

色谱分析条件对猪肉中沙丁胺醇和克伦特罗质谱基质效应的影响



时玲, 国振, 赵光亮, 张庆合, 李秀琴*

中国计量科学研究院, 北京 100029

【摘要】 基质效应在质谱分析中广泛存在, 被认为是影响高效液相色谱-串联质谱法定量准确性的关键因素之一。基于同位素稀释质谱法, 系统比较研究了色谱分析条件对猪肉中沙丁胺醇和克伦特罗质谱基质效应的影响, 包括在三种色谱分离条件下, 基质效应及其校正因子的比较、不同校准溶液对定量结果的影响等。结果表明: 采用目标物与杂质分离效果最好的色谱条件时, 基质对于目标物的影响明显减弱, 沙丁胺醇和克伦特罗的同位素稀释质谱法校正因子分别为 1.01 和 1.00, 溶剂校准液与基质校准液的测量结果无显著差异。适当优化液相色谱分析条件, 可以有效排除基质效应对质谱分析的影响, 提高定量结果的准确度。

【关键词】 计量学; 基质效应; 色谱分析条件; 同位素稀释质谱法; 沙丁胺醇; 克伦特罗

【中图分类号】

【文献标识码】 A

【文章编号】 2096-9015(2024)00-0001-08

DOI: 10.12338/j.issn.2096-9015.2024.0306

【引用本文】 时玲, 国振, 赵光亮, 等. 色谱分析条件对猪肉中沙丁胺醇和克伦特罗质谱基质效应的影响 [J]. 计量科学与技术, 待出版.

Influence of Chromatographic Conditions on Matrix Effects of Salbutamol and Clenbuterol in Pork by Mass Spectrometry

SHI Ling, GUO Zhen, ZHAO Guangliang, ZHANG Qinghe, LI Xiuqin

National Institute of Metrology, Beijing 100029, China

Corresponding author: LI Xiuqin, Email: lixq@nim.ac.cn

【Abstract】 Matrix effect exists widely in mass spectrometry and is considered to be one of the key factors affecting the quantitative accuracy of high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Based on isotope dilution mass spectrometry, this study systematically studied the influence of chromatographic conditions on the matrix effect of salbutamol and clenbuterol mass spectrometry in pork, including the comparison of matrix effect and its correction factors under three chromatographic separation conditions, and the influence of different calibration solutions on the quantitative results. The results showed that the influence of the matrix on the target substance is significantly weakened when the chromatographic conditions with the best separation effect are adopted. The isotopic dilution mass spectrometry correction factors of salbutamol and clenbuterol are 1.01 and 1.00, respectively. There is no significant difference between the measurement results of the solvent calibration solution and the matrix calibration solution. The influence of matrix effect on mass spectrometry can be effectively eliminated by optimizing the analytical conditions of liquid chromatography and the accuracy of quantitative results can be improved.

【Key words】 metrology, matrix effect, chromatographic conditions, isotopic dilution mass spectrometry, salbutamol, clenbuterol

收稿日期: 2024-10-29; 修回日期: 2024-11-25

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFF0710404)。

作者简介: 时玲(1989-), 中国计量科学研究院助理工程师, 研究方向: 食品安全计量, 邮箱: shiling@nim.ac.cn; 通讯作者: 李秀琴(1979-), 中国计量科学研究院研究员, 研究方向: 食品安全计量, 邮箱: lixq@nim.ac.cn。

0 引言

沙丁胺醇(salbutamol, SAL)和克伦特罗(clenbuterol, CLB)均属于 β_2 -肾上腺素受体激动剂,又称瘦肉精,可以减少脂肪的产生,提高养殖效益。由于瘦肉精在牲畜体内难以降解,容易在动物体内长期积累,最终通过食物链威胁人类健康^[1-2]。为了确保动物源性食品安全,我国农村农业部在2020年颁布的《食品动物中禁止使用的药品及其他化合物清单》中明令禁止使用该类药物,规定在动物源性食品中不得检出^[3]。准确检测动物产品中的SAL和CLB残留不仅可以有效检测非法添加,还可以提供动物产品安全监测。动物源食品中的SAL和CLB含量有多种检测方法^[3-17],主要有胶体金免疫层析法、高效液相色谱法、气相色谱-质谱法、表面增强拉曼光谱法、高效液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)等。胶体金免疫层析法常用于大规模样品筛查,但其结果容易受到人为因素的影响,仅适用于初步判定。高效液相色谱法和气相色谱-质谱法具有高灵敏度和准确性,但其样品预处理过程耗时且繁琐^[7]。表面增强拉曼光谱法虽然在分子检测中表现出非破坏性、超灵敏性和可靠性,但相比于传统色谱法的检测限,表面增强拉曼光谱法有待进一步降低^[2]。而高效液相色谱-串联质谱法具有高选择性、高灵敏度、高准确性等优势^[18],被广泛应用。

