

固相萃取-气相色谱-串联质谱法测定 木耳中五氯苯酚

卢忠魁^{1,2,3}, 刘超^{1,2,3}, 李鲤^{1,2}, 李天娇^{1,2}, 吕红英^{1,2}, 李百洋¹, 李凤林^{1,2,3*}

(1. 吉林农业科技学院食品工程学院, 吉林 132101; 2. 吉林省酿造技术科技创新中心, 吉林 132101;
3. 吉林省谷物精深加工校企联合技术创新实验室, 吉林 132101)

摘要: **目的** 建立固相萃取-气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)测定木耳中五氯苯酚的分析方法。**方法** 以2,4,6-三溴苯酚为内标物, 样品经5%三氯乙酸水溶液浸提, 以乙酸乙酯/正己烷液-液分配法萃取五氯苯酚, 经SLC(氧化铝/SCX)固相萃取柱净化样品提取液, 乙酸酐衍生, HP-5MS毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)分离样品, 在多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式下, 采用内标法定量。**结果** 方法在五氯苯酚质量浓度1~100 ng/mL范围具有良好线性关系, 线性相关系数大于0.9999, 在方法线性范围内低、中、高3个浓度水平加标回收率在89.3%~108.7%之间, 相对标准偏差2.1%~9.0%。方法检出限为0.06 μg/kg, 定量限为0.20 μg/kg。**结论** 本方法灵敏度高, 方法稳定, 重现性好, 可用于木耳样品中五氯苯酚的定性定量测定。

关键词: 气相色谱-串联质谱法; 五氯苯酚; 木耳

Determination of pentachlorophenol in agaric by solid phase extraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry

LU Zhong-Kui^{1,2,3}, LIU Chao^{1,2,3}, LI Li^{1,2}, LI Tian-Jiao^{1,2},
LV Hong-Ying^{1,2}, LI Bai-Yang¹, LI Feng-Lin^{1,2,3*}

(1. College of Food Engineering, Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin 132101, China;
2. Jilin Province Brewing Technology Innovation Center, Jilin 132101, China; 3. Jilin Province Grain Deep Processing School Enterprise Joint Technology Innovation Laboratory, Jilin 132101, China)

ABSTRACT: Objective To establish an analytical methods for the pentachlorophenol in agaric by solid-extraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). **Methods** Using 2,4,6-tribromophenol as the internal standard, the agaric samples were extracted with 5% trichloroacetic acid aqueous solution, and pentachlorophenol was extracted using ethyl acetate/*n*-hexane liquid-liquid extraction method. The samples extracted liquid were purified using SLC (alumina/SCX) solid-phase extraction column, followed by acetic anhydride derivatization and separated by HP-5MS capillary column (30 m×0.25 mm, 0.25 μm), and detected in multiple

基金项目: 吉林农业科技学院人才启动基金项目(20215010)、国家重点研发计划项目(2021YFD1600903)、吉林农业科技学院营养与健康食品科技团队项目(2019)

Fund: Supported by the Jilin Agricultural Science and Technology University Talent Launch Fund (20215010), the National Key Research and development Program of China (2021YFD1600903), and the Jilin University of Agricultural Science and Technology Nutrition and Health Food Technology Team Project (2019)

***通信作者:** 李凤林, 博士, 教授, 主要研究方向为粮油植物蛋白及酿造功能性食品。E-mail: 568169115@qq.com

***Corresponding author:** LI Feng-Lin, Ph.D, Professor, College of Food Engineering, Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin 132101, China. E-mail: 568169115@qq.com

reaction monitoring (MRM) mode and quantitated using an internal standards method. **Results** The method had a good linear relationship in the range of mass concentration of pentachlorophenol from 1 to 100 ng/mL, and the linear correlation coefficient was greater than 0.9999, the recoveries of the pentachlorophenol at the 3 spiked concentrations were 89.3%–108.7% and the relative standard deviations were 2.1%–9.0%. The limit of detection was 0.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the limit of quantitation was 0.20 $\mu\text{g}/\text{kg}$. **Conclusion** This method has high sensitivity, stability and good reproducibility, and can be used for qualitative and quantitative determination of pentachlorophenol in agaric samples.

KEY WORDS: gas chromatography-tandem mass spectrometry; pentachlorophenol; agaric

0 引言

五氯苯酚(pentachlorophenol, PCP)及其钠盐(NaPCP)作为木材防腐剂、防霉剂、皮革保存剂、杀虫剂、除草剂等,曾被广泛用于工农业生产过程。PCP 化学性质稳定,难于自然降解,是《鹿特丹公约》限制的化学品之一,被国际癌症研究机构列为 2B 类致癌物质^[1]。2002 年原农业部第 235 号公告将 PCP 钠列为禁止使用兽药,不得在产品中检出。2019 年农业农村部第 250 号公告《食品动物中禁止使用的药品及其他化合物清单》将 PCP 钠列为禁止使用化合物清单。虽然我国在农业生产领域已经禁用 PCP 多年,但在其他行业作为防霉、防腐剂等仍在使用,并且由于其自然降解困难导致在自然环境部分流域水体、河湖底泥、植物体^[2-3]、动物体^[4-5]内仍存在持续的残留污染。PCP 在肉、蛋、乳、鱼、虾等动物源性食品^[6-7]的检出,以及在人尿液^[8-9]、乳汁^[10]、血液样品^[11]的检出,表明其具有食物链富集现象,对人体潜在危害巨大。

