

猪肉中五氯酚残留量的测定

SGLC-LC/MS-017

摘要：参考国标 GB 23200.92-2016，建立了猪肉中五氯酚残留量的测定方法。采用岛津的 WondaSep MAX 固相萃取小柱对猪肉样品进行净化，Shim-pack XR-ODSIII 色谱柱进行分离，串联质谱检测分析。对空白样品 1.0 µg/kg 和 4.0 µg/kg 浓度加标后，按照上述前处理方法处理后上机，平行 5 份样品考察回收率和 RSD，结果显示，1.0 µg/kg 加标浓度的加标回收率为 77.38%-88.61%，RSD 为 5.52%；4.0 µg/kg 加标浓度的加标回收率为 91.35%-96.40%，RSD 为 2.54%，回收率高，重现性好。该方法适用于猪肉中五氯酚残留量的测定。

关键词：五氯酚 猪肉 WondaSep MAX LC-MSMS

1. 实验部分

1.1 实验仪器及耗材

仪器配置：Shimadzu LC-30A 与 LCMS-8050 联用系统；

色谱柱：Shim-pack XR-ODSIII，2.0 mm×75 mm L，1.6 µm (P/N: 228-59922-92)；

固相萃取小柱：WondaSep MAX 60 mg/3ml (P/N: 5010-81941)；

SHIMSEN Arc Disc HPTFE 针式过滤器 (P/N: 380-00341-05)；

LC/MS 认证样品瓶 LabTotal Vial (P/N: 227-34001-01)；

SHIMSEN Pipet 移液枪：SHIMSEN Pipet PMII-10 (P/N: 380-00751-02)；

SHIMSEN Pipet PMII-100 (P/N: 380-00751-04)；

SHIMSEN Pipet PMII-1000 (P/N: 380-00751-06)。

1.2 分析条件

UHPLC 条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III，2.0 mm×75 mm L，1.6 µm (P/N: 228-59922-92)

流 速：0.3 mL/min

进样量：10 µL

柱 温：40 °C

流动相： A: 0.1% 甲酸水+2 mM 甲酸铵水溶液 B: 甲醇

梯度洗脱程序如下：

时间 (Min)	0	4	7	7.1	10
A (%)	60	5	5	60	60
B (%)	40	95	95	40	40

质谱条件

离子化模式：ESI，负离子扫描
 碰撞气：氩气
 雾化气：氮气 3 L/min
 接口温度：300℃
 加热模块温度：400℃

扫描模式：多反应监测(MRM)
 加热气：氮气 10 L/min
 干燥气：氮气 10 L/min
 DL 温度：250℃

五氯酚 MRM 参数见下表

药物名称	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	Q1 Pre Bias (V)	CE	Q3 Pre Bias (V)
五氯酚	262.90*	262.70	20.0	9.0	11.0
	264.70	264.70	19.0	9.0	23.0
	266.90	266.70	20.0	8.0	12.0
	268.90	268.90	20.0	9.0	11.0

*定量离子对

1.3 样品前处理

1.3.1 样品提取

取 2.0 g 均质猪肉，加入 6 mL 5% 三乙胺的乙腈-水溶液（乙腈：水=7：3），振摇 1 min，超声 5 min，8000 r/min 离心 5 min，收集上清液；残渣用 6 mL 5% 三乙胺的乙腈-水溶液（乙腈：水=7：3）按上述步骤再次提取，合并上清，混匀，待净化。流程图见下图 1。

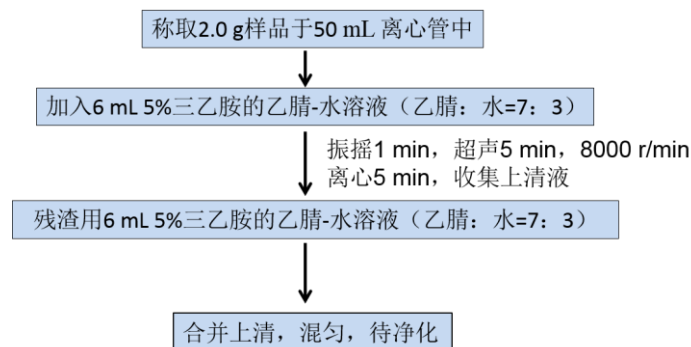


图 1 样品提取流程图

1.3.2 样品净化

WondaSep MAX 60 mg/3 mL

5 mL 甲醇、5 mL 水活化；待净化液上样，弃去流出液；5 mL 5% 氨水溶液、5 mL 甲醇、5 mL 2% 甲酸的甲醇-水溶液（2% 甲酸甲醇：水=1：1）淋洗，弃去流出液，真空泵抽干小柱 5 min；4 mL 4% 甲酸甲醇

