

实验技术与方法

气相色谱-质谱法快速检测水产品中五氯酚

史玉坤,杨梅桂,杨清华,程晓宏

(南通市疾病预防控制中心,江苏南通 226007)

摘要:目的 建立气相色谱-质谱法(GC-MS)快速测定水产品中五氯酚的方法。方法 在酸性条件下,将样品中的五氯酚钠转化为五氯苯酚,用正己烷萃取,碳酸钾溶液反萃取,加乙酸酐衍生化,经 Thermo TG-SQC 色谱柱(15 m×0.25 mm,0.25 μm)分离,GC-MS 测定。结果 五氯酚的浓度在 0~100 μg/L 范围内线性关系良好($r=0.9991$),方法的测定下限($S/N=10$)为 1.04 ng/g,分别在 3 个浓度水平上对方法进行加标回收率及精密度试验($n=6$),测得回收率在 93.6%~103.0%, RSD 为 1.8%~3.8%,并用于实际样品分析。结论 本方法快速、简便、准确,适用于水产品中五氯酚的快速检测。

关键词:水产品;气相色谱-质谱法;五氯酚;农药残留;食品安全

中图分类号:R155;O657.63;F762.6 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2015)01-0019-03

DOI:10.13590/j.cjfh.2015.01.005

Rapid determination of pentachlorophenol in aquatic products by GC-MS

SHI Yu-kun, YANG Mei-gui, YANG Qing-hua, CHENG Xiao-hong

(Nangton Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Nangton 226007, China)

Abstract: Objective To establish a rapid method of pentachlorophenol in aquatic products by GC-MS. **Methods** Sodium pentachlorophenol in the samples were converted to pentachlorophenol in acidic condition. Then they were detected by GC-MS, after the extraction, reextraction, derivatization with n-hexane, potassium carbonate, acetic anhydride, respectively. **Results** Pentachlorophenol showed a good linear relationship at a range of 0-100 μg/L, correlation coefficient $r=0.9991$, with lower limit of determination ($S/N=10$) of 1.04 ng/g. Tests for recovery and precision were made at 3 concentration levels, giving results of average recovery in the range of 94% to 103%, with values of relative standard deviation RSD ($n=6$) in the range of 1.83%-3.82%. **Conclusion** The established method is rapid, simple and accurate. It can be used to rapidly determine pentachlorophenol in aquatic products.

Key words: Aquatic products; gas chromatograph-mass spectrometer; pentachlorophenol; pesticide residue; food safety

五氯酚(及其钠盐)是一种氯代酚类化合物,属有机氯农药,可用作除草杀虫剂及消毒剂,水产养殖中用作灭螺药。五氯酚为毒性物质,可经由呼吸,皮肤接触或误食导致人员严重伤害或死亡。2010年怀疑吃小龙虾引起横纹肌肉溶解症的“龙虾门”事件,让一种罕见的疾病“哈夫病”,成为大家关注的焦点。哈夫病在我国称为横纹肌肉溶解症,该病是吃完水产品 24 h 内出现如肌肉痛、呼吸困难、肌肉强直、大汗、麻木、腰酸背痛等的一种疾病。灭螺药五氯酚可能引起哈夫病,是否因小龙虾生长环境施用灭螺药五氯酚引起小龙虾体内五

氯酚浓度升高,人摄入后引起横纹肌溶解症的关联性备受关注。由此,对水产品中五氯酚进行监测成了人们关心的话题。

目前已报道^[1-7]检测五氯酚的方法有气相色谱-电子俘获检测器法、液相色谱法和液相色谱-质谱联用法。气相色谱法定性能力较差,液相色谱-质谱联用法对实验室的硬件投入要求较大,气相色谱-质谱法(GC-MS)具有成本相对低、定性、定量能力强的特点。本试验参照国家水产行业标准中五氯苯酚的预处理方法^[8],在酸性条件下将样品中的五氯酚钠转化为五氯苯酚,用正己烷萃取,碳酸钾溶液反萃取,加乙酸酐与五氯酚盐反应生成五氯苯乙酸酯,GC-MS 法测定。本方法与其他方法相比投入较小,前处理简单,灵敏度高,定性效果好,定性、定量同时进行。可用于大量实际样品的测定,为水产品中五氯酚的测定提供了可靠的方法。

收稿日期:2014-07-21

基金项目:江苏省南通市科技局社会发展计划(HS2011027)

作者简介:史玉坤 男 主任技师 研究方向为食品安全分析

E-mail:syk39@163.com

通讯作者:程晓宏 男 高级工程师 研究方向为食品安全分析

E-mail:xhcheng131@163.com

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

TRACE ISQ 气相色谱-质谱仪(美国 Thermo Fisher)、氮吹仪、恒温振荡器、离心机、均质器。

正己烷(优级纯,杭州石化有限责任公司);乙酸酐(分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司);0.1 mol/L的碳酸钾溶液:取 13.8 g 无水碳酸钾(分析纯,国药集团)溶于水中,加水至 1 000 ml;50%的硫酸溶液:浓硫酸(分析纯)缓慢加入等体积蒸馏水中配制而成;500 μg/ml 的五氯酚(46200,纯度 98.3%,迪马科技有限公司)标准储备液用碳酸钾溶液配制而成,使用时用碳酸钾溶液稀释成 1.00 μg/ml 的标准使用液。

