

猪肉中莱克多巴胺的 GC-MS 分析

王成娟

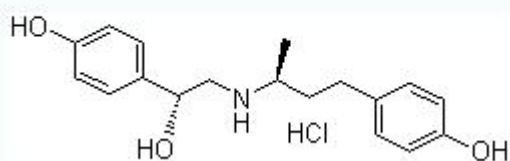
摘要：本文建立了猪肉中莱克多巴胺的 GC-MS 分析方法。样品用高氯酸溶液匀浆，进行超声加热提取，在碱化的条件下用乙酸乙酯萃取，然后用稀盐酸反萃取，固相萃取小柱净化，用 4% 氨化甲醇溶液洗脱，洗脱液经氮吹仪浓缩，经 N,O-双三甲基硅烷三氟乙酰胺（BSTFA+TMCS 99：1）衍生后进气质联用仪分析，外标法定量。

关键词：猪肉，莱克多巴胺，GC-MS，外标法

莱克多巴胺，英文名称 ractopamine，分子式 $C_{18}H_{23}NO_3$ ，分子量 337.85，CAS 号 97825-27-7，可溶于水和乙醇，属于苯乙醇胺类的 β_2 - 肾上腺素受体激动剂，能改变能量分配，提高肌肉生长速度，从而改善猪的体重和胴体瘦肉率。

β_2 - 兴奋剂的检测方法很多，有酶联免疫法，气质联用法，高效液相色谱法，液质联用法等。本文建立了猪肝中莱克多巴胺的 GC-MS 分析方法，样品用甲醇超声提取，提取液经固相萃取小柱净化，净化液氮吹仪浓缩至干，经 N,O-双三甲基硅烷三氟乙酰胺（BSTFA+TMCS）衍生后进气质联用仪分析，外标法定量。

结构式：



1 实验部分

1.1 设备和试剂

设备：气质联用仪 GC-MS3100，分析天平（感量：0.0001g），超声波仪，酸度计，涡旋振荡器，固相萃取仪，阳离子固相萃取小柱（SCX 小柱，60mg, 3mL），氮吹仪，离心机，恒温箱；50ml 磨口玻璃离心管，5 ml 磨口玻璃离心管，均具塞。10mL 磨口具塞比色管，容量瓶，胶头滴管，移液枪。

所有试剂，如未注明纯度，均指分析纯；所有实验室用水均为去离子水。

试剂: 莱克多巴胺标准品(纯度 $\geq 99\%$), 甲苯(分析纯), 衍生试剂 BSTFA+TMCS (99:1), 高氯酸, 碳酸钠, 氯化钠, 乙酸乙酯, 盐酸, 甲醇(色谱纯), 氨水, 去离子水。

1.2 样品前处理

1.2.1 提取

称取粉碎好的猪肉肉馅 5g(精确到 0.01g)于 50ml 离心管中, 加入 10ml 0.1mol/L 高氯酸溶液, 于涡旋振荡器上涡旋 1min, 放入超声波仪中超声 20min, 取出置于 80°C 恒温箱中加热 30min, 冷却后以 5000r/min 离心 5min, 取上层清液。在残渣中再加入 10ml 0.1mol/L 高氯酸溶液, 涡旋振荡 30s 后离心 5min, 将两次上清液合并。用碳酸钠溶液(10%)调 PH 至 10, 加入 4g 氯化钠, 涡旋混匀, 加入 10ml 乙酸乙酯, 涡旋混合 1min, 离心 5min, 吸取上层有机相于另一离心管中; 在残渣中再加入 10ml 乙酸乙酯, 涡旋混合 1min, 离心 5min, 吸取上层有机相合并提取液。然后于提取液中加入 4ml 0.1mol/L 盐酸溶液, 涡旋混合 1min, 离心 5min, 吸取下层溶液同样步骤重复萃取一次, 合并两次萃取液, 调 PH 至 2.0, 作为备用液。

1.2.2 净化

依次用 5ml 甲醇、5ml 水、5ml 0.03mol/L 的盐酸溶液润洗阳离子固相萃取小柱, 取上述备用液过柱, 弃去流出液, 依次用 5ml 水和 5ml 甲醇淋洗柱子, 弃去流出液, 再用 5ml 4% 氨化甲醇溶液洗脱, 收集洗脱液。

