

吴婉琴, 江丰, 范小龙, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定畜禽肉及其制品中工业松香 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(12): 279–286.
doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020080257

WU Wanqin, JIANG Feng, FAN Xiaolong, et al. Determination of Rosin in Meat and Their Products by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(12): 279–286. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020080257

· 分析检测 ·

高效液相色谱-串联质谱法测定畜禽肉 及其制品中工业松香

吴婉琴^{1,2,*}, 江 丰^{1,2,*}, 范小龙^{1,2}, 朱晓玲^{1,2}, 黄 坤^{1,2}, 韩 智^{1,2},
刘国姣^{1,2}, 张亚珍^{1,2}, 朱松松^{1,2}, 范志勇^{1,2}, 王会霞^{1,2}

(1. 湖北省食品质量安全监督检验研究院, 湖北武汉 430075;
2. 湖北省食品质量安全检测工程技术研究中心, 湖北武汉 430075)

摘要: 为建立高效液相色谱-串联质谱 (HPLC-MS/MS) 检测畜禽肉及其制品中工业松香的分析方法。样品经乙腈溶液超声提取, 经 C₁₈ 固相萃取柱净化, 定容过滤膜后采用 HPLC-MS/MS 对目标物脱氢松香酸进行分析, 内标法定量。采用 Waters ACQUITY HSS T3 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) 分离, 以 0.1% 甲酸 (v/v) 水溶液和乙腈 (30:70) 为流动相进行等度洗脱, 采用电喷雾电离 (ESI) 源、多反应监测 (MRM)、正离子扫描模式进行检测。结果表明, 在 5~400 ng/mL 的范围内目标化合物呈现较好的线性关系 (相关系数 $r>0.99$), 检出限 (LOD) 和定量限 (LOQ) 分别为 80 和 200 μg/kg。目标化合物在 200、400 和 2000 μg/kg 3 个水平下的加标平均回收率为 96.05%~104.17%, 相对标准偏差 (RSD) 为 0.62%~3.68% ($n=6$)。实际样品检测分析结果显示, 脱氢松香酸阳性样品数量占样品总量的 16.67%, 残留含量范围为 390.15~1850.03 μg/kg。该法简便快捷, 准确可靠, 可适用于畜禽肉及其制品中工业松香的快速准确测定。

关键词: 高效液相色谱-串联质谱法, 工业松香, 脱氢松香酸, 畜禽肉及其制品

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)12-0279-08

DOI: [10.13386/j.issn1002-0306.2020080257](https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020080257)

Determination of Rosin in Meat and Their Products by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

WU Wanqin^{1,2,*}, JIANG Feng^{1,2,*}, FAN Xiaolong^{1,2}, ZHU Xiaoling^{1,2}, HUANG Kun^{1,2}, HAN Zhi^{1,2},
LIU Guojiao^{1,2}, ZHANG Yazhen^{1,2}, ZHU Songsong^{1,2}, FAN Zhiyong^{1,2}, WANG Huixia^{1,2}

(1. Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Wuhan 430075, China;

2. Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Quality and Safety Test, Wuhan 430075, China)

Abstract: To establish a method for the determination of rosin in meat and their products by using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS), the sample was extracted by ultrasonic instrument with acetonitrile. The extracts were then purified through solid-phase extraction (SPE) with C₁₈ cartridges. The target of dehydroabietic acid was analyzed by HPLC-MS/MS, and quantified by internal standard method. The separation was performed on a Waters ACQUITY HSS T3 column (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) with isometric elution using 0.1%(v/v)formic acid aqueous solution-acetonitrile (30:70) as the mobile phase. The analysis of dehydroabietic acid was detected under electrospray positive ionization mode and the multiple reaction monitoring(MRM) mode. The dehydroabietic acid demonstrated good linearity in the range of 5~400 ng/mL, with the correlation coefficient values (r) being higher than 0.99. The limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) were found to be 80 and

收稿日期: 2020-08-26

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1602300)。

作者简介: 吴婉琴 (1991-), 女, 硕士, 工程师, 研究方向: 食品安全与检测, E-mail: 429371379@qq.com。

* 通信作者: 江丰 (1985-), 男, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 食品安全与检测, E-mail: 349136833@qq.com。

200 μg/kg. The recoveries at three spiked levels (200, 400 and 2000 μg/kg) in blank matrix were in the range of 96.05%~104.17% with the relative standard deviations between 0.62%~3.68% (n=6). The analysis results of actual samples showed that the number of positive samples of dehydroabietic acid accounted for 16.67% of the total samples, and the residual content was in the range of 390.15~1850.03 μg/kg. The method was convenient, rapid, accurate and efficient. It could be employed for accurate determination of rosin in meat and their products.

Key words: high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; rosin; dehydroabietic acid; meat and their products

工业松香是一种化工原料,其主要成分为树脂酸,包括脱氢松香酸、松香酸和其它与松香酸互为同分异构体的树脂酸等,还含有铅等重金属和有毒、有害物质。经常用于油漆涂料、肥皂、黏合剂、橡胶、造纸、建筑材料等工业。因其加热后黏附性较优,曾常被用来进行畜禽类的二次脱毛用以提高脱毛效率。有研究表明松香具有一定的毒性^[1~3],其所含主要树脂酸松香酸和脱氢松香酸能够造成人体红细胞和多核性白细胞坏死^[4~5],属内分泌干扰物^[6]和致癌物^[7],具有一定的遗传毒性^[8]。使用工业松香对畜禽脱毛,其主要成分进入畜禽因受热而扩张的毛孔内,对畜禽肉制品造成污染从而危害人体健康,因此国家于NY 467-2001《畜禽屠宰卫生检疫规范》^[9]和2018版《中华人民共和国食品安全法》第三十四条均明令禁止在畜禽屠宰中使用松香作为脱毛助工剂^[10]。

