

电喷雾电离源 (ESI) 鉴定 β -受体激动剂二

黄保, 朱辉

(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 (克伦特罗、沙丁胺醇、妥布特罗和特布它林) 目标物的正负极性、特征离子峰等信息。

利用优化好的参数, 对克伦特罗、沙丁胺醇、妥布特罗和特布它林的检测限进行测试, 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 (克伦特罗、沙丁胺醇、妥布特罗和特布它林) 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

采用的标品为克伦特罗、沙丁胺醇、妥布特罗和特布它林相关标准信息如下两表所示。

表一 克伦特罗、沙丁胺醇、妥布特罗和特布它林标准品测试信息

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	克伦特罗	$C_{12}H_{18}Cl_2N_2O$	276.07960	37148-27-9	$[M-C_4H_{10}O]^+$	202.9947	安诺提供
2	沙丁胺醇	$C_{13}H_{21}NO_3$	239.15213	18559-94-9	$[M+H]^+/[M-H]^-$	240.15995/ 238.14430	安诺提供
3	妥布特罗	$C_{12}H_{18}ClNO$	227.10768	41570-61-0	$[M+H]^+$	228.11550	安诺提供
4	特布它林	$C_{12}H_{19}NO_3$	225.13648	23031-25-6	$[M+H]^+/[M-H]^-$	226.14430/ 224.12865	安诺提供

表二 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/-3600V

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 的克伦特罗溶液: 取 30uL 的 10mg/L 克伦特罗溶液和 2970ul 甲醇混匀即可。

1ug/L 的克伦特罗溶液: 取 30uL 的 100ug/L 克伦特罗溶液和 2970ul 甲醇混匀即可。

0.1ug/L 的克伦特罗溶液: 取 300uL 的 100ug/L 克伦特罗溶液和 2700ul 甲醇混匀即可。

100ug/L 的沙丁胺醇溶液: 取 30uL 的 10mg/L 沙丁胺醇溶液和 2970ul 甲醇混匀即可。

1ug/L 的沙丁胺醇溶液: 取 30uL 的 100ug/L 沙丁胺醇溶液和 2970ul 甲醇混匀即可。

0.1ug/L 的沙丁胺醇溶液: 取 300uL 的 1ug/L 沙丁胺醇溶液和 2700ul 甲醇混匀即可。

100ug/L 的妥布特罗溶液: 取 30uL 的 10mg/L 妥布特罗溶液和 2970ul 甲醇混匀即可。

1ug/L 的妥布特罗溶液: 取 30uL 的 100ug/L 妥布特罗溶液和 2970ul 甲醇混匀即可。

0.1ug/L 的妥布特罗溶液: 取 300uL 的 1ug/L 妥布特罗溶液和 2700ul 甲醇混匀即可

100ug/L 的特罗它林溶液: 取 30uL 的 10mg/L 特罗它林溶液和 2970ul 甲醇混匀即可。

1ug/L 的特罗它林溶液：取 30uL 的 100ug/L 特罗它林溶液和 2970ul 甲醇混匀即可。

0.1ug/L 的特罗它林溶液：取 300uL 的 1ug/L 特罗它林溶液和 2700ul 甲醇混匀即可。

2.2 具体操作方法

用 500 μ L 的平头进样针取 100ug/L 的克伦特罗测试液，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 浓度克伦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 的标品质谱信号和甲醇空白的噪音，并记录实验结果。

用 500 μ L 的平头进样针取 100ug/L 的沙丁胺醇测试液，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 浓度沙丁胺醇进行特征峰检测；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。

用 500 μ L 的平头进样针取 100ug/L 的妥布特罗测试液，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 浓度妥布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 的标品质谱信号和甲醇空白的噪音，并记录实验结果。

用 500 μ L 的平头进样针取 100ug/L 的特罗他林测试液，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 浓度妥布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 实验结果

