

电化学分析法检测动物源食品中氯丙嗪的 3 种 前处理方法比较

邹玉婷, 段宁馨, 古飞燕, 黄泓凯, 陈洁婷, 刘功良, 赵晓娟*

(仲恺农业工程学院轻工食品学院, 农业农村部岭南特色食品绿色加工与智能制造重点实验室,
广东省岭南特色食品科学与技术重点实验室, 广州 510225)

摘要: 目的 比较电化学分析法检测动物源食品中氯丙嗪的 3 种不同前处理方法。**方法** 样品分别采用溶剂提取法、QuEChERS 法和固相萃取法(solid-phase extraction, SPE)进行了电化学检测比较分析。**结果** 猪肉、鸡肉、牛肉、猪肝、虾肉和蜂蜜可用溶剂提取法进行处理, 氯丙嗪的加标回收率均在 81.6%以上; 而鱼肉和鸡蛋样品需采用 QuEChERS 法进行处理, 回收率分别达到 88.5%~95.8%和 89.7%~98.2%; 牛奶样品用溶剂提取法和 QuEChERS 法处理时均有基质干扰, 采用固相萃取法进行净化后, 回收率达到 80.6%~93.0%。**结论** 不同类型的动物源食品需分别采用适宜的前处理方法才能获得满意的测定结果。本研究可为不同类型动物源食品中氯丙嗪电化学检测方法的应用提供参考。

关键词: 氯丙嗪; 电化学传感器; 动物源食品; 前处理优化

Comparison of 3 kinds of pretreatment methods for determination of chlorpromazine in animal-derived foods by electrochemical analysis

ZOU Yu-Ting, DUAN Ning-Xin, GU Fei-Yan, HUANG Hong-Kai,
CHEN Jie-Ting, LIU Gong-Liang, ZHAO Xiao-Juan*

(College of Light Industry and Food Science, Key Laboratory of Green Processing and Intelligent Manufacturing of Lingnan Specialty Food, Ministry of Agriculture, Guangdong Provincial Key Laboratory of Lingnan Specialty Food Science and Technology, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

ABSTRACT: Objective To compare the 3 kinds of different pretreatment methods for the determination of chlorpromazine in animal-derived foods by electrochemical analysis. **Methods** The samples were subjected to electrochemical detection and comparative analysis by solvent extraction method, QuEChERS method and solid-phase extraction (SPE). **Results** Pork, chicken, beef, liver, shrimp and honey could be processed by solvent extraction method, and the recovery rates of chlorpromazine were all above 81.6%; while fish and egg samples were processed by QuEChERS method, and the recoveries were 88.5%~95.8% and 89.7%~98.2%, respectively; the milk samples had matrix interference when treated by solvent extraction method and QuEChERS method. After

基金项目: 广东省省级农业科技创新及推广项目(2021KJ101)、广东省岭南特色食品科学与技术重点实验室项目(2021B1212040013)、云浮市 2021 年省乡村振兴战略专项资金项目(2021090102)

Fund: Supported by the Guangdong Provincial Agricultural Science and Technology Innovation and Promotion (2021KJ101), the Guangdong Lingnan Key Laboratory of Food Science and Technology (2021B1212040013), and the Yunfu City 2021 Provincial Rural Revitalization Strategy Special Fund (2021090102)

***通信作者:** 赵晓娟, 教授, 主要研究方向为电分析化学与食品安全检测。E-mail: xiao0692@163.com

***Corresponding author:** ZHAO Xiao-Juan, Professor, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China. E-mail: xiao0692@163.com

purification by SPE method, the recoveries reached 80.6%–93.0%. **Conclusion** Different types of animal-derived foods need appropriate pretreatment methods to obtain satisfactory determination results. This study can provide reference for the application of electrochemical detection methods of chlorpromazine in different types of animal-derived foods.

KEY WORDS: chlorpromazine; electrochemical sensor; animal-derived foods; pretreatment optimization

0 引言

氯丙嗪(chlorpromazine, CPZ)因具有镇静、催眠的功效而被广泛用于食品动物的增重催肥,其残留会对人体健康产生不容忽视的损伤^[1],会引起白细胞减少和粒细胞缺乏症,从而引起人体肝脏、肾脏的病变,严重时会导致心律失常异常、昏迷和癫痫发作,还会引起眼部并发症等^[2-4]。据 GB 31650—2019《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》显示,氯丙嗪仅允许作治疗用途使用,但不得在动物性食品中检出^[5],所以对氯丙嗪进行检测是保证动物源食品安全的一项重要举措^[6]。

目前,国内外文献中关于氯丙嗪等精神类药物的检测样品主要以水样、尿液、血样或药物片剂为主,而关于动物源食品中氯丙嗪的检测报道相对较少,这主要是由于动物源食品成分复杂,基质效应往往会影响分析结果的准确性^[7-9]。通过样品前处理减少基质效应的影响是分析检测工作的重点。如邹游等^[10]使用 QuEChERS 法结合高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)开发了一种同时测定猪肌肉、鱼、肝脏和肾脏中氯丙嗪、地西洋和美托拉宗残留的方法,加标回收率为 92.5%~117.8%。吴基任等^[11]采用多孔聚苯乙烯/二乙烯基苯填料的固相萃取柱对样品进行净化,利用 HPLC-MS/MS 测定动物源性食品中氯霉素类药物与氯丙嗪残留量,平均回收率为 80.3%~94.7%。可见,具有良好净化效果的 QuEChERS 法和固相萃取法在 HPLC-MS/MS 检测动物源食品样品的前处理中已受到关注^[12]。

