

全新一代三重四极杆液质联用仪TSQ Fortis 针对18种 β -受体激动剂的检测方法

汪洋, 徐牛生, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司色谱质谱部

关键词

β -受体激动剂, TSQ Fortis, 兽药残留

摘要

本文利用赛默飞全新液相色谱串联三重四极杆质谱Vanquish Horizon-TSQ Fortis建立了快速检测18种 β -受体激动剂类化合物的方法。此18种化合物在0.05-500 ng/mL浓度范围内线性关系良好 ($r^2 > 0.993$), LOD及LOQ均能满足国标规定的检测要求, 运用本方法和设备可实现对动物源性食品中 β -受体激动剂类化合物的检出和定量。

1、引言

β -受体激动剂在医学临床上可用于治疗支气管哮喘、阻塞性肺炎等病症, 同时也可用于治疗马、牛的晚产和流产。20世纪80年代初期, 一系列试验研究发现当 β -受体激动剂使用剂量是治疗剂量5-10倍时, 可以使猪、牛、羊等动物脂肪分解代谢增强, 蛋白质合成速度增加, 若长期使用含有 β -受体激动剂的饲料, 可以提高饲料转化率, 同时能增加动物体重和肌肉组织含量, 以提高瘦肉率, 起到营养再分配作用。但是长期使用会对机体产生毒副作用。目前猪、牛、羊等动物通常使用过量的 β -受体激动剂类药物以促进生长, 致使 β -受体激动剂在动物体内造成蓄积。人类食用含有 β -受体激动剂残留的动物性食品后, 会对人体健康造成极大危害, 严重时可引发急性中毒反应, 常见中毒症状表现为肌肉震颤或疼痛, 心率过快, 头痛眩晕、恶心呕吐等, 严重时可导致休克造成死亡。

由于 β -受体激动剂所产生的危害, 2012年5月1日实施的《饲料和饲料添加剂管理条例》规定禁止将国务院农业行政部门公布的包括 β -受体激动剂在内的任何物质添加到饲料中。国家标准《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》(GB/T 22286-2008)适用于猪肝和猪肉中沙丁

胺醇、特布他林和塞曼特罗等11种 β -受体激动剂的检测, 该方法利用液相色谱-串联质谱技术, 采用多反应监测(MRM)模式检测, 内标法定量, 目标物的检出限为0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。国家标准《河豚鱼、河鳗和烤鳗中12种 β -受体激动剂残留量的测定液相色谱-串联质谱法》(GB/T 22950-2008)适用于河豚鱼、河鳗和烤鳗中溴布特罗、塞曼特罗和克伦特罗等12种 β -受体激动剂的确证和定量, 利用液相色谱-串联质谱法检测, 采用多反应监测(MRM)模式检测, 内标法定量; 莱克多巴胺、沙丁胺醇、塞曼特罗、克仑潘特罗和克伦特罗的方法检出限为0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 其它化合物的方法检出限为0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2. 实验部分

2.1 仪器与试剂

2.1.1 Thermo Fisher Vanquish Binary Horizon超高效液相色谱仪

2.1.2 Thermo Fisher TSQ Fortis三重四极杆质谱仪

2.1.3 甲醇(色谱纯, 美国Thermo Fisher公司); 实验用水为Milli-Q去离子水; 甲酸(色谱纯, SIGMA)

