

气相色谱-质谱法测定鸡肉中二氯二甲吡啶酚残留量

陈迪^{1*}, 朱坚¹, 于瑞祥², 樊祥¹, 伊雄海¹, 郭德华¹, 邓晓军¹,
韩丽¹, 彭觅¹, 张浩¹

(1. 上海出入境检验检疫局, 上海 200135; 2. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306)

摘要: **目的** 建立鸡肉中二氯二甲吡啶酚残留量的气相色谱-质谱分析方法。**方法** 样品经甲醇提取, 中性氧化铝柱净化, 在碱性条件下以吡啶催化, 丙酸酐衍生后, 用气相色谱-质谱仪测定。**结果** 二氯二甲吡啶酚在20~240 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内与响应值呈良好的线性关系, 线性回归方程为 $Y=1.132X-2.553$, 相关系数大于0.998。该方法的平均回收率为78.7%~85.1%, 相对标准偏差(RSD)为7.8%~12.6%, 检出限(LOD)为: 鸡肉 5.0 $\mu\text{g/kg}$, 鸡肝 10.0 $\mu\text{g/kg}$ 。**结论** 该方法选择性好, 适合鸡肉中二氯二甲吡啶酚残留量的测定。

关键词: 二氯二甲吡啶酚; 气相色谱-质谱法; 鸡肉; 鸡肝; 检测

Determination of dichloro dimethyl pyridine phenol residues in chicken tissues by gas chromatography-mass spectrometry

CHEN Di^{1*}, ZHU Jian¹, YU Rui-Xiang², FAN Xiang¹, YI Xiong-Hai¹, GUO De-Hua¹, DENG Xiao-Jun¹,
HAN Li¹, PENG Mi¹, ZHANG Hao¹

(1. Shanghai Exit-Entry Inspection and Quarantine Bureau, Shanghai 200135, China;
2. College of Food Science & Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of dichloro dimethyl pyridine phenol residues in chicken tissues by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Methods** Dichloro dimethyl pyridine phenol was extracted with methanol and cleaned-up through Al_2O_3 column and derived with propionic anhydride under alkaline conditions using pyridine as catalyst. Quantification was achieved by GC-MS. **Results** The recoveries of dichloro dimethyl pyridine phenol in chicken tissues were in the range of 78.7%~85.1% with the relative standard deviation (RSD) of 7.8%~12.6%. The limit of detection (LOD) was 5.0 $\mu\text{g/kg}$ for chicken and 10.0 $\mu\text{g/kg}$ for chicken livers. **Conclusion** The method has good selectivity and it is suitable for the determination of dichloro dimethyl pyridine phenol residues in chicken tissues.

KEY WORDS: dichloro dimethyl pyridine phenol; gas chromatography-mass spectrometry; chicken tissues; chicken liver; determination

二氯二甲吡啶酚属吡啶类化合物, 为白色粉末, 无臭, 不溶于水, 性质稳定, 其具有广泛的抗球虫作

用, 是一种预防鸡球虫病的饲料药物添加剂, 在国内养鸡业中被广泛使用, 国际上使用也较多。长期使

*通讯作者: 陈迪, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。Email: chendi@shciq.gov.cn

*Corresponding author: CHEN Di, Engineer, Technical Center for Animal, Plant and Food Inspection and Quarantine of SHCIQ, No.1208, Minsheng Road, Pudong New District, Shanghai 200135, China. E-mail: chendi@shciq.gov.cn

用或不按规定用药会造成二氯二甲吡啶酚在动物体内和组织中残留。近年来药物残留一直是动物及动物源产品国际贸易中令人关注的焦点之一,欧盟以及美国、日本、中国都已规定并不断修订各种动物组织中二氯二甲吡啶酚残留的最高限量标准。美国、加拿大、日本和中国都规定禽肉组织中二氯二甲吡啶酚残留限量为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,禽肝脏中二氯二甲吡啶酚残留限量为 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

国内外关于二氯二甲吡啶酚残留量的分析报道主要有气相色谱法^[1,2]、液相色谱法^[3,4]和色谱-质谱法^[5,6]。气相色谱法一般通过酸酐酯化将二氯二甲吡啶酚分子中的活泼羟基去极性后形成易于汽化的衍生物,再采用电子捕获检测器检测,但检测时干扰多;液相色谱法一般需经两次固相萃取净化,前处理步骤繁多。因此开发一种能简单、灵敏、可靠地检测二氯二甲吡啶酚的方法具有重要的意义。

1 材料与amp;方法

1.1 仪器与试剂

Agilent 7890/5975 气相色谱质谱仪(配 EI 源,美国安捷伦公司);组织搅拌机(瑞士 Kinematica 公司);涡旋混合器(韩国 VisionScientific 公司);高速离心机(日本 Hitachi 公司);旋转蒸发器(瑞士 Buchi 公司);氮气浓缩仪(美国 Zymark 公司);分析天平(德国 Sartorius ME 公司,0.1 mg 和 0.01 g);玻璃层析柱(15 mm i.d. \times 400 mm);Milli-Q 高纯水发生器(美国 Millipore 公司)。

