



农、林、牧、渔行业解决方案

PreeKem
屹尧科技



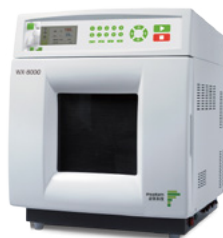


无机样品前处理系列

微波消解仪—适用于重金属及汞、砷等有害物质元素检测



TOPEX 全能型微波化学工作平台



WX-8000 专家型密闭微波消解仪



COOLPEX 灵动型微波化学反应仪

有机样品前处理系列

适用于农药残留、兽药残留、食品添加剂、药物及司法检测



EXTRA 全自动固相萃取仪



N1 全自动氮吹浓缩仪



FLEXI-ONE 凝胶净化色谱仪



从无到有
开启样品前处理智能化时代

全自动固相萃取—液相色谱串联质谱联用法 检测饲料中的莱克多巴胺

1 引言

β -兴奋剂是从天然儿茶酚胺衍生合成的一类化合物。在动物日粮中添加 β -兴奋剂可以提高饲料转化率和增加瘦肉率。莱克多巴胺 (Ractopamine) 是苯乙醇胺类 β -受体激动剂 (结构式见图 1), 可促进动物体内脂肪向蛋白质转化, 表现出营养再分配效应, 是 β -兴奋剂中唯一被美国 FDA 批准应用于提高食品动物瘦肉率的药物。由于长期使用 β -兴奋剂会对人和动物的肝脏、肾脏等内脏器官产生严重的毒副作用。大部分欧美国家禁用 β -兴奋剂类药物, 我国农业部公告第 235 号 (2002) 规定严禁在畜牧生产中使用各类 β -兴奋剂类药物。

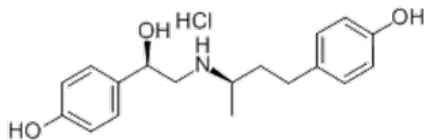


图 1 莱克多巴胺结构式

本文参考《GB/T 22147-2008 饲料中沙丁胺醇、莱克多巴胺和盐酸克伦特罗的测定 液相色谱质谱联用

法》[1], 建立了利用全自动固相萃取仪 (EXTRA) 结合液相色谱-串联质谱联用 (High Performance Liquid Chromatography Triple Quad Mass Spectrometry, LC-MS/MS) 检测饲料中莱克多巴胺的方法。在 (1+9) 0.1 mol/L 盐酸-甲醇提取后, 选用 EXTRA 全自动固相萃取仪, 自动完成 SPE 柱活化、样品上样、淋洗、收集等步骤, 收集液再氮吹浓缩、溶剂转换、定容后, 用 LC-MS/MS 检测。



图 1 EXTRA 全自动固相萃取仪

2 试剂、仪器及器材

2.1 试剂

甲醇：色谱纯级；
浓盐酸、冰乙酸、25% 氨水：优级纯；
提取液：（1+9）0.1 mol/L 盐酸 – 甲醇，移取 10mL 0.1 mol/L 盐酸于 90 mL 甲醇中，混匀；
2% 冰乙酸：0.2 mL 冰乙酸用水稀释至 10 mL；
淋洗液：移取 0.9 mL 浓盐酸于 100 mL 水中，混匀；
洗脱液：移取 10 mL 25% 氨水于 100 mL 容量瓶中，用甲醇定容；
定容液：含 0.1% 甲酸的（2+8）甲醇 – 水溶液；
100 μg/mL 莱克多巴胺标准储备液：准确称取标准品 1mg，于 10 mL 容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，配制成浓度为 100 μg/mL 的标准储备液，-20℃ 以下保存；配制 1 μg/mL 莱克多巴胺标准使用液；
标准工作曲线：用 1 μg/mL 多氯联苯标准使用液配制标准系列，浓度为 0.01 μg/mL、0.05 μg/mL、0.10 μg/mL、0.50 μg/mL、1 μg/mL。
实验用水均为超纯水（电导率 = 18.2 MΩ·cm），取自 Milli-Q 制水机（Millipore，USA）。

2.2 仪器及器材

固相萃取柱：MCX，60 mg / 3 mL，上海安谱；
全自动固相萃取仪：
EXTRA，上海屹尧仪器科技发展有限公司；
液相色谱 – 串联质谱联用仪：
Agilent 1290 infinity – 6490 Triple Quad MS；
分析天平；旋涡混合仪；超声波清洗仪；离心机；氮吹仪；移液枪；离心管；容量瓶；玻璃滴管；收集管；样品管；0.22 μm 针头式滤膜。实验中所用玻璃器皿使用前均经 450℃ 高温灼烧 4 h 后冷却备用。

3 实验方法

3.1 前处理方法

3.1.1 提取

称取饲料样品 5.00 g（精确至 0.01 g）样品，置于 80 mL 离心管中，加入 20 mL 提取液，振荡混匀，超声辅助萃取 15 min，4000 r/min 离心 10 min，取上清液于 50 mL 容量瓶，残渣加入 20 mL、10 mL 提取液，重复萃取 2 次，合并萃取液于容量瓶中，用提取液定容至 50 mL。取 5 mL 萃取液于进样管中，氮气吹至近干，加入 2 mL 2% 冰乙酸，涡旋振荡，待进样。