2.1.4 18种 β -受体激动剂类化合物标准品均购自德国Dr.Ehrenstrofer公司

2.2 化合物信息及溶液配制

2.2.1 本实验涉及的18种 β -受体激动剂类化合物的基本信息见表1。

表1 18种β-受体激动剂类化合物信息

化合物名称	分子式	分子量	CAS号
克伦特罗(Clenbuterol)	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O	277.19	37148-27-9
马布特罗(Mabuterol)	C ₁₃ H ₁₈ ClF ₃ N ₂ O	310.74	56341-08-3
齐帕特罗(Zilpaterol)	C ₁₄ H ₁₉ N ₃ O ₂	261.32	117827-79-9
西马特罗(Cimaterol)	C ₁₂ H ₁₇ N ₃ O	219.28	54239-37-1
溴布特罗(Brombuterol)	C ₁₂ H ₁₈ BrN ₂ O	366.09	41937-02-4
克伦潘特(Clenpenterol)	C ₁₃ H ₂₁ Cl ₃ N ₂ O	327.68	37158-47-7
莱克多巴胺(Ractopamine)	C ₁₈ H ₂₃ NO ₃	301.38	97825-25-7
沙丁胺醇(Salbutamol)	C ₁₃ H ₂₁ NO ₃	239.31	18559-94-9
特布他林(Terbutaline)	C ₁₂ H ₁₉ NO ₃	225.29	23031-25-6
福莫特罗(Formoterol)	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₄	344.41	73573-87-2
异克舒令(Isoxsuprine)	C ₁₈ H ₂₄ ClNO ₃	337.84	579-56-6
利托君(Ritodrine)	C ₁₇ H ₂₁ NO ₃	287.35	26652-09-5
苯乙醇胺A(Phenylethanolamine A)	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₄	344.17	1346746-81-3
氯丙那林(Clorprenaline)	C ₁₁ H ₁₆ ClNO	213.71	3811-25-4
妥布特罗(Tulobuterol)	C ₁₂ H ₁₈ ClNO	227.73	41570-61-0
班布特罗(Bambuterol)	C ₁₈ H ₂₉ N ₃ O ₅	367.45	81732-65-2
西布特罗(Cimbuterol)	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O	233.31	54239-39-3
羟甲基克伦特罗(Hydroxy-methylclenbuterol)	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₂ O ₂	293.19	38339-18-3

2.2.2 储备液：分别精确称取5 mg标准品粉末，溶解于50 mL甲醇中

2.2.3 系列标准曲线：以50:50 甲醇水作为溶剂，稀释成系列标准曲线 0.02 ng/mL-500 ng/mL

2.3 色谱条件：

色谱柱：Thermo Hypersil GOLD aQ (1.9 μm, 100 x 2.1 mm)
；柱温：30℃；进样量：5 μL；

流动相：A为0.1%甲酸水，B为0.1%甲酸甲醇，梯度洗脱程序见表2。

表2 梯度洗脱程序

时间	A%	B%	流速mL/min
0.0	100	0	0.3
6.0	70	30	0.3
9.0	60	40	0.3
11.0	10	90	0.3
12.0	100	0	0.3
16.0	100	0	0.3

2.4 质谱条件：

可加热电喷雾电离源 (HESI) ，正离子扫描模式；扫描方式：SRM；喷雾电压 (+)：3500V；离子传输管温度：300℃；鞘气压力38 arb；辅助气压力 4 arb；离子源温度：450℃；碰撞气压力：1.5 mTorr；选择反应监测离子对信息见表3。

表3 18种β-受体激动剂类化合物质谱采集参数

Compound	Precur-sor (m/z)	Product (m/z)	Collision Energy (V)	Tube Lens (V)	Source Fragmentation
氯丙那林	214.125	195.97*	11.95	88	9.8
		154.054	17.13		
西马特罗	220.162	202.042*	9.68	90	8.2
		160.196	16.67		
特布他林	226.062	152.095*	16.04	101	13.1
		125.071	24		
妥布特罗	228.112	154.125*	16.25	88	9.8
		118.429	28.8		
西布特罗	234.162	160.125*	14.6	92	9.8
		143.071	25.09		
沙丁胺醇	240.175	148.125*	18.14	93	9.8
		222.125	10.48		
齐帕特罗	262.175	244.196*	12.58	111	11.4
		185.042	23.87		
克伦特罗	277.088	202.946*	16.04	96	9.8
		258.75	10.6		
利托君	288.175	270.149*	12.75	104	9.8
		121.071	22.35		
克伦潘特罗	291.088	202.958*	15.74	97	9.8
		273.095	10.64		
羟甲基克伦特罗	293.088	275.083*	11.49	101	9.8
		202.958	17.81		
异克舒令	302.175	284.196*	13.93	100	9.8
		107	28.42		
莱克多巴胺	302.175	164.167*	15.57	103	9.8
		284.202	11.61		
马布特罗	311.138	237.048*	17.01	101	9.8
		293.042	11.28		
福莫特罗	345.175	149.125*	19.03	103	11.4
		327.125	13.38		
苯乙醇胺A	345.225	327.036*	12.29	102	8.2
		150.125	22.23		
溴布特罗	367	292.875*	18.23	105	8.2
		348.958	11.87		
班布特罗	368.212	294.042*	18.82	110	11.4
		72.125	31.66		