基质效应被认为是由于共洗脱基质成分使分析物反应抑制或增强^[19-21],且基质效应在质谱分析中广泛存在^[22-26],被认为是影响LC-MS/MS定量准确性的关键因素之一^[19]。目前消除基质效应的方法主要包括标准加入法、基质匹配外标法和同位素稀释质谱法(IDMS)^[27]。同位素稀释质谱法是目前最常用降低基质效应对测量结果影响的方法,通过在样品和校准溶液中同时加入适量同位素标记物,采用计算比值的方式有效排除基质效应的影响。然而,当目标物经过²H、¹³C、¹⁵N等同位素标记后,其极性等理化性质还是有不同程度的改变,电离效率或多或少都有不同^[28-29],当样品基质干扰较大的时候较难做到完全消除基质效应的影响。

在IDMS定量方法的研究中,液相系统条件的优化必不可少,常见的优化条件有色谱柱的选择、流动相和样品溶剂的优化等。董洁琼等^[10]在畜肉中14种 β -受体激动剂的研究中比较了3种不同的色谱柱对14种 β -受体激动剂的分离性能。QIN等^[30]

在农药残留的研究中发现流动相中添加甲酸铵得到更稳定的基线并减少波动,有利于改善基质效应。LI等^[27]在奶粉中氯霉素的研究中发现样品溶剂比例的不同会引起基质效应的变化。但是鲜少有文章针对色谱分析条件对同位素稀释质谱法中基质效应及定量结果的影响进行研究。本研究基于同位素稀释质谱法,在前处理条件和质谱分析条件不变的前提下,考察了不同色谱条件对降低基质效应及其对IDMS测量结果准确性的影响,以期通过色谱分离将被测物与干扰基质尽量分离,从而根本上解决基质效应的影响,为广大分析工作者提供参考。

1 实验内容

1.1 仪器与试剂

UltiMate 3000液相系统/TSQ Altis质谱仪(Thermo Scientific,美国),配有电喷雾离子源(ESI);GR21GⅢ落地式高速离心机(HITACHI,日本);N-EVAP111氮吹仪(Organomation Associates,美国);SW23恒温水浴振荡器(Julabo,德国);ME235S半微量天平和ME36S微量天平(Sartorius,德国);Fotector plus高通量全自动固相萃取仪(睿科科技,中国);KS-260振荡器(IKA,德国);T-18匀浆机(IKA,德国)。

实验室用水为Milli-Q去离子水(Millipore,美国);甲醇(色谱纯,德国Merck);乙腈(色谱纯,德国Merck);甲酸(色谱纯,德国Honeywell);乙酸乙酯(色谱纯,美国Fisher Scientific);正己烷(色谱纯,美国Fisher Scientific);氨水(分析纯,天津大茂化学); β_2 -葡萄糖醛酸/芳基硫酸酯酶($\geq 100,000$ units/mL,美国SIGMA);Oasis[®]MCX固相萃取柱(6cc, 150 mg)(Waters,美国);0.22 μm 聚丙烯滤膜(安谱,中国);0.45 μm 聚丙烯滤膜(安谱,中国);GBW(E)061890盐酸克伦特罗(99.0%,中国计量科学研究院);克伦特罗-D₉(CLB-D₉, 99.7%,德国WITEGA);沙丁胺醇(95%,德国Dr.Ehrenstorfer GmbH);沙丁胺醇-D₃(SAL-D₃, 98.1%,加拿大Dr.Ehrenstorfer GmbH)。

1.2 标准溶液的配制

准确称取SAL、CLB、SAL-D₃和CLB-D₉标准品,分别置于棕色玻璃瓶中,用甲醇作为溶剂,配制成100 mg·kg⁻¹标准储备溶液,-20℃冷冻保存。取储备液用甲醇稀释配制成1000 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 标准工作溶液,-20℃冷冻保存。

溶剂校准液:取各标准工作溶液适量,用甲醇作为溶剂,配置1.8 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 校准溶液。

基质校准液: 取各标准工作溶液适量, 用空白基质提取液作为溶剂, 配置 $1.8 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 校准溶液。

1.3 不同色谱条件

色谱柱 Waters ACQUITY UPLC CSHTM C_{18} Column(100×3 mm, 1.7 μm); 进样体积为 5 μL ; 样品温度 10℃; 流动相 A 相为 0.1% 甲酸水, B 相为 0.1% 甲酸甲醇。3 种色谱梯度条件分别为:

LC- I : 流速 0.25 mL/min, 0.00 ~ 7.00 min, 70%B。

LC- II : 流速 0.25 mL/min, 0.00 ~ 1.00 min, 5% ~ 25%B; 1.00 ~ 3.00 min, 25%B; 3.00 ~ 5.00 min, 25% ~ 80%B; 5.00 ~ 5.03 min, 80%B; 5.03 ~ 7.02 min, 80% ~ 5%B; 7.02 ~ 10.00 min, 5%B。

