

电喷雾电离源 (ESI) 鉴定 β -受体激动剂

朱辉, 黄保

(广州禾信仪器股份有限公司, 广东 广州 510530)

摘要: 使用电喷雾电离源 (ESI) 鉴定 β -受体激动剂, 试验结果表明: 数据重复性良好, 操作简便, 满足检测需求

关键词: β -受体激动剂; 质谱

在电喷雾电离源 (ESI) 条件下, 优化仪器的电压参数和鉴定 β -受体激动剂 (非诺特罗、福莫特罗、莱克多巴胺和异丙喘宁) 目标物的正负极性、特征离子峰等信息。

利用优化好的参数, 对非诺特罗、福莫特罗、莱克多巴胺和异丙喘宁的检测限进行测试, 评估在 ESI 模式下仪器的灵敏度能否达到动物源性食品中 β -受体激动剂 (非诺特罗、福莫特罗、莱克多巴胺和异丙喘宁) 残留测定液相色谱-串联质谱法 (GB/T 21313-2007) 的法定检出限 (各 0.1 μ g/kg)。

1 测试条件

1.1 实验样品

采用的标品为非诺特罗、福莫特罗、莱克多巴胺和异丙喘宁相关标准信息如下两表所示:

表 1 非诺特罗、福莫特罗、莱克多巴胺和异丙喘宁标准品测试信息

序号	样品	分子式	分子量	CAS	检测离子 (\pm)	主特征峰 (m/z)	来源
1	非诺特罗	$C_{17}H_{21}NO_4$	303.14704	13392-18-2	[M+H] ⁺ /[M-H] ⁻	304.15486/ 302.13921	安诺提供
2	福莫特罗	$C_{19}H_{24}N_2O_4$	344.17358	73573-87-2	[M+H] ⁺ /[M-H] ⁻	345.18141/ 343.16576	安诺提供
3	莱克多巴胺	$C_{18}H_{24}ClNO_3$	337.14445	97825-25-7	[M-HCl+H] ⁺ /[M-HCl-H] ⁺	302.17560/ 300.15995	安诺提供
4	异丙喘宁	$C_{11}H_{17}NO_3$	211.12083	586-06-1	[M+H] ⁺ /[M-H] ⁻	212.12865/ 210.11300	安诺提供

表 2 β -受体激动剂在食品安全国家标准中的测试方法

标准	检测限	定量限	标品
动物源性食品中 β -受体激动剂 残留检测方法 液相色谱-质谱/ 质谱法 (GB/T 21313-2007)	0.1ug/kg	0.3ug/kg	克伦特罗、沙丁胺醇、妥布特罗、 特布它林 非诺特罗、福莫特罗、莱克多巴胺、 异丙喘宁
动物源性食品中多种 β -受体激 动剂残留测定 液相色谱串联 质谱法 (GB/T 22286-2008)	0.5ug/kg	/	克伦特罗、沙丁胺醇、特布它林、 塞曼特罗、塞布特罗、莱克多巴胺 溴布特罗、苯氧丙酚胺、马布特罗、 马贲特罗、溴代克伦特罗

1.2 实验仪器

ESI-TOF-9(L); 注射泵: LAP01-2A;

