

· 实验技术 ·

气相色谱串联质谱法检测木砧板中五氯苯酚

赵玉文¹, 李泽冉², 薛香菊¹, 杨萌¹, 吉文亮², 荣维广²

1. 山东药品食品职业学院食品系, 山东 威海 264210; 2. 江苏省疾病预防控制中心理化检验所, 江苏 南京 210009

摘要: **目的** 通过微型化样品前处理过程, 优化木砧板中五氯苯酚的检测方法。**方法** 处理好的木砧板样品经8 mL丙酮+2 mL水超声提取30 min, 5 mL提取溶液中加入1 mL的0.5 mol/L碳酸钾溶液, 采用0.3 mL乙酸酐衍生, 正己烷萃取, DB-5ms色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)分离, 采用串联质谱法多反应监测模式检测, 内标法定量。**结果** 在0.01~0.2 μg/mL范围内, 线性良好, 线性相关系数 $R^2>0.999$, 方法的检出限为0.003 mg/kg, 定量限为0.01 mg/kg。在0.003、0.01、0.03 mg/kg的加标浓度下, 目标物的平均回收率为84.2%~96.7%, 相对标准偏差为2.2%~6.1%。**结论** 本方法操作简单、环保, 准确度和灵敏度高, 适用于木砧板中五氯苯酚的检测。

关键词: 木砧板; 五氯苯酚; 气相色谱-串联质谱法

中图分类号: R115 文献标识码: A 文章编号: 2096-5087 (2023) 09-0825-04

Determination of pentachlorophenol in wooden chopping boards with gas chromatography-tandem mass spectrometry

ZHAO Yuwen¹, LI Zeran², XUE Xiangju¹, YANG Meng¹, JI Wenliang², RONG Weiguang²

1. Department of Foods, Shandong Drug and Food Vocational College, Weihai, Shandong 264210, China;

2. Institute of Physical and Chemical Detection, Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Nanjing, Jiangsu 210009, China

Abstract: Objective To optimize the determination of pentachlorophenol in wooden chopping boards through pretreatment of miniaturized samples. **Methods** The pretreated wooden chopping board samples were subjected to ultrasound extraction (1 mL of 0.5 mol/L K_2CO_3 added in 5 mL extraction solution) in 8 mL acetone and 2 mL water, followed by derivatization with 0.3 mL acetic anhydride, extraction with n-hexane and separation with DB-5ms column (30 m×0.25 mm, 0.25 μm). Gas chromatography tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) was performed in multiple reaction monitoring (MRM) mode with quantitative analysis using the internal standard method. **Results** The GC-MS/MS assay showed a good linear relationship within the range of 0.01 to 0.2 μg/mL ($R^2>0.999$), with a 0.003 mg/kg limit of detection and 0.01 mg/kg limit of quantitation. The mean recovery rates were 84.2% to 96.7% at spiked concentrations of 0.003, 0.01 and 0.03 mg/kg, with relative standard deviation of 2.2% to 6.1%. **Conclusions** The established GC-MS/MS assay is easy to perform, environment-friendly, highly accurate and sensitivity, which is feasible for determination of pentachlorophenol in wooden chopping boards.

Keywords: wooden chopping board; pentachlorophenol; gas chromatography-tandem mass spectrometry

五氯苯酚是一种高毒农药, 具有防腐、杀虫和杀真菌的作用, 因此可以作为木材及木制品的防腐防霉剂。实验表明五氯苯酚具有遗传毒性和免疫毒性和生

殖毒性, 可致畸、致癌, 并导致肺、肝、肾等器官的严重损伤^[1-2]。2017年1月27日, 世界卫生组织国际癌症研究中心将五氯苯酚列为I类致癌物。2021年, 我国生态环境部公布的《新污染物治理行动方案(征求意见稿)》中提到将五氯苯酚及其盐类和酯类列入《重点管控新污染物清单》^[3]。

五氯苯酚的检测技术主要有气相色谱法^[4]、液相色谱法^[5]、气相色谱质谱法^[6]和液相色谱串联质谱法^[7]。色谱法的灵敏度和定性能力相对于质谱质

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2023.09.021

基金项目: 江苏省医学重点学科(实验室)流行病学项目(ZDX-KA2016008)

作者简介: 赵玉文, 硕士, 副教授, 主要从事食品安全控制与研究
工作

通信作者: 荣维广, E-mail: 46991270@qq.com

谱联用法（尤其是色谱串联质谱联用法）存在明显的不足。关于木材制品的前处理，林业行业标准 LY/T 1985—2011《防腐木材和人造板中五氯苯酚含量的测定方法》^[8]推荐甲醇超声提取技术，使用分液漏斗衍生和萃取，但操作较为繁琐。为简化操作过程，提高方法的绝对回收率，本研究遵循环保原则对前处理技术微型化处理，采用气相色谱串联质谱内标法测定家用木砧板中五氯苯酚残留。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