1.2 方法

1.2.1 样品预处理

取小龙虾、螃蟹可食部分,打成肉糜,混匀,待用。

提取:称取均质样品 1 g(精确到 0.01 g),置于 50 ml 具塞离心管中,加入 8 ml 50% 硫酸溶液,用匀质器分散成悬浊液,80 ℃ 水浴 30 min,冷却后加入 10 ml 正己烷,涡旋混匀 2 min,4 000 r/min 离心 5 min,吸取上层正己烷提取液置于 60 ml 分液漏斗中。50 ml 具塞离心管中,再加 10 ml 正己烷提取一次,合并提取液。

净化:在含正己烷提取液的 60 ml 分液漏斗中,加入 4 ml 碳酸钾溶液,振摇提取 2 min,下层碳酸钾提取液转移到另一 60 ml 分液漏斗中,正己烷提取液中再加 4 ml 碳酸钾溶液重复提取一次,合并碳酸钾提取液。

衍生:在含有碳酸钾提取液的 60 ml 分液漏斗中加入 0.2 ml 乙酸酐,振摇 3 min,并不断放气,加 2.5 ml 正己烷萃取衍生产物,上层正己烷萃取液移于 20 ml 小烧杯中。碳酸钾溶液中再加 2.5 ml 正己烷,重复萃取一次,合并正己烷萃取溶液,正己烷相经无水硫酸钠脱水后氮吹定容至 1 ml,GC-MS 进样测定。

1.2.2 仪器条件

色谱柱:Thermo TG-SQC 弹性石英毛细管色谱柱(15 m × 0.25 mm,0.25 μm);载气:氦气(纯度 > 99.99%);柱温(程序升温):初始温度 60 ℃,保持 2 min,20 ℃/min 升至 250 ℃,保持 2 min;进样口温度 250 ℃;传输线温度 250 ℃;离子源:EI;离子源温度 250 ℃;电离能量 70 eV;扫描质量(全扫描):40 ~ 350 amu;无分流模式分流,分流比 40:1;柱流量 1.0 ml/min;溶剂延时 3.0 min,进样量 1 μl。

2 结果与分析

2.1 定性与定量

在实验条件下,五氯酚钠衍生物五氯苯乙酸酯

的保留时间为 8.89 min,特征离子为 165、266、268、308。用保留时间和特征离子结合定性,定量离子选择 266,外标法、峰面积定量。五氯酚标准衍生物五氯苯乙酸酯总离子流图见图 1,质谱图见图 2。

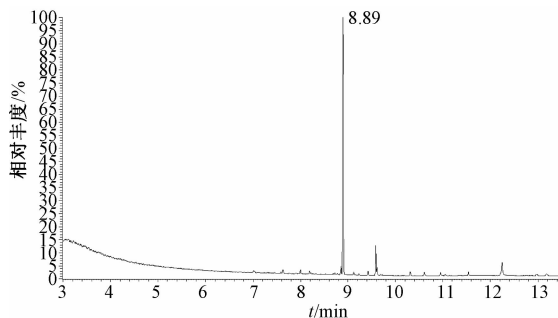


图 1 五氯酚标准衍生物五氯苯乙酸酯总离子流图

Figure 1 Total ion chromatogram of pentachlorophenyl acetate of pentachlorophenol derivative

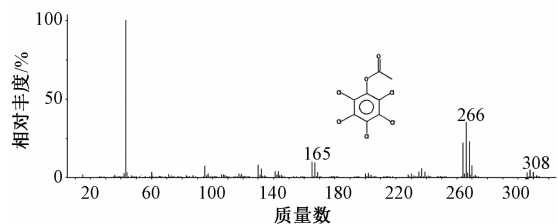


图 2 五氯酚标准衍生物五氯苯乙酸酯质谱图

Figure 2 Mass chromatogram of pentachlorophenyl acetate of pentachlorophenol derivative

2.2 方法的线性、检出限、精密度和回收率

准确移取 5、10、25、50、100、250、500 μl 五氯酚标准使用液于预先加有 3 ml 碳酸钾溶液的 60 ml 分液漏斗中,混匀,按照衍生化相同步骤衍生,定容至 1 ml,得到五氯酚浓度为 5、10、25、50、100、250、500 μg/L 的标准系列溶液用于绘制标准曲线。

结果表明,五氯酚在 0 ~ 500 μg/L 的浓度范围内线性良好, $r = 0.999 1$,线性方程为 $y = 4037x + 4352$ 。以 3 倍仪器噪声计算得五氯苯酚检出限为 0.31 μg/L,方法的测定下限($S/N = 10$)为 1.04 ng/g。