1.3 实验条件

微量注射泵流速: 5ul/min 或 20ul/min

电离模式: ESI+/ESI-, 电压: 4000V/-4000V

雾化气气压: 0.3MPa

进样口温度: 240°C

2 实验方法

2.1 标品配制

100ug/L 的非诺特罗溶液: 取 30uL 的 10mg/L 非诺特罗溶液和 2970ul 甲醇混匀即可。

1ug/L 的非诺特罗溶液: 取 30uL 的 100ug/L 非诺特罗溶液和 2970ul 乙腈混匀即可。

0.1ug/L 的非诺特罗溶液: 取 300uL 的 100ug/L 非诺特罗溶液和 2700ul 乙腈混匀即可。

100ug/L 的福莫特罗溶液: 取 30uL 的 10mg/L 福莫特罗溶液和 2970ul 甲醇混匀即可。

1ug/L 的福莫特罗溶液: 取 30uL 的 100ug/L 福莫特罗溶液和 2970ul 甲醇混匀即可。

0.1ug/L 的福莫特罗溶液: 取 300uL 的 1ug/L 福莫特罗溶液和 2700ul 甲醇混匀即可。

100ug/L 的莱克多巴胺溶液: 取 30uL 的 10mg/L 莱克多巴胺溶液和 2970ul 甲醇混匀即可。

1ug/L 的莱克多巴胺溶液: 取 30uL 的 100ug/L 莱克多巴胺溶液和 2970ul 乙腈混匀即可。

0.1ug/L 的莱克多巴胺溶液：取 300uL 的 1ug/L 莱克多巴胺溶液和 2700ul 乙腈混匀即可

100ug/L 的异丙喘宁溶液：取 30uL 的 10mg/L 异丙喘宁溶液和 2970ul 甲醇混匀即可。

1ug/L 的异丙喘宁溶液：取 30uL 的 100ug/L 异丙喘宁溶液和 2970ul 甲醇混匀即可。

0.1ug/L 的异丙喘宁溶液：取 300uL 的 1ug/L 异丙喘宁溶液和 2700ul 甲醇混匀即可

2.2 具体操作方法

(1) 用 500 μ L 的平头进样针取 100ug/L 的非诺特罗测试液，通过微量注射泵以 5ul/min 的流速进行进样，分别通过 ESI 正负离子模式对 100ug/L 浓度非诺特罗进行特征峰检测；同时以 20ul/min 的流速进样，在 ESI+模式下以脉冲模式下检测 0.1ug/L 的标品质谱信号和乙腈空白的噪音，并记录实验结果。

(2) 用 500 μ L 的平头进样针取 100ug/L 的福莫特罗测试液，通过微量注射泵以 5ul/min 的流速进行进样，分别通过 ESI 正负离子模式对 100ug/L 浓度福莫特罗进行特征峰检测；同时以 20ul/min 的流速进样，在 ESI+/ESI-模式下以脉冲模式下检测 0.1ug/L 的标品质谱信号和甲醇空白的噪音，并记录实验结果。

(3) 用 500 μ L 的平头进样针取 100ug/L 的莱克多巴胺测试液，通过微量注射泵以 5ul/min 的流速进行进样，分别通过 ESI 正负离子模式对 100ug/L 浓度莱克多巴胺进行特征峰检测；同时以 20ul/min 的流速进样，在 ESI+模式下以脉冲模式下检测 0.1ug/L 的标品质谱信号和乙腈空白的噪音，并记录实验结果。

(4) 用 500 μ L 的平头进样针取 100ug/L 的异丙喘宁测试液，通过微量注射泵以 5ul/min 的流速进行进样，分别通过 ESI 正负离子模式对 100ug/L 浓度异丙喘宁进行特征峰检测；同时以 20ul/min 的流速进样，在 ESI+模式下以脉冲模式下检测 0.1ug/L 的标品质谱信号和甲醇空白的噪音，并记录实验结果。

3 实验结果

3.1 100ug/L 和 0.1ug/L 的非诺特罗实验结果

结果如下图 1 所示，浓度为 100ug/L 的非诺特罗甲醇溶液以 5ul/min 速率进样单秒对应的质量为 8.3pg，其在正离子模式下检测到的特征离子峰主要为准分子离子峰 304.1614。在负离子模式下检测到目标离子为 302.1612。