3.1.2 净化

MCX 柱预先用 5 mL 甲醇、5 mL 水活化后，保持柱体湿润，上样时速度不超过 1 mL/min，待液体低于柱体，分别用 5 mL 淋洗液、5 mL 甲醇淋洗小柱，后用 8 mL 洗脱液洗脱。具体程序见表 1。

动作	位置	溶剂	体积 (mL)	抽溶剂速度 (mL/min)	打溶剂速度 (mL/min)
清洗	外壁	水	6	90	90
活化 1		甲醇	5	20	1
活化 2		水	5	20	1
		空气	1	6	6
上样			2.2	20	0.8
		空气	1	6	6
清洗	外壁	水	6	90	90
淋洗 1		淋洗液	5	20	1
		空气	1	6	6
淋洗 2		甲醇	5	20	1
		空气	1	6	6
洗脱		洗脱液	10	20	1
		空气	3	6	6

3.1.3 定容

将收集到的液体在 40℃水浴中氮吹蒸发至近干，用定容液定容至 1.0 mL，过 0.22 μm 滤膜待进样。

3.2 检测方法

3.2.1 色谱条件

色谱柱为 Phenomenex Kinetex C18 柱，长度 100 mm，内径 3.0 mm，涂层粒径 2.6 μm；柱温 30℃，流速：0.30 mL/min，进样量：10.0 μL。流动相为超纯水（A）和含 0.1% 甲酸的乙腈溶液（B）；梯度洗脱程序如下：初始 10% B，保持 1 min，1–6 min 40% B，6.01 min 60% B，保持 2 min，8.01 min 10% B，保持 2 min，共 10 min。

3.2.2 质谱条件

电喷雾离子源（ESI），正离子扫描，多反应选择监测（Multiple Reaction Monitoring, MRM）模式；鞘气温度（Sheath Gas Temperature）350 °C，鞘气流速（Sheath Gas Flow）11 L/min，氮气发生器提供；干燥气温度（Dry Gas Temperature）160 °C，干燥气流速（Gas Flow）16 L/min，氮气发生器提供；雾化气压力（Nebulizer Pressure）30 psi；喷嘴电压（Nozzle Voltage）1500 V；碰撞气（Collision Gas）为高纯氮气，气体纯度 ≥ 99.999%。质谱 MRM 采集参数、目标物标准品的 MRM 谱图见图 2。

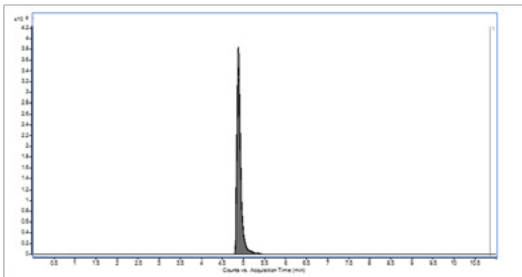


图 2 目标物标准品的 MRM 谱图

4 结果与讨论

4.1 基底加标回收率及精密度

在 (5.00 ± 0.01) g 空白样品中添加一定量的标准混合溶液，使样品中目标物的量达到 40 ng/g，考察方法的回收率和重现性。采用外标法对样品进行计算，加标回收率、相对标准偏差如表 2 所示。

表 3 样品加标回收率及相对标准偏差

	Response	Detected (ng/g)	Recovery	RSD
空白	1508	0.0	/	/
加标 1	5382102	35.1	87.7%	1.01%
加标 2	5290039	34.3	85.8%	1.01%

4.2 样品检测结果

按照本文所述方法对实际样品进行分析，空白基底干净（见图 3），加标样品（见图 4）回收率在 85.8%–87.7% 之间，相对标准偏差为 1.01%，目标物回收率良好，重复性好，满足检测需求。

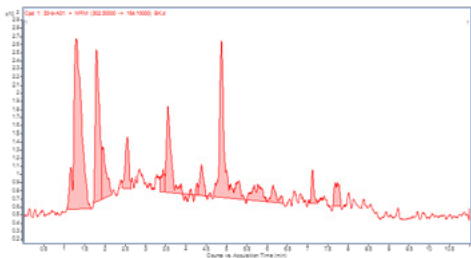


图 3 空白样品谱图

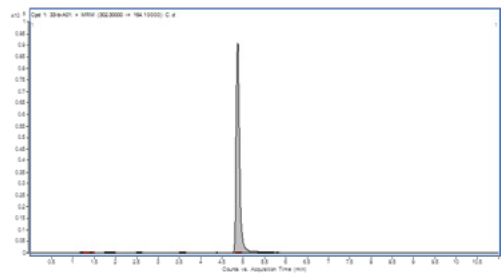


图 4 加标样品谱图



5 结论

本方法采用甲醇对饲料中的莱克多巴胺进行提取，全自动固相萃取进行样品净化，有效地去除了样品中的干扰成分，然后利用液相色谱 – 串联质谱联用进行检测。检测结果表明，该方法回收率符合要求，重现性高。

上海屹尧仪器科技发展有限公司

服务热线：400-820-4469 021-54427296 54426316

网址：www.preekem.com 邮箱：info@preekem.com

本资料中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知！