

## 实验技术与方法

## 气相色谱质谱法测定猪肉中氯丙嗪残留

单美娜,徐晓枫,蒲云霞,陈志民,李伟,琚波

(内蒙古自治区疾病预防控制中心,内蒙古呼和浩特 010030)

**摘要:**目的 建立猪肉中氯丙嗪残留量的气相色谱质谱测定方法。方法 样品经乙酸乙酯提取,乙腈正己烷分配脱脂,MCS固相萃取柱净化,5%氯化甲醇洗脱,以气相色谱质谱选择86、233、272、318碎片离子进行定性定量分析。结果 氯丙嗪定量分析在0.051~0.25 μg/ml呈良好的线性关系, $r=0.9992$ ,检出限为2.0 μg/kg,平均回收率为87.1%~97.3%,RSD为3.15%。结论 该方法适合猪肉中氯丙嗪的检测。

**关键词:**气相色谱质谱法;氯丙嗪;猪肉;兽药残留

中图分类号:R155.5<sup>+</sup>5;TS201.6 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2013)05-0438-03

## Determination of chlorpromazine in pork by gas chromatography-mass spectrometry

SHAN Mei-na, XU Xiao-feng, PU Yun-xia, CHEN Zhi-min, LI Wei, JU Bo

(Inner Mongolia Center for Disease control and Prevention, Hohhot 010030, China)

**Abstract: Objective** To establish a method for the determination of chlorpromazine in pork by gas chromatography-mass spectrometry. **Methods** The sample was homogenized and extracted by ethyl acetate, degreased by hexane and acetonitrile, purified by solid phase extraction, and eluted by 5% ammoniated methanol. Ion fragments of 86, 233, 272 and 318 were selected for qualitative and quantitative analysis by gas chromatography-mass spectrometry. **Results** Good linearities were shown in 0.051 - 0.25 μg/ml with the relative coefficients of 0.999 2. The limit of detection was 2.0 μg/kg. The average recoverys were from 87.1% to 97.3% and the relative standard derivation was 3.15%. **Conclusion** It could be applied to determine the chlorpromazine in pork.

**Key words:** Gas chromatography-mass spectrometry; chlorpromazine; pork; veterinary drug residue

氯丙嗪是吩噻嗪类药物,又名冬眠灵,是常见的安眠、镇静、催眠药物,为中枢多巴胺受体的阻断剂,作用于中枢神经系统,兽医临床上主要被用作镇静药。氯丙嗪为乳白色粉末,微臭、味极苦、有吸湿性,遇光渐变色,水溶液呈酸性。近年来,一些不法商贩在饲料中私自添加氯丙嗪,达到镇静、催眠之效果,从而间接起到催肥促生长作用,造成氯丙嗪在畜产品中残留<sup>[1-3]</sup>。因而寻求一种简便、快速的提取和检验氯丙嗪的方法,对中毒者进行临床诊断与急救具有重要意义。传统的提取、净化氯丙嗪的方法为液-液提取法<sup>[4-5]</sup>,但该方法耗时较长,且要用到大量的有机溶剂,易损害操作者的身体健康并且污染环境。本文采用乙酸乙酯提取,分别用正己烷饱和的乙腈和乙腈饱和的正己烷脱脂,通过MCS固相萃取柱净化,采用内标法进行气相色谱质谱(GC-MS)测定。样品预处理步骤简单,采用内标法可以避免外标法中前处理过程中样本损失和定

容体积不准确等造成的误差。通过优化色谱条件,所选的内标物在色谱柱上可以和标准物质明显的分离。方法具有较高的灵敏度、准确度和精密度,有利于推广使用。

## 1 材料与方 法

## 1.1 仪器与试剂

Agilent 7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪、Agilent ChemStation 化学工作站、微量进样器(10 μl)、AL204-IC 电子天平、旋转蒸发器(BUCHI)、MCS固相萃取柱(500 mg/6 ml,杭州福裕科技服务有限公司)、涡旋器、离心机。

乙酸乙酯、乙腈、甲醇、正己烷(均为色谱纯),氨水(分析纯),无水硫酸钠(分析纯,650℃烘烤4 h)氯丙嗪、D6-氯丙嗪内标(以上两种标准品纯度均>99%,购自Sigma公司)。

## 1.2 方法

## 1.2.1 样品前处理

称取5.0 g绞碎均匀的猪肉于50 ml离心管中,加入100 μl内标溶液、6.0 g无水硫酸钠、25 ml乙酸乙酯,用匀质机匀质20 s,离心半径为108 mm,

收稿日期:2013-06-05

作者简介:单美娜 女 硕士 研究方向为食品风险监测

E-mail:shanmeina232853@163.com

8 000 r/min离心 10 min。取上层溶液至 100 ml 蒸馏瓶内,45 ℃减压旋转蒸发至干。然后加入 2 ml 正己烷饱和的乙腈、3 ml 乙腈饱和的正己烷,超声溶解、混匀,转入 10 ml 具塞刻度试管中,离心半径为 108 mm,4 000 r/min 离心 5 min,用滴管吸取正己烷,乙腈相待进一步净化。