目前农产品、食品中 PCP 的检测方法主要有气相色谱法^[12-13]、液相色谱法^[14]、分子印迹法^[15]、电化学法^[16-17]、比色法^[18]、气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[19-22]、气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)^[23-24]、液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)^[25-30]等。其中,LC-MS/MS、GC-MS、GC-MS/MS 在定性、定量方面具有独特的优势,仍是 PCP 的主要检测技术。LC-MS/MS 在动物性样品中 PCP 的检测中应用较多,相比于 GC-MS、GC-MS/MS,不需要衍生,样品制备更简单,但基质效应影响较为显著^[27-28]。另外,PCP 在一般的 LC-MS/MS 不能有效地生成二级离子,以氯同位素质量差异选择不同质量数的 PCP 分子离子作为二级离子定性,在 PCP 定性分析的特异性方面存在不足^[29],而 GC-MS/MS 可以解决这一问题,在 PCP 定性分析过程中更有优势。

近年来,食品安全风险监测过程中不断有木竹制品如砧板^[20]、纸杯^[21]、木竹制筷子等与食品相关的制品检出 PCP,与食品相关的制品是人群暴露于 PCP 污染的途径之一^[21-22,31-32]。与木竹质材料相关的食品加工用工具、用具

存在造成 PCP 污染的食品安全风险因素,而依据 NY/T 528—2010《食用菌菌种生产技术规程》及 DB 22/T 1128—2021《黑木耳代料地栽生产技术规程》,木耳为生长于以木质原料为培养基的食用菌类,表明其生长环境存在 PCP 污染的风险^[3-4]。目前,农产品或食品中 PCP 的检测方法集中于动物性食品、水产品及食品加工相关的木竹类用具、包装用纸等^[33-34]。植物性农产品及相关食品的检测方法较为鲜见。与动物源性食品相比,植物源性食品含有大量色素、糖类、有机酸、脂类等,基质复杂,影响目标物的准确检测^[35]。本研究结合木耳样品富含蛋白质及胶质类物质的基质特性,采用液液分配与固相萃取结合对样品中 PCP 进行提取、浓缩、净化,经衍生后,应用 GC-MS/MS 进行准确性、定量分析,为开展木耳类样品中的 PCP 污染现状调查及食品安全风险因素评估提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

木耳样品购自超市、农贸市场。

乙酸乙酯、乙腈、正己烷(色谱纯,美国赛默飞世尔科技有限公司);乙酸酐(分析纯,北京化工厂);三氯乙酸(trichloroacetic acid, TCA)(分析纯,天津市光复精细化工研究所);碳酸钾(分析纯)、甲酸(色谱纯)、SLC 固相萃取柱(氧化铝/SCX, 500 mg/6 mL)(上海安谱科技有限公司);PCP 标准溶液(GSBG05-1850-2008, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、2,4,6-三溴苯酚(2,4,6-tribromophenol, TBP) (1ST000138-100, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)(天津阿尔塔有限公司);2,4-二溴苯酚(BWQ8387-2016, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)(北京市北方伟业计量技术研究所)。

1.2 仪器与设备

Agilent 7000D 气相色谱串联三重四极杆质谱仪(配有 MassHunter B.07.06 质谱数据处理软件)、HP-5MS 弹性石英毛细管柱(30 m \times 250 μm , 0.25 μm)(美国安捷伦科技有限公司);HP-25D 固相萃取仪(天津市恒奥科技发展有限公司);TTL-DCII 氮吹仪(北京同泰联科技发展有限公司);KQ-600DE 超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司);H3-20KR 高速冷冻离心机(湖南可成仪器设备有限公司);D160 高速组织均质器、MX-S 旋涡混合器[大龙兴创实验仪器(北京)股

份公司]; MP-19H 恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司); FTX 电子天平百分之一[华志(福建)电子科技有限公司]。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备

(1) 样品提取

干木耳样品: 取混合均匀木耳样品于高速组织粉碎机破碎后, 过 40 目筛, 保存于棕色玻璃瓶中。称取 1 g(精确至 0.01 g) 粉碎后木耳样品于 50 mL 具塞塑料离心管中, 移取 20 mL 5 g/100 mL TCA 水溶液于离心管中, 加入 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TBP 内标溶液 20 μL , 摇匀放置 10 min。以高速组织分散器分散 1 min, 加入正己烷/乙酸乙酯(9+1, V:V, 下同) 10 mL, 涡旋 1 min 萃取。静置后, 以 4 $^{\circ}\text{C}$ 8000 r/min 离心 5 min, 移取上层有机相于 40 $^{\circ}\text{C}$ 氮吹仪吹至干。加入 2 mL 乙腈, 超声溶解 30 s, 待净化。

鲜木耳样品: 取混合均匀鲜木耳样品于匀浆机匀浆后, 保存于棕色玻璃瓶保中。称取 10 g 样品于 50 mL 具塞离心管中, 自移取 20 mL 5 g/100 mL TCA 起按干木耳操作。

(2) 净化

取 SLC 固相萃取柱, 向柱上加入 1 cm 高无水硫酸钠, 经 5 mL 乙腈活化, 待乙腈流至无水硫酸钠上表面时, 将样品待净化液加入固相萃取柱上, 以 1 滴/s 流速过柱, 待全部流出后, 加入 5 mL 乙腈洗脱, 收集除活化液外的全部流出液, 于 50 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹至 1 mL, 待衍生。

(3) 衍生

向待衍生样品制备液中加入 200 μL 乙酸酐, 旋涡混匀后于 60 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴衍生反应 15 min。取出冷却至室温, 加入 0.3 mol/L K_2CO_3 水溶液 2 mL, 充分摇匀, 静置。待无气体逸出后加入正己烷/乙酸乙酯(8+2) 萃取剂 1.0 mL, 旋涡 1 min, 充分萃取, 静置分层。取上层有机相于自动进样器样品瓶, 待 GC-MS/MS 测定。