LC- III : 流速 0.30 mL/min, 0.00 ~ 3.50 min, 5%B;

3.50 ~ 3.60 min, 5% ~ 23%B; 3.60 ~ 8.50 min, 23%B; 8.50 ~ 8.60 min, 23% ~ 70%B; 8.60 ~ 11.50 min, 70%B; 11.50 ~ 11.60 min, 70% ~ 5%B; 11.60 ~ 15.00 min, 5%B。

1.4 质谱条件

电喷雾离子源 (ESI), 正电离模式, 电喷雾电压 3.5KV, 鞘气 (N_2) 流速 50.0Arb, 辅助气体流速 10.0Arb, 吹扫气流速 1.0Arb, 离子传输毛细管温度 325℃, 雾化温度 350℃; 采用多反应监测模式 (MRM); Q_1 和 Q_3 分辨率均为 0.7FWHM; 碰撞诱导解离气 2.0mTorr。

LC-MS/MS 检测离子对信息如表 1 所示。

表 1 LC-MS/MS 监测离子对信息

Tab.1 Transition reactions monitored by LC- MS/MS

Compound	Precursor (m/z)	Product (m/z)	Collision Energy (eV)	RF-Lens (V)
SAL	240.088	148.071*	17.89	34
		166	12.84	
SAL- D_3	243.125	151.071*	18.38	34
		169.071	13.18	
		202.988*	15.9	
CLB	277	131.929	28.16	39
		203.917*	16.56	
CLB- D_9	286.038	133	28.01	39

注: *定量离子

1.5 样品前处理方法

提取: 称取 0.5 g (精确至 0.001 g) 猪肉冻干粉, 加 1.5 g 水还原, 加入同位素标准工作溶液 0.1 g, 静置 60 min, 加 5 mL 水, 14000 rpm 匀浆 1 min, 用 5 mL 水清洗刀头, 清洗液与匀浆液合并, 准确加入 60 μL 芳基硫酸酯酶, 37℃ 水浴振荡 12 h, 加入 10 mL 0.1% 甲酸乙腈, 涡旋混匀 2 min, 12000 rpm 转速下 4℃ 冷冻离心 15 min, 收集上清液过 0.45 μm 聚丙烯滤膜, 待净化。

净化: 分别用 8 mL 甲醇, 8 mL 水, 8 mL 0.2% 甲酸水对 MCX 固相萃取柱进行活化, 上样, 分别经过 8 mL 0.2% 甲酸溶液和 8 mL 50% 甲醇水溶液淋洗, 用 10 mL 5% 氨化(乙酸乙酯: 甲醇=2: 1, V/V) 溶液洗脱, 洗脱液在 40℃ 水浴下氮气吹至近干, 用 1 mL 0.1% 甲酸水复溶, 涡旋 1 min, 过 0.22 μm 聚丙烯膜, 供 LC-MS/MS 检测。

1.6 基质效应评价方法

本实验采用提取后添加定量评价方法^[31], 按照

式(1)计算方法, 考察 SAL 和 CLB 及其同位素标记物在不同色谱条件下的基质效应。式(1)中, $ME\%$ 大于 100 表示基质增强, 小于 100 表示基质抑制。文中, $ME_\alpha\%$ 为分析物受到的基质效应; $ME_\beta\%$ 为同位素标记物受到的基质效应。

$$ME\% = (B/A) \times 100\% \quad (1)$$

式中, A 为分析物在溶剂校准液中峰面积; B 为分析物在基质校准液中峰面积。

本实验采用同位素稀释质谱法 (IDMS) 校正因子 θ ^[31], 按照式(2)计算方法评估目标物和其同位素标记物受到基质效应的差异, 以及差异的大小对测量结果的影响。 $\theta=1$, 表明分析物与同位素标记物受到的基质效应一致, 内标能够校正基质效应对测量结果的影响; $\theta>1$, 说明分析物受到的基质效应大于同位素标记物的, 此时, 采用溶剂校准液定量时会导致测量结果偏高; $\theta<1$, 说明分析物受到的基质效应小于同位素标记物的, 此时采用溶剂校准液定量时会导致测量结果偏低。

$$\theta = ME_{\alpha}\% / ME_{\beta}\% \quad (2)$$

式中, $ME_{\alpha}\%$ 为分析物的基质效应; $ME_{\beta}\%$ 为内标同位素标记物的基质效应。

2 结果与讨论

2.1 不同色谱条件下目标物分离情况的比较

取含克伦特罗与沙丁胺醇的阳性猪肉粉按照方法 1.5 进行前处理, 采用 3 种色谱分析条件进行分析。如图 1 所示, LC-I 条件下, 样品 TIC 图中干扰最严重, 杂质峰较多, 而从 LC-II 和 LC-III 条件下的总粒子流图(TIC), 随着色谱分离条件的优化, 目标

