

- [17] 赵舰,程莉,唐晓琴,等.气相色谱-离子阱质谱(MS~n)同位素内标衍生法测定鸡肉和猪肉中的五氯酚[J].中国卫生检验杂志,2016,26(19):2773-2775.
- [18] 何雄,周静峰,汤海青.固相萃取-气相色谱-串联质谱法测定淡水鱼鱼肉中的五氯酚[J].食品安全质量检测学报,2018,9(9):2096-2100.
- [19] 王虹,李跃红.HPLC法测定柞木中的五氯酚钠[J].中国食品卫生杂志,1997,9(2):14-15.
- [20] 黄惠玲,何志贵,李渺,等.木材及木制品中残留五氯酚的气相色谱测定法[J].分析化学,2007,35(9):1369-1372.
- [21] 黄姣,马明,肖玲艳,等.加速溶剂萃取-气相色谱法测定木材中五氯酚残留量[J].理化检验-化学分册,2013,49(2):174-176.
- [22] 王连珠,方恩华,王彩娟,等.QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源食品中痕量五氯酚及其钠盐[J].色谱,2018,36(6):518-522.

实验技术与方法

液液萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定砧板中五氯酚钠

李启,徐峻卿,纪律

(丽水市疾病预防控制中心,浙江 丽水 323000)

摘要:目的 建立一种适用于测定砧板中五氯酚钠的液液萃取-超高效液相色谱-串联质谱方法。方法 样品采用50%甲醇水溶液(含1%氨水)萃取,超声提取10 min后,用正己烷-二氯甲烷(8:2, V/V)萃取,氮吹近干,以0.01%氨水和甲醇溶液复溶后进行超高效液相分离,在电喷雾离子源负离子(ESI^-)多反应监测(MRM)模式下进行质谱检测。结果 本方法的检出限为0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$,在1、4和20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 三个加标水平下的回收率为101.4%~108.9%,相对标准偏差为3.5%~7.8% ($n=7$)。应用该方法检测市售60份砧板,其中1份样品检出五氯酚钠残留,含量为1.16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。结论 本方法简便、高效,适用于砧板中痕量五氯酚钠的快速测定,结果准确可靠。

关键词:五氯酚钠;液液萃取;超高效液相色谱-串联质谱;砧板

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2019)03-0236-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2019.03.009

Determination of sodium pentachlorophenolate in chopping board by liquid liquid extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LI Qi, XU Junqing, JI Lyu

(Lishui Center for Disease Prevention and Control, Zhejiang Lishui 323000, China)

Abstract: Objective A new liquid liquid extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method was developed for the determination of sodium pentachlorophenolate in chopping board. **Methods** Samples were ultrasonic extracted with 50% methanol/aqueous solution (1% ammonia) for 10 min, followed by extraction with *n*-hexane-dichloromethane (8:2, V/V). Then the analyte was evaporated to dryness and dissolved with 0.01% ammonia-methanol. After being ultra performance separated on a column using mobile phase, the analytes were detected under electrospray source negative ion (ESI^-) multi reaction monitoring (MRM) mode by tandem mass spectrometry. **Results** The limit of detection for sodium pentachlorophenolate was 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The result showed that the average recovery at spiking level of 1, 4, 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ranged from 101.4% to 108.9% and the relative standard deviation was 3.5%-7.8% ($n=7$). The method had been successfully applied to the measurement of sodium pentachlorophenolate in 60 chopping board samples shopped from Lishui markets, and one of the samples had sodium pentachlorophenolate with 1.16 $\mu\text{g}/\text{kg}$. **Conclusion** The liquid liquid extraction method is easy, economic and efficient. The ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method is rapid and accurate to confirmatively detect sodium pentachlorophenolate in chopping board.