1.3.2 标准溶液的配制

取 PCP 标准溶液 100 μL 于 100 mL 容量瓶, 加乙腈定容, 制备 100 ng/mL PCP 标准使用溶液; 吸取 TBP 标准溶液 1.00 mL 于 10 mL 容量瓶, 加乙腈定容, 制备 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TBP 标准使用溶液。分别吸取 100 ng/mL PCP 标准使用溶液 10、20、50、100、200、400、600、1000 μL 置于 10 mL 具塞比色管中, 加乙腈至 1.0 mL 混匀, 加入 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TBP 内标溶液 20 μL , 混匀后, 按 1.3.1 衍生操作制得五氯苯乙酸酯衍生物(1、5、10、20、40、60、100 ng/mL), 待 GC-MS/MS 测定。

1.4 仪器条件

色谱条件: HP-5MS 弹性石英毛细管柱(30 m \times 250 μm , 0.25 μm); 载气: He, 纯度>99.999%; 进样模式: 不分流进样, 进样量 1 μL ; 进样口温度: 240 $^{\circ}\text{C}$; 柱箱温度: 90 $^{\circ}\text{C}$, 程序升温: 90 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min, 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 230 $^{\circ}\text{C}$, 保持 3 min, 50 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 280 $^{\circ}\text{C}$, 保持 3 min, 后运行 90 $^{\circ}\text{C}$, 5 min。

质谱条件: 电子轰击(electron impact, EI)源; 电离能量: 70 eV; 离子源温度: 230 $^{\circ}\text{C}$; 四极杆温度: 150 $^{\circ}\text{C}$; 淬灭气 He: 2.25 mL/min; 碰撞气 N_2 : 1.5 mL/min; 溶剂延迟时间: 5 min; 增益因子: 10; 检测模式: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式; 定量方式: 内标法。采集化合物定性、定量离子参数及碰撞能量参数见表 1。

表 1 五氯苯乙酸酯及 2,4,6-三溴苯乙酸酯内标 GC-MS/MS 分析参数

Table 1 GC-MS/MS analysis parameters of pentachlorophenyl acetate and 2,4,6-tribromophenyl acetate internal standard

化合物名称	保留时间/min	定量离子	定性离子	碰撞能量/eV
五氯苯乙酸酯	11.099	265.3>167.0	265.3>201.8	30, 15
2,4,6-三溴苯乙酸酯	10.586	29.3>141.1	329.3>221.9	40, 25

1.5 数据处理

采用 Agilent Masshunter 数据处理软件对采集的化合物质谱数据进行分析, 依据保留时间、定性离子与定量离子对比率定性, 利用定量软件建立 PCP 内标法定量标准曲线, 并对样品进行定量计算。利用 Microsoft Excell 2010 对数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 内标物的确定

内标法定测定 PCP 内标化合物应用较多的有 2,4-二溴苯酚和 TBP, 本研究分别采用两者作为内标物按 1.4 条件进行 GC-MS/MS 全扫描测定, 结果见图 1。2,4-二溴苯乙酸酯保留时间 8.886 min, 2,4,6-三溴苯乙酸酯保留时间 10.500 min, 五氯苯乙酸酯保留时间 11.118 min, 两种内标物在相同浓度条件下, 2,4-二溴苯乙酸酯响应值明显低于 2,4,6-三溴苯乙酸酯, 且保留时间与 PCP 相对较远, 因此本研究选用 TBP 为内标物进行 PCP 的定量测定。五氯苯乙酸酯及 2,4,6-三溴苯乙酸酯总离子流见图 2。

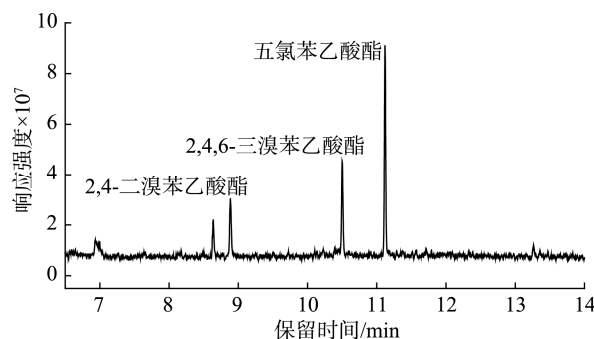


图 1 五氯苯乙酸酯、2,4-二溴苯乙酸酯及 2,4,6-三溴苯乙酸酯全扫描总离子流图

Fig.1 Full scan total ions of pentachlorophenyl acetate, 2,4-dibromophenyl acetate and 2,4,6-tribromophenyl acetate

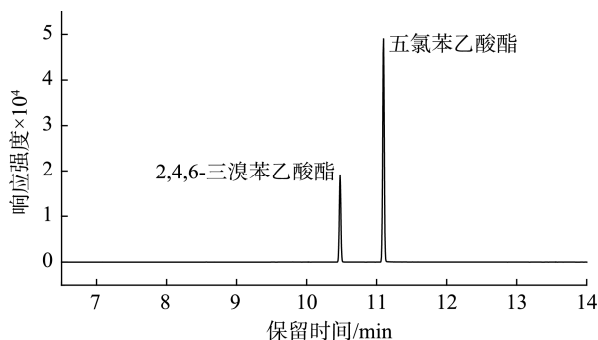


图 2 五氯苯乙酸酯、2,4,6-三溴苯乙酸酯多反应监测总离子流图
Fig.2 Multiple reaction monitoring total ions of pentachlorophenyl acetate and 2,4,6-tribromophenyl acetate

2.2 质谱条件的优化

通过对 PCP 衍生物及 TBP 内标衍生物母离子、子离子扫描, 确定监测离子质量, 结果见图 3。根据确定的监测离子分别对不同碰撞能量(collision energies, CE)值(5、10、15、20、25、30、35、40)进行选择。经优化确定五氯苯乙

