DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260126003
引用格式: 杨水仙, 王均, 熊宇. 高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中 11 种 *β*-受体激动剂残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(17): 26–35.
Yang Shuixian, Wang Jun, Xiong Yu. Determination of 11 kinds of *β*-agonists residues in animal derived food by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(17): 26–35. (in Chinese with English abstract).

高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中 11 种 *β*-受体激动剂残留

杨水仙[1*], 王　均[2], 熊　宇[1]

(1. 眉山市农业质量检测中心, 眉山　620010; 2. 内江师范学院水产学院, 长江上游鱼类资源保护与利用四川省重点实验室, 内江　641100)

摘　要: 目的　建立高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)测定猪肉、牛肉和猪肝中 11 种 *β*-受体激动剂类药物(克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇、特布他林、西马特罗、氯丙那林、齐帕特罗、西布特罗、溴布特罗、班布特罗、马布特罗)含量。**方法**　样品经过夜孵化后, 用含 0.5%甲酸乙腈提取, Bond Elut EMR-Lipid 分散固相萃取(solid-phase extraction, SPE)净化, 经甲醇-0.1%甲酸定容后, 分离采用 C_{18} 色谱柱(2.1 μm×150 mm, 2.7 μm), 流动相为甲醇-0.1%甲酸溶液, 梯度洗脱后, 经电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI)正离子扫描, 内标法定量。**结果**　11 种 *β*-受体激动剂在 0.5~25.0 ng/mL 范围内, 标准曲线决定系数(r^2)均在 0.995 以上, 仪器精密度(relative standard deviations, RSDs)≤7.8%。检出限为 0.10 μg/kg, 通过在代表性基质中添加 0.20 μg/kg 目标物, 回收率范围为 95.0%~110.0%, 方法精密度 RSDs 范围为 0.75%~9.53%, 定量限为 0.20 μg/kg。通过在代表性基质猪肉、牛肉、猪肝中添加 0.5、5.0、10.0 μg/kg 3 个浓度梯度的目标物, 回收率范围为 78.1%~108.4%, 精密度 RSDs≤8.76%, 方法定量限和准确度均完全满足对兽药残留痕量检测的要求。**结论**　该方法前处理简便快捷、灵敏度高, 回收率和重现性良好, 可同时测定动物源性食品中 11 种 *β*-受体激动剂。

关键词: *β*-受体激动剂; 高效液相色谱-串联质谱法; 兽药残留; 动物源性食品
中图分类号: TS210.7　　**文献识别码:** A　　**文章编号:** 2095–0381(2026)17–0026–10

Determination of 11 kinds of *β*-agonists residues in animal derived food by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

YANG Shui-Xian[1*], WANG Jun[2], XIONG Yu[1]

(1. *Meishan Center for Quality and Satety Tesing of Agricultural Products*, *Meishan* 620010, *China*; 2. *Key Laboratory of Sichuan Province for Fishes Conservation and Utilization in the Upper Reaches of the Yangtze River*, *College of Fisheries*, *Neijiang Normal University*, *Neijiang* 641100, *China*)

收稿日期: 2026-01-26
基金项目: 四川省科技计划项目(2023YFN0048)

第一作者/*通信作者: 杨水仙(1987—), 女, 硕士, 高级兽医师, 主要研究方向为农产品质量安全检测。E-mail: yangshuixian2025@163.com

ABSTRACT: Objective　To establish a method for the determination of 11 kinds of β-agonists (clenbuterol, ractopamine, salbutamol, terbutaline, cimaterol, clorprenaline, ziprasidone, cimbuterol, bromobutirone, bambuterol, mabutrol) content in pork, beef and pork liver by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods**　After overnight incubation, the samples were extracted with acetonitrile containing 0.5% formic acid, purified by Bond Elut EMR-Lipid dispersive solid-phase extraction (SPE), and then reconstituted with methanol-0.1% formic acid. The sample was separated on a C_{18} column (2.1 μm×150 mm, 2.7 μm) using methanol-0.1% formic acid as the mobile phase. Gradient elution was performed with electrospray ionization (ESI) positive ion scanning, and quantification was achieved by internal standard method. **Results**　The determination coefficient (r^2) of the standard curve of 11 kinds of β-agonists in the range of 0.5–25.0 ng/mL was above 0.995. The relative standard deviations (RSDs) of instrument were less than 7.8%. The limit of detection was 0.10 μg/kg. By adding 0.20 μg/kg of the target compounds to the representative matrix, the recovery of the target was 95.0%–110.0% and the precision RSDs were 0.75%–9.53%, so the 0.20 μg/kg was determined as the limit of quantitation. The average recoveries of the target compounds in the representative matrices of pork, beef and pork liver were 78.1%–108.4% at the concentrations of 0.5, 5.0 and 10.0 μg/kg, respectively. The precision RSDs were less than 8.76%. The limit of quantitation and the accuracy of the method were all in line with the requirements of the detection of trace veterinary drug residues. **Conclusion**　The method is simple and rapid, with high sensitivity, good recovery and reproducibility, and can be used to determine 11 kinds of β-agonists in animal derived foods.

KEY WORDS: β-agonists; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; residue of veterinary drug; animal derived foods

0　引　言

β-受体激动剂是一类能促进动物体内营养成分由脂肪组织向肌肉组织转移从而显著提高动物胴体瘦肉率的一类药物[1–2], 俗称瘦肉精, 能够选择性地与体内的β-肾上腺素受体结合并被激活。常以盐的形式存在, 被制成白色或类白色颗粒状晶体或粉末, 通常易溶于甲醇、乙腈、乙酸乙酯等有机溶剂。人食用含药物残留的肉类过量后可引起心悸、心动过速、心律失常、肌肉震颤, 导致血糖升高等反应[3–4], 我国已于 2002 年将 β-受体激动剂列入《食用动物禁用兽药及其他化合物清单》, 该清单于 2020 年更新为中华人民共和国农业农村部公告第 250 号[5]。

