

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240527003

超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性 食品中32种神经系统药物

李晓东¹, 刘瑜^{1*}, 栾沫², 耿庆华¹, 姜莉², 王亚春³, 封亚辉³, 万建春⁴

(1. 沈阳海关技术中心, 沈阳 110016; 2. 沈阳海关, 沈阳 110000;
3. 南京海关技术中心, 南京 210000; 4. 南昌海关技术中心, 南昌 330000)

摘要: 目的 建立超高效液相色谱-串联质谱法同时检测动物源性食品中32种神经系统药物的方法。

方法 样品经 β -葡萄糖醛酸酶/芳香基硫酸酯酶酶解, 酸性乙腈提取, PRiME HLB净化, 采用乙腈+0.1%甲酸水作为流动相, 超高效液相色谱-串联质谱法确证检测, 外标法定量。**结果** β 受体激动剂类药物的检出限为0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 兴奋剂、镇静剂类药物的检出限为0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 麻醉剂类药物的检出限为1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。肌肉基质中32种药物的线性关系良好, 相关系数均大于等于0.9916, 回收率为61%~106%, 相对标准偏差为1.5%~8.7%; 肝脏基质中32种药物的线性关系良好相关系数均大于等于0.9914, 回收率为60%~110%, 相对标准偏差为1.3%~9.6%。**结论** 本方法具有检测药物种类多, 检出限低, 稳定性好, 简便快捷, 节省试剂等优势, 适用于动物源性食品中多种神经系统药物的检测。

关键词: 神经系统药物; 超高效液相色谱-串联质谱法; 动物源性食品

Determination of 32 kinds of nervous system drugs in animal-derived foods by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LI Xiao-Dong¹, LIU Yu^{1*}, LUAN Mo², GENG Qing-Hua¹, JIANG Li²,
WANG Ya-Chun³, FENG Ya-Hui³, WAN Jian-Chun⁴

(1. Technical Center of Shenyang Customs, Shenyang 110016, China; 2. Shenyang Customs, Shenyang 110000, China;
3. Technical Center of Nanjing Customs, Nanjing 210000, China; 4. Technical Center of Jiangxi Customs,
Nanchang 330000, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for simultaneous determination of 32 kinds of nervous system drugs in the animal-derived foods of livestock and poultry by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Methods** The samples were enzymolized by β -glucuronidase/aryl sulfatase, extracted by acid acetonitrile, purified by PRiME HLB, confirmed by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry using acetonitrile+0.1% formic acid water as mobile phase, and quantified by external standard method. **Results** The limit of detection of β -agonists was 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$; the limit of detection of stimulants and sedatives was 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$; the limit of detection of anesthetics was 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The linear relationships between 32 kinds of drugs in

基金项目: 辽宁省自然科学基金项目(2022MS426)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of Liaoning (2022MS426)

*通信作者: 刘瑜, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: liuyu-0117@163.com

*Corresponding author: LIU Yu, Master, Senior Engineer, Technical Center of Shenyang Customs, No.106, Dongbinhe Road, Shenhe District, Shenyang 110016, China. E-mail: liuyu-0117@163.com

the muscle matrix were good, with correlation coefficients all greater than or equal to 0.9916, and the recovery rates were 61%–106% with relative standard deviations of 1.5%–8.7%. The linear relationships between 32 kinds of drugs in the liver matrix were all greater than or equal to 0.9914, the recovery rates were 60%–110% with the relative standard deviations of 1.3%–9.6%. **Conclusion** This method has the advantages of detecting a variety of drugs, low limit of detection, good stability, simplicity, speed, and saving reagents, and is suitable for the detection of a variety of nervous system drugs in animal-derived food.

KEY WORDS: nervous system drugs; liquid chromatography tandem mass spectrometry; animal-derived food

0 引言

近年来,随着物质需求的快速提高,人们对畜禽产品的产地要求越来越高,如内蒙的优质牛羊肉、奶制品,东北的黑猪肉、溜达鸡等都成为了畅销产品。然而,在解决大家消费需求的同时,各大养殖基地及运输企业遇到了一个不可回避的问题,那就是运输途中的病死率问题。在运输过程中,由于空间狭小、道路颠簸、路途遥远等原因,运送的牲畜、家禽很容易出现呼吸困难、痉挛、受惊、踩踏等运输应急情况,轻则导致受伤,肉质下降,严重时会造成大面积死亡,给养殖和运输企业造成巨大经济损失^[1-4]。为减少此类事件的发生,养殖及运输企业往往会在运输前给牲畜、家禽喂食或注射 β -受体激动剂、镇静剂等神经系统药物,以减少长途运输对动物的影响。 β -受体激动剂可以通过兴奋气道平滑肌和肥大细胞膜表面的 β_2 受体,舒张气道平滑肌、减少肥大细胞和嗜碱性粒细胞脱颗粒及其介质的释放、降低微血管的通透性、增加气道上皮纤毛的摆动等缓解哮喘、呼吸困难等疾病^[5-10]。咖啡因等兴奋剂类药物通过刺激大脑中枢神经,具有祛除疲劳、兴奋神经的作用^[11-14]。而氯丙嗪等镇静剂类药物作用则恰恰相反,具有镇静、抗精神病、镇吐、降低体温及基础代谢等作用^[15-16]。此类药物进入动物体内后,会残留在动物的肌肉、内脏组织中,最终被送上餐桌,进入人体,对人体健康造成不良影响。因此建立一种准确度高、方便快捷的监控畜禽动物体多种兽药残留的检测方法成为目前的迫切需求。

由于各类作用于神经系统的药物理化性质的差异,目前检测方法多以检测同类药物为主。如张睿泓等^[17]采用 0.1%乙酸乙腈溶液直接提取,高效液相色谱-串联质谱法检测分析牛肉中 3 种 β 受体激动剂,检出限达到 0.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。梁静等^[18]通过对功能饮料稀释过滤,应用超高效液相色谱-串联质谱法对功能饮料中的咖啡因进行检测,检出限为 0.002 ng/mL 。卢越圻^[19]采用超高效液相色谱-串联质谱法对乳制品中的咖啡因进行检测,检出限为 0.002 ng/mL 。徐越等^[20]应用自动固相萃取-气相色谱-串联质谱法检测生物检材中新型安眠药物 2'-氯地西洋的方法,检出限达到 10 ng/mL 。王旭峰等^[21]采用通过式固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法对水产品中 10 种镇静剂进行检测,检出限

