

气相色谱质谱联用测定猪肉中瘦肉精含量

GCMS-071

摘要：建立了猪肉中盐酸克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇的气相色谱-质谱联用的检测方法。样品经提取后，用稀盐酸反萃取，萃取的样液调PH至5.2后用SCX固相萃取小柱净化，分离的药物残留经N,O-双三甲基硅烷三氟乙酰胺(BSTFA)衍生，选择离子监测方式进行气相色谱质谱测定。猪肉中盐酸克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇在10~2000 µg/L浓度范围内线性良好，相关系数r在0.997以上。盐酸克伦特罗、沙丁胺醇和莱克多巴胺在加标浓度为40~500 µg/kg之间时，回收率均大于70%。盐酸克伦特罗的检出限为0.60 µg/kg，满足NY/T 468-2006《动物组织中盐酸克伦特罗的测定气相色谱/质谱法》中检测限为2.0 µg/kg的要求。

关键词：盐酸克伦特罗 沙丁胺醇 盐酸莱克多巴胺 气相色谱-质谱

盐酸克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇属于 β_2 -受体激动剂，具有促进动物体内营养物质由脂肪组织向肌肉组织转移的作用。但是动物在食用含盐酸克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇的饲料后，会造成在肌肉及组织中不同程度的残留，人体过量的摄入这种药物会发生中毒等毒副作用，我国已经于2002年明确将其列入《禁止在饲料和动物饮用水中使用的药品物种目录》。由于近年来我国加大了对盐酸克伦特罗使用的监管力度，有些不法分子转而非法使用莱克多巴胺和沙丁胺醇，严重影响了我国畜禽产品的安全。因此，对于研究动物组织中同时测定盐酸克伦特罗、沙丁胺醇和莱克多巴胺残留量具有十分重要的意义。

对于瘦肉精的检测，常用的检测方法有酶免疫法、HPLC法、LC-MS法、GCMS法等。因GCMS法具有灵敏度高、假阳性率低的特点，常用作筛选后阳性样品的确证。NY/T 468-2006标准规定了动物组织中盐酸克伦特罗的测定气相色谱/质谱法，方法的检出限为2.0 µg/kg。本文建立了使用岛津气相色谱质谱法检测猪肉中盐酸克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇的方法，具有灵敏、准确、稳定的特点。

实验部分

1.1 仪器与试剂

仪器：岛津GCMS-QP2010 Ultra

试剂：盐酸克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇标准品，N,O-双三甲基硅基三氟乙酰胺(BSTFA)，SCX固相萃取小柱(500 mg, 3 mL)

标准溶液的配制：

准确称取盐酸克伦特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇标准品，用甲醇配成浓度为1 mg/mL的标准储备液，放置于4℃冰箱中避光保存，使用时用甲醇稀释成1 µg/mL的标准使用液。

1.2 分析条件

色谱柱：Rtx-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 µm)

进样口温度：220℃

柱温程序：70℃(0.6 min) 25℃/min 200℃(6 min)
25℃/min 280℃(15 min)

恒线速度方式，柱流量0.9 mL/min

不分流进样，进样时间1 min

接口温度：280℃

离子源温度：200℃

溶剂切割时间：8 min

选择离子监测(带下划线的为定量离子，其余为定性离子)：

盐酸克伦特罗：m/z 86, 212, 262, 277

沙丁胺醇：m/z 86, 350, 369, 440

莱克多巴胺：m/z 179, 192, 250, 267

分析结果

2.1 盐酸克伦特罗、沙丁胺醇、莱克多巴胺的测定

200 ng/mL混合标准工作液经衍生后总离子流图如图1~2所示，盐酸克伦特罗、沙丁胺醇、莱克多巴胺的保留时间分别为9.946、10.123和18.357 min。

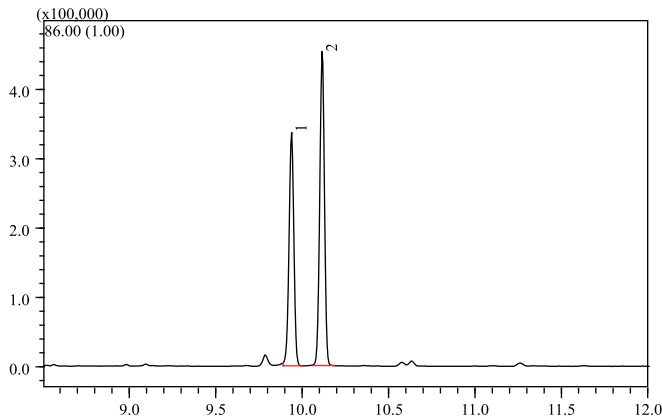


图1 标准溶液衍生化总离子流图(8~12 min)

