Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

ACQUITY UPLC/Xevo TQ-S快速分析猪尿液中的21种β-受体激动剂

耿霞
沃特世科技(上海)有限公司

应用优势

- 提供了一种猪尿液基质中21种β-受体激动剂的快速检测方法
- 高灵敏度定量的同时实现定性确认

沃特世解决方案

QUANPEDIA™

PICs™

ACQUITY UPLC® /Xevo® TQ-S系统

关键词

21种β-受体激动剂

QUANPEDIA

PICs

Xevo TQ-S

前言

瘦肉精：一类动物用药的统称，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”。 目前，能够实现这种功能的物质是一类叫做β-受体激动剂的药物，将其混入猪饲料进行饲养，能促进猪的生长速度、提高瘦肉率，同时使肉色鲜红，卖相更好。与传统瘦肉精盐酸克伦特罗同属“肾上腺受体激动剂”的莱克多巴胺等同类药物同样也能提高猪的瘦肉率。

盐酸克伦特罗的检测方法主要有酶联免疫吸附法(ELISA)、胶体金免疫层析法、高效液相色谱法、气质联用法及液质联用法。国家标准GB/T 5009.192-2003 动物性食品中克伦特罗残留量的测定中规定方法为气相色谱-质谱法(GC-MS)、高效液相色谱法、酶联免疫法，其方法检出限均为0.5 μg/kg。SN/T 1924—2007 进出口动物源食品中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、特布他林残留量的检测方法采用LC-MS-MS法，该方法因具有高灵敏度等优点被普遍使用。本文使用UPLC®/Xevo TQ-S对猪尿液中的21种β-受体激动剂进行了分析。

实验条件

超高效液相色谱分离条件

色谱系统: ACQUITY UPLC

运行时间: 10 min

色谱柱: ACQUITY® BEH C_{18}
1.7 µm, 2.1mm x 100mm

流动相: A: 0.1%甲酸水
B: 乙腈

流速: 0.40 mL/min

进样体积: 10 µL

流动相梯度表:

Time	Flow	%A	%B	Curve
0	0.400	99.0	1.0	Initial
0.50	0.400	99.0	1.0	6
2.00	0.400	90.0	10.0	6
4.50	0.400	80.0	20.0	6
6.50	0.400	70.0	30.0	6
7.00	0.400	50.0	50.0	6
8.00	0.400	30.0	70.0	6
8.50	0.400	1.0	99.0	6
9.00	0.400	1.0	99.0	6
10.00	0.400	99.0	1.0	1