3.1 100ug/L 和 0.1ug/L 的克伦特罗实验结果

结果如下图 1 所示，浓度为 100ug/L 的克伦特罗甲醇溶液以 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 277.0317、259.0232 和 202.9675，其中 $[M+H]^+$ 277.0317 为准分子离子峰，259.0232 和 202.9675 为碎片峰，其中 259.0232 为 $[M-H_2O+H]^+$ ，202.9675 为 $[M-H_2O-C_4H_8+H]^+$ 。在负离子模式下检测到目标离子为 275.0364，峰高只有 50，灵敏度偏低。

克伦特罗质谱图

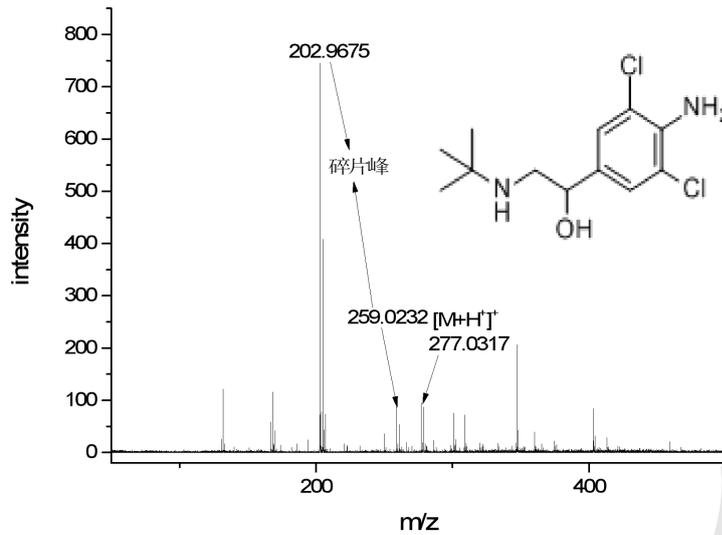


图1 100ug/L 克伦特罗正离子模式下质谱图

浓度为 0.1ug/L 的克伦特罗甲醇溶液以 20ul/min 速率进样，在 ESI+脉冲模式下单秒对应的质量为 33fg，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甲醇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 2，其检测到质谱信号强度约为 23，乙腈空白噪音约为 5，信噪比 S/N 为 >3。

克伦特罗最低浓度 (0.1ug/L)信噪比

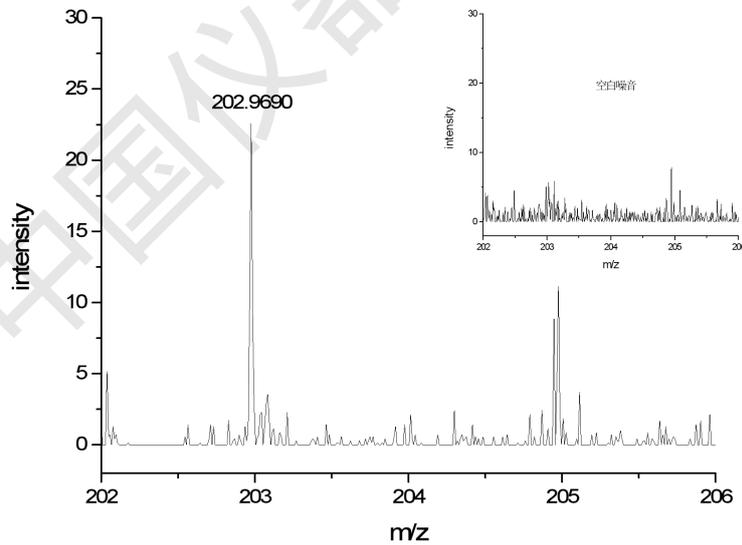


图2 0.1ug/L 克伦特罗甲醇溶液信噪比

3.2 100ug/L 和 0.1ug/L 的沙丁胺醇实验结果

结果如下图 3 所示，浓度为 100ug/L 的沙丁胺醇甲醇溶液以 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 240.1072 和 222.1189，其中

