

GCMS 法检测猪肉中安眠酮和地西洋的含量

GCMS-250

摘要: 使用岛津 GCMS-QP2020 气质联用仪, 建立了猪肉中安眠酮和地西洋含量的分析方法。结果表明, 在 0.5~100 ng/mL 浓度范围内线性良好, 线性相关系数 R^2 均在 0.9999 以上。对 5 ng/mL 的标准溶液连续 6 针进样, 峰面积的相对标准偏差小于 4%。安眠酮和地西洋的最低检出限分别为 0.04 和 0.05 ng/mL。加标浓度为 1, 10 和 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 平行试验 3 次, 猪肉中安眠酮和地西洋的回收率在 70.8~115.1% 之间, 该方法前处理简单、灵敏度高, 满足动物性食品中安眠酮和地西洋含量检测的要求。

关键词: GCMS 动物性食品 安眠酮 地西洋

镇静剂是指对中枢神经系统有抑制作用, 可起到减轻或消除动物狂躁不安, 使其恢复安静的一类物质。个别牲畜饲养者因经济利益的驱使, 在畜禽饲养过程中添加此类药物以达到牲畜镇静催眠增重催肥, 缩短出栏时间的目的。但镇静剂在动物源性食品中残留, 会对人体中枢神经系统等造成不良影响, 因此许多国家将此类药物列为禁用药物。2002 年我国农业部 235 号公告规定地西洋允许作治疗用, 但不得在动物性食品中检出; 安眠酮禁止使用, 并在动物性食品中不得检出。

目前, 国内外报道的镇静剂类药物残留的检测方法

主要有酶联免疫法 (ELISA)、液相色谱法、气相色谱质谱法和液相色谱串联质谱法。其中 ELISA 方法结果需要其他方法进行确证, LC 法灵敏度较低, 无法满足对禁用药物检测的要求, LC-MS/MS 仪器成本太高。而 GCMS 具有灵敏度高, 准确性好等特点, 可进行多残留定性定量检测。

本文使用乙腈提取猪肉中残留的地西洋和安眠酮, 正己烷除脂, 采用 C18 固相萃取小柱净化后, 气相色谱质谱测定。方法操作简便快捷, 灵敏度高, 准确性好, 适用于猪肉中地西洋和安眠酮的残留检测。

实验部分

1.1 仪器

GCMS-QP2020 气质联用仪

1.2 分析条件

色谱柱: SH-Rxi-5Sil MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm)

进样口温度: 290 $^{\circ}\text{C}$

进样方式: 不分流 (1 min)

高压进样: 200 kPa

进样量: 1 μL

载气: 氦气

载气控制方式: 恒线速度

线速度: 36.0 cm/sec

柱温程序: 150 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)_10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _290 $^{\circ}\text{C}$ (4 min)

离子源温度: 230 $^{\circ}\text{C}$

接口温度: 290 $^{\circ}\text{C}$

离子化方式: EI

溶剂延迟时间: 9 min

采集模式: SIM (特征离子见表 1)

表1 安眠酮及地西洋保留时间及SIM参数

No.	化合物	CAS 号	保留时间(min)	定量离子	定性离子
1	安眠酮	72-44-6	11.363	235.1	283.1、221.1、241.0
2	地西洋	439-14-5	13.833	256.0	91.1、217.1、250.1

1.3 标准溶液配置

精密称取安眠酮和地西洋标准品各 10 mg 于 10 mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，配成浓度为 1 mg/mL 安眠酮和地西洋标准储备液，-20℃以下保存。采用逐级稀释法分别配制浓度为 0.5、1、5、10、50 和 100 ng/mL 的混合标准溶液用于标准曲线制作。

1.4 样品前处理

称取样品 2.0 g 于离心管中，加乙腈 20 mL，水浴超声 5 min，4000 r/min 离心 10 min，取上清液于鸡心瓶中，于 50℃旋蒸至近 5 mL，加正己烷 7.5 mL，混匀静置，弃上层液。取下层液，于 50℃氮气吹至 1 mL，加水 4 mL，混匀备用。

C18 柱依次用甲醇 3 mL 和水 3 mL 活化，取备用液过柱，用 50% 甲醇水溶液 3 mL 洗涤，用 70% 甲醇水溶液 3 mL 洗脱，收集洗脱液，于 50℃氮气吹干，用乙腈 200 μL 溶解残余物，供气相色谱 - 质谱分析。

