

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

俞晓兰¹, 夏宝林¹, 张维益¹, 费静², KAMOLRAT Metavarayuth^{2,3}, 杨佳^{2*}

(1. 江阴市食品安全检测中心, 江阴 214400; 2. 无锡微色谱生物科技有限公司, 江阴 214400;
3. 得利斯集团有限公司, 诸城 262216)

摘要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)同时测定鸡肉中克伦特罗、溴布特罗、溴代克伦特罗、特布他林、沙丁胺醇 5 种 β -受体激动剂残留量的分析方法。**方法** 在鸡肉样品加入 β -葡萄糖醛酸酶进行水解, 经混合阳离子(MCX)固相萃取柱净化, 利用超高效液相色谱-串联质谱法检测, 内标法定量。同时考察了不同的酶制剂对鸡肉中 β -受体激动剂含量测定的影响。**结果** 5 种 β -受体激动剂在 0.1~50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度范围内呈现良好的线性关系, 相关系数均大于 0.9991, 方法的检出限(limits of detection, LOD)为 0.02~0.24 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限(limits of quantitation, LOQ)为 0.1~0.71 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。在 0.5、5、40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加水平下, 5 种 β -受体激动剂的平均回收率为 77.8%~117.5%, 相对标准偏差小于 7.9%。在相同的条件下 IMCSzyme[®]比蜗牛 β -葡萄糖醛酸酶能够更有效地解离鸡肉中耦合的特布他林和沙丁胺醇, 测得的含量提高, 结果稳定。**结论** 本方法缩短了样品水解时间, 提高了 β -受体激动剂的检测效率, 适用于同时检测鸡肉中 5 种 β -受体激动剂含量。

关键词: β -受体激动剂; β -葡萄糖醛酸酶; 水解; 超高效液相色谱-串联质谱法; 鸡肉

Determination of 5 kinds of β -agonist residues in chicken by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

YU Xiao-Lan¹, XIA Bao-Lin¹, ZHANG Wei-Yi¹, FEI Jing²,
KAMOLRAT Metavarayuth^{2,3}, YANG Jia^{2*}

(1. Testing Center of Jiangyin Food Safety, Jiangyin 214400, China; 2. Wuxi MicroSep Biotechnology Co., Ltd., Jiangyin 214400, China; 3. Delisi Group Co., Ltd., Zhucheng 262216, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for simultaneous determination of 5 kinds of β -agonists (clenbuterol, brombuterol, bromchlorbuterol, terbutaline and salbutamol) in chicken muscle by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** Chicken meat samples were hydrolyzed by β -glucuronidase. And then the extracts were purified and concentrated by MCX column, analyzed with UPLC-MS/MS and quantified by internal standard method. The hydrolysis efficiency of β -agonists in chicken muscle was also evaluated, when chicken meat samples hydrolyzed with different enzymes from different sources. **Results** The calibration curves were good linear between 0.1-50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the correlation coefficient for all analytes were higher than 0.9991. The limits of detection (LOD) of 5 kinds of β -agonists in chicken meat were 0.02-0.24 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the limits of

基金项目: 2017年山东省引进外国专家项目(省高端)资助计划

Fund: Supported by 2017Recruitment Program of High-end Foreign Expertsof Shandong Province

*通讯作者: 杨佳, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: yangjia@micro-sep.com

*Corresponding author: YANG Jia, Ph.D, Professor, Wuxi MicroSep Biotechnology Co., Ltd., Wuxi 214400, China. E-mail: yangjia@micro-sep.com

quantitation (LOQ) were 0.1-0.71 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The recoveries were ranged from 77.8% to 117.5% for the 5 kinds of β -agonist residues at 3 spiked levels of 0.5, 5 and 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ with relative standard deviations (RSDs) less than 7.9%. Under the same conditions, recombinant β -glucuronidase (IMCSzyme®) was able to dissociate terbutaline and salbutamol conjugated in chicken more efficiently than β -glucuronidase from *Helix pomatia*. The measured content was increased and the results were stable. **Conclusion** This method shortens the hydrolysis time of the sample, improves the detection efficiency of the β -agonist, which is suitable for simultaneously detecting the content of 5 β -agonists in the chicken.