二氯二甲吡啶酚(纯度 \geq 98%,Dr.Ehrenstorfer 公司);甲醇(色谱纯,德国 Merck 公司);正己烷(分析纯,美国 J.T.Baker 公司);丙酸酐(纯度 \geq 98%,国药集团化学试剂有限公司);吡啶、四硼酸钠、中性氧化铝(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);高纯水;鸡肉和鸡肝均购于超市。

1.2 标准溶液的配制

标准溶液:准确称取适量的标准物质,用甲醇配成 0.1 mg/mL 的标准储备溶液,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内避光保存。

标准工作液:移取 1.00 mL 的 0.10 mg/mL 二氯二甲吡啶酚,相当于 0.10 mg 的二氯二甲吡啶酚于 100 mL 容量瓶中,甲醇定容后稀释成 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准工作液,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内避光保存。

1.3 样品前处理

1.3.1 提取

称取 5.00 g 已绞碎混匀的鸡肉或鸡肝于 50 mL 离心管中,加入 25 mL 甲醇,均质 2 min 后,以 4000 r/min 速率离心 10 min。

1.3.2 净化

用移液管移取 20 mL 上清液于氧化铝柱(预先于 300 $^{\circ}\text{C}$ 灼烧 3 h,并在 130 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘烤 1 h 后,放入干燥器中备用,装柱填充后用 20 mL 甲醇活化)中,当液面与氧化铝上表面相切时加入 10 mL 甲醇淋洗,弃去流出液。然后用 45 mL 甲醇洗脱,收集洗脱液于 250 mL 梨形瓶中,50 $^{\circ}\text{C}$ 下用旋转蒸发器蒸干。用 2 mL 甲醇溶解残渣,转入 15 mL 带螺旋盖离心管中,并用 1 mL 甲醇洗涤梨形瓶,合并。用氮气流吹至大约 0.5 mL。

1.3.3 衍生化

在上述试管中依次准确加入 4 mL 0.1 mol/L 四硼酸钠溶液,0.25 mL 正己烷,25 μL 吡啶和 50 μL 丙酸酐。加塞,涡旋混合 1 min。在 4500 r/min 下离心 5 min,将上层正己烷移入进样小瓶中,供气相色谱-质谱分析。

1.4 GC-MS 条件

1.4.1 色谱条件

色谱柱:毛细管柱 DB-5MS(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm);升温程序:初始温度 80 $^{\circ}\text{C}$,保持 1 min,以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 250 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min;进样口温度:260 $^{\circ}\text{C}$;载气:氦气,纯度 99.999%;载气流速:1.0 mL/min;进样模式:不分流进样,1 min 后开阀;进样量:1 μL ;

1.4.2 质谱条件

接口温度:280 $^{\circ}\text{C}$;离子源:电子轰击源(EI);电子能量:70 eV;离子源温度:230 $^{\circ}\text{C}$;检测方式:SIM;选择离子(m/z)及相对丰度(%)见表 1。

表 1 二氯二甲吡啶酚的定性离子和相对丰度比确认表
Table 1 The qualitative ion and relative abundance ratio of dichloro dimethyl pyridine phenol

名称	定性离子质荷比	相对丰度比(%)
	191	100
二氯二甲吡啶酚酯化物	193	65
	195	11

2 结果与分析

2.1 提取方法的优化

对于样品的提取, 原来标准采用振荡抽滤的方法, 要加入助滤剂改善过滤速度。本方法均质后以 4000 r/min 离心 10 min, 移取部分上清液进行后续净化操作, 使过程简化。试验结果显示, 采用此方法可使提取更完全, 提取率更高且更稳定。离心分离后, 液相清澈, 液固界面非常明显。另外, 直接移取部分上清液进行后续净化, 这样可以避免过滤后滤渣洗涤不完全带来的影响, 实验重现性较好。

为了有效地提取鸡肉组织中残留的二氯二甲吡啶酚, 分别采用甲醇、丙酮、乙酸乙酯、二氯甲烷等不同有机溶剂进行提取试验。试验发现, 丙酮与甲醇的提取回收率相近, 但丙酮提取液中脂肪等杂质的含量相对较高; 乙酸乙酯和二氯甲烷难以从未除水的鸡肉组织中提取目标物, 回收率低。因此, 本实验最终选择甲醇作为提取溶剂。