达到 0.1~0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。王若男等^[22]通过 EMR 固相萃取柱净化,旋蒸浓缩并定容,超高效液相色谱串联质谱法测定水产中地西洋残留量,检出限达到 0.33 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。但目前鲜少有能够对 β 受体激动剂、兴奋剂及镇静剂类药物同时进行检测的方法。

鉴于此,本研究采用超高效液相色谱-串联质谱法^[23-29],以畜禽肌肉、肝脏为检测样本,以 β -葡萄糖醛酸酶/芳香基硫酸酯酶酶解,酸性乙腈进行提取,通过型 PRiME HLB 固相萃取柱净化,建立一种同时检测畜禽肌肉中 β 受体激动剂、兴奋剂及镇静剂类药物的超高效液相色谱-串联质谱仪方法,并应用该方法对市场上经过运输后的畜禽等动物源性食品进行检测,为加强动物运输监管技术支持。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

LC30A/AB6500 超高效液相色谱-串联质谱仪(日本岛津公司/美国 AB SCIEX 公司); PURIST-01 超纯水机(上海乐枫公司); CPA225D 电子天平(精度 0.01 mg, 德国 Sartorius 公司); SHZ82A 恒温气浴摇床(金坛市荣华仪器制造有限公司); Z323K 离心机(德国 Hermle 公司); SR-2DS 振荡器(日本 TAITEC 公司)。

32 种待测药物标准品(纯度 $\geq 96\%$)、甲酸、乙腈、甲醇(色谱纯)、三氯乙酸、乙酸铵(分析纯)、 β -葡萄糖醛酸酶(酶活 >100000 units/mL)、芳香基硫酸酯酶(酶活 <20000 units/mL)、MCX 固相萃取柱(60 mg, 3 mL)(上海安谱实验科技有限公司); PRiME HLB 净化柱(6 mL/200 mg)、BEH C₁₈ 柱(100 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm)(美国 Waters 公司)。

1.2 样品的制备

在沈阳周边的屠宰企业选取刚刚经过长途运输的畜禽动物,将其肌肉、肝脏用食品加工机搅碎,收集于自封袋中,−18 $^{\circ}\text{C}$ 避光密封保存。

1.3 样品提取与净化

1.3.1 提取

准确称取 5 g(精确至 0.01 g)样品,于 50 mL 离心管加入 0.2 mol/L 乙酸铵缓冲溶液 6 mL,涡旋混匀,再加入 β -葡萄糖醛酸酶/芳香基硫酸酯酶 50 μL ,于 37 $^{\circ}\text{C}\pm 1$ $^{\circ}\text{C}$ 振荡酶

解 16 h。取出冷却至室温,加入 10 mL 1%三氯乙酸+乙腈(30:70, V:V, 下同)振荡提取 20 min, 0~4 °C 下 10000 r/min 离心 10 min。

1.3.2 净化

准确吸取上清液 5 mL 过 PRiME HLB 净化柱, 收集流出液, 氮吹仪浓缩至近干, 1.0 mL 乙腈+0.1%甲酸水(1:4, V:V)溶液复溶后, 过 0.22 μm 滤膜后, 供超高效液相色谱-串联质谱仪测定。

1.4 样品分析

1.4.1 色谱条件

BEH C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 柱温: 40 °C; 流动相: A 为 0.1%甲酸水溶液, B 为甲醇; 梯度洗脱程序: 0.00~5.00 min, 95% A; 5.00~15.00 min, 95%~10% A; 15.00~16.00 min, 10% A; 16.00~17.00 min, 10%~95% A; 17.00~18.00 min, 95% A; 进样量: 10 μL ; 流速: 0.30 mL/min。

1.4.2 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源+; 离子源温度: 550 °C; 离子喷雾电压: 5500 V; 入口电压: 10 V; 雾化器: 50 psi; 辅助加热器: 60 psi; 气帘器: 35 psi。

1.5 数据处理

通过 AB6500 自带的数据处理软件, 对样品及标准品的谱图进行分析, 通过 Excel 2024 对相关的数据进行统计分析, 并进行 6 次平行实验。

2 结果与分析

2.1 前处理条件优化

2.1.1 酶解条件优化

为了更好的将药物去活, 尽快的从体内经尿液或胆汁排出体外。动物机会自发的在酶的催化作用下进行一种耦合反应^[30], 即将动物体内源性的极小分子(氨基酸、谷胱甘肽等)结合到药物分子或药物代谢产物中, 使药物去活化产生水溶性的代谢产物。但是这种耦合反应的产物会对目标药物(如莱克多巴胺、沙丁胺醇等 β 受体激动剂类药物)的检测造成影响, 因此加入 β -葡萄糖醛苷酶/芳基硫酸酯酶, 将肌肉、肝脏样本中耦合态药物解离成游离态, 有利于目标化合物的检测。

经实验对比, 以莱克多巴胺、沙丁胺醇、克仑潘特、那可汀、咖啡因、阿托品、氯丙嗪及利多卡因为例, 分别检测肌肉、肝脏各 6 个样品, 添加水平为 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 测定其平均回收率及相对标准偏差, 结果如表 1、2 所示。通过酶解与非酶解的对比实验, 结果表明, 在肌肉组织及肝脏组织中酶解后待测药物的回收率及相对标准偏差均优于非酶解实验。证明采用酶水解可以有效分解待测药物在动物体内耦合反应后的产物, 对目标药物的检测结果有较大影响, 因此, 本研究选择采用 β -葡萄糖醛酸酶/芳香基硫酸酯

酶进行酶解提取。

表 1 肌肉基质中部分药物的回收率与相对标准偏差
Table 1 Recoveries and relative standard deviations of some drugs in muscle matrix

名称	酶解		非酶解	
	平均回收率/%	相对标准偏差/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%
莱克多巴胺	63	2.35	5	15.3
沙丁胺醇	72	3.42	18	13.8
克仑潘特	77	3.48	13	18.9
那可汀	83	3.56	60	6.28
咖啡因	77	4.28	52	6.29
阿托品	86	2.25	65	7.82
氯丙嗪	90	1.89	65	7.23
利多卡因	89	3.46	62	8.18

