

气相色谱-质谱法测定水产品中的 10 种含氯苯酚及其盐类的含量

符昌雨*, 段文峰, 施敬文, 周 静

(上海质量监督检验技术研究院, 上海 200233)

摘要: 目的 建立气相色谱-质谱法检测水产品中 10 种含氯苯酚的含量。方法 样品采用 1mol/L 氢氧化钾溶液超声提取, 经乙酸酐衍生, 用正己烷提取后采用气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)进行检测, 以外标法定量。结果 10 种含氯苯酚在 2.0~50.0 μg/L 浓度范围内具有良好的线性关系, 相关系数 r 大于 0.999, 方法定量限为 2.5 μg/kg。空白基质加标回收实验添加浓度分别为 2.5、12.5 和 62.5 μg/kg 时, 水产品中 10 种含氯苯酚的回收率在 85.1%~104.5% 之间, 相对标准偏差 5.0%。结论 该方法灵敏度、精密度和定量限均符合实际样品检测要求, 可用于水产品中含氯苯酚及其盐类的日常监测。

关键词: 三氯苯酚; 四氯苯酚; 五氯苯酚; 水产品; 鱼; 虾; 气相色谱-质谱法

Determination of ten chlorinated phenols and their salts in aquatic products by gas chromatography-mass spectrometry

FU Chang-Yu*, DUAN Wen-Feng, SHI Jing-Wen, ZHOU Jing

(Shanghai institute of Quality inspection and Technical Research, Shanghai 200233, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 10 kinds of chlorinated phenols in aquatic products by gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS). **Methods** Using ultrasonic extraction, samples were extracted with 1mol/L KOH solution, derivatized with acetic anhydride, and extracted with n-hexane, and then analyzed by gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS) with external standard method for quantification. **Result** Ten kinds of chlorinated phenols had good linear relationship in the range of 2.0~50.0 μg/L with correlation coefficient not less than 0.999. And the limit of quantitation (LOQ) was 2.5 μg/kg. The recoveries spike at 3 levels of 2.5, 12.5 and 62.5 μg/kg were ranged from 85.1% to 104.5 using blank samples as matrix with relative standard deviations (RSD) less than or equal to 5.0%. **Conclusion** The sensitivity, precision and LOQ can meet the requirements of determination of practical samples, which can be applied for the regular inspection of chlorinated phenols and their salts in aquatic products.

KEY WORDS: trichlorophenol; tetrachlorophenol; pentachlorophenol; aquatic products; fish; shrimp; gas chromatography-mass spectrometry

基金项目: 2015~2016 质检总局科技计划应用技术研究类项目(2015QK047)

Fund: Supported by Science and Technology Plan Application Technology Research Projects by AQSIQ in 2015~2016(2015QK047).

*通讯作者: 符昌雨, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全与检测, E-mail: fucy@sqi.org.cn

Corresponding author: FU Chang-Yu, Master, Engineer, Shanghai institute of Quality inspection and Technical Research, Shanghai 200233, China. E-mail: fucy@sqi.org.cn

1 引言

含氯苯酚主要分为三氯苯酚(trichlorophenol, TCP)、四氯苯酚(tetrachlorophenol, TeCP)以及五氯苯酚(pentachlorophenol, PCP)。TCP共有6种异构体,包括2,4,6-Tcp、2,3,6-Tcp、2,3,5-Tcp、2,4,5-Tcp、2,3,5-Tcp和3,4,5-Tcp;四氯苯酚共有3种异构体,包括2,3,5,6-TeCP、2,3,4,6-TeCP和2,3,4,5-TeCP。含氯苯酚常被应用为木材的防腐剂、果树的杀虫剂和杀菌剂。在我国PCP曾作为灭钉螺药被大量使用,但是目前研究发现,含氯苯酚都具有致癌、致畸和致突变作用,而且结构比较稳定、难降解,在生物体内易富集。虽然我国2002年规定,水生动物生产中禁止使用五氯酚钠,但由于其杀菌效果较好,近年来在虾蟹养殖中仍然被非法使用以杀灭野杂鱼^[1]。

目前,三氯苯酚是我国68种优先监测的污染物之一,PCP已经被列入优先污染物和持久性有机污染物的黑名单。有研究表明,PCP可以降解为TCP和TeCP^[2-7]。目前水产品中已有测定PCP及其盐类的方法^[8-11],但对具有同样危害的6种TCP及3种TeCP的气相色谱-质谱法还未见相关报道。故本研究建立了气相色谱-质谱法的检测方法。目前含氯苯酚的测试方法都需要多次溶剂转换,实验过程相对复杂,本研究拟建立氢氧化钾溶液直接提取样品的方法,从而简化实验过程。

