

LC-MS/MS 法测定猪肉中龙胆紫及其分解物隐性龙胆紫

LCMSMS-1024

摘要： 本文利用岛津 LCMS-8050 三重四极杆液质联用仪，建立了一种猪肉中龙胆紫及其分解物隐性龙胆紫的测定方法。在 0.5 µg/L~50 µg/L 浓度范围内各组分线性关系良好，各组分相关系数均达到 0.9996 以上。0.5 µg/L 标准工作溶液连续进样 7 针，保留时间 RSD 均小于 0.04%，峰面积 RSD 均小于 5.54%。加标浓度在 2.5 µg/kg~25 µg/kg 时，加标回收率在 97.7%-118.1% 之间。该方法简单方便，能够有效的测定猪肉中龙胆紫及其分解物隐性龙胆紫的含量。

关键词： 三重四极杆液质联用仪 龙胆紫 隐性龙胆紫 猪肉

技术特点：

- ❖ 优化了样品净化流程，将样品净化方式由固相萃取后氮吹，调整为液液萃取后直接进样，以减少成本消耗，提高分析效率。
- ❖ 仪器灵敏度高，与 NY/T 4437-2023 标准相比，进样量小，仅为 0.5 µL，即可满足定量要求。

龙胆紫属于三苯甲烷类物质，是一种带有金属光泽深绿色的固体，化学式为 $C_{25}H_{30}ClN_3$ 。进入生物体内，会产生毒性更大的隐性代谢产物，如隐性龙胆紫，此种隐性代谢物具有较高的亲脂性，在脂肪组织中代谢速度极慢，会形成稳定的残留并有明显的蓄积现象。

20 世纪 90 年代陆续研究发现，龙胆紫、隐性龙胆紫的三苯甲烷官能团具有致癌、高毒、高残留

的特性，可通过食物链对哺乳动物和人类产生“三致”作用，对生物体组织、生殖、免疫系统均有影响。因此，对龙胆紫、隐性龙胆紫的检测和监控显得尤为重要。

本文参照 NY/T 4437-2023，对猪肉中龙胆紫及其代谢产物隐性龙胆紫进行测定，同时对样品的净化过程进行了优化，优化后显著降低了试验耗材成本及时间成本，提高了分析效率。本方法灵敏度高，分析结果稳定、可靠，可供相关检测人员参考。

实验部分

1.1 仪器

岛津三重四极杆液质联用系统 LCMS-8050，配置信息如下：

系统控制器：	SCL-40	输液泵：	LC-40B X3
自动进样器：	SIL-40C X3	柱温箱：	CTO-40C
质谱检测器：	LCMS-8050	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.128

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：	Shim-pack Velox (100 mm x 2.1 mm I.D., 2.7 µm) 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-32009-03		
流动相：	A- 乙腈 (0.1% 甲酸) ; B-5 mM 乙酸铵水溶液 (0.1% 甲酸)		
进样体积：	0.5 µL	柱温：	40°C
流速：	0.4 mL/min	洗针液：	甲醇
洗脱方式：	梯度洗脱，B 相起始浓度为 90 %，时间程序如表 1 所示。		

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
2.0	泵	B.Conc	20
3.0	泵	B.Conc	10
5.0	泵	B.Conc	10
5.1	泵	B.Conc	90
7.0	控制器	Stop	