$[M+H]^+$ 240.1072 为准分子离子峰, 222.1189 为碎片峰 $[M-H_2O+H]^+$ 。在负离子模式下 100ug/L 的沙丁胺醇检测到准分子离子峰 $[M-H]^-$ 为 238.1234 和碎片峰 220.1131 $[M-H_2O-H]^-$, 见图 4。

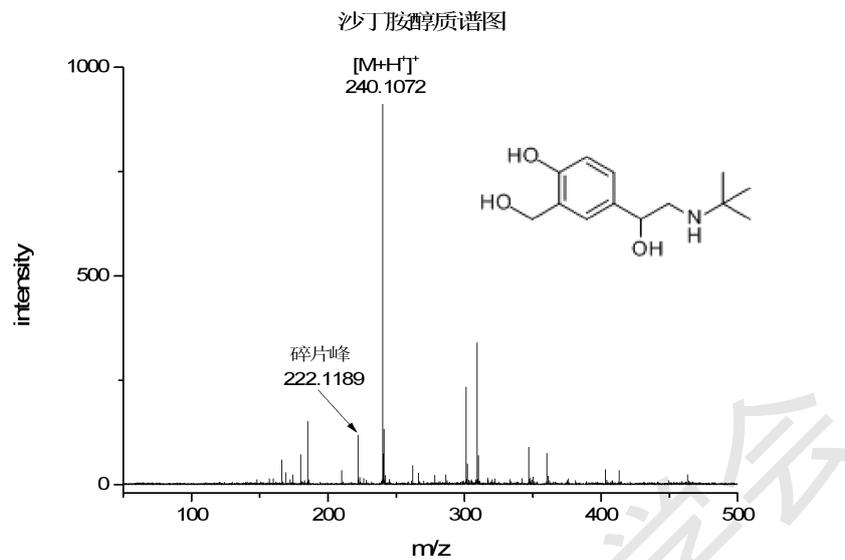


图 3 100ug/L 沙丁胺醇正离子模式质谱图

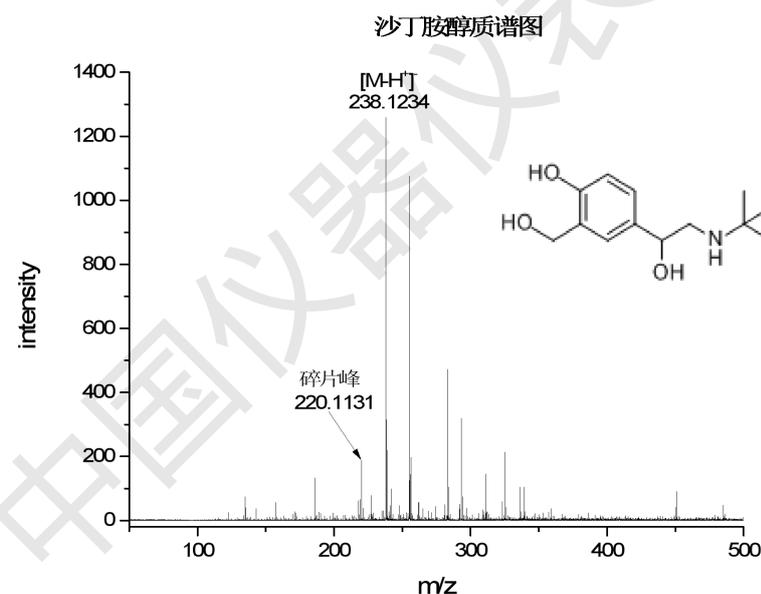


图 4 100ug/L 沙丁胺醇负离子模式质谱图

浓度为 0.1ug/L 的沙丁胺醇甲醇溶液以 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 5, 其检测到质谱信号强度约为 50, 甲醇空白噪音约为 9, 信噪比 S/N 为 >3; 在负离子模式下同条件下 0.1ug/L 沙丁胺醇未检出, 可能与仪器本底噪音干扰较大有关。