在现有研究中,对于工业松香的定性鉴别和定量分析多集中于对其主要树脂酸成分松香酸和脱氢松香酸进行分析,定性鉴别多采用薄层色谱法^[11~12]、红外光谱法^[13~14]等,定量分析多采用气相色谱法^[15~16]、高效液相色谱法^[17~23]、气相色谱-串联质谱法^[24]、高效液相色谱-串联质谱法^[25~30]等。采用气相色谱法和气质联用色谱法分析时,需对样品进行衍生化处理,操作繁琐且重现性较差。采用液相色谱及液质联用色谱对松香酸进行检测时,因对松香酸和与松香酸互为同分异构体的树脂酸分离效果较差,导致该法所分析的松香酸实际为松香酸、海松酸、异海松酸等松香酸同分异构体树脂酸之和^[31],不能准确定性定量。学者选择脱氢松香酸为分析对象时,采用外标法定量,可以避免选择松香酸作为分析对象时定性的不准确性,但由于畜禽肉样品中的脂肪干扰物质高,导致外标法定量过程中基质干扰强,影响定量准确性。

为克服现有研究中选择松香酸作为研究对象的定性不准确性和外标法分析的定量不准确性,本研究选择与其余树脂酸不为同分异构体,且含量较高危害较大的成分-脱氢松香酸作为工业松香特征指标,通过内标法采用同位素稀释-液相色谱-串联质谱法进行测定分析,用以对畜禽表皮中违法使用松香进行识别和确证。该方法较外标定量方法有基质干扰小、定量准确度高、灵敏度高的优点,在日常检测方面存在一定的优势。在实际监测中,本研究组已发现在多批次畜禽表皮中有较高含量的工业松香特征成分脱氢松香酸,工业松香非法用于食品行业这一行为危及

消费者身体健康,因此建立快速、可靠的方法来分析监测工业松香在食品中的残留迫在眉睫。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

畜禽肉及其制品样品(鸡、鸡翅、鸡腿、猪尾、猪耳、鸭、鸭翅、鸭腿) 均购自于居民日常消费的菜场、农贸市场、超市等地,采集的所有样品取表皮组织,采用粉碎机进行粉碎处理,置于密封袋中,于-20 ℃下冷冻保存,待检测;松香 河南鸿义源化工有限公司;松香甘油酯 无锡市双惠化工有限公司;脱氢松香酸(纯度≥98%)、脱氢松香酸-6,6-D₂(纯度≥95%) 日本TRC公司;乙腈、甲醇 色谱纯,德国Merck公司;甲酸 质谱纯,美国Fisher Scientific公司;超纯水(电阻率为18.2 MΩ·cm, 25 ℃) 美国Millipore公司;其他试剂 均为分析纯。

Ultimate 3000 高效液相色谱仪 美国Thermo公司; AB Sciex Qtrap 6500型串联四极杆质谱仪 美国AB Sciex公司; Allegra X-15R型离心机 美国Beckman公司; GM300型粉碎机 德国氟尔德公司; EDAA-2600T型超声仪 上海安谱科学仪器有限公司; 945605 涡旋混合器 美国TALBOYS公司; ME2002E 分析天平 梅特勒-托利多国际贸易上海有限公司; 固相萃取装置 德国Retsch公司; C18固相萃取柱(200 mg/mL) 美国Waters公司; 0.22 μm有机系滤膜 天津津腾公司。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液的配制 标准储备液:准确称取标准品,折算成脱氢松香酸 10.0 mg(精确至 0.0001 g),置于 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,配制成浓度为 1 mg/mL 标准储备液,置于-18 ℃环境中冷冻避光保存。

标准工作溶液:准确移取 1.0 mL 标准储备液,置于 100 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,配制成浓度为 10 μg/mL 的标准中间液,置于 4 ℃ 环境中冷藏避光保存。

同位素内标储备液:准确称取内标标准品,折算成脱氢松香酸-6,6-D₂ 10.0 mg(精确至 0.0001 g),置于 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成浓度为 1 mg/mL 标准储备液,置于-18 ℃ 环境中冷冻避光保存。

同位素内标工作溶液:准确移取 1.0 mL 内标储

备液, 置于 50 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摆匀, 制成浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的内标中间液, 置于 4 ℃ 环境中冷藏避光保存。

根据实验需要采用甲醇逐级稀释成标准系列工作溶液, 现用现配。

1.2.2 样品前处理

1.2.2.1 提取 称取约 1 g(精确至 0.01 g)畜禽肉表皮组织试样, 置于 50 mL 离心管中, 加入 50 μL 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内标溶液和 10 mL 乙腈, 涡旋 1 min 混匀后, 于超声仪超声 30 min, 4000 r/min 离心 5 min, 准确移取上清液 5 mL, 加入 10 mL 水混匀, 待净化。

1.2.2.2 净化 C18 固相萃取柱先采用 3 mL 乙腈、3 mL 水活化, 使柱体处于湿润状态。取待净化液上样于萃取柱, 流速不大于 1 mL/min, 用 3 mL 20% 乙腈水溶液淋洗小柱, 弃去全部流出液, 在 65 kPa 的负压下, 抽干 2 min, 最后用 4 mL 甲醇洗脱, 收集洗脱液, 加入甲醇定容至 5 mL, 涡旋 0.5 min, 经 0.22 μm 有机系滤膜过滤后, 取续滤液(依测定情况稀释相应倍数)供高效液相色谱-串联质谱测定。