1.2.3 衍生化

在 50°C 下于氮吹仪上吹干上述洗脱液, 加入 400 μ L 甲苯, 涡旋 30s, 再加入 100 μ L 衍生化试剂 BSTFA+TMCS (99:1), 涡旋振荡 1min, 在 80°C 的烘箱中加热衍生 1h, 完成后取出冷却至室温, 待 GC-MS 分析。

1.3 标准曲线的制备

准确量取适量莱克多巴胺标准储备液于容量瓶中, 用甲醇稀释成浓度为 0.05mg/L, 0.1mg/L, 0.5mg/L, 1mg/L, 2mg/L 系列标准工作溶液, 各取 0.5ml 在 50°C 下氮吹至干

(与样品液同步氮吹),然后按上述衍生化步骤进行衍生。以莱克多巴胺标准溶液浓度为横坐标,对应的定量离子的峰面积为纵坐标建立标准曲线。

1.4 分析条件

色谱条件:Equity-5(30 m×0.25 mm×0.25μm)石英毛细管柱,柱前压:80Kpa,柱流量:1ml/min 进样口:300℃,柱箱:100℃保持1min,以20℃/min速率升至290℃保持5min。不分流进样,分流比:30:1,溶剂延迟:8min。

质谱条件:EI源,电子能量:70eV,离子源温度:200℃,接口温度:290℃,扫描方式:全扫描定性,扫描范围:44.5~400u;选择离子扫描(SIM)定量,监测离子:58,179,234,250;定量离子:58,电子倍增器高压:1550。