2 实验方法

2.1 仪器与试剂

Agilent 7890N/5975气相色谱质谱联用仪(美国安捷伦公司); SIGMA 3K30离心机(德国希格玛公司); DENVER INSTRUMENT 分析天平(美国丹佛仪器公司); Heidolph REAX 漩涡振荡器(德国海道夫公司); SK8210 LHC 超声仪(上海科导超声仪器有限公司)。

正己烷、醋酸酐、氢氧化钾,分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

标准品: PCP(>99.5%)、2,3,5,6-Tcp(>99.5%)、2,3,4,6-Tcp(>98%)、2,3,4,5-Tcp(>98%)、2,4,6-Tcp(>99%)、2,3,6-Tcp(>99%)、2,3,5-Tcp(>98.6%)、2,4,5-Tcp(>99.5%)、2,3,4-Tcp(>98%)、3,4,5-Tcp(>98%)。购于上海普誉科贸有限公司。

材料: 鲫鱼、鲳鱼、扇贝、海瓜子、鱿鱼、草鱼和虾,为市售。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液的配制

10 mg/mL 标准储备液: 准确称取各标准品 0.1000 g, 用丙酮定容到 10 mL, 分别于 -10 °C 下保存。

100 μg/mL 混合标准中间液: 准确吸取上述标准储备液各 0.1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用丙酮定容至刻度, 于

-10 °C 下保存。

1000 μg/mL 混合标准工作液: 准确吸取上述混合标准中间液 0.1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用丙酮定容至刻度, 于 -10 °C 下保存。

标准曲线制备: 分别准确吸取 10、20、50、100 和 250 μL 的上述标准工作液, 加入到 1 mol/L 氢氧化钾溶液 35 mL, 加入 5 mL 正己烷, 加入 2 mL 乙酸酐漩涡振荡 2 min, 以 5000 r/min 离心 2 min, 上层正己烷溶液为标准待测样液。

2.2.2 仪器条件

(1) 色谱条件

色谱柱为 HP-5MS 弹性石英毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 载气流量(氦气)为 1.0 mL/min; 不分流进样; 进样口温度: 250 °C; 进样量: 1 μL。程序升温: 100 °C 保持 1 min; 以 20 °C/min 速率升至 140 °C; 以 3 °C/min 升至 160 °C; ; 以 10 °C/min 速率升至 200 °C; 以 40 °C/min 速率升至 280 °C, 保持 2 min。

(2) 质谱条件

电子轰击源(electron impact ion source, EI); 电离能 70 eV; 四级杆温度 150 °C; 离子源温度 230 °C; 传输线温度 280 °C; 检测方式为选择离子监测。

2.2.3 样品前处理

将样品去骨后, 取可食部分, 切成不大于 2 cm×2 cm×2 cm 的小块, 用组织匀浆机搅拌成糜状, 准确称取 4.0 g 样品(精确到 0.0001 g)置于 50 mL 具塞离心管中, 加入 15 mL 1 mol/L 氢氧化钾溶液, 盖紧瓶盖涡旋振荡 1 min 后超声 1 h, 90 °C 烘箱 2 h, 取出冷却到室温, 然后以 5000 r/min 离心 5 min, 将氢氧化钾提取液转入另一 50 mL 具塞离心管中, 加入 1 mol/L 氢氧化钾溶液 10 mL, 盖紧瓶盖涡旋振荡 1 min, 以 5000 r/min 离心 5 min, 重复上述操作再提取 1 次, 合并 3 次氢氧化钾提取液, 加入 2 mL 乙酸酐, 加入 5 mL 正己烷涡旋振荡 2 min, 以 5000 r/min 离心 1 min, 取上清液待测。

3 结果与讨论

3.1 提取方法的选择

目前国内对含氯苯酚的测定, 主要有 2 种前处理方法^[12-17], 一种是往样品中加酸, 使含氯苯酚及其盐类都转化成含氯苯酚, 然后通过有机溶剂提取, 再以碳酸钾溶液萃取有机溶剂中的含氯苯酚, 加入乙酸酐衍生, 再通过有机溶剂提取进样。另一种是往样品中加酸, 使含氯苯酚及其盐类都转化成含氯苯酚, 经水蒸气蒸馏后, 采用碳酸钾收集蒸馏液, 然后通过乙酸酐衍生, 加入有机溶剂提取。

