

关键词
• Q-Exactive
• β -受体激动剂
• 瘦肉精

利用Thermo Fisher全新高分辨台式四极杆静电场轨道阱 Q-Exactive分析19种 β -受体激动剂

叶芳挺¹, 王勇为¹, James S. Chang²

1.赛默飞世尔科技(中国)有限公司

2.赛默飞世尔科技, 圣荷塞, 美国

1.前言

β -受体激动剂, 又称为 β -兴奋剂, 大家近期所熟知的瘦肉精-克伦特罗, 莱克多巴胺等就是这一类兴奋剂。其是一类含氮激素中的苯乙胺类药物, 苯乙胺类药物具有苯乙醇胺结构母核, 苯环上连接有碱性的 β -羟胺侧链。由于发现在饲料中添加 β -受体激动剂可以促进营养再分配作用, 提高肉率, 减少饲料使用, 使肉品提早上市, 降低成本。因此, β -受体激动剂被人非法的添加到猪饲料中, 今年上半年爆发的“瘦肉猪”事件就是由此导致的。但是这类物质对人体健康有着很大的危害: 在国内1998年香港, 2003年佛山和杭州等都多次发生过因食用含“瘦肉精”猪肉导致的中毒事件。

β -受体激动剂已经被列为禁药, 对其检出是零容忍。而目前对于 β -受体激动剂的分析监控主要依靠三重四极杆液质联用仪, 在本文中为大家介绍用Thermo Fisher全新的台式四极杆轨道阱静电场高分辨质谱仪Q-Exactive分析 β -受体激动剂。Q-Exactive是今年在美国质谱年会上全新推出了, 其在Exactive的基础上进行了多项革新, 在分辨率, 灵敏度, 选择性等多方面得到了很大提高, 使之成为兼具未知筛查和强大定量定性功能的仪器。

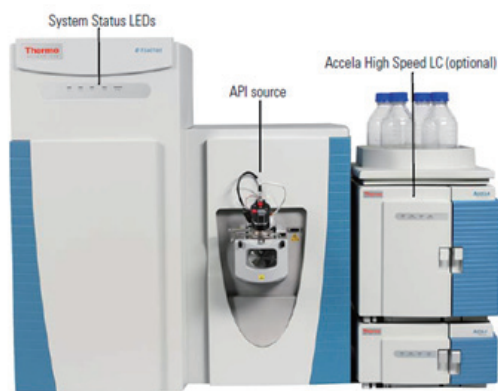


图1: Thermo Fisher静电场轨道阱高分辨质谱仪Q-Exactive

1.液相色谱及质谱条件

流动相: A: 0.1% FA+10mMNH₄FA Water; B: 0.1% FA+10mMNH₄FA MeOH

色谱柱: Hypersil Gold 50mm, 2.1mm, 1.9 μ m,
洗脱梯度:

时间	A%	B%	流速 (ul/min)
0	90	10	400
0.5	90	10	400
6	10	90	400
8	10	90	400
8.01	90	10	400
10	90	10	400

喷雾电压: 3500 V

雾化温度: 300°C

雾化气压力: 35arb

辅助气压力: 10arb

传输毛细管温度: 300°C

扫描模式: FS/ddMS² (全扫描/数据依赖二级扫描)

2.结果与讨论

2.1超高的仪器灵敏度

Q-Exactive在Exactive的基础上做了多项革新, 首先新颖专利离子光学通道S-Lens取代了传输毛细管, 使得离子的传输效率提高了5倍。集成式四极杆质量过滤器实现了母离子的选择性的同时由于滤除了不必要的干扰离子使得后续C-Trap中填充的主要为目标离子, 从而使得仪器灵敏度近一步得到提高。高能裂解池和C-Trap结合成一体使得MS/MS碎裂的效率更高, 并且提供了快速的HCD MS/MS扫描。先进的信号处理技术使得在全扫描模式下系统的分辨率最高提高到了140,000。这一些革新使得Q-Exactive具备高分辨的Quanfirmation功能, 能够在单次分析中鉴定, 定量并且确证复杂混合物中更多痕量级的代谢物, 污染物等。图2显示了0.005ppb19种 β -受体激动剂在利用上述方法所得到的色谱图。该结果可以和当前灵敏度最高的三重四极杆质谱相匹敌。低于目前中国 β -受体激动剂国标检测的20倍。