1.2.3 色谱条件 色谱柱: Waters ACQUITY HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 流动相: 乙腈+含 0.1% 甲酸水溶液=70:30; 柱温: 35 ℃; 进样量: 3 μL 。

1.2.4 质谱条件 电喷雾离子源(ESI), 正模式扫描; 多反应监测模式(MRM); 电喷雾电压: 5500 V; 离子源温度: 500 ℃; 去簇电压(DP)、碰撞能量(CE)、监测离子对和定量离子对等信息见表 1。

表 1 质谱 MRM 参数

Table 1 Mass spectrometry Parameters

化合物	离子对(m/z)	去簇电压(V)	碰撞能(eV)
脱氢松香酸	301.1/173.1*	80	30
	301.1/133.0	80	20
脱氢松香酸-6,6-D ₂	303.1/175.0*	80	20
	303.1/161.2	80	20

注: *定量离子(Quantitative ion)。

1.3 数据处理

采用 AB Sciex Multi Quant 色谱数据处理软件对样品中所含目标化合物进行定性定量分析, 各平行样间数据分析采用 Microsoft Excel 进行计算, 图采用 OriginPro 8 软件和 GraphPad Prism 5 软件完成。

2 结果与分析

2.1 目标化合物的选择

松香的主要成分为树脂酸, 主要为松香酸、脱氢松香酸、新松香酸、山达海松酸、海松酸、左旋海松酸、异海松酸、长叶海松酸等, 其中, 脱氢松香酸分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2$, 其余树脂酸均互为同分异构体, 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$ 。

前期试验采用气相色谱-串联质谱法对以上树脂

酸进行了分析方法的建立, 采用气相色谱-串联质谱法进行测定, 需要对样品进行衍生化处理, 操作较繁琐, 且畜禽表皮组织脂肪含量较高, 衍生过程中基质中所含脂肪酸也一并被衍生化, 杂质干扰较大, 对目标化合物测定影响较大。

考虑选择干扰较少, 准确度高、灵敏度高的高效液相色谱-串联质谱法分析各树脂酸, 结果显示, 松香酸与左旋海松酸、新松香酸、山达海松酸、异海松酸、海松酸、长叶海松酸在高效液相色谱-串联质谱仪上, 色谱峰出峰保留时间一致, 定性离子与定量离子一致, 难以分离, 各化合物于液相色谱-串联质谱仪色谱图见图 1, 若使用其中某一树脂酸对样品中树脂酸进行定量分析, 实则该方法所分析的树脂酸可能为松香酸、山达海松酸、异海松酸等松香酸同分异构体树脂酸之和, 故最终选择与其余树脂酸不为同分异构体, 且含量较高危害较大的成分(脱氢松香酸)作为特征指标, 本方法选用结构与基本性质和脱氢松香酸无异, 出峰时间接近的脱氢松香酸-6,6-D₂ 作为内标物, 采用内标法进行定量, 用以对畜禽表皮中违法使用松香进行识别和确证, 此法克服了气相色谱-串联质谱法和外标法基质干扰强、定量准确性不足的缺点。

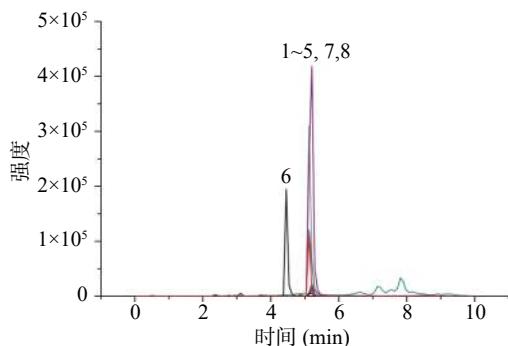


图 1 8 种树脂酸高效液相色谱-串联质谱总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of the eight resin acid derivatives using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

注: 1.海松酸; 2.山达海松酸; 3.异海松酸; 4.长叶松酸; 5.左旋海松酸; 6.脱氢松香酸; 7.松香酸; 8.新松香酸。

2.2 目标物特异性的考察

对不同畜禽类表皮组织使用工业松香和食品松香甘油酯进行脱毛, 形成非法使用松香模拟阳性样品及合法使用松香甘油酯模拟阴性样品。分别对工业松香原料、工业松香模拟脱毛阳性样品、松香甘油酯原料、松香甘油酯模拟脱毛阴性样品进行检测, 结果表明, 工业松香原料、工业松香模拟脱毛阳性样品均检测出脱氢松香酸, 松香甘油酯原料、松香甘油酯模拟脱毛阴性样品并未检测出脱氢松香酸。具体结果见图 2。