有文献资料表明^[12], 含氯苯酚亦可以通过碱性溶液提取, 使含氯苯酚及其盐类都转化成含氯苯酚盐类, 而含氯苯酚盐类易溶于水, 向碱性溶液中加入乙酸酐衍生, 加

入正己烷提取进样。

因此设计3种提取方法,向空白样品中加入0.25 μg含氯苯酚标准溶液,分别测试加标回收率,结果见表1。结果显示,氢氧化钾提取法对10种含氯苯酚的回收率和精密度相对较好。

3.2 提取时间的选择

乙酸酐使含氯苯酚衍生成酯类物质再通过有机溶剂提取。因此,有机溶剂提取酯类衍生物的提取时间也是影响检测结果的一个重要因素。通过向35 mL氢氧化钾溶液加入25 μg含氯苯酚混标溶液,加入2.0 mL乙酸酐,然后分别进行涡旋提取0.5、1.0、2.0 min以及涡旋2.0 min后再振荡提取30 min,实验结果见图1。

从图1可以看出,涡旋提取0.5 min的测试结果偏低,涡旋提取1.0 min、2.0 min和涡旋2.0 min后再振荡30 min,测试结果基本一致,因此认为涡旋1.0 min已经可以满足测试要求,但是考虑到实际测试时,样品的基质可能会对涡旋时间有影响,本方法选择涡旋时间为2.0 min。

3.3 色谱柱的选择

选用HP-5MS(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), VF-WAX(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), DB-624(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)这3种不同极性的毛细管色谱柱进行分析比较。结果表明,VF-WAX和DB-624分离效果较差,HP-5MS能完全分离10种含氯苯酚,峰形对称、定量准确且重现性好。因此,本实

验选用HP-5MS作为分离柱。

3.4 特征离子的选择

含氯苯酚及其盐类被乙酸酐乙酰化后生成乙酸含氯苯酯,空白样品、标准品和加标样品10种乙酸含氯苯酯选择离子总离子流图分别见图2~4,3种不同乙酸含氯苯酯的EI全扫描质谱图分别见图5~7,10种含氯苯酚的保留时间、定量和定性特征离子见表2。

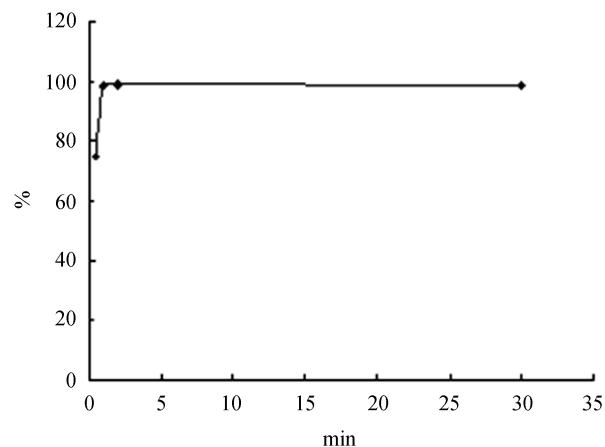


图1 不同提取时间的回收率

Fig. 1 Spiked recoveries under different extract time

表1 加标回收率(*n*=6)
Table 1 Results of recoveries (*n*=6)

化合物	水蒸气蒸馏法		酸水解法		氢氧化钾提取法	
	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
2,4,6-Tcp	65.4	13.1	84.7	13.7	95.1	4.31
2,3,6-Tcp	69.2	15.2	84.2	13.8	99.2	4.77
2,3,5-Tcp	72.5	10.9	83.0	10.5	102.3	4.02
2,4,5-Tcp	73.7	11.5	80.9	9.14	103.5	3.57
2,3,4-Tcp	74.2	11.7	75.9	10.3	105.7	3.49
3,4,5-Tcp	70.9	17.9	77.2	12.7	96.8	4.06
2,3,5,6-Tcp	68.5	15.1	75.0	8.50	99.4	2.95
2,3,4,6-Tcp	69.7	16.0	77.2	14.6	98.7	2.80
2,3,45-Tcp	69.2	14.2	76.1	10.1	100.5	3.70
PCP	65.5	10.7	77.6	11.2	98.1	4.02