用标准加入法做小龙虾样品的加标回收率试验,对方法的准确度和精密度进行测试。五氯酚标准的加入浓度为 10、50 和 100 ng/ml,按本方法处理测定,各做 6 次加标平行,6 次平行检测结果的相对标准偏差分别为 3.8%、1.8% 和 1.8%,加标回收在 93.6% ~ 103.0% 之间,见表 1。在所选用的条件下,回收率高、精密度良好。

2.3 实际样品测定

按照 1.2 方法,对市售 20 份小龙虾、4 份螃蟹进行检测,五氯酚的测定值在 <0.001 ~ 0.003 5 mg/kg 之间。小龙虾样品及加标样品的 MRM 图谱见图 3 和 4。

表1 样品的精密度与加标回收率($n=6$)

Table 1 Precision and standard recovery of samples

样品浓度 /(ng/ml)	加标浓度 /(ng/ml)	测得浓度 /(ng/ml)	RSD /%	回收率 /%
—	10	9.4 ~ 10.3	3.8	94.0 ~ 103.0
2.6	50	49.4 ~ 51.7	1.8	93.6 ~ 98.2
3.5	100	97.2 ~ 101.9	1.8	93.7 ~ 98.4

注:—表示未检出

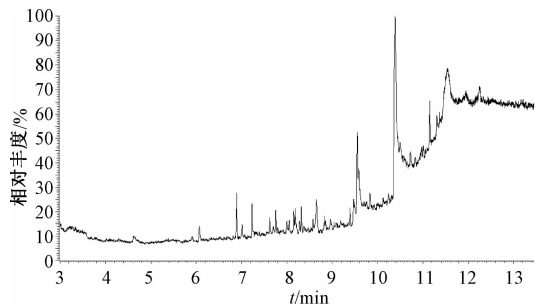


图3 小龙虾样品的MRM色谱图

Figure 3 MRM chromatogram of a crayfish sample

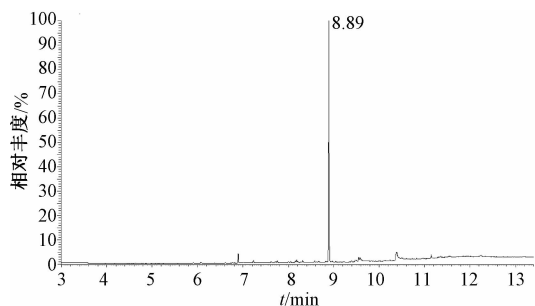


图4 小龙虾加标样品的MRM色谱图

Figure 4 MRM chromatogram of a crayfish sample with adding standard reagents

3 小结

本文建立了简单、快速、准确测定水产品中五氯酚的气相色谱-质谱方法。本方法采用在酸性条件下,正己烷萃取富集,碳酸钾溶液反萃取,再与乙酸酐衍生,GC-MS法通过测定五氯酚的乙酸酐衍生物五氯苯乙酸酯进而来定性定量五氯酚,并将该方法应用于水产品中实际样品小龙虾、螃蟹的五氯酚检测,具有较好的回收率和重复性,结果表明该方法简单、快速、准确、可操作性强。

参考文献

- [1] 李荣,甘金华,徐进,等.气相色谱-电子捕获法直接测定水体中的五氯酚钠[J].中国环境监测,2012,28(1):44-46.
- [2] 孙磊,蒋新,周健民,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.
- [3] 李继革,戚双祥,周凯.双壳类水产品中微量五氯酚的气相色谱[J].中国卫生检验,2004,14(6):718-719.
- [4] 中华人民共和国国家环境保护部.HJ 591—2010 水质五氯酚的测定气相色谱法[S].北京:中国环境科学出版社,2010.
- [5] 廖林川,颜有仪,林岚,等.高效液相色谱法检测生物样品中五氯酚[J].四川大学学报:医学版,2004,35(3):301-304.
- [6] 金米聪,陈晓红,李小平,等.高效液相色谱-电喷雾电离质谱联用法测定水中痕量五氯酚研究[J].中国卫生检验杂志,2005,15(3):280-281.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.SN/T 2445—2010 进出口动物源食品中五氯酚残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法[S].北京:中国标准出版社,2010.
- [8] 中华人民共和国农业部.SC/T 3030—2006 水产品中五氯苯酚及其钠盐残留量的测定 气相色谱法[S].北京:中国标准出版社,2006.

· 请示批复 ·

国家卫生计生委办公厅关于进口原料鱼油适用标准问题的复函

国卫办食品函[2014]1050号

质检总局办公厅:

你厅《关于请明确进口原料鱼油适用标准问题的函》(质检办食函[2014]909号)收悉。经研究,现答复如下:

《食品安全国家标准 食品中污染物限量》(GB 2762—2012)不适用于来函所提用于精炼加工但不供人类直接食用的原料鱼油(又称“毛鱼油”、“粗制鱼油”、“半精制鱼油”等)。为保障消费者健康,上述产品应当仅用于生产企业精炼加工,不得直接销售供消费者食用。

专此函复。

(相关链接:<http://www.nhfpc.gov.cn/sps/s3593/201411/e73f67bd386640b9ae9da6b62dfb9fbd.shtml>)

国家卫生计生委办公厅
二〇一四年十一月十七日