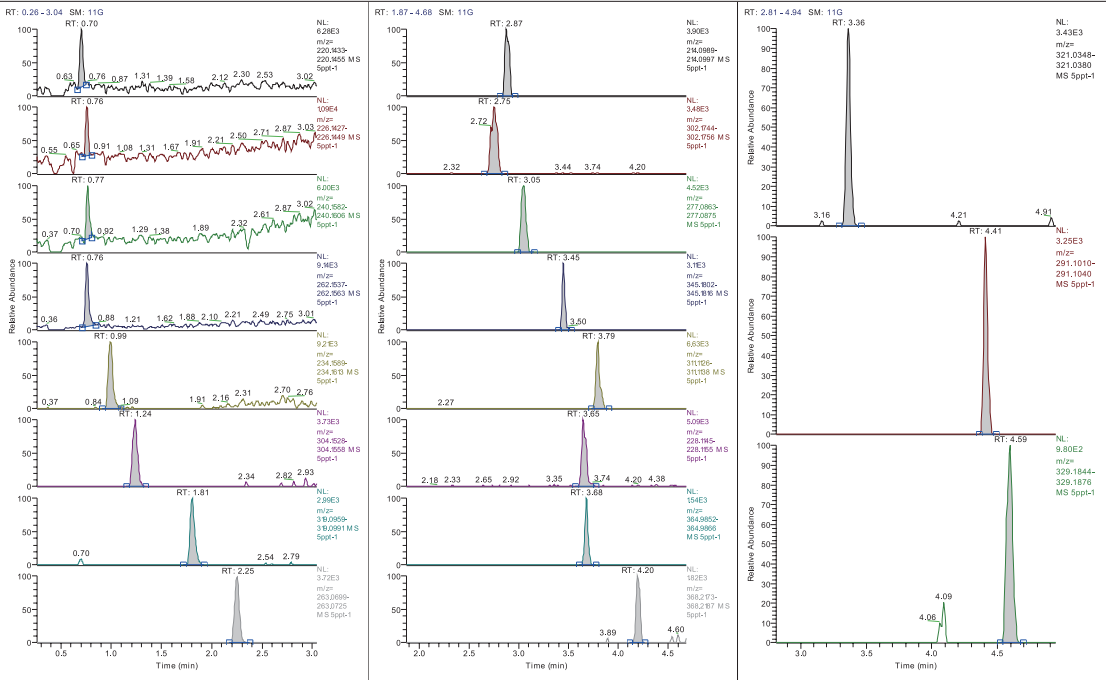


图2：0.005ppb19种β-受体激动剂Q-Exactive色谱图

2.2 线性，重现性和质量精度

以甲醇水1：1为溶剂，分别配置5-1000ppt的混标溶液，建立工作曲线，19种β-受体激动剂的标准曲线如表2所示，相关系数均大于0.99以上。测定的精确质量数偏差都在正负1ppm以内，同时在5ppt的浓度是连续进样3针得到的重现性都小于7%以内。