物的保留时间增加, 与极性杂质的分离明显增大, 基质干扰明显降低。由图 2 的 CLB、CLB-D₉、SAL 及 SAL-D₃ 的 MRM 提取图看, 在 LC-I 条件下, 发现 SAL 及 SAL-D₃ 的 MRM 谱图基线不平, 尤其是对 SAL-D₃, 基质杂质干扰更加明显。在 LC-I 条件下, 这两个目标物的质谱响应也明显较低, 说明受到很强的基质抑制影响, 而在 LC-II 和 LC-III 条件下, 基质中的干扰杂质有效的与分析物分离, 所以基质效应影响明显降低。说明适当的优化色谱条件能够有效的提高 CLB、SAL 及其内标的质谱响应, 降低基质的干扰。

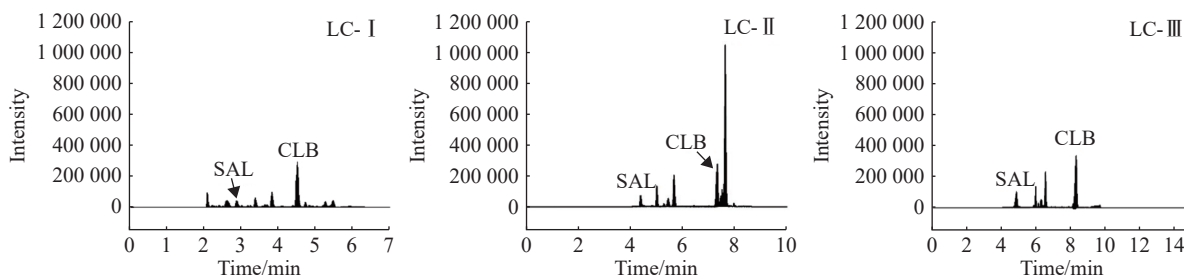


图 1 LC-I、LC-II 和 LC-III 得到的 TIC 谱图

Fig.1 TIC spectra obtained by LC-I、LC-II and LC-III

2.2 不同色谱条件下基质效应的比较

在 3 种梯度洗脱条件下分别分析溶剂校准液(S)和基质校准液(M), 进样 6 次取平均值, 按照式(1)进行基质效应评价, 结果如表 2 所示。在 3 种不同的色谱条件下, SAL、SAL-D₃、CLB、CLB-D₉ 质谱响应均表现为基质抑制作用, 随着色谱分离干扰杂质能力的提高, $ME\%$ 逐渐增大, 说明分析物受到的基质效应逐渐降低, 基质对分析物的抑制作用明显减弱。尤其是在 LC-III 条件下, CLB、CLB-D₉ 的 $ME\%$ 分别达到 99.48%、99.46%, 说明通过色谱条件的优化, 已经能够完全消除基质对 CLB 质谱响应的影响。理论上, 由于基质效应影响并有效消除, 在该条件下可以不用同位素标记物, 直接采用外标法定量即可。在 LC-III 条件下, SAL、SAL-D₃ 的基质抑制效应也明显降低, $ME_{\alpha}\%$ 和 $ME_{\beta}\%$ 分别为 75.18% 和 74.15%, 较 LC-I 和 LC-II 条件下的, LC-III 条件下 $ME\%$ 已经没有任何明显差异。由于 SAL 极性较 CLB 大, 与极性杂质的分离不如 CLB, 因此仍存在一定的基质效应。由表 2 也可以看出, 在 LC-I 和 LC-II 条件下, 两组分析物与其氘代同位素标记物受到的基质效应确实存在差异, 而基质干扰使得这种差异更加明显。对于 SAL、SAL-D₃、CLB、CLB-D₉ 在

LC-I、LC-II、LC-III 条件下对应 $ME\%$ 的 RSD 分别为 2.62%~4.72%、3.51%~4.91%、2.01%~3.91%。因此, 有必要通过优化色谱条件, 减少基质干扰, 从而降低基质效应及其对目标物和同位素标记物的影响。