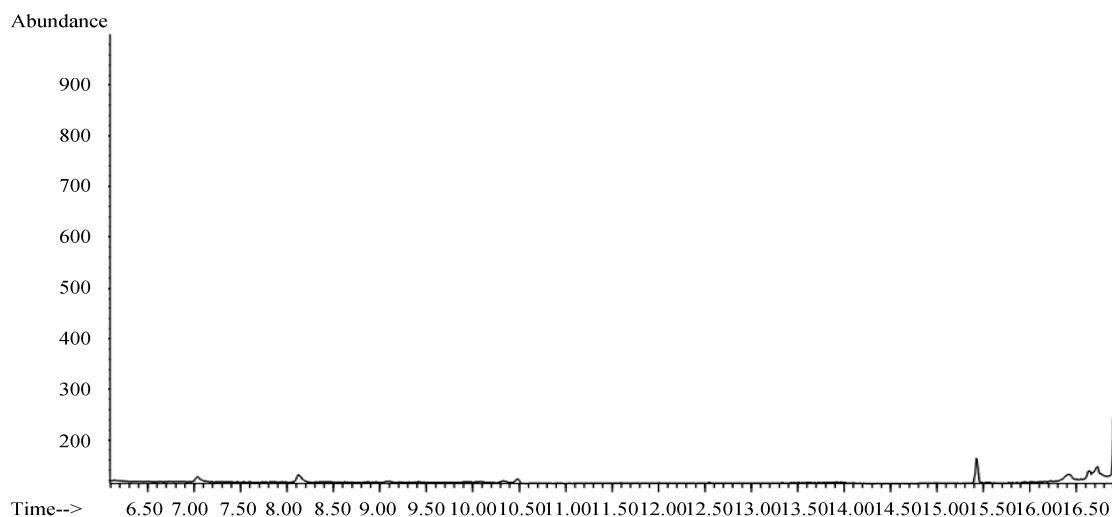


图2 空白样品的选择离子总离子流图

Fig. 2 TIC of blank sample

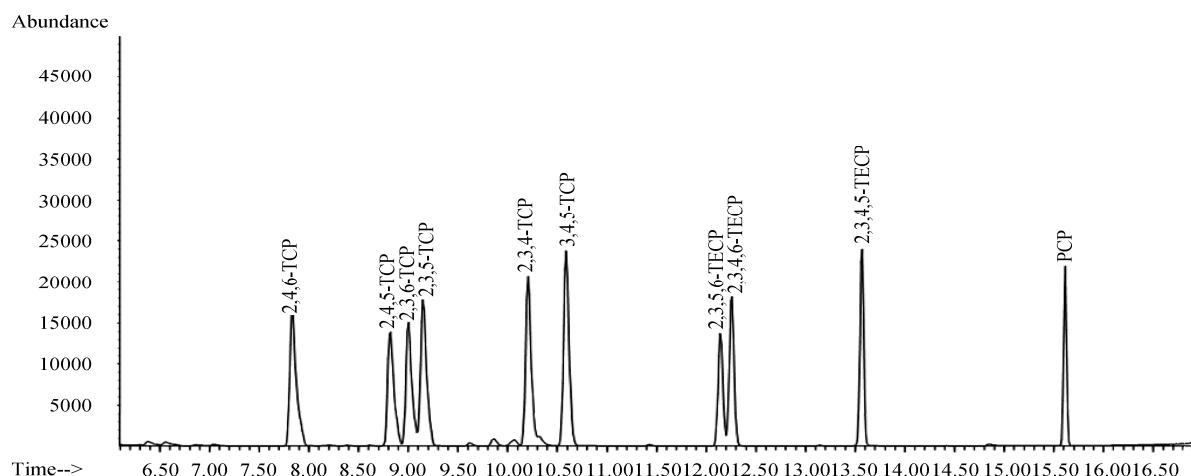


图3 10种乙酸含氯苯酯标准品的选择离子总离子流图

Fig. 3 TIC of 10 kinds of chlorinated phenyl ester standards

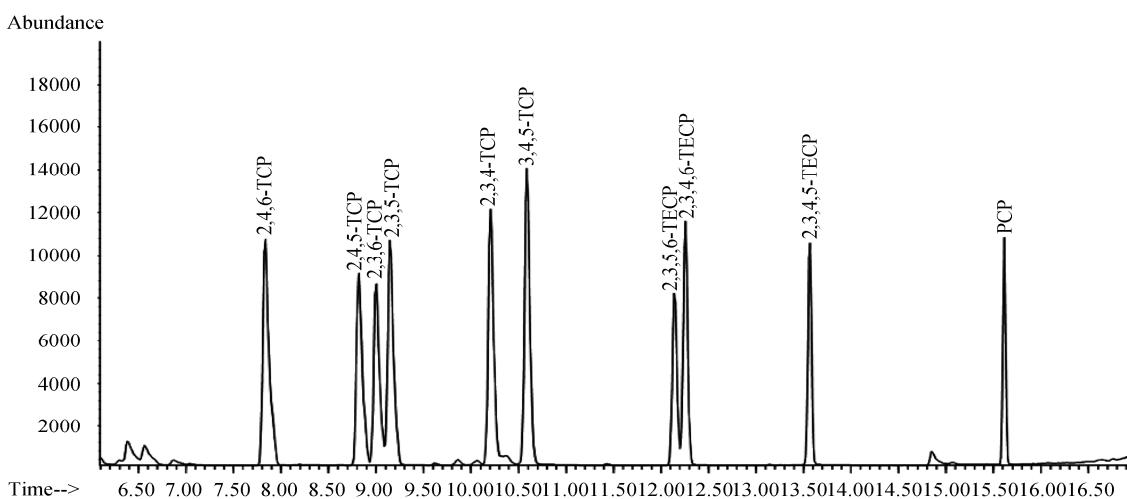


图4 加标样品的选择离子总离子流图

Fig. 4 TIC of spikled sample

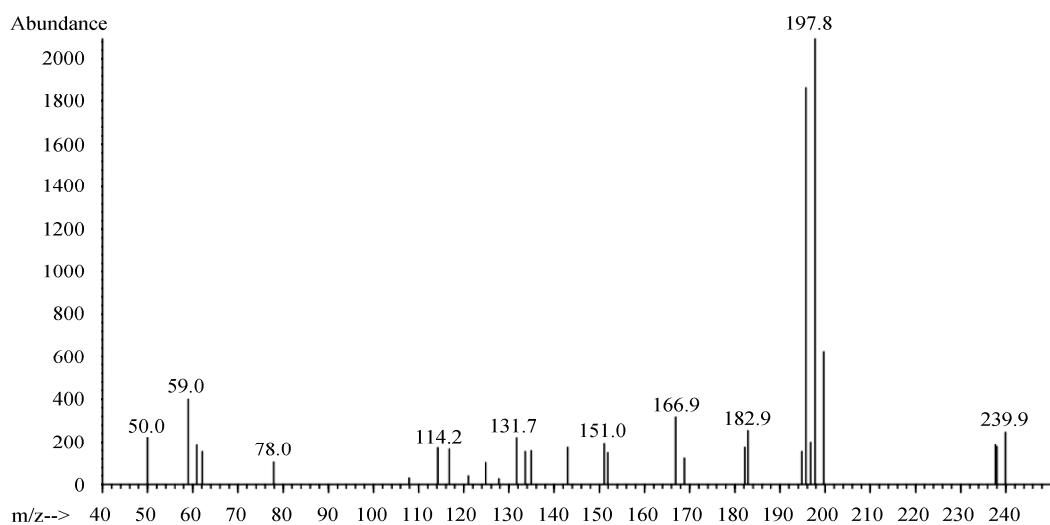


图 5 乙酸三氯苯酯的 EI 全扫描质谱图
Fig. 5 EI mass spectrogram of acetate TCP

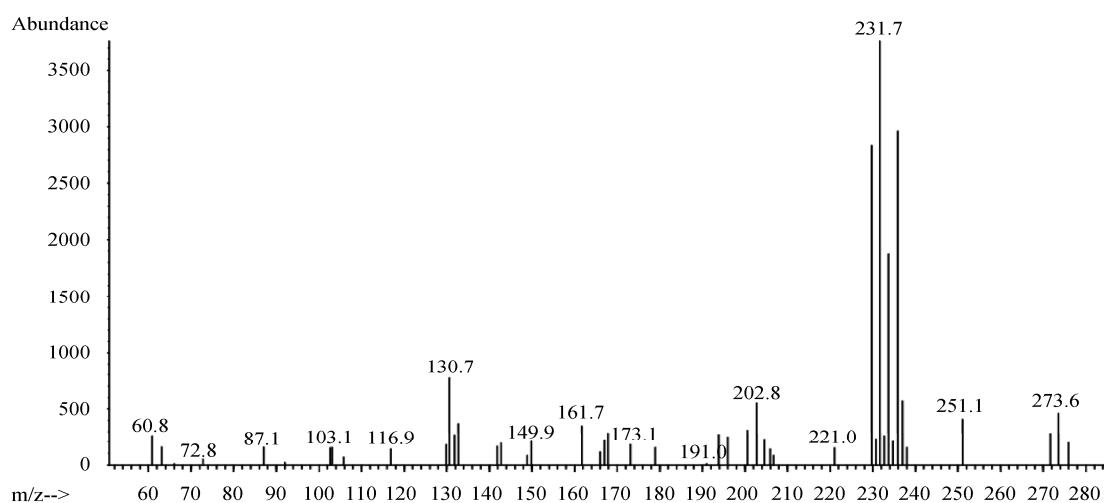


图 6 乙酸四氯苯酯的 EI 全扫描质谱图
Fig. 6 EI mass spectrogram of acetate TeCP