动物源食品中氯丙嗪的检测不仅需要 HPLC-MS/MS 等高效、准确的确证分析方法^[13-15],同时也需要简便、灵敏的快速检测方法。电化学法^[16-18]与 HPLC 的检测原理和仪器成本等方面都有显著差别。高效液相色谱分析中通常需要解决的问题是消除基体干扰和延长色谱柱的寿命,因此,对样品前处理要求高、操作烦琐耗时。电化学分析时样品前处理相对简单,样品溶液的颜色和浊度一般不会影响电化学法的测定结果,但仍需对样品前处理进行选择和优化,探究对不同类型的动物源食品的电化学检测方法的应用性。

基于氧化石墨烯(graphene oxide, GO)和纳米铜(nanocopper, CuNPs)具有比表面积大、导电性强和催化活性高等特性,以及聚多巴胺有良好的黏附性等特点^[19],通过

硼氢化钠还原法制备氧化石墨烯-纳米铜(graphene oxide-nanocopper, GO-CuNPs)复合纳米材料,然后通过多巴胺的自聚反应得到聚多巴胺@氧化石墨烯-纳米铜的丝网印刷电极(polydopamine@graphene oxide-nanocopper/screen-printed carbon electrode, PDA@GO-CuNPs/SPCE),利用差分脉冲伏安法建立了一种测定 CPZ 的电化学传感检测法,并以猪肉、鸡肉、牛肉、猪肝、虾肉、蜂蜜、鱼肉、鸡蛋和牛奶共 9 种动物源食品作为研究对象,以氯丙嗪在 PDA@GO-CuNPs/SPCE 上的电化学响应和回收率值作为指标,采用溶剂提取法、QuEChERS 法和固相萃取法对样品进行前处理,旨在探索“样品-前处理手段-电化学检测”之间的适用匹配关系,寻求适用于不同样品的便捷高效的前处理方法,以期为不同类型动物源食品中氯丙嗪电化学快速检测技术的应用提供参考和支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

猪肉、鸡肉、牛肉、猪肝、虾肉、蜂蜜、鱼肉、鸡蛋和牛奶(广州万国超市)。

乙腈、叔丁基甲醚、无水硫酸镁、正己烷、乙酸乙酯、氯化铜、聚乙烯吡咯烷酮(分析纯,上海麦克林生化科技有限公司);甲醇、无水乙醇、氯化钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、硼氢化钠(分析纯,天津市永大化学试剂有限公司);甲酸、冰乙酸、氨水(分析纯,广州化学试剂厂);三羟甲基氨基甲烷(tris(2-hydroxyethyl)aminomethane, Tris)、Nafion® 全氟化树脂溶液(nafionperfluorinated resin solution, nafion)、盐酸多巴胺(分析纯,美国西格玛生物试剂公司);MCX 萃取柱、N-丙基乙二胺吸附剂(primary-secondary amine, PSA)、十八烷基键合硅胶吸附剂(C₁₈)(上海安谱实验科技股份有限公司);盐酸氯丙嗪标准品(纯度≥99%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

1.2 仪器与设备

CHI660E 电化学分析仪(北京华科普天科技有限公司);KQ118 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Vortex Mixer V6 漩涡混匀器(美国安胜科技有限公司);79-1 型磁力搅拌器(上海雷韵试验仪器制造有限公司);RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);HR/T20M 型台式高速冷冻离心机(湖南赫西仪器装备有限公司);STARTER 300 便

携式 pH 计[奥豪斯仪器(上海)有限公司]; BSA124S 万级电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

准确称取一定质量的盐酸氯丙嗪标准品,用乙腈溶解得到浓度为 1.0×10^{-3} mol/L 的标准品储备液。实验中,用 0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffer solution, PBS)将(pH 7.0)储备液稀释成不同浓度的标准溶液,现用现配。

1.3.2 样品前处理

(1) 溶剂提取法

分别称取去皮去骨的猪肉、猪肝、牛肉、鸡肉、虾肉和蜂蜜 2.00 g (± 0.01 g)置于 50 mL 具塞离心管中,准确加入乙腈(含 1.0%乙酸)10 mL,漩涡提取 5 min, 10000 r/min 高速离心 10 min 后取上清液。重复提取 1 次合并上清液。于 30°C 减压旋转蒸发至干,加入 5 mL PBS(含 10.0%乙腈)溶解后待测。

(2) QuEChERS 法

根据文献[20]方法处理样品并简化了操作:分别称取鱼肉、鸡蛋等样品 2.00 g (± 0.01 g)置于 50 mL 具塞离心管中,准确加入乙腈(含 1.0%乙酸)10 mL,漩涡提取 5 min, 10000 r/min 高速离心 10 min 后取上清液。重复提取 1 次合并上清液。加入 1.00 g 氯化钠,涡旋 1 min 后离心,取上清液,于 30°C 减压旋转蒸发至干,加入 5 mL PBS(含 10.0%乙腈)溶解后待测。

(3) 固相萃取法

根据文献[21]方法处理样品:吸取牛奶 2.00 g (± 0.01 g),置于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 甲醇-0.1 mol/L 盐酸(9:1, V:V),振荡提取 10 min,于 10000 r/min 下离心 5 min 后取上清液,重复提取 1 次合并上清液。

净化:移取上清液至经 5 mL 甲醇、5 mL 水活化后的 MCX 柱中,在重力作用下过柱,真空抽干后用 5 mL 甲醇(含 2.0%氨水)溶液洗脱,收集洗脱液,于 30°C 下减压旋转蒸发至干,加入 5 mL PBS(含 10.0%乙腈)溶解后待测。

1.3.3 氧化石墨烯-纳米铜溶液的制备

根据文献[22]方法并进行调整与优化,移取 4 mL 1 mg/mL 聚乙烯吡咯烷酮溶液于装入 29.7 mL 超纯水的烧杯中,在电磁搅拌下依次加入 2.4 mL 0.2 mol/L 氯化铜溶液和 2.4 mL 1.5 mg/mL GO-Nafion 溶液(GO 用 0.5% Nafion 乙醇溶液溶解),逐滴加入 1.5 mL 11.8 mg/mL 硼氢化钠溶液(现配现用),搅拌 30 min,直至溶液变为透明的棕黄色,制备成纳米铜溶液于 4°C 保存备用。