β-受体激动剂类兽药残留检测技术主要有高效液相色谱-串联质谱法[6–9]、气相色谱-串联质谱法[10–11]、酶联免疫吸附分析法[12–13]、胶体金免疫层析法[14]、电化学检测方法[15]、增强拉曼光谱法[16]等, 其中高效液相色谱-串联质谱法以灵敏度高、特异性强、定性、定量准确等优点, 是 β-受体激动剂残留最常用的检测方法, 本研究采用该方法进行检测。目前常用的 β-受体激动剂类化合物残留检测前处理技术有固相萃取(solid-phase extraction, SPE)法和液液萃取法等, 其中 Shi[17]建立的 SPE 法, 包括 GB 31658.22—2022《食品安全国家标准 动物性食品中β-受体激动剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法》也采用 SPE 法, 方法经典、技术成熟, 但成本较高, 操作较烦琐(需活化、上样、洗脱), 前处理耗时, 且存在柱堵塞风险[17–19]; Xiao 等[20]和李夸巧等[21]开发的液液萃取法避免了柱堵塞的问题, 重现性好, 但溶剂消耗大、样品易乳化、自动化程度低, 对强极性(部分 β-受体激动剂)化合物分离效果差[20–21]。其次还有 Wu 等[22]、Hu 等[23]和魏书林等[24]建立的磁性 SPE 法, 分别检测了牛奶和内脏等样品, 回收率稳定、特异性高, 但溶剂消耗大、自动化程度低、易乳化[22–24]。Peng 等[25]研制的固相微萃取法应用于羊肉样品的检测, 该方法实用性和经济性高, 但涂层选择有限, 萃取容量低, 有样品残留风险; Lin 等[26]、Su 等[27]和 Kim 等[28]分别建立的兽药多残留 QuEChERS 方法, 大幅减少了有机溶剂的用量, 通过对吸附剂的优化显著提升了抗基质干扰能力, 但因不同方法吸附材料不同, 回收率和基质干扰程度有明显差异, 此外方法中只验证了添加回收率, 样品未经酶解处理, 实际样品检测时(β-受体激动剂类经体内消化代谢与葡萄糖醛酸等结合, 形成轭合物)提取率无法保证[26–28]; Tang 等[29]建立的分子印迹技术, 研制了一种分子印迹搅拌棒用于检测猪肉和肝脏样品中 6 种 β-受体激动剂, 该方法在灵敏度、选择性方面有显著优势, 但其模板分子易泄漏(影响痕量分析准确性), 合成步骤长、成本高, 水相识别能力差, 通用性受限。Tang 等[30]基于分散液液微萃取结合超高效液相色谱-串联质谱法, 建立了一种快速同步检测头发样品中 8 种 β-受体激动剂, 该方法环保、成本低, 但优化因素多, 且对水溶性强的分析物(如克伦特罗)适用性差。Wang 等[31]以磁性石墨烯为分散吸附剂开发的基质固相分散技术, 实现了对猪肉基质中 7 种 β-受体激动剂的选择性萃取, 该方法具有良好的稳定性和一定的实际应用价值, 但需手动研磨萃取剂, 不适合大批量自动化, 且填料选择受限, 基质复杂时可能堵塞或洗脱不完全。上述方法, 包括主要的 GB 31658.22—2022, 都不同程度地存在前处理步骤复杂、烦琐、特异性差、基质效应高、回收率

低、重现性差、无法实现大批量风险筛查等问题。

β-受体激动剂类药物作为食品动物中的禁用药物，一直为国家和地方重点监测和关注的兽药残留检测项目，因此建立一种操作简便、稳定、准确的检测方法具有重要的现实指导意义。本研究采用酶解结合 EMR-Lipid 分散 SPE 的前处理方法，旨在建立简便、高效、准确率高、重复性好的动物源性食品 *β*-受体激动剂类高效液相色谱-串联质谱检测方法，以满足在动物源性食品中实现前处理操作简便、结果准确可靠的高通量风险筛查(大于 200 个样/d)和质量评价的需求，为推广多种类动物源性食品中 *β*-受体激动剂类兽药残留 QuEChERS 检测方法提供实验数据。

1 材料与方法

1.1 材料、仪器与试剂

1.1.1 仪器和设备

TSQ Quantum Ultra 三重四极杆液质联用仪、25102-102130 Thermo C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.9 μm)、28026-152130 Thermo C_{18} 色谱柱(2.1 mm×150 mm, 2.6 μm)(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); HZT-A1000 千分之一分析天平[华志(福建)电子科技有限公司]; HSY-B-200 水浴振荡器(天津广丰科技有限公司); KN-026S 管涡旋混合仪(北京科德诺思技术有限公司); TTL-DCII氮吹仪(北京同泰联科技有限公司); TGL-20bR 离心机(上海安亭科学仪器厂); Vortex mixerv7 漩涡混合器(美国 ESSENSCIEN 公司); ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)(美国 Waters 公司); Agilent Poroshell 120 EC-C_{18} 色谱柱(2.1 mm×150 mm, 2.7 μm)、5982-1010 Bond Elut EMR-Lipid 分散 SPE(美国 Agilent 公司)。

1.1.2 材料与试剂

猪肝、猪肉、牛肉等实验所需的样品均采购于当地辖区范围内的屠宰场和销售市场。

乙腈、叔丁基甲醚(色谱纯)、甲酸铵(质谱纯); 甲酸(分析纯)(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 水(蒸馏水, 屈臣氏); 无水硫酸镁($MgSO_4$, 纯度 99.9%)、氯化钠(NaCl, 纯度 99.5%)(成都市科隆化学品有限公司); 乙酸铵(分析纯)、*β*-葡萄糖醛酸酶(纯度 99%)(德国 MERCK 公司); 11 种 *β*-受体激动剂混标标准品(质量浓度 100 μg/mL)、10 种内标单标标准品(质量浓度 100 μg/mL)(天津阿尔塔科技有限公司)。

1.1.3 溶液的配制

0.2 mol/L 乙酸铵缓冲液: 取乙酸铵 15.4 g, 溶解于 1000 mL 水中, 用乙酸调 pH 至 5.2; 0.5%甲酸乙腈: 取 2.5 mL 甲酸, 用乙腈定容至 500 mL; 甲醇-0.1%甲酸溶液(10:90, *V*:*V*): 取甲醇 10.0 mL 和 0.1%甲酸溶液 90 mL, 混匀。

1.2 方 法

1.2.1 样品前处理

称取试料 5.00 g(准确至±0.05 g), 于 50 mL 离心管内, 加 0.2 mol/L 乙酸铵缓冲溶液 6 mL、*β*-葡萄糖醛酸酶 40 μL, 涡旋混匀, 37 ℃避光水浴振荡 12 h, 放置至室温, 备用。加入 1.0 μg/kg 内标工作液, 涡旋混匀, 9000 r/min 离心 8 min, 取上清液, 加入陶瓷均质子、萃取盐包($MgSO_4$ 4 g 和 NaCl 2 g)和 10 mL 酸化乙腈涡旋 3 min, 静置 8 min, 以 9000 r/min、4 ℃, 离心 10 min, Bond Elut EMR-Lipid 分散 SPE 中加入 5 mL 去离子水, 涡旋 30 s, 加入 5 mL 乙腈上清液, 涡旋 1 min; 以 9000 r/min、4 ℃离心 10 min, 取 5 mL 上清液于另一支离心管中, 氮吹至近干, 准确加入 0.5 mL 甲醇-0.1%甲酸溶液充分溶解残渣, 涡旋 10 s, 过 0.22 μm 滤膜后, 供三重四极杆液质联用仪测定。