表 2 肝脏基质中部分药物的回收率与相对标准偏差
Table 2 Recoveries and relative standard deviations of some drugs in liver matrix

名称	酶解		非酶解	
	平均回收率/%	相对标准偏差/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%
莱克多巴胺	66	3.35	12	17.2
沙丁胺醇	75	3.12	15	15.4
克仑潘特	72	3.68	18	12.8
那可汀	80	3.77	65	6.38
咖啡因	75	4.58	58	7.27
阿托品	82	3.25	55	7.56
氯丙嗪	88	2.59	59	7.89
利多卡因	82	3.44	61	8.75

2.1.2 提取液的选择优化

本研究对比了传统提取液乙腈和 1%三氯乙酸+乙腈(30:70, V:V)提取溶液的提取效果, 结果表明, 直接采用乙腈作为提取液时莱克多巴胺等部分 β -受体激动剂类药物的回收率低于 50%, 而采用 1%三氯乙酸+乙腈(30:70, V:V)作为提取液时, 回收率有大幅提高, 所有待测药物回收率范围均在 80%~100%之间, 3 种类型的神经系统药物分别选取代表性药物的回收率结果见图 1。

由于此项研究目标药物均为碱性药物, 在酸性条件下更容易解离提取, 同时三氯乙酸也具备一定的水解耦合反应产物及沉淀蛋白的能力。因此, 本研究选择 1%三氯乙酸+乙腈(30:70, V:V)作为提取液。

2.1.3 净化柱的选择优化

MCX 固相萃取柱作为最常用的阳离子交换固相萃取柱, 经过活化、上样、淋洗、洗脱等步骤, 通过改变 pH 达到净化效果, 对大多数碱性药物都有比较好的净化效果。

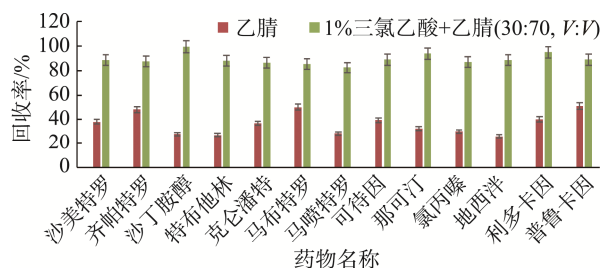


图 1 不同提取液条件下 13 种药物的回收率

Fig.1 Recoveries of 13 kinds of drugs under different extraction conditions

PRiME HLB 净化柱作为一种新型的净化柱, 对动物源性样品中的盐、蛋白、磷脂等杂质有更好的去除效果, 减少了淋洗、洗脱等操作步骤。因此, 本研究选择 MCX 固相萃取柱与 PRiME HLB 净化柱作为比较对象(见图 2), 经实验对比, 采用 MCX 固相萃取柱对目标化合物进行富集、净化后, 目标化合物的回收率为 39%~70%; 采用 PRiME HLB 净化柱对目标化合物进行净化后, 目标化合物的回收率为 73%~98%。实验结果表明, 采用 PRiME HLB 净化柱净化时, 不仅目标化合物的回收率有大幅提高, 而且操作简便快捷, 没有 MCX 固相萃取柱的活化、淋洗及洗脱过程, 节省了检测时间, 节约了检测试剂, 因此本研究选择 PRiME HLB 净化柱作为净化方式。

2.2 色谱条件的优化

2.2.1 流动相的优化

本研究分别考察甲醇和乙腈作为流动相有机相, 32 种待测药物均可有效分离, 且具有理想回收率, 但乙腈作为有机相时, 待测物峰形更加尖锐, 因此, 选择乙腈作为流动相有机相。分别考察水、0.1%甲酸、5 mmol/L 乙酸铵水(含 0.1%甲酸)溶液作为流动相水相, 结果表明当

水相为纯水时, 32 种待测物不能完全分离, 且灵敏度不能满足要求。水相为 0.1%甲酸水和含 0.1%甲酸的 5 mmol/L 乙酸铵水溶液时, 32 种待测物均有较好的分离度及峰形, 但 0.1%甲酸水作为水相时, 32 种待测物具有较高的灵敏度。因此, 本研究选择乙腈+0.1%甲酸水作为流动相, 此流动相条件下 32 种待测药物的保留时间和多反应监测图如图 3 所示。

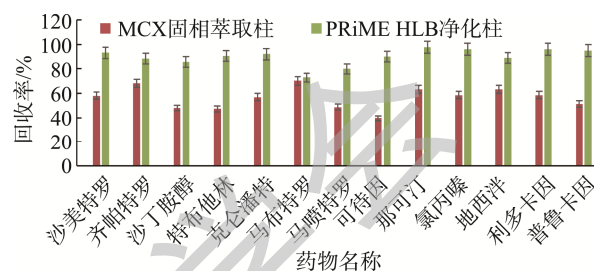


图 2 不同净化柱条件下 13 种药物的回收率

Fig.2 Recoveries of 13 kinds of drugs under different purification column conditions

2.2.2 质谱条件的优化

将 32 种待测药物分别用甲醇溶解并稀释成为 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 溶液, 经质谱针泵进样, 确定其母离子和子离子, 再在多反应监测模式下对定性离子及定量离子进行去簇电压、碰撞能量优化, 最终确定质谱参数, 如表 3 所示。

2.3 基质效应的考察

在检测过程中, 检测结果的灵敏度及回收率受到基质效应(matrix effects, ME)的影响较大, 因此, ME 是兽药残留检测的考察重点。本研究选取兴奋剂类药品咖啡因, 镇静剂类药品地西洋, 麻醉剂类药品利多卡因及 β