2.3 不同色谱条件下 IDMS 校正因子 (θ) 的比较

按照式(2), 比较三种条件下同位素稀释质谱法的校正因子, 结果如表 3 所示。对于 SAL, LC-I、LC-II 中 θ 分别为 0.87 和 0.85, 说明在这两个条件下, SAL 受到的基质效应小于 SAL-D₃ 的基质效应, 溶剂校准溶液定量时, 二者基质效应的差异会导致测量结果偏低 13%~15%; 而在 LC-III 条件下 θ 为 1.01, 说明 SAL、SAL-D₃ 受到的基质效应无差异, 因此即使采用溶剂校准液定量, 测定结果与基质校准液的测定结果没有差异。对于 CLB, 在 LC-II 色谱条件下 θ 为 0.78, 说明 CLB 受到的基质效应明显小于 CLB-D₉ 的基质效应, 溶剂校准溶液定量时, 二者基质效应的差异会导致测量结果偏低约 22%, 建议采用基质匹配校准液; 而在 LC-III 与 LC-I 条件下, θ 值分别为 0.96 和 1.0, 说明 CLB-D₉ 能够有效消除 CLB 的基质效应, 两种校准溶液均可使用。综上, 采用 LC-III 时, SAL 和 CLB 相应的内标能够有效消除基质对于目标物定量的影响。

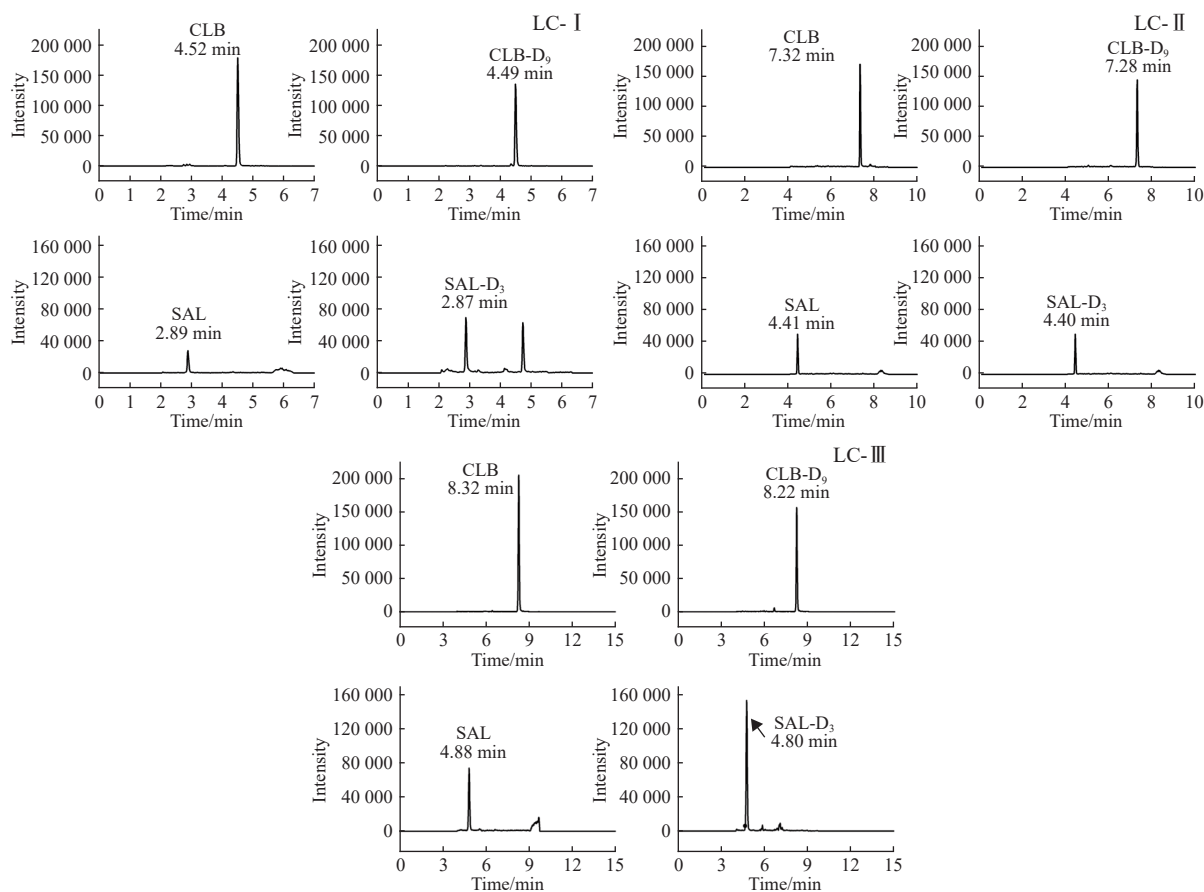


图 2 LC- I、LC- II 和 LC- III 得到的 MRM 谱图
Fig.2 MRM spectra obtained by LC- I、LC- II and LC- III

表 2 不同色谱条件下 SAL、SAL-D₃、CLB、CLB-D₉ 基质效应比较

Tab.2 comparison of matrix effects of SAL, SAL-D₃, CLB, and CLB-D₉ under different chromatographic conditions

色谱条件		$ME_{\alpha-SAL}\%$	$ME_{\beta-SAL-D_3}\%$	$ME_{\alpha-CLB}\%$	$ME_{\beta-CLB-D_9}\%$
LC- I	平均值	19.72	22.73	62.13	64.81
	RSD	4.72	3.73	2.62	3.45
LC- II	平均值	28.44	33.40	59.91	76.78
	RSD	4.00	4.91	4.49	3.51
LC- III	平均值	75.18	74.15	99.48	99.46
	RSD	2.01	3.01	3.76	3.91