1.2.2 分析条件

色谱条件: 28026-152130 Thermo C_{18} 色谱柱(2.1 mm×150 mm, 2.6 μm), 流动相 A 为 0.1%甲酸的水溶液, 流动相 B 为甲醇溶液, 梯度洗脱条件见表 1, 柱箱温度 40 ℃, 进样体积 5 μL, 流速 0.3 mL/min。

质谱条件: 离子源温度 300 ℃, 离子源 ESI+, 离子传输管温度 350 ℃, 扫描模式正离子扫描, 碰撞气压力 1.5 mTorr, 喷雾电压 3500 V, 辅助气流速 10 mL/min, 鞘气流速 30 mL/min。

表 1 梯度洗脱条件

Table 1 Conditions of gradient elution

时间/min	流速/(mL/min)	A/%	B/%
0	0.3	90	10
2.00	0.3	90	10
6.00	0.3	0	100
8.00	0.3	0	100
8.20	0.3	90	10
10.00	0.3	90	10

1.2.3 测定内容

(1)线性范围和仪器精密度

精密量取适量混合标准工作液, 用甲醇-0.1%甲酸溶液(10:90, *V*:*V*)稀释成质量浓度为 0.5、1.0、2.5、5.0、12.5 和 25.0 ng/mL 的标准工作液, 均含内标为 2.5 ng/mL, 经三重四极杆液质联用仪测定, 以待测药物特征离子色谱峰的峰面积与对应内标物特征离子色谱峰的峰面积比值为纵坐标(*Y*), 相应的标准溶液浓度比为横坐标(*X*), 绘制标准工作曲线, 求回归方程和相关系数。每个浓度水平进 6 次平行以测定仪器精密度。

(2)方法检出限

将 0.10 μg/kg 的目标物添加到空白样品中, 独立做 10 个样品, 检出率应达到 50%, 检出率以 3 倍信噪比计, 检出值的平均值应在 0.10 μg/kg±20%范围内(GB/T 32465—2015《化学分析方法验证确认和内部质量控制要求》), 即达到方法检出限的要求。

(3)方法定量限

测定 0.20 μg/kg 的浓度水平的准确度(正确度和精密度)。取相应浓度水平的标液, 均含内标为 1.00 μg/kg, 加入到 5.00 g 空白样品中, 经前处理步骤操作后, 测添加回收。

(4)测量范围与正确度

参照现行有效的标准方法和发表的方法, 方法检出限水平范围区间在 0.05~0.25 μg/kg 之间、定量限范围区间在 0.20~1.00 μg/kg 之间、线性范围在 0.30~10.00 μg/kg。参照 GB/T 27404—2026《实验室质量控制规范 食品理化检测》, 验证时至少选择 3 个浓度水平, 包含方法测定范围的最低浓度、中间浓度和最高浓度。本方法选取线性范围为 0.20~10.00 μg/kg 区间内(定量限水平除外)的低浓度(0.50 μg/kg)、中间浓度(5.0 μg/kg)和最高浓度(10.0 μg/kg)作为验证浓度, 分别于 3 种空白样品基质中添加 3 个浓度水平的目标物, 经前处理步骤操作后, 待测。

(5)测量范围与精密度

在 3 个浓度梯度的正确度添加回收实验中, 每个浓度水平下, 分别做 3 个平行以检验方法的精密度与测量范围, 计算相对标准偏差是否符合标准要求的批内相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)≤15%。

1.3　数据处理

采用 Chromeleon Xpress 2.8 软件控制液相部分, TSQ Tune Series 2.5 软件控制质谱部分, Xcalibur 2.2 软件进行数据采集、定性、定量分析和原始谱图生成。本研究中回收率的测定根据试验方法选择 3 组平行, 用 WPS Office_12.1.0.25225 处理谱图和统计数据以计算回收率和 RSD。

2　结果与分析

2.1　色谱条件的优化

通过比较型号为 25102-102130 Thermo C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.9 μm)、28026-152130 Thermo C_{18} 色谱柱(2.1 mm×150 mm, 2.6 μm)、ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)和 Agilent Poroshell 120 EC-C_{18} 色谱柱(2.1 mm×150 mm, 2.7 μm) 4 种 C_{18} 色谱柱, 结果显示 28026-152130 Thermo C_{18} 色谱柱和 25102-102130 Thermo C_{18} 色谱柱对 β-受体激动剂分离效果较好, 本研究通过 28026-152130 Thermo C_{18} 色谱柱分离目标物。优化梯度洗脱比例(表 1), 于流动相 A 相中加入 0.1%甲酸, 以增加流动相极性, 避免了前沿峰、拖尾峰、分叉峰、尖峰等情况, 出峰效果较好。

2.2　质谱条件优化

母离子优化: 注射泵进入约 0.5 μg/mL 质量浓度的单标, 在 Full Scan 模式下, 在目标离子范围下进行 Q1MS 扫描, 通过调节注射泵流速、离子源气流、电压、温度使目标离子信号大于 10^{-6}, 并在“MS only”下优化 tube lens 电压值, 子离子优化: 选择 MS+MS/MS, 输入待测物母离子质量数, 带电荷数及所需子离子数, 同时优化碰撞能量和电压值。优化结果: 母离子、定性离子、定量离子及碰撞能量和毛细管电压值如表 2, 各目标化合物图谱(质量浓度 1 ng/mL)见图 1。

表 2　目标化合物碰撞能量、毛细管电压值和质谱参数

Table 2　Collision energy, capillary voltage value and mass spectrometry parameters of the target compounds

目标化合物	保留时间/min	母离子(*m*/*z*)	子离子(*m*/*z*)	碰撞能量/eV	电压/V
西马特罗	2.37	220.098	143.028*/160.052/202.091	23/16/7	91/91/91
西马特罗-D7	2.32	227.137	161.100	17	38
特布他林	3.08	226.101	152.046*/107.045/125.045	15/30/24	94/94/94
特布他林-D9	2.95	235.145	153.100	16	50
沙丁胺醇	3.69	240.101	148.051*/166.048/222.112	17/13/10	92/92/92
沙丁胺醇-D3	3.62	243.126	151.000	18	46
齐帕特罗	3.25	261.999	244.186*/185.100/202.124	12/24/18	81/81/81
齐帕特罗-D7	3.17	269.150	185.000	24	80
西布特罗	4.51	233.996	160.109*/143.083/216.172	14/24/7	84/84/84
西布特罗-D9	4.48	243.175	161.100	15	82
莱克多巴胺	5.25	302.104	121.024*/164.062/284.110	21/15/11	98/98/98
莱克多巴胺-D6	5.24	308.153	168.100	15	92
溴布特罗	5.76	366.875	292.914*/213.990/349.004	19/30/12	106/106/106
氯丙那林	5.60	214.060	154.012*/118.044/196.045	17/27/11	92/92/92
氯丙那林-D7	5.59	221.080	155.000	17	48
克伦特罗	5.52	277.043	202.965*/132.046/259.025	16/30/10	91/91/91
克伦特罗-D9	5.63	286.075	204.000	16	46
马布特罗	5.83	310.993	237.070*/217.059/293.135	17/24/11	76/76/76
马布特罗-D9	5.82	320.110	238.000	17	84
班布特罗	5.96	368.090	294.173*/72.076/312.188	19/33/14	94/94/94
班布特罗-D9	5.95	377.210	295.100	19	86