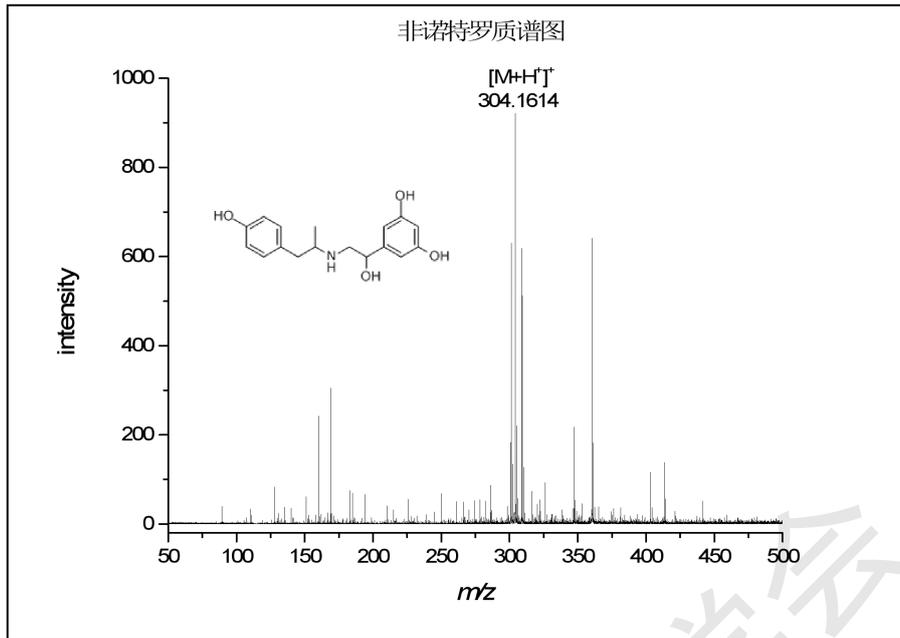


图 1 100ug/L 非诺特罗正离子模式下质谱图

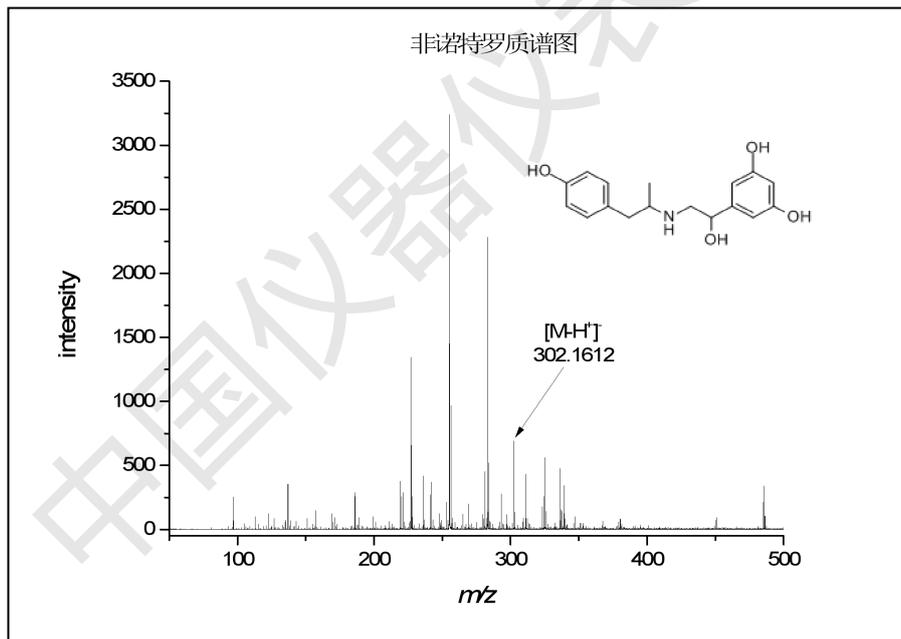


图 2 100ug/L 非诺特罗负离子模式下质谱图

浓度为 0.1ug/L 的非诺特罗乙腈溶液以 20ul/min 速率进样，在 ESI+脉冲模式下单秒对应的质量为 33fg，因进样量加大和脉冲模式电噪音干扰较大，故低浓度标品质谱信号和乙腈空白噪音谱图都为扣掉脉冲模式下甲醇本底的质谱图（以下其他标品相同），见下图 3，其检测到质谱信号强度约为 60，乙腈空白噪音约为 5，信噪比 S/N 为 >3。

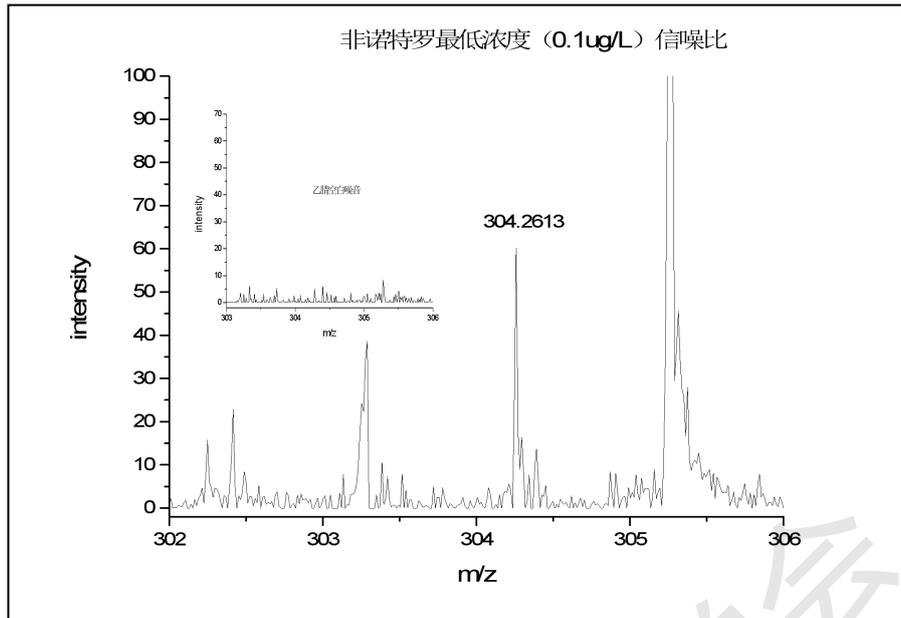


图3 0.1µg/L 非诺特罗乙醇溶液信噪比

3.2 100µg/L 和 0.1µg/L 的福莫特罗实验结果

结果如下图4所示，浓度为100µg/L的福莫特罗甲醇溶液以5µl/min速率进样单秒对应的质量为8.3pg，其在正离子模式下检测到的特征离子峰主要为345.1809、327.1681和149.1033，其中 $[M+H]^+$ 345.1809为准分子离子峰，327.1681和149.1033分别为碎片峰 $[M-H_2O+H]^+$ 和 $[M-C_9H_{12}N_2O_3+H]^+$ 。在负离子模式下100µg/L的福莫特罗检测到准分子离子峰 $[M-H]^+$ 为343.1806，见图5。