2.3 提取溶剂的选择

比较考察了甲醇、乙腈、乙醇 3 种提取溶剂对畜禽表皮样品中脱氢松香酸的提取效率。本研究在空

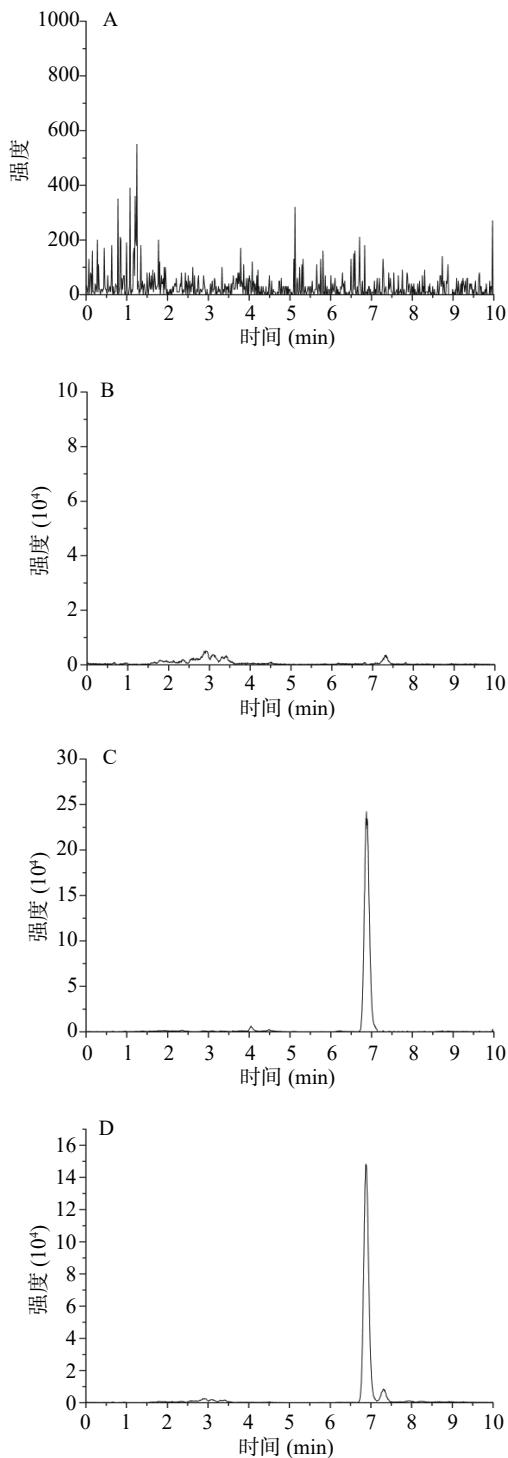


图2 不同样品中目标物提取离子色谱图

Fig.2 Extracted ion chromatograms of the target substance in the sample

注: A. 松香甘油酯原料; B. 松香甘油酯模拟脱毛阴性样品;
C. 工业松香原料; D. 工业松香模拟脱毛阳性样品。

白畜禽表皮组织样品中添加了 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 目标物, 分别以甲醇、乙腈、乙醇进行提取。以甲醇和乙醇提取时, 杂质干扰峰影响大, 且脱氢松香酸回收率较低, 结果如图 3 所示, 故乙腈更适合作为提取液。

2.4 净化条件的优化

动物表皮组织所含成分种类多, 脂肪含量高, 杂质干扰大, 对检测仪器产生一定的污染, 因此需进一

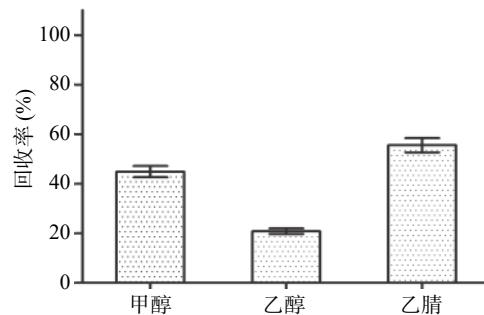


图3 不同提取溶剂对脱氢松香酸提取效率的影响

Fig.3 Effect of different extraction solvents on the extraction efficiencies of dehydroabietic acid

步净化处理。根据目标物的结构性质, 对比了主流固相萃取柱 Waters、Agela、Thermo 生产厂家的 MAX 阴离子交换柱、PEP 柱、PEP-2 柱、HLB 柱和 C18 柱等固相萃取柱。采用标准溶液直接过固相萃取柱净化的方式考察其对脱氢松香酸的影响。结果如图 4 所示, 脱氢松香酸属于弱极性化合物, C₁₈ 固相萃取柱对其有较好的吸附力, 回收率较好, 最终选择 C₁₈ 柱净化。

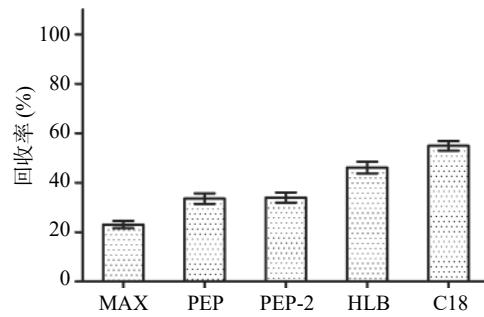


图4 不同固相萃取柱对脱氢松香酸回收率的影响

Fig.4 Effect of different solid phase extraction columns on the recoveries of dehydroabietic acid

样品用乙腈提取后, 分别考察上样液中乙腈溶液与水溶液的比例对回收率的影响, 对纯乙腈、乙腈:水 (v/v=1:0.5)、乙腈:水 (v/v=1:1)、乙腈:水 (v/v=1:2)、乙腈:水 (v/v=1:3)、乙腈:水 (v/v=1:4)、乙腈:水 (v/v=1:5)、纯水上样液分别进行试验, 各上样液中脱氢松香酸浓度为 40 ng/mL, 并将上样分析液直接过柱流下液体接收并上机测定, 实验表明, 当上样分析液中乙腈比例过高时, 使得上样液极性较弱, 目标物不易于被 C₁₈ 柱吸附保留, 因被直接流出而损失, 随着水比例的增加, 目标物直接流出柱体含量趋于稳定, 具体结果见图 5 所示。由于脱氢松香酸脂溶性较好水溶性差, 且 C₁₈ 固相萃取柱保留目标物使用极性较弱溶液洗脱容易, 发现将提取液氮吹干后采用纯水复溶作为上样液会影响脱氢松香酸复溶从而降低回收率, 且水比例高时上样液体积较大影响上样效率, 结合两组数据分析, 故最后确定上样液比例为乙腈:水 (1:2), 在上样液体积适中的情况下保证了合适的回收率。具体结果如图 6。