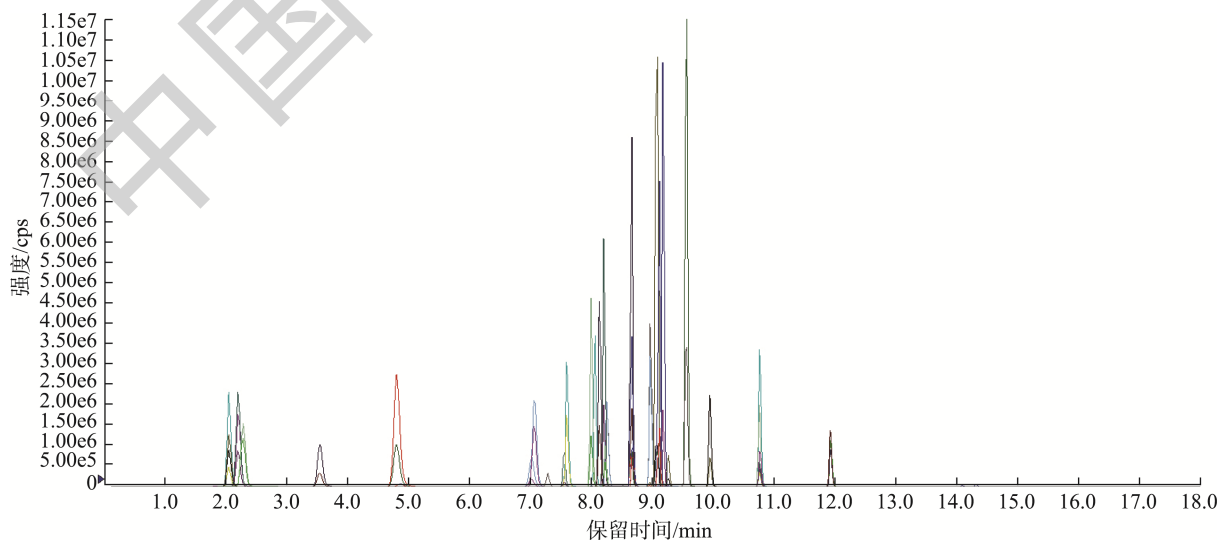


图 3 32 种药物多反应监测色谱图

Fig.3 Multiple reaction monitoring chromatogram of 32 kinds of drugs

表 3 32 种药物的质谱参数
Table 3 Mass spectrum parameters of 32 kinds of drugs

化合物名称	分类	母离子	子离子	去簇电压/V	碰撞能量/eV
福莫特罗	β 受体激动剂	345	149*	50	24
		345	121	50	37
苯氧丙酚胺	β 受体激动剂	302.1	284.2*	50	28
		302.1	106.96	50	14
沙美特罗	β 受体激动剂	416	398*	54	19
		416	380	54	23
齐帕特罗	β 受体激动剂	262.2	185.1*	40	32
		262.2	202.1	40	25
沙丁胺醇	β 受体激动剂	240	148.2*	55	24
		240	222.2	55	13
特布他林	β 受体激动剂	226.1	152.2*	40	21
		226.1	107.1	40	36
塞曼特罗	β 受体激动剂	219.8	202*	51	18
		219.8	160	54	23
西布特罗	β 受体激动剂	234.2	160.1*	40	21
		234.2	143.1	40	34
利托君	β 受体激动剂	288.1	121.1*	45	29
		288.1	150.1	45	25
克伦塞罗	β 受体激动剂	319	301*	50	17
		319	203	50	26
羟甲基克伦特罗	β 受体激动剂	293	203*	30	25
		293	132.1	30	39
莱克多巴胺	β 受体激动剂	302.2	164.2*	70	20
		302.2	284.2	70	15
氯丙那林	β 受体激动剂	214	154.1*	40	23
		214	118	40	34
克伦丙罗	β 受体激动剂	263	245*	50	15
		263	203	50	23
班布特罗	β 受体激动剂	368.2	294.3*	100	26
		368.2	72.2	100	37
妥布特罗	β 受体激动剂	228.1	154*	40	21
		228.1	118	40	35
克仑特罗	β 受体激动剂	277.1	203.1*	72	21
		277.1	168.1	72	38
溴布特罗	β 受体激动剂	367	293*	40	24
		367	349.2	40	17
克仑潘特	β 受体激动剂	291.01	203*	50	40
		291.01	132	50	24
马布特罗	β 受体激动剂	311.1	237.2*	40	24
		311.1	202.1	40	40

表 3(续)

化合物名称	分类	母离子	子离子	去簇电压/V	碰撞能量/eV
马喷特罗	β 受体激动剂	325	237*	50	24
		325	217	50	34
可待因	兴奋剂	300.5	215*	90	32
		300.5	165	90	56
那可汀	兴奋剂	414	219.9*	80	28
		414	353.1	80	34
咖啡因	兴奋剂	195	122.9*	40	21
		195	138	75	27
苯乙醇胺 A	兴奋剂	345.1	150.1*	90	30
		345.1	327.3	90	18
东莨菪碱	镇静剂	304.2	138.1*	110	30
		304.2	103	110	52
山莨菪碱	镇静剂	306.2	140.1*	80	34
		306.2	122	80	34
阿托品	镇静剂	290.2	124.1*	40	24
		290.1	93.1	100	43
氯丙嗪	镇静剂	319.3	86*	60	24
		319.3	245.9	60	32
地西洋	镇静剂	285.3	154*	100	36
		285.3	222	115	36
利多卡因	麻醉剂	235.1	85.9*	71	27
		235.1	99	71	31
普鲁卡因	麻醉剂	237.2	100.2*	50	22
		237.2	164.4	50	23

注: *为定量离子。

受体激动剂类药品班布特罗、克仑潘特为代表, 考察 ME 对检测结果的影响。计算公式为绝对 $ME/\% = A2/A1 \times 100\%$, 其中 $A1$ 为标准品溶液的色谱峰面积, $A2$ 为样品基质提取液添加标准溶液后的色谱峰面积。当 $ME < 100\%$ 时, 提示为基质抑制效应, 反之, 则为基质增强效应。考察结果如图 4 所示, 咖啡因、地西洋、利多卡因、班布特罗及克仑潘特均具有较强的基质抑制效应。因此, 本研究采用空白基质加标曲线来校正, 以克服 ME。

