

同位素稀释-液相色谱-串联质谱法测定奶粉中五氯苯酚

綦 艳, 李锦清*, 李 聪, 许庆鹏
(广东产品质量监督检验研究院, 广东 顺德 528300)

摘要: 建立同位素稀释-液相色谱-串联质谱法测定奶粉中五氯苯酚的分析方法。样品用水溶解, 以乙腈为提取试剂和蛋白沉淀剂, QuEChERS法萃取, Captiva EMR-Lipid脂质去除净化柱净化, 净化液与水按体积比1:1稀释后制得待测液。以甲醇和5 mmol/L乙酸铵溶液(含0.05%甲酸)为流动相, 梯度洗脱, Waters ACQUITY BEH C₁₈色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)分离, 电喷雾负离子多反应监测模式检测, 采用基质匹配结合同位素稀释内标法定量。结果表明: 五氯苯酚在0.2~150 μg/L范围内具有良好线性关系($r \geq 0.996 0$); 方法检出限为0.5 μg/kg, 定量限为1.5 μg/kg; 平均加标回收率为90.3%~119.2%, 相对标准偏差高于7.5%。建立的前处理方法无需浓缩、复溶等步骤, 具有前处理简便、灵敏度高、准确可靠等优点, 可作为奶粉样品中五氯苯酚检测的有效手段。

关键词: 同位素稀释; 液相色谱-串联质谱法; 奶粉; 五氯苯酚

Determination of Pentachlorophenol in Milk Powder by Isotope Dilution Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

QI Yan, LI Jinqing*, LI Cong, XU Qingpeng
(Guangdong Testing Institute of Product Quality Supervision, Shunde 528300, China)

Abstract: In this study, an analytical method was established to determine pentachlorophenol (PCP) in milk powder by isotope dilution-liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The sample was dissolved in water, extracted by the quick, effective, cheap, easy, rugged and safe (QuEChERS) method using acetonitrile as the extraction solvent and protein precipitant, purified on a Captiva EMR-Lipid column, and diluted with the same volume of water before analysis. The chromatographic separation was achieved on a C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) with gradient elution using a mobile phase composed of methanol and 5 mmol/L ammonium acetate solution (containing 0.05% formic acid), and then the analyte was detected with negative electrospray ionization (ESI) in the multiple reaction monitoring (MRM) mode. Matrix matching-isotope dilution internal standard method was used for identification and quantification of the analyte. The results indicated that the calibration curve of PCP was linear in the concentration range of 0.2–150 μg/L with correlation coefficients (r) not less than 0.996 0. The limits of detection (LOD) and quantitation (LOQ) of the method were 0.5 and 1.5 μg/kg, respectively. The average recoveries for spiked milk powder ranged from 90.3% to 119.2%, with relative standard deviation (RSD, $n = 6$) equal to or less than 7.5%. The method has the advantages of simple pretreatment without concentration or dissolution, high sensitivity, accuracy and reliability, and can be used as an effective method for detecting pentachlorophenol in milk powder.

Keywords: isotope dilution; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; milk powder; pentachlorophenol

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220616-168

中图分类号: O657.6

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2023)16-0324-07

引文格式:

綦艳, 李锦清, 李聪, 等. 同位素稀释-液相色谱-串联质谱法测定奶粉中五氯苯酚[J]. 食品科学, 2023, 44(16): 324-330.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220616-168. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2022-06-16

基金项目: 国家市场监督管理总局科技计划项目(2020MK080)

第一作者简介: 綦艳(1978—)(ORCID: 0000-0002-2641-3044), 女, 高级工程师, 硕士, 主要从事食品及食品相关产品检测与方法开发。E-mail: 191080053@qq.com

*通信作者简介: 李锦清(1981—)(ORCID: 0000-0002-9030-9911), 男, 高级工程师, 硕士, 主要从事食品及食品相关产品检测与方法开发。E-mail: 460661142@qq.com