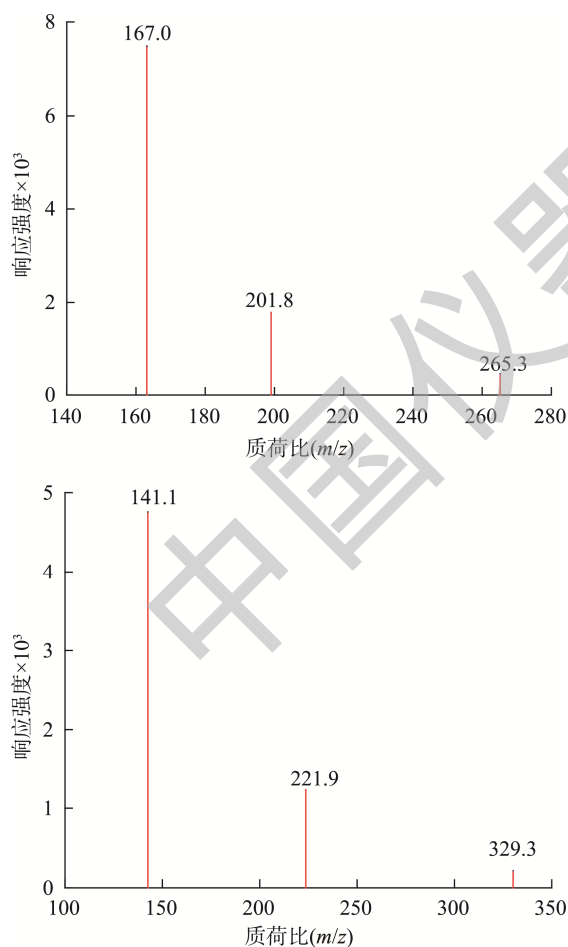


图 3 五氯苯乙酸酯及内标母离子、子离子质谱图
Fig.3 Mass spectra of pentachlorophenyl acetate and internal standard parent and daughter ions

酸酯衍生物母离子为 265.3 (m/z), 子离子为 167.0、201.8 (m/z), 对应的 CE 值为 30、15 eV; TBP 衍生物母离子为 329.3 (m/z), 子离子为 141.1、221.9 (m/z), 对应的 CE 值为 40、25 eV。

2.3 样品提取液的选择

PCP 样品制备方法中, 应用较广泛的有液-液萃取法^[22], 酸性提取法^[14,19,23,32]、碱性提取法^[10,18,24,30]、固相萃取法^[8,14,20]、QuEChERS^[25-27,29]等。由 GB/T 6192—2019 《黑木耳》可知, 干木耳样品含水量低, 质硬, 含有不小于 7% 的蛋白质, 脂质含量不小于 0.4%, 另外, 木耳还含有胶质类物质。结合木耳样品特性, 基于酸性条件下 PCP 以分子形态存在^[27-28], 有利于萃取到有机相中的特点, 本研究采用具有蛋白沉淀作用的 1% 甲酸/水、1% 甲酸乙腈/水、5% TCA/水 3 种提取剂提取样品中的 PCP。取空白干木耳样品加入 12 ng PCP 及 200 ng 内标物, 分别以 1% 甲酸/水、5% TCA/水、1% 甲酸乙腈/水为提取剂(20 mL), 浸泡 10 min 让木耳粉充分复水膨胀, 再以高速组织均质器均质 1 min, 充分浸提目标化合物, 平行测定 3 次, 结果显示, 以 5% TCA/水溶液提取时, 平均回收率最高达到 97.6%, 1% 甲酸/水提取时, 平均回收率为 85.0%, 1% 甲酸乙腈/水提取时, 平均回收率为 69.6%。PCP 的 $pK_a=4.80$, 在酸性条件下, PCP 分子更易被有机溶液萃取, 获得更高提取回收率。所以本研究以 5% TCA/水为提取溶液提取木耳中 PCP 及内标物。

2.4 PCP 及内标物萃取溶剂的优化

取 4 份均匀空白木耳粉样品, 加入 PCP 及内标物, 移取 20 mL 5 g/100 mL TCA 水溶液于离心管中, 摇匀放置 10 min。以高速组织分散器分散 1 min 后, 分别以 10 mL 正己烷、正己烷/乙酸乙酯(9+1)、正己烷/乙酸乙酯(8+2)、正己烷/乙酸乙酯(7+3)为萃取剂, 萃取样品中 PCP 和内标物, 考查不同萃取剂的回收率。结果显示, 不同比例有机相提取 PCP 及内标物时, 提取效率不同。当无乙酸乙酯时, 内标物提取率低, 正己烷/乙酸乙酯(9+1)作为萃取剂的回收率最高, 为 93.8%, 再增加乙酸乙酯 PCP 提取率下降。其中, 正己烷、正己烷/乙酸乙酯(8+2)、正己烷/乙酸乙酯(7+3)作为萃取剂的相对回收率分别为 165.5%、58.7%、49.3%。因此, 本研究以正己烷/乙酸乙酯(9+1)为 PCP 及内标物提取溶剂。

2.5 PCP 及内标物衍生条件及衍生物萃取剂选择

PCP 衍生化常采用的衍生剂有乙酸酐、三氟乙酸酐、乙酸酐-吡啶、三甲基氢氧化硫等, 其产物为相应的酯类物质, 有利于气相色谱法或气相色谱-质谱法进行定性、定量分析。在 60 ng/mL PCP 时, 分别以乙酸酐、乙酸酐-吡啶为衍生剂进行衍生效果比较, 平行测定 3 次。以乙酸

酞为衍生剂时, 峰面积为 25626 ± 510 , 远高于乙酸酞-吡啶为衍生剂的色谱峰面积(4636 ± 323), 因此, 为获得较高的方法灵敏度, 本研究选择乙酸酞作为 PCP 及内标的衍生剂。