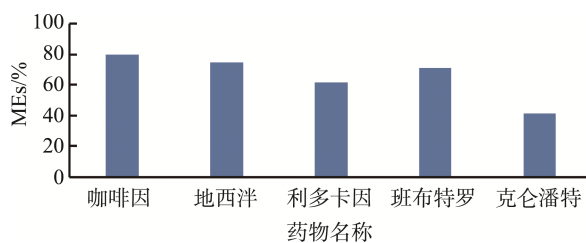


图 4 5 种待测药物的 MEs
Fig 4 MEs of 5 kinds of drugs

2.4 方法学验证

将空白基质按 1.3 处理, 绘制基质加标工作曲线, β 受体激动剂类药物质量浓度范围为: 0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 ng/mL; 兴奋剂、镇静剂类药物质量浓度范围为: 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 ng/mL; 麻醉剂类药物质量浓度范围为: 1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0 ng/mL。以被测组分的质量浓度为横坐标, 被测组分的峰面积为纵坐标拟合工作曲线。分别添加检出限的 1 倍、2 倍和 10 倍制成模拟加标样品, 平行测定 6 次, 测得 32 种待测药物的回收率及相对标准偏差。32 种待测药物的线性范围及回收率结果见表 4、5。实验结果表明肌肉中 32 种待测药物的相关系数均大于等于 0.9916, 回收率为 61%~106%, 相对标准偏差为 1.5%~8.7%, 肝脏中 32 种待测药物的相关系数均大于等于 0.9914, 回收率为 60%~110%, 相对标准偏差为 1.3%~9.6%。 β 受体激动剂, 兴奋剂、镇静剂类, 麻醉剂类药物的检出限(3 倍信噪比)分别达到 0.2、0.5、1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

表 4 肌肉中 32 种药物的线性范围、相关系数、检出限、回收率与相对标准偏差

Table 4 Linear ranges, correlation coefficients, limits of detection, recoveries, relative standard deviations of 32 kinds of drugs in muscle

名称	线性范围 (ng/mL)	相关系数	线性方程	检出限 (μg/kg)	日内偏差/%	日间偏差/%	回收率/%	相对标准 偏差/%
福莫特罗	0.2~10.0	0.9934	$Y=12675X-262$	0.2	0.79~2.91	0.75~1.82	77~90	2.3~3.4
苯氧丙酰胺	0.2~10.0	0.9932	$Y=1287X+4936$	0.2	0.57~2.32	1.12~2.94	79~97	3.1~4.4
沙美特罗	0.2~10.0	0.9921	$Y=21885X+886$	0.2	0.45~1.92	1.31~3.23	84~97	4.6~7.4
齐帕特罗	0.2~10.0	0.9919	$Y=2430X-423$	0.2	0.36~2.81	0.89~2.38	65~81	1.5~6.6
沙丁胺醇	0.2~10.0	0.9987	$Y=24786X-1397$	0.2	0.76~3.04	1.54~2.82	79~93	3.6~7.0
特布他林	0.2~10.0	0.9993	$Y=2479X+118$	0.2	0.28~1.58	1.61~2.73	62~77	1.5~4.4
塞曼特罗	0.2~10.0	0.9945	$Y=612587X-2245$	0.2	0.53~2.57	0.89~1.79	83~92	2.9~6.7
西布特罗	0.2~10.0	0.9926	$Y=31879X+1206$	0.2	0.69~1.23	0.75~1.48	88~102	2.1~4.3
利托君	0.2~10.0	0.9974	$Y=14869X-13651$	0.2	0.55~3.52	0.83~1.76	88~94	2.3~3.8
克伦塞罗	0.2~10.0	0.9924	$Y=282543X+3917$	0.2	0.36~2.83	0.68~1.87	94~105	3.3~7.9
羟甲基克伦特罗	0.2~10.0	0.9978	$Y=24079X+1169$	0.2	0.57~1.41	0.79~1.88	88~94	2.5~4.6
莱克多巴胺	0.2~10.0	0.9942	$Y=612587X-2245$	0.2	0.73~3.52	1.24~2.63	79~97	3.5~6.6
氯丙那林	0.2~10.0	0.9924	$Y=31879X+1206$	0.2	0.46~2.63	0.88~2.31	68~90	2.7~3.8
克伦丙罗	0.2~10.0	0.9978	$Y=147869X-13691$	0.2	0.43~3.14	0.77~2.30	72~87	3.1~5.6
班布特罗	0.2~10.0	0.9997	$Y=282543X+3917$	0.2	0.89~1.74	1.20~2.71	65~84	3.3~7.1
妥布特罗	0.2~10.0	0.9957	$Y=612587X-2245$	0.2	0.43~2.12	1.11~2.83	61~83	1.8~4.9
克仑特罗	0.2~10.0	0.9933	$Y=31879X+1206$	0.2	0.77~2.83	0.76~1.99	73~90	2.3~5.7
溴布特罗	0.2~10.0	0.9974	$Y=17867X-1365$	0.2	0.63~1.38	0.98~1.74	80~92	2.1~4.9
克仑潘特	0.2~10.0	0.9935	$Y=283343X+4317$	0.2	0.46~2.89	1.64~2.63	88~106	2.9~7.7
马布特罗	0.2~10.0	0.9962	$Y=24879X+1189$	0.2	0.66~3.15	0.77~1.71	74~94	2.2~6.3
马喷特罗	0.2~10.0	0.9923	$Y=62508X-2540$	0.2	0.73~3.59	0.89~2.21	68~85	2.3~5.8
可待因	0.5~20.0	0.9924	$Y=31879X+1206$	0.5	0.63~2.54	1.24~2.63	80~94	3.3~6.6
那可汀	0.5~20.0	0.9906	$Y=147869X-13691$	0.5	0.69~2.43	0.89~3.01	71~94	1.9~3.8
咖啡因	0.5~20.0	0.9933	$Y=282543X+3917$	0.5	0.23~1.62	1.17~2.09	80~97	2.7~8.7
苯乙醇胺 A	0.5~20.0	0.9916	$Y=616687X-235$	0.5	0.89~3.63	0.83~2.91	68~81	3.5~8.3
东莨菪碱	0.5~20.0	0.9975	$Y=31804X+1316$	0.5	0.62~2.14	1.31~2.54	76~92	2.5~6.8
山莨菪碱	0.5~20.0	0.9932	$Y=24769X-1091$	0.5	0.83~2.92	0.77~2.14	77~99	2.3~5.9
阿托品	0.5~20.0	0.9967	$Y=282543X+3917$	0.5	0.47~2.51	1.04~2.68	89~104	2.9~5.6
氯丙嗪	0.5~20.0	0.9932	$Y=24879X+1189$	0.5	0.77~1.73	0.89~1.77	62~79	2.3~4.6
地西洋	0.5~20.0	0.9918	$Y=6127X-2545$	0.5	0.63~2.54	0.75~1.79	79~99	1.5~3.6
利多卡因	1.0~50.0	0.9965	$Y=31879X+1206$	1.0	0.46~1.53	0.83~2.17	78~97	4.4~6.6
普鲁卡因	1.0~50.0	0.9982	$Y=24879X+1189$	1.0	0.66~2.18	0.68~1.89	81~97	2.3~5.1