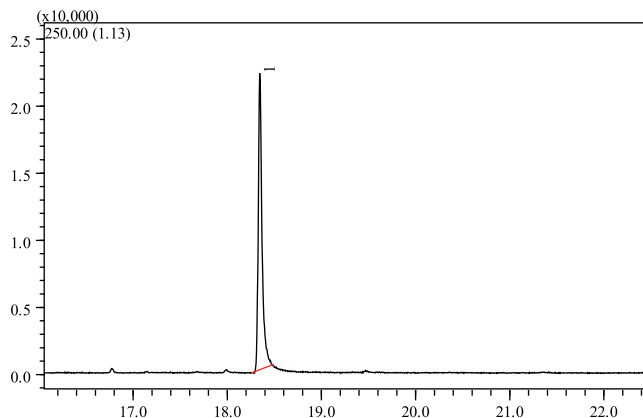


图2 标准溶液衍生化总离子流图(16~22 min)

2.2 线性关系

吸取0.5mL浓度为10, 40, 200, 800, 1600和2000 ng/mL的混合标准工作液加入到4.5 mL 4%氨化甲醇溶液中，氮气吹干后，加入100 μ L甲苯和100 μ L BSTFA，在80 $^{\circ}$ C的烘箱中加热衍生1 h，衍生结束冷却后加入0.3 mL甲苯转入进样瓶中，进行气相色谱质谱分析。以浓度为横坐标，定量离子的峰面积比为纵坐标，绘制校准曲线。所得校准曲线线性关系良好，相关信息见表1。