样品溶液于 C₁₈ 固相萃取柱上样后, 选择

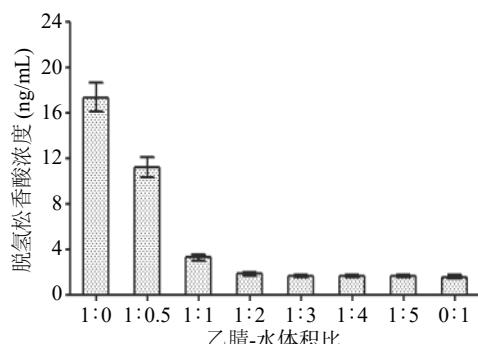


图 5 不同比例上样液对脱氢松香酸保留的影响

Fig.5 Effect of different proportion of sample solution on retention of dehydroabietic acid

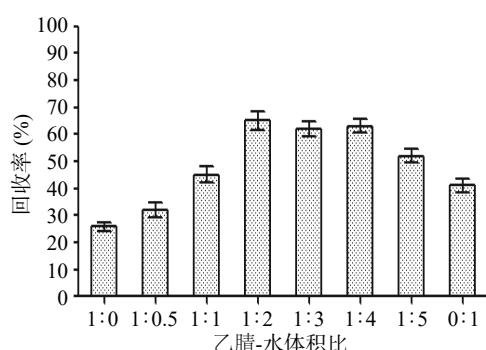


图 6 不同比例上样液对脱氢松香酸回收率的影响

Fig.6 Effect of different proportion of sample solution on the recoveries of dehydroabietic acid

10%、20%、30%、40%、50%、60% 乙腈-水溶液作为淋洗液对淋洗效果进行考察, 实验表明, 乙腈体积分数较高时, 杂质干扰影响小但目标物回收率较低, 乙腈体积分数较低时, 杂质干扰较多但目标物回收率较好, 综合考虑, 20% 乙腈-水溶液溶液可以保证脱氢松香酸回收率较优且可较好地去除部分杂质, 因而选择 20% 乙腈-水溶液作为淋洗液。结果见图 7。

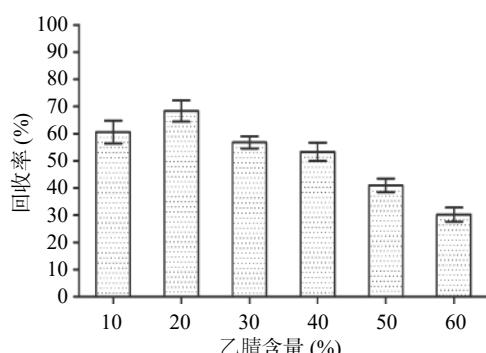


图 7 不同比例淋洗液对脱氢松香酸回收率的影响

Fig.7 Effect of different proportion of eluent on the recoveries of dehydroabietic acid

淋洗液确定后, 再进行洗脱液考察, 因为目标化合物脱氢松香酸属极性偏弱化合物, 选择甲醇、乙酸乙酯、正己烷作为洗脱液。结果见图 8。甲醇作为洗脱液的回收率较另外两种溶剂高, 故选择甲醇作为洗脱液。

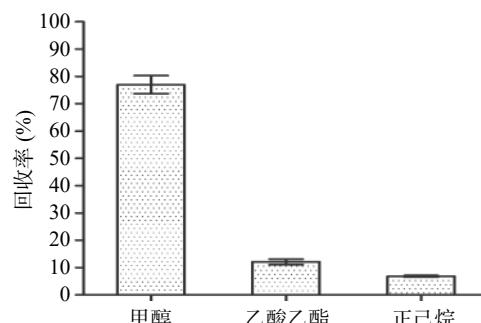


图 8 不同洗脱溶剂对脱氢松香酸回收率的影响

Fig.8 Effect of different eluent solvents on the recoveries of dehydroabietic acid

2.5 色谱条件的优化

前期考察结果显示, 正模式下, 加入一定量甲酸于流动相中可增加离子化效率, 使峰形得到改善, 但加入量偏高时则会减弱离子化效率。本实验选择 0.1% 甲酸溶液为流动相。有机相考察甲醇、乙腈, 结果表明选用乙腈时分析物峰形的对称性更好。因此选择乙腈-0.1% 甲酸溶液为流动相, 目标化合物峰形好且灵敏度高。

确定流动相体系后, 进一步考察了流动相不同比例对目标物的分离效果影响, 通过比较试验发现, 采用梯度洗脱时, 由于脱氢松香酸极性较弱, 出峰时间滞后且峰形不佳, 样品中脱氢松香酸色谱峰与杂质干扰峰难以分离。故选择等度洗脱进行分析, 并对流动相的不同比例: 乙腈-0.1% 甲酸溶液(80:20、75:25、70:30、65:35、60:40)进行考察, 由图 9 可知, 流动相有机相比例较高时, 目标物出峰时间较早且可能包含有杂质峰影响定量, 流动相有机相比例较低时, 出峰时间较晚所需分析时间较长, 当流动相为乙腈-0.1% 甲酸溶液(70:30)时, 峰形尖锐对称性佳, 分析时间适中且目标物与杂质分离度较优, 故选择乙腈-0.1% 甲酸溶液(70:30)为流动相。