KEY WORDS: β -agonist; β -glucuronidase; hydrolysis; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; chicken meat

1 引言

β -受体激动剂是一类苯乙醇胺类化合物, 在动物体内能减缓或减少脂肪沉积, 增加肌肉蛋白沉积, 提高动物胴体瘦肉率、增重和提高饲料转化率, 当用于牛、羊、禽、猪等畜禽的促生长剂、饲料添加剂时, 会提高其瘦肉率^[1-3]。但同时, β -受体激动剂类药物也可引起心室早搏, 四肢、脸、颈部骨骼肌震颤, 还引发代谢紊乱, 对糖尿病人可发生酸中毒或酮中毒。由于其严重的危害性, 在许多国家包括欧盟和中国已禁止在饲料中添加这些化合物, 相关标准规定需对动物源性食品、饲料、饮用水中该类化合物的残留量进行检测^[4,5]。由于在不同基质中目标化合物的代谢形态和含量各不相同, 选择使用合适的 β -葡萄糖醛酸酶进行酶促水解反应是本研究的重点。

β -受体激动剂是一类化学合成的苯乙醇胺类衍生物, 根据苯环上取代基的差异, 可分为苯胺型和苯酚型。苯胺结构的化合物, 结合反应率和蛋白结合率低; 苯酚结构的化合物结合代谢过程较强, 药物进入人或动物体内后, 通过糖苷键结合参与代谢, 转换为葡萄糖醛酸结合物或硫酸结合物^[6]。所以 β -受体激动剂的检测通常需要酶解步骤, β -葡萄糖醛酸酶是一种可以使葡萄糖醛酸苷键加水分解的酶, 它可以把葡萄糖醛酸结合物或硫酸结合物的糖苷键切断, 释放出游离态。目前, 市场上的 β -葡萄糖醛酸酶一般提取自鲍鱼、蜗牛或大肠杆菌。而 IMCSzyme® 是一种新型的生物改良的 β -葡萄糖醛酸酶, 与其他产品相比, 其活性、纯度更高^[7-9]。

目前, β -受体激动剂类药物残留的检测方法包括高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC)^[10], 气相色谱-质谱法 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[11], 液相色谱-质谱/质谱法 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)^[12-14], 毛细管电泳电气化学检测法^[15] 和免疫检测法^[16,17]。LC-MS/MS 因其在定量分析中的灵敏度及选择性最高, 从而成为目前主要使用的分析方法^[12-14,18]。

本研究建立了超高效液相色谱-串联质谱快速、高效

地同时测定鸡肉中 5 种 β -受体激动剂残留的方法。同时研究考察不同酶制剂对鸡肉中结合的沙丁胺醇、特布他林水解效率的影响, 以期能够为提高动物源性食品中 β -受体激动剂残留检测灵敏度与准确度提供理论依据。

2 材料与方法

2.1 材料、仪器和试剂

Acquity™ UPLC-XEVO TQ-S 超高效液相色谱-串联质谱仪 (美国 Waters 公司); Acquity™ UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm , 美国 Waters 公司); F6 间歇式高剪切 (德国 FLUKO 公司); 5417R 高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); pH 计 (瑞士 METTLER 公司); NDK200-1A 96 孔氮吹仪 (杭州米欧仪器有限公司); MCX 混合阳离子固相萃取柱 (3 mL, 60 mg, 上海普喻科贸有限公司)。