气相色谱串联质谱仪（GC-MS/MS，岛津 GC2030-TQ8050NX）；工作站：Labsolutions；台式离心机（UCHEN 公司）；氮吹仪（上海安谱公司）；漩涡混合器（IKA 公司）；FB-11005 型超声波器（Fisherbrand 公司）；高速万能粉碎机（天津市泰斯特仪器有限公司）；标准品水合五氯酚钠（纯度≥86.0%，德国 Dr. 公司）；内标 2, 4, 6-三溴酚（纯度≥99.0%，德国 Dr. 公司）；氦气，纯度≥99.999%；甲醇、乙腈、丙酮、正己烷和乙酸乙酯均为色谱纯；无水 Na₂SO₄ 和 K₂CO₃ 为优级纯，纯度均>99%；试验用水为纯净水。

1.2 标准储备溶液和标准工作溶液配制

称取适量五氯酚钠标准品，甲醇定容使五氯苯酚浓度为 1.0 mg/mL，置于 4℃ 冰箱，取适量标准储备溶液，经纯净水逐级稀释成浓度为 1.0 μg/mL 的使用液，置于 4℃ 冰箱备用。

称取适量 2, 4, 6-三溴酚于容量瓶中，用丙酮溶解定容至刻度，最终得到 1.0 mg/mL 内标的储备溶液，用丙酮稀释至浓度 1.0 mg/mL 使用液，放置于 4℃ 冰箱备用。

1.3 样品制备

按照随机采样原则，在江苏省大型超市、综合购物大市场中购买木砧板 36 份，使用木工刨刨木砧板，收集刨花，用粉碎机粉碎后装入玻璃样品瓶中，置于干燥器中保存备用。

1.4 样品前处理

1.4.1 提取

准确称取 1 g 样品于 15 mL 塑料离心管中，加入 50 μL 内标溶液、10 mL 提取溶剂，常温超声提取 30 min（中间手动振摇 2 次），3 100×g 离心 5 min，吸取 5 mL 上清液于 10 mL 玻璃刻度离心管内。提取溶剂优化：样品加入标准溶液后在通风橱中过夜，晾干后作为试验样品，加标浓度 0.05 mg/kg。

称取试验样品，分别采用 4 种萃取溶剂萃取：A（10 mL 丙酮）、B（9 mL 丙酮+1 mL 水）、C（8 mL 丙酮+2 mL 水）和 D（7 mL 丙酮+3 mL 水），每种萃取溶剂做 6 个平行样，结果取平均值。

1.4.2 衍生

离心管中加入 0.5 mol/L 的碳酸钾溶液 1 mL，涡旋混匀 0.5 min，加 0.3 mL 醋酸酐，涡旋振荡衍生 3 min，再加 1 mL 正己烷，涡旋振荡器振荡提取 1 min，将上层有机相正己烷层用一次性吸管取出后转移至 10 mL 的玻璃刻度离心管中，放入 1 mL 饱和食盐水洗涤，涡旋混匀 1 min，静置 8 min 后，上层正己烷相经无水 Na₂SO₄ 脱水后测定。衍生体系的优化：比较碳酸钾溶液衍生体系与乙酸酐和吡啶衍生体系（适量提取溶液密封，在 60℃ 水浴中衍生 15 min）的衍生效率，每种衍生体系做 6 个平行样，结果取平均值。另分别配制 0.1、0.3、0.5 mol/L 碳酸钾溶液，对其浓度和加入体积进行优化。

1.5 色谱质谱条件

气相色谱参数：DB-5ms 毛细管色谱柱（30 m×0.25 mm，0.25 μm）；进样口温度 250℃；柱温，初温 40℃，保持 4 min，以 8℃/min 升至 120℃，再以 60℃/min 升至 250℃ 保持 10 min；载气为氦气，纯度≥99.999%，流速为 1.0 mL/min；分流进样，分流比 10:1；进样量 1 μL。

串联质谱仪参数：电子轰击电离；电离能量 70 eV；离子源温度 200℃；传输线温度 250℃；扫描模式为多反应监测模式（multiple reaction monitoring, MRM）。

MRM 方法开发：取适量标准溶液，加入适量内标溶液，按照 1.4.2 方法衍生后，气相色谱-串联质谱仪采用全扫描模式进样，对照美国国家标准与技术研究院（National Institute of Standards and Technology, NIST）谱库，得到 2 种目标物的保留时间和碎片离子，选择各目标物中质量数较大、强度较高的碎片离子，采用岛津串联质谱仪工作站软件 Labsolutions 的 SmartMRM 功能，二级质谱的碰撞能量选择 3~45 eV 进行 MRM 方法开发。