1.3.4 PDA@GO-CuNPs/SPCE 的制备

将适量盐酸多巴胺加入氧化石墨烯-纳米铜(graphene oxide-nanocopper, GO-CuNPs)溶液中,用 0.1 mol/L Tris 缓冲溶液调 pH 为 7.5,制成 1 mg/mL 多巴胺和 GO-CuNPs 混合溶液,在避光条件下自聚 2.5 h,取出丝网印刷电极用超纯

水淋洗后,即得到测定氯丙嗪的修饰电极(PDA@GO-CuNPs/SPCE)。

1.3.5 检测方法

将 5 μ L 待测样品溶液滴加在 PDA@GO-CuNPs/SPCE 表面,静置 30 s 后于电位 0~1.0 V、电位增量为 6 mV、电位振幅为 50 mV 条件下进行差分脉冲伏安扫描,得到不同响应电流值(I)与电位(E)之间的关系曲线。

1.3.6 加标回收实验

在空白样品中分别加入 0.05、0.50 和 5.00 μ mol/L 共 3 个浓度的氯丙嗪标准溶液。每个加标水平取 3 个平行样,按照 1.3.2 节的方法进行样品前处理。然后利用 PDA@GO-CuNPs/SPCE 电极,按照 1.3.3 节的方法进行电化学测定,计算回收率。

1.3.7 数据处理

采用 Origin 8.0 软件作图,数据以“平均值 \pm 标准偏差”表示。采用 SPSS 22.0 软件进行数据处理和统计分析,取 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的选择

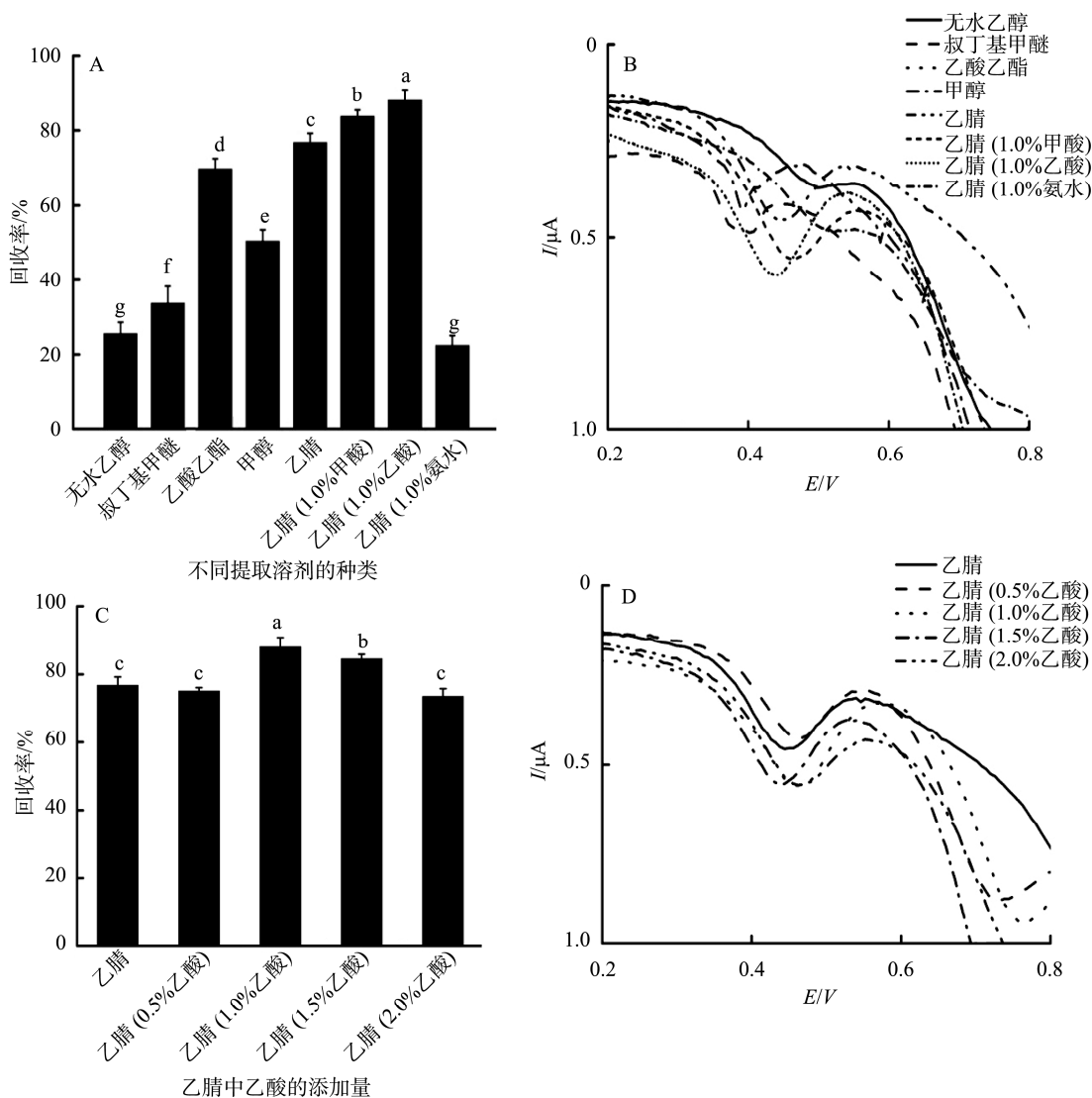
盐酸氯丙嗪易溶于水、乙醇、乙腈、甲醇和乙酸乙酯等溶剂。根据“相似相溶”的原理,分别采用水、无水乙醇、叔丁基甲醚、乙酸乙酯、甲醇、乙腈、乙腈(含 1.0%甲酸)、乙腈(含 1.0%乙酸)和乙腈(含 1.0%氨水)9 种溶剂作为提取剂,参考 1.3.2 (1)对猪肉样品进行前处理。根据 5×10^{-7} mol/L CPZ 在 PDA@GO-CuNPs/SPCE 上的电化学响应和回收率值考察各种溶剂的提取效果,电化学响应和回收率值如图 1 所示。