甲酸、乙腈 (色谱纯, 德国 CNW 公司); 甲醇 (色谱纯, 德国 Merck 公司); 氨水 (色谱纯, $\geq 25\%$, 上海阿拉丁公司); 高氯酸、氢氧化钠、氯化钠、异丙醇、乙酸乙酯 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 克伦特罗 (clenbuterol)、溴布特罗 (brombuterol)、溴代克伦特罗 (bromchlorbuterol)、特布他林 (terbutaline)、沙丁胺醇 (salbutamol)、沙丁胺醇-D₃ (salbutamol-D₃)、特布他林-D₉ (terbutaline-D₉)、克伦特罗-D₉ (clenbuterol-D₉) (纯度 $\geq 99\%$, 德国 WITEGA 公司); IMCSzyme® (美国 IMCS 公司); 蜗牛 β -葡萄糖醛酸酶 (美国 Sigma 公司)。

沙丁胺醇、特布他林阳性鸡肉样品的获取: 选取 49 日龄健康 AA 商品代肉鸡 8 只, 在日粮中添加 1 g/kg 的沙丁胺醇、特布他林, 饲喂 21 d 后屠宰, 取肌肉样品, 于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

2.2 实验方法

2.2.1 溶液配制

β -受体激动剂标准溶液配制: 分别准确称取适量克伦特罗、溴布特罗、溴代克伦特罗、特布他林、沙丁胺醇标准品, 用甲醇溶解并定容, 各配制成 100 mg/L 的标准品储备液, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存; 分别取 5 种 β -受体激动剂储备液, 用甲

醇稀释配制 200 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准工作溶液,并用流动相(甲醇:水, 5:95, *V:V*)稀释成浓度为 0.1~50 ng/mL 的混合标准溶液。

准确称取适量特布他林- D_9 、克伦特罗- D_9 、沙丁胺醇- D_3 ,用甲醇溶解并定容,各配制成 1.0 mg/mL 的内标储备液;用甲醇稀释配制特布他林- D_9 80 $\mu\text{g/L}$ 、克伦特罗- D_9 80 $\mu\text{g/L}$ 、沙丁胺醇- D_3 20 $\mu\text{g/L}$ 的内标溶液。

2.2.2 样品前处理

称取(2 \pm 0.01) g 经捣碎的鸡肉样品于 50 mL 离心管中,加入 8 mL 乙酸钠缓冲液(pH 5.2)或 8 mL 快速水解缓冲液(pH 7.4),均质,再加入蜗牛 β -葡萄糖醛酸酶或 IMCSzyme[®],混匀后,37 $^{\circ}\text{C}$ 下进行水解反应。在水解后的样品中加入 100 μL 的内标混合物(沙丁胺醇- D_3 20 $\mu\text{g/L}$,特布他林- D_9 80 $\mu\text{g/L}$,克伦特罗- D_9 80 $\mu\text{g/L}$)。加盖置于水平振荡器上振荡 15 min,5000 r/min 离心 10 min,取 4 mL 上清液加入 0.1 mol/L 高氯酸溶液 5 mL,混合均匀,用高氯酸调 pH 值到(1 \pm 0.3)。5000 r/min 离心 10 min,转移全部上清液(约 10 mL)到 50 mL 离心管中,用 10 mol/L 的氢氧化钠溶液调 pH 值到 11。加入 10 mL 饱和氯化钠溶液和 10 mL 异丙醇-乙酸乙酯(6:4, *V:V*)混合溶液,充分提取,在 5000 r/min 下离心 10 min。转移全部有机相,在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下用氮气将其吹干。加入 5 mL 乙酸钠缓冲液(pH 5.2)或快速水解缓冲液(pH 7.4)溶解,超声混匀,使残渣充分溶解后备用,待净化。

2.2.3 样品净化

将阳离子交换小柱连接到真空过柱装置,依次用甲醇、0.1%盐酸水各 2 mL 活化柱子;将上述残渣溶液上柱,依次用 2 mL 水、2 mL 2%甲酸水溶液和 2 mL 甲醇洗涤柱子并彻底抽干,最后用 2 mL 5%氨水甲醇溶液洗脱柱子上的待测成分。流速控制在 0.5 mL/min。洗脱液在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下氮气吹干。残渣物用 200 μL 0.1%甲酸/水-甲醇溶液(95:5, *V:V*)溶解,超声混匀,0.22 μm 过滤膜过滤,供超高效液相色谱-