PCP 的衍生反应在纯乙腈相中进行, 衍生结束加入 K_2CO_3 水溶液除去过量的乙酸酞后, 分别以不同比例的正己烷/乙酸乙酯(9+1、8+2、7+3、6+4)对五氯苯乙酸酯(80 ng/mL)及内标物 2,4,6-三溴苯乙酸酯(200 ng/mL)进行萃取, 每种萃取剂平行测定 3 次。结果显示, 正己烷/乙酸乙酯(8+2)萃取时, 平均回收率为 95.4%, 正己烷/乙酸乙酯(9+1、7+3、6+4)萃取时, 平均回收率分别为 80.6%、90.8%、86.7%。本研究选择正己烷/乙酸乙酯(8+2)作为五氯苯乙酸酯及 2,4,6-三溴苯乙酸酯的萃取剂。

2.6 固相萃取柱的选择

用于 PCP 固相萃取的萃取柱主要有 HLB 固相萃取柱、MAX 固相萃取柱和 SLC 固相萃取柱。针对本研究应用实际 SLC 柱是将干扰物质保留于柱上, 即可达到净化样品提取液的目的, 而 HLB 和 WAX 是将 PCP 保留于柱上, 通过淋洗后再洗脱达到净化样品提取液。同时, 鉴于木耳样品含有较多蛋白及胶质类物质, 黏度较大, 不利于直接过固相萃取柱。本研究先液液萃取, 使 PCP 与样品基质分离, 将其提取到有机相, 再结合 SLC 固相萃取柱的分离特性将提取液中干扰物质去除, 而未采用 HLB 或 MAX 固相萃取柱先将 PCP 吸附于固定相上, 再通过淋洗、洗脱的净化方法。

2.7 方法学考察

2.7.1 方法线性范围、检出限及定量限的确定

按 1.3.2 制得五氯苯乙酸酯衍生标准曲线溶液 1、5、10、20、40、60、100 ng/mL, 内标 2,4,6-三溴苯乙酸酯 200 ng/mL。以 GC-MS/MS 测定各浓度点的峰面积比值。以各浓度点与内标质量浓度比值为横坐标, 以各点峰面积比为纵坐标绘制散点图, 根据线性拟合趋势, 确定标准曲线线性范围为

1~100 ng/mL。应用 MassHunter 质谱定量软件以 PCP 与内标质量浓度比为横坐标, 以 PCP 与内标峰面积比为纵坐标绘制标准曲线, 曲线方程为 $Y=4.7293X+0.001407$, 线性相关系数(r)为 0.9999。分别按信噪比(S/N)为 3 和 10 对应的浓度为方法的检出限和定量限, 检出限和定量限分别为 0.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 0.20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (当取样量为 1.00 g 时), 满足 PCP 检测需要。

2.7.2 方法准确度、精密度及基质效应

按 1.3.1 制备样品, 本底值小于 0.06 ng/mL, 并按照低(5 ng/mL)、中(60 ng/mL)、高(90 ng/mL) 3 浓度水平进行加标回收实验($n=6$)。结果显示, 回收率在 89.3%~108.7%之间, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)在 2.1%~9.0%之间, 满足定量分析准确度、精密度要求。本研究还通过空白样品制备液考查了样品基质效应(matrix effect, ME)^[36-37], 分别以纯溶剂和样品制备液配制 40 ng/mL PCP 标准溶液, 按方法测试条件分别进行 3 次测定, 以纯溶剂标准溶液峰面积为基准, 计算 ME 值, 结果显示, ME 值为 96.5%, 表明选用的样品制备条件满足木耳中 PCP 的检测需要, 定量过程无需基质加标工作曲线进行校正。

2.7.3 本方法与已报道方法比较结果

将本方法与已报道的 GC-MS/MS^[25,31]及 LC-MS/MS^[26,33]相比较(表 2)。本方法的检出限远低于其他方法, 优于 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》。准确度优于 QuEChERS 和固相分散样品制备方法, 精密度优于 QuEChERS 样品制备方法, 对于低含量样品检测更具优势。

