

河北省淡水鱼中五氯酚钠的残留调查

刘印平, 云 鹏, 路 杨, 王丽英, 陈福尊, 冯 静, 董 彬, 常凤启*

(河北省疾病预防控制中心, 石家庄 050021)

摘 要: 目的 建立淡水鱼组织中五氯酚钠的气相色谱-质谱测定方法, 并调查河北省市场上淡水鱼中五氯酚钠的污染状况。**方法** 鱼肉组织加入内标后, 经 5%三氯乙酸沉淀, 液液萃取, SLC 柱净化, 采用乙酸酐-吡啶溶液衍生成五氯苯氧乙酸酯, 气相色谱-质谱法测定, 内标法定量。**结果** 五氯酚在 2.5 ~ 200 ng/mL 范围内呈现良好的线性关系, $r^2=0.9990$ 。方法检出限为 0.15 $\mu\text{g/kg}$, 定量限为 0.50 $\mu\text{g/kg}$ 。测得全省采集的 66 份淡水鱼样品中, 检出阳性样品 3 份, 检出范围 2.82~6.22 $\mu\text{g/kg}$, 不合格率 4.5%。**结论** 本方法灵敏、准确, 适用于鱼肉中五氯酚钠的定量测定, 能满足基层筛查要求。今后应重点加强水产品中五氯酚钠监测工作, 保障食品安全。

关键词: 五氯酚钠; 淡水鱼; 污染调查; 气相色谱-质谱法; 河北省

Survey of sodium pentachlorophenolate residues in freshwater fish of Hebei province

LIU Yin-Ping, YUN Peng, LU Yang, WANG Li-Ying, CHEN Fu-Zun, FENG Jing,
DONG Bin, CHANG Feng-Qi*

(Hebei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Shijiazhuang 050021, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of sodium pentachlorophenol in freshwater fish tissues by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and to investigate the contamination of sodium pentachlorophenol in freshwater fish in Hebei province. **Methods** After adding internal standard, fish tissue was precipitated by 5% trichloroacetic acid, extracted by liquid-liquid, purified by SLC column, and then derived into pentachlorophenoxyacetate by acetic anhydride pyridine solution. The content was determined by GC-MS and quantified by internal standard method. **Results** The linear range of pentachlorophenol was 2.5–200 ng/mL, $r^2=0.9990$. The limit of detection was 0.15 $\mu\text{g/kg}$ and the limit of quantitation was 0.50 $\mu\text{g/kg}$. Among 66 freshwater fish samples collected in the whole province, 3 samples were positive, the detection range was 2.82–6.22 $\mu\text{g/kg}$, and the unqualified rate was 4.5%. **Conclusion** This method is sensitive, accurate and suitable for the quantitative determination of sodium pentachlorophenol in fish and can meet the requirements of primary screening. In the future, the monitoring of sodium pentachlorophenol in aquatic products should be strengthened to ensure food safety.

KEY WORDS: sodium pentachlorophenolate; freshwater fish; pollution survey; gas chromatography-mass spectrometry; Hebei province

*通讯作者: 常凤启, 主任技师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: hbweisheng2@163.com

*Corresponding author: CHANG Feng-Qi, Chief Technician, Hebei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Shijiazhuang 050021, China. E-mail: hbweisheng2@163.com

1 引 言

五氯酚(pentachlorophenol, PCP)及其钠盐作为一种高效廉价的杀虫剂、除草剂、抗菌剂、防腐剂等在世界范围内广泛应用,我国曾大量将五氯酚钠(PCP-Na)用于杀灭钉螺^[1]。五氯酚钠盐属高毒有机氯农药,在酸性条件下可转化为五氯酚。五氯酚及其钠盐化学性质稳定,不易被氧化,也难于水解,是具有强持久性和难降解性的环境污染物。五氯酚及其钠盐还具有生物蓄积作用,会大量地富集在沉积物和生物体内^[1]。五氯酚及其钠盐可通过食物链进入塘鱼、家畜、乳牛、家禽等动物体内,残留于鱼、肉、乳、蛋等动物性食品中,被人们食用后,轻者可引起乏力、头昏、恶心等急性中毒症状,重者高烧、昏迷甚至死亡^[2]。毒理研究表明^[3,4],五氯酚及其钠盐是一种遗传毒性物质,可导致染色体畸变和基因点突变,对胚胎和生殖细胞有致畸和致突变作用。中华人民共和国农业部公告第 193 号规定,所有食品动物中不得检出五氯酚钠^[5]。