2.6 方法验证

2.6.1 标准曲线、线性范围与检出限、定量限 将标准系列工作溶液采用 1.2.3 节色谱条件以及 1.2.4 节质谱条件进行分析。采用内标法定量, 以脱氢松香酸定量离子峰面积与内标物脱氢松香酸-*6,6-D*₂ 定量离子峰面积比为纵坐标 *y*, 以脱氢松香酸质量浓度 (ng/mL) 与内标物脱氢松香酸-*6,6-D*₂ 质量浓度 (ng/mL) 比为横坐标 *x*, 绘制标准曲线。得到线性回归方程为 $y=0.02307x+0.09506$, 相关系数 *r* 为 0.99977。脱氢松香酸目标物在 5~400 ng/mL 范围内线性关系良好。采用空白样品加标试验确定检出限和定量限, 根据检出限大于等于 3 倍信噪比计算, 得出脱氢松香酸的方法检出限为 80 μg/kg, 根据检出限大于等于 10 倍信噪比计算, 得出脱氢松香酸的方法定量限为 200 μg/kg。

2.6.2 回收率和精密度 在确定的试验条件下, 分别

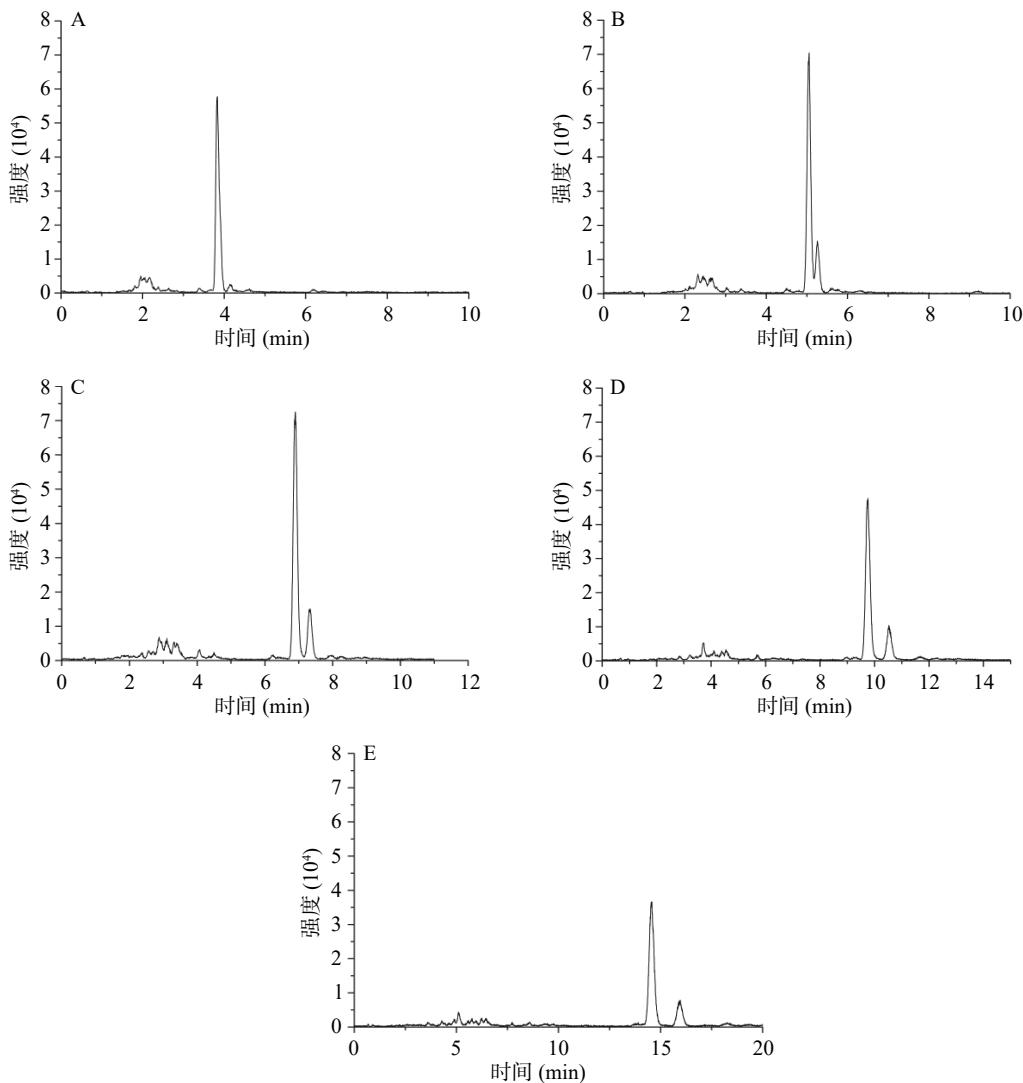


图9 不同流动相比例对脱氢松香酸的色谱分离图

Fig.9 Chromatograms of dehydroabietic acid on mobile phase of different ratios

注: A. 乙腈-0.1% 甲酸溶液(80:20); B. 乙腈-0.1% 甲酸溶液(75:25); C. 乙腈-0.1% 甲酸溶液(70:30); D. 乙腈-0.1% 甲酸溶液(65:35); E. 乙腈-0.1% 甲酸溶液(60:40)