根据图 1A 和 1B 发现,在 30°C 减压旋转蒸发条件下,用水提取后的提取液无法蒸干,影响后续的复溶;用无水乙醇或叔丁基甲醚提取时,回收率分别为 25.6%和 33.7%,主要是由于这两种提取液旋蒸后的残留物中均出现了大块的乳白色油状物质,在测定时会影响溶液中的 CPZ 分子向电极表面的扩散;甲醇极性较强,在提取 CPZ 时也会溶出较多的其他醇溶性的极性基体杂质,影响后面的分析测定,回收率约 50.4%;乙酸乙酯的极性比甲醇小,用乙酸乙酯提取氯丙嗪时,加标回收率为 69.8%;由于乙腈具有良好沉淀蛋白的作用,用乙腈提取时,离心后的上清液澄清透明,回收率为 76.4%;当乙腈中含有氨水时,回收率仅为 22.4%,而当乙腈(含 1.0%乙酸)、乙腈(含 1.0%甲酸)作为提取溶剂时,氯丙嗪的回收率均达到 80%以上,可以看出提取溶剂的酸碱性对提取效果有显著影响($P < 0.05$),主要是由于 CPZ 为叔胺类药物,具有弱碱性,更易溶解于含酸的乙腈中;与乙腈(含 1.0%乙酸)相比,可能是由于甲酸分子中活性基团—醛基的影响,回收率稍有下降。故选择添加乙酸的乙腈作为提取溶剂。

由上可知, 提取溶剂的酸碱性和对提取效果有显著影响, 因此进一步考察了乙腈中乙酸的添加量对 CPZ 回收率的影响。分别以乙腈(含 0.5%、1.0%、1.5%、2.0%乙酸)作为提取溶剂, 参考 1.3.2 (1)对猪肉样品进行前处理, 用 PDA@GO-CuNPs/SPCE 测定后计算回收率(图 1C 和 1D)。与使用乙腈进行提取相比, 用乙腈(含 0.5%乙酸)时, 两者的回收率没有显著差异($P>0.05$)。乙酸添加量增加到 1.0%时, 氯丙嗪的回收率达到 87.9%。当乙酸量继续增加时, 回收率数值逐步下降, 可能是由于提取液的酸度明显增加, 氯丙嗪的稳定性受到影响。因此, 选择乙腈(含 1.0%乙酸)作为最佳的提取溶剂。

2.2 旋蒸温度的选择

CPZ 具有见光易氧化, 受热易分解的化学特性^[23], 因此, 实验操作在避光条件下进行, 同时在旋蒸过程中尽可能采用较低的温度。将猪肉用乙腈(含 1.0%乙酸)提取后, 分别在 20、30、40 和 50°C 下进行减压旋蒸。不同旋蒸温度之间均有显著性差异($P<0.05$)。由于乙腈(含 1.0%乙酸)的沸点在 80°C 左右, 当在室温(20°C)减压旋蒸时, 蒸干溶剂所需的时间较长, 容易引起 CPZ 的氧化, 故回收率较低。在 30°C 进行旋蒸时, CPZ 的回收率达到 87.9%。而在更高的温度下旋蒸时, CPZ 受热容易氧化和分解, 从而导致回收率降低, 为此选择 30°C 为最佳旋蒸温度。



注: 相同小写字母表示数据间差异不显著($P>0.05$), 小写字母不同表示差异显著($P<0.05$), 下同。

图 1 不同提取溶剂的种类(A、B)和乙腈中乙酸的添加量(C、D)选择对 5×10^{-7} mol/L CPZ 的回收率的影响($n=3$)

Fig.1 Effects of different extraction solvent types (A, B) and the amount of acetic acid added in acetonitrile (C, D) on the recoveries of 5×10^{-7} mol/L CPZ ($n=3$)

2.3 样品的加标回收率(溶剂提取法)

根据上述优化条件(即 1.3.2 节的溶剂提取法),对猪肉、鸡肉、牛肉、猪肝、虾肉、蜂蜜、鱼肉、鸡蛋和牛奶共 9 种动物源食品样品进行前处理,用 PDA@GO-CuNPs/SPCE 测定后计算回收率,结果见表 1 和图 2。猪肉、猪肝、鸡肉、牛肉、虾肉、蜂蜜 6 种样品在低、中、高 3 个浓度的加标回收率均在 80.0%以上;然而,鱼肉和鸡蛋样品在加标浓度为 5×10^{-6} mol/L 时回收率值较低,分别为 74.5%和 65.8%;如图 3 可知,阴性牛奶样品经前处理后进行电化学测定时,在 CPZ 的氧化峰电位 0.45 V 附近出现了一个明显的干扰峰,影响 CPZ 氧化峰电流的读取。由上可见,不同类型的动物源食品由于肌肉的纤维组织、脂肪含量、水分含量、蛋白质的种类和含量等存在差别,经乙腈(含 1.0%乙酸)提取后得到的回收率也有明显区别;利用电化学方法测定猪肉、猪肝、鸡肉、牛肉、虾肉、蜂蜜 6 种样品时可直接用溶剂提取法进行样品前处理;而鱼肉、鸡蛋和牛奶样品的前处理方法还需进一步进行优化。