表 5 肝脏中 32 种药物的线性范围、相关系数、检出限、回收率和相对标准偏差

Table 5 Linear ranges, correlation coefficients, limits of detection, recoveries, relative standard deviations of 32 kinds of drugs in liver

名称	线性范围 (ng/mL)	相关系数	线性方程	检出限 (μg/kg)	日内偏差/%	日间偏差 /%	回收率 /%	相对标准 偏差/%
福莫特罗	0.2~10.0	0.9954	$Y=2445X+118$	0.2	0.89~2.91	0.75~1.82	65~90	2.4~4.4
苯氧丙酰胺	0.2~10.0	0.9952	$Y=61587X-2245$	0.2	0.65~2.48	0.83~2.17	79~95	4.1~4.4
沙美特罗	0.2~10.0	0.9921	$Y=31845X+1206$	0.2	0.69~2.43	0.68~1.89	84~95	4.6~7.4
齐帕特罗	0.2~10.0	0.9919	$Y=31845X+1206$	0.2	0.77~2.83	0.89~3.01	66~81	1.3~6.6
沙丁胺醇	0.2~10.0	0.9962	$Y=2803X+39017$	0.2	0.55~3.52	1.17~2.09	60~93	4.6~7.0
特布他林	0.2~10.0	0.9995	$Y=24045X+1169$	0.2	0.43~3.14	0.89~2.21	62~55	1.5~4.4
塞曼特罗	0.2~10.0	0.9945	$Y=17867X-1365$	0.2	0.77~2.83	0.75~1.79	83~92	2.8~6.7

表 4(续)

名称	线性范围 (ng/mL)	相关系数	线性方程	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	日内偏差/%	日间偏差 /%	回收率 /%	相对标准 偏差/%
西布特罗	0.2~10.0	0.9926	$Y=28603X+4324$	0.2	0.55~3.52	0.83~2.17	88~102	2.1~4.4
利托君	0.2~10.0	0.9924	$Y=24845X+1189$	0.2	0.43~3.14	0.68~1.89	88~94	2.4~4.8
克伦塞罗	0.2~10.0	0.9924	$Y=62508X-2600$	0.2	0.55~3.52	0.89~3.01	94~110	4.4~7.8
羟甲基克伦 特罗	0.2~10.0	0.9926	$Y=24045X+1169$	0.2	0.55~3.52	1.17~2.09	88~94	2.5~4.6
莱克多巴胺	0.2~10.0	0.9942	$Y=612287X-1845$	0.2	0.55~3.52	0.83~1.76	69~95	4.5~6.6
氯丙那林	0.2~10.0	0.9924	$Y=31845X+1206$	0.2	0.73~3.59	0.83~1.76	68~90	2.7~4.8
克伦丙罗	0.2~10.0	0.9926	$Y=17037X-1385$	0.2	0.73~3.59	0.89~2.21	62~85	4.1~5.6
班布特罗	0.2~10.0	0.9992	$Y=28243X+4117$	0.2	0.63~2.54	1.24~2.63	66~84	4.4~7.1
妥布特罗	0.2~10.0	0.9952	$Y=2945X+11893$	0.2	0.46~1.53	0.83~1.76	66~83	1.8~4.8
克仑特罗	0.2~10.0	0.9955	$Y=2205X+14169$	0.2	0.77~2.83	0.76~1.99	66~90	2.4~5.7
溴布特罗	0.2~10.0	0.9924	$Y=17867X-1365$	0.2	0.55~3.52	0.83~1.76	80~92	2.1~4.8
克仑潘特	0.2~10.0	0.9955	$Y=8203X+43217$	0.2	0.43~3.14	0.77~2.30	88~106	2.8~7.7
马布特罗	0.2~10.0	0.9962	$Y=24845X+1189$	0.2	0.77~2.83	0.83~1.76	74~94	2.2~6.4
马喷特罗	0.2~10.0	0.9925	$Y=62508X-2600$	0.2	0.55~3.52	0.89~2.21	68~86	2.4~5.8
可待因	0.5~20.0	0.9914	$Y=31845X+1206$	0.5	0.43~3.14	1.24~2.63	80~94	4.4~9.6
那可汀	0.5~20.0	0.9906	$Y=14969X-10191$	0.5	0.55~3.52	0.76~1.99	71~94	1.8~4.8
咖啡因	0.5~20.0	0.9955	$Y=122603X+3917$	0.5	0.73~3.59	0.83~1.76	80~95	2.7~8.9
苯乙醇胺 A	0.5~20.0	0.9916	$Y=8845X+15189$	0.5	0.77~2.83	0.77~2.30	68~81	4.5~8.4
东莨菪碱	0.5~20.0	0.9925	$Y=6127X-2605$	0.5	0.69~2.43	0.83~1.76	66~92	2.5~6.8
山莨菪碱	0.5~20.0	0.9952	$Y=31845X+1206$	0.5	0.23~1.62	1.17~2.09	65~99	2.4~5.8
阿托品	0.5~20.0	0.9962	$Y=18273X+3091$	0.5	0.55~3.52	0.77~2.30	89~104	2.8~5.6
氯丙嗪	0.5~20.0	0.9952	$Y=240451X+139$	0.5	0.73~3.59	0.83~1.76	68~89	2.4~4.6
地西洋	0.5~20.0	0.9916	$Y=6127X-2605$	0.5	0.63~2.54	0.89~2.21	69~99	1.5~4.6
利多卡因	1.0~50.0	0.9965	$Y=41847X+1686$	1.0	0.46~1.53	1.24~2.63	78~95	4.4~6.6
普鲁卡因	1.0~50.0	0.9962	$Y=18845X+3189$	1.0	0.66~2.18	0.83~1.76	81~95	2.4~5.1

2.5 实际样品检测

对沈阳周边两个屠宰场及养殖场一段时间内运输生猪进行抽样检测,检测样品包括肌肉 20 份、肝脏 20 份。应用本方法对抽检样品中 32 种神经系统药物的检测,检测结果均为阴性。