2 实验结果

2.1 标准样品谱图

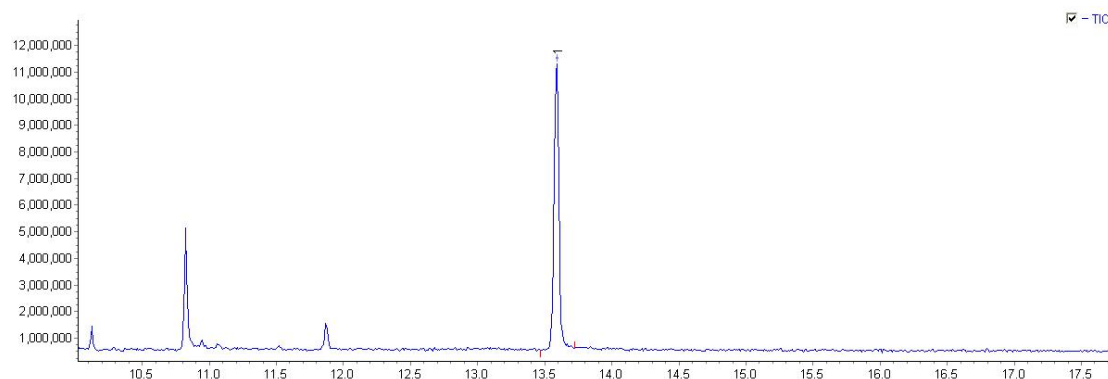


图1 莱克多巴胺标样衍生物全扫描TIC图

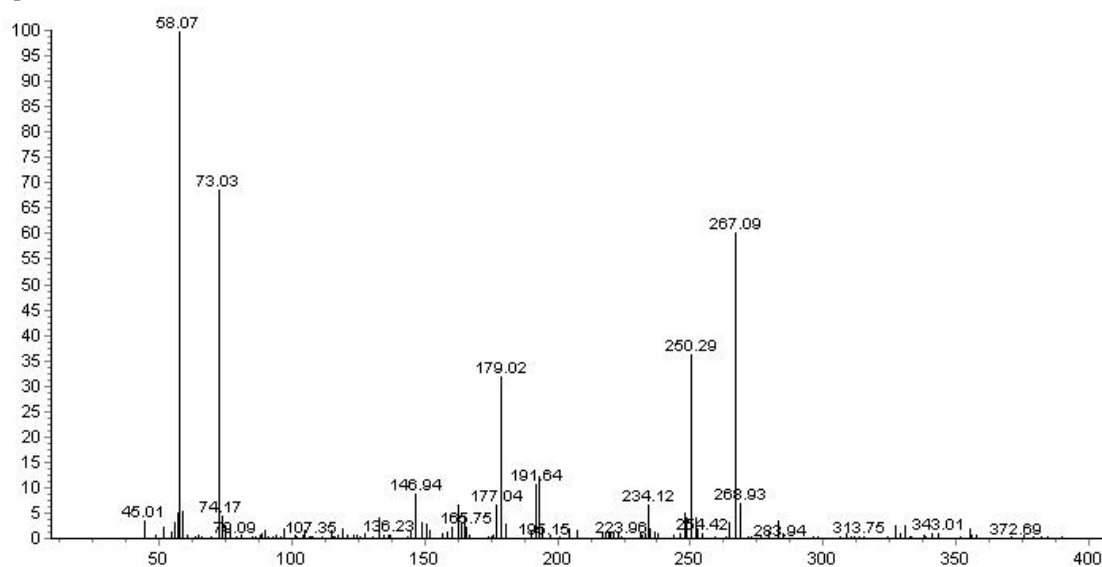


图2 莱克多巴胺衍生物质谱图

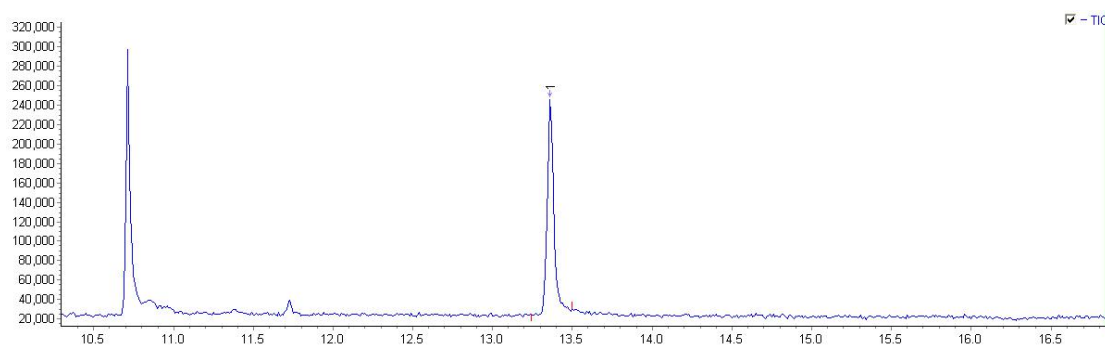


图3 莱克多巴胺标样衍生物 SIM 扫描 TIC 图 (1ug/ml)