五氯酚钠具有较高的水溶性,易通过水载体广泛扩散,从而影响生态安全并产生生物蓄积。因此,鱼肉组织中五氯酚钠的检测能直观地反映污染水体对生物种群的综合毒性,是预测和控制化学物质污染的一种不可缺少的辅助手段^[6]。目前,五氯酚及其钠盐常用的检测方法有高效液相色谱法^[7]、超高效液相色谱-串联质谱(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)技术^[8]、气相色谱法^[9]、分光光度法^[10]。UPLC-MS/MS 灵敏度高、前处理简单,但仪器昂贵,难以普及。其他方法面临有机溶剂使用量大,定性、定量效果不准确的缺点。国家标准 GB 29708-2013《食品安全国家标准 动物性食品中五氯酚钠残留量的测定 气相色谱-质谱法》^[11]中规定了气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)测定动物性食品中五氯酚钠残留量。本研究在 GB 29708-2013 方法基础上,增加了 SLC 固相萃取柱净化,并针对鱼肉样品基质干扰,配备了基质校正曲线,对淡水鱼中五氯酚钠含量的测定进行优化,并调查了唐山、秦皇岛、张家口、廊坊、承德及衡水等河北省内市场采集的淡水鱼中五氯酚及其钠盐的残留情况,以期为人民的食品安全提供可靠保障。

2 材料与方法

2.1 实验材料

2.1.1 样品来源

2018 年 6 月份在河北省唐山、秦皇岛、张家口、廊坊、承德、衡水的超市和农贸市场等地共采集 66 份淡水鱼样品(鲤鱼、鲫鱼、草鱼、鲢鱼、罗非鱼)。样品采集后编号并记录,冷冻保存,采样完毕后 1 个月内完成检测。

2.1.2 仪 器

DSQII 型气相色谱-质谱仪(美国 Thermo 公司); JJ600 电子天平(常熟市双杰测试仪器厂); T25 型高速均质器(德国 IKA 公司); SW22 型恒温水浴槽(德国 Julabo 公司); N-EVAP 112 氮吹仪(美国 Organomation 公司); 3-30K 冷冻离心机(美国 Sigma 公司)。

2.1.3 试剂及标准溶液

正己烷、乙酸乙酯、乙腈、丙酮(色谱纯,德国默克公司); 碳酸钾、乙酸酐、吡啶乙酸酐、三氯乙酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司); 无水硫酸钠(分析纯,天津科密欧化学试剂有限公司); 五氯酚标准储备液(100 μg/mL,农业部环境保护科研监测所); 2,4,6-三溴酚内标储备液(2000 μg/mL,上海安谱公司); SLC 固相萃取柱(500 mg/6 mL,杭州福裕科技服务有限公司); Waters Oasis MAX 固相萃取柱(500 mg/6 mL,美国 Waters 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 气相色谱条件

载气:高纯氮(纯度≥99.999%); DB-5MS 色谱柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm); 流量:1.0 mL/min; 进样口温度:230 °C; 进样量:1 μL,不分流; 升温程序:80 °C 保持 2 min,再以 10 °C/min 的速率升至 250 °C,保持 2 min。升至 290 °C 后运行 4 min。

2.2.2 质谱条件

接口温度:280 °C; 离子源温度:230 °C; 电离方式:电子轰击源(electron impact ion source, EI); 监测方式:选择离子监测(selected ion monitor, SIM),五氯酚及其内标衍生物的定性定量离子见表 1。

表 1 五氯酚及内标衍生物监测离子
Table 1 Monitoring ions of pentachlorophenol and its internal standard