表1:19种β-受体激动剂的在5-1000ppt范围内的线性，重现性和质量精度

RT (min)	Compounds	Formula	Accuracy		Measured AM at 5ppt (mass error)	Calibration Curve	RSD% (5ppt)
			mass (AM)	(+H)			
1	0.7	Cimaterol	C12H17N3O	220.14444	220.14455(0.5ppm)	Y=-5713.65+3467.7X(R2=0.9985)	2.13
2	0.75	Terbutaline	C12H19NO3	226.14377	226.14372(0.2ppm)	Y=747.247+4617.78X(R2=0.9994)	4.52
3	0.77	Salbutamol	C13H21NO3	240.15942	240.15944(-0.08ppm)	Y=702.086+2514.31X (R2=0.9995)	3.43
4	0.76	Zilpaterol	C14H19N3O2	262.15500	262.15506(-0.2ppm)	Y=-3865.35+5259.7X(R2=0.9995)	6.62
5	0.99	Cimbuterol	C13H19N3O	234.16009	234.16031(-0.9ppm)	Y=-15412.8+8608.6X(R2=0.9964)	1.42
6	1.23	Fenoterol	C17H21NO4	304.15430	304.15430(0ppm)	Y=-2643.41+3469.68X(R2=0.9997)	4.46
7	1.80	Clencyclohexerol	C14H20Cl2N2O2	319.09746	319.09747(-0.03ppm)	Y=-6674.48+3037.86X(R2=0.9965)	0.63
8	2.25	Clenproperol	C11H16Cl2N2O	263.07125	263.07123(0.07ppm)	Y=-15115.5+4527.09X(R2=0.9937)	2.68
9	2.90	Clorprenaline	C11H16ClNO	214.09932	214.09937(-0.2ppm)	Y=-16948.6+5181.82X(R2=0.9951)	1.66
10	2.78	Ractopamine	C18H23NO3	302.17507	302.17490(0.5ppm)	Y=-8747.18+5353.16X(R2=0.9994)	4.29
11	3.07	Clenbuterol	C12H18Cl2N2O	277.08690	277.08694(-0.1ppm)	Y=-13950.2+5137.71X(R2=0.9949)	2.58
12	3.36	Bromchlorbutero	C12H18BrClN2O	321.03640	321.03629(0.3ppm)	Y=-11665.5+3375.05X(R2=0.9927)	3.71
13	3.48	Formoterol	C19H24N2O4	345.18088	345.18063(0.7ppm)	Y=-13556.2+4215.9X(R2=0.9971)	1.84
14	3.83	Mabuterol	C13H18ClF3N2O	311.11325	311.11328(-0.09ppm)	Y=-23697.5+7790.54X(R2=0.9959)	1.45
15	3.65	Tulobuterol	C12H18ClNO	228.11497	228.11507(-0.4ppm)	Y=-16198.5+6031X(R2=0.9958)	1.51
16	3.68	Brombuterol	C12H18Br2N2O	364.98587	364.98578(0.2ppm)	Y=-7711.79+1780.19X(R2=0.9915)	5.76
17	4.44	Clenisopenterol	C13H20Cl2N2O	291.10255	291.10223(1ppm)	Y=-14642.7+3370.73X(R2=0.9901)	2.34
18	4.23	Bambuterol	C18H29N3O5	368.21800	368.21811(-0.3ppm)	Y=-41405.9+6815.68X(R2=0.9902)	2.04
19	4.62	Labetalol	C19H24N2O3	329.18597	329.18604(-0.2ppm)	Y=-25354.9+4204.07X(R2=0.9924)	3.36