Key words: Sodium pentachlorophenolate; liquid liquid extraction; ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; chopping board

五氯酚钠作为防腐剂和杀菌剂,具有强大的生物毒性和蓄积作用^[1-2]。人体经常接触会造成中枢神经系统和肝、肾损害,严重可致死,国际上严格限制其使用^[3]。我国农业部公告第 235 号^[4]规定所有动物源食品禁用五氯酚钠,不得检出。砧板是不可避免的厨房用具,其残留的五氯酚钠通过与砧板接触的食物进入人体,可能对人体产生健康危害。目前我国对砧板中五氯酚钠残留无强制性标准,部分砧板生产企业为达到防腐、防霉、固色等目的,可能违禁使用五氯酚钠溶液浸泡砧板,导致砧板中五氯酚钠残留,因此,有必要建立快速、高效检测砧板中五氯酚钠的方法。

目前五氯酚钠的测定方法主要有气相色谱法^[5-6]、液相色谱法^[7-8]、气相色谱-串联质谱法^[9-11]和液相色谱-串联质谱法^[12-13]。其中气相色谱法和气相色谱-串联质谱法需进行衍生化处理,操作繁琐,液相色谱法灵敏度不高。液相色谱-串联质谱法具有无需衍生化处理、灵敏度高、选择性强等优点,近年来被用于痕量五氯酚钠的测定。目前前处理方法多为固相萃取法^[14-15],处理时间长,过程复杂繁琐。本试验建立了一种快速高效溶剂液液萃取的样品前处理方法,结合高灵敏度超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)法检测砧板中的五氯酚钠,操作简单、效率高、灵敏度高,同时对丽水市砧板生产企业出产的砧板中的五氯酚钠进行检测分析,了解使用现状。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 样品来源

从丽水市超市、商场等地随机购买砧板,共 60 份。

1.1.2 主要仪器与试剂

Waters Xevo TQ-S 液相色谱质谱仪(配有电喷雾电子源)、ACQUITY UPLC BEH C₁₈柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)均购自美国 Waters, D11911 超纯水器, AEG-120 电子天平, 高速离心机。

五氯酚钠标准品(100 μg/ml, 农业部环境保护科研检测所, SB05-264-2012), 甲醇、正己烷和二氯甲烷均为 HPLC 级, 甲酸、氨水均为优级纯。

1.2 方 法

1.2.1 标准溶液的配制

取五氯酚钠标准品, 用甲醇配制成 1 μg/ml 的标准储备液, 保存于 -20 ℃。吸取一定量标准储备液, 以空白基质提取液配制浓度为 0、10、20、50、100 和 200 μg/L 的五氯酚钠标准应用液。

1.2.2 样品前处理

取砧板, 磨碎后混合均匀^[16], 称取 5 g 样品置于离心管中, 加入 10 ml 水、10 ml 甲醇和 100 μl 氨水, 涡旋混匀 1 min, 超声萃取 10 min, 振荡 10 min。10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液加入 10 μl 甲酸和 5 ml 正己烷-二氯甲烷溶液(8:2, V/V), 充分振荡, 10 000 r/min 离心 10 min 后取上层, 室温氮吹近干, 加 1 ml 初始流动相溶解残渣, 用 0.22 μm 滤膜过滤, 待测, 整个过程避光。

1.2.3 检测方法

以保留时间定性, 以峰面积定量, 由标准曲线查得上机样品溶液中的浓度, 根据取样量计算样品中五氯酚钠浓度。

1.2.4 仪器条件

色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 柱温为 35 ℃, 流动相 A 为 0.01% 氨水溶液, 流动相 B 为甲醇溶液。梯度洗脱条件: 0.0~1.0 min, 70% A; 1.0~3.0 min, 70%~10% A; 3.0~4.0 min, 10% A; 4.0~5.0 min, 10%~70% A; 5.0~6.0 min, 70% A。流速为 0.35 ml/min, 样品室温度为 4 ℃, 进样量为 10 μl。

质谱: 电喷雾离子源负离子(ESI⁻), 多反应监测(MRM)模式, 离子源温度为 150 ℃, 毛细管电压为 3.0 kV, 脱溶剂温度为 350 ℃, 脱溶剂气流量为 600 L/h, 其他质谱条件见表 1。

表 1 五氯酚钠的质谱条件

化合物	母离子 /(m/z)	子离子 /(m/z)	锥孔电压 /V	碰撞电压 /eV
五氯酚钠	264.85	35.00 ^a	40	15
	262.85	35.00	40	15

注: ^a 表示定量离子

2 结 果

2.1 流动相的选择

分别以水-甲醇、0.01% 氨水-甲醇、水-乙腈和 0.01% 氨水-乙腈作为流动相考察系统性能。试验表明当以甲醇作为流动有机相时, 洗脱能力较强, 而 0.01% 氨水-甲醇作为流动相时, 五氯酚钠的峰形更好, 离子化效率更高, 性能更好。