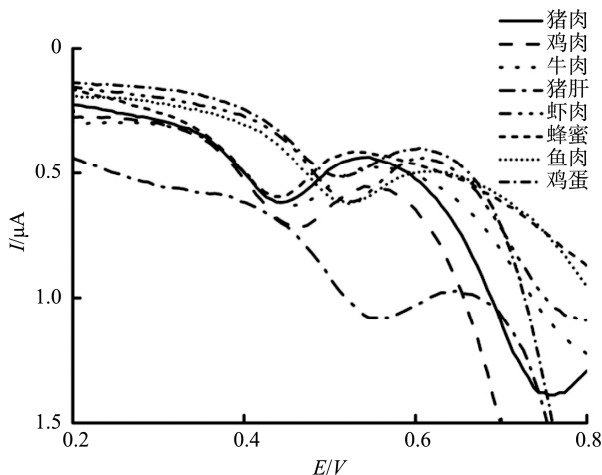


图 2 8 种加标(5×10^{-7} mol/L CPZ)样品的电化学响应—溶剂提取法
Fig.2 Electrochemical response of 8 kinds of samples with 5×10^{-7} mol/L CPZ by solvent extraction method

2.4 净化剂的选择

QuEChERS 法是近年来发展起来的一种快速样品前处理技术^[23-25]。QuEChERS 法常用的净化剂有石墨化炭黑(graphitized carbon black, GCB)、 C_{18} 及 PSA^[26-27]。GCB 去除植物色素的效果较好,但对具有吩噻环平面结构的 CPZ 也有较强的吸附作用,不适合对检测 CPZ 残留的样品进行净化。参考 1.3.2 (2),分别采用 C_{18} 、PSA、正己烷、NaCl、NaCl+MgSO₄对样品的乙腈(含 1.0%乙酸)提取液进行净化处理,用电化学方法测定后计算回收率,结果如图 4 所示。 C_{18} 具有良好的疏水性,主要用于吸附脂肪等非极性干扰物^[28],正己烷在样品前处理中通常被用于去掉脂类;但 CPZ 具有较高的脂溶性,利用 C_{18} 和正己烷在去除脂肪过程中容易引起 CPZ 的损失,因此,利用 C_{18} 或正己烷净化提取液时回收

率分别为 62.9%和 70.4%。PSA 分子中的酰胺键与氯丙嗪苯环上的氯发生反应导致 CPZ 被吸附^[29],故利用 PSA 净化时回收率仅有 54.3%,这三者有显著性差异($P < 0.05$),所以不能使用 C_{18} 、PSA、正己烷对 CPZ 的提取液进行净化处理。

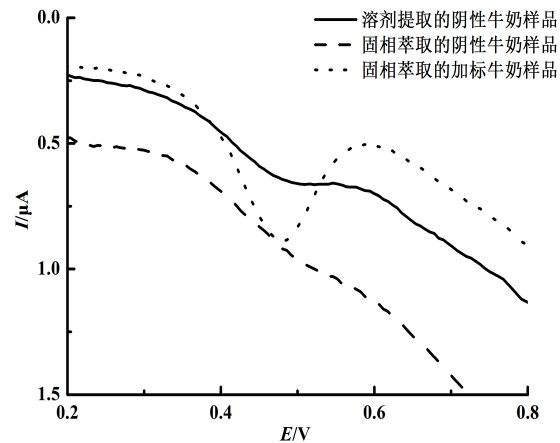


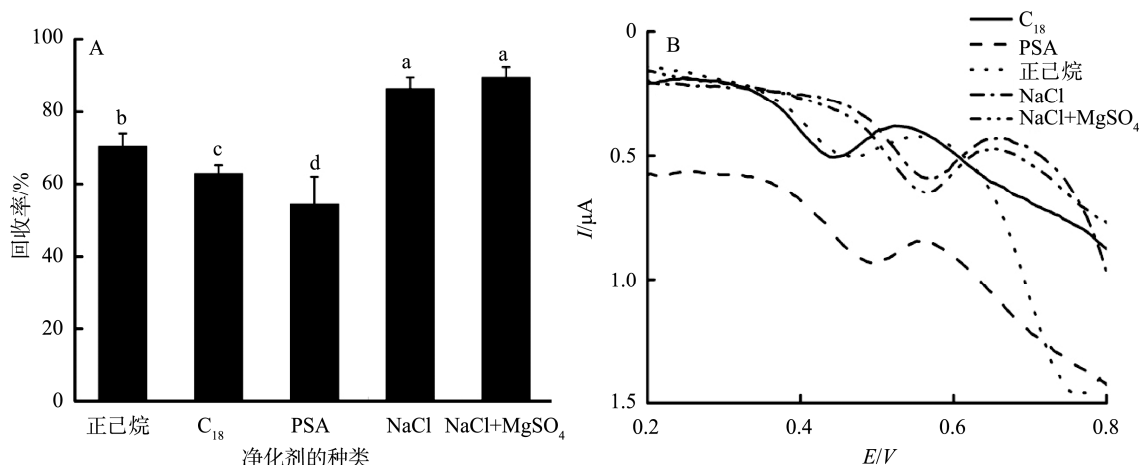
图 3 阴性牛奶样品和加标(5×10^{-7} mol/L CPZ)牛奶样品的电化学响应

Fig.3 Electrochemical response of negative milk and spiked milk with 5×10^{-7} mol/L CPZ

鱼肉样品的高含水量可能会对亲水性 CPZ 的提取率产生影响,因此,需要对样品提取液做除水处理。QuEChERS 法常以 Na₂SO₄ 和 MgSO₄ 作为除水剂。研究发现,2.00~5.00 g Na₂SO₄ 可除掉提取液中 43.0%~50.0%的水;而 1.50 g MgSO₄ 能够除去 97.0%左右的水,但瞬时放热可达 65°C 以上^[30]。由上可见,使用 Na₂SO₄ 除水时盐的用量大、除水效果较差。MgSO₄ 虽然具有良好的除水效果,但其吸水后急剧放热容易引起热不稳定的 CPZ 发生分解,故需要控制 MgSO₄ 的用量。众所周知,NaCl 既能促使蛋白质发生盐析并沉淀,也能降低亲水性待测组分在水中的溶解度。分别用 1.00 g NaCl、1.00 g NaCl+0.10 g MgSO₄ 对罗非鱼肉样品的乙腈(含 1.0%乙酸)提取液进行净化处理,回收率结果如图 4。利用 1.00 g NaCl 净化提取液后,罗非鱼肉中 5×10^{-7} mol/L CPZ 的回收率为 86.3%;当在 1.00 g NaCl 中添加 0.10 g MgSO₄ 作为除水剂时, 5×10^{-7} mol/L CPZ 的回收率达到 89.6%。故 1.3.2 (2)中使用 1.00 g NaCl+0.10 g MgSO₄ 作为净化剂。