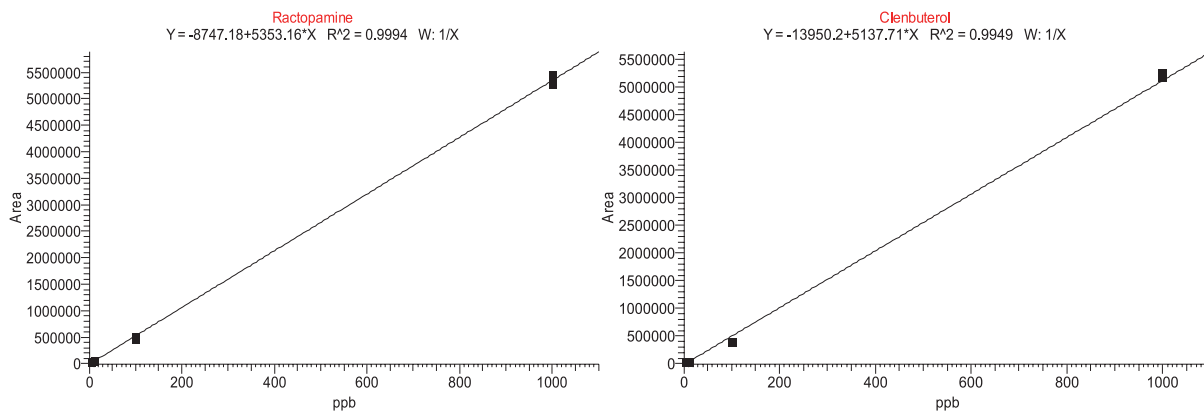
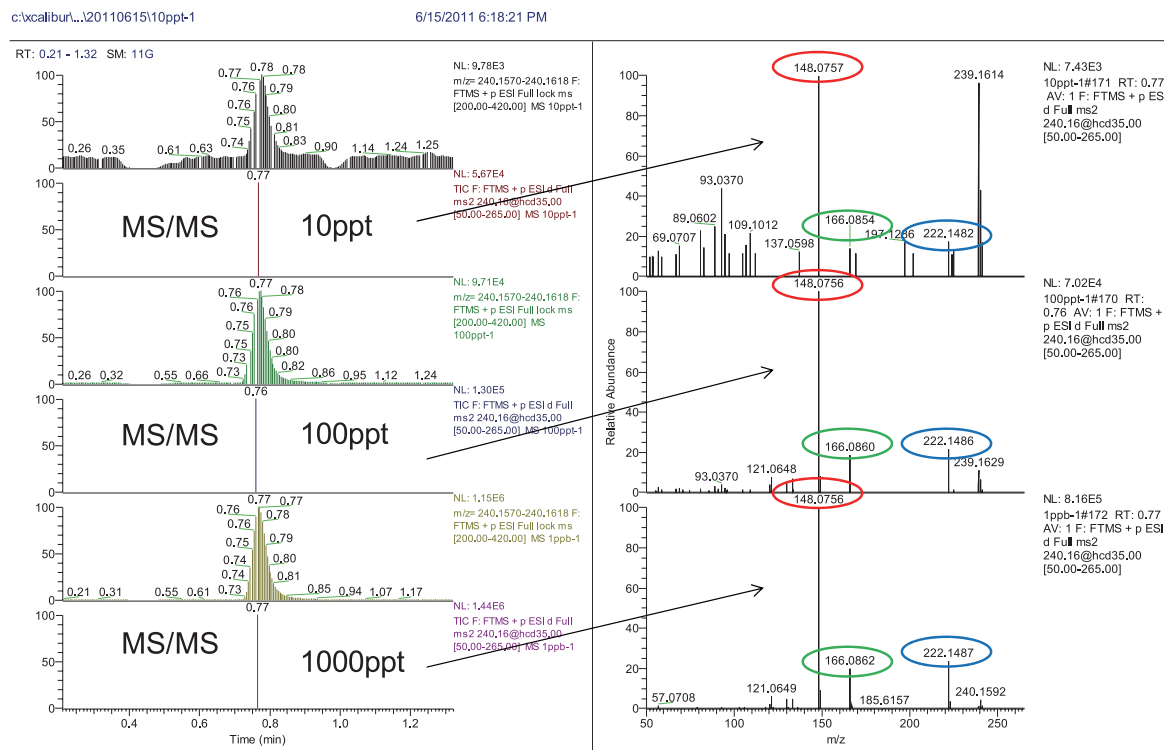


图3: 莱克多巴胺和克伦特罗的工作曲线

2.3 MS/MS二级确证

在食品安全分析中，除了对仪器的检出限和定量准确性的要求外，对于结果的定性确证也是非常关键的部分。只有保证没有假性结果的出现，定量才有意义。而现行的最常规的串接三重四极杆质谱在定性方面却存在不少的问题。尤其是在检测痕量样品时，往往定性离子对由于响应低已经无法检测到，因此缺失了定性的保证。同时由于有串接三重四极杆质谱只是单位质量数分辨的仪器，受到基质背景干扰的影响比较高，往往会因为基质背景干扰导致离子对比比例变化从而导致定性不准确。而Q-Exactive是则可全面解决上