QI Yan, LI Jinqing, LI Cong, et al. Determination of pentachlorophenol in milk powder by isotope dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Science, 2023, 44(16): 324-330. (in Chinese with English abstract)
DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220616-168. <http://www.spkx.net.cn>

五氯苯酚(又名五氯酚)及其钠盐五氯酚钠(又名五氯酚酸钠)是持久性环境污染物^[1], 常用作杀虫剂, 皮革、木材防腐剂, 农业除草剂以及吸血虫中间宿主钉螺的灭杀等^[2-4]。五氯苯酚及其钠盐化学性质稳定, 难降解, 可在环境中扩散传播和在食物链中蓄积^[5], 通过环境或食物链进入动植物和人体内, 当人体内五氯苯酚及其钠盐蓄积到一定量后可能会导致内分泌紊乱、致癌、致畸和诱发人体器官病变等^[6-8]。五氯苯酚及其钠盐已成为重点监控的环境污染物之一, 被多个国家禁用或限制使用^[9]。环境中五氯苯酚及其钠盐的扩散传播可能造成的食品污染问题也引起了人们的高度重视。我国国家食品安全监督抽检实施细则(2019年版)将水产品、畜禽肉及其副产品中五氯苯酚及其钠盐作为必检项目, 农业农村部公告第250号^[10]规定食品动物中不得检出五氯苯酚及其钠盐。

五氯苯酚及其钠盐的检测方法以气相色谱法^[11-13]、气相色谱-质谱联用法^[14-19]、液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)法^[20-23]为主。五氯苯酚沸点约为310℃, 难气化, 分子结构中5个氯原子的作用使得酚羟基极性较强, 在气相色谱柱上保留能力强、难洗脱、色谱峰拖尾、峰形差、灵敏度低, 一般采用乙酸酐将五氯苯酚衍生为五氯苯乙酸酯, 然后用气相色谱法和气相色谱-质谱联用法检测, 使之获得较好的峰形和较高的检测灵敏度, 但衍生化操作繁琐, 衍生条件难控制, 而且由于五氯苯酚的酚羟基两边有氯基团, 对衍生化起阻碍作用, 不利于衍生化。LC-MS/MS测定五氯苯酚及其钠盐无需衍生化, 方法简单、灵敏度高, 但容易受到基质抑制作用影响, 导致定量结果不准确。为降低基质抑制作用, 需对样品进行净化, 常用的净化方法有阴离子交换固相萃取法或QuEChERS法。阴离子交换固相萃取法步骤多、较繁琐、效率低, 不利于大批量样品快速检测, 而QuEChERS法具有简单、快速、经济、高效等优点, 适用于大批量样品快速检测, 广泛应用于食品中农药残留和兽药残留检测。

奶粉是由液体牛奶经浓缩、干燥等加工步骤制成, 使牛奶中可能存在的痕量五氯苯酚及其钠盐被浓缩富集, 对人体的危害性更大。目前鲜见有针对奶粉中五氯苯酚残留量检测的标准或文献报道, 相关风险监测尚未开展, 因此建立奶粉中五氯苯酚的检测方法十分必要。GB 23200.92—2016《动物源性食品中五氯酚残留量的测定液相色谱-质谱法》^[24]为食品中五氯苯酚的检测提供了依据, 然而该方法存在前处理步骤繁琐、耗时长、易受复杂基质干扰, 回收率低等不足, 而且该方法适用范围

未包括奶粉基质。因此, 本研究建立QuEChERS萃取, Captiva EMR-Lipid脂质去除净化柱净化, 基质匹配-同位素稀释内标法结合LC-MS/MS法测定奶粉中五氯苯酚的分析方法, 缩短样品前处理时间、简化样品前处理过程、降低基质效应、提高大批量样品的检测效率, 弥补奶粉基质中五氯苯酚检测方法缺失, 以期开展相关风险监测提供技术支持。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