3 结 论

本研究通过对提取液、净化柱等前处理条件的优化,建立了一种同时检测动物源性食品中多种 β 受体激动剂、兴奋剂、麻醉剂及镇静剂等神经系统药物的超高效液相色谱-串联质谱法,经方法学验证, β 受体激动剂类药物、兴奋剂和镇静剂类药物、麻醉剂类药物的检出限分别达到 0.2、0.5、1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,绝大部分待测药物回收率均可达到 85%以上,满足兽药残留检测要求。其中齐帕特罗、妥布特罗、特布他林、苯乙醇胺 A 及氯丙嗪的回收率略低,但仍能达到 60%以上。与传统检测方法相比^[20-22],此方法分析简便、

灵敏度高、重现性好。采用通过型固相萃取柱,有效解决了不同种类药物化学性质差异而导致的净化难题,并且减少了操作步骤;并通过优化色谱、质谱条件实现了多种类作用于神经系统药物的同时测定,可实现动物源性食品中多种神经系统药物残留的快速筛查,为动物运输期间的用药监管提供了技术支持,对保障畜禽产品质量安全具有重要意义。

参考文献

- [1] 曹婷婷, 敖之练. 畜禽运输应激综合征的成因及防治措施[J]. 当代畜牧, 2022(11): 14-16.
- CAO TT, AO ZL. The cause and prevention of transportation stress syndrome of livestock and poultry [J]. Mod Anim Husb, 2022(11): 14-16.
- [2] 陈聪慧, 夏翠, 段春辉, 等. 道路运输对湖羊屠宰性能、肉品质、血液激素及酶活的影响[J]. 饲料工业, 2023, 44(11): 74-79.
- CHEN CH, XIA C, DUAN CH, et al. Effects of road transportation on slaughter performance, meat quality, muscle hormone and enzyme activity of Hu sheep [J]. Feed Ind, 2023, 44(11): 74-79.

- [3] 何志辉, 刘凯玉, 韩吉雨, 等. 饲喂抗应激产品对牛只运输应激的影响[J]. 中国奶牛, 2022(7): 41–45.
HE ZH, LIU KY, HAN JY, *et al.* Effects of anti-stress products on transport stress in cattle [J]. *Chin Cows*, 2022(7): 41–45.
- [4] 刘春兰, 周期, 刘岩, 等. 肉牛运输应激的影响及预防治疗措施[J]. 广东饲料, 2023, 32(8): 44–47.
LIU CL, ZHOU Q, LIU Y, *et al.* Effects of transportation stress on beef cattle and its prevention and treatment [J]. *Guangdong Feed*, 2023, 32(8): 44–47.
- [5] 张明, 孙小建, 王惠琴. 布地奈德福莫特罗吸入联合噻托溴铵、沙丁胺醇治疗老年支气管哮喘的效果及对气道重塑、MC-CP、S1P 水平的影响[J]. 临床医学研究与实践, 2023, 8(35): 43–46.
ZHANG M, SUN XJ, WANG HQ. Effects of budesonide formoterol powder inhalation combined with tiotropium and salbutamol on airway remodeling, MC-CP and S1P levels in elderly asthma [J]. *Res Pract Clin Med*, 2023, 8(35): 43–46.
- [6] 李盈利, 彭丽, 吕东青. 硫酸沙丁胺醇雾化吸入联合孟鲁司特治疗急性发作期哮喘患儿的疗效及对免疫功能的影响[J]. 临床合理用药, 2023, 16(31): 117–120.
LI YL, PENG L, LV DQ. Effect of salbutamol sulfate nebulized inhalation combined with montelukast on immune function in children with acute asthma [J]. *Clin Rat Use Drugs*, 2023, 16(31): 117–120.
- [7] 刘文婷. 白葡奈氏菌片联合布地奈德福莫特罗对支气管哮喘患者疗效的观察[J]. 中华养生保健, 2023, 41(24): 167–170.
LIU WT. Observation of the therapeutic effect of combination of *Staphylococcus aureus* tablet and Budesonide formoterol on asthma patients [J]. *Health Care China*, 2023, 41(24): 167–170.
- [8] 邹奇翰, 邱蕾, 吴杰. 孟鲁司特钠联合布地奈德福莫特罗吸入治疗支气管哮喘急性发作的疗效及对炎症的影响[J]. 广东医学, 2022, 43(3): 380–383.
WU QH, QIU L, WU J. Efficacy of montelukast sodium combined with budesonide-formoterol powder inhalation in the treatment of acute exacerbation of bronchial asthma and its effect on inflammation [J]. *Guangdong Med*, 2022, 43(3): 380–383.
- [9] 赵娟丽, 张会侠, 刘建军. 匹多莫德联合孟鲁司特钠/布地奈德/福莫特罗对儿童咳嗽变异性哮喘肺功能及气道炎症的影响[J]. 海南医学, 2021, 32(5): 603–606.
ZHAO JL, ZHANG HX, LIU JJ. Effects of pidotimod combined with montelukast sodium/budesonide/formoterol on lung function and airway inflammation in children with cough variant asthma [J]. *Hainan Med*, 2021, 32(5): 603–606.
- [10] 何日荣, 陈文荣, 王巧燕, 等. 布地奈德福莫特罗治疗 COPD 和支气管哮喘的临床效果[J]. 临床合理用药, 2023, 16(32): 58–61.
HE RR, CHEN WR, WANG QY, *et al.* Clinical efficacy of Budesonide formoterol in the treatment of COPD and asthma [J]. *Clin Rat Use Drugs*, 2023, 16(32): 58–61.
- [11] 秦启阳, 陈斌, 郭黎, 等. 咖啡因对耐力运动员运动表现的影响: 效果及机制[J]. 体育科研, 2024, 45(1): 93–103.
QIN QY, CHEN B, GUO L, *et al.* Effect and mechanism of caffeine on performance of endurance athletes [J]. *Sports Res*, 2024, 45(1): 93–103.
- [12] STADHEIM KH, STENSRUD T, BRAGE S, *et al.* Caffeine increases exercise performance, maximal oxygen uptake, and oxygen deficit in elite male endurance athletes [Z]. 2021.
- [13] 梁大康. 探究早期咖啡因治疗对呼吸窘迫综合征早产极低出生体重儿呼吸机需求的影响[J]. 黑龙江中医药, 2022, 51(3): 105–107.
LIANG DK. Objective: to investigate the effect of early caffeine treatment on ventilator requirements in very low birth weight premature infants with respiratory distress syndrome [J]. *Chin Med Heilongjiang*, 2022, 51(3): 105–107.
- [14] 牛静崧, 张颜颜, 刘子健. 咖啡因剂量对人体的影响[J]. 食品安全导刊, 2018(35): 48.
NIU JS, ZHANG YY, LIU ZJ. Effects of caffeine dosage on the human body [J]. *China Food Saf Magaz*, 2018(35): 48.
- [15] 王岩萍, 张茜, 张继华, 等. 高效液相色谱法同时测定人血浆中奥氮平、氯丙嗪的浓度及其在精神病患者中的应用[J]. 药物生物技术, 2023, 30(6): 581–585.
WANG YP, ZHANG Q, ZHANG JH, *et al.* The High-performance liquid chromatography concentrations of olanzapine and chlorpromazine in human plasma and their use in psychotic patients were also determined [J]. *Pharma Biotechnol*, 2023, 30(6): 581–585.
- [16] 王震. 氯氮平与氯丙嗪治疗维持期精神分裂症患者的临床疗效及安全性比较[J]. 医学信息, 2023, 36(3): 152–155.
WANG Z. Comparison of clinical efficacy and safety of clozapine and chlorpromazine in the treatment of maintenance schizophrenia [J]. *Med Inform*, 2023, 36(3): 152–155.
- [17] 张睿泓, 张成成, 张炳珏, 等. 牛肉中三种 β -受体激动剂的质谱检测方法[J]. 草食家畜, 2024(1): 47–51.
ZHANG RH, ZHANG CC, ZHANG BY, *et al.* Determination of three β -agonists in beef by mass spectrometry [J]. *Herbivor Livestock*, 2024(1): 47–51.
- [18] 梁静, 冯家力, 曾栋, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定功能饮料中的肌醇、牛磺酸和咖啡因[J]. 实用预防医学, 2023, 30(11): 1317–1320.
LIANG J, FENG JL, ZENG D, *et al.* Determination of inositol, taurine and caffeine in energy drinks by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Pract Prev Med*, 2023, 30(11): 1317–1320.
- [19] 卢越圻. 乳与乳制品、婴幼儿配方食品中茶多酚、咖啡因的测定方法研究[J]. 工业微生物, 2023, 53(4): 76–80.
LU YQ. Determination of tea polyphenols and caffeine in milk and dairy products and formula foods for infants and young children [J]. *Ind Microorgan*, 2023, 54(4): 76–80.
- [20] 徐越, 吴永富, 邹波, 等. 自动固相萃取-气相色谱-串联质谱法分析血液中的 2'-氯地西洋[J]. 刑事技术, 2021, 46(3): 269–272.
XU Y, WU YF, ZOU B, *et al.* Automatic solid phase extraction-gas chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of 2'-chloridiazepam in muscle [J]. *Crim Technol*, 2021, 46(3): 269–272.
- [21] 王旭峰, 王强, 张英侠, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中 10 种镇静剂及其代谢物残留[J]. 分析测试学报, 2023, 42(7): 833–840.
WANG XF, WANG Q, ZHANG YX, *et al.* Simultaneous determination of 10 sedatives and their metabolites in aquatic products by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2023, 42(7): 833–840.
- [22] 王若男, 徐朝华, 胡飞燕. 高效液相串联质谱法快速测定水产品中地西洋的含量[J]. 山东化工, 2023, 52(24): 124–126, 129.
WANG RN, XU CH, HU FY. Determination of diazepam in aquatic