串联质谱仪测定。

2.2.4 液相色谱-串联质谱条件

(1) 液相色谱条件

Waters ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱(50 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm);流动相 A 为 0.1%甲酸-水溶液,流动相 B 为 0.1%甲酸-乙腈溶液;流速:0.2 mL/min;柱温:35 $^{\circ}\text{C}$;进样体积:5.0 μL 。液相色谱梯度洗脱程序:0~3.0 min, 4%~8% B; 3.0~7.0 min, 8%~40% B; 7.0~7.5 min, 40%~95% B; 7.5~8.5 min, 95% B; 8.5~9.6 min, 95%~4% B。

(2) 质谱条件

离子源:电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI),正离子扫描方式,多反应监测模式(multi reaction monitor, MRM);毛细管电压为 3100 V;去溶剂气(高纯氮气)流速为 800 L/h,去溶剂温度 200 $^{\circ}\text{C}$;使用前调节各气体流量以使质谱灵敏度达到检测要求。所选 5 种 β -受体激动剂化合物及 3 种内标质谱参数优化结果见表 1。

3 结果与分析

3.1 方法的线性范围及检出限

本文采用内标法对 5 种 β -受体激动剂进行定量分析。按 2.2.1 节所述配制系列标准溶液和内标工作液,制得浓度为 0.1、0.5、2、5、10、20、50 $\mu\text{g/kg}$ 的混合标准溶液,内标物沙丁胺醇- D_3 浓度为 5 $\mu\text{g/kg}$,特布他林- D_9 浓度为 20 $\mu\text{g/kg}$,克伦特罗- D_9 浓度为 20 $\mu\text{g/kg}$,依次上机测定,以各药物定量离子质量色谱峰面积与对应的内标峰面积比值为纵坐标(Y),标准溶液浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,得到线性方程,5 种 β -受体激动剂在 0.1~50 $\mu\text{g/kg}$ 的系列标液浓度范围内呈现良好的线性关系,相关系数(r)为 0.9991~0.9998。以 10 倍信噪比确定化合物的方法定量限(limit of quantification, LOQ),以 3 倍信噪比计算药物的检出限(limit of detection, LOD),结果见表 2。5 种 β -受体激

表 1 多反应监测离子及质谱参数
Table 1 Multiple reaction monitoring setting for MS/MS of each analyte

编号	化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	锥孔电压 /V	碰撞能量 /eV	内标物
1	特布他林	226.1	107.0*/152.0	30	15/30	2
2	沙丁胺醇	240.1	148.0*/166.0	25	20/12	1
3	克伦特罗	277.24	132*/168	6	28/26	3
4	溴布特罗	367.1	214.1*/293	30	30/18	3
5	溴代克伦特罗 bromchlorbuterol/bromchlorbuterol	321.25	247.16*/168.2	10	16/28	3
6	沙丁胺醇- D_3	243.1	151	30	16	内标物 1
7	特布他林- D_9	235.3	153	30	15	内标物 2
8	克伦特罗- D_9	286.4	204	30	16	内标物 3

表 2 鸡肉中 5 种 β -受体激动剂的线性范围、标准曲线、曲线相关系数
Table 2 Linear range Standard curves and correlation coefficients of 5 kind of β -agonists

编号	化合物	线性范围/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	标准曲线	相关系数(r)	检出限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	特布他林	0.1~50	$Y=0.331102X+0.00362163$	0.9998	0.04	0.12
2	沙丁胺醇	0.1~50	$Y=0.851578X+0.00652387$	0.9998	0.02	0.1
3	克伦特罗	0.1~50	$Y=0.28628X+0.00411336$	0.9993	0.24	0.71
4	溴代克伦特罗	0.1~50	$Y=0.688378X-0.00508109$	0.9999	0.08	0.24
5	溴布特罗	0.1~50	$Y=0.284725X-0.00519134$	0.9991	0.06	0.17