质谱条件

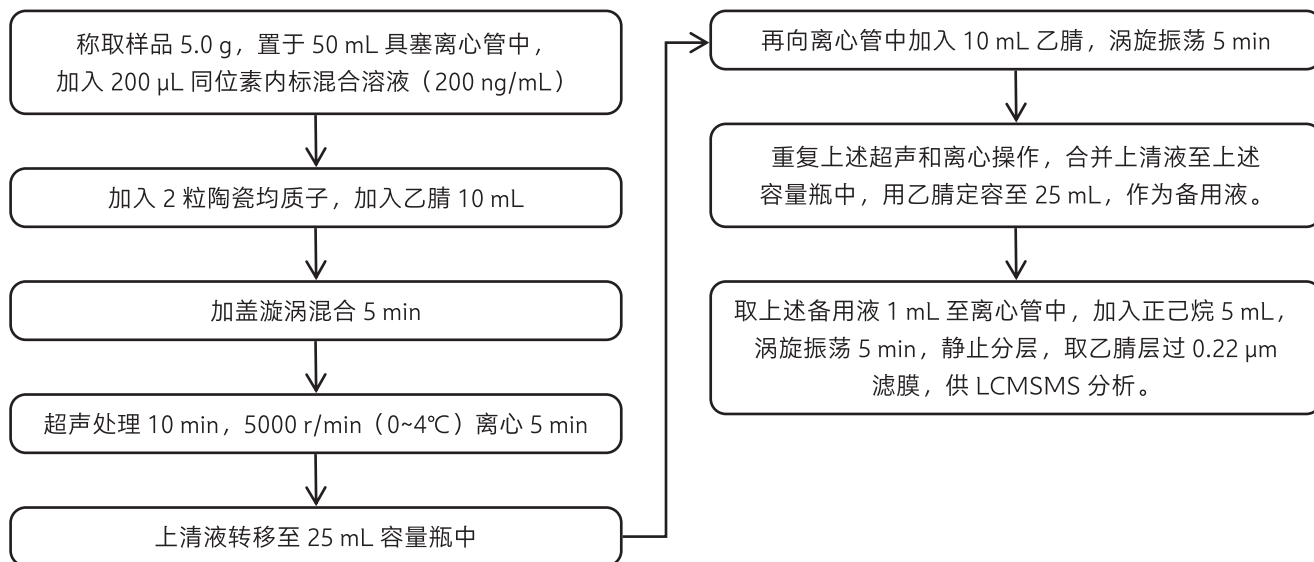
离子源 : ESI (+)	D L 温度 : 250°C
接口电压 : 3 kV	加热模块温度 : 400°C
雾化气流速 : 3.0 L/min	接口温度 : 300°C
加热气流速 : 10.0 L/min	干燥气流速 : 10.0 L/min
扫描模式 : 多反应监测 (MRM)	MRM 参数 : 见表 2

表 2 龙胆紫、隐性龙胆紫及 2 种同位素内标的 MRM 参数

No.	中文名称	CAS#	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	龙胆紫	548-62-9	372.1	356.0*	-14	-41	-16
				340.0	-14	-57	-15
2	龙胆紫 -D ₆	603-48-5	378.1	362.3*	-14	-42	-12
3	隐性龙胆紫	1266676-01-0	374.2	358.0*	-28	-35	-24
				238.0	-14	-29	-15
4	隐性龙胆紫 -D ₆	1173023-92-1	380.1	364.4*	-14	-36	-24

注: * 表示定量离子

■ 样品前处理



■ 结果与讨论

3.1 MRM 色谱图

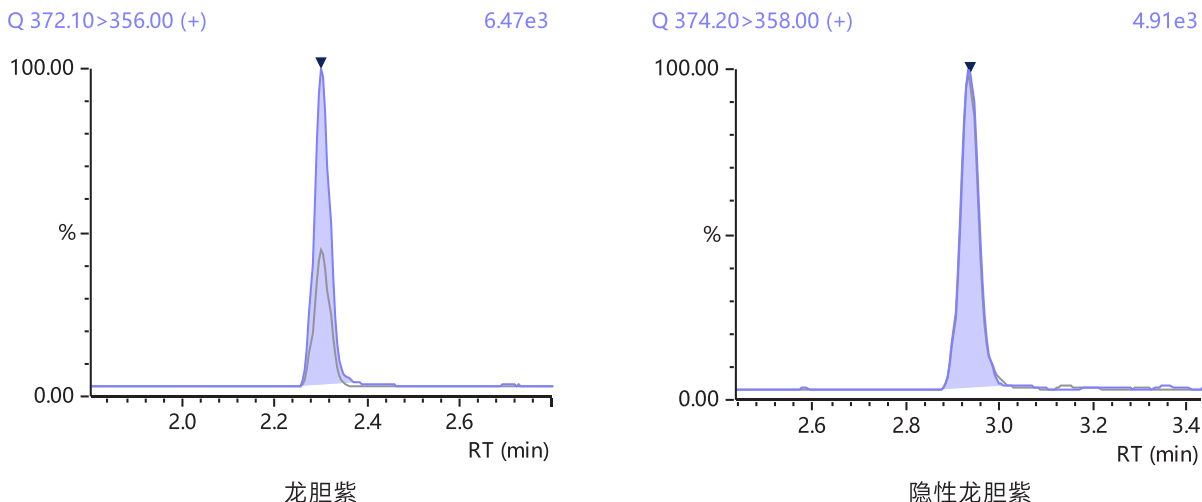


图 1 龙胆紫和隐性龙胆紫标准溶液 MRM 色谱图 (0.5 µg/L)