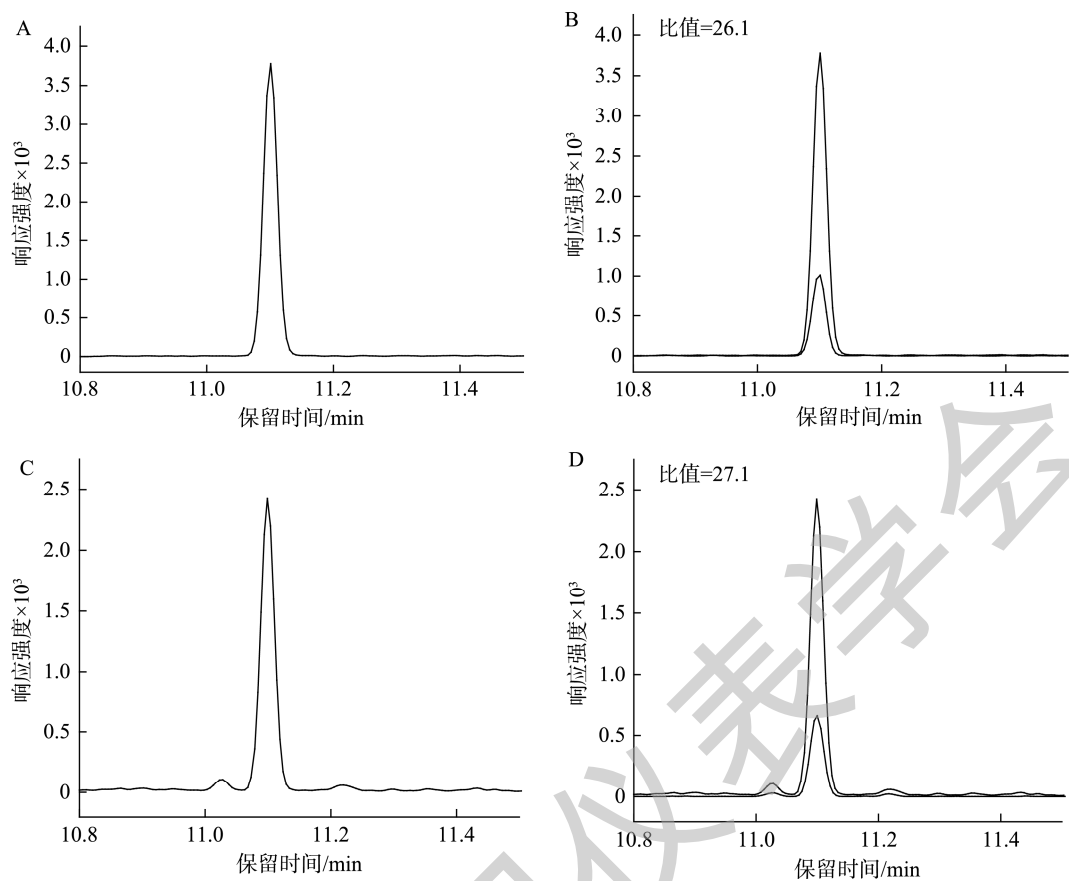
2.7.4 实际样品的测定

将本方法应用于实际木耳样品的测定, 共检测市售木耳样品 20 件, 定性检出阳性样品 1 件, 含量水平低于方法定量限。色谱质谱分析结果见图 4。由图 4 可知, 方法对木耳样品中 PCP 的分离效果良好, 无干扰, 保留时间、定性定量离子比率稳定, 符合 2002/657/EC2.3.3.2.规定, 达到准确定量测试要求。

表 2 本方法与文献方法性能比较

Table 2 Performance comparison between the proposed method and literature methods

样品制备方法	分析仪器	检出限/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	回收率/%	RSDs/%	参考文献
固相萃取	GC-MS/MS	0.26	85.6~98.4	5.3~8.5	[24]
QuEChERS	UPLC-MS/MS	0.1	73.2~108.4	4.0~14.8	[25]
固相分散	UPLC-Orbitrap MS	0.2	74.4~96.8	3.0~8.8	[29]
液液分配	GC-MS/MS	3	86.0~96.0	5.3~5.8	[32]
液液分配	GC-MS	0.5	60~120	≤ 20	GB 29708—2013
液液分配+固相萃取	GC-MS/MS	0.06	89.3~108.7	2.1~9.0	本方法



注: A 为五氯苯乙酸酯标准(5 ng/mL)二级定量离子色谱图; B 为五氯苯乙酸酯(5 ng/mL)二级定性、定量离子叠加色谱图; C 为加标样品(4 ng/mL)五氯苯乙酸酯二级定量离子色谱图; D 为加标样品(4 ng/mL)五氯苯乙酸酯二级定性、定量离子叠加色谱图; 比值为定性离子与定量离子丰度比。

图 4 标准及加标样品色谱图

Fig.4 Chromatograms of standard and spiked sample

3 结论

本研究基于 GC-MS/MS 建立了植物源性农产品木耳中 PCP 的测定方法。以 TBP 为内标物,经液液分配萃取 PCP,固相萃取净化、乙酸酐衍生,内标法定量。填补了植物源性农产品木耳中 PCP 测定方法的空白。在本研究实验条件下,以乙酸酐衍生 PCP 获得的质谱检测灵敏度显著高于乙酸酐/吡啶衍生。方法线性范围 1~100 ng/mL,准确度 89.3%~108.7%,检出限 0.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 优于以 MAX、WAX 萃取净化^[24,28]、乙酸酐-吡啶^[24,32]为衍生剂的相关方法的检出限,也优于 GB 29708—2013 的检出限,适用于木耳样品中 PCP 的本底污染现状调查,为开展木耳中 PCP 的食品安全风险因素研究提供检测技术支撑。

参考文献

- [1] 余晋霞,郭婧怡,高宇,等.五氯酚毒理学研究进展[J].环境卫生学杂志,2019,9(6):614-620.
YU JX, GUO JY, GAO Y, *et al.* Research advances in toxicology of pentachlorophenol [J]. J Environ Hyg, 2019, 9(6): 614-620.
- [2] 熊璐,冯伟科,王学东.不同植物对五氯酚生物富集能力的研究[J].广州化工,2011,39(7):44-45,50.
XIONG J, FENG WK, WANG XD. Study on bioaccumulation of pentachlorophenol in different kinds of plants [J]. Guangzhou Chem Ind, 2011, 39(7): 44-45, 50.
- [3] 郜红建,蒋新.有机氯农药在南京市郊蔬菜中的生物富集与质量安全[J].环境科学报,2005,25(1):90-93.
GAO HJ, JIANG X. Bioaccumulation of organochlorine pesticides and quality safety in vegetables from Nanjing Suburb [J]. ACTA Sci Circum, 2005, 25(1): 90-93.
- [4] 张秀芹,王玉晶,李胤楠,等.动物源产品中五氯酚来源探讨及危害分析[J].食品安全质量检测学报,2021,12(19):7840-7845.
ZHANG XQ, WANG YJ, LI YN, *et al.* Discussion on source and hazard analysis of pentachlorophenol in animal-derived products [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(19): 7840-7845.
- [5] MATTHEW J, KONKLER, JEFFREY J, *et al.* Effect of post-treatment steaming on preservative migration from pentachlorophenol-treated wood [J]. Int Wood Prod J, 2019, 10(2): 70-77.