取鸡表皮组织和猪表皮组织2种基质,基质中均不含本方法所检测的目标物,向空白基质中添加适量的目标物标准储备液,使其折合成表皮组织中脱氢松香酸含量的水平为200、400、2000 μg/kg,每个添加水平重复6次,测定加标回收率和精密度,结果见表2,脱氢松香酸在鸡表皮组织和猪表皮组织基质中3个加标水平的平均回收率范围为96.05%~104.17%,相对标准偏差(RSD)范围为0.62%~3.68%,表明此方法有良好的准确性和重复性,符合畜禽表皮组织中脱氢松香酸测定的分析要求。

2.7 实际样品分析

使用前述方法,检测120批次畜禽肉及其制品表皮组织中的脱氢松香酸含量,所检样品均来自于当地居民日常消费的菜场、农贸市场、超市等地,产品主要包括鸡、鸡翅、鸡腿、猪尾、猪耳、鸭、鸭翅、鸭腿、卤鸡翅、卤鸭翅、卤鸡腿、卤鸭腿、卤猪耳,其中20批次样品中检出了脱氢松香酸残留,残留量检出的产品主要集中在鸡、鸡翅和鸭,脱氢松香酸阳性样品数量占样本总量的16.67%,残留含量范围为390.15~1850.03 μg/kg,不符合国家的相关规定(国家食药监

表2 脱氢松香酸的加标回收率和相对标准偏差(n=6)

Table 2 Recovery and repeatability (expressed as %RSD) results for dehydroabietic acid (n=6)

化合物	添加量(μg/kg)	鸡表皮组织		猪表皮组织	
		平均回收率(%)	相对标准偏差(%)	平均回收率(%)	相对标准偏差(%)
脱氢松香酸	200	96.05	0.62	97.17	2.48
	400	101.72	1.67	99.85	2.57
	2000	103.05	1.01	104.17	3.68

总局办公厅关于工业松香脱毛有关问题的复函(食药监办食监二函[2016]476号):按照《食品安全国家标准食品添加剂标准(GB2760-2014)》和《畜禽屠宰卫生检疫规范(NY467-2001)》规定,松香甘油酯作为脱毛剂,可用于畜禽脱毛处理工艺,工业松香不可用于畜禽屠宰拔毛操作),阳性样品检测结果见表3。其中阳性样品-16中目标物提取离子色谱图见图10。

表3 阳性样品分析结果(n=3)

Table 3 Dehydroabietic acid content in positive samples (n=3)

样品	脱氢松香酸含量(μg/kg)
阳性样品-1	1850.03±31.02
阳性样品-2	571.33±22.95
阳性样品-3	390.15±12.00
阳性样品-4	1795.68±61.55
阳性样品-5	893.12±20.04
阳性样品-6	1032.55±46.88
阳性样品-7	1533.26±56.11
阳性样品-8	1671.52±26.91
阳性样品-9	1717.22±33.17
阳性样品-10	983.54±19.52
阳性样品-11	751.25±29.68
阳性样品-12	430.51±8.79
阳性样品-13	643.58±13.35
阳性样品-14	1325.14±35.56
阳性样品-15	1600.53±56.75
阳性样品-16	1405.22±35.48
阳性样品-17	715.26±35.10
阳性样品-18	928.33±23.46
阳性样品-19	1015.86±47.08
阳性样品-20	581.56±19.56

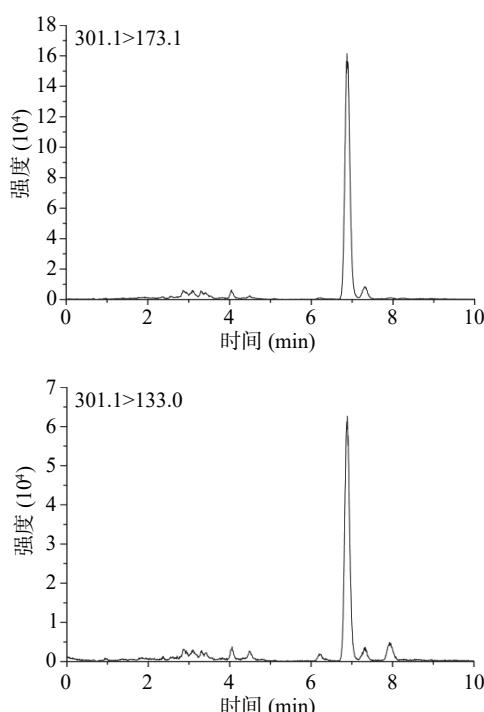


图10 阳性样品-16中目标物提取离子色谱图
Fig.10 Extracted ion chromatograms for dehydroabietic acid in positive sample-16

3 结论

本实验针对畜禽样品中的脱氢松香酸提取技术和测定方法进行了研究,确定了最佳的分析测定条件,该法易操作、重现性好、灵敏度高、准确性好,能较好实现对实际样品的测定。通过对畜禽样品中脱氢松香酸含量的测定,发现部分样品中存在脱氢松香酸残留,且残留量较高,含量范围为390.15~1850.03 μg/kg,不符合国家的相关规定,为保障消费者安全,有必要加大对畜禽表皮组织中非法使用工业松香脱毛的监测力度。本方法进一步规范了脱毛剂的使用,保护畜禽脱毛产业的健康发展,确保畜禽类及其制品的质量安全。