注: *为定量离子, 其余子离子为定性离子, 溴布特罗内标为莱克多巴胺-D6。

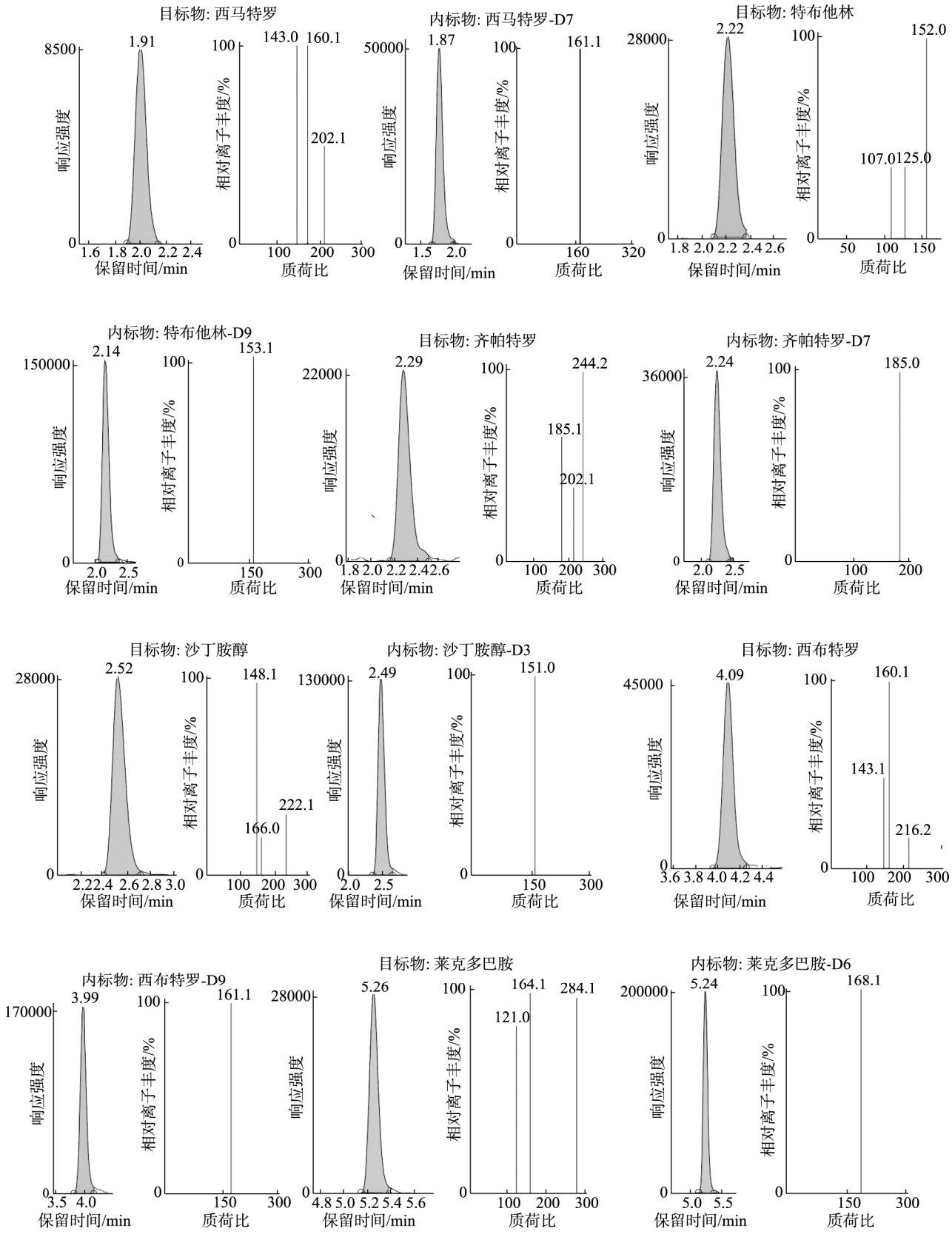


图 1 各目标化合物及内标的质谱图和子离子

Fig.1 Mass spectrum and product ion for target compounds and internal standard compound