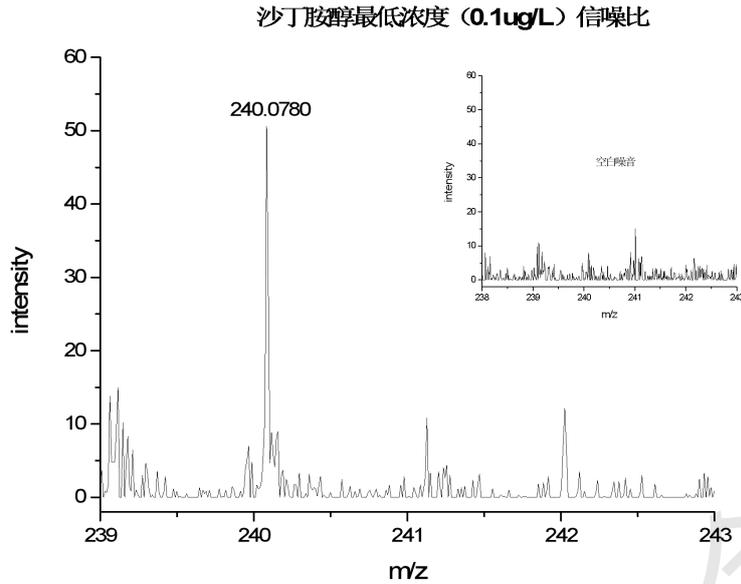


图 5 0.1ug/L 沙丁胺醇甲醇溶液正离子模式信噪比

3.3 100ug/L 和 0.1ug/L 的妥布特罗实验结果

浓度为 100ug/L 的妥布特罗甲醇溶液以 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 228.1183、210.1176 和 154.0459, 其中 $[M+H]^+$ 228.1183 为准分子离子峰, 154.0459 为碎片峰 $[M-H_2O-C_4H_8+H]^+$, 见下图 6。在负离子模式下 100ug/L 的妥布特罗未检出。

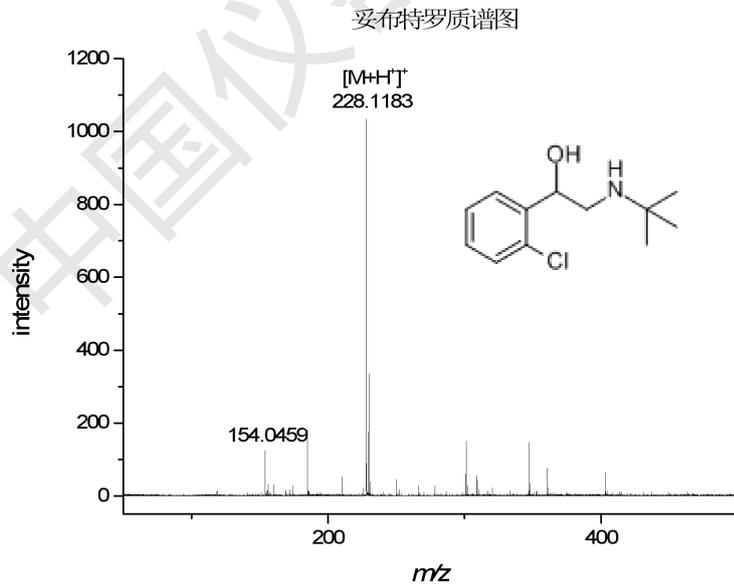


图 6 100ug/L 妥布特罗正离子模式质谱图

浓度为 0.1ug/L 的妥布特罗甲醇溶液以 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 7, 其检测到质谱信号强度约为 50, 乙腈空白噪音约为 11, 信噪