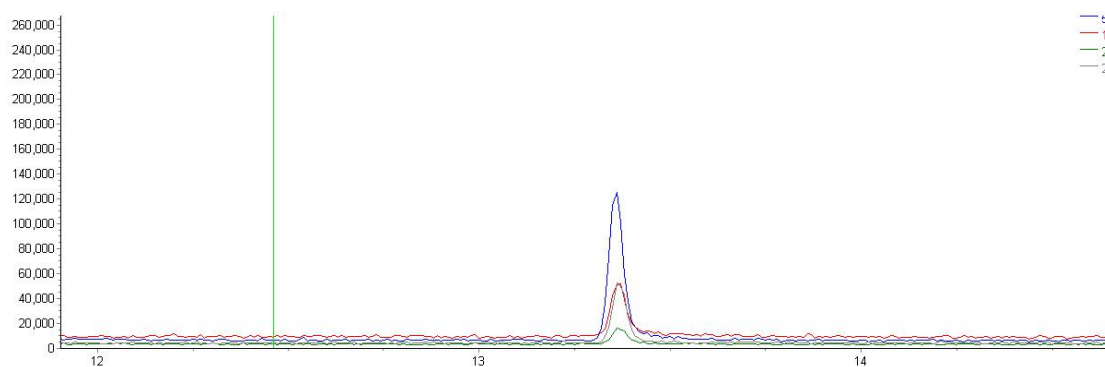


图4 莱克多巴胺标准样品衍生物 MC 图

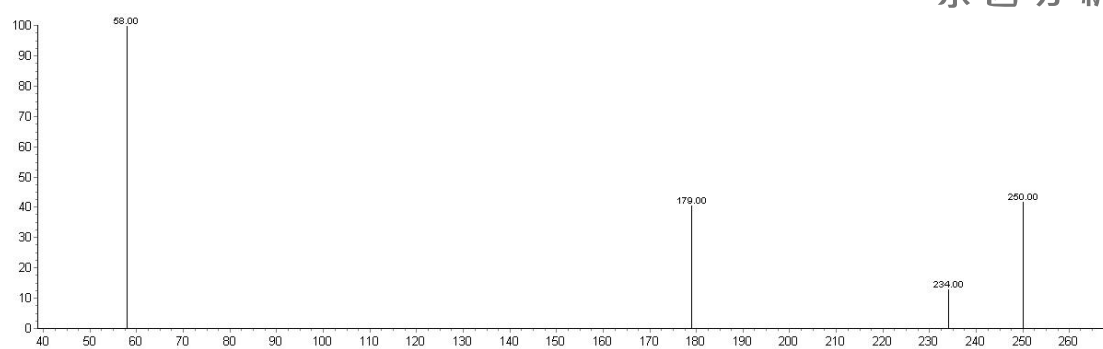


图 5 莱克多巴胺衍生物选择离子扫描质谱图

2.2 样品谱图

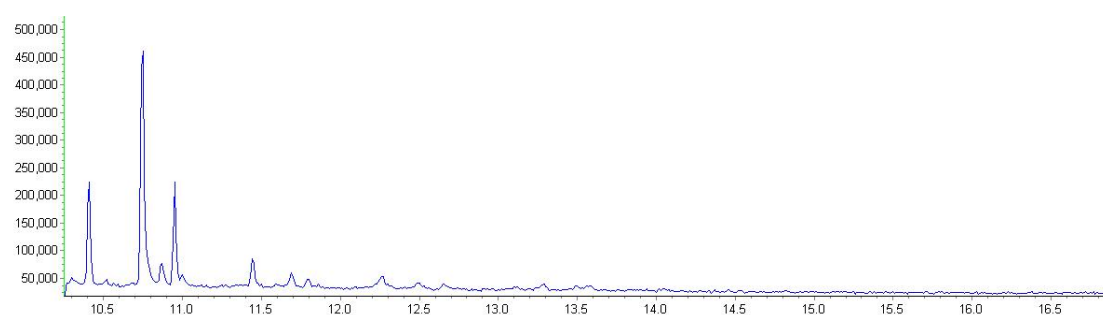


图 6 猪肉实际样品选择离子扫描 TIC 图

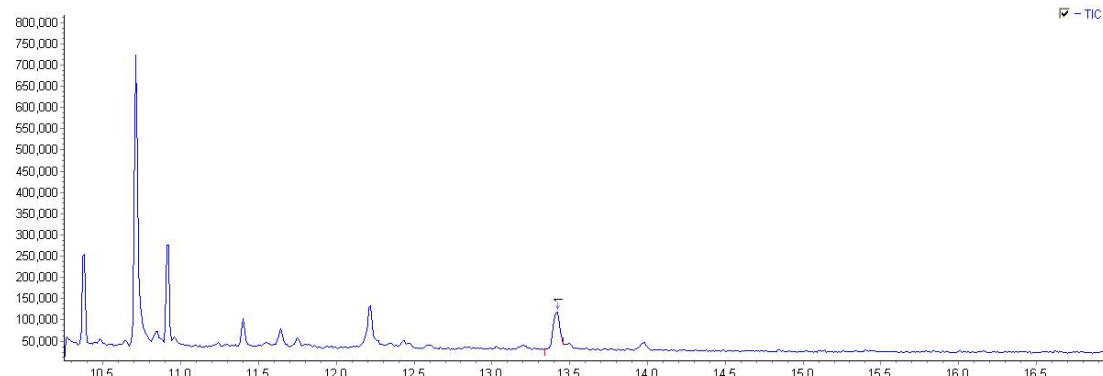


图 7 猪肉实际样品加标选择离子扫描 TIC 图 (0.05ug/g)