2.5 样品的加标回收率(QuEChERS 法)

根据 1.3.2 (2)节的 QuEChERS 法,对鱼肉、鸡蛋和牛奶 3 种样品进行前处理,用 PDA@GO-CuNPs/SPCE 测定后计算回收率,结果见表 1。鱼肉和鸡蛋样品在低、中、高 3 个浓度的加标回收率均在 88.0%以上;与溶剂提取法相似,阴性牛奶样品经 QuEChERS 法前处理后进行电化学测定时,在 CPZ 的氧化峰电位 0.45 V 附近也出现了一个明显的干扰峰,影响 CPZ 氧化峰电流的读取。因此,利用电化学方法测定鱼肉和鸡蛋时可用 QuEChERS 法进行样品前处理;而牛奶样品的前处理方法还需进一步进行优化。

图 4 不同净化剂(A、B)对 5×10^{-7} mol/L CPZ 的回收率的影响($n=3$)Fig.4 Effects of different purifiers (A, B) on the recoveries of 5×10^{-7} mol/L CPZ ($n=3$)

2.6 样品的加标回收率(固相萃取法)

由上可知,采用溶剂提取法和 QuEChERS 法对牛奶样品进行前处理均无法消除基质的干扰。MCX 混合型阳离子交换固相萃取柱具有反相和强阳离子交换双重保留性能,对碱性物质 CPZ 具有良好的选择性和吸附能力^[31-32]。因此,选用 MCX 混合型阳离子交换固相萃取柱,按照 1.3.2 (3)(即固相萃取法)对牛奶样品进行前处理,用 PDA@GO-CuNPs/SPCE 测定后计算回收率,结果见表 1 和图 3。利用电化学法测定时阴性牛奶样品基质的干扰峰消失,加标样品中氯丙嗪的氧化法电流可正常读取,牛奶中低、中、高 3 个浓度的加标回收率在 80.6%~93.0% 之间。

2.7 3 种前处理方法的比较分析

不同类型的动物源食品由于肌肉的纤维组织、脂肪含量、水分含量、蛋白质的种类和含量等存在差别,需分别采用适宜的前处理方法才能获得满意的测定结果。下面从操作时间、溶剂用量和操作步骤等方面对本研究采用的 3 种前处理方法(溶剂提取法、QuEChERS 法和固相萃取法)进行比较分析,结果见表 2。溶剂萃取法试剂用量少、操作简便、提取速度快,用溶剂直接提取猪肉、鸡肉、牛肉、猪肝、虾肉、蜂蜜 6 种样品时均获得了令人满意的回收率,但鱼肉、鸡蛋和牛奶样品的基质对氯丙嗪的电化学测定产生了不同程度的干扰。进一步在鱼肉、鸡蛋和牛奶样品的提取液中加入净化剂(QuEChERS 法)进行处理,该法操作简便、除水效果好,鱼肉和鸡蛋的回收率显著提高,但牛奶样品的基质干扰仍然存在。最后将牛奶样品的提取液过 MCX 混合型阳离子交换固相萃取柱,消除了基质的干扰峰,获得了满意的结果,但固相萃取法耗时长、成

本较高。

3 结论

对猪肉、鸡肉、牛肉、猪肝、虾肉、蜂蜜、鱼肉、鸡蛋和牛奶共 9 种动物源食品中氯丙嗪电化学检测的前处理方法进行了选择和优化;并对本研究采用的 3 种前处理方法(溶剂提取法、QuEChERS 法和固相萃取法)进行了比较分析。主要结论如下:

(1)溶剂提取法的最优操作条件:提取溶剂为乙腈(含 1.0%乙酸),旋蒸温度为 30℃。利用溶剂提取法处理猪肉、鸡肉、牛肉、猪肝、虾肉、蜂蜜 6 种样品,低、中、高 3 个浓度的加标回收率均在 80.0%以上。该法试剂用量少、简便快速,但鱼肉、鸡蛋和牛奶样品的基质会产生不同程度的干扰。

(2) QuEChERS 法的最优操作条件:在样品的乙腈(含 1.0%乙酸)提取液中加入 1.00 g NaCl+0.10 g MgSO₄ 进行净化处理。利用 QuEChERS 法处理鱼肉和鸡蛋样品,3 个浓度的加标回收率达到 88.0%以上。该法操作简便,除水效果好,但牛奶样品的基质干扰仍然存在。

(3)固相萃取法的最优操作条件:选用 MCX 混合型阳离子交换固相萃取柱。牛奶样品经固相萃取法处理后,回收率在 80.0%以上。该法净化效果好,但耗时长、成本较高。

不同类型的动物源食品由于肌肉的纤维组织、脂肪含量、水分含量、蛋白质的种类和含量等存在差别,需采取适宜的前处理方法才能获得满意的测定结果,为不同类型动物源食品中氯丙嗪电化学检测方法的应用提供参考。

表1 不同动物源食品中氯丙嗪加标回收率及相对标准偏差($n=3$)
Table 1 Recovery rates and relative standard deviation of chlorpromazine in different animal-derived foods ($n=3$)