3.2 校准曲线

参照标准文本，分别配制 0.5 µg/L、1.0 µg/L、2.0 µg/L、10 µg/L 和 50 µg/L 的龙胆紫和隐性龙胆紫系列标准工作溶液，进样分析，以待测物定量离子色谱峰的峰面积与同位素内标物定量离子色谱峰的峰面积比值为纵坐标，相应标准工作溶液浓度比值为横坐标，绘制校准曲线，相关系数 $R > 0.9996$ ，校准曲线如图 2 所示。

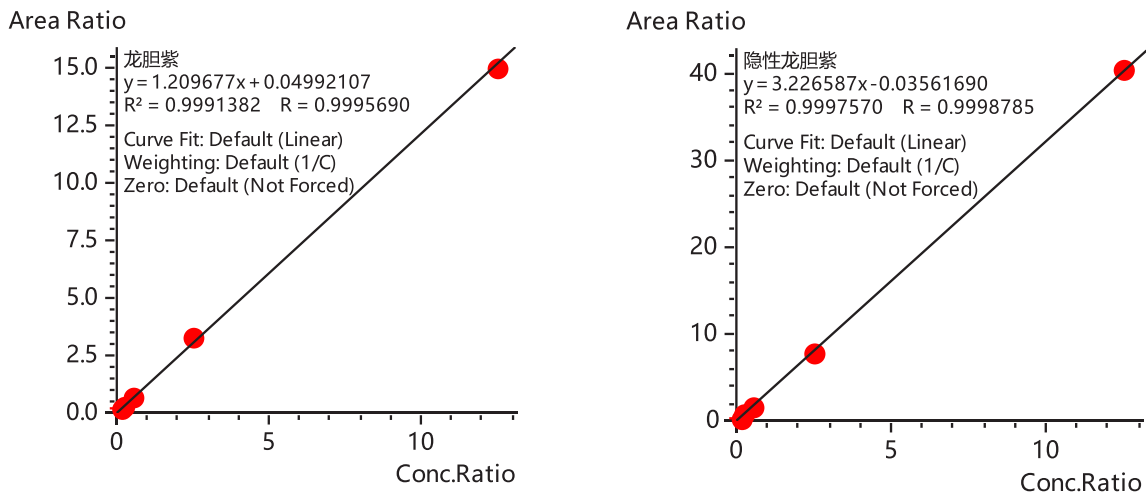


图 2 龙胆紫和隐性龙胆紫校准曲线

表 3 龙胆紫和隐性龙胆紫校准曲线结果

序号	化合物	校准曲线	相关系数 R	准确度 (%)
1	龙胆紫	$Y = 1.209677X + 0.04992107$	0.9996	92.9%-105.8%
2	隐性龙胆紫	$Y = 3.226587X - 0.03561690$	0.9999	95.1%-107.6%

3.3 重复性实验

取 0.5 µg/L 标准工作溶液，连续进样 7 次，考察仪器的重复性，测定结果见表 4。

表 4 龙胆紫和隐性龙胆紫重复性结果

序号	化合物	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)
1	龙胆紫	0.04	5.54
2	隐性龙胆紫	0.04	4.15

3.4 加标回收率

将猪肉空白样品进行 2.5 µg/kg, 12.5 µg/kg, 25.0 µg/kg 三个浓度水平加标后，按照上述前处理方法处理后上机分析，平行 3 份样品考察回收率和 RSD%，具体结果见表 5。

表 5 加标回收率结果

序号	样品称样量 (g)	加标量 (µg/kg)	测定含量 (µg/kg)			平均回收率 (%)	RSD (%)
			1#	2#	3#		
1	5.0	2.5	2.365	2.315	2.645	97.7	7.28
2	5.0	12.5	14.30	15.02	14.76	117.6	2.47
3	5.0	25.0	29.67	29.41	29.52	118.1	0.43

■ 结论

本方法采用岛津 LCMS-8050 三重四极杆液质联用仪，参照 NY/T 4437-2023，建立了猪肉中龙胆紫和隐性龙胆紫含量测定的方法，该方法简单方便，能够有效的检测猪肉中龙胆紫及其分解物隐性龙胆紫含量，可为食品行业相关人员提供参考。

岛津应用云