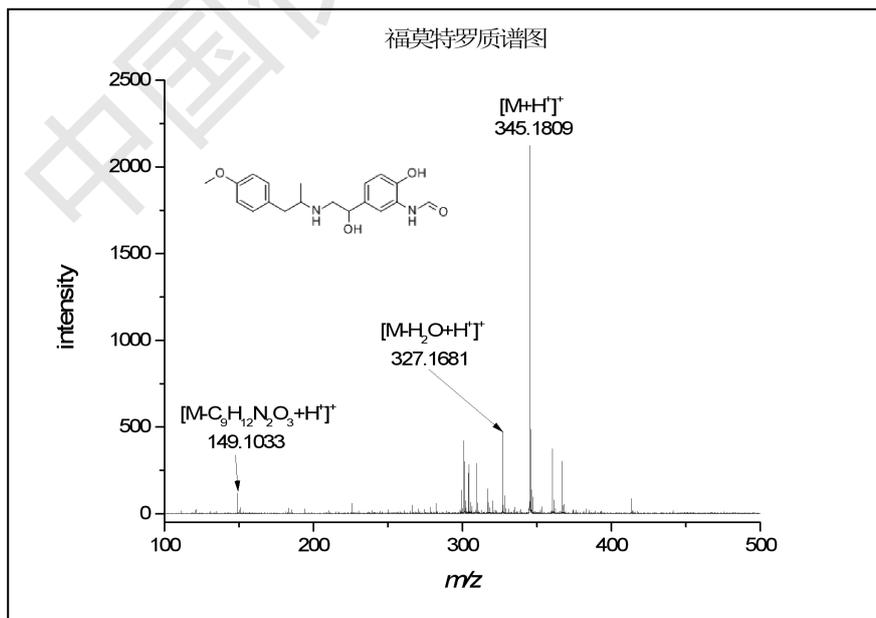


图4 100µg/L 福莫特罗正离子模式质谱图

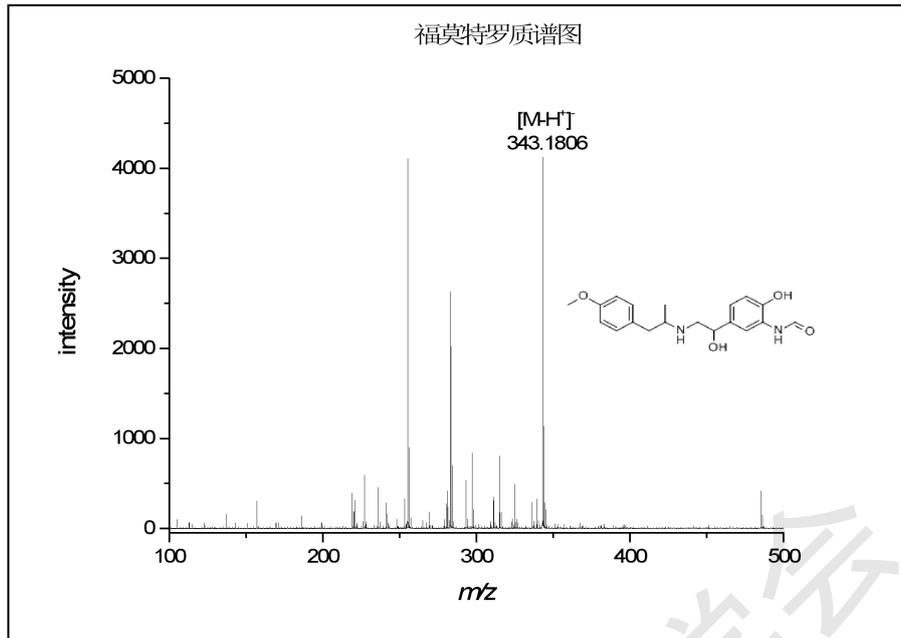


图 5 100ug/L 福莫特罗负离子模式质谱图

浓度为 0.1ug/L 的福莫特罗甲醇溶液以 20ul/min 速率进样，在 ESI+脉冲模式下单秒对应的质量为 33fg，见下图 6，其检测到质谱信号强度约为 100，甲醇空白噪音约为 15，信噪比 S/N 为 >3；在负离子模式下同条件下 0.1ug/L 福莫特罗其检测到质谱信号强度约为 70，甲醇空白噪音约为 8，信噪比 S/N 为 >3，见下图 7。