2.2 质谱参数的选择

本试验采用三重四极杆质谱检测器, 在 ESI⁻ 模式下对五氯酚钠标准应用液进行一级质谱全扫描分析得到母离子, 对其子离子进行全扫描获得响应最高的两个离子对, 选用响应值最高的离子对作为定量离子对, 另一个作为定性离子对。以 MRM 模式对去簇电压和碰撞能量进行优化, 使选定母离子和子离子组

成的特征离子的丰度和比例达到最佳,见表1。

2.3 萃取条件选择

2.3.1 萃取溶剂的选择与优化

本试验选取水、甲醇、乙腈、50%甲醇水溶液、50%甲醇水溶液(含1%甲酸)以及50%甲醇水溶液(含1%氨水)作为萃取溶剂,对50 μg/L加标水平下的五氯酚钠回收率进行考察,结果显示萃取溶剂为50%甲醇水溶液(含1%氨水)时五氯酚钠的回收率最高,为89.0%。对不同比例的甲醇水溶液(均含1%氨水)萃取溶剂进行优化,结果仍以50%甲醇水溶液的回收效果最好,见图1,故本试验选择50%甲醇水溶液(含1%氨水)作为萃取溶剂。

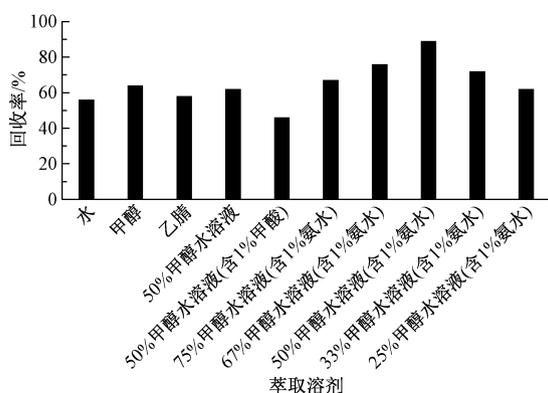


图1 不同萃取溶剂和萃取溶剂比例的五氯酚钠回收率

Figure 1 Recoveries of different extraction conditions

2.3.2 萃取时间

考察不同超声萃取时间(3、5、10、15和20 min)对五氯酚钠回收率的影响,结果见图2,随着超声萃取时间的增加,回收率也随之增加,在10 min时趋于稳定,故选择萃取时间为10 min。

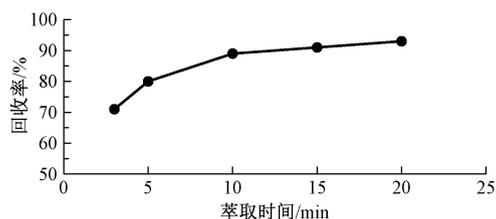


图2 不同萃取时间的五氯酚钠回收率

Figure 2 Recoveries of different extraction times

2.3.3 复提取溶剂

本试验选取正己烷、正己烷-二氯甲烷(8:2, V/V)、二氯甲烷作为五氯酚钠浓缩前的复提取溶剂体系,考察了不同配比对50 μg/L五氯酚钠加标样品回收率的影响,见图3。结果表明,正己烷-二氯甲烷混合体系得到的复提取效率略高。同时,考虑到二氯甲烷沸点较低,易蒸发浓缩,因此本试验采