2.4 不同色谱条件对 IDMS 定量结果的影响

为了验证上述结论,取 6 份含 SAL 和 CLB 的阳性样品按照方法 1.5 进行前处理,得到的样品分别用 3 种色谱条件进行分析,分别用溶剂校准液和基质校准溶液定量分析。 S 为用溶剂校准液校正得到的结果, M 为用基质校正得到的结果, S/θ 为溶剂校准液得到的检测结果与校正因子 θ 的比值。表 4 为 SAL 的测定结果,LC- I、LC- II 条件下用溶剂校准液校正得到的检测结果小于用基质校准液校正的结果,说明基质对 SAL 的抑制大于对 SAL-D₃ 的基

质抑制作用,与实验结论一致。用 θ 进行校正后,2 种校正液得到的检测结果基本相同。LC- III 中 2 种校正液得到检测结果基本相同,说明在该条件下基质对于 SAL 和 SAL-D₃ 的基质抑制作用相同。综合比较 3 种条件下,用基质校准液得到的结果可以看出,LC- I 条件下得到的结果比 LC- II 和 LC- III 条件下的结果分别高 12% 和 18%,说明即使使用基质校准液的同位素内标法也要充分对色谱条件进行优化,保证基质效应对目标物和同位素标记物的一致性。

表 3 不同色谱条件下 SAL 与 CLB 的 IDMS 校正因子 (θ) 比较

Tab.3 comparison of the IDMS calibration factors (θ) of SAL and CLB under different chromatographic conditions

	LC- I		LC- II		LC- III	
	θ (SAL)	θ (CLB)	θ (SAL)	θ (CLB)	θ (SAL)	θ (CLB)
1	0.90	0.98	0.86	0.80	0.99	1.00
2	0.90	0.95	0.90	0.80	1.05	1.01
3	0.91	0.97	0.82	0.81	1.02	1.03
4	0.82	0.96	0.82	0.76	1.04	1.03
5	0.79	0.92	0.85	0.76	1.01	0.95
6	0.89	0.98	0.85	0.76	0.97	0.98
AV	0.87	0.96	0.85	0.78	1.01	1.00
SD	0.05	0.02	0.03	0.02	0.03	0.03
RSD(%)	5.40	2.26	3.10	2.76	2.81	2.74

表 4 SAL 的检测结果

Tab.4 Test results of SAL

单位: $\mu\text{g}/\text{kg}$

	I			II			III		
	<i>S</i>	<i>S</i> / θ	<i>M</i>	<i>S</i>	<i>S</i> / θ	<i>M</i>	<i>S</i>	<i>S</i> / θ	<i>M</i>
1	2.43	2.80	2.87	2.29	2.69	2.56	2.36	2.34	2.24
2	2.38	2.74	2.79	2.19	2.58	2.57	2.28	2.26	2.25
3	2.37	2.72	2.60	2.04	2.40	2.26	2.36	2.33	2.31
4	2.43	2.80	2.71	1.98	2.33	2.30	2.32	2.30	2.27
5	2.38	2.74	2.54	2.11	2.48	2.37	2.34	2.32	2.33
6	2.37	2.72	2.63	2.03	2.38	2.35	2.31	2.28	2.31
AV ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	2.39	2.75	2.69	2.10	2.48	2.40	2.33	2.30	2.28
SD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0.03	0.03	0.11	0.12	0.14	0.13	0.03	0.03	0.04
RSD (%)	1.22	1.22	4.24	5.48	5.48	5.47	1.36	1.36	1.68

表 5 为 CLB 的测定结果, LC- II 中用溶剂校正液校正得到的检测结果小于用基质校正液校正的结果, 说明基质对 CLB 的抑制大于对 CLB-D₉, 导致测定结果偏低, 与实验结论一致。用 θ 进行校正后, 2 种校正液得到的检测结果基本相同。LC-

III 与 LC- I 相比, 2 种校正液得到检测结果基本相同, 说明在该条件下基质对于 CLB 和 CLB-D₉ 的基质抑制作用相同。表 4 和表 5 测定结果的趋势与 2.3 中校正因子的结果相同, 同时也对校正因子进行了验证。