注：带*的为定量离子

3.实验结果与讨论

3.1 灵敏度测试

采用上述仪器分析方法，18种β-受体激动剂类化合物在16分钟内均可获得良好的色谱峰，图1为18种β-激动剂类化合物在LOQ (0.05-0.1 ng/mL) 浓度的提取离子流图。

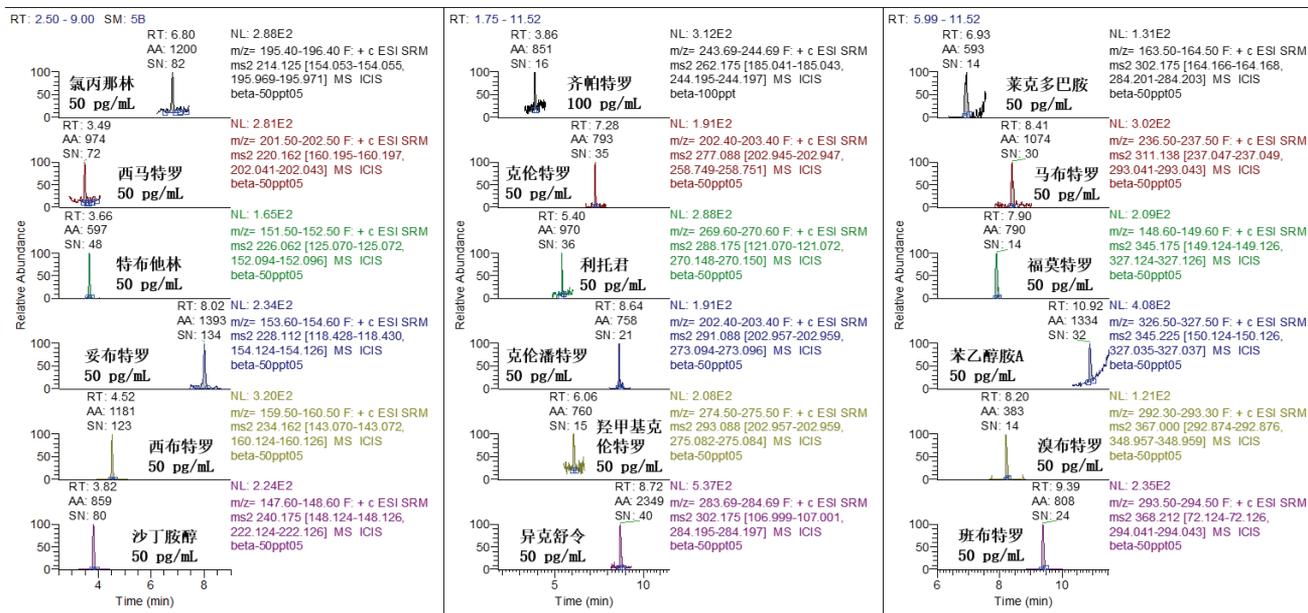


图1 18种β-受体激动剂类化合物在LOQ (0.05-0.1 ng/mL)浓度的提取离子流图

3.2 线性范围测试

采用上述仪器分析方法，对18种β-受体激动剂类化合物进行线性范围测试，线性相关系数 r^2 均大于0.993，线性关系良好。18种β-受体激动剂类化合物LOD ($S/N \geq 3$)、LOQ ($S/N \geq 10$)、线性范围及线性相关系数见表4，化合物标准曲线图见图2。