比 S/N 为 >3。

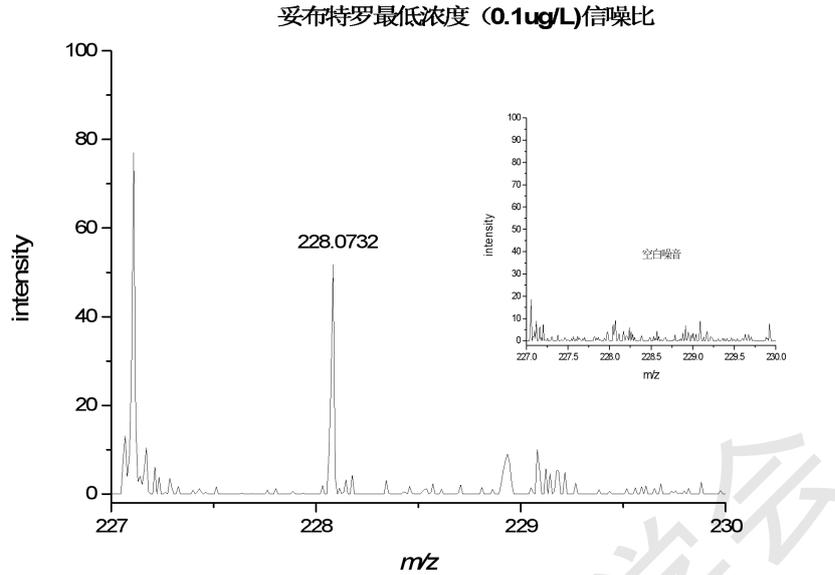


图 7 0.1ug/L 妥布特罗溶液正离子模式信噪比

3.4 100ug/L 和 0.1ug/L 的特布它林实验结果

结果如下图 8 所示，浓度为 100ug/L 的特布它林甲醇溶液以 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 226.1454 和 152.0733，其中 $[M+H]^+$ 226.1454 为准分子离子峰，152.0733 为碎片峰 $[M-H_2O-C_4H_8+H]^+$ 。在负离子模式下 100ug/L 的特布它林检测到准分子离子峰 $[M-H]^-$ 为 274.1089，见图 9。