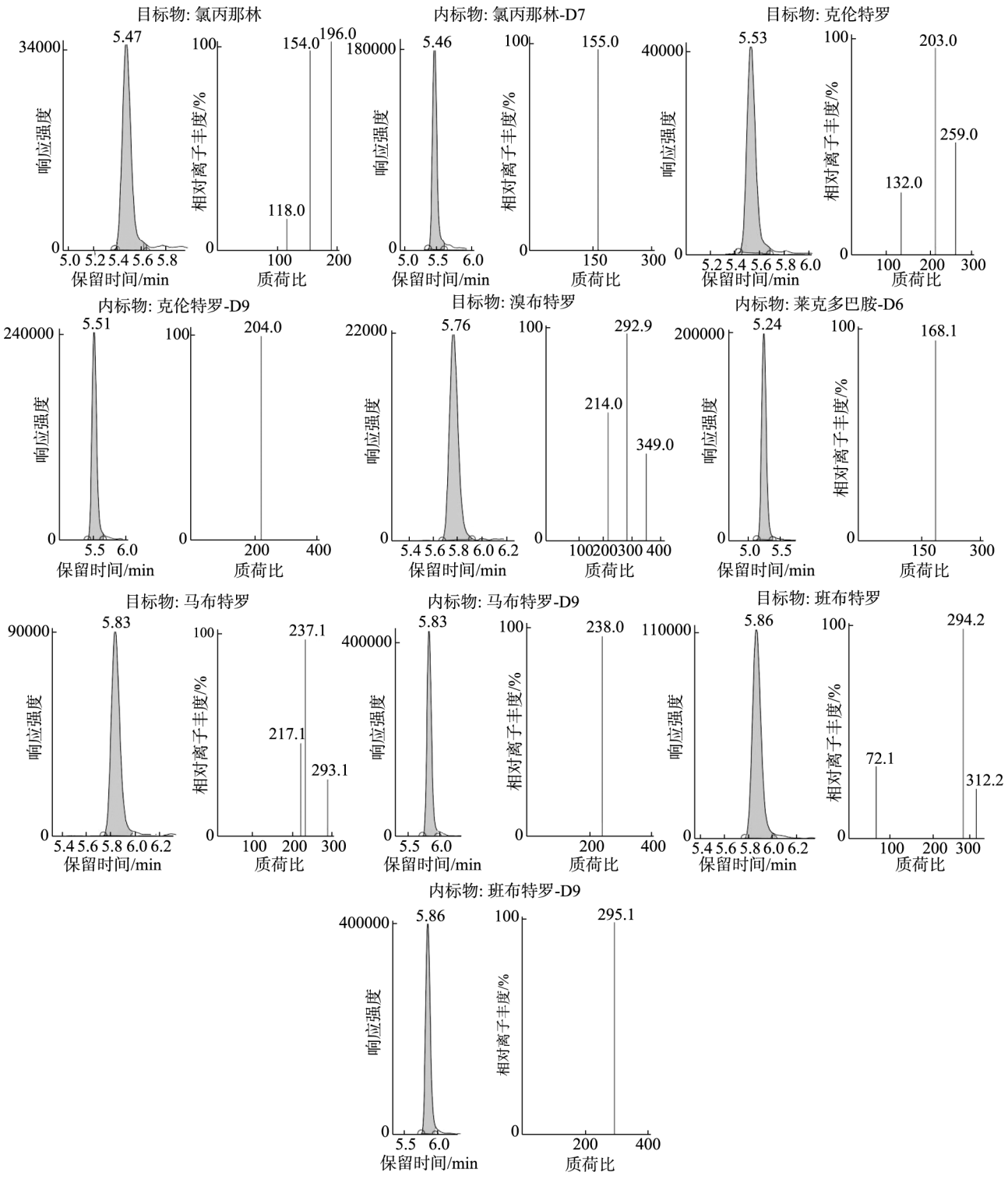


图 1(续)　各目标化合物及内标的质谱图和子离子

Fig.1　Mass spectrum and product ion for target compounds and internal standard compound

2.3　基质匹配标准曲线、线性范围和仪器精密度

精密量取混合标准工作液、混合内标工作液适量, 标准曲线范围为 0.5~25.0 ng/mL 时, 绘制标准工作曲线, 求回归方程和决定系数见表 3, r^2 均大于 0.995, 线性范围同 GB 31658.22—2022, 每个浓度水平经 6 次平行测定的仪器精密度 RSDs≤7.8%。说明该方法和仪器条件满足实际检测工作的要求。

2.4 方法检出限与定量限

添加 0.10 μg/kg 的目标物到空白样品中, 独立做 10 个样品, 检出值的平均值在猪肉中为 0.094 μg/kg、在猪肝中为 0.11 μg/kg、在牛肉中为 0.10 μg/kg, 满足方法检出限要求。本研究采用定量限浓度水平的添加回收方法, 验证方法定量限, 选取猪肉、猪肝和牛肉作为代表性基质, 因其为主要的动物源性食品来源, 且曾有报道相关种类的 *β*-受体激动剂类违法添加[32]。结果显示, 在基质中添加 0.20 μg/kg 的目标物, 其加标回收率在猪肉基质中范围为 95.0%~110.0%, 在牛肉基质中范围为 95.0%~110.0%, 在猪肝基质中范围为 95.0%~105.0%。RSDs 结果为: 猪肉中为 0.75%~7.45%, 牛肉中为 1.33%~9.53%, 猪肝中为 1.40%~6.76%, 见表 3。在 3 种代表性基质中均能在 0.20 μg/kg 水平准确定量, 说明本方法定量限水平可做到 0.20 μg/kg。定量限低于 GB 31658.22—2022 中定量限水平 0.5 μg/kg, 能满足食品工业高通量检测需求。

2.5 准确度和精密度

分别于空白基质(猪肉、牛肉、猪肝)中, 加入适量浓度水平为低(0.5 μg/kg)、中(5.0 μg/kg)、高(10.0 μg/kg)的 11 种 *β*-受体激动剂混合标准溶液, 内标浓度均为 1.00 μg/kg, 通过 1.2.1 前处理后, 按照优化条件进行上机, 进行加标回收实验, 每个浓度水平进行 3 次平行以测定方法精密度, 结果为猪肉基质中的加标回收率范围为 78.1%~108.4%, 在牛肉基质中为 94.0%~108.0%, 在猪肝基质中为 88.9%~108.0%。猪肉中 RSDs 为 0.91%~7.26%, 牛肉中为 0.72%~6.30%, 猪肝中为 0.85%~8.76%(表 4)。准确度结果满足常规兽药残留检测标准的要求。说明本研究精密度高, 重复性好, 检测结果准确可靠, 适用于动物源性食品中 11 种的 *β*-受体激动剂的检测。

2.6 实际样品分析与基质效应

分别抽取市售的猪肉、牛肉、猪肝样品各 6 份, 每种样品分别选取 2 个样品, 选取的每个样品另称 3 份, 其中 2 份为质控, 称样后加标, 另一份作为基质空白, 同 18 个样品, 同步进行样品前处理, 溶剂加标、质控样品和基质空白加标含量均为 0.50 μg/kg。结果显示, 质控样品中 11 种目标化合物回收率为 89.2%~103.5%, 溶剂标定量, 基质空白加标结果显示 11 种兽药的基质效应为 105.32%~116.07%, 均表现为基质增强效应。11 种兽药均未在这 18 份样品中检出, 结果稳定可靠。

2.7 同类方法比较

通过选取具有代表性的同类方法和现行有效的国家标准方法进行比较, 目前的定量方法仍以内标法为主, 仪器分析基本为液相色谱-质谱法。国家标准前处理技术全部为 SPE 技术, 该技术样品需经提取、净化(活化、淋洗、洗脱)、浓缩等复杂烦琐的过程, 提取效率影响因素多, 重现性差, 无法实现大批量检测。本研究方法中, 样品经酶解后, 甲酸乙腈提取, Bond Elut EMR-Lipid 分散 SPE 净化, 前处理步骤简便, 重现性良好, 大批量操作性强, 其检出限、定量限、回收率等优于部分文献, 满足动物源性食品中 *β*-受体激动剂测定需求(表 5)。

表 3 目标化合物的标准工作曲线和定量限测试数据

Table 3 Standard working curve and limit of quantitation test data of the target compound