乙腈(色谱纯) 美国Thermo Fisher公司; 甲醇(色谱纯) 美国Tedia公司; 甲酸、乙酸铵(均为色谱纯) 上海安谱实验科技股份有限公司; 无水硫酸镁(分析纯) 天津市致远化学试剂有限公司; 氢氧化钾、氢氧化钠(均为分析纯) 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 实验室用一级水符合GB/T 6682—2008《分析实验室用水规格和试验方法》要求; 五氯苯酚的甲醇标准溶液(质量浓度为1 000 μg/mL)、五氯苯酚-¹³C₆标准品(纯度98.0%) 北京曼哈格生物科技有限公司; Captiva EMR-Lipid脂质去除净化柱(300 mg/3 mL)、聚四氟乙烯针式滤头(polytetrafluoroethylene, PTFE, 规格0.22 μm/13 mm) 美国Agilent公司。

1.2 仪器与设备

Exion LC AD/SCIEX Triple Quad 4500 LC-MS/MS仪(带电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI)) 美国AB SCIEX公司; 5804R高速冷冻离心机 德国Eppendorf公司; MV-3000多位涡旋振荡器 广东晋元科技有限公司; FV64全自动智能氮吹仪 广州得泰仪器科技有限公司; Milli-Q去离子水发生器 美国Millipore公司; JJ500Y电子天平(精度0.01 g) 福州华志科学仪器有限公司; MS105DU电子天平(精度0.1 mg) 梅特勒-托利多科技(中国)有限公司; JP-C300超声波清洗机 广州吉普超声波设备有限公司; 可调单道移液器 美国Thermo Fisher公司。

1.3 方法

1.3.1 同位素标准溶液的配制

称取五氯苯酚-¹³C₆标准品约5 mg, 置于10 mL容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 配得五氯苯酚-¹³C₆储备液质量浓度为500 μg/mL, -16~-20℃条件下保存。吸取1.00 mL五氯苯酚-¹³C₆储备液置于100 mL容量瓶中, 用甲醇稀释并定容至刻度, 配得标准品中间液质量浓度

为5 $\mu\text{g/mL}$ ， $-16\sim-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下保存。吸取1.00 mL五氯苯酚- $^{13}\text{C}_6$ 标准品中间液置于10 mL容量瓶中用甲醇稀释至刻度，配得五氯苯酚- $^{13}\text{C}_6$ 的标准品使用液质量浓度为0.5 $\mu\text{g/mL}$ ， $-16\sim-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下保存。

1.3.2 标准曲线的配制

用甲醇将质量浓度为1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的五氯苯酚标准溶液逐级稀释，配制质量浓度为1 $\mu\text{g/mL}$ 的标准品中间液和质量浓度分别为0.1、0.01 $\mu\text{g/mL}$ 的五氯苯酚标准品使用液， $-16\sim-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下保存。精密吸取适量五氯苯酚标准品中间液或标准品使用液以及五氯苯酚- $^{13}\text{C}_6$ 标准品使用液，用空白奶粉基质提取液稀释，配成五氯苯酚- $^{13}\text{C}_6$ 质量浓度均为5 $\mu\text{g/L}$ 以及质量浓度范围为0.2~150 $\mu\text{g/L}$ 的五氯苯酚标准工作曲线，用LC-MS/MS测定。

1.3.3 样品提取

称取经混合均匀的奶粉样品2 g（精确至0.01 g）置于50 mL聚丙烯离心管中，加入100 μL 质量浓度为0.5 $\mu\text{g/mL}$ 的五氯苯酚- $^{13}\text{C}_6$ 标准工作液，加入10 mL一级水充分溶解奶粉，然后加入200 μL 质量浓度为5 g/100 mL的氢氧化钾溶液或氢氧化钠溶液，摇匀后置于40~50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴振荡器中振荡水解30 min，冷却后加入5.0 mL乙腈，用多位涡旋振荡器以2 200 r/min涡旋振荡5 min，加入500 μL 甲酸，摇匀，静置10 min，加入1 g无水硫酸镁后立即摇匀，继续用多位涡旋振荡器以2 200 r/min涡旋10 min，以8 000 r/min离心3 min，收集上层清液（乙腈层）作为待净化液。