用正己烷-二氯甲烷(8:2, V/V)作为最终的复提取溶剂,室温氮吹。

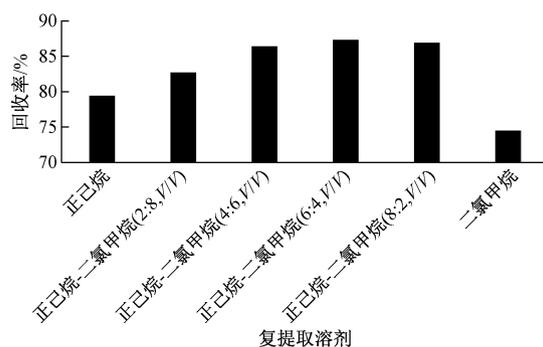


图3 不同复提取溶剂和萃取溶剂比例的五氯酚钠回收率

Figure 3 Recoveries of different re-extraction conditions

2.4 线性范围和检出限

配制系列标准应用液,在优化的色谱和质谱条件下进行测定,一次进样分析仅需6 min,10 μg/L五氯酚钠的标准谱图如图4所示。以五氯酚钠定量离子对的峰面积为横坐标,基质标准应用液中的浓度为纵坐标绘制标准曲线。结果表明,五氯酚钠在10~200 μg/L范围内线性关系良好,回归方程为 $y = 20.9043x - 75.2679$,相关系数为0.999。空白样品加标(10 μg/L)进行平行测定,以得到的相对标准差计算,检出限为0.2 μg/kg(信噪比=3),定量限为0.7 μg/kg(信噪比=3)。

2.5 回收率和精密度

样品分别添加1、4和20 μg/kg的五氯酚钠标准应用液,考察该方法加标回收率和精密度($n = 7$),结果见表2,回收率为101.4%~108.9%,相对标准偏差(RSD)为3.5%~7.8%。

2.6 实际样品分析

应用本试验建立的方法检测60份砧板样品,其中1份样品有五氯酚钠残留检出,含量为1.16 μg/kg。

3 小结

本试验对砧板中痕量五氯酚钠的液液萃取过程进行了深入研究,同时通过优化超高效液相色谱分离条件和质谱参数,建立了一种用于测定砧板中五氯酚钠的超高效液相色谱-串联质谱法。该方法简化了样品前处理过程,提高了检测效率,降低了检测成本,同时可实现高灵敏度和良好的重现性,为高通量测定砧板中五氯酚钠的含量提供了一种快速、准确的方法。应用该方法检测了丽水市市场购买的60份砧板,结果显示市场上少数企业生产的砧板有五氯酚钠检出,有关部门应予以关注。