目标化合物	线性回归方程	决定系数(r^2)	猪肝			牛肉			猪肉		
			平均值/(μg/kg)	回收率/%	RSDs/%	平均值/(μg/kg)	回收率/%	RSDs/%	平均值/(μg/kg)	回收率/%	RSDs/%
西马特罗	Y=0.240383X	0.9970	0.21	105.0	2.59	0.21	105.0	1.33	0.20	100.0	1.86
特布他林	Y=0.171823X	0.9993	0.19	95.0	3.44	0.21	105.0	9.53	0.20	100.0	7.27
齐帕特罗	Y=0.633099X	0.9974	0.21	105.0	6.76	0.21	105.0	4.48	0.21	105.0	2.67
沙丁胺醇	Y=0.163896X	0.9979	0.20	100.0	3.17	0.22	110.0	7.18	0.21	105.0	3.12
西布特罗	Y=0.201177X	0.9989	0.21	105.0	2.94	0.21	105.0	3.27	0.21	105.0	3.44
莱克多巴胺	Y=0.167492X	0.9965	0.21	105.0	3.20	0.20	100.0	4.52	0.20	100.0	2.98
氯丙那林	Y=0.208198X	0.9965	0.20	100.0	2.59	0.20	100.0	2.19	0.19	95.0	7.45
克伦特罗	Y=0.175979X	0.9966	0.21	105.0	3.23	0.19	95.0	3.05	0.21	105.0	3.36
溴布特罗	Y=0.109035X	0.9968	0.19	95.0	4.31	0.20	100.0	4.82	0.21	105.0	2.41
马布特罗	Y=0.292588X	0.9977	0.21	105.0	3.32	0.20	100.0	3.84	0.22	110.0	0.75
班布特罗	Y=0.370909X	0.9986	0.20	100.0	1.40	0.22	110.0	3.51	0.20	100.0	2.21

注: 线性回归方程中 X 表示目标物浓度, Y 表示峰面积比。线性范围为 0.5~25.0 ng/mL, 加标含量为 0.20 μg/kg。

表 4　代表性基质中准确度和精密度测试数据表

Table 4　Test data table for accuracy and precision of representative matrices

目标化合物	加标含量/(μg/kg)	猪肉			牛肉			猪肝		
		平均测定值/(μg/kg)	回收率/%	RSDs/%	平均测定值/(μg/kg)	回收率/%	RSDs/%	平均测定值/(μg/kg)	回收率/%	RSDs/%
西马特罗	0.5	0.53	106.0	5.35	0.51	102.0	1.06	0.50	100.0	1.82
特布他林		0.51	102.0	1.47	0.48	96.0	1.33	0.49	98.0	1.21
齐帕特罗		0.49	98.0	2.23	0.53	106.0	3.48	0.50	100.0	2.21
沙丁胺醇		0.49	98.0	4.77	0.48	96.0	1.40	0.52	104.0	4.20
西布特罗		0.51	102.0	1.60	0.51	102.0	2.86	0.51	102.0	6.93
莱克多巴胺		0.51	102.0	4.81	0.50	100.0	1.17	0.49	98.0	1.91
氯丙那林		0.48	96.0	2.83	0.50	100.0	2.88	0.54	108.0	6.00
克伦特罗		0.47	94.0	4.25	0.51	102.0	6.06	0.49	98.0	8.31
溴布特罗		0.49	98.0	2.49	0.47	94.0	5.86	0.51	102.0	8.76
马布特罗		0.49	98.0	0.94	0.47	94.0	1.27	0.48	96.0	2.12
班布特罗		0.50	100.0	1.15	0.47	94.0	1.61	0.49	98.0	3.04
西马特罗	5.0	5.42	108.4	2.56	5.25	105.0	1.93	5.12	102.4	6.92
特布他林		4.97	99.4	2.19	5.16	103.2	1.06	5.06	101.2	4.87
齐帕特罗		4.96	99.2	2.11	4.82	96.4	0.94	5.19	103.8	2.13
沙丁胺醇		5.27	105.4	1.52	5.11	102.2	1.12	4.73	94.6	5.93
西布特罗		5.31	106.2	1.28	4.91	98.2	3.97	4.77	95.4	2.58
莱克多巴胺		4.94	98.8	1.91	5.03	100.6	3.06	4.95	99.0	4.70
氯丙那林		4.93	98.6	3.73	5.22	104.4	0.89	5.17	103.4	4.38
克伦特罗		4.97	99.4	1.08	5.40	108.0	3.12	5.18	103.6	2.54
溴布特罗		5.10	102.0	1.64	4.93	98.6	1.36	4.91	98.2	5.96
马布特罗		5.31	106.2	2.30	4.98	99.6	0.72	5.27	105.4	6.21
班布特罗		5.28	105.6	2.03	5.13	102.6	1.87	5.03	100.6	6.03
西马特罗	10.0	7.81	78.1	1.58	10.66	106.6	6.25	9.49	94.9	0.85
特布他林		10.57	105.7	4.06	10.01	100.1	0.76	10.35	103.5	1.68
齐帕特罗		10.67	106.7	5.10	9.52	95.2	5.39	10.70	107.0	4.22
沙丁胺醇		10.07	100.7	3.18	9.61	96.1	5.19	10.10	101.0	2.54
西布特罗		10.02	100.2	4.08	10.22	102.2	2.79	9.84	98.4	2.64
莱克多巴胺		10.41	104.1	6.06	9.63	96.3	6.30	10.31	103.1	1.38
氯丙那林		9.42	94.2	3.15	9.93	99.3	2.83	9.81	98.1	4.06
克伦特罗		8.95	89.5	1.77	10.22	102.2	0.93	9.71	97.1	2.38
溴布特罗		9.99	99.9	7.26	9.70	97.0	0.73	8.89	88.9	4.88
马布特罗		9.13	91.3	0.91	10.03	100.3	3.24	10.13	101.3	4.25
班布特罗		10.35	103.5	2.79	9.93	99.3	1.22	10.05	100.5	1.61

表 5　方法对比结果

Table 5　Results of method comparison

检测方法	样品基质	定量方法	前处理技术	灵敏度	回收率/%	优点	缺点	文献
动物源性食品中 22 种 β-受体激动剂残留的高通量检测方法	动物源性食品	内标法	SPE 技术	检出限为 0.11~0.30 μg/kg; 定量限 0.30~0.90 μg/kg	80.8~104.5	可实现批量检测	需过柱, 需氮吹浓缩	[9]
QuEChERS 结合液相色谱-串联质谱法测定肌肉和内脏中 β-激动剂的多残留	牛奶	内标法	QuEChERS	检出限为 0.07~0.1 μg/kg, 定量限 1.0 μg/kg	63~126	可实现批量检测	未经酶解, 存在阳性样品提取不完全问题, 需氮吹浓缩	[32]