序号	化合物	保留时间/min	定量离子	定性离子
1	内标物 2,4,6-三溴苯乙酸酯 (2,4,6-三溴酚)	13.77	330	328、332
2	五氯苯乙酸酯 (五氯酚)	14.60	266	264、268、308

2.2.3 样品前处理

(1)样品提取、净化

称取 5.0 g 绞碎可食鱼肉部分,加入 2,4,6-三溴酚内标

液(10.0 μg/mL)30 μL、5%三氯乙酸溶液 20 mL,匀浆 1 min。再加入 10 mL 乙酸乙酯:正己烷=1:9(V:V)的提取液,涡旋震荡提取 2 min,8000 r/min 高速离心 4 min,上层有机

相氮气吹干, 2 mL 乙腈复溶待净化。

取 SLC 固相萃取柱, 加 0.2 g 无水硫酸钠, 用 4 mL 乙腈活化柱子, 然后吸取上述乙腈相过柱并收集。待乙腈流尽后, 再用 4 mL 乙腈洗脱收集, 氮气浓缩至约 0.5 mL, 残余物待衍生。

(2)衍生

在上述残余物中加入衍生试剂 0.2 mL[乙酸酐:吡啶=1:1(V:V), 现配现用], 密封, 于 60 ℃水浴反应 15 min, 冷却后加 0.5 mL 正己烷、2.0 mL 碳酸钾溶液(0.2 mol/L), 离心, 取上层有机相进行 GC-MS 法分析。

2.2.4 标准曲线和基质校正曲线的绘制

标准曲线: 取 2.5、10、25、50、100、200 μL 五氯酚标准使用液, 分别加入 30 μL 内标使用液、0.5 mL 乙腈、0.2 mL 衍生试剂, 密封, 同样品一起衍生、提取, 得到 2.5~200 ng/mL 五氯酚标准曲线。

基质校正曲线: 取 2.5、10、25、50、100、200 μL 五氯酚标准使用液, 分别溶解于经过净化氮吹至近干后的空白样品基质, 同时分别添加内标使用液 30 μL, 获得 2.5~200 ng/mL 五氯酚基质匹配系列校正溶液(其中内标的浓度为 30 ng/mL)。以五氯酚的质量浓度与内标的质量浓

度比为横坐标(X), 五氯酚仪器检测的峰面积与内标的峰面积比为纵坐标(Y), 制作基质校准曲线。

3 结果与分析

3.1 净化柱的选择

目前《国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册》以及其他方法中的五氯酚钠测定方法多采用的是 SLC 柱^[12], 也有文献采用了 Waters Oasis MAX 固相萃取小柱^[13]。本研究通过对比发现, 当加标浓度为 5.0 μg/kg 时, 二者的回收率以及样品加标的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)(n=6)相当, 见图 1。鉴于 SLC 柱价格便宜, 本研究采用了 SLC 固相萃取小柱。

3.2 基质效应与方法学验证

质谱分析中基质干扰物会影响目标化合物的离子化, 造成目标化合物仪器响应信号的增强或抑制^[14]。针对复杂的鱼肉样品基质可能带来的较大干扰, 本研究分别做线性范围为 2.5~200 ng/mL 的标准曲线和基质校正曲线, 并对同一空白样品分别做 0.5、5.0、10.0 μg/kg 3 个不同水平标准添加回收实验, 进行 6 次重复测定, 进行对比, 定量结果见表 2。