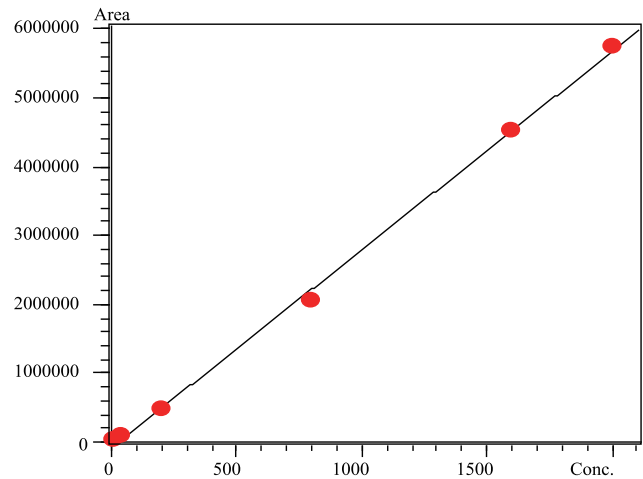


图3 盐酸克伦特罗标准曲线

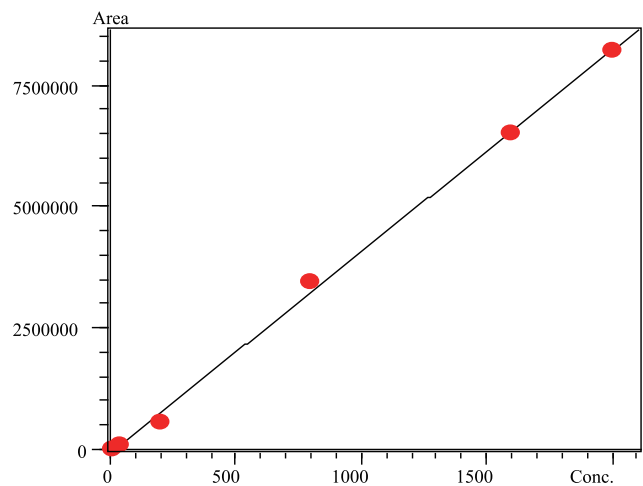


图4 沙丁胺醇标准曲线

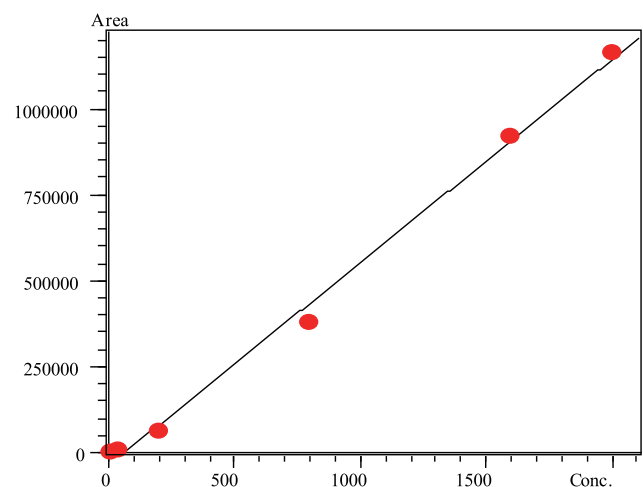


图5 莱克多巴胺标准曲线

2.3 精密度实验

40 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准工作液经以上所述衍生反应后连续测定5次,考察方法的精密度,保留时间和峰面积的重现性如表1-3所示。

表1 盐酸克伦特罗重现性数据(n=5)

ID	Ret. Time	Peak Area
1	9.947	70758
2	9.948	70904
3	9.946	73102
4	9.946	72212
5	9.945	74044
Average	9.946	72204
RSD%	0.01	1.96

表2 沙丁胺醇重现性数据(n=5)

ID	Ret. Time	Peak Area
1	10.123	82029
2	10.124	81968
3	10.124	84163
4	10.124	83195
5	10.121	87156
Average	10.123	83702
RSD%	0.01	2.55

表3 莱克多巴胺重现性数据(n=5)

ID	Ret. Time	Peak Area
1	18.358	7564
2	18.360	7325
3	18.355	7892
4	18.358	7958
5	18.356	7745
Average	18.357	7697
RSD%	0.01	3.34

2.4 回收率

在空白猪肉中添加不同浓度的标准溶液,对猪肉中盐酸克伦特罗、沙丁胺醇和莱克多巴胺进行了添加回收率实验(结果见表4)。图6~7为猪肉中加标浓度为500 $\mu\text{g/kg}$ 的总离子流图。猪肉中盐酸克伦特罗、沙丁胺醇和莱克多巴胺的各浓度点添加回收率均在70%以上,能满足现行兽药残留分析的要求。

表4 盐酸克伦特罗、沙丁胺醇和莱克多巴胺回收率

样品	加标量($\mu\text{g/kg}$)	回收率(%)
盐酸克伦特罗	40	80.2
	200	83.3
	500	75.1
沙丁胺醇	40	74.5
	200	73.1
	500	70.1
莱克多巴胺	40	84.2
	200	90.9
	500	87.5

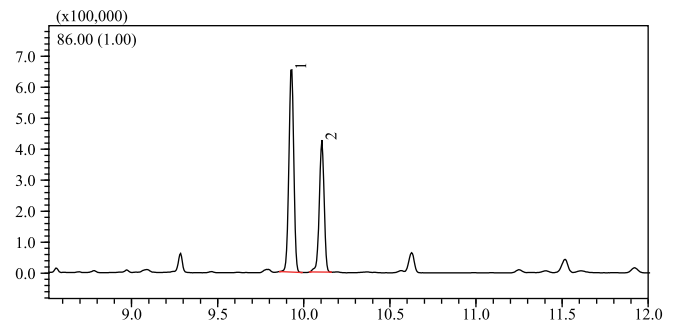


图6 猪肉加标500 $\mu\text{g/kg}$ 总离子流图(8~12 min)

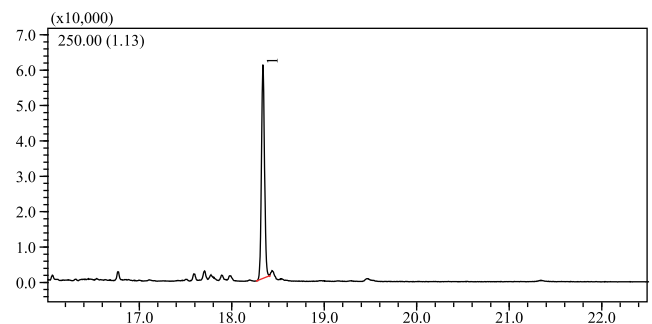


图7 猪肉加标500 $\mu\text{g/kg}$ 总离子流图(16~22 min)

2.5 检测限

按信噪比为3时计算该方法对盐酸克伦特罗的检测限为0.60 $\mu\text{g/kg}$,满足NY/T 468-2006中检测限为2.0 $\mu\text{g/kg}$ 的要求。

结论

本文建立了气相色谱质谱联用法测定猪肉中瘦肉精类物质的分析方法。该方法具有检测限低、重现性好、回收率高等特点,适合于猪肉样品中该类物质的定性、定量测定。