

采用睿科 Fotector-06C 全自动固相萃取仪分析猪肉中的 4 种 β -激动剂类药物

摘要

依据《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》，试样中的 β -激动剂经过酶解，用高氯酸调节 pH 值，沉淀蛋白后离心，上清液用氢氧化钠调节 pH 后用异丙醇-乙酸乙酯提取，用 Fotector-06C/阳离子交换柱净化，采用液相色谱-串联质谱法进行测定，内标法定量，定量结果在 7.83 ng/g ~10.57 ng/g 之间（加标为 8 ng/g），RSD 在 3.0~6.0% 之间，符合标准要求的两次对的实验结果的绝对差值不得超过算术平均值的 30%。

简介

“瘦肉精”属于 β -激动剂类化合物，包括盐酸克仑特罗、莱克多巴胺和沙丁胺醇等十几种物质，是一类动物用药的统称，属于肾上腺类神经兴奋剂。任何能够促进瘦肉生长、抑制动物脂肪生长的物质都可以叫做“瘦肉精”，对于减少脂肪增加瘦肉作用非常好。“瘦肉精”让猪的单位经济价值提升不少，但它有很危险的副作用，会引起心律不齐甚至是心脏病，在上海曾经引发几百人的中毒事件。

由于“瘦肉精”严重的危害，国务院食品安全委员会办公室发布《“瘦肉精”专项整治方案》（食安办〔2011〕14 号），加大对“瘦肉精”残留检测的力度，睿科作为专业的自动固相萃取仪生产商，拥有雄厚的技术能力，利用 Fotector-06C 全自动固相萃取仪，根据《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》建立瘦肉精药物分析方法。

仪器与耗材

睿科 Fotector-06C 全自动固相萃取仪，液质联用仪 Agilent 1260+Agilent 6410 ESI，氮气吹干装置。

Waters MCX 固相萃取柱（60mg/3mL），乙酸乙

酯、异丙醇、甲醇均为 TEDIA 色谱纯；甲酸、高氯酸、氨水、氢氧化钠； β -盐酸葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶。

标准品：莱克多巴胺盐酸盐，克伦特罗盐酸盐，沙丁胺醇，特布他林硫酸盐，100ng/g。

内标物：沙丁胺醇-D3，克伦特罗-D9，10ng/g。

实验方法

1. 酶解

准确称取 2g（精确到 0.01g）经捣碎的样品于 50mL 离心管内，加入 0.2mol/L 乙酸钠溶液（pH=5.2）8.0mL，再加入 β -盐酸葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶 50 μ L，漩涡混匀，于 37 $^{\circ}$ C 下避光水浴水解 12h。

2. 提取

添加 100 μ L 的内标工作液与待测样品中，加盖置于水平振荡器震荡 15min，5000r/min 高速离心 10min，取 4mL 上清液于另一 50mL 离心管中，加入 0.1mol/L 高氯酸溶液 5mL，漩涡混匀，用高氯酸调节 PH 至 1.0 \pm 0.3，5000r/min 离心 10min，将上清液转移至另一 50mL 离心管中，用 10mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 11，加入饱和氯化钠溶液 10mL，加入异丙醇：乙酸乙酯=6:4 10mL，充分提取，5000r/min 离心 5min，吸取全部有机相到睿科 Fotector-06C 上样瓶 50 $^{\circ}$ C 下氮气吹干，加入 0.2M 乙酸铵溶液 5mL 溶解，超声混匀，使残渣充分溶解后备用。

3. 净化

将 MCX 小柱固定在 Fotector-06C 上，按照图 1 进行固相萃取净化，洗脱液定容至 1mL。

No.	操作命令	溶剂	流速 (ml/min)	体积 (ml)	时间 (min)	排出
1	活化	甲醇	2.0	3	3.2	溶剂1
2	活化	水	2.0	3	3.2	溶剂1
3	上样		1.0	5	10.2	溶剂1
4	清洗样品瓶	2%甲酸水	80.0	5	0.3	溶剂1
5	淋洗	水	2.0	2	2.2	溶剂1
6	淋洗	2%甲酸水	2.0	2	2.2	溶剂2
7	淋洗	甲醇	2.0	2	2.2	溶剂1
8	干燥				5.0	
9	洗脱	5%氨水甲醇	0.5	2	8.2	收集试管
10	气推				0.3	
11	结束				37.0	
12						

图 1 Fotector-06C 运行程序

实验结果与讨论

1. 4 种瘦肉精类药物在质谱上都有很好的响应(图 2)

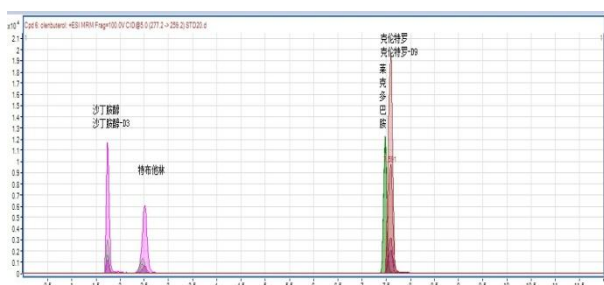


图 2 4 种瘦肉精类标准品(20ng/g)MRM 图谱

2. 在 8ng/g 的加标水平下, 样品经过前处理提取, 萃取后, 用 Fotector-06C 净化, 通过内标法定量, 定量结果在 7.83~10.57ng/g, RSD2.0~6.0%之间 (n=3), 满足标准要求, 检测结果如表 1 所示。

表 1 检测结果 (内标校正, 加标量为 8 ng/g, ng/g)

化合物	S01	S02	S03	Avg	RSD
盐酸克伦特罗	8.21	7.83	8.42	8.15	3.7
莱克多巴胺	8.16	7.84	8.12	8.04	2.2
硫酸沙丁胺醇	7.94	7.66	8.13	7.91	3.0
特布他林	10.49	9.68	10.57	10.25	6.1

备注: 其中克伦特罗的内标为克伦特罗-D9; 沙丁胺醇、特布他林与莱克多巴胺的内标为沙丁胺醇-D3。

3. Fotector-06C 能够自动的完成整个固相萃取流程, 从活化到上样, 清洗样品瓶, 洗脱, 浓缩一步到位, 省时省事。

4. Fotector-06C 将固相萃取的每个流程自动化, 减小了人工操作带来的误差, 获得了手动固相萃取无法达到的 RSD 水平。

结论

利用睿科 Fotector-06C 全自动固相萃取系统能够很好的重现《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》, 定量结果在 7.83~10.57ng/g 之间 (加标为 8ng/g), RSD 在 3.0~6.0%之间, 符合 GB/T 22286 中对结果控制的要求。