1.3.4 样品净化

吸取待净化液约3 mL转移至Captiva EMR-Lipid脂质去除净化柱中，控制待净化液流出速率约为1 mL/min，弃去前1.5 mL流出液，收集后段流出液，吸取500 μL 流出液置于离心管中，然后加入500 μL 一级水，涡旋混匀，用PTFE过滤，供LC-MS/MS检测。

1.3.5 色谱条件

色谱柱：Waters ACQUITY BEH C_{18} 色谱柱（100 mm \times 2.1 mm，1.7 μm ）；流动相A：甲醇；流动相B：5 mmol/L乙酸铵溶液（含0.05%甲酸）；柱温：25 $^{\circ}\text{C}$ ；进样量：15 μL 。梯度洗脱程序：0~1.5 min，55% A、45% B；1.5~2.0 min，55%~85% A、45%~15% B；2.0~8.0 min，85% A、15% B；8.0~9.0 min，85%~55% A、15%~45% B；9.0~10.0 min，55% A、45% B。

1.3.6 质谱条件

电离源ESI $^{-}$ ；数据采集：多反应监测（multiple reaction monition, MRM）模式；电喷雾电压-4 500 V；脱溶剂温度550 $^{\circ}\text{C}$ ；气帘气压力30 psi；雾化气压力45 psi；干燥气压力45 psi。化合物保留时间、离子对、去簇电压、碰撞能量、驻留时间见表1。

表1 五氯苯酚和五氯苯酚- $^{13}\text{C}_6$ 质谱参数

化合物	保留时间/min	离子对 (m/z)	去簇电压/V	碰撞能量/eV	驻留时间/ms
五氯苯酚	7.25	262.8/262.8*	-90	-15	50
		264.8/264.8	-90	-15	50
		266.8/266.8	-90	-15	50
		268.8/268.8	-90	-15	50
五氯苯酚- $^{13}\text{C}_6$	7.25	272.8/272.8	-80	-15	50

注：*：定量离子。

2 结果与分析

2.1 质谱方法优化

五氯苯酚分子中氯原子存在 ^{35}Cl 和 ^{37}Cl 同位数，在ESI $^{-}$ 下，五氯苯酚和五氯苯酚- $^{13}\text{C}_6$ 分别监测到 m/z 相差为2的多个母离子（Q1）峰，如图1、2所示。五氯苯酚母离子质量数分别为262.8、264.8、266.8、268.8、270.8；五氯苯酚- $^{13}\text{C}_6$ 母离子质量数分别为268.8、270.8、272.8、274.8、276.8。对上述各个母离子进行碎裂，均未监测到任何子离子（Q3）碎片，分析其原因可能是五氯苯酚和五氯苯酚- $^{13}\text{C}_6$ 分子结构对称（图1、2），共轭性强，结构十分稳定，难以碎裂产生特征子离子碎片。