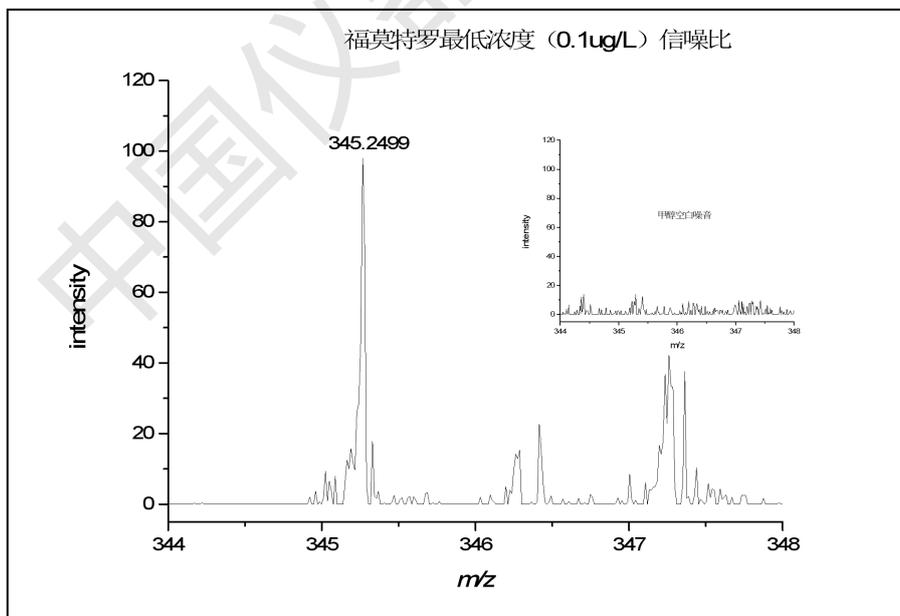


图 6 0.1ug/L 福莫特罗甲醇溶液正离子模式信噪比

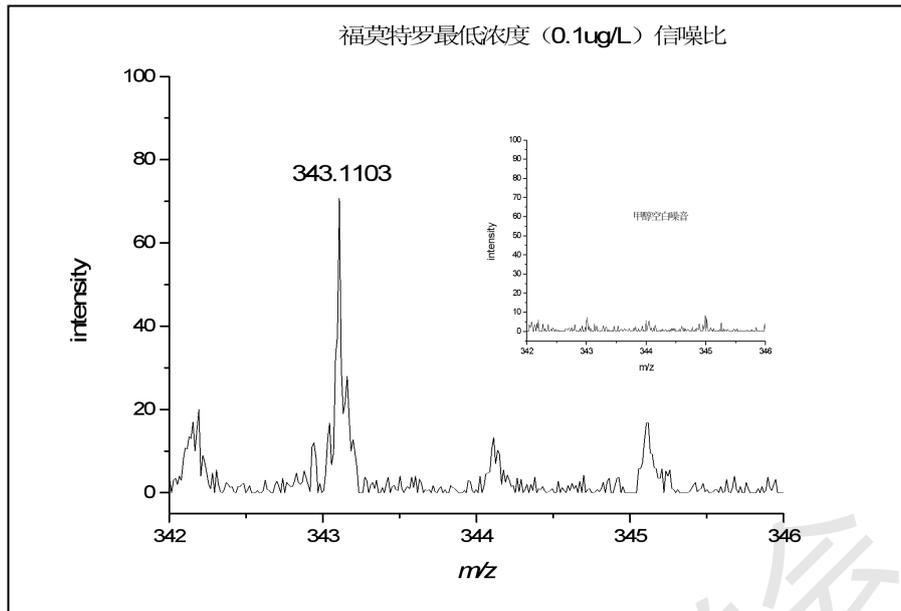


图 7 0.1µg/L 福莫特罗甲醇溶液负离子模式信噪比

3.3 100µg/L 和 0.1µg/L 的莱克多巴胺实验结果

浓度为 100µg/L 的莱克多巴胺甲醇溶液以 5µl/min 速率进样单秒对应的质量为 8.3pg, 其在正离子模式下检测到的特征离子峰主要为 302.2077、284.1966 和 164.1140, 其中 $[M-HCl+H]^+$ 302.2077 为主峰, 284.1966 和 164.1140 为碎片峰 $[M-H_2O-HCl+H]^+$ 和 $[M-C_8H_8O_2-HCl+H]^+$, 见下图 8。在负离子模式下其特征离子峰为 $[M-HCl-H]^-$ 300.1478, 见下图 9。