参考文献

- [1] Kamaya Y, Tokita N, Suzuki K. Effects of dehydroabietic acid and abietic acid on survival, reproduction and growth of the crustacean *Daphnia magna*[J]. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2005, 61(1): 83-88.
- [2] Maria V L, Correia A C, Santos M A. *Anguilla anguilla* L. genotoxic and liver biotransformation responses to abietic acid exposure[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2004, 58(2): 202-210.
- [3] Pandelides Z, Guchardi J, Holdway D. Dehydroabietic acid (DHAA) alters metabolic enzyme activity and the effects of 17β-estradiol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2014, 101(mar.): 168-176.
- [4] Sunzel B, Soderberg T A, Reuterving C O, et al. Neutralizing effect of zinc oxide on dehydroabietic acid induced toxicity on human polymorphonuclear leukocytes[J]. *Biological Trace Element Research*, 1991, 31(1): 257-266.
- [5] Toivola D M, Isomaa B. Effects of dehydroabietic acid on erythrocyte membrane[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 1991, 79(1): 65-78.
- [6] Singh A K, Chandra R. Pollutants released from the pulp paper industry: Aquatic toxicity and their health hazards[J]. *Aquatic Toxicology*, 2019, 211: 202-216.
- [7] Botalova, O, Schwarzbauer, J. Geochemical characterization of organic pollutants in effluents discharged from various industrial sources to riverine systems[J]. *Water Air Soil Pollut*, 2011, 221: 77-98.
- [8] Severin I, Souton E, Dahbi L, et al. Use of bioassays to assess hazard of food contact material extracts: State of the art[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2017, 105: 429-447.
- [9] 中华人民共和国农业部. NY 467-2001 畜禽屠宰卫生检疫规范 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [10] 全国人民代表大会常务委员会. 中华人民共和国食品安全法 [S]. 北京: 中国法制出版社, 2018.
- [11] 张苏珍, 卞欢, 刘芳, 等. 肉鸭经松香脱毛后表皮松香残留的薄层色谱检测研究[J]. *江西农业学报*, 2013, 25(5): 117-119.
- [12] 李安琪, 王艳宏, 笔雪艳. 常用松香酸检查方法的对比分析及在三种中成药中的应用[J]. *中医药学报*, 2017, 45(1): 47-50.
- [13] 魏福祥, 刘红梅, 赵小伟, 等. 红外光谱法测定松香酸、液体石蜡混合物[J]. *河北科技大学学报*, 1996, 17(3): 34-37.

- [14] 管鸿才. 一种真假食用松香的鉴别方法[J]. 质量与检测, 2018(7): 227, 256.
- [15] 宋湛谦. 马尾松松香中混杂湿地松松香的检测方法[J]. 林产化学与工业, 2005, 25(增刊1): 137-138.
- [16] Peng G, Roberts J C. Solubility and toxicity of resin acids[J]. *Water Research*, 2000, 34(10): 2779-2785.
- [17] 刘伟华. 松香药材中松香酸的含量测定方法[J]. 医药论坛杂志, 2012, 32(24): 46-47.
- [18] 张苏珍, 耿志明, 王道营, 等. 固相萃取-高效液相色谱法检测肉鸭表皮组织中的松香酸[J]. *食品科学*, 2014, 35(4): 82-85.
- [19] 杜盼盼, 耿志明, 任双, 等. 高效液相色谱法检测猪蹄(耳)表皮中的脱氢松香酸[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(11): 309-312.
- [20] 张苏珍, 耿志明, 王道营, 等. 肉鸭表皮组织中脱氢枞酸残留的SPE-HPLC检测方法[J]. *食品科学*, 2014, 35(16): 101-104.
- [21] Kersten P J, Kopper B J, Raffa K F, et al. Rapid analysis of abietanes in conifers[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2006, 32(12): 2679-2685.
- [22] Nilsson U, Berglund N, Lindahl F, et al. SPE and HPLC/UV of resin acids in colophonium containing products[J]. *Journal of Separation Science*, 2008, 31(15): 2784-2790.
- [23] Zhu Y Z, Zhang S Z, Geng Z M, et al. Analysis of abietic acid and dehydroabietic acid residues in raw ducks and cooked ducks[J]. *Poultry Science*, 2014, 93(10): 2663-2667.
- [24] Ozaki A, Yamaguchi Y, Fujita T, et al. Safety assessment of paper and board foodpackaging: Chemical analysis and genotoxicity of possible contaminants in packaging[J]. *Food Additives and Contaminants*, 2005, 22(10): 1053-1060.
- [25] Mitani K, Fujioka M, Uchida A, et al. Analysis of abietic acid and dehydroabietic acid in food samples by in-tube solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1146(1): 61.
- [26] 汤祝华, 余欢欢, 刘霜霜, 等. UPLC-MS/MS法检测鸭表皮中松香酸残留量[J]. 肉类工业, 2017, 35(16): 101-104.
- [27] 张好琳, 曹玲, 谭力, 等. 液质联用技术用于沉香中非法掺入含松香酸类物质的检测[J]. *中成药*, 2011, 33(5): 844-847.
- [28] 张艳萍, 黄婉锋, 郭智聪, 等. UPLC-MS/MS法同时测定含沉香中成药中沉香四醇和非法添加物质松香酸的含量[J]. 轻工科技, 2016(11): 29-32.
- [29] 崔相勇, 穆姣姣, 周长民, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定花椒粉中的松香酸[J]. *中国调味品*, 2017, 42(3): 127-129.
- [30] Liu J J, Liu M G, Li X, et al. Development of ultrasonic-assisted closed in-syringe extraction and derivatization for the determination of labile abietic acid and dehydroabietic acid in cosmetics[J]. *Journal of Chromatography A*, 2014, 1371: 20-29.
- [31] McMardin D W, Peru K M, Headley J V, et al. Evaluation of liquid chromatography-negative ion electrospray mass spectrometry for the determination of selected resin acids in river water[J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 952(1): 289-293.