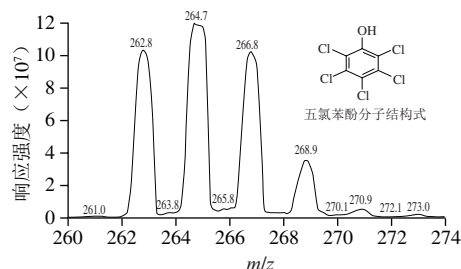


图1 五氯苯酚母离子（Q1）图谱

Fig. 1 Parent ion (Q1) spectrum of pentachlorophenol

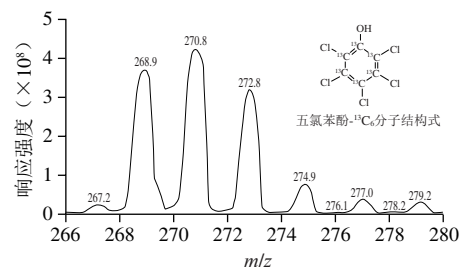
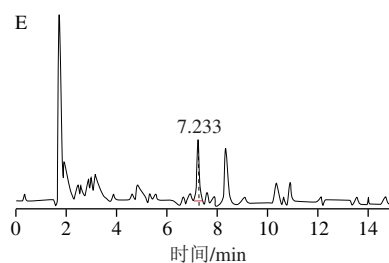
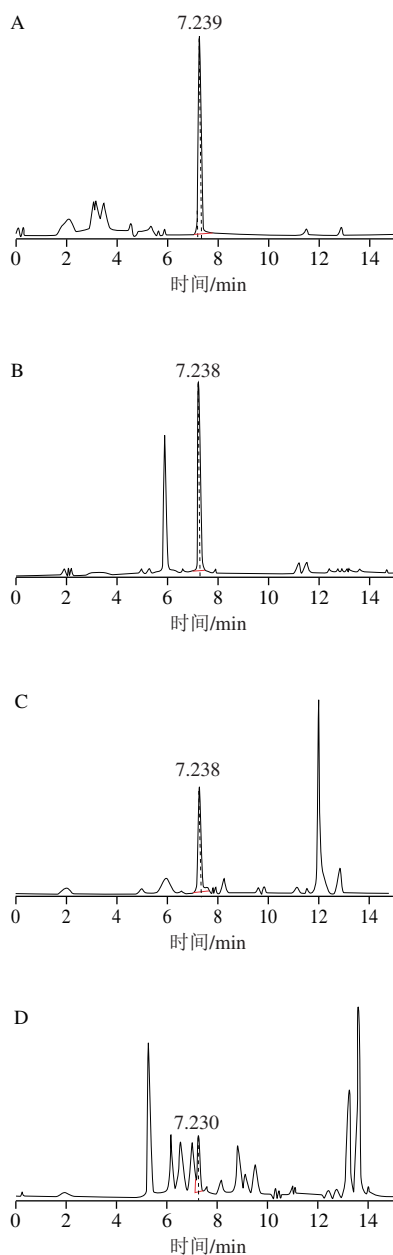


图2 五氯苯酚- $^{13}\text{C}_6$ 母离子（Q1）图谱

Fig. 2 Parent ion (Q1) spectrum of pentachlorophenol- $^{13}\text{C}_6$

有文献报道^[25]，五氯苯酚碎裂后产生质量数为35的氯离子碎片，但氯离子质量数低，容易受杂质离子干扰，同时也难以保证氯离子碎片在每次检测中都具有稳定的重复性。本实验选择离子对 m/z 262.8/262.8、

264.8/264.8、266.8/266.8、268.8/268.8作为五氯苯酚监测离子，与田春霞等^[26]的研究和GB 23200.92—2016一致。通过优化锥孔电压和碰撞能量后 m/z 264.8/264.8响应最高，但实际样品检测中发现该离子MRM图显示杂峰较多， m/z 262.8/262.8杂峰最少，如图3所示。因此，选择 m/z 262.8/262.8作为定量离子对，其余离子作为定性离子，符合欧盟EC657/2002对串联三重四极杆质谱进行化合物定性鉴别要求。由于五氯苯酚和内标五氯苯酚-¹³C₆存在相同质量数的母离子 m/z 268.8、270.8，为避免干扰定量，五氯苯酚-¹³C₆选择 m/z 272.8/272.8离子对的峰面积参与计算，其余离子作为定性离子。优化后的质谱参数见表1。



A. m/z 262.8/262.8; B. m/z 264.8/264.8; C. m/z 266.8/266