质谱条件

质谱系统: Xevo TQ-S

离子模式: ESI+

毛细管电压: 3.5 kv

源温度: 150 °C

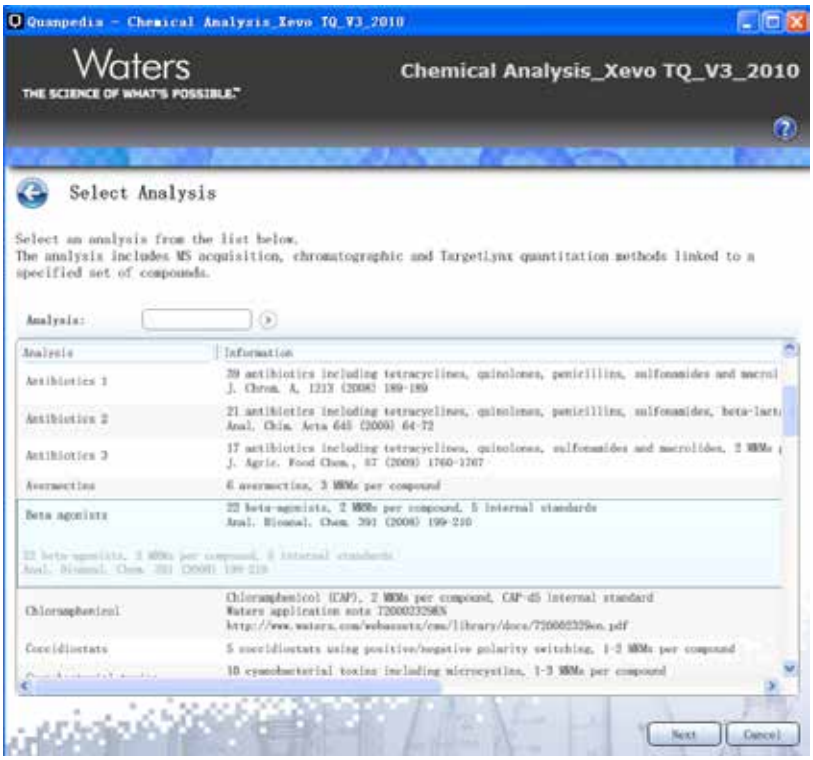
雾化气温度: 500 °C

雾化气流速: 900 L/hr

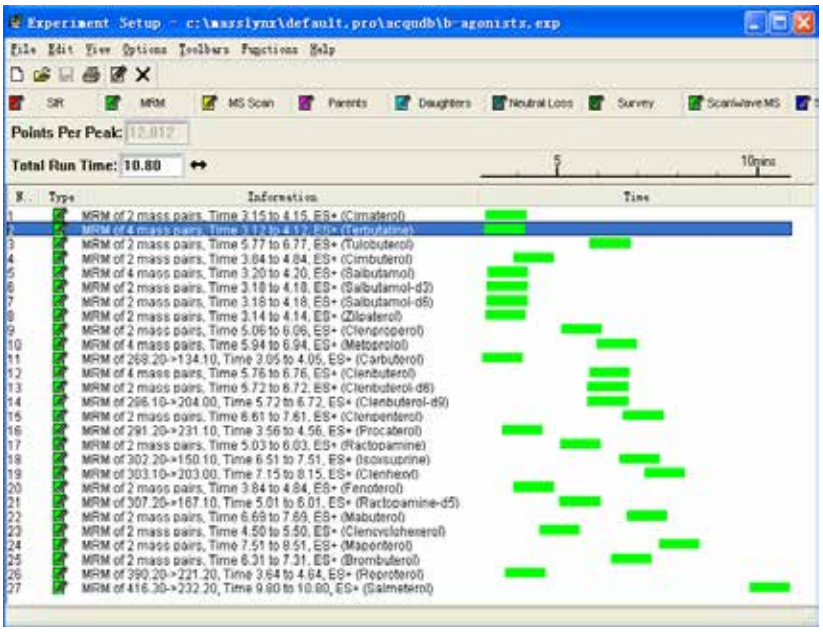
MRM 条件: QUANPEDIA数据库

QUANPEDIA是沃特世特有的一种可扩展和可搜索的数据库，提供LC-MS-MS定量方法信息，目前数据库已有超过1200种化合物，包括色谱方法、质谱方法、定量方法等，可以自由选择其中的任意化合物或化合物种类自动形成所需的方法，不需要再进行手动方法开发过程。

下图为数据库得到的方法信息:



自动生成MRM方法:



样品制备

样品制备参照GB/T 22286-2008《动源性食品中多种β-受体激动剂残留量的测定》进行。

1. 量取2.0 mL猪尿液样品，加入8 mL 0.2M的pH 5.2的乙酸钠缓冲液，充分混匀。
2. 加入50 Lβ-Glucuronidase/aryl sulfatase混匀，于37 °C水浴水解过夜。
3. 水解液振荡15min，在5000r/min条件下离心分离10min后，取4mL上清液中添加100 µL 10 ng/mL的内标溶液混匀，加入5 mL 0.1M高氯酸混合均匀，并调节溶液pH值到1±0.3。以5000 r/mim条件下离心分离10 min后，移取上清液并用10M的氢氧化钠溶液调节pH值到11。
4. 加入10 mL饱和氯化钠溶液和10 mL异丙醇-乙酸乙酯(6:4)混合溶液，离心分离后取有机相，在40 °C水浴下用氮气将其吹干。
5. 提取残渣中加入5 mL 0.2M乙酸钠缓冲液(pH 5.2)，超声混匀溶解残渣。
6. 样品净化(如下图所示)，使用Oasis® MCX(3 cc/60mg)小柱。
7. 净化后的洗脱液用氮气吹干，用流动相溶解定容至1.0 mL，过0.22 µm滤膜，待进样分析。