表 5 CLB 的检测结果

Tab.5 Test results of CLB

单位: $\mu\text{g}/\text{kg}$

	I			II			III		
	<i>S</i>	<i>S</i> / θ	<i>M</i>	<i>S</i>	<i>S</i> / θ	<i>M</i>	<i>S</i>	<i>S</i> / θ	<i>M</i>
1	3.09	3.22	3.25	2.73	3.50	3.43	3.33	3.33	3.32
2	3.10	3.23	3.24	2.72	3.49	3.47	3.26	3.26	3.26
3	3.18	3.31	3.36	2.56	3.28	3.30	3.31	3.31	3.22
4	3.12	3.24	3.27	2.57	3.30	3.37	3.32	3.32	3.23
5	3.27	3.40	3.41	2.58	3.31	3.37	3.58	3.58	3.46
6	3.31	3.45	3.43	2.49	3.19	3.31	3.55	3.55	3.45
AV ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	3.18	3.31	3.33	2.61	3.35	3.37	3.39	3.39	3.32
SD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0.09	0.10	0.08	0.10	0.13	0.07	0.14	0.14	0.11
RSD (%)	2.88	2.88	2.52	3.75	3.75	2.02	4.08	4.08	3.25

3 结论

本文通过对不同色谱条件下, 克伦特罗和沙丁胺醇与杂质的分离度、基质效应 $ME\%$ 、校正因子 (θ) 等的比较分析, 发现适当的色谱条件能够使同一色谱条件下的多组分目标物与杂质进行有效分离、减少基质效应。同时使多组分目标物的校正因子 (θ) 在 1 左右, 解决目标物与其同位素稀释剂基质效应差异的问题, 从而使溶剂校准液与基质校准液的定量结果无明显差异。通过对实际阳性样品的测量发现, 在没有空白样品的情况下, 适当优化色谱条件, 可以使用溶剂校准液进行定量, 为后期相关研究提供了技术手段。建议在后续同位素稀释质谱法的研究中, 即使使用基质校正液的同位素内标法也要充分对色谱条件进行优化, 保证基质效应对目标物和同位素标记物的一致性。本研究通过优化色谱条件对基质效应进行研究, 为猪肉粉中沙丁胺醇和克伦特罗的检测技术提供了技术支撑, 为广大分析工作者提供了参考。

参考文献

- [1] Li F K, Zhou J, Wang M, *et al.* Production of a matrix certified reference material for measurement and risk monitoring of clenbuterol in mutton[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2023, 415: 1487-1496.
- [2] 李艳艳, 彭伟龙, 王丽君, 等. 动物源性食品中沙丁胺醇检测技术研究进展 [J]. *中国畜牧兽医* 2023, 50(11): 4737-4746.
- [3] 裴佳欢, 盛万里, 邹明强, 等. 猪肉中三种 β -受体激动剂残留物表面增强拉曼光谱检测技术研究 [J]. *质量安全与检验检测*, 2023(5): 77-82.
- [4] 姚德祥, 杜作东, 黎小鹏, 等. 气相色谱-质谱法测定动物肝脏中 β -受体激动剂残留 [J]. *现代农业科技*, 2016(23): 244-245.
- [5] 安洪泽, 张素霞, 沈建忠, 等. 高效液相色谱-紫外串联荧光检测法测定猪饲料中五种 β -兴奋剂 [J]. *饲料工业*, 2008, 29(6): 54-56.
- [6] 吴雨豪, 刘文娟, 武燕华, 等. 多枝状胶体金免疫层析试纸条定量检测猪尿中沙丁胺醇 [J]. *生物加工过程报*, 2018, 16(2): 74-79.
- [7] Xiao Y P, Lu H Y, Lü S J, *et al.* Rapid Analysis of Trace Salbutamol and Clenbuterol in Pork Samples by Mass Spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2016, 44(11), 1633-1638.
- [8] 俞晓兰, 夏宝林, 张维益, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡肉中 5 种 β -受体激动剂残留量 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(16): 4320-4325.
- [9] 文俊萍, 罗达龙. 在线固相萃取液相色谱-串联质谱法同时测定猪饲料中沙丁胺醇、莱克多巴胺及克伦特罗 [J]. *粮食与饲料工业*, 2022(5): 52-55,62.
- [10] 董洁琼, 肖琏, 周鑫, 等. 超高效液相色谱-串联质谱测定畜肉 14 种 β -受体激动剂 [J]. *色谱*, 2023, 41(12): 1106-1114.
- [11] 双杨, 赵燕, 夏林林等. HPLC-MS/MS 法测定猪肉中克伦特罗、莱克多巴胺及沙丁胺醇 [J]. *食品工业*, 2024, 45(3): 305-309.
- [12] Lee W R, Ali S A, Leow C Y, *et al.* Development of an immunoaffinity chromatographic adsorbent using a moderate affinity, anti-salbutamol chicken scFv for high sensitivity LC-MS/MS detection of salbutamol in porcine urine[J]. *Microchemical Journal*, 205, 2024;111246.
- [13] Rajkumar M, Li Y S, Chen S M. Electrochemical detection of toxic ractopamine and salbutamol in pig meat and human urine samples by using poly taurine/zirconia nanoparticles modified electrodes[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 110, 2013;242-247.
- [14] Cheng J, Su X O, Han C Q, *et al.* Ultrasensitive detection of salbutamol in animal urine by immunomagnetic bead treatment coupling with surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 255, 2018;2329-2338.
- [15] Zhou Y, Wang D H, Wang D N, *et al.* Rapid analysis of salbutamol residues in animal-derived food based on the fluorescence of MOFs/MIPs paper-based chips[J]. *Chemical Engineering Journal*, 496, 2024;153918.
- [16] Praoboon N, Senabut J, Thanomwat M, *et al.* A cloth-based electrochemiluminescence sensor for determination of salbutamol residues in pork samples[J]. *Food Chemistry*, 386, 2022;132786.
- [17] Rajaji U, Chinnapaiyan S, Chen S M, *et al.* Bismuth telluride decorated on graphitic carbon nitrides based binary nanosheets: Its application in electrochemical determination of salbutamol (feed additive) in meat samples[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 413, 2021;125265.
- [18] 吴丹, 苏敏, 吴彦蕾, 等. 液相色谱-串联质谱法测定茶叶及其制品中游离氨基酸的研究进展 [J]. *现代食品*, 2024(1): 33-36.
- [19] Moreno-González D, Alcántara-Durán J, Gilbert-López B, *et al.* Matrix-effect free quantitative Liquid Chromatography Mass Spectrometry analysis in complex matrices using nanoflow LC with integrated emitter tip and high dilution factors[J]. *Journal of Chromatography A*, 1519, 2017: 110-120.
- [20] Ćirić A, Prosen H, Jelikić-Stankov M, *et al.* Evaluation of matrix effect in determination of some bioflavonoids in food samples by LC-MS/MS method[J]. *Talanta*, 2012,99: 780-790.
- [21] Kim Y A, El-Aty A. M. A, Rahman M M, *et al.* Method development, matrix effect, and risk assessment of 49 multiclass pesticides in kiwifruit using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B*, 1076, 2018: 130-138.
- [22] Gao Y, Zhang Q H, Li X M, *et al.* Simultaneous determination of legacy and emerging per- and polyfluoroalkyl substances in fish by QuEChERS coupled with ultrahigh performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Analytical Methods*. 2018, 10, 5715-5722.
- [23] Gao Y, Li X M, Li X Q, *et al.* Simultaneous determination of 21 trace perfluoroalkyl substances in fish by isotope dilution ultrahigh performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B*, 1084(2018): 45-52.