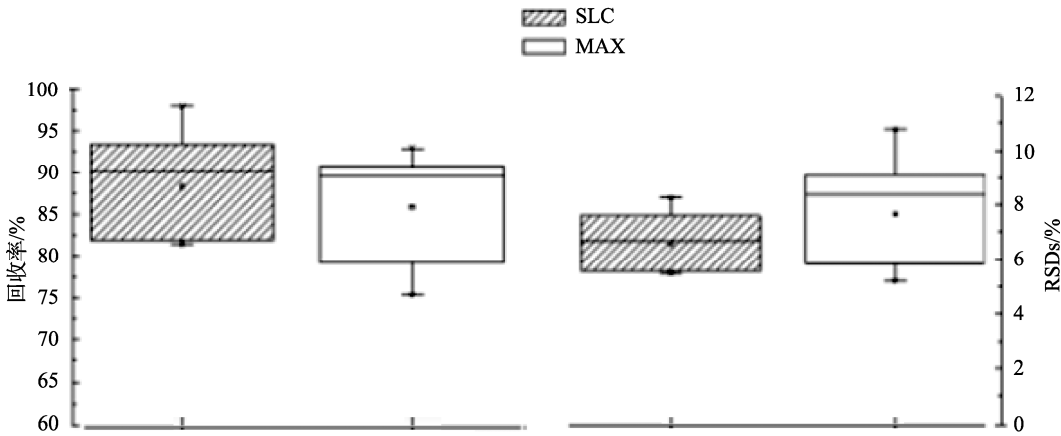


图 1 不同净化柱时样品加标的回收率及相对标准偏差(加标浓度为 5.0 μg/kg)
Fig.1 Recoveries and RSD of samples with different purification columns (spiked concentration was 5.0 μg/kg)

结果显示, 五氯酚在以上浓度范围内与峰面积呈现良好的线性关系。标准曲线回归方程为 $Y=-0.0120233+0.00283195X$, $r^2=0.9990$, 基质校正曲线回归方程为 $Y=-0.0150959+0.00354134X$, $r^2=0.9992$, 方法线性关系较好。但是鱼肉基质对五氯酚钠的测定结果有一定的基质增强效应(回收率为 121.3%~128.7%), 会对测定结果准确度带来一定影响。而采用相同基质校正曲线则有效降低了基质干扰(回收率为 79.1%~94.3%), 使定量结果更为准确, 因此采用基质校正曲线法测定。

表 2 标准曲线法与基质校正曲线法定量结果比对(n=6)
Table 2 Comparison of quantitative results between standard curve method and matrix calibration curve method (n=6)

加标浓度 /(μg/kg)	标准曲线法		基质校正曲线法	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
0.5	128.7	11.9	79.1	9.1
5.0	123.6	8.6	93.4	2.6
10.0	121.3	6.2	94.3	5.4

3.3 与国标方法的比对

本方法在 GB 29708-2013 方法基础上, 增加了 SLC 固相萃取柱净化。净化更彻底, 方法的准确度(回收率)和灵敏度(检出限)较国标方法都有所提升, 结果如表 3 所示。

加标浓度为 0.5 ~ 10 μg/kg 时, 加标回收率范围为 75.1%~98.2%, RSD 低于 10%, 说明方法准确可靠, 重现性好。以 3 倍信噪比计算方法的检出限, 以 10 倍信噪比计算

方法的定量限。测得方法检出限为 0.15 μg/kg, 定量限为 0.50 μg/kg, 方法灵敏度高。

3.4 质量控制

每批 5~7 个样品做 1 个流程空白, 每 10 个样品中选取 1 个样品进行平行测定, 并对每一个阳性样品进行复检, 以进一步严格保证污染物监测结果的准确可靠。流程空白中均未检出待测目标物, 因此结果未扣除空白值。

表 3 淡水鱼中五氯酚钠加标回收率结果与国标方法比对
Table 3 Comparison of recovery of sodium pentachlorophenol in freshwater fish with national standard method

测定项目	加标浓度/(μg/kg)	GB 29708-2013 方法			本方法		
		回收率/%	RSD/%	检出限/(μg/kg)	回收率/%	RSD/%	检出限/(μg/kg)
五氯酚钠	0.5	62.3~76.0	8.8~15.1	0.25	75.1~79.8	8.0~9.7	0.15
	5	78.9~115.4	10.6~16.5		81.7~98.2	5.5~8.3	
	10	80.5~118.8	9.2~16.7		77.8~96.5	4.5~7.2	