固相提取净化过程Oasis MCX(3 cc/60mg)：

结果与讨论

本方法采用一次进样同时监测猪尿液样品中的21种β-受体激动剂进行检测，在灵敏度、分离度等方面均获得满意的结果。

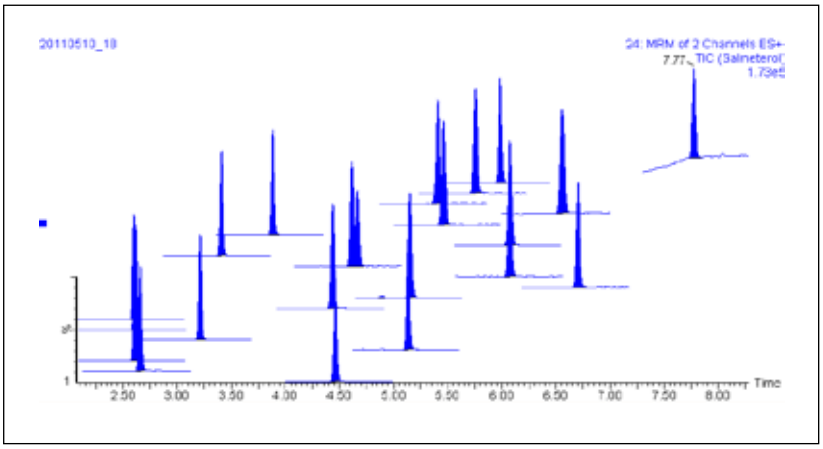


图1. 21种β-受体激动剂总离子流图。

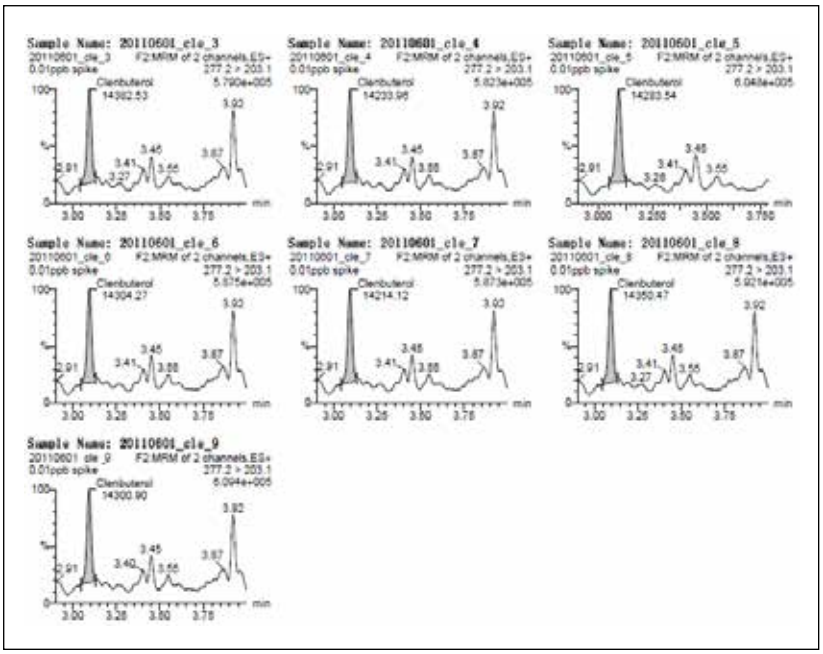


图2. 猪尿液基质中0.01 ng/mL克伦特罗连续7针进样重复性(峰面积RSD=0.42%)。

与常规串联四极杆质谱仪不同的是，Xevo TQ-S在提供最好的定量数据的同时，还可以提供高质量的光谱MS/MS信息。对猪尿液中含0.5 ng/mL的受体激动剂样品，启用PICs(子离子确认扫描)功能，可在不影响MRM定量的同时得到各化合物子离子扫描图，与标样子离子图进行匹配，对样品中阳性结果定性起到帮助判断的作用。