- [24] Guedes J A C, Silva R D O, Lima C G, *et al.* Matrix effect in guava multiresidue analysis by QuEChERS method and gas chromatography coupled to quadrupole mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 199 (2016);380-386.
- [25] Oliveiraa F A, Abreu A T D , Nascimento N D O, *et al.* Evaluation of matrix effect on the determination of rare earth elements and As, Bi, Cd, Pb, Se and In in honey and pollen of native Brazilian bees (*Tetragonisca angustula-Jataí*) by Q-ICP-MS[J]. Talanta , 162, (2016); 488-494.
- [26] Pano-Farias N S, Ceballos-Magaña S G, Muñoz-Valencia R, *et al.* Validation and assessment of matrix effect and uncertainty of a gas chromatography coupled to mass spectrometry method for pesticides in papaya and avocado samples[J]. Journal of Food and Drug Analysis, 25(3), 2017;501-509.
- [27] Li X Q, Yang Z, Zhang Q H , *et al.* Evaluation of matrix effect in isotope dilution mass spectrometry based on quantitative analysis of chloramphenicol residues in milk powder[J]. Analytica Chimica Acta, 807 (2014);75-83.
- [28] Li X Q, Zhang Q H , Yang Z, *et al.* . The effects of isotope labeled analogs on the LC-IDMS measurement by comparison of ESI responses and matrix effect of melamine, $^{13}\text{C}_3$ -melamine, $^{13}\text{C}_3+^{15}\text{N}_3$ -melamine, and $^{15}\text{N}_3$ - melamine[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 409(12), 2017;3233-3243.
- [29] Zhou X, Tian T, Li X Q , *et al.* A high-accuracy measurement procedure for salbutamol, ractopamine, and clenbuterol in pork by isotope dilution-liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 459, 2024;140357.
- [30] Qin J A, Fu, Lu Y W , Qian D, *et al.* Matrix-matched monitoring ion selection strategy for improving the matrix effect and qualitative accuracy in pesticide detection based on UFLC-ESI-MS/MS: a case of Chrysanthemum. Microchemical Journal[J]. 2020, 105681.
- [31] 张燕, 赵海霞, 田甜, 等. UPLC-MS/MS 法测定蜂蜜中磺胺类抗生素残留 [J]. 质谱学报, 2020, 41(5): 480-489.

本文编辑: 江迪