动剂的检出限为 0.02~0.24 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 0.1~0.71 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 满足定量分析的要求, 方法具有较高的检测灵敏度。

3.2 方法的回收率和精密度

采用鸡肉空白样品, 进行加标回收和精密度实验。样品中添加低、中、高 3 个浓度水平(0.5、5、40 $\mu\text{g}/\text{kg}$)的混合标准溶液(内标沙丁胺醇- D_3 浓度为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 特布他林- D_9 浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 克伦特罗- D_9 浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 每个添加浓度设 3 个平行样本, 按本实验方法进行样品处理和测定, 结果见表 3, 平均回收率为 77.8%~117.5%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 1.15%~7.9%。

表 3 鸡肉中 5 种 β -受体激动剂的平均回收率($n=3$)
Table 3 Average recoveries of 5 kinds of β -agonists in chicken ($n=3$)

编号	化合物	添加水平					
		0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$		5 $\mu\text{g}/\text{kg}$		40 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
		回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%
1	特布他林	98.7	4.5	89.6	7.8	104.9	7.0
2	沙丁胺醇	82.0	7.32	105.9	7.08	77.8	2.77
3	克伦特罗	96.0	6.25	101.1	6.1	117.5	1.15
4	溴代克伦特罗	104.4	2.9	101.0	3.37	114.4	7.9
5	溴布特罗	84.0	6.7	93.9	3.8	112.3	7.1

3.3 样品的酶解

沙丁胺醇和特布他林属于苯酚型苯乙胺类药物, 这部分 β -受体激动剂在动物体内代谢过程中, 在葡萄糖醛酸转移酶、硫酸酯等作用下发生各种结合反应, 生成各种结合物长期存在, 因此在样品提取前要通过对应的酶类进行水解, 使其结合态的待测物解离释放出来^[6]。有关水解的条件、酶的品种、酶用量、酶解时间均有报道^[6,19], 但酶制剂自身及水解样品时产生大量的干扰杂质, 以及长时间的酶解操作降低了检测效率^[6,19]。IMCSzyme[®]是一种基因工程改良的 β -葡萄糖醛酸酶, 其品质无色清澈, 与其他从生物体提取的同类酶制剂相比所含杂质少, 并且 IMCSzyme[®]

活性、纯度得到显著提高^[7-9]。因此本研究采用 IMCSzyme[®]和蜗牛 β -葡萄糖醛酸酶进行水解反应, 以沙丁胺醇和特布他林阳性鸡肉样品为模型, 比较 2 种酶制剂的水解效率、结合物的解离效率以及不同水解时间和酶的用量对检测结果的影响。

取沙丁胺醇和特布他林阳性鸡肉样品 2 g, 加入 0.2 mol/L 乙酸钠缓冲液(pH 5.2) 8 mL, 蜗牛 β -葡萄糖醛酸酶 50 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 放置 15 h; 另取沙丁胺醇和特布他林阳性鸡肉样品 2 g, 加入快速水解缓冲液(pH 7.4) 8 mL, IMCSzyme[®] 50 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 放置 2 h 或 15 h; 酶解反应后, 按照样品前处理及样品净化方法进行处理, UPLC-MS/MS 检测。结果如图 1 所示, 沙丁胺醇和特布他林阳性鸡肉样品经蜗牛 β -葡萄糖醛酸酶水解处理的测定结果分别为 8.62 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和 9.66 $\mu\text{g}/\text{L}$; 经 IMCSzyme[®] 水解 15 h 的测定结果分别为 10.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 13.17 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 结果表明, 相比较于蜗牛 β -葡萄糖醛酸酶, 在相同的酶用量和水解时间下, IMCSzyme[®] 可更有效的解离鸡肉中结合的的特布他林和沙丁胺醇。而沙丁胺醇和特布他林阳性鸡肉样品经 IMCSzyme[®] 水解 2 h 的测定结果分别为 8.57 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 15.74 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 表明水解时间过长可以导致水解产物的降解。特布他林阳性鸡肉样品经 IMCSzyme[®] 水解 2 h 测得的含量高于水解 15 h 的含量, 说明特布他林水解产物不稳定, 水解时间过长会引起化合物在降解, 从而导致测定的结果降低, 如图 1、图 2B 所示。比较 IMCSzyme[®] 水解反应 2 h 和 15 h 的测定结果, 表明 IMCSzyme[®] 可以在 2 h 完成底物的快速水解, 这避免了水解反应过长所致产物的降解, 使得检测结果更为准确, 同时也节省了检测的整体时间, 提高了检测效率。