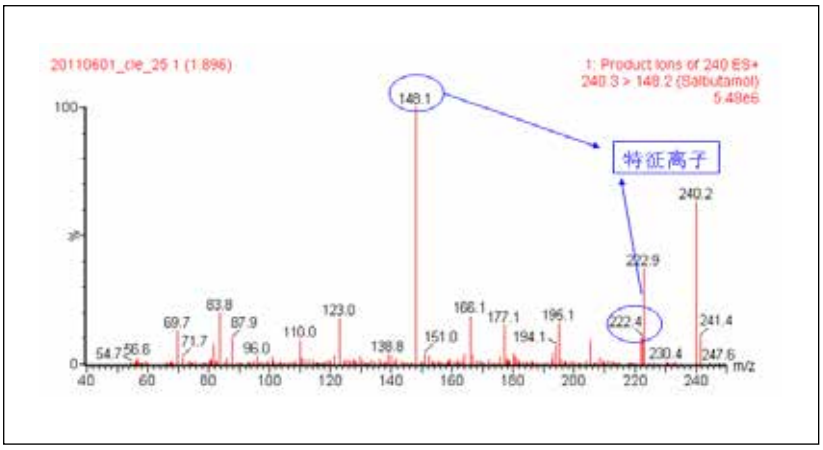


图3. 猪尿液基质中0.5 ng/mL沙丁胺醇子离子扫描图。

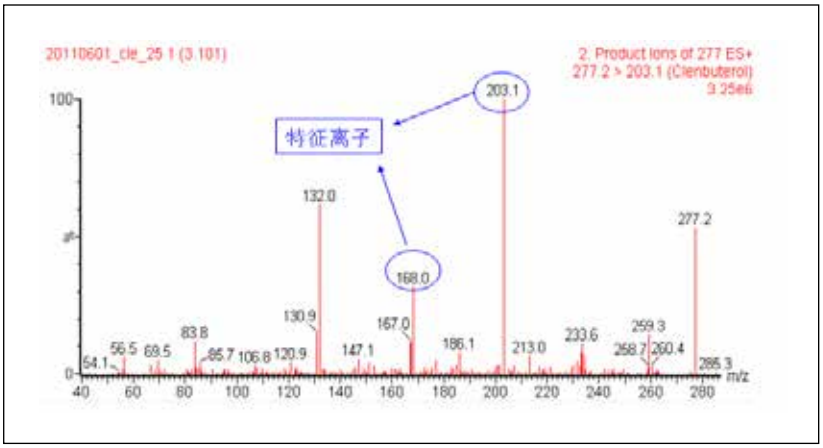


图4. 猪尿液基质中0.5 ng/mL克伦特罗子离子扫描图。

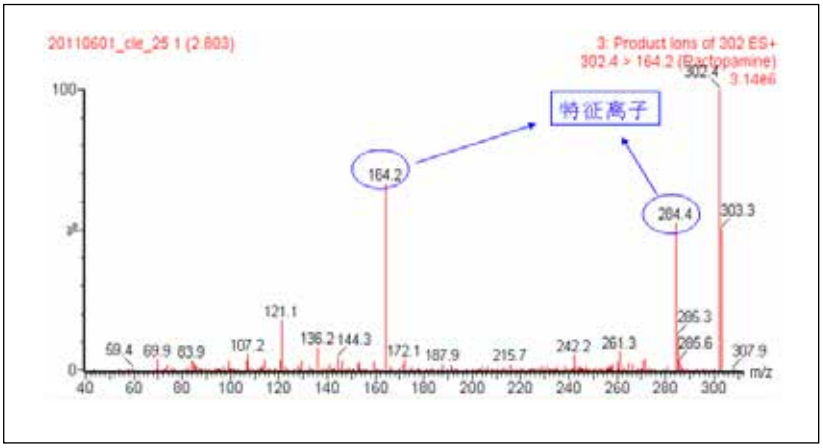


图5. 猪尿液基质中0.5 ng/mL莱克多巴胺子离子扫描图。

结论

本方法采用多离子反应监测(MRM)方式对21种β-受体激动剂进行检测，具有快速、准确、灵敏度高、分析周期短、适用范围广等优点，适用于各类动物组织或动物源性食品等的测定。

IntelliStart™技术可以使得开发分析方法过程变成流线型工作流程。这意味着需要更少的时间来开发方法，大大提高工作效率。强大的QUANPEDIA数据库包含上千种化合物的方法，自动生成方法文件让您轻松简单快速应对各种突发事件。PICs(子离子确认扫描)功能提供最好的定量数据的同时，还可以提供高质量的光谱MS/MS信息，对样品中阳性结果定性起到帮助判断的作用。

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

ACQUITY UPLC, ACQUITY, UPLC, Xevo, Oasis, Waters和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。

QUANPEDIA, PICs和IntelliStart沃特世公司的商标。其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2014年 沃特世公司

2014年7月 印制于中国

沃特斯中国有限公司
沃特世科技(上海)有限公司

北京: 010 - 5209 3866
上海: 021 - 6156 2666
广州: 020 - 2829 5999
成都: 028 - 6578 4990
香港: 852 - 2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676
www.waters.com