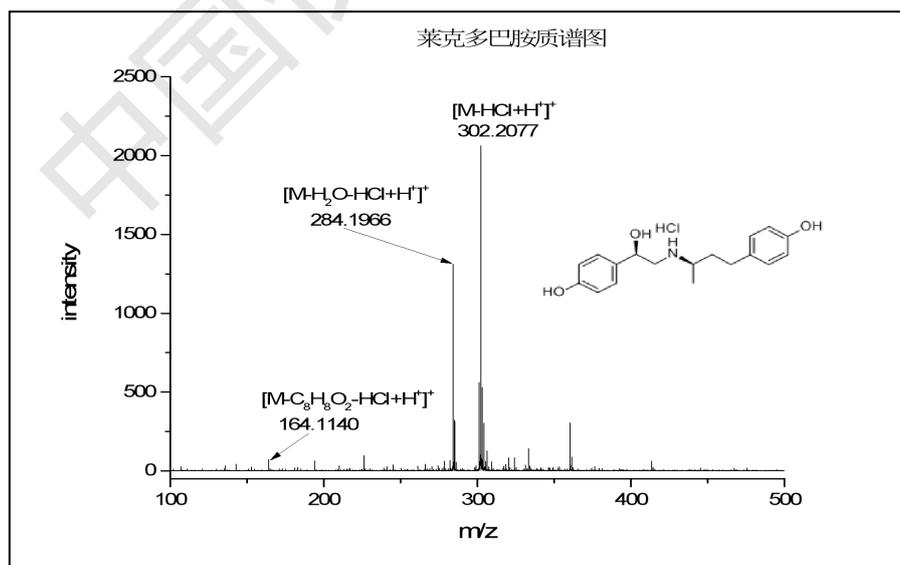


图 8 100µg/L 莱克多巴胺正离子模式质谱图

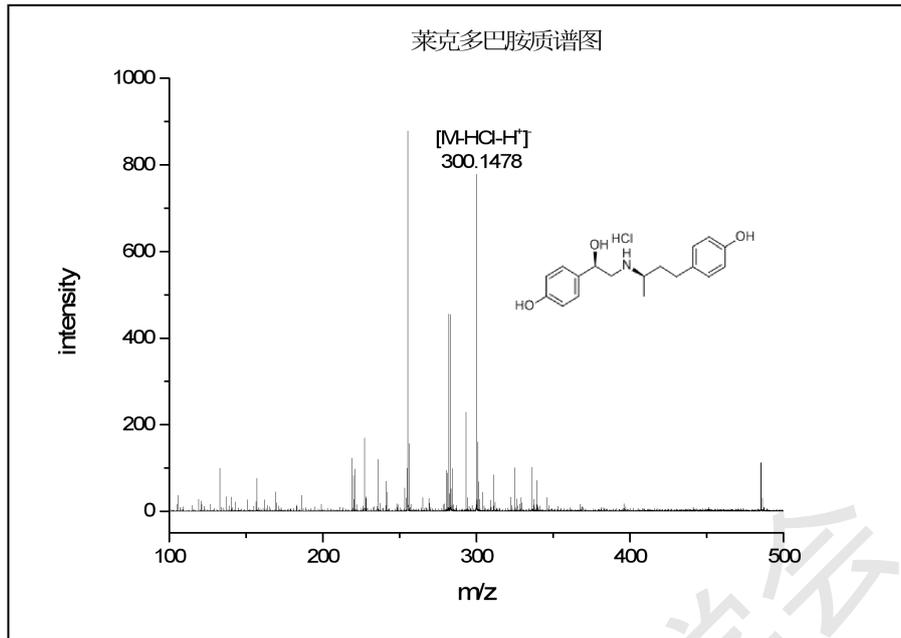


图9 100ug/L 莱克多巴胺负离子模式质谱图

浓度为 0.1ug/L 的莱克多巴胺甲醇溶液以 20ul/min 速率进样，在 ESI+脉冲模式下单秒对应的质量为 33fg，见下图 10，其检测到质谱信号强度约为 68，乙腈空白噪音约为 8，信噪比 S/N 为 >3。