同时本研究考察了 IMCSzyme[®] 使用量以及水解反应时间对 β -受体激动剂在鸡肉中残留量检测结果的影响。取沙丁胺醇和特布他林阳性鸡肉样品 2 g, 加入快速水解缓冲液(pH 7.4) 8 mL, IMCSzyme[®] 10、20、30、40、50 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 放置过夜; 水解反应后, 按照样品前处理及样品净化方法进行处理, UPLC-MS/MS 检测。结果如图 2A 所示, IMCSzyme[®] 用量为 10~50 μL 对沙丁胺醇和特布他林含量测定结果没有显著的影响。

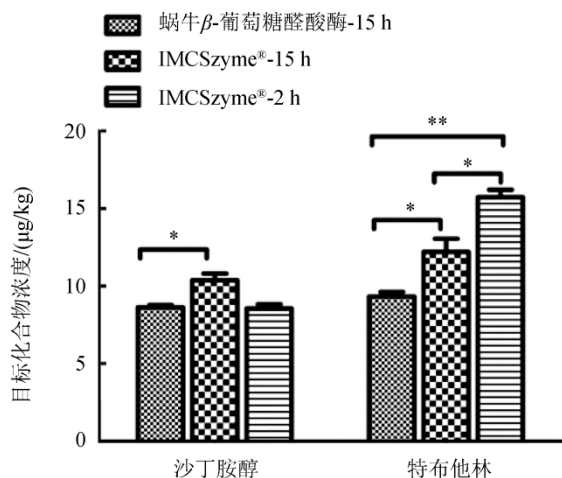


图1 不同酶制剂对鸡肉中沙丁胺醇和特布他林检测结果的比较($n=3$)

Fig. 1 Evaluation of the hydrolysis efficiency of two β -glucuronidase enzymes for β -agonist glucuronide conjugates ($n=3$)

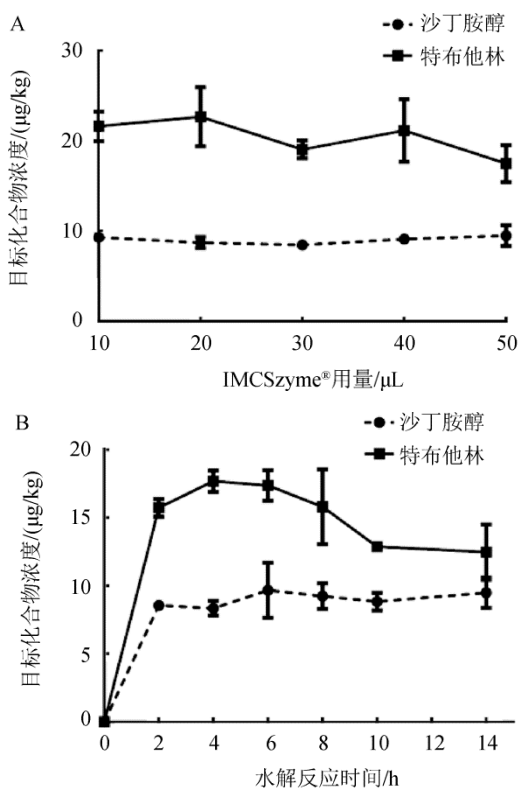


图2 不同IMCSyme[®]使用量及水解时间对鸡肉中沙丁胺醇和特布他林检测值的影响($n=3$)