3.5 实际样品中五氯酚钠含量的测定

采用本方法对 66 份鱼肉样品进行五氯酚钠残留测定, 每 10 个样品中选取 1 个样品进行平行测定, 以此严格保证污染物监测结果的准确可靠。结果显示, 监测总合格率为 95.5% (63/66)。共检出 3 份阳性样品, 五氯酚钠的平均值为 5.02 μg/kg。3 份阳性样品均来自唐山地区, 分别为鲫鱼(6.01 μg/kg)、鲤鱼(2.82 μg/kg)和草鱼(6.22 μg/kg)样品。为进一步确保结果的准确性, 对以上 3 个阳性样品进行复检, 复检结果分别为 5.96、2.65 和 6.26 μg/kg。将本研究结果同其他地区动物性食品中五氯酚钠的残留水平进行比较发现, 相对于畜禽肉和蛋类, 鱼类等水产品中五氯酚钠的污染残留较明显, 应引起足够重视, 具体见表 4。

表 4 不同地区食物中五氯酚钠的污染水平比较
Table 4 Comparison of contamination levels of sodium pentachlorophenolate in different regions

基质	检出范围 (μg/kg)	平均值 (μg/kg)	检出率/%	参考文献
禽畜肉	--	--	2.27(1/44)	温州 ^[15]
鸡蛋	未检出	--	0	云南 ^[16]
双壳类水产品	2.82 ~ 9.32	5.63	100(7/7)	宁波 ^[17]
鱼	0.62 ~ 17.55	7.41	17.8(5/28)	常州 ^[18]
淡水鱼	2.82 ~ 6.22	5.02	4.55(3/66)	本研究

注: “--”表示文献未给出。

的定量测定, 能满足基层筛查要求。本研究同时对淡水鱼中五氯酚钠的污染状况进行研究, 调查了河北省市场上淡水鱼中五氯酚钠的污染状况。相对于畜禽肉和蛋类, 鱼类等水产品中五氯酚钠的污染残留较明显, 应引起人们对五氯酚钠的毒害作用的足够重视, 今后应重点加强水产品中五氯酚钠监测工作, 保障人民食品安全。

参考文献

[1] 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.
Yong ZF, Cao H, Cai DD. Determination of pentachlorophenol in meat by automated solid phase extraction-internal standard derivation gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Jiangsu J Prev Med, 2017, 28(6): 619-621.

[2] 胡滨, 陈一资, 胡惠民. 动物性食品中五氯酚钠残留及对人畜毒害的研究[J]. 肉品卫生, 2005, 2: 27-29.
Hu B, Chen YZ, Hu HM. Research on the harm to human being and livestock caused by residues of sodium pentachlorophenolate in animal foodstuff [J]. Meat Hyg, 2005, 2: 27-29.

[3] 杨淑贞, 韩晓冬, 陈伟. 五氯酚对生物体的毒性研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2005, 22(5): 396-398.
Yang SZ, Han XD, Chen W. Advances in the toxicity of pentachlorophenol on organism [J]. J Environ Health, 2005, 22(5): 396-398.

[4] 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.
Xia Y, Dong XL, Meng Z, et al. A study on the development toxicity and genotoxicity induced by sodium pentachlorophenolate [J]. Prev Med, 2016, 28(11): 1081-1086.

[5] 中华人民共和国农业农村部. 农业部 193 号公告食品动物禁用药物 [EB/OL]. [2011-04-22]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwlml/tzgg/gg/201104/t20110422_1976324.htm.
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. Announcement No. 193 of the Ministry of Agriculture on prohi