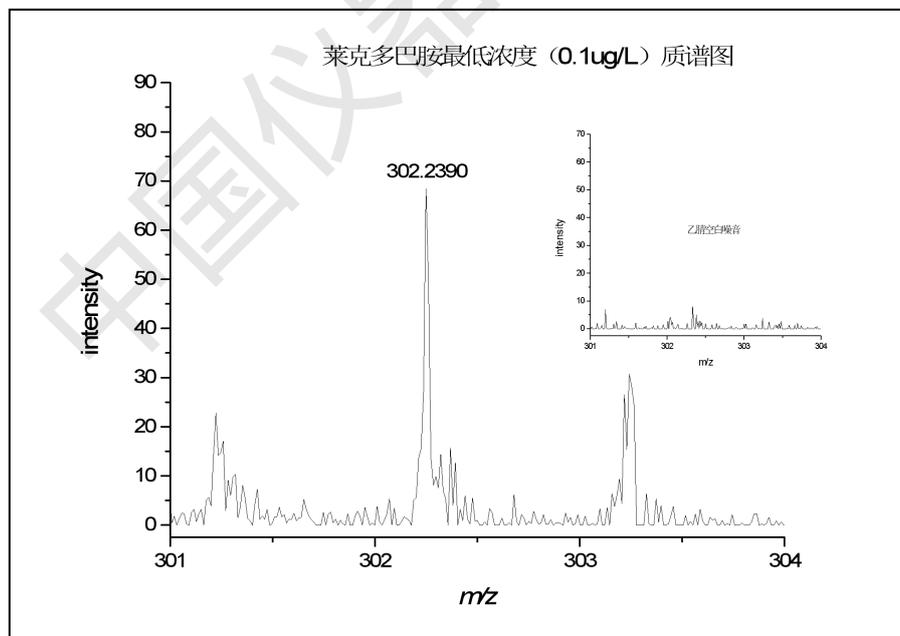


图10 0.1ug/L 莱克多巴胺溶液正离子模式信噪比

3.4 100ug/L 和 0.1ug/L 的异丙喘宁实验结果

结果如下图 11 所示, 浓度为 100ug/L 的异丙喘宁甲醇溶液以 5ul/min 速率进样单秒对应的质量为 8.3pg, 其在正离子模式下检测到的特征离子峰主要为 212.1286、194.1155 和 152.0663, 其中 $[M+H]^+$ 212.1286 为准分子离子峰, 194.1155 和 152.0663 为碎片峰 $[M-H_2O+H]^+$ 和 $[M-C_3H_{10}N+H]^+$ 。在负离子模式下 100ug/L 的异丙喘宁检测到准分子离子峰 $[M-H^-]$ 为 210.1187, 见图 12。

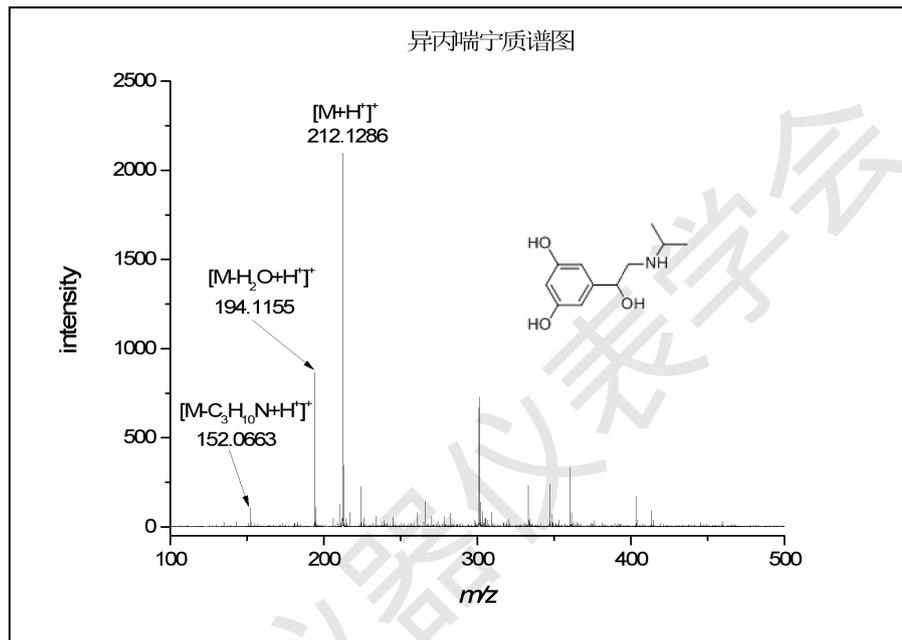


图 11 100ug/L 异丙喘宁正离子模式质谱图

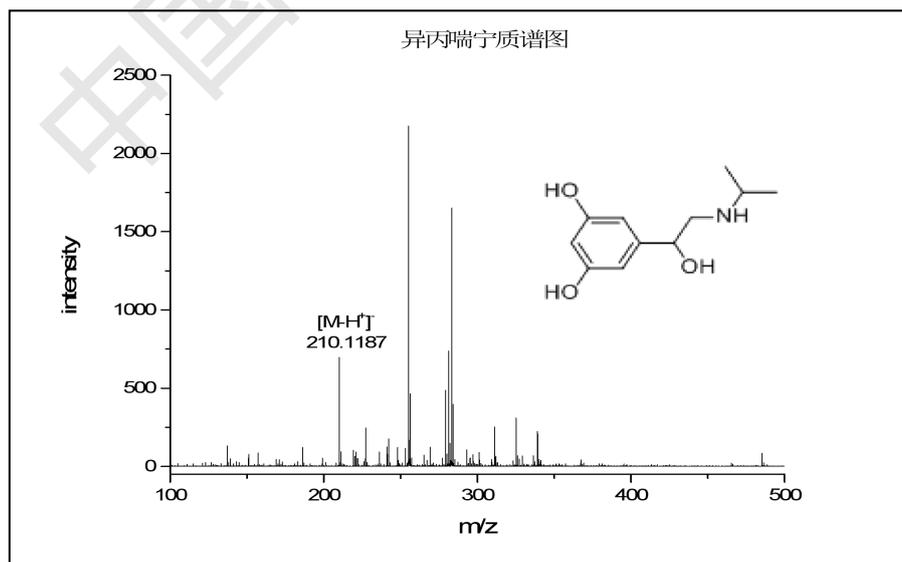


图 12 100ug/L 异丙喘宁负离子模式质谱图

浓度为 0.1 $\mu\text{g/L}$ 的异丙喘宁甲醇溶液以 20 $\mu\text{l/min}$ 速率进样，在 ESI+脉冲模式下单秒对应的质量为 33fg，见下图 13，其检测到质谱信号强度约为 74，甲醇空白噪音约为 13，信噪比 S/N 为 >3 。

