

# 气相色谱质谱联用测定猪肉中的瘦肉精的含量

**摘要:** 建立了猪肉中盐酸克伦特罗的气相色谱-质谱联用的检测方法。样品提取后, 用 C18 小柱和聚(甲基丙烯酸-乙二醇二甲基丙烯酸酯)整体柱进一步富集净化, 经 N,O-双三甲基硅烷三氟乙酰胺 (BSTFA) 衍生, 选择离子监测方式进行气相色谱质谱测定。该方法以克伦特罗同位素 (Clenbuterol-D9) 为内标, 内标法定量。猪肉中克伦特罗的检出限为 0.13  $\mu\text{g/kg}$ , 在 0.5~50  $\mu\text{g/kg}$  的浓度范围内具有良好的线性关系,  $r$  大于 0.999。日内、日间相对标准偏差不高于 20%, 加标回收率大于 75%。结果表明, 该方法简单、快速、灵敏度高、重现性好, 适用于猪肉中克伦特罗的测定。

**关键词:** 盐酸克伦特罗 气相色谱-质谱

## 前言

克伦特罗 (clenbuterol) 是一种  $\beta_2$ -受体激动剂, 它可显著提高猪、牛、羊等家禽的瘦肉率和饲料转化率。但如长期食用, 会在动物体内形成积累性残留, 引起急性中毒。然而有些不法分子为追求经济效益, 仍将其利用于畜牧业生产中。因此建立一种快速、灵敏、准确、稳定的检测方法是控制克伦特罗非法使用的迫切任务。

目前, 常用的检测方法有酶免疫法、HPLC 法、LC-MS 法、GC-MS 法等。因 GC-MS 法具有灵敏度高、假阳性率低的特点, 常用作筛选后阳性样品的确证。本实验针对盐酸克伦特罗的化学性质, 建立了 C<sub>18</sub> 小柱和聚(甲基丙烯酸-乙二醇二甲基丙烯酸酯)整体柱二维萃取的方法, 本方法具有灵敏、准确、稳定的特点。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

仪器: 岛津 GCMS-QP2010 Plus;

试剂: 盐酸克伦特罗 (Clenbuterol, CLB) 标准品, 内标 (Clenbuterol-D<sub>9</sub>, CLB-D<sub>9</sub>), N,O-双三甲基硅基三氟乙酰胺 (BSTFA), C<sub>18</sub> 固相萃取小柱 (100 mg, 3 mL)

标准溶液的配制: 准确称取盐酸克伦特罗和内标的标准品, 用甲醇配成浓度为 1 mg/mL 的标准储备液, 放置于 4℃ 冰箱中避光保存, 使用时用甲醇稀释成 1  $\mu\text{g/mL}$  的标准使用液和内标使用液。

### 1.2 分析条件

色谱柱: Rtx-5MS (30 m×0.25 mm×0.25  $\mu\text{m}$ )

进样口温度: 220℃

柱温程序: 70℃(0.6 min)-25℃/min-220℃(6 min)  
-25℃/min-280℃(5 min)

恒线速度方式, 柱流量 0.9 mL/min

不分流进样, 进样时间 1 min

接口温度: 280℃

离子源温度: 200℃

溶剂切割时间: 8 min

检测离子:

CLB: 检测  $m/z$  86, 187, 243, 262,

CLB-D<sub>9</sub>: 检测  $m/z$  95, 187, 262

以克伦特罗 ( $m/z$ 86) 与内标峰 ( $m/z$  95) 的峰面积比较准定量。

### 1.3 样品制备

精密称取(2 ± 0.01) g 已绞碎的猪肉于具塞离心管中, 加入 4 mL 0.1 mol/L 盐酸溶液, 旋涡振荡 5 min, 超声 10 min, 12000 r/min 离心 5 min 后, 倾出上清液, 沉淀再分别用 0.1 mol/L 盐酸 4 mL, 2 mL 两次提取, 提取方法同上, 合并上清液。

将上清液全部上样至 C<sub>18</sub> 柱, 用 5 mL 水清

洗小柱后，使用 0.8 mL 甲醇：20 mmol/L 磷酸溶液=1：1(v/v)的酸化甲醇解析，加磷酸缓冲液调至 pH=7, 定容至 2 mL。将该溶液以 0.1 mL/min 的流速推过聚（甲基丙烯酸－乙二醇二甲基丙烯酸酯）毛细管整体柱萃取后，用 0.2 mL 的甲醇解析，加 50  $\mu$ L 的内标使用液后以氮吹仪浓缩至干。加入 100  $\mu$ L 甲苯和 100  $\mu$ L BSTFA，涡旋混匀 30 s，置于微波炉中小火衍生 5 min。衍生反应完成后取出冷却至室温后再加入 300  $\mu$ L 甲苯，充分混匀，待气质联用仪进样。