表4 18种β-受体激动剂类化合物的LOD、LOQ、线性范围及线性相关系数

Compound	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Linearity range (ng/mL)	Linearity(r^2)
氯丙那林	0.02	0.05	0.05-100	0.9961
西马特罗	0.02	0.05	0.05-100	0.9970
特布他林	0.02	0.05	0.05-100	0.9958
妥布特罗	0.02	0.05	0.05-200	0.9977
西布特罗	0.02	0.05	0.05-500	0.9973
沙丁胺醇	0.02	0.05	0.05-100	0.9946
齐帕特罗	0.05	0.1	0.1-200	0.9965
克伦特罗	0.02	0.05	0.05-200	0.9980
利托君	0.02	0.05	0.05-100	0.9978
克伦潘特罗	0.02	0.05	0.05-200	0.9972
羟甲基克伦特罗	0.02	0.05	0.05-200	0.9972
异克舒令	0.02	0.05	0.05-100	0.9993
莱克多巴胺	0.02	0.05	0.05-100	0.9961
马布特罗	0.02	0.05	0.05-200	0.9964
福莫特罗	0.02	0.05	0.05-200	0.9977
苯乙醇胺A	0.02	0.05	0.05-500	0.9972
溴布特罗	0.02	0.05	0.05-200	0.9962
班布特罗	0.02	0.05	0.05-200	0.9934

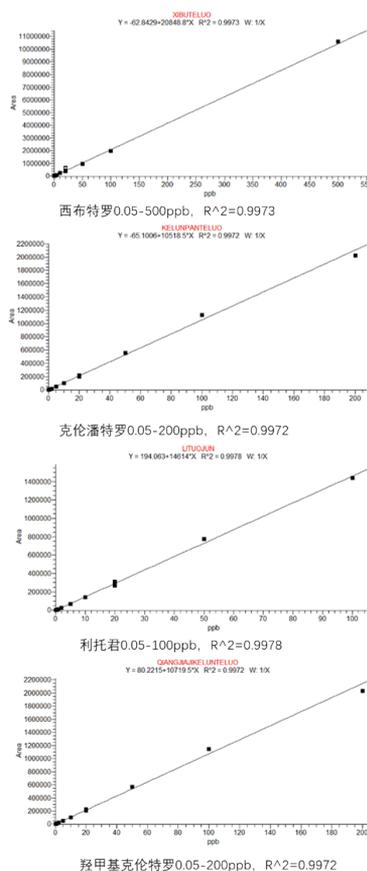


图2 β-受体激动剂类典型化合物标准曲线图

3.3 稳定性测试

采用上述仪器分析方法，对18种β-受体激动剂类化合物进行稳定性测试，考察浓度0.5 ng/mL，进样量5 μL 连续进样6针，实验结果见表5。18种β-受体激动剂类化合物相对标准偏差 (RSD) 均小于6%，实验结果证明仪器具有良好的稳定性。

表5 18种 β -受体激动剂类化合物连续6针的峰面积及RSD值(C=0.5 ppb, N=6)

	0.5 ppb-1	0.5 ppb-2	0.5 ppb-3	0.5 ppb-4	0.5 ppb-5	0.5 ppb-6	RSD%
氯丙那林	6045	6119	6409	6280	6078	6056	2.39
西马特罗	14466	14751	14935	15162	15157	15323	2.11
特布他林	9000	8904	9283	9886	9489	9601	3.98
妥布特罗	8483	8608	8955	8601	8600	8438	2.11
西布特罗	7226	7662	7600	7102	7304	7484	2.99
沙丁胺醇	8956	9135	9155	8753	8644	9941	5.06
齐帕特罗	4724	4596	4785	4758	4813	5022	2.91
克伦特罗	5500	5416	5555	5563	5399	5638	1.67
利托君	6597	6669	6615	6651	6761	6901	1.71
克伦潘特罗	6801	7180	6489	6715	6315	6791	4.42
羟甲基克伦特罗	4622	4697	4853	4637	4597	4866	2.52
异克舒令	20387	20011	19977	20749	20429	20234	1.42
莱克多巴胺	4099	4254	4187	4407	3931	4402	4.35
马布特罗	8094	8402	8200	8370	7993	8563	2.57
福莫特罗	5158	5776	5481	5321	5798	5379	4.67
苯乙醇胺A	13505	12944	13100	13036	12776	12996	1.87
溴布特罗	3118	2922	3135	3065	3107	3277	3.69
班布特罗	8479	8428	8344	8157	7974	7837	3.16

4. 总结

本文利用ThermoFisher新一代三重四极杆液质联用仪TSQ Fortis 建立了同时分析18种 β -受体激动剂类化合物的检测方法。实验结果可以看出，基于ThermoFisher TSQ Fortis建立的检测方法不仅具有优异的灵敏度和线性范围，同时具备优异的重现性。本方法可用于18种 β -受体激动剂类化合物的日常分析检测。



赛默飞
官方微信

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com