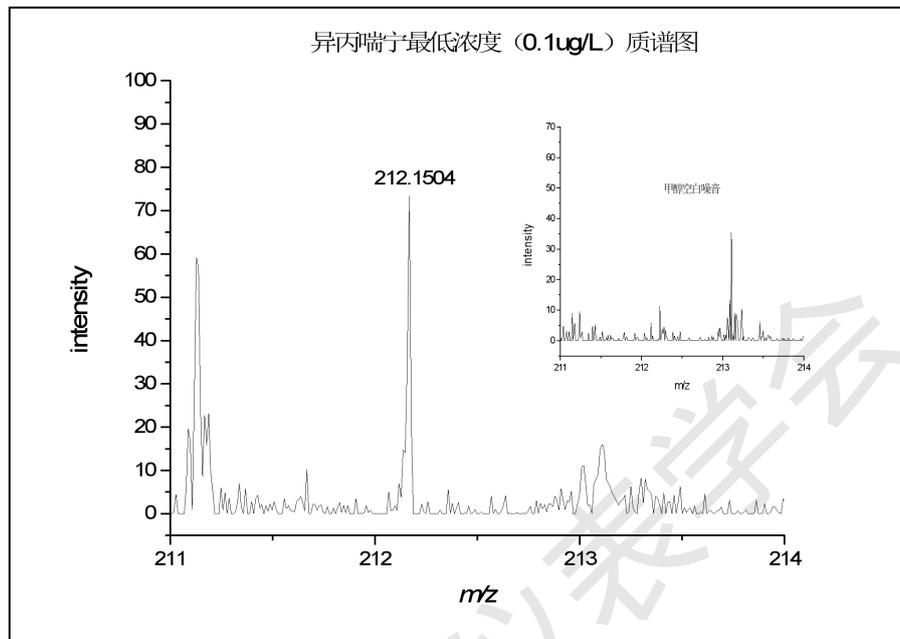


图 13 0.1 $\mu\text{g/L}$ 异丙喘宁溶液正离子模式下信噪比

4 测试结论

通过 ESI-TOF 测试非诺特罗、福莫特罗、莱克多巴胺和异丙喘宁等瘦肉精添加物，在正离子模式下，通过增加样品的进样量 (20 $\mu\text{l/min}$)，以及切换样品的富集模式 (脉冲模式)，提高灵敏度，使它们的最低检出限达到 0.1 $\mu\text{g/L}$ ，达到动物源性食品中 β -受体激动剂残留检测方法 液相色谱-质谱/质谱法 (GB/T 21313-2007) 最低法定检出限标准 (0.1 $\mu\text{g/kg}$)，优于动物源性食品中多种 β -受体激动剂残留测定 液相色谱串联质谱法 (GB/T 22286-2008) 最低法定检出限标准 (0.5 $\mu\text{g/kg}$)。

除了国标推荐的 ESI+模式测试方法外，还对这四种目标物在 ESI-模式下进行定性分析，四种目标物都检测出有明显的特征离子峰；同时还对福莫特罗在负离子模式下进行检测，最低检出限也达到 0.1 $\mu\text{g/L}$ ，满足法检要求。

附录

1 动物源性食品中 β -受体激动剂残留检测方法 液相色谱-质谱/质谱法 (GB/T 21313-2007)

2 动物源性食品中多种β-受体激动剂残留测定 液相色谱串联质谱法（GB/T 22286-2008）

3 ESI-TOF-9(L)电压参数

相同部分电压

中低压	正/负 (V)	高压	正/负 (V)	脉冲	/
capillary	100/-100	Grid	-48.4/54.5	脉冲 1	950/-950
Focus Lens	100/-100	B-plate	1143.5/-1143	脉冲 2	-950/950
DCQ Up	-11.5/11.5	Focus	-525/525	COM	24/0
DCQ Down	-11/11.5	ACCE	-4000/4000	SkimmerL/SkimmerH	11/-11
DCQ Left	-9.5/10	MCP	2250/5690	脉冲频率	10KHz
DCQ Right	-11/11.5	ESI	4000/-4000	脉冲宽度	8us
Out Orifice	5/-5	RFQ 频率	1.4MHz	温度	240°C
Lens Up	4/-4	MIR 频率	700KHz		
Lens Down	4.05/-3.96	RFQ 偏置	11.5/-14		

各目标物电压异值

ESI+参数	非诺特罗	福莫特罗	莱克多巴胺	异丙喘宁
Out-Plate(V)	63	65	65	59
Sk1(V)	20	20	20	20
脉冲模式 skimmerH (V)	17.5	17	20	17.5
脉冲延时(us)	33	37.5	35	27.5
Skimmer 脉宽 (us)	68	65	65	68
RFQ-Vp-p(V)	700	700	700	700
MIR-Vp-p(V)	120	120	100	90
MIR_B(V)	75	75	75	75
MIR_E(V)	40.5	55	55	52.5