溶液洗脱，收集洗脱液，用 4% 甲酸甲醇定容至 4 mL，混匀，用 0.22 μm 有机滤膜过滤，供测定。流程图见下图 2。

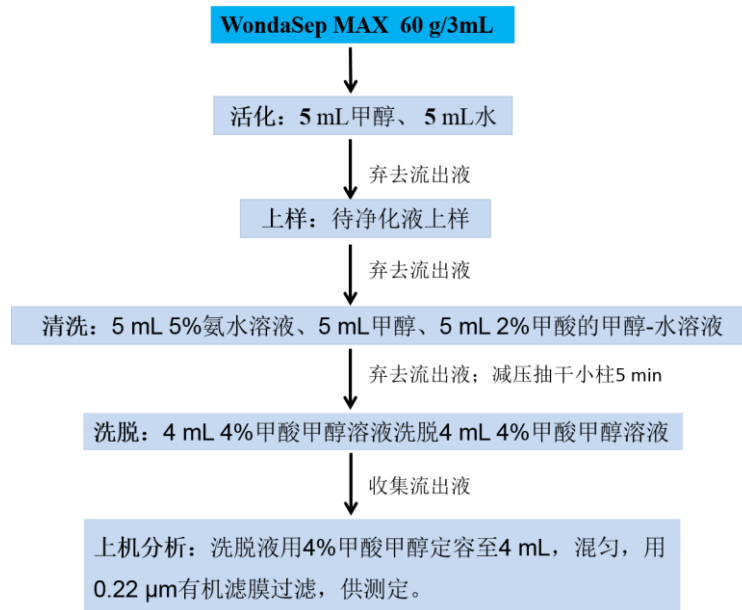


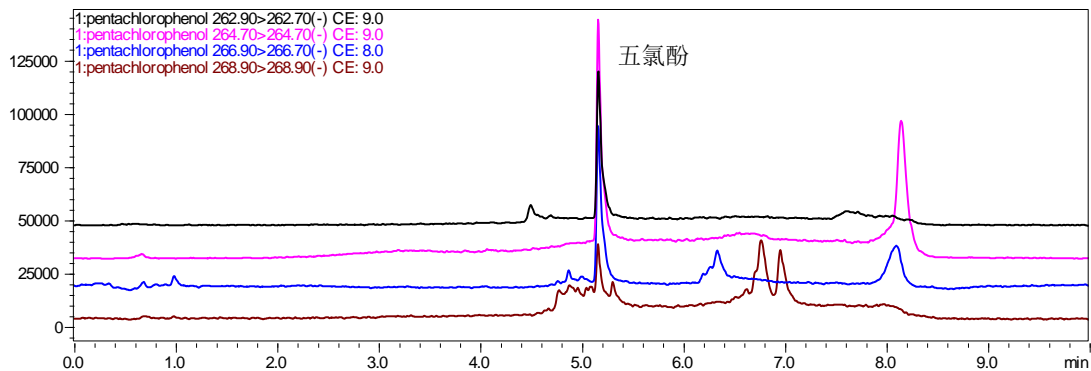
图 2 样品净化流程图

1.4 标准曲线的绘制

取空白样品，按上述 1.3.1 和 1.3.2 处理，使用空白基质配制浓度分别为 0.5 μg/L、1 μg/L、2 μg/L、5 μg/L、10 μg/L 的标准样品。

2. 结果及讨论

2.1 标准品的 MRM 色谱图



五氯酚标准溶液的 MRM 色谱图 (0.5 μg/L)

2.2 线性范围

取空白溶液配制混合工作液，得到 0.5 μg/L、1 μg/L、2 μg/L、5 μg/L、10 μg/L 不同浓度的样品，按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，如图 3 所

示。线性方程、相关系数、线性范围见表 1。

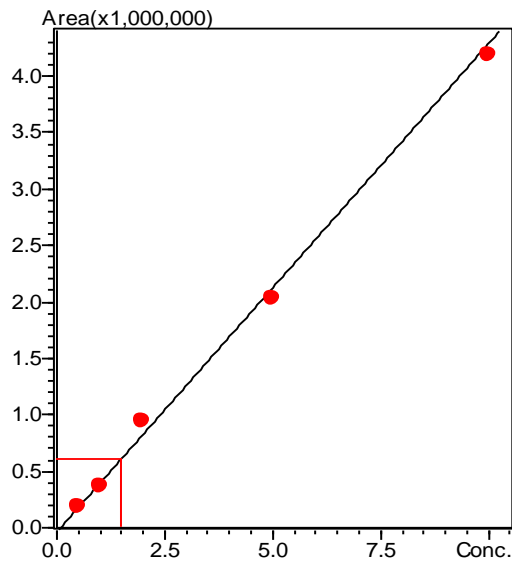


图 3 五氯酚的标准曲线

表 1 校准曲线、线性范围、相关系数

兽药	线性范围 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	标准曲线	相关系数 R	准确度(%)
五氯酚	0.5-10	$Y = 432465X - 36914.6$	0.9950	94.2-112.9

2.3 猪肉中五氯酚的 LC-MS/MS 检测添加回收结果

将猪肉空白样品进行 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 4.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度加标后，按照上述前处理方法处理后上机，平行 5 份样品考察回收率和 RSD，具体结果如下：1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标浓度的加标回收率为 77.38%-88.61%，RSD 为 5.52%；4.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标浓度的加标回收率为 91.35%-96.40%，RSD 为 2.54%。

实验结果	添加水平 (1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	添加水平 (4.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$)
回收率 (%)	79.02	93.10
	88.61	96.40
	77.38	91.05
	84.44	95.35
	84.83	91.35
平均回收率 (%)	82.26	93.45
RSD(%)	5.52	2.54

3. 结论

综上，本方案采用岛津的 WondaSep MAX 固相萃取小柱对鸡肉样品进行净化，Shim-pack XR-ODS III 色谱柱进行分离，采用岛津串联质谱 LCMS-8050 检测分析，建立了猪肉样品中五氯酚的检测方法，该方法回收率高、重现性好，适用于猪肉样品中五氯酚的测定。