- [6] ZHANG YH, FLORENCE MG, ZHANG WW, *et al.* Probabilistic risk assessment of dietary exposure to pentachlorophenol in Guangzhou, China [J]. *Food Addit Contam B*, 2023, 40(2): 262–270.
- [7] 何正和, 陆井莲, 姜颖慧, 等. 水产品中五氯苯酚及其钠盐检测技术研究进展[J]. *食品安全导刊*, 2023, (9): 13–15.
HE ZH, LU JL, ZHU YH, *et al.* Research in detection technology of pentachlorophenol and its sodium salt in aquatic products [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2023, (9): 13–15.
- [8] 郭剑秋, 王铮, 张济明, 等. 江苏省某县学龄儿童五氯酚暴露水平及影响因素[J]. *环境与职业医学*, 2019, 36(9): 797–802.
GUO JQ, WANG Z, ZHANG JM, *et al.* Exposure assessment and predictors of pentachlorophenol among school-age children in a County of Jiangsu Province [J]. *J Environ Occup Med*, 2019, 36(9): 797–802.
- [9] LUKAS S, THOMAS G. Simultaneous determination of the full chlorophenol spectrum in human urine using gas chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2017, 965: 123–130.
- [10] 韩沐珂, 尹杰, 温凯, 等. 免疫亲和和柱净化-高效液相色谱-质谱法测定母乳中的五氯苯酚[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(7): 235–240.
HAN MK, YIN J, WEN K, *et al.* Determination of pentachlorophenol in breast milk by immunoaffinity column coupled with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2023, 14(7): 235–240.
- [11] 欧阳运富, 唐宏兵, 吴英, 等. 顶空固相微萃取气相色谱法快速测定人血中的五氯酚[J]. *光谱实验室*, 2011, 28(2): 627–630.
OUYANG YF, TANG HB, WU Y, *et al.* Rapid determination of pentachlorophenol in human blood by gas chromatography with headspace-solid phase microextraction [J]. *Chin J Spectrosc Lab*, 2011, 28(2): 627–630.
- [12] 张世娟, 徐英江, 宫向红, 等. 气相色谱法测定水产品中五氯酚[J]. *理化检验(化学分册)*, 2010, 46(9): 996–999.
ZHANG SJ, XU YJ, GONG XH, *et al.* GC determination of pentachlorophenol in aquatic products [J]. *Phys Test Chem Anal Part B*, 2010, 46(9): 996–999.
- [13] 胡浩光, 刘少彬, 郭楚仪. 气相色谱法测定水产品中五氯苯酚及其钠盐残留量[J]. *广州化工*, 2021, 49(4): 472–474.
HU HG, LIU SB, GUO CY. Determination of pentachlorophenol and its sodium salt residues in aquatic products by gas chromatography [J]. *Guangzhou Chem Ind*, 2021, 49(4): 472–474.
- [14] 陆阳, 朱鹏飞, 姚誉阳, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定食品包装材料中五氯酚含量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(1): 65–71.
LU Y, ZHU PF, YAO YY, *et al.* Determination of pentachlorophenol by solid phase extraction-high performance liquid chromatography in paper packaging materials for foodstuffs [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(1): 65–71.
- [15] QIU XW, HAN WS, LIANG WY, *et al.* Synthesis of magnetic molecularly imprinted microsphere and development of an enhanced semi-homogeneous method for detection of pentachlorophenol in fish [J]. *Microchem J*, 2023, 189: 108512.
- [16] BARROS M, WINIARSKI J, MATOS M, *et al.* A high-performance electrochemical sensor based on a mesoporous silica/titania material and cobalt(II) phthalocyanine for sensitive pentachlorophenol determination [J]. *Microchim Acta*, 2022, 189(8): 269.
- [17] YANG MAN, CHEN YY, WANG HT, *et al.* Solvothermal preparation of CeO₂ nanoparticles-graphemenanocomposites as an electrochemical sensor for sensitive detecting pentachlorophenol [J]. *Carbon Lett*, 2022, 32(5): 1277–1285.
- [18] 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, 46(6): 660–662.
XIAO ZL, CONG Q, QU J, *et al.* Determination of pentachlorophenol in soil by UV spectrophotometry [J]. *Phys Test Chem Anal B*, 2010, 46(6): 660–662.
- [19] 云鹏, 刘印平, 路杨, 等. 气相色谱-质谱法测定食品用纸制品中五氯酚含量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(5): 1699–1704.
YUE P, LIU YP, LU Y, *et al.* Determination of pentachlorophenol by gas chromatography mass spectrometry in paper packaging materials for foodstuffs [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(5): 1699–1704.
- [20] 张权, 刘利亚, 周贻兵, 等. 表层取样法结合气相色谱-串联质谱测定竹木砧板中 19 种防腐防霉剂残留[J]. *分析测试学报*, 2022, 41(5): 724–730.
ZHANG Q, LIU LY, ZHOU YB, *et al.* Determination of 19 antiseptic and antifungal agents residues in wooden chopping boards by gas chromatography-tandem mass spectrometry with surface sampling method [J]. *J Instrum Anal*, 2022, 41(5): 724–730.
- [21] 杨长晓, 张坤, 钟海洋. 固相萃取-气相色谱-串联质谱内标法测定一次性食品用纸制品中五氯酚残留[J]. *现代预防医学*, 2021, 48(1): 144–147.
YANG CX, ZHANG K, ZHONG HY. Determination of residual pentachlorophenol in disposable paper products for food by solid phase extraction-gas chromatography-tandem mass spectrometry internal standard method [J]. *Mod Prev Med*, 2021, 48(1): 144–147.
- [22] 曲良娇, 凌莉, 梁素丹. 液液萃取-气相色谱-质谱内标法测定鸡肉中五氯酚及其钠盐残留[J]. *中国卫生检验杂志*, 2022, 32(11): 1311–1314.
QU LJ, LING L, LIANG SD. Determination of pentachlorophenol and its sodium salt residues in chicken meat by liquid-liquid extraction-gas chromatography-mass spectrometry internal standard method [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2022, 32(11): 1311–1314.
- [23] 曾涛, 杨荣, 邓芬芳, 等. 气相色谱-三重四级杆串联质谱测定动物组织中五氯酚残留[J]. *医学动物防制*, 2019, 35(3): 259–262, 266.
ZENG T, YANG R, DENG FF, *et al.* Determination of residual pentachlorophenol in animal tissues by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Med Pest Control*, 2019, 35(3): 259–262, 266.
- [24] 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.