1.6 方法学验证

采用 1.0 μg/mL 标准使用溶液配制 0.01、0.02、0.05、0.1、0.2 μg/mL 浓度的系列标准溶液，分别吸取 1.0 mL 系列标准溶液，分别加入 50 μL 内标溶液，按照 1.4.2 方法衍生后上机检测。以目标物与内标的质量浓度比为横坐标，峰面积比值为纵坐标建立标准工作曲线。分别以 3 倍和 10 倍的信噪比计算本

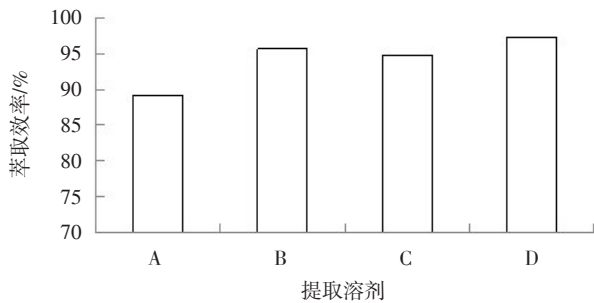
方法的检出限和定量限。木屑样品分别加入 0.003、0.01、0.03 mg/kg 五氯苯酚做回收率试验，每个浓度进行 6 次平行试验，计算平均回收率和相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD)。

2 结果

2.1 前处理条件的优化结果

2.1.1 提取溶剂的确定

A、B、C 和 D 4 种提取溶剂的提取效率稍有差异，A 的萃取回收率平均为 89.2%，稍低于 B、C 和 D 组。一定量的水对木屑的浸泡有益，可提高提取效率，考虑到不同样品的差异性，最终选定水量适中的提取溶剂 C。见图 1。



注：A.10 mL 丙酮；B.9 mL 丙酮+1 mL 水；C.8 mL 丙酮+2 mL 水；D.7 mL 丙酮+3 mL 水。

图 1 不同提取溶剂的萃取效率

Figure 1 Extraction efficiency of different extraction solvents

2.1.2 衍生体系的确定

使用碳酸钾溶液体系，标准和内标衍生后的峰面积分别为 19 067 和 16 005；使用醋酸酐和吡啶体系，标准和内标衍生后的峰面积分别为 10 011 和 8 105，碳酸钾溶液体系比使用醋酸酐和吡啶体系的响应值高 1 倍。对碳酸钾溶液的浓度和加入体积进行优化，结果显示，加入 1 mL 的 0.5 mol/L 碳酸钾溶液时衍生效率更高，见图 2。

2.2 色谱质谱条件优化结果

标准和内标溶液的衍生产物 2, 4, 6-三溴苯乙酸酯和五氯苯乙酸酯均属于弱极性化合物，选择 DB-5ms 毛细管色谱柱分析，2 种目标物保留良好，峰形对称，MRM 总离子流图见图 3。采用岛津仪器工作站软件 Labsolutions 的 SmartMRM 功能进行方法开发，得出最优的离子对和碰撞能量见表 1。

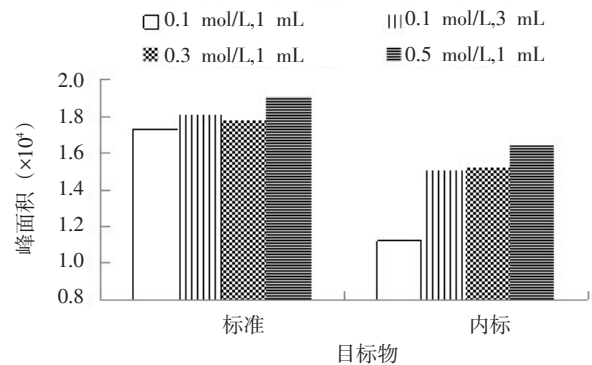


图 2 加入不同浓度和体积碳酸钾的标准和内标溶液衍生后峰面积

Figure 2 Peak area for derivatization following addition of potassium carbonate standard and internal standard solutions with different concentrations and volumes

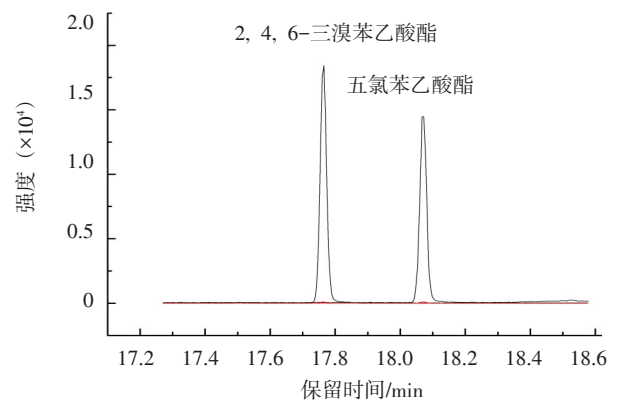


图 3 2, 4, 6-三溴苯乙酸酯和五氯苯乙酸酯的总离子流图

Figure 3 Total ion current of 2, 4, 6-tribromophenyl acetate and pentachlorophenyl acetate