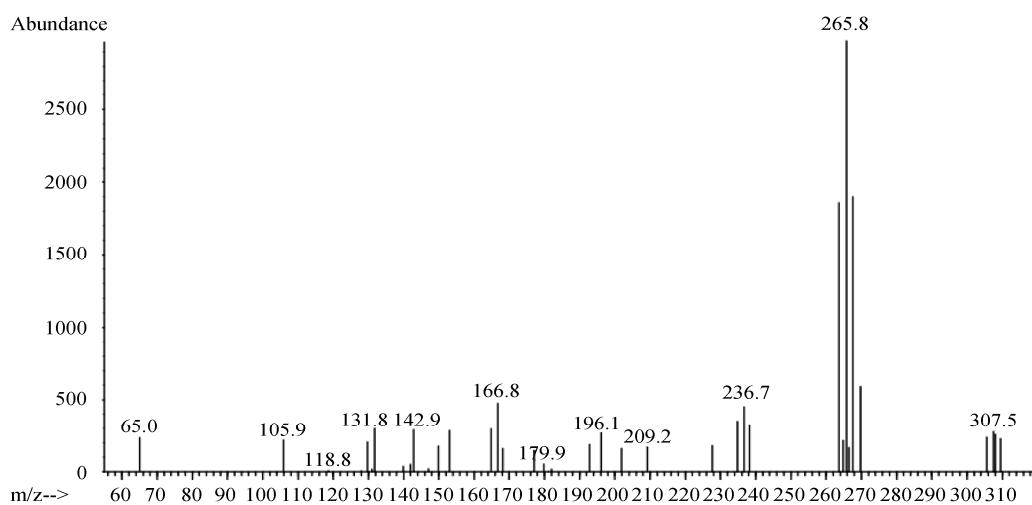


图 7 乙酸五氯苯酯的 EI 全扫描质谱图
Fig. 7 EI mass spectrogram of PCP acetate

3.5 方法线性与定量限

在线性范围 2.0~50.0 μg/L 内, 以定量离子峰面积对质量浓度作标准工作曲线, 得线性回归方程。按 10 倍信噪比计算方法定量限, 结果见表 3。

3.6 精密度与回收率

选择有代表性的鲫鱼、鲳鱼、扇贝、海瓜子、鱿鱼、草鱼和虾空白样品, 添加 12.5 μg/kg 的 10 种含氯苯酚标准溶液进行加标回收实验(见表 4)。结果表明, 加标回收率均大于 85%。并选择鲫鱼、鲳鱼和扇贝空白样品, 每个样品分别添加 3 种不同浓度的含氯苯酚标准物质, 平行

测定 6 次, 方法回收率为 85.1%~104.5%, 相对偏差(RSD) 5.0%。

4 结 论

本研究建立了气相色谱-质谱法定量和定性检测水产品中的 10 种含氯苯酚及其盐类的方法。以 1 mol/L 的氢氧化钾溶液提取, 提取液经乙酸酐衍生和正己烷提取, 再经气相色谱-质谱法测定。该方法具有操作简单、回收率高和精密度好等特点, 可广泛应用于水产品中 10 种含氯苯酚及其盐类的检测。

表 2 含氯苯酚的保留时间、定量离子和定性离子
Table 2 Retention time, quantitative ions and qualitative ions of chlorinated phenols

化合物	保留时间(min)	定量离子(<i>m/z</i>)	定性离子(<i>m/z</i>)
2,4,6-Tcp	7.84	198	196,198,200
2,3,6-Tcp	8.82	198	196,198,200
2,3,5-Tcp	9.00	198	196,198,200
2,4,5-Tcp	9.21	198	196,198,200
2,3,4-Tcp	10.2	198	196,198,200
3,4,5-Tcp	10.6	198	196,198,200
2,3,5,6-Tecp	12.1	232	230,232,234
2,3,4,6-Tecp	12.3	232	230,232,234
2,3,456-Tecp	13.6	232	230,232,234
PCP	15.6	266	264,266,268

表 3 线性范围、回归方程及定量限
Table 3 The linear range, linear equations and limits of detection