Fig. 2 Effect of enzyme volume and incubation time on the hydrolysis of glucuronides of Salbutamol and Terbutaline with recombinant β -glucuronidase ($n=3$)

另取沙丁胺醇和特布他林阳性鸡肉样品 2 g, 加入快速水解缓冲液(pH 7.4) 8 mL, IMCSzyme[®] 50 μ L, 在 37 $^{\circ}$ C 放置 2、4、6、8、10、14 h; 水解反应后, 按照样品前处

理及样品净化方法进行处理, UPLC-MS/MS 检测, 对水解时间进行研究。结果如图 2B 所示, 水解反应 2 h 时, 沙丁胺醇和特布他林的浓度均上升至峰值, 随后再延长水解时间, 浓度差异不显著, 因而推断 37 $^{\circ}$ C 2 h 后酶解作用基本完成, 继续延长水解反应时间对于提高提取效率无太大影响。但特布他林的浓度在 8 h 后降低, 表明水解时间的延长可导致特布他林水解产物不稳定, 从而导致测定的结果降低。

4 结论

本研究建立了鸡肉中克伦特罗、溴布特罗、溴代克伦特罗、特布他林、沙丁胺醇特布他林、沙丁胺醇 5 种 β -受体激动剂的 UPLC-MS/MS 检测方法。经方法学验证, 方法的回收率、精密度和准确度能够满足药物残留分析要求。分别采用基因工程改良的 IMCSzyme[®]和生物体提取的蜗牛 β -葡萄糖醛酸酶进行水解反应, 表明两种酶制剂都能达到良好的水解效果, 但 IMCSzyme[®]比蜗牛 β -葡萄糖醛酸酶的水解效率更高, 并且减少 IMCSzyme[®]的用量和反应时间同样能达到很好的水解效果, 因此使用 IMCSzyme[®]进行水解反应可以缩短 β -受体激动剂检测的时间, 提高检测效率, 保证检测结果的准确性, 节省成本。

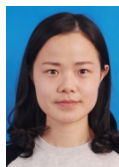
参考文献

- [1] Smith DJ. The pharmacokinetics, metabolism, and tissue residues of β -adrenergic agonists in livestock [J]. *J Anim Sci*, 1998, 6(1): 173-194.
- [2] Mastrianni KR, Metavarayuth K, Brewer WE, *et al.* Analysis of 10 β -agonists in pork meat using automated dispersive pipette extraction and LC-MS/MS [J]. *J Chromatogr B*, 2018, (1084): 64-68.
- [3] 叶培, 岳振峰, 肖陈贵, 等. 液相色谱-串联质谱法检测猪肉中 28 种 β_2 -受体激动剂[J]. *食品安全质量检测学报*, 2013, 4(3): 682-688. Ye P, Yue ZF, Xiao CG, *et al.* Determination of 28 β_2 -agonist in pork by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2013, 4(3): 682-688.
- [4] GB/T 22286-2008 动物源性食品中多种 β -受体激动剂残留量的测定 液相色谱串联质谱法[S]. GB/T 22286-2008 Determination of β -agonists residues in foodstuff of animal origin-Liquid chromatography-tandem mass spectrometric method [S].
- [5] 刘佳, 梁桂荣, 李少晖, 等. 液相色谱-串联质谱法检测饲料中 26 种 β_2 -受体激动剂类药物残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(4): 1167-1173. Liu J, Liang GR, Li SH, *et al.* Simultaneous determination of 26 β_2 -agonist residues in feed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(4): 1167-1173.
- [6] 李俊锁, 邱月明, 王超. 兽药残留分析[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002. Li JS, Qiu YM, Wang C. Residue analysis for veterinary drug [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2002.
- [7] Lee LA. Mutant beta-glucuronidase enzymes with enhanced enzymatic