- [25] 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.
WANG LZ, FANG ENH, 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(6): 518-522.
- [26] 赵浩军, 杨青梅岭, 张燕, 等. QuEChERS-高效液相-串联质谱法同时测定猪肉中氯霉素、氟苯尼考和五氯酚的残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(12): 4121-4126.
ZHAO HJ, YANG QML, ZHANG Y, *et al.* Simultaneous determination of chloramphenicol, florfenicol and pentachlorophenol in pork by QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(12): 4121-4126.
- [27] 严敏鸣, 张静余, 杨卫军, 等. 超高效液相色谱-串联四极杆技术测定禽蛋中五氯苯酚残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(24): 9130-9139.
YAN MM, ZHANG JY, YANG WJ, *et al.* Determination of pentachlorophenol residues in eggs by ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry combined with dispersive solid phase extraction technology [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(24): 9130-9139.
- [28] 田春霞, 金绍强, 朱炳祺, 等. 超高效液相色谱-电喷雾串联质谱测定动物源食品中五氯酚的残留量[J]. 分析试验室, 2019, 38(4): 438-441.
TIAN CX, JIN SQ, ZHU BQ, *et al.* Determination of pentachlorophenol residues food of animal origin by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Lab*, 2019, 38(4): 438-441.
- [29] 吴剑平, 严凤, 张婧, 等. 分散固相萃取结合 UPLC-Orbitrap MS 联用测定禽蛋中五氯苯酚残留量[J]. 中国兽药杂志, 2021, 55(4): 17-26.
WU JP, YAN F, ZHANG J, *et al.* Determination of pentachlorophenol residues in eggs by dispersive solid phase extraction combined with ultra performance liquid chromatography-orbitrap mass spectrometry [J]. *Chin J Vet Drug*, 2021, 55(4): 17-26.
- [30] 唐吉旺, 何浩, 王淑霞, 等. 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物源性食品中五氯酚和游离棉酚[J]. 食品科技, 2020, 45(7): 364-371.
TANG JW, HE H, WANG SX, *et al.* Simultaneous determination of pentachlorophenol and free gossypol in animal-derived foods by solid-phase extraction coupled with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci Technol*, 2020, 45(7): 364-371.
- [31] 袁娅, 周颖, 熊丽, 等. 江西省食品接触用纸制品和竹木制品中五氯酚的污染状况调查[J]. 现代预防医学, 2021, 48(14): 2538-2541.
YUAN Y, ZHOU Y, XIONG L, *et al.* Investigation on pollution of pentachlorophenol in products made of paper, bamboo and woods for food contact in Jiangxi Province [J]. *Mod Prev Med*, 2021, 48(14): 2538-2541.
- [32] 张权, 刘利亚, 吴玉田, 等. 气相色谱-串联质谱法测定竹木砧板表层中五氯酚的含量[J]. 理化检验(化学分册), 2021, 57(10): 879-884.
ZHANG Q, LIU LY, WU YT, *et al.* Determination of pentachlorophenol content in the surface layer of bamboo and wood cutting boards by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Phys Test Chem Anal Part B*, 2021, 57(10): 879-884.
- [33] 陈彦宏, 黄松, 陈穗, 等. 五氯酚及其钠盐的样品前处理和分析检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(14): 4465-4473.
CHEN YH, HUANG S, CHEN S, *et al.* Research progress of sample pretreatment and analytical techniques for determination of pentachlorophenol and sodium pentachlorophenate [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(14): 4465-4473.
- [34] 刘泊麟, 倪玲, 钟建, 等. 五氯酚及其钠盐的样品前处理方法和残留检测技术研究进展[J]. 农药学报, 2021, 23(5): 823-836.
LIU PL, NI L, ZHONG J, *et al.* Research progress on sample preparation method and residue detection technology of pentachlorophenol and its sodium salt [J]. *Chin J Pest Sci*, 2021, 23(5): 823-836.
- [35] 杨君, 董国强, 丁宗博, 等. 植物源性食品中农药残留检测技术的应用进展[J]. 分析试验室, 2022, 41(12): 1504-1513.
YANG J, DONG GQ, DING ZB, *et al.* Advances in application of detection techniques for pesticide residues in plant-derived foods [J]. *Chin J Anal Lab*, 2022, 41(12): 1504-1513.
- [36] HYEYOUNG K, STEVEN J, LUCIA G. Variability of matrix effects in liquid and gas chromatography-mass spectrometry analysis of pesticide residues after QuEChERS sample preparation of different food crops [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1270: 235-245.
- [37] 田培, 金银银, 刘之炜, 等. 气相色谱-质谱联用仪测定果蔬中农药残留的基质效应[J]. 浙江农业科学, 2022, 63(3): 610-613, 618.
TIAN P, JIN YY, LIU ZW, *et al.* Matrix effect of gas chromatography-mass spectrometry in the determination of pesticide residues in fruits and vegetables [J]. *J Zhejiang Agric Sci*, 2022, 63(3): 610-613, 618.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

作者简介



卢忠魁, 正高级实验师, 主要研究方向为食品质量与安全检测。
E-mail: lzk_1973@163.com



李凤林, 博士, 教授, 主要研究方向为粮油植物蛋白及酿造功能性食品。
E-mail: 568169115@qq.com