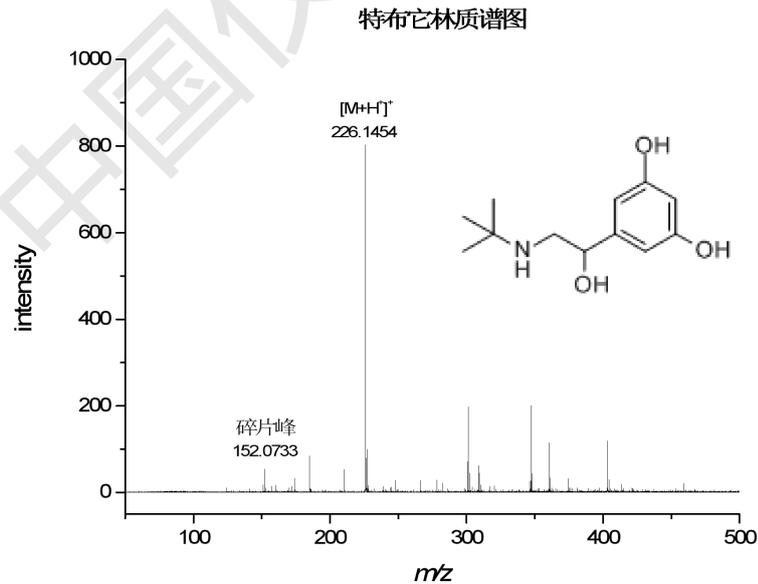


图 8 100ug/L 特布它林正离子模式质谱图

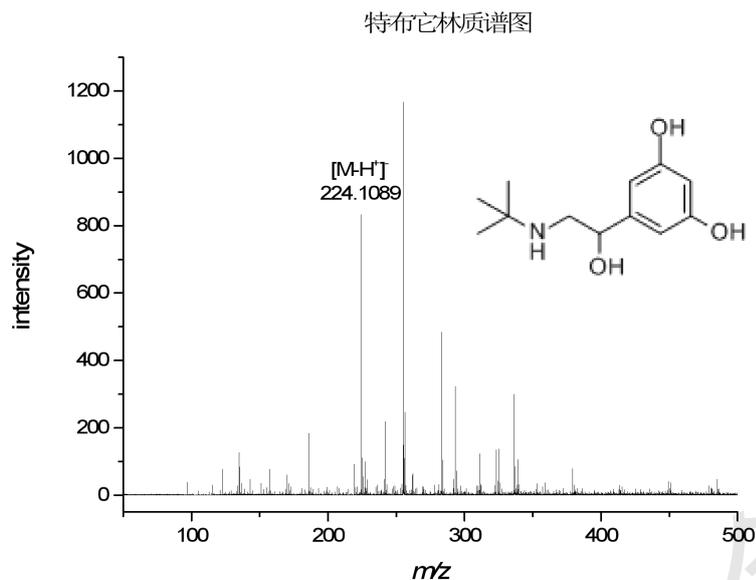


图9 100ug/L 特布它林负离子模式质谱图

浓度为 0.1ug/L 的特布它林甲醇溶液以 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 60，甲醇空白噪音约为 10，信噪比 S/N 为 >3。

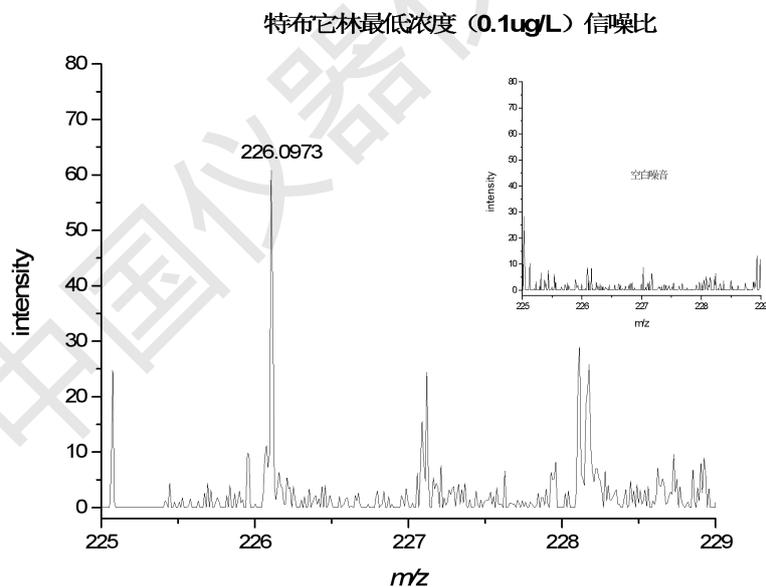


图10 0.1ug/L 特布它林溶液正离子模式下信噪比

4 测试结论

通过 ESI-TOF 测试克伦特罗、沙丁胺醇、妥布特罗和特布它林等瘦肉精添加物，在正离子模式下，通过增加样品的进样量 (20ul/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 0.1ug/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（0.1ug/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（0.5ug/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-模式下进行检测，在 100ug/L 的标品浓度下，其中沙丁胺醇和特布它林灵敏度与 ESI+较为接近；克伦特罗也检出，但响应偏低；妥布特罗未检出。在目前条件下，同条件下（流速、脉冲模式、气压、浓度等），其信噪比并没有比 ESI+高，可能原因是仪器本底干扰较大影响所致。

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 1313-2007）

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

1) 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	-12/11.5	Focus	-525/525	COM	24/0
DCQ Down	-11.5/11.5	ACCE	-4000/4000	SkimmerL/Ski mmerH	11/-10.5
DCQ Left	-10/10	MCP	2250/5670	脉冲频率	10KHz
DCQ Right	-11.5/11.5	ESI	4000/-3600	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	13.5/-14		

2) 各目标物电压异值

ESI+参数	克伦特罗	沙丁胺醇	妥布特罗	特布它林
Out-Plate(V)	80	46	46	46
Sk1(V)	20	19	19	19

脉冲模式 skimmerH (V)	22	23	23.5	21.5
脉冲延时(us)	25	28.5	27	27
Skimmer 脉宽 (us)	71.8	71.8	72	71
RFQ-V _{p-p} (V)	500	600	650	600
MIR-V _{p-p} (V)	150	110	105	105
MIR_B(V)	90	52	52	52
MIR_E(V)	59.5	30.5	30.5	30.5

中国仪器仪表表学会