- activity [P]. US, 20160090582. A1, 2016-3-31.
- [8] Morris AA, Chester SA, Strickland EC, *et al.* Rapid enzymatic hydrolysis using a novel recombinant β -glucuronidase in benzodiazepine urinalysis [J]. *J Anal Toxicol*, 2014, 38(8): 610–614.
- [9] Yang HS, Wu AH, Lynch KL. Development and validation of a novel LC-MS/MS opioid confirmation assay: evaluation of β -glucuronidase enzymes and sample cleanup methods [J]. *J Anal Toxicol*, 2016, 40(5): 323–329.
- [10] Qu CH, Li XL, Zhang L, *et al.* Simultaneous determination of cimaterol, salbutamol, terbutaline and ractopamine in feed by SPE coupled to UPLC [J]. *Chromatographia*, 2011, 73(4): 243–249.
- [11] 吴平谷, 陈慧华, 王强, 等. 气相色谱-质谱法测定动物组织中残留的 10 种 β_2 -兴奋剂[J]. *色谱*, 2008, 26(1): 39–42
Wu PG, Chen HH, Wang Q, *et al.* Multi-residue analysis of 10 β_2 -agonists in animal tissues using gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2008, 26(1): 39–42.
- [12] 李阳, 苏晓鸥, 王瑞国, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定绵羊唾液中 14 种 β -受体激动剂[J]. *分析化学*, 2013, 41(6): 899–904.
Li Y, Su XO, Wang RG, *et al.* Simultaneous determination of 14 kinds of β -agonist residues in sheep saliva by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2013, 41(6): 899–904.
- [13] 李丹, 孙雷, 毕言锋, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测猪尿中 20 种 β -受体激动剂残留[J]. *中国兽药杂志*, 2013, 47(12): 50–56.
Li D, Sun L, Bi YF, *et al.* Determination of β -agonists in pig urine by UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Vet Drug*, 2013, 47(12): 50–56.
- [14] 郝杰, 姜洁, 余建龙, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物源性食品中多种兽药残留[J]. *食品科学*, 2017, 38(12): 266–272.
Hao J, Jiang J, Yu JL, *et al.* Simultaneous determination of multi-veterinary drug residues in animal-origin food by solid phase extraction coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2017, 38(12): 266–272.
- [15] Wang W, Zhang Y, Wang J, *et al.* Determination of beta-agonists in pig feed, pig urine and pig liver using capillary electrophoresis with electrochemical detection [J]. *Meat Sci*, 2010, 85(2): 302–305.
- [16] Zhao YY, Jiang D, Wu K, *et al.* Development of a sensitive monoclonal antibody-based ELISA for the determination of a β -adrenergic agonist brombuterol in swine meat, liver and feed samples [J]. *Anal Method*, 2016, 8(38): 6941–6948.
- [17] Yuan Y, Zhao YY, Wu K, *et al.* A sensitive and group-specific monoclonal antibody-based indirect competitive ELISA for the determination of salbutamol in swine meat and liver samples [J]. *Anal Method*, 2017, 9(39): 5806–5818.
- [18] Wang X, Wang SJ, Cai ZW. The latest developments and applications of mass spectrometry in food-safety and quality analysis [J]. *Trac Trend Anal Chem*, 2013, (52): 170–185.
- [19] 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, (5): 717–722.
Li Y, Su XO, Zhang W, *et al.* Study on influences of enzymolysis and organic solvent extraction on determination of 2 kinds of β_2 -agonist residues in sheep plasma and urine [J]. *Chin J Anal Chem*, 2014, (5): 717–722.

(责任编辑: 陈雨薇)

作者简介



俞晓兰, 中级工程师, 主要研究方向为食品质量检测。
E-mail: 75951354@qq.com



杨佳, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: yangjia@micro-sep.com