化合物	线性范围 (μg/L)	回归方程	相关系数(<i>r</i>)	定量限(μg/kg)
2,4,6-Tcp	2.0~50.0	$Y=127X+196$	0.9992	2.5
2,3,6-Tcp	2.0~50.0	$Y=136X+92.8$	0.9992	2.5
2,3,5-Tcp	2.0~50.0	$Y=139X+17.1$	0.9995	2.5
2,4,5-Tcp	2.0~50.0	$Y=153X+117$	0.9992	2.5
2,3,4-Tcp	2.0~50.0	$Y=146X+37.0$	0.9995	2.5
3,4,5-Tcp	2.0~50.0	$Y=202X+87.4$	0.9999	2.5
2,3,5,6-Tecp	2.0~50.0	$Y=98.7X-68.3$	0.9991	2.5
2,3,4,6-Tecp	2.0~50.0	$Y=140X-151$	0.9993	2.5
2,3,4,5-Tecp	2.0~50.0	$Y=156X-68.2$	0.9995	2.5
PCP	2.0~50.0	$Y=103X-114$	0.9999	2.5

表4 精密度和回收率($n=6$)
Table 4 The precisions and recoveries ($n=6$)

化合物	添加量($\mu\text{g/kg}$)	鲫鱼		鲳鱼		扇贝	
		回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
2,4,6-Tcp	2.5	86.9	4.81	87.0	4.90	87.0	3.91
	12.5	91.5	4.51	99.5	4.11	86.6	4.51
	62.5	95.0	3.31	101.7	2.90	97.1	4.20
2,3,6-Tcp	2.5	87.1	4.01	86.1	4.17	89.1	4.07
	12.5	90.0	3.47	97.5	4.20	91.9	3.75
	62.5	96.3	4.08	96.2	3.55	92.3	4.70
2,3,5-Tcp	2.5	90.5	3.15	85.4	4.05	85.7	4.11
	12.5	97.2	3.02	91.1	3.13	93.3	4.07
	62.5	94.3	2.31	93.7	4.32	89.2	4.09
2,4,5-Tcp	2.5	88.7	4.90	87.9	4.01	91.5	3.18
	12.5	96.0	4.43	92.0	4.75	89.7	4.07
	62.5	101.3	3.71	98.2	3.20	100.2	4.11
2,3,4-Tcp	2.5	90.2	4.00	87.5	4.51	85.1	4.38
	12.5	89.5	3.41	97.4	3.47	89.2	3.92
	62.5	94.7	3.59	102.2	3.11	95.1	4.07
3,4,5-Tcp	2.5	90.7	4.15	85.7	4.50	90.2	3.97
	12.5	95.3	3.41	90.6	4.61	95.5	4.04
	62.5	103.1	2.70	94.1	2.66	102.3	4.01
2,3,5,6-Tcp	2.5	86.2	3.92	86.5	4.71	88.3	3.55
	12.5	91.7	3.51	96.0	4.10	87.2	3.90
	62.5	96.9	2.40	101.9	3.15	101.7	1.92
2,3,4,6-Tcp	2.5	87.3	4.51	85.1	4.02	92.1	3.70
	12.5	91.7	4.49	91.1	4.19	89.9	4.51
	62.5	93.9	4.47	97.7	3.72	104.5	2.68
2,3,4,5-Tcp	2.5	89.0	4.81	89.7	4.77	90.0	3.71
	12.5	99.2	4.24	96.0	4.19	89.5	2.55
	62.5	104.0	3.01	101.8	4.20	95.1	3.77
PCP	2.5	90.1	3.95	86.0	4.70	93.7	3.17
	12.5	93.7	3.31	94.7	3.52	96.0	4.16
	62.5	102.0	2.70	103.8	1.99	101.2	1.86

参考文献

- [1] 余刚, 黄俊, 张彭义. 持久性有机污染物:倍受关注的全球性环境问题[J]. 环境保护, 2001, (4): 37-39.
 Yu G, Huang J, Zhang PY. Persistent organic pollutants: one of the important global environmental problems [J]. Environ Protect, 2001, (4):

37-39.