萃取方法	添加浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	猪肉		鸡肉		牛肉		猪肝		虾肉		蜂蜜		鱼肉		鸡蛋		牛奶	
		回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%
溶剂萃取法	0.05	95.1	4.5	91.7	8.8	90.6	2.1	94.9	5.3	108.7	6.5	98.2	8.7	104.2	2.1	107.6	6.8		
	0.50	87.9	4.6	91.0	6.2	85.8	7.4	88.6	3.7	95.1	5.2	89.5	5.6	81.5	8.0	74.6	3.2		
	5.00	81.6	1.6	84.3	5.1	83.2	6.3	87.3	4.6	91.0	3.3	86.2	3.4	74.5	3.8	65.8	6.9		#
QuEChERS法	0.05	67.2	7.4	74.6	7.4	86.2	2.8							95.8	6.1	89.7	5.5		
	0.50	91.4	4.9	73.7	5.5	87.7	3.6							89.6	4.9	93.3	4.5		
	5.00	74.6	3.1	83.7	6.9	77.7	8.7							88.5	5.1	98.2	7.2		
固相萃取法	0.05	77.9	4.0	74.4	6.2	81.2	5.0							77.8	4.9			80.6	3.6
	0.50	97.0	8.7	98.1	3.1	86.0	5.1							98.9	3.2			93.0	6.5
	5.00	90.2	5.1	91.2	4.7	94.2	2.1							85.9	3.4			90.0	3.4

备注: / 未测定; ——# 基质有干扰峰。

表 2 电化学检测动物源食品中 CPZ 的前处理方法的比较
Table 2 Comparison of pretreatment methods for electrochemical detection of CPZ in animal-derived foods

前处理方法	操作时间/h	溶剂用量/mL	处理步骤	特点	适用范围
溶剂提取法	1.0	20	提取	操作简便、快速, 但不适用于复杂基质样品	猪肉、鸡肉、牛肉、猪肝、虾肉和蜂蜜
QuEChERS 法	1.5	20	提取和盐析	操作简便, 除水效果好, 但对牛奶基质净化效果差	可用于溶剂提取法不能处理的鱼肉和鸡蛋
固相萃取法	3.0	45	提取、过柱和洗脱	效果好, 但耗时长、成本较高	可用于溶剂提取法和 QuEChERS 法不能处理的牛奶

参考文献

- [1] 程建桥, 王传胜, 张峰. 超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱法测定猪肉中氯丙嗪及其代谢物[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(10): 2440-2445.
CHENG JQ, WANG CS, ZHANG F. Determination of chlorpromazine and its metabolites in pork by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(10): 2440-2445.
- [2] 张文, 徐梓焱, 鲁佳琦, 等. 不同前处理对动物组织中氯丙嗪残留检测对比[J]. 精细化工, 2019, 36(8): 1638-1643.
ZHANG W, XU ZH, LU JQ, et al. Comparison of chlorpromazine residue detection in animal tissues by different pretreatments [J]. Fine Chem, 2019, 36(8): 1638-1643.
- [3] SOLMI M, MURRU A, PACCHIAROTTI I, et al. Safety, tolerability, and risks associated with first-and second-generation antipsychotics: A state-of-the-art clinical review [J]. Ther Clin Risk Manag, 2017, 13: 757-777.
- [4] ATAMA CI, NNAJI EC, CHRISTIAN EI, et al. Neuromodulatory and oxidative stress evaluations in african catfish *clarias gariepinus* exposed to antipsychotic drug chlorpromazine [J]. Drug Chem Toxicol, 2020, 11(5): 1-7.
- [5] 王鹤佳, 郝利华, 谷红, 等. 《食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量》(GB 31650—2019)的解读[J]. 中国兽药杂志, 2021, 55(10): 64-72.
WANG HJ, HAO LH, GU H, et al. Interpretation of *National food safety standard-maximum residue limits of veterinary drugs in foods* (GB 31650—2019) [J]. Chin J Vet Med, 2021, 55(10): 64-72.
- [6] WANG W, WANG J, WANG M, et al. Rapid quantification of chlorpromazine residues in pork using nanosphere-based time-resolved fluorescence immunoassay analyzer [J]. Int J Anal Chem, 2021, 2021(10): 1-8.
- [7] RAHMAN M, DONG JL, JO A, et al. Onsite/on-field analysis of pesticide and veterinary drug residues by a state-of-art technology: A review [J]. J Sep Sci, 2021, 44(11): 2310-2327.
- [8] TAVAKKOLI N, SOLTANI N, SALAVATI H, et al. New carbon paste electrode modified with graphene/TiO₂/V₂O₅ for electrochemical measurement of chlorpromazine hydrochloride [J]. J Taiwan Inst Chem E, 2018, 83: 50-58.
- [9] SAKTHIVEL R, KUBENDHIRAN S, CHEN SM. Functionalization of a carbon nanofiber with a tetrasulfonatophenyl ruthenium (II) porphine complex for real-time amperometric sensing of chlorpromazine [J]. Microchim Acta, 2019, 186(5): 1-10.
- [10] 邹游, 邵琳智, 陈思敏, 等. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中 3 种镇静剂残留[J]. 色谱, 2017, 35(8): 801-807.
ZOU Y, SHAO LZ, CHEN SM, et al. Determination of three sedative residues in animal-derived food by QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2017, 35(8): 801-807.
- [11] 吴基任, 唐志理, 谭高好, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中氯霉素类药物与氯丙嗪残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(22): 8572-8577.
WU JR, TANG ZL, TAN GH, et al. Determination of chloramphenicol and chlorpromazine residues in animal-derived food by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(22): 8572-8577.
- [12] 张建伟, 孟蕾, 吴志明, 等. 牛奶中兽药残留检测前处理技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(22): 8745-8751.
ZHANG JW, MENG L, WU ZM, et al. Research progress on pretreatment technology for detection of veterinary drug residues in milk [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(22): 8745-8751.
- [13] 张燕, 徐幸, 陈朋云, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定畜禽肉和牛奶中地塞米松和氯丙嗪残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(20): 7946-7951.
ZHANG Y, XU X, CHEN PY, et al. Simultaneous determination of dexamethasone and chlorpromazine residues in livestock and poultry meat and milk by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(20): 7946-7951.
- [14] ZHANG L, WU P, JIN Q, et al. Simultaneous determination of eight tranquilizers in pork by ultra-performance liquid chromatography coupled with electrospray tandem mass spectrometry [J]. Food Anal Methods, 2017, 10(2): 354-362.
- [15] CRUZ JC, FARIA HD, FIGUEIREDO EC, et al. Restricted access carbon nanotube for microextraction by packed sorbent to determine antipsychotics in plasma samples by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Anal Bioanal Chem, 2020, 412(11): 2465-2475.
- [16] ALQARNI SA, HUSSEIN MA, GANASH AA, et al. Composite material-based conducting polymers for electrochemical sensor applications: A mini review [J]. Bio Nano Sci, 2020, 10(1): 1-14.
- [17] KANOUN O, LAZAREVI-PATI T, PATI I, et al. A review of nanocomposite-modified electrochemical sensors for water quality monitoring [J]. Sensors, 2021, 21(12): 4131.
- [18] DJEBBI MA, BOUBAKRI S, BRAIEK M, et al. Chlorpromazine