取 MCS 固相萃取柱,先用 5 ml 乙腈淋洗活化,然后将上述乙腈相全部加到柱子上,待样液过柱后,分别用乙腈、水、甲醇各 3 ml 淋洗除杂,将柱子抽真空脱溶剂 2 min,然后用 4 ml 5% 氨化甲醇洗脱收集,在 50 ℃ 水浴中氮气吹干,用甲醇定容至 1.0 ml,然后进行 GC-MS 分析。

### 1.2.2 质谱、色谱条件

质谱条件:电离方式,EI 源温度为 230 ℃,电子能量 70 eV,接口温度为 280 ℃,电子倍增器电压 1 506 V,溶剂延迟 12 min。

色谱条件:HP-5 MS 5% 苯基甲基聚硅氧烷弹性石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm,0.25 μm);进样口温度为 280 ℃;柱温:初温 120 ℃ 保持 1 min,然后以 10 ℃/min 升至 290 ℃,290 ℃ 运行 2 min;载气:氮气(纯度 ≥ 99.999%),流速 1.0 ml/min;进样量:1 μl;进样方式:不分流进样。

### 1.2.3 样品的定性与定量

取样品提取液、氯丙嗪标准液各 1.0 μl,在优化的色谱条件下用气相色谱质谱测定,用内标法计算样品中氯丙嗪的浓度。

### 1.2.4 标准曲线的绘制

分别取氯丙嗪和 D6-氯丙嗪标准品 10.0 mg,用甲醇分别溶解并定容于 10 ml 容量瓶中,标准贮备液的浓度都为 1.00 mg/ml,于 -18 ℃ 冰箱中备用。临用时将按上述制备的氯丙嗪、D6-氯丙嗪溶液配制成浓度分别为 0.5、1.0 μg/ml 的标准使用液。分别取 100、150、200、250、500 μl 氯丙嗪标准使用液,加 50 μl 内标使用液,用甲醇定容到 1.0 ml,配制成 0.050、0.075、0.100、0.125、0.250 μg/ml 的氯丙嗪标准系列,此溶液中均含有 0.05 μg/ml D6-氯丙嗪。取 1.0 μl 各浓度氯丙嗪标准系列,进气相色谱质谱仪测定,根据保留时间及碎片离子进行定性、内标法进行定量分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 样品前处理的优化

根据相关资料<sup>[2-6]</sup>,氯丙嗪易溶于甲醇、乙腈、乙酸乙酯。因此用甲醇、乙腈、乙酸乙酯分别提取样品中的氯丙嗪,结果发现用乙酸乙酯提取效率高于甲醇和乙腈。猪肉中含有脂肪和其他杂质,采用

正己烷脱去脂肪,MCS 固相萃取小柱进行净化、分离,能有效地去除杂质,防止污染仪器并有利于提高仪器的灵敏度以及加标样品的回收率。

### 2.2 标准曲线及方法检出限

将 5 个浓度水平的标准溶液分别注入气相色谱质谱仪,以氯丙嗪与 D6-氯丙嗪峰面积比为纵坐标,氯丙嗪质量浓度为横坐标做标准曲线,曲线在 0.051 ~ 0.25 μg/ml 有良好的线性关系, $r = 0.999 2$ ,回归方程为  $y = 1.227x - 0.2096$ ,检出限(以噪音的 3 倍计算)为 2.0 μg/kg。图 1 为氯丙嗪与 D6-氯丙嗪标准的色谱图。氯丙嗪的保留时间为 16.675 min,D6-氯丙嗪的保留时间为 16.644 min。虽然两者的保留时间很接近,但是在混合标准中能明显的区分开。

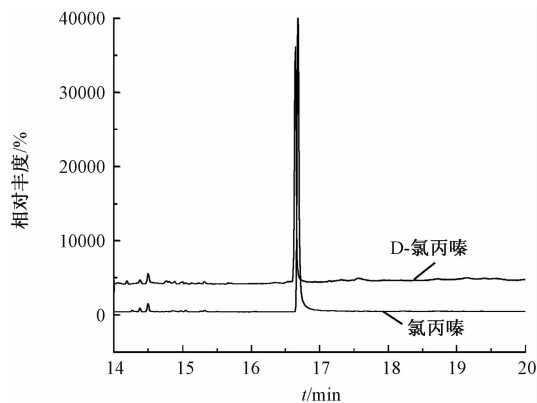


图 1 氯丙嗪与 D6-氯丙嗪标准的色谱图

Figure 1 The standard chromatograph of chlorpromazine and D6-chlorpromazine

### 2.3 加标回收率和精密度

向无氯丙嗪的猪肉中添加适量的标准溶液,相当于 0.015、0.020 和 0.025 mg/kg 的水平,每个浓度水平下做 6 次平行测定的加标回收率,RSD 为 3.15%,结果见表 1。由表 1 可知,本方法具有较好的精密度和回收率,可以满足测定要求。样品及样品加标色谱图见图 2,A 为样品色谱图,16.644 min 的色谱峰为 D6-氯丙嗪,无氯丙嗪检出。B 为样本加标色谱图,16.675 min 的色谱峰为氯丙嗪。

