

T/GBNB

广东省农业标准化协会团体标准

T/GDNB XXXX—2022

禽肉中氯化石蜡 ($C_{10}-C_{20}$) 含量的测定 超高效液相色谱-高分辨质谱法

Determination of chlorinated paraffin ($C_{10}-C_{20}$) content in soil
ultra high performance liquid chromatography high resolution mass
spectrometry

(征求意见稿)

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

广东省农业标准化协会 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广东省农业标准化协会提出并归口。

本文件起草单位：广东省农业科学院农业质量标准与监测技术研究所。

本文件主要起草人：黄晓梅、王旭、丁晨红、李富荣、许开航、殷秋妙。

禽肉中氯化石蜡(C₁₀-C₂₀)含量的测定 超高效液相色谱-高分辨质谱法

1 范围

本文件规定了禽肉中短链氯化石蜡(C₁₀₋₁₃, SCCPs)、中链氯化石蜡(C₁₄₋₁₇, MCCPs)、长链氯化石蜡(C₁₈₋₂₀, LCCPs)测定的超高效液相色谱-高分辨质谱法。

本文件适用于鸡肉、鸭肉、鹅肉、鸽子肉中的短链氯化石蜡、中链氯化石蜡、长链氯化石蜡的测定。

本文件中超高效液相色谱-高分辨质谱法测定禽肉中SCCPs、MCCPs、LCCPs的检出限均为1 ng/g干重,定量限均为2ng/g干重。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

禽肉样品中的氯化石蜡(CPs)经有机溶剂超声提取后,经酸性硅胶柱净化,再经超高效液相色谱-高分辨质谱对CPs进行检测;后者需采用四甲基氯化铵作为氯增强离子化试剂以提高CPs检测的灵敏度。

4 试剂耗材与仪器设备

4.1 试剂耗材

除非另有规定,均使用分析纯试剂。

4.1.1 正己烷:色谱纯或农残级。

4.1.2 二氯甲烷:色谱纯或农残级。

4.1.3 乙腈:色谱纯或农残级。

4.1.4 甲醇:色谱纯或农残级。

4.1.5 水:符合GB/T 6682中一级水的要求。

4.1.6 正己烷-二氯甲烷混合溶液(50%-50%):量取正己烷(4.1.1)和二氯甲烷(4.1.2)各1L于4L玻璃瓶中,摇匀,备用。

4.1.7 无水硫酸钠:取500g硅藻土于坩埚中,盖上铝箔纸,置于450℃马弗炉中烘烤4h,再置于干燥器中冷却至室温,转移至平底烧瓶,置于干燥器中保存。

4.1.8 聚四氟乙烯离心管:50 mL。

4.1.9 玻璃吸管:长型玻璃巴斯德吸管,1.5 mL。

4.1.10 平底试管:60 mL。

4.1.11 CPs净化柱:含2g酸性硅胶。

4.2 仪器设备

4.2.1 超高效液相色谱仪-电喷雾离子源-高分辨质谱仪(UPLC-ESI-HRMS):配置Orbitrap检测器,或性能相当的检测器。

4.2.2 分析天平:感量 0.001 g。

- 4.2.3 涡旋混合器。
- 4.2.4 超声仪。
- 4.2.5 冷冻离心机：转速不低于 10000r/min。
- 4.2.6 固相萃取装置。

5 样品

取约200 g禽肉样品，冷冻干燥，研磨，过使其全部通过0.45 mm孔径的分析筛，充分混匀，装入磨口瓶中，备用。

6 样品前处理

6.1 提取

分别称取2g禽肉样品（5）、2g无水硫酸钠（4.1.7）于聚四氟乙烯离心管（4.1.8）中，涡旋混匀，加入20 mL正己烷-二氯甲烷混合溶液（4.1.6），剧烈摇晃，超声20min（在10min时剧烈摇晃1次），用玻璃吸管（4.1.9）取上清液于平底试管（4.1.10）中。再用10mL正己烷-二氯甲烷混合溶液（4.1.6）重复超声2次，每次超声10min（在5min时剧烈摇晃1次），合并提取液。

6.2 净化

取CPs专用净化柱（4.1.11），用20 mL正己烷-二氯甲烷混合溶液（4.1.6）活化后，将平底试管（4.1.10）置于净化柱（4.1.11）下方接收净化液，未经浓缩的提取液经玻璃吸管（4.1.9）导入入净化柱（4.1.11）内，然后用10 mL正己烷-二氯甲烷混合溶液（4.1.6）淋洗。净化液氮吹至约1mL,转移至玻璃进样瓶，氮吹至干，用100 μL乙腈（4.1.3）定容，待UPLC-ESI-HRMS（4.2.1）分析SCCPs、MCCPs、LCCPs的含量水平。