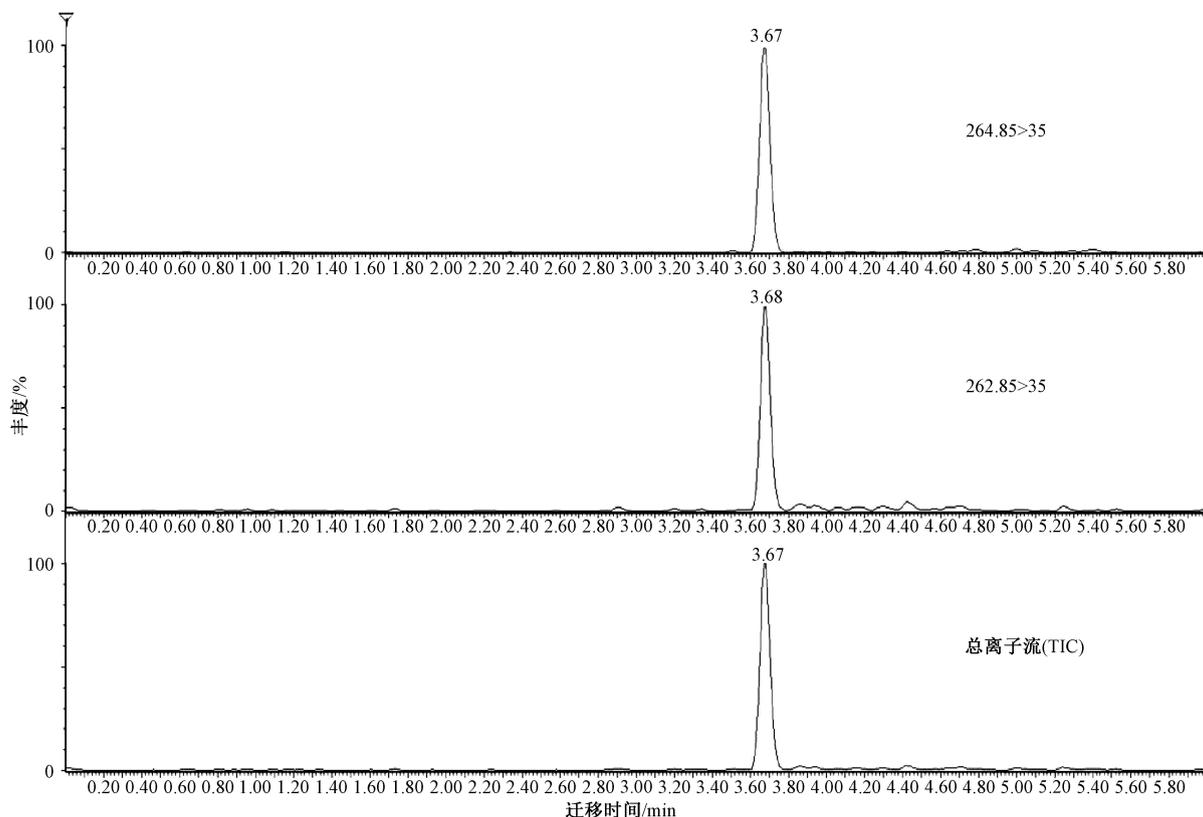


图4 五氯酚钠标准谱图

Figure 4 Chromatograms of sodium pentachlorophenolate

表2 不同浓度水平下五氯酚钠的加标回收率和精密度($n=7$)

Table 2 Recoveries and relative standard deviations of sodium pentachlorophenolate in different concentrations

加标浓度/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率/%	RSD/%
1	101.4	7.8
4	108.9	4.6
20	105.8	3.5

参考文献

- [1] 夏勇,董晓岚,孟真,等. 五氯酚钠的发育毒性和遗传毒性研究[J]. 预防医学,2016,28(11):1081-1086,1090.
- [2] 宋瑞霞,阮鸿洁,刘征涛. 五氯酚钠致突变性研究[J]. 中国公共卫生,2008,24(3):337-339.
- [3] 张盼,苏福海,戴新华,等. 液相色谱同位素稀释质谱联用法测定纺织品中的痕量五氯苯酚[J]. 化学通报,2010,73(11):1045-1048.
- [4] 农业部兽医局. 中华人民共和国农业部公告第235号[EB/OL]. (2002-12-24) [2019-02-19]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwillm/nybz/200803/t20080304_1028649.htm.
- [5] 孙磊,蒋新,周健明,等. 红壤中痕量五氯酚的气相色谱法测定[J]. 分析化学,2003,31(6):716-719.
- [6] 杨平华,陈小艳,张新华,等. 气相色谱法测定鄱阳湖湿地多种环境介质中五氯酚钠[J]. 理化检验-化学分册,2018,54(11):1246-1249.
- [7] FENG Q Z, ZHAO L X, YAN W, et al. Molecularly imprinted solid-phase extraction combined with high performance liquid chromatography for analysis of phenolic compounds from

environmental water samples[J]. J Hazard Mater, 2009, 167(1): 282-288.

- [8] 王亚男,牛书涛,贺小蔚,等. QuEChERS法提取水稻土壤中的五氯酚[J]. 分析实验室,2010,29(4):73-76.
- [9] 史玉坤,杨梅桂,杨清华,等. 气相色谱-质谱法快速检测水产品中五氯酚[J]. 中国食品卫生杂志,2015,27(1):19-21.
- [10] 雍宗锋,曹慧,蔡丹丹. 全自动固相萃取-内标衍生-气相色谱-串联质谱法测定肉中五氯酚[J]. 江苏预防医学,2017,28(6):619-621,625.
- [11] 黄季维,梅玉琴,刘天洁,等. 全自动固相萃取-气相色谱质谱法检测动物性食品中五氯酚钠残留量[J]. 中国卫生产业,2016,13(30):74-76.
- [12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,中华人民共和国农业部,国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准动物源性食品中五氯酚残留量的测定 液相色谱-质谱法:GB 23200.92—2016[S]. 北京:中国标准出版社,2016.
- [13] 王连珠,方恩华,王彩娟,等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源食品中痕量五氯酚及其钠盐[J]. 色谱,2018,36(6):518-522.
- [14] 杨秋红,程小艳,杨坪,等. 固相萃取-高效液相色谱串联质谱法同时检测地表水中的2,4-二氯酚、2,4,6-三氯酚和五氯酚[J]. 分析化学,2011,39(8):1208-1212.
- [15] 陈晓红,潘胜东,金米聪. 固相萃取-超快速液相色谱串联质谱测定食品中五氯酚[J]. 卫生研究,2018,47(3):440-445,458.
- [16] 黄惠玲,何志贵,李渺,等. 木材及木制品中残留五氯酚的气相色谱测定法[J]. 分析化学,2007,35(9):1369-1372.