2. 分析结果

2.1 盐酸克伦特罗的 GCMS 测定

图 1 为衍生化克伦特罗和内标的质谱图，本文以克伦特罗碎片离子 ( $m/z$  86) 与内标碎片离子 ( $m/z$  95) 的浓度比值为横坐标，峰面积比值为纵坐标进行定量。图 2 为空白猪肉和添加 2.5  $\mu$ g/kg 克伦特罗的猪肉样品提取液的离子流图，内标 (Peak 1) 和克伦特罗 (Peak 2) 的保留时间分别为 9.83 min 和 9.92 min, 空白猪肉样品在 被测物及内标处均无干扰。

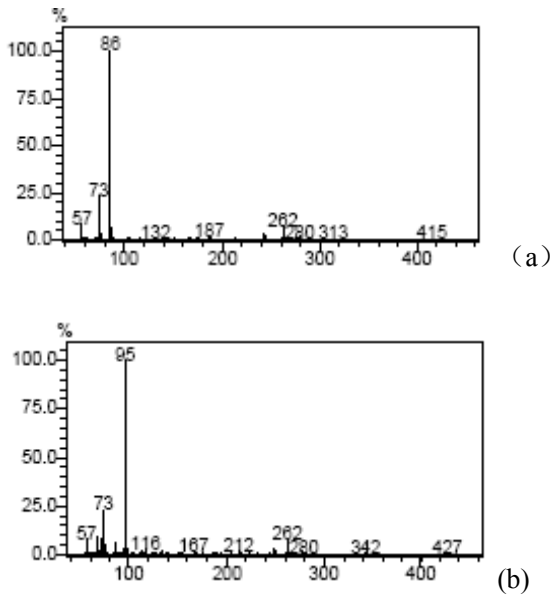


图1. 衍生物质谱图 (a)克伦特罗; (b)氘代克伦物罗

2.2 标准曲线

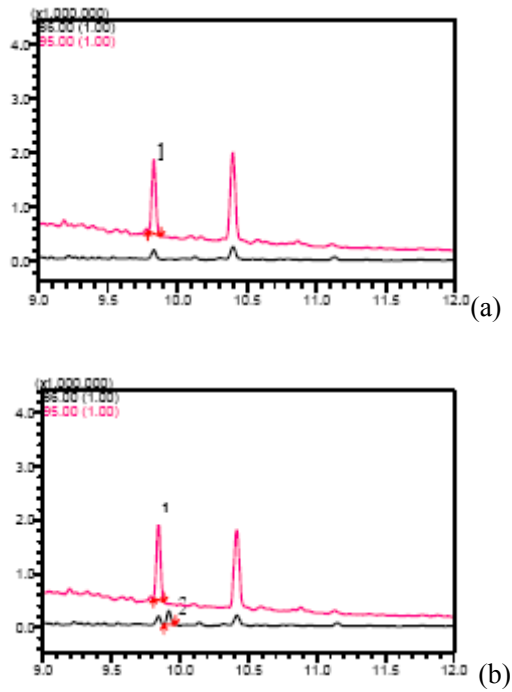


图2. GC-MS-MIC离子流图  
(a) 空白猪肉; (b)添加2.5  $\mu$ g/kg克伦特罗的猪肉样品

分别添加不同体积的克伦特罗标准溶液 (1  $\mu$ g/mL) 和 50  $\mu$ L 内标溶液于 2 g 猪肉样品中 (其中克伦特罗的质量分别为 1、5、10、20、40 和 100 ng), 样品的处理方法如上所述，以克伦特罗与内标的峰面积的比值对浓度比值进行线性回归，发现克伦特罗在 0.5-50  $\mu$ g/kg 的浓度范围内，线性关系良好，相关系数大于 0.999。

2.3 检测限及精密度

以信噪比的3倍和10倍分别计算检测限和定量限，方法检测限为0.13  $\mu$ g/kg, 定量限为0.43  $\mu$ g/kg。该方法有较好的日内及日间精密度，在定量限附近，相对标准偏差小于20%（见表1），可满足分析要求。

表1. 克伦特罗的方法学数据

添加浓度 ( $\mu$ g/kg)	回收率 (%)	日内精密度 (%)	日间精密度 (%)
0.5	76.5	14.7	19.7
5	92.3	10.8	11.7
25	80.4	4.6	5.4

2.4 实际样品分析

根据以上建立的方法,对市场上五种不同品牌的猪肉进行了分析 (n=3), 其中3种未检出克伦特罗, 2种猪肉中的克伦特罗超过国家标准, 具体结果见表2。

表2 样品检测结果					
样品	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5
平均浓度 (µg/kg)	n.d.	n.d.	0.72	n.d.	1.67

注: n.d.指在本方法的仪器检测限下未检出

2.5 结论

本文建立了气相色谱质谱联用测定猪肉中盐酸克伦特罗的分析方法。该方法具有检测限低、重现性好、回收率高、样品用量少等特点, 适合于猪肉样品中盐酸克伦特罗的定性、定量测定。