- products by HPLC-MS/MS [J]. Shandong Chem Ind, 2023, (24): 124–126, 129.
- [23] 张彤, 刘瑜, 李晓东, 等. 畜禽养殖活体动物体液中多种激素类药物残留监测方法研究[J]. 分析科学学报, 2023(6): 672–678.
ZHANG T, LIU Y, LI XD, *et al.* Research on monitoring methods for residual hormones in the body fluids of live animals in livestock and poultry breeding [J]. Anal Sci, 2023(6): 672–678.
- [24] 张彤, 徐宜宏, 付海滨, 等. QuEChERS-UPLC-MS/MS 同时测定畜禽肉中 23 种驱虫类药物残留量[J]. 饲料工业, 2024(3):120–126.
ZHANG T, XU YH, FU HB, *et al.* QuEChERS UPLC-MS/MS simultaneous determination of 23 insecticidal residues in livestock and poultry meat [J]. Feed Ind, 2024(3): 120–126.
- [25] YAN YH, LIAN KQ, ZHANG HC, *et al.* Doping-control analysis of 14 diuretics in animal-derived foods using ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Microchem J, 2022, 174: 106948.
- [26] IANNONE M, DIMA AP, SCIARRA F, *et al.* Development and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous analysis of androgens, estrogens, glucocorticoids and progestagens in human serum [J]. Biomed Chromatogr, 2022, 36(5): e5344.
- [27] LANNONE M, DIMA AP, SCIARRA F, *et al.* Development and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous analysis of androgens, estrogens, glucocorticoids and progestagens in human serum [J]. BMC, 2022, 36(5): e5344.
- [28] YAN YH, LIAN KQ, ZHANG HC, *et al.* Doping-control analysis of 14 diuretics in animal-derived foods using ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [Z]. 2022.
- [29] 董曼曼, 李卓, 张艳, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时检测动物源性食品中 22 种兽药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(16): 6363–6370.
DONG MM, LI Z, ZHANG Y, *et al.* Simultaneous determination of 22 kinds of veterinary drug residues in animal-derived food by ultra performance liquid chromatography- tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(16): 6363–6370.
- [30] 李阳, 苏晓鸥, 张维, 等. 酶解及有机溶剂提取对绵羊血浆和尿样中两种 β_2 -受体激动剂含量测定的影响[J]. 分析化学, 2014, 42(5): 717–722.
LI Y, SU XOU, ZHANG W, *et al.* Effects of enzymatic hydrolysis and organic solvent extraction on the determination of two β_2 -receptor agonists in sheep plasma and urine samples [J]. Chin J Anal Chem, 2014, 42(5): 717–722.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

作者简介



李晓东, 高级工程师, 主要研究方向为食品理化检测。

E-mail: dtclxd@163.com



刘瑜, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: liuyu-0117@163.com