- electro-oxidation at BDD electrode modified with nZVI nanoparticles impregnated NiAILDH [J]. *Electroanalysis*, 2020, 32(6): 1186–1197.
- [19] PHUC QD, PHUONG TBT, VAN TN, *et al.* The role of copper nanoparticles decorating polydopamine/graphene film as catalyst in the enhancement of uric acid sensing [J]. *J Electroanal Chem*, 2021, 893: 115322.
- [20] 王可, 曹倩玉, 赵灵芝, 等. 高效液相色谱串联质谱法测定禽蛋中异丙嗪和氯丙嗪[J]. *食品工业*, 2020, 41(3): 299–302.
WANG K, CAO QY, ZHAO LZ, *et al.* Determination of promethazine and chlorpromazine in poultry eggs by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Ind*, 2020, 41(3): 299–302.
- [21] 张烁, 周爽, 陈达炜, 等. 畜肉中 10 种镇静剂残留的超高效液相色谱-串联质谱测定方法[J]. *分析测试学报*, 2014, 33(11): 1213–1218.
ZHANG S, ZHOU S, CHEN DW, *et al.* Determination of 10 sedative residues in livestock meat by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2014, 33(11): 1213–1218.
- [22] 任宇翔. 纳米铜/石墨烯基复合材料的构筑及其在电化学传感器中应用 [D]. 天津: 天津理工大学, 2020.
REN YX. Construction of nano-copper/graphene-based composites and their application in electrochemical sensors [D]. Tianjin: Tianjin University of Technology, 2020.
- [23] ARIAS O, SCHNEIDER A, BATISTA-ANDRADE JA, *et al.* Chitosan from shrimp shells: A renewable sorbent applied to the clean-up step of the QuEChERS method in order to determine multi-residues of veterinary drugs in different types of milk [J]. *Food Chem*, 2018, 240: 1243–1253.
- [24] GUO Q, ZHAO S, ZHANG J, *et al.* Determination of fipronil and its metabolites in chicken egg, muscle and cake by a modified QuEChERS method coupled with LC-MS/MS [J]. *Food Addit Contam A*, 2018, 35(8): 1543–1552.
- [25] KIM J, PARK S, PARK H, *et al.* Determination of anthelmintic and antiprotozoal drug residues in fish using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Molecules*, 2021, 26(9): 2575.
- [26] KHALED A, SINGH V, PAWLISZYN J. Comparison of solid-phase microextraction to solvent extraction and QuEChERS for quantitative analysis of veterinary drug residues in chicken and beef matrices [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(46): 12663–12669.
- [27] 王青, 黄铮. 食品中拟除虫菊酯类农药残留检测前处理技术研究进展 [J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(11): 186–191.
WANG Q, HUANG Z. Research progress on pretreatment technology for detection of pyrethroid pesticide residues in food [J]. *Food Res Dev*, 2018, 39(11): 186–191.
- [28] 李芹. QuEChERS 技术在水产品中利福平和 12 种镇静剂残留检测中的应用 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
LI Q. Application of QuEChERS technology in the detection of rifampicin and 12 sedative residues in aquatic products [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020.
- [29] 蒋宇佳. 深共融溶剂催化二酯化和酰胺化反应研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2021.
JIANG YJ. Deep eutectic solvent-catalyzed diesterification and amidation reactions [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2021.
- [30] 薛良辰, 蔡勤仁, 郑璇, 等. QuEChERS-GPC-GC/MS 同时测定鱼肉中 9 种羟基类兽药残留 [J]. *质谱学报*, 2017, 38(6): 655–663.
XUE LC, CAI QR, ZHENG X, *et al.* Simultaneous determination of nine hydroxyl veterinary drug residues in fish meat by QuEChERS-GPC-GC/MS [J]. *J Chin Mass Spectr Soc*, 2017, 38(6): 655–663.
- [31] YAN Y, ZHANG H, AI L, *et al.* Determination of gamithromycin residues in eggs, milk and edible tissue of food-producing animals by solid phase extraction combined with ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2021, 1171: 122637.
- [32] 刘佳铭, 李雯婷, 潘惠勤, 等. 多种样品前处理方法在高分辨质谱法检测农药残留中的应用 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(2): 433–442.
LIU JM, LI WT, PAN HQ, *et al.* Application of various sample pretreatment methods in the detection of pesticide residues by high-resolution mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(2): 433–442.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



邹玉婷, 硕士研究生, 主要研究方向为电分析化学与食品安全检测。

E-mail: Zou202022@163.com



赵晓娟, 教授, 主要研究方向为电分析化学与食品安全检测。

E-mail: xiao0692@163.com