhong-hua, et al. Rapid detection of the clenbuterol residue through colloidal gold immunochromatographic assay [J]. Chinese Journal of Frontier Health and Quarantine, 2008, 31(1): 39-42
- [4] Blomgren A, Berggren C, Holmberg A. Extraction of clenbuterol from calf urine using a molecularly imprinted polymer followed by quantitation by high-performance liquid chromatography with UV detection [J]. Chromatography A, 2002, 975: 157-164
- [5] 吴平谷,王强,陈慧华,等.同时检测动物肌肉中26种 β_2 -兴奋剂和激素残留[J].分析化学,2008,36(11):1476-1482
WU Ping-gu, WANG Qiang, CHEN Hui-hua, et al. Multi-residue analysis of 26 types of β_2 -agonists and steroids in animal tissues [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2008, 36(11): 1476-1482
- [6] 王炼,黎源倩.高效液相色谱法测定动物性食品中4种 β_2 -兴奋剂[J].中国卫生检验杂志,2008,18(7):1227-1230
WANG Lian, LI Yuan-qian. Determination of four β_2 -agonists in animal food by high performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2008, 18(7): 1227-1230
- [7] 王培龙,范理,宋荣,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 Pei-long, FAN Li, SONG Rong, et al. Determination of four kinds of β -agonists in swine urine by molecularly imprinted solid phase extraction followed gas chromatography coupled mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2012, 40(3): 470-473
- [8] 田苗.猪组织中10种 β -兴奋剂类兽药残留量的气相色谱-质谱法检测[J].分析测试学报,2010, 29(7):712-716
TIAN Miao. Determination of β -agonists residue in pork tissues by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2010, 29(7): 712-716
- [9] 宋永青,郭文萍,赵蓉,等.气相色谱-质谱法测定动物性食品中三种 β -激动剂的残留量[J].肉类研究,2007,11:45-49
SONG Yong-qing, GUO Wen-ping, ZHAO Rong, et al. The detection of three β -excitant residue in meats by GC/MS [J]. Meat Research, 2007, 11: 45-49
- [10] 王凤美,张鸿伟,庞士平等.超高效液相色谱-串联质谱测定动物源性食品和尿液中4种 β -受体激动剂残留[J].分析化学,2008,36(12):1629-1635
WANG Feng-mei, ZHANG Hong-wei, PANG Shi-ping, et al. Determination of four beta-agonists residues in products of animal origin and urine by ultra performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2008, 36(12): 1629-1635
- [11] 蔡勤仁,彭玉芬,冯家望,等.超高效液相色谱-电喷雾串联技术测定猪组织中7种 β -兴奋剂[J].现代食品科技, 2009, 25(4):451-454
CAI Qin-ren, PENG Yu-fen, FENG Jia-wang, et al. Determination of seven β -agonist residues in swine tissue by UPLC-MS/MS [J]. Modern Food Science and Technology, 2009, 25(4): 451-454
- [12] 迟少云,杨钊.高效液相色谱-电喷雾质谱联用技术检测猪肝中克伦特罗残留的方法研究[J].中国卫生检验杂志, 2007,17(4):596-597
CHI Shao-yun, YANG Zhao. Determination of clenbuterol residue in porcine liver by liquid chromatograph- electrospray mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Health Laboratory

- Technology, 2007, 17(4): 596-597
- [13] 周炜,朱聪英,应永飞,等.高效液相色谱-串联质谱法测定动物尿液中23种 β -受体激动剂[J].中国兽药杂志,2013,47(9):46-52
ZHOU Wei, HU Cong-ying, YING Yong-fei, et al. Determination of 23 β -agonists in animal urine by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2013, 47(9): 46-52
- [14] 叶培,岳振峰,肖陈贵,等.液相色谱-串联质谱法检测猪肉中28种 β_2 -受体激动剂[J].食品安全质量检测学报, 2013, 4(9):682-688
YE Pei, YUE Zhen-feng, XIAO Chen-gui, et al. Determination of 28 β_2 -agonists in pork by liquid chromatography- tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2013, 4 (9): 682-688
- [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): 193-201
JIN Yu-e, GUO De-hua, 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): 193-201
- [16] 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 Jian-rong, ZHU Ming-li, 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
- [17] 王海涛,于焱,杜启云,等.血液透析器膜材料研究进展[J].膜科学与技术,2009,29 (1):96-100
WANG Hai-tao, YU Tian, DU Qi-yun, et al. Research progress on membrane materials for hemodialysis [J]. Membrane Science and Technology, 2009, 29(1): 96-100
- [18] 李玲,匡琼芝,闵犁园,等.减压膜蒸馏淡化罗布泊地下苦咸水研究[J].水处理技术,2007,33 (1):67-70
LI Ling, KUANG Qiong-zhi, MIN Li-Yuan, et al. Study of brackish water derackish water desalination by vacuum membrane distillation [J]. Technology of Water Treatment, 2007, 33(1): 67-70
- [19] Gonzalez P, Fente C A, Franco C, et al. Determination of residues of the β -agonist clenbuterol in liver of medicated farm animals by gas chromatography mass spectrometry using diphasic dialysis as an extraction procedure[J]. Journal of Chromatography B, 1997, 693(2): 321-326
- [20] GB/T 22286-2008,动物源性食品中多种 β -受体激动剂残留量的测定液相色谱串联质谱法[S]
GB/T 22286-2008, Determination of β -agonists residues in foodstuff of animal origin-liquid chromatography with tandem-mass spectrometric method [S]
- [21] Churchwella M I, Twaddle N C, Meeker L R, et al. Improving LCMS sensitivity through increases in chromatographic performance: comparisons of UPLC-ES/MS/MS to HPLC-ES/MS/MS [J]. Chromatogr B, 2005, 825(2): 134-143
- [22] Jose B, Patricia M, Miguel M, et al. Determination of clenbuterol, ractopamine and zilpaterol in liver and urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Anal. Chim. Acta., 2005, 529: 199-205