2.2 净化方法的优化

在实验中还对市售氧化铝固相萃取(solid phase extraction, SPE)小柱的净化效果进行了试验, 结果表明这些小柱都不能很好地除去脂肪等杂质。为此, 采用自制氧化铝层析柱净化提取试液, 结果发现, 氧化铝层为 5 g 和 10 g 的层析柱回收率较低, 15 g 和 20 g 的层析柱回收率高, 二者差异不明显, 洗脱液也相对干净。因此选择氧化铝层的填充质量为 16 g。

2.3 衍生化试剂的优化

二氯二甲吡啶酚需经过衍生化才能进行气相色谱质谱分析。常见衍生化方法有重氮化法、硅烷化法

和酸酐衍生化法。其中重氮化法使用的重氮化试剂制备过程繁琐, 衍生化过程危险, 硅烷化法用时较长, 而酸酐衍生化法用时较短且重现性较好。因此, 本实验最终选择丙酸酐作为衍生化试剂。

2.4 质谱条件的优化

对二氯二甲吡啶酚丙酯进行全扫描, 获得 EI 质谱图见图 1, 其特征碎片离子 m/z 247 为分子离子, m/z 191 为二氯二甲吡啶酚分子, m/z 193 和 m/z 195 为 m/z 191 的 C_1 同位素峰。为此, 选择 m/z 191, 193 及 195 为特征离子, 采用 SIM 模式对二氯二甲吡啶酚进行定性和定量分析。

2.5 线性范围

二氯二甲吡啶酚在 20~240 $\mu\text{g/L}$ 质量浓度范围内与响应值呈良好的线性关系, 线性回归方程为 $Y=1.132X-2.553$, 相关系数大于 0.998。

2.6 回收率、精密度和检出限

以不含二氯二甲吡啶酚的鸡肉和鸡肝为检测样品, 采用外加法在鸡肉中分别添加 5、10、20 $\mu\text{g/kg}$ 三个浓度水平的二氯二甲吡啶酚, 在鸡肝中分别添加 10、15、30 $\mu\text{g/kg}$ 三个浓度水平的二氯二甲吡啶酚, 作回收率和精密度试验, 得到平均回收率为 78.7%~85.1%, 相对标准偏差(RSD)为 7.8%~12.6%, 见表 2, 标准溶液及样品溶液图谱见图 2 和图 3。鸡肉中二氯二甲吡啶酚的检出限(LOD)为 5.0 $\mu\text{g/kg}$, 鸡肝中二氯二甲吡啶酚的检出限(LOD)为 10.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

3 结 论

本文采用气相色谱-质谱法测定禽肉中二氯二甲

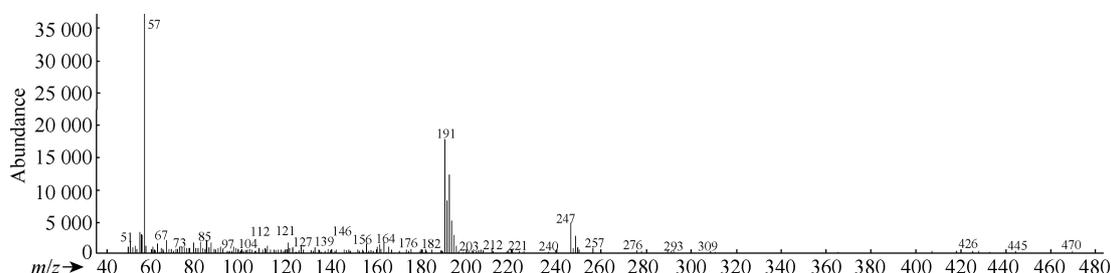


图 1 二氯二甲吡啶酚丙酯的全扫描质谱图

Fig. 1 The full scan mass spectrum of dichloro dimethyl propyl clopidol

表2 动物组织中二氯二甲吡啶酚测定的回收率、精密度($n=8$)

Table 2 The recoveries and precision of dichloro dimethyl pyridine phenol in chicken tissues ($n=8$)

品种	添加水平 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率 (%)	RSD (%)
鸡肉	5	80.6	12.6
	10	79.9	9.8
	20	78.7	8.9
鸡肝	10	80.1	10.1
	15	82.3	8.8
	30	85.1	7.8

吡啶酚残留量。二氯二甲吡啶酚在 20~240 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内与响应值呈良好的线性关系, 线性回归方程为 $Y=1.132X-2.553$, 相关系数大于 0.998。该方法的平均回收率为 78.7%~85.1%, 相对标准偏差(RSD)为 7.8%~12.6%, 检出限(LOD)为: 鸡肉 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 鸡肝 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。方法前处理简便, 提取率高且稳定, 方法灵敏, 选择性好, 适合禽肉中二氯二甲吡啶酚残留量的测定。