■ 结果与讨论

2.1 标准溶液色谱图

100 ng/mL 的安眠酮和地西洋标准溶液 SIM 图如图 1 所示。

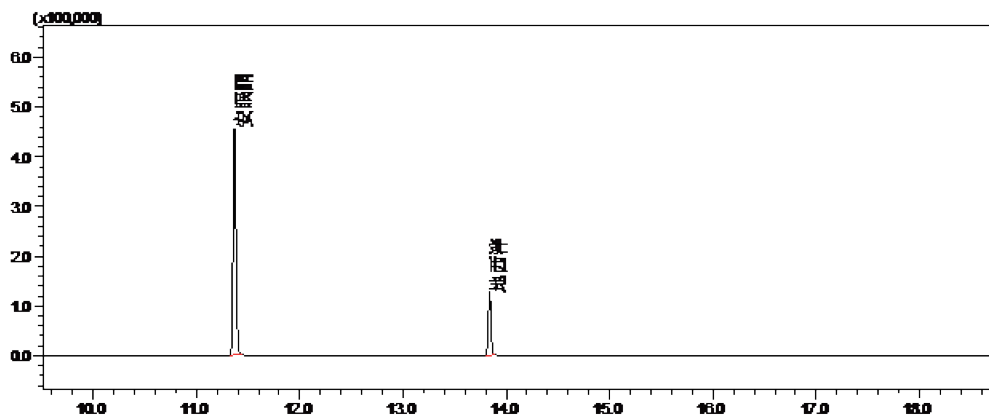


图1 100 ng/mL安眠酮和地西洋标样的SIM图

2.2 标准曲线

用甲醇分别配制浓度为 0.5、1、5、10、50 和 100 ng/mL 安眠酮和地西洋混合标准溶液，以浓度作为横坐标，峰面积作为纵坐标，绘制标准曲线，外标法定量。其标准曲线的方程、相关系数 r^2 见表 2。

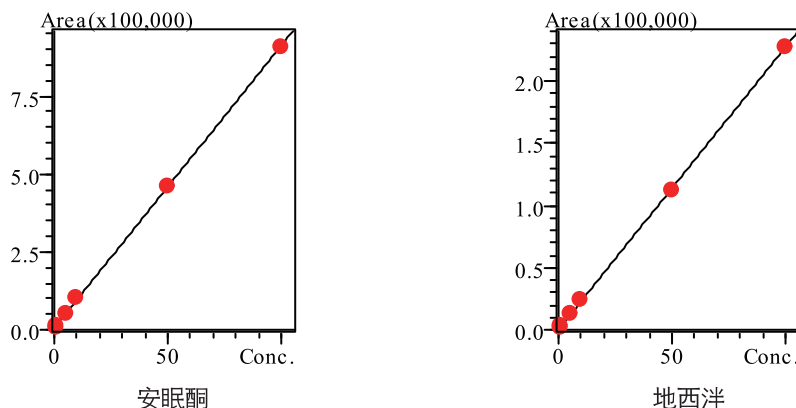


图2 安眠酮和地西洋的标准曲线

表2 安眠酮和地西洋的线性方程、相关系数及最低检出限(LOD)

No.	化合物名称	线性方程	相关系数 r^2	LOD (ng/mL)
1	安眠酮	$Y = 9059.597X + 5791.351$	0.9999	0.04
2	地西洋	$Y = 2270.55X + 457.0838$	0.9999	0.05

2.3 检出限、定量限

配制浓度为 1 ng/mL 的混合标样进样分析, 根据 S/N=3 和 10 定义其检出限和定量限, 安眠酮和地西洋的检出限分别为 0.04 和 0.05 ng/mL, 定量限分别为 0.15 和 0.17 ng/mL。

2.4 重复性实验

配制浓度为 5 ng/mL 的混合标液, 平行测试 6 次。安眠酮和地西洋保留时间和峰面积的相对标准偏差分别 <0.01% 和 4%(见下图 3), 仪器精密度良好。

	Data Filename	Ret. Time	Area	Height
1	rep-5ppb-6.qg	11.362	37,948	19,449
2	rep-5ppb-5.qg	11.363	39,429	20,341
3	rep-5ppb-4.qg	11.364	39,656	20,455
4	rep-5ppb-3.qg	11.362	39,749	20,607
5	rep-5ppb-2.qg	11.364	41,442	21,702
6	rep-5ppb-1.qg	11.365	42,263	22,165
	Average	11.363	40,081	20,787
	%RSD	0.010658	3.845618	4.746834

(1)

	Data Filename	Ret. Time	Area	Height
1	rep-5ppb-6.qg	13.832	8,716	4,971
2	rep-5ppb-5.qg	13.833	9,047	5,027
3	rep-5ppb-4.qg	13.832	8,777	5,103
4	rep-5ppb-3.qg	13.833	8,913	4,949
5	rep-5ppb-2.qg	13.833	9,392	5,331
6	rep-5ppb-1.qg	13.835	9,587	5,490
	Average	13.833	9,072	5,145
	%RSD	0.007919	3.841588	4.240380

(2)

图3 安眠酮(1)和地西洋(2)的重复性实验结果

2.5 回收率结果

在猪肉样品中加标, 加标浓度为 1、10 及 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 每个浓度平行处理三份, 根据 1.4 所述方法进行前处理后进样, 计算回收率。安眠酮的回收率在 70.8~96.1% 之间, 地西洋的回收率在 93.2~115.1% 之间。

表4 安眠酮和地西洋的回收率结果

No	化合物	回收率%		
		加标 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	加标 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	加标 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$
1	安眠酮	96.1	70.8	83.8
2	地西洋	93.2	98.9	115.1

2.6 实际样品检测

按照 1.4 中样品制备方法处理市场中购买的猪肉, 平行测定 2 次, 该猪肉样品中未检测出安眠酮和地西洋。

■ 结论

使用岛津公司 GCMS-QP2020 气质联用仪，建立了猪肉中安眠酮和地西洋含量的分析方法。该方法前处理操作简单，重复性好，灵敏度高。在 0.5~100 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好，相关系数 R^2 均在 0.9999 以上。安眠酮和地西洋的最低检出限分别为 0.04 和 0.05 ng/mL ；加标浓度为 1.0~50 $\mu\text{g/kg}$ 时，两者的回收率在 70.8~115% 之间。该方法满足猪肉中安眠酮和地西洋残留的日常检测要求。