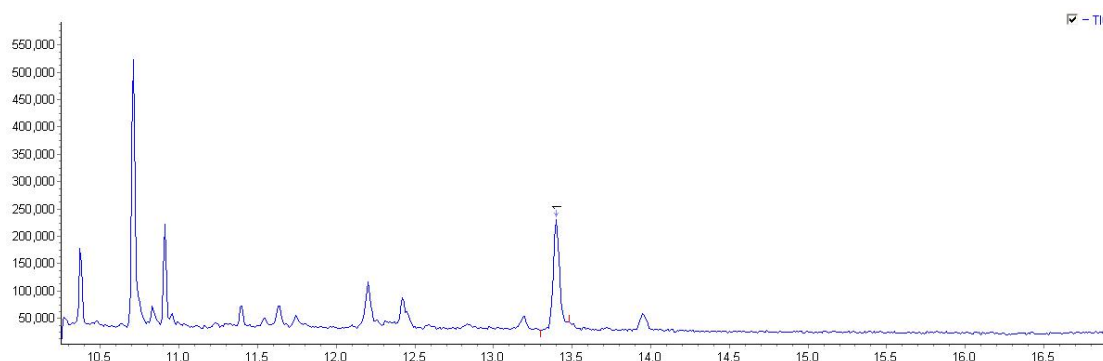


图 8 猪肉实际样品加标选择离子扫描 TIC 图 (0.10ug/g)

2.3 空白实验

除不加猪肉样品外，采用与实际样品完全相同的处理和测定步骤进行平行操作。空白实验结果谱图如下。

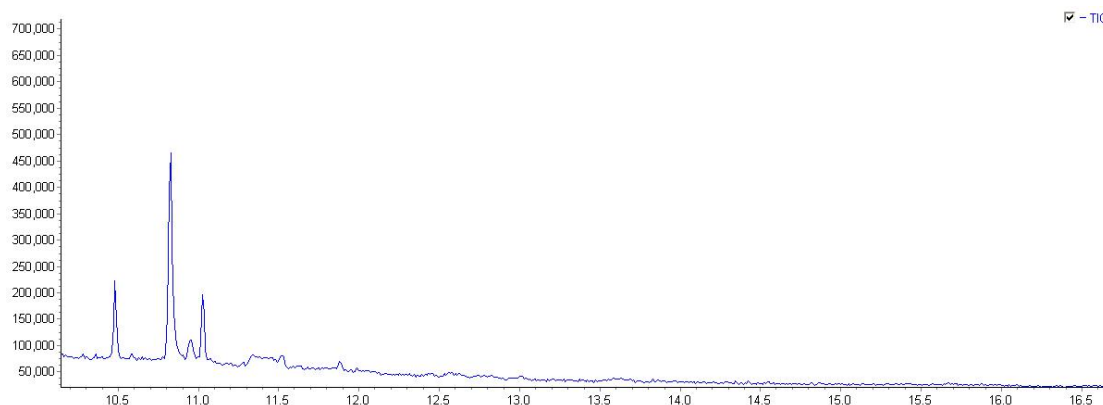


图 9 空白选择离子扫描 TIC 图

2.4 回收率

准确称取 5g 经绞碎过的猪肉样品，添加浓度为 0.05ug/g 、0.1ug/g，每个浓度平行两次试验，按照上述方法进行前处理，测得平均回收率分别为 76%和 80%。

2.5 标准曲线及检测结果

以莱克多巴胺标准溶液浓度为横坐标，相应的定量离子峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线。莱克多巴胺衍生物保留时间为 13.42 min，在测定浓度范围内具有良好的线性关系，线性相关系数为 0.997，线性方程为 $y = 3E+06x + 2266.5$ ，相对标准偏差 $\leq 15\%$ ，加标回收率大于 75%。此猪肉中未检出莱克多巴胺。

3 结果与讨论

3.1 实验过程注意事项

- 1) 用氮吹仪浓缩过程中，要严格控制氮气流量，不能太大，否则样品会在氮吹的过程中损失，从而导致实验失败。
- 2) 由于衍生试剂对潮气比较敏感，因此一定要吹干，然后才能加衍生试剂衍生。空气湿度亦对实验有影响。
- 3) 衍生用的甲苯最好用无水硫酸钠除下水。

4) 莱克多巴胺衍生物不稳定, 容易分解, 不可放置时间太长。

5) 定性定量离子的选择: 参照标准中选择 m/z 163,192,234,250 作为监测离子, 但实验过程中发现 m/z 58,179,234,250 响应值更高, 背景噪声更小, 其中 m/z 58 为莱克多巴胺衍生物的基峰, 故定量离子选择 m/z 58 更加合理。

3.2 结论

本文部分参照“农业部 958 公告-4-2007”标准, 建立了猪肉中莱克多巴胺的 GC-MS 分析方法; 该方法在测定浓度范围内线性关系良好, 加标回收率大于 75%, 精密度良好; 实验结果表明, 该方法适合于莱克多巴胺的定性、定量测定。