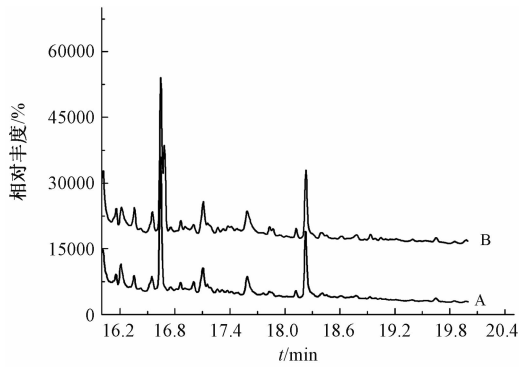
表 1 样品中氯丙嗪的加标回收率

Table 1 The recovery rates of chlorpromazine in samples

加标量/ (mg/kg)	本底值/ (mg/kg)	测定值/ (mg/kg)	回收率/ %
0.015	0	0.014 2	94.7
0.020	0	0.018 4	92.0
0.025	0	0.023 8	95.2

### 2.4 样品测定

从呼和浩特市各大超市和批发市场随机抽



注:A为样本色谱图,B为样本加标色谱图

图2 样本及样本加标色谱图

Figure 2 The chromatograph of sample and sample spiked

取猪肉样本 100 份采用本法进行测定,均为未检出氯丙嗪,说明我市的猪肉饲料中暂时没有添加氯丙嗪。

### 3 小结

本试验建立了气相色谱质谱法测定猪肉中氯

丙嗪残留的分析方法,方法的精密度、准确度符合分析的要求,且操作简便,适合在实验室推广。该方法为猪肉中氯丙嗪残留的检测提供了很好的依据。

### 参考文献

- [1] 许世富. 气相色谱法质谱法测定猪肉中氯丙嗪残留量的研究[J]. 现代农业科技, 2008(14): 203.
- [2] 贺江南. 固相微萃取-气相色谱法检验盐酸氯丙嗪[J]. 光谱实验室, 2002, 19(6): 751-753.
- [3] 路平. 气相色谱-质谱法测定猪肝中氯丙嗪残留的研究[J]. 中国动物检疫, 2006, 23(7): 30-31.
- [4] Rocha M I, Miritello S, Silvia S, et al. Spectrophotometric determination of chlorpromazine and levomepromazine hydrochlorides in injectables and drops by reaction with ferrous ion[J]. Analytical Letters, 1989, 22(4): 929-949.
- [5] 吕燕. 气相色谱-质谱法测定猪肝中氯丙嗪残留量[J]. 分析实验室, 2008, 27(3): 119-122.
- [6] 沈敏. 头发中国精神药物及其代谢物的 GC/MS 检测[J]. 质谱学报, 2001, 22(1): 32-33.

## 实验技术与方法

# 空肠弯曲菌定量检测方法的建立和优化

张秀丽, 廖兴广, 炊慧霞, 崔莹, 张丁

(河南省疾病预防控制中心, 河南 郑州 450016)

**摘要:**目的 建立一种空肠弯曲菌定量检测方法,为食品安全风险评估提供准确的数据支持。方法 参照 ISO/TS 10272—3 和 GB/T 4789.9—2008,基于 MPN 原理建立空肠弯曲菌定量检测方法,对定量加标的生鸡肉和鸡粪样品进行不同增菌培养基、不同培养环境和不同培养方式优化比对研究,用加标回收试验对建立的方法进行验证。结果 增菌培养基的优化选择: Preston 肉汤对加标菌量 10 cfu/g 的生鸡肉和鸡粪样品进行空肠弯曲菌检测的平均值分别为 12.26 和 10.96 MPN/g, Bolton 肉汤检测的平均值分别为 2.38 和 2.32 MPN/g,二者比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 微需氧环境的优化选择: 用三气培养箱法、产气袋法、抽气换气法和烛缸法对加标生鸡肉和鸡粪中的空肠弯曲菌检测的平均值分别为 12.26 和 12.12 MPN/g、12.26 和 10.96 MPN/g、12.26 和 12.86 MPN/g、10.82 和 12.12 MPN/g,和三气培养箱法两两相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 培养方式: 静止培养法对加标生鸡肉和鸡粪空肠弯曲菌的检测值分别为 15.8 和 15.2 MPN/g,振荡培养法检测值分别为 11.36 和 8.72 MPN/g,二者比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 用该法对低、中、高浓度加标生鸡肉样品的回收率分别为 115.25%、111.5% 和 95.0%。结论 此方法可以对高污染样品中空肠弯曲菌进行准确定量,特异度高,值得推广应用。

**关键词:**空肠弯曲菌; 食源性致病菌; 定量检测; 食品安全; 风险监测

中图分类号: R155.31; TS201.3 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2013)05-0440-05

收稿日期: 2013-06-07

作者简介: 张秀丽 女 主任技师 研究方向为卫生微生物检验和食品安全风险监测 E-mail: zhangxl@hncdc.com.cn

通讯作者: 张丁 男 主任医师 研究方向为营养与食品安全 E-mail: zhangd222@hncdc.com.cn