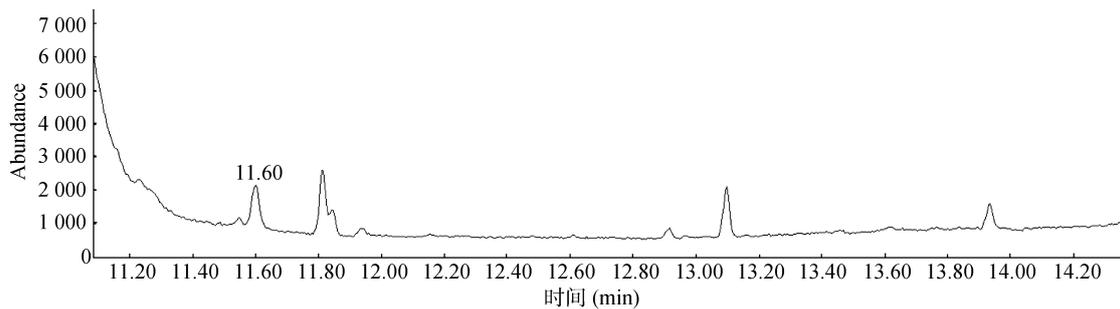


图2 二氯二甲吡啶酚标准品的选择离子色谱图

Fig. 2 The SIM chromatogram of dichloro dimethyl pyridine phenol

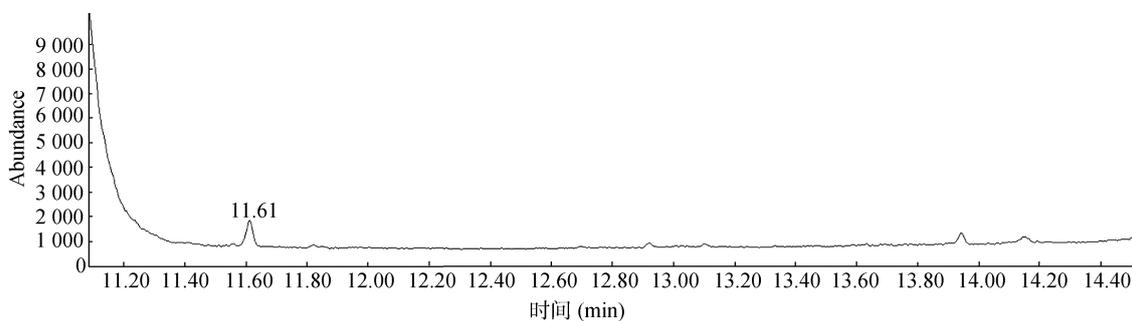


图3 鸡肝中二氯二甲吡啶酚的选择离子色谱图(添加水平为 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

Fig. 3 The SIM chromatogram of dichloro dimethyl pyridine phenol at spiked level 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in chicken

参考文献

- [1] 连锦明, 黄颖, 童庆松. 气相色谱法测定动物性食品中二氯二甲吡啶酚的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14(1): 30-31.
Lian JM, Huang Y, Tong QS, *et al.* Detection of dichloro dimethyl pyridol in food of animal origin by gas chromatography [J]. Chin J Healthy Lab Technol, 2004, 14(1): 30-31.
- [2] 郑举, 刘红云. 禽肉中二氯二甲吡啶酚残留量的快速检验[J]. 中国兽药杂志, 2000, 35(3): 27-29.
Zheng J, Liu HY. Rapid detection of dichloro dimethyl pyridine phenol residues in poultry meat [J]. Chin J Vet Drug, 2000, 35(3): 27-29.
- [3] 李水明, 刘丽, 刘俩燕. 高效液相色谱法测定动物性食品中二氯二甲吡啶酚的研究[J]. 现代预防医学, 2008, 35(10): 1903-1906.
Li SM, Liu L, Liu LY. Study on HPLC in detection of metichlorpindol in animal food [J]. Mod Prev Med, 2008, 35(10): 1903-1906.
- [4] 刘红河, 康莉, 陈春晓, 等. 禽肉中二氯二甲吡啶酚的高效液相色谱法测定[J]. 中国公共卫生, 2005, 21(3): 354-355.
Liu HH, Kang L, Chen CX, *et al.* Detection of dichloro dimethyl pyridol in food of animal origin by HPLC [J]. Chin J Public Health, 2005, 21(3): 354-355.
- [5] 张睿. 气相色谱-质谱法测定禽肉中二氯二甲吡啶酚残留量[J]. 分析测试学报, 2001, 20: 266-267.

Zhang R. Determination of clopidol residues in poultry meat by GC-MS [J]. *J Instrum Anal*, 2001, 20: 266-267.

- [6] 刘祥国, 苏贻娟, 方炳虎, 等. 气相色谱-质谱法测定鸡肉组织中残留的氯羟吡啶[J]. *色谱*, 2009, 27(1): 86-90.

Liu XG, Su YJ, Fang BH, *et al.* Determination of clopidol residues in chicken muscle by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2009, 27(1): 86-90.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



陈迪, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

Email: chendi@shciq.gov.cn