- [2] 李梦耀, 黎卫亮, 钱会.五氯苯酚的降解研究进展[J]. 安全与环境学报, 2007, 7(2): 32-35.
 Li MY, Li WL, Qian H. The research advances in china for degrading pentachlorophenol [J]. J Saf Environ, 2007, 7(2): 32-35.
 [3] 张彤晴, 蒋丽娟, 葛家春, 等. 五氯苯酚对渔业环境的危害与对策研

- 究进展[J]. 江苏农业科学, 2007, 4: 256-258.
- Zhang TJ, Jiang LJ, Ge JC, et al. Research progress on hazards and countermeasures of pentachlorophenol in fishery environment [J]. Jiangsu Agric Sci, 2007, 4: 256-258.
- [4] Kishino T, Kobayashi K. Studies on the mechanism of toxicity of chlorophenols founds in fish through quantitative structure -activity relationships [J]. Water Res, 1996, 30(2): 393-399.
- [5] 张兵, 郑明辉, 刘帆岩, 等. 五氯酚在洞庭湖环境介质中的分布[J]. 中国环境科学, 2001, 21(2): 165-167.
- Zhang B, Zheng MH, Liu FY, et al. Distribution of pentachlorophenol in Dongting lake environmental medium [J]. China Environ Sci, 2001, 21(2): 165-167.
- [6] Macneil JD, Patterson JR, Fesser AC, et al. Determination of pentachlorophenol in animal tissues: a Canadian perspective [J]. J Assoc off Anal Chem, 1990, 73(6): 838-841.
- [7] Turnes MI, Mejuto MC, Cela R. Determination of pentachlorophenol in water samples by capillary zone electrophoresis [J]. J ChromatogrA, 1996, 733(1): 395-404.
- [8] Becker R, Buge HC, Win T. Determination of pentachlorophenol(PCP) in waste wood --method comparison by a collaborative trial [J]. Chemosphere, 2002, 47(9): 1001-1006.
- [9] 高学杰, 张毅, 孙仕萍. 毛细管气相色谱法测定水中 2,4,6-三氯酚和五氯酚[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(5): 1098-1099.
- Gao XJ, Zhang Y, Shun SP. Determination of 2,4,6- trichlorophenol and pentachlorophenol in water by capillary gas chromatography [J]. Chin J Health Lab Technol, 2011, 21(5): 1098-1099.
- [10] Daniel V, Huber W, Bauer K, et al. Impaired in-vitrolymphocyte responses in patients with elevated pentachlorophenol(PCP)blood levels [J]. Arch Environ Health, 1995, 50(4): 287-292.
- [11] Polese L, Ribeiro ML. Methods for determination of hexachlorobenzene and pentachlorophenol in soil samples [J]. Talanta, 1998, 46(5): 915-920.
- [12] phenol[EB/OL](2016-03-01)http://baike.baidu.com/link?url=gEygCeODTiz64gf_o7uffr88hg1b-4J9CIJIFgK9-CK9iVEKk6vSgKNjuUz9Lr9XXC6g4Kb
- 8huP4BM0yUqjmMa#reference-[1]-15944-wrap.
- [13] 麦晓霞, 兰丽丽, 张晓利, 等. 气质联用测定纺织品中多种含氯苯酚[J]. 印染, 2010, 19: 32-34.
- Mai XX, Lan LL, Zhang XL, et al. Determination of residual chlorinated phenols in textiles via GC-MS [J]. DyeFinish, 2010, 19: 32-34.
- [14] 杨建英, 徐宁. 气相色谱-质谱法测定木制玩具中含氯苯酚[J]. 汕头大学学报, 2013, 28(1): 23-27.
- Yang JY, Xu N. Determination of chlorophenols in woodenstationery by gas chromatography- mass spectrometry [J]. J Shantou Univ, 2013, 28(1): 23-27.
- [15] 李琳, 薛秀玲, 连小彬. 加速溶剂萃取-高效液相色谱法测定皮革和纺织品中含氯苯酚的含量[J]. 分析化学, 2010, 10: 1469-1473.
- Li L, Xue XL, Lian XB. Determination of chlorinated phenols in leather and textiles by accelerated solvent extraction and HPLC [J]. Chin J Anal Chem, 2010, 10: 1469-1473.
- [16] 蔡志杰. 气质联用测定纺织品中多种含氯苯酚的研究[J]. 中国化工贸易, 2015, 7(23): 194-195.
- Cai ZJ. Study on the determination of chlorinated phenols in textiles by gas chromatography-mass [J]. China Chem Trade, 2015, 7(23): 194-195.
- [17] 周法东, 张玮, 李利元, 等. 高效液相色谱-串联质谱测定化妆品中 2,4,6-三氯苯酚和五氯苯酚[J]. 河北省科学院学报, 2015, 32(1): 48-53.
- Zhou FD, Zhang W, Li LY, et al. Determination of 2,4,6- trichlorophenol, pentachlorophenol in toner and moisturizer by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Hebei Acad Sci, 2015, 32(1): 48-53.

(责任编辑: 姚菲)

作者简介



符昌雨, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全与检测技术。

E-mail: fucy@sqi.org.cn