7 仪器分析

7.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱：Accucore C18（2.1 × 100 mm, 2.6 μm, Thermo Scientific）；
- 流动相：A相—超纯水，B相—含0.05mM四甲基氯化铵的乙腈，梯度洗脱比例如表1所示；
- 柱温：40℃；
- 进样量：1 μL；
- 流速：0.3 mL/min；

表1 梯度洗脱时流动相组成

时间（min）	A 相	B 相
0	70	30
2	70	30
5	30	70
6	0	100
10	0	100
11	70	30
14	70	30

7.2 质谱参考条件

- 喷雾电压2.5 kV；
- 毛细管温度275℃；
- 辅助气加热器温度300℃；
- 鞘气流速46；
- 辅助气流速5；

检测器为Orbitrap;
 质谱分辨率为70 000 FWHM;
 扫描范围为100~1200 m/z;
 最大注入时间为200 ms;
 MS自动增益控制目标为 1.0×10^6 ;
 监测离子为[M+Cl]⁻离子;
 质量偏差为5 ppm。

8 定量分析

采用反卷积定量法分别对样品中SCCPs、MCCPs、LCCPs的含量进行分析,具体采用lsqnonneg函数来实现SCCPs、MCCPs、LCCPs的定量分析。

定量使用的SCCPs标样为SCCPs 51.5%Cl、55.5%Cl、63.0%Cl, MCCPs标样为42.0%Cl、52.0%Cl、57.0%Cl, LCCPs标样为36.0%Cl、49.0%Cl。标样浓度为1ppm或5ppm。

具体的定量过程以SCCPs为例:

(1) 首先对48个同族体 ($C_{10-13}Cl_{4-15}$) 进行积分,使用公式1计算出各同族体比例 $y_{i,j}$ (公式1):

$$y_{i,j} = \frac{A_{i,j}}{\sum_{i=1}^{48} A_{i,j}} = \frac{A_{i,j}}{A_{i,tot}^{SCCPs}} \quad \text{公式1}$$

其中, i, j分别表示同族体个数和使用的标样个数,此处 $i=1-48$, $j=1-3$; $A_{i,j}$ 表示各同族体峰面积;
 $A_{i,tot}^{SCCPs}$ 表示48种同族体的峰面积之和,且 $\sum_{i=1}^{48} y_{i,j} = 1$ 。

(2) 在matlab右侧工作区右键-新建,命名为B,表示标样。双击名称,将3种标样中各同族体比值复制到变量表格中。

(3) 在matlab右侧工作区右键-新建,命名为Y,表示样品。双击名称,将样品中各同族体比值复制到变量表格中。

(4) 在命令行窗口输入 $x=lsqnonneg(B,Y)$,按回车键,得到X的三个数值,即为样品中三种标样所占比例。

(5) 将(4)所得的三个数值带入excel中进行进一步归一化得到归一化系数。

(6) 样品总含量的计算: (样品总峰面积×标样1的归一化系数/标样1的总峰面积+样品总峰面积×标样2的归一化系数/标样2的总峰面积+样品总峰面积×标样3的归一化系数/标样3的总峰面积) × 标样浓度。

(7) 某单体的含量计算: 单体峰面积所占比例 × 样品总含量。

MCCPs和LCCPs的定量操作方法同SCCPs。

参 考 文 献

- [1] GB/T 1.1 标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则
- [2] Huang, X.; Ding, C.; Su, Q.; Wang, Y.; Cui, Z.; Yin, Q.; Wang, X., A simplified method for determination of short-, medium-, and long-chain chlorinated paraffins using tetramethyl ammonium chloride as mobile phase modifier. *Journal of Chromatography A*, 2021, 1642, 462002.
- [3] Huang, X.; Cui, Z.; Ding, C.; Su, Q.; Lin, X.; Wang, W.; Yin, Q.; Wang, X., Differential Accumulation of Short-, Medium-, and Long-Chain Chlorinated Paraffin in Free-Range Laying Hens from an E-Waste Recycling Area. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69, (35), 10329-10337.
- [4] 涉及的专利：黄晓梅；王旭；王威利；丁晨红；殷秋妙；王英；苏秋权. 一种用于液相色谱-质谱检测的新型氯增强离子化试剂及其应用. 发明专利, 2021, CN112255323B.
-