述问题：首先Q-Exactive是高分辨质谱，其最高分辨率可达140,000，能完全滤除掉基质干扰的影响。同时其具有MS/MS二级定性确证，进一步保证了定性结果的准确性。图4显示的是沙丁胺醇（Salbutamol）10ppt, 100ppt和1000ppt的有全扫描数据依赖触发MS/MS二级扫描结果。148.0757m/z, 166.0863m/z, 222.1489m/z分别为沙丁胺醇的三个碎片离子，MS/MS二级扫描通过确认这三个碎片离子是否存在可以进一步进行定性确证。而且在实际做样中如果没有标准品，可以通过Thermo Fisher的Mass Frontier软件模拟化合物的碎裂过程，得到碎片信息来进行判定。



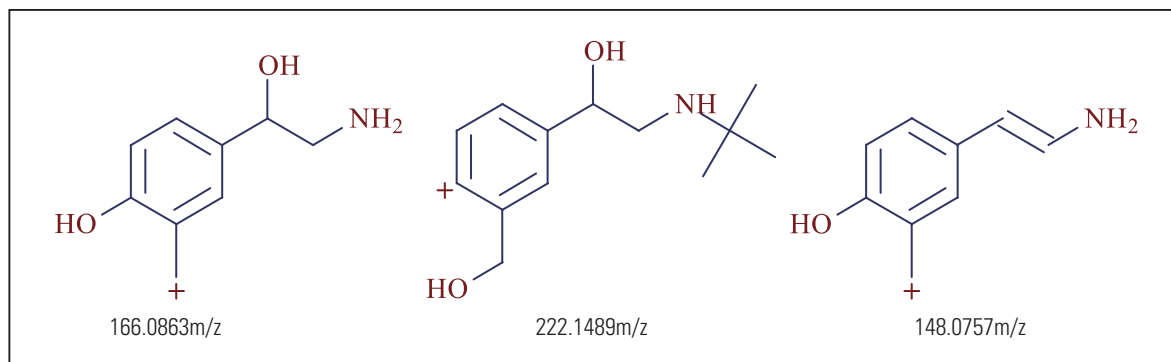


图4：沙丁胺醇全扫描数据依赖触发MS/MS二级扫描结果

3. 结论

采用Thermo Fisher全新的四极杆静电场轨道阱质谱仪Q-Exactive分析19种β-受体激动剂，19种激动剂的最低检出限可以达到5ppt，远远低于国家规定的检出限量要求。超高的灵敏度对于这类零容忍的禁药检出更加的有效。同时Q-Exactive在给出精确质量数作为定性标准的同时还能通过仪器自动的全扫描数据依赖触发MS/MS二级扫描得到2级质谱的确认信息，从而为定性的准确性提供了双保险。由此可以看到，Q-Exactive是目前兼具筛查和定量定性确证功能的最佳仪器。

In addition to these offices, Thermo Fisher Scientific maintains a network of representative organizations throughout the world.

赛默飞世尔科技

上海
上海浦东新金桥路27号6号楼
电话：86-21-6865 4588
传真：86-21-6445 7830

北京
北京市东城区安定门东大街28号
雍和大厦西楼702-715室
电话：86-10-8419 3588
传真：86-10-8419 3589

广州
广州东风中路410-412号
健力宝大厦3003-3004室
电话：86-20-8348 7138
传真：86-20-8348 6621

服务热线：
800 810 5118 400 650 5118

www.thermo.com.cn
analyze.cn@thermofisher.com

ISO
9001
REGISTERED
COMPANY

Thermo Fisher Scientific,
San Jose, CA USA is ISO Certified.