表 5(续)

检测方法	样品基质	定量方法	前处理技术	灵敏度	回收率/%	优点	缺点	文献
农业部 1025 号公告-18-2008《动物源性食品中 β-受体激动剂残留检测液相色谱-串联质谱法》	猪肝、猪肉、牛奶、鸡蛋	内标法	SPE 技术	检出限为 0.25 μg/kg, 定量限为 0.5 μg/kg	78~120	标准化程度高	前处理复杂, 回收率低, 重现性差, 需氮吹浓缩	/
SN/T 1924—2011《进出口动物源食品中克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇和特布他林残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法》	肌肉、内脏、牛骨汤精、牛奶、奶粉	内标法	SPE 技术	克伦特罗检出限为 0.05 μg/kg, 其他目标物为 0.5 μg/kg	72~115	标准化程度高	前处理复杂, 回收率低, 重现性差, 需氮吹浓缩	/
GB31658.22—2022《动物源性食品中 β-受体激动剂残留量的测定液相色谱-串联质谱法》	猪、牛、羊的肌肉、肝脏和肾脏	内标法	SPE 技术	检出限为 0.2 μg/kg, 定量限为 0.5 μg/kg	60~120	标准化程度高	前处理复杂, 回收率低, 重现性差, 需氮吹浓缩	/
本方法	动物源性食品	内标法	酶解结合 QuEChERS 前处理方法	检出限为 0.1 μg/kg, 定量限为 0.2 μg/kg	78.1~108.4	高通量检测, 准确度高、重现性良好	定量限水平浓度检测时需氮吹浓缩	/

注: /表示无此项。

3 讨论与结论

3.1 本方法的适用范围与局限性分析

猪肉、猪肝、牛肉作为主要的动物源性食品, 并曾报道有相关违法添加案例[33], 本方法切合实际选择其作为代表性基质, 特别注意, 若需应用于其他小类畜产品, 仍需进行必要的验证实验。其次本方法在现有国标方法的基础上做了相应的前处理程序改良和检测条件优化, 省去了复杂烦琐的前处理过程, 但迫于 β-受体激动剂类药物特殊的化学结构, 在动物体内代谢后会与葡萄糖醛酸或硫酸根结合, 形成无活性的“结合态”[1−4]。这种形态无法被常规的有机溶剂直接提取, 因此为了保证提取效果, 仍然选择了酶解过程。由于此类药物在动物源性食品中不得检出, 为提高方法的灵敏度, 仍然选择了氮吹浓缩, 若在应用此方法作为样品的检测时, 可省去氮吹环节, 净化后直接取样上机测定, 并能一定程度提高回收率, 降低基质效应, 应用性更强。

3.2 结 论

本研究采用先酶解, 经 0.5%甲酸乙腈提取和 Bond Elut EMR-Lipid 分散 SPE 净化相结合的前处理方法, 既避免了需要反复萃取和调节 pH、前处理程序烦琐、耗时长、效率低、回收率低、对上清液提取效果要求高等问题, 又避免了常用兽药多残留 QuEChERS 方法对 β-受体激动剂类药物提取效果差等问题。采用高效液相色谱-串联质谱技术分析, 内标法定量, 建立同时测定猪肉、牛肉, 猪肝中 11 种 β-受体激动剂类药物的检测方法。结果表明: 11 种 β-受体激动剂在 0.5 ~ 25.0 ng/mL 范围内, 标准曲线决定系数 r^2 均在 0.995 以上, 仪器精密度 RSDs≤7.8%。通过在代表性基质猪肉、牛肉、猪肝中添加 0.5、5.0、10.0 μg/kg 的 3 个浓度梯度(低、中、高)的目标物, 回收率在 78.1% ~ 108.4%, 方法精密度 RSD≤8.76%, 检出限为 0.10 μg/kg, 定量限为 0.20 μg/kg, 完全满足对兽药残留痕量检测的要求。该方法前处理简便快捷、灵敏度高, 回收率和重现性良好, 检测效率高、成本低, 可实现动物源性食品中 11 种 β-受体激动剂的高通量检测。

参考文献

[1] Caban M, Stepnowski P, Kwiatkowski M, et al. Determination of β-blockers and β-agonists using gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry-a comparative study of the derivatization step [J]. Journal of Chromatography A, 2011, 1218(44): 8110–8122.

[2] 田冬迎, 杨金众, 靳悦悦, 等. 生物样品中的 β-受体激动剂残留检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(20): 109–118.
Tian Dongying, Yang Jinzhong, Jin Yueyue, et al. Research progress on the detection technology of β-agonists residues in biological samples [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(20): 109–118.

[3] Reig M, Toldrá F. Veterinary drug residues in meat: concerns and rapid methods for detection [J]. Meat Science, 2008, 78(1–2): 60–67.

[4] 祝福利, 杨红亮, 左为东, 等. 液相色谱-质谱法检测动物源性食品中 β-受体激动剂残留研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(23): 111–121.
Zhu Fuli, Yang Hongliang, Zuo Weidong, et al. Research progress on the analysis of β-agonist residues on animal-derived foods by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(23): 111–121.

[5] 农业农村部. 中华人民共和国农业部公告第 250 号[EB/OL]. (2020-01-06) [2026-05-29]. https: //www. moa. gov. cn/govpublic/xmsyj/202001/t20200106_6334375. htm.
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. Announcement No.250 of the Ministry of Agriculture and Rural

Affairs of the People's Republic of China [EB/OL]. (2020-01-06) [2026-05-29]. https: //www. moa. gov. cn/govpublic/xmsyj/202001/t20200106_6334375. htm.

[6] 刘先军, 王一红, 李帮锐, 等. 超高压液相色谱-串联质谱法检测动物组织中 26 种 β-受体激动剂[J]. 中国食品卫生杂志, 2015, 27(3): 265–270.
Liu Xianjun, Wang Yihong, Li Bangrui, et al. Determination of 26 β-agonists in liver of pigs and ducks using ultra pressure liquid chromatography tandem quadrupole mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2015, 27(3): 265–270.

[7] 易可可, 谢洁, 江游, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定猪肉中 3 种 β-受体激动剂的残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(16): 5562–5568.
Yi Keke, Xie Jie, Jiang You, et al. Simultaneous determination of 3 kinds of β-agonist residues in pork by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(16): 5562–5568.

[8] 吴艳云, 王艳, 王森, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中 20 种 β-受体激动剂[J]. 现代农业科技, 2025(6): 139–143.
Wu Yanyun, Wang Yan, Wang Miao, et al. Determination of 20 β-agonists in pork by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2025(6): 139–143.