表 1 MRM 离子对和保留时间

Table 1 Ion pair and retention time of multiple reaction monitoring

化合物	保留时间/min	定量离子对 (m/z)	碰撞能量/eV	定性离子对 (m/z)	碰撞能量/eV
2, 4, 6-三溴苯乙酸酯	17.770	330.0 > 141.0	36	332.0 > 143.0	36
				330.0 > 221.8	27
五氯苯乙酸酯	18.080	266.0 > 167.0	30	264.0 > 164.9	30
				266.0 > 201.9	21

2.3 方法学验证结果

工作曲线回归方程为 $Y=2.0928X-0.0329$ 。浓度在 0.01~0.2 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性良好, R^2 值为 0.999 2。本方法检出限为 0.003 mg/kg, 定量限为 0.01 mg/kg。回收率为 84.2%~96.7%, RSD 为 2.2%~6.1%。

2.4 实际样品检测

采用本方法检测 36 份木砧板样品, 10 份检出五氯苯酚, 检出率为 27.78%。其中 2 份样品的五氯苯酚 >5 mg/kg; 1 份样品在 1~5 mg/kg 之间; 4 份样品在 0.1~1 mg/kg 之间; 3 份样品在 0.01~0.1 mg/kg 之间。参考 DB43/T 643—2011《竹砧板安全技术要求》^[9] 中五氯苯酚限值 0.1 mg/kg, 不合格率为 19.44%。

3 讨论

本研究通过对前处理技术的优化, 简化了操作过程, 提高了方法的绝对回收率。既往研究^[4, 10-11] 采用水直接提取样品中的五氯酚钠, 通过调节 pH 值将五氯酚钠转化为五氯苯酚, 再用有机相萃取五氯苯酚, 但由于五氯苯酚在水中有一定的溶解, 萃取效率较低。本研究采用水和丙酮混合溶剂超声提取样品中水溶性的五氯酚钠, 提取液直接加入碳酸钾溶液进行衍生, 避免了直接萃取五氯苯酚的低效问题。衍生时加入的醋酸酐可以促进五氯酚钠转化为五氯苯酚, 并酯化为五氯苯乙酸酯, 采用正己烷萃取脂溶性的五氯苯乙酸酯, 保证了萃取效率, 提高了方法的灵敏度。采用碳酸钾水溶液体系进行衍生时, 通过优化衍生试剂的浓度和加入量, 进一步提高衍生效率。由于灵敏度足够高, 本研究采用传统的液液萃取技术, 遵循环保和便捷原则, 对前处理技术进行了微型化处理, 不使用分液漏斗的同时减少溶剂使用量, 使操作更为简单快速。采用气相色谱串联质谱法定性、

内标法定量检测木砧板中的五氯苯酚, 最低检出浓度为 0.003 mg/kg, 定性的准确性和灵敏度均优于林业行业标准 LY/T 1985—2011《防腐木材和人造板中五氯苯酚含量的测定方法》^[8]。本方法适用于木砧板中五氯苯酚残留的检测。

参考文献

- [1] 丁先锋, 方丰平, 石文超, 等. 木材中五氯苯酚的检测方法研究进展 [J]. 化学分析计量, 2020, 29 (1): 128-131.
- [2] 许文青, 樊柏林, 常薇, 等. 五氯苯酚和五氯苯酚钠毒性作用研究进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2011, 25 (6): 596-600.
- [3] 武丽辉. 24 种农药产品被列入“高污染、高环境风险”产品目录 [J]. 农药科学与管理, 2008, 29 (6): 54-55.
- [4] 沈宣铭, 陈彤. 气相色谱内标法测定皮革中五氯酚残留量不确定度评估 [J]. 分析实验室, 2008, 27 (7): 102-105.
- [5] 巢猛, 刘建明, 陈明. SPE-HPLC 法测定水中 2, 4, 6-三氯酚和五氯酚 [J]. 供水技术, 2008, 2 (3): 57-58.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 中华人民共和国国家林业局. 防腐木材和人造板中五氯苯酚含量的测定方法: LY/T 1985—2011 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
- [9] 湖南省质量技术监督局. 竹砧板安全技术要求: DB43/T 643—2011 [S]. 2011.
- [10] 宋迎春, 袁娅, 王艳敏. GC-MS 测定动物组织中五氯酚钠的不确定度评定 [J]. 实验与检验医学, 2019, 37 (4): 568-572.
- [11] 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): 619-623.

收稿日期: 2023-05-04 修回日期: 2023-07-06 本文编辑: 徐文璐