4 结 论

本研究建立了淡水鱼组织中五氯酚钠的气相色谱-质谱测定方法, 方法灵敏、准确, 适用于鱼肉中五氯酚钠

- bited drugs for food and animals [EB/OL]. [2011-04-22]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwllm/tzgg/gg/201104/t20110422_1976324.htm.
- [6] 陈海刚, 李兆利, 徐韵, 等. 五氯酚钠对鲤鱼肾细胞 DNA 损伤的体内和体外研究[J]. 环境与健康杂志, 2006, 23(6): 515-517.
- Chen HG, Li ZL, Xu Y, *et al.* DNA damage induced by sodium pentachlorophenate in crucian kidney cells *in vivo* and *in vitro* [J]. J Environ Health, 2006, 23(6): 515-517.
- [7] 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, 3: 427-428.
- Liao LC, Yan YY, Lin L, *et al.* Detection of pentachlorophenol in biomaterial using HPLC [J]. J Sichuan Univ (Med Sci Ed), 2004, 3: 427-428.
- [8] 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(16): 518-522.
- Wang LZ, Fang EH, Wang CJ, *et al.* Determination of trace pentachlorophenol and its sodium salt in animal-origin foods by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2018, 36(16): 518-522.
- [9] 费志良, 葛家春, 吴军, 等. 气相色谱测定青虾、草鱼肌肉中五氯苯酚及其钠盐残留总量的方法[J]. 南京师大学报: 自然科学版, 2004, 3: 70-73.
- Fei ZL, Ge JC, Wu J, *et al.* Determination of total amount of pentachlorophenol and its sodium salt's residues in muscle tissues of *Macrobrachium nipponensis* and *Ctenopharyngodon idelus* by gas chromatography [J]. J Nanjing Normal Univ (Nat Sci Ed), 2004, 3: 70-73.
- [10] 肖振林, 丛俏, 曲蛟, 等. 紫外分光光度法测定土壤中五氯酚[J]. 理化检验: 化学分册, 2010, (6): 660-662.
- Xiao ZL, Cong Q, Qu J, *et al.* Determination of pentachlorophenol in soil by UV spectrophotometry [J]. Phys Test Chem Anal Part B, 2010, (6): 660-662.
- [11] GB 29708-2013 食品安全国家标准 动物性食品中五氯酚钠残留量的测定 气相色谱-质谱法[S].
- GB 29708-2013 National food safety standard-Determination of sodium pentachlorophenol residues in animal derived food-Gas chromatography-mass spectrometric method [S].
- [12] 赵舰, 程莉, 唐晓琴, 等. 气相色谱-离子阱质谱(MSⁿ)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.
- Zhao J, Cheng L, Tang XQ, *et al.* Determination of pentachlorophenol in chicken and pork by gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry(MSⁿ)coupled with isotopic internal standard derivatization [J]. Chin J Health Lab Technol, 2016, 26(19): 2773-2775.
- [13] 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肌肉中的五氯酚[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(9): 2096-2100.
- He X, Zhou JF, Tang HQ. Determination of pentachlorophenol in freshwater fish by solid phase extraction-gas chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(9): 2096-2100.
- [14] Chatterjee NS, Utture S, Banerjee K, *et al.* Multiresidue analysis of multiclass pesticides and polyaromatic hydrocarbons in fatty fish by gas chromatography tandem mass spectrometry and evaluation of matrix effect [J]. Food Chem, 2016, 196: 1-8.
- [15] 蔡圆圆, 林丹, 山若青, 等. 温州市禽畜肉、蛋中兽药残留监测分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(2): 245-249.
- Cai YY, Lin D, Shan RQ, *et al.* Surveillance and analysis of veterinary drug residues in livestock and poultry meat and eggs in Wenzhou [J]. Chin J Health Lab Technol, 2017, 27(2): 245-249.
- [16] 杨萍, 刘阳, 徐丹先, 等. 2016年云南省部分地区鸡蛋中兽药及禁用药物残留监测结果分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(10): 3854-3857.
- Yang P, Liu Y, Xu DX, *et al.* Analysis of monitoring results of veterinary drugs and banned drugs in eggs in some areas of Yunnan province in 2016 [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(10): 3854-3857.
- [17] 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.
- Shi YK, Yang MG, Yang QH, *et al.* Rapid determination of pentachlorophenol in aquatic products by GC-MS [J]. Chin J Food Hyg, 2015, 27(1): 19-21.
- [18] 唐宏兵, 欧阳运富. 固相微萃取-气相色谱法测定鱼肉中五氯酚[J]. 理化检验-化学分册, 2011, 47(9): 1026-1028.
- Tang HB, Ouyang YF. GC determination of pentachlorophenol in fish with separation by SPME [J]. Phys Test Chem Anal Part B, 2011, 47(9): 1026-1028.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



刘印平, 副主任技师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: liuyinping0930@163.com



常凤启, 主任技师, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: hbweisheng2@163.com