[9] 劳柏豪, 张静娴, 于泓, 等. 动物源性食品中禁用兽药监管及检测策略研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(22): 236–247.
Lao Baihao, Zhang Jingxian, Yu Hong, et al. Research progress on regulatory and detection strategies for prohibited veterinary drugs in animal-derived foods [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(22): 236–247.

[10] Liu Haibo, Ousmane D, Gan Ning, et al. Novel stir bar array sorptive extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry for simultaneous determination of three β_2-agonist residues in pork [J]. Chromatographia, 2017, 80(3): 473–482.

[11] Karamolegou F, Dasenaki M, Belessi V, et al. Multi-residue determination of 7 β-agonists in liver and meat using gas chromatography-mass spectrometry [J]. Food Analytical Methods, 2018, 11(10): 2925–2942.

[12] Li Chunsheng, Li Yujing, Zhang Yan, et al. Preparation of an anti-formoterol monoclonal antibody for indirect competitive ELISA detection of formoterol in urine and pork samples [J]. Analytical Methods, 2018, 10(5): 548–553.

[13] Yuan Yin, Zhao Yingying, Wu Kang, 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 Methods, 2017, 9(39): 5806–5815.

[14] 张燕, 江迎春, 李浩天, 等. 莱克多巴胺胶体金免疫层析试纸条的研制及性能测试[J]. 广州化工, 2023, 51(11): 83–85.
Zhang Yan, Jiang Yingchun, Li Haotian, et al. Preparation and performance test of ractopamine colloidal gold immunochromatographic strip [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2023, 51(11): 83–85.

[15] Zhai Lianlin, Liu Yanan. Development of an electrochemical immunosensor for sensitive detection of clenbuterol in food supplements [J]. International Journal of Electrochemical Science, 2025, 20(7): 101047.

[16] Chen Liping, Zeng Xuanjiang, Tan Rui, et al. Raman spectroscopic fingerprinting for the identification and quantitative analysis of sports doping β-agonists based on gold nanopolyhedra [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2025, 330: 125698.

[17] Shi Ao. Determination of 23 antibiotics and 3 β-agonists in livestock drinking water by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with solid-phase extraction [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2016, 34(2): 176–183.

[18] Giannetti L, Ferretti G, Gallo V, et al. Analysis of beta-agonist residues in bovine hair: development of a UPLC-MS/MS method and stability study [J]. Journal of Chromatography B, 2016, 1036: 76–83.

[19] Thevis M, Schebalkin T, Thomas A, et al. Quantification of clenbuterol in human plasma and urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chromatographia, 2005, 62(7): 435–439.

[20] Xiao Zhiming, Wang Jun, Cao Ying, et al. Quick and high-throughput quantification of 22 β-agonists residues in animal-derived foods using enzymatic probe sonication [J]. Food Chemistry, 2023, 408: 135262.

[21] 李夸巧, 肖植国, 罗小珍. 液相色谱-质谱联用技术在肉制品中 β-受体激动剂类药物残留检测中的应用[J]. 食品安全导刊, 2024(18): 87–89, 93.
Li Kuaqiao, Xiao Zhiguo, Luo Xiaozhen. Application of liquid chromatography-tandem mass spectrometry in the detection of β-receptor agonist drug residues in meat products [J]. Food Safety Guide Magazine, 2024(18): 87–89, 93.

[22] Wu Ci, Ning Xingshuang, Chen Xi, et al. Multi-functional porous organic polymers for highly-efficient solid-phase extraction of β-agonists and β-blockers in milk [J]. RSC Advances, 2021, 11(46): 28925–28933.

[23] Hu Kai, Shi Yanmei, Zhu Weixia, et al. Facile synthesis of magnetic sulfonated covalent organic framework composites for simultaneous dispersive solid-phase extraction and determination of β-agonists and fluoroquinolones in food samples [J]. Food Chemistry, 2021, 339: 128079.

[24] 魏书林, 王紫豪, 李桐, 等. 基于磁固相萃取-自动前处理分离和富集动物肝脏中的 β-受体激动剂[J]. 分析化学, 2024, 52(2): 277–285.
Wei Shulin, Wang Zihao, Li Tong, et al. Separation and enrichment of β-agonists from animal livers based on magnetic solid-phase extraction with automated-treatment device [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2024, 52(2): 277–285.

[25] Peng Chuanyun, Zhang Shaowen, Wu Chunlai, et al. Self-assembly preparation of Zn^{2+}-immobilized silica hybrid monolith and application in solid-phase micro-extraction of β-agonists [J]. Journal of Separation Science, 2022, 45(24): 4460–4468.

[26] Lin Y P, Lee Y L, Hung C Y, et al. Determination of multiresidue analysis of β-agonists in muscle and viscera using liquid chromatograph/tandem mass spectrometry with Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe methodologies [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2017, 25(2): 275–284.

[27] Su Youzhi, Lu Jianjiang, Liu Jun, et al. Optimization, validation, and application of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of 47 banned drug and related chemical residues in livestock urine using graphitized carboxyl multi-walled carbon nanotubes-based QuEChERS extraction [J]. Journal of Chromatography A, 2024, 1721: 464858.

[28] Kim L, Lee D, Cho H K, et al. Review of the QuEChERS method for the analysis of organic pollutants: persistent organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons, and pharmaceuticals [J]. Trends in Environmental Analytical Chemistry, 2019, 22: e00063.

[29] Tang Jiwang, Wang Jianxiu, Shi Shuyun, et al. Determination of β-agonist residues in animal-derived food by a liquid chromatography-tandem mass spectrometric method combined with molecularly imprinted stir bar sorptive extraction [J]. Journal of Analytical Methods in Chemistry, 2018, 2018: 9053561.

[30] Tang Boyi, Zhang Haoyue, Zhang Zhenyu, et al. Determination of 13 potential anti-obesity agents in hair by dispersive liquid-liquid microextraction-assisted UHPLC-MS/MS [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2024, 246: 116236.

[31] Wang Gengnan, Wu Ningpeng, He Xin, et al. Magnetic graphene dispersive solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for determination of β-agonists in urine [J]. Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2017, 1067: 18–24.

[32] Liu Hongcheng, Lin Tao, Cheng Xianglei, et al. Simultaneous determination of anabolic steroids and β-agonists in milk by QuEChERS and ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography B, 2017, 1043: 176–186.

[33] 360 百科. 河南瘦肉精事件[EB/OL]. (2011-03-25) [2026-05-29]. https: //baike. so. com/doc/422927-447842. html#422927-447842-6.
360 Baike. The Henan Province clenbuterol incident [EB/OL]. (2011-03-25) [2026-05-29]. https: //baike. so. com/doc/422927-447842. html#422927-447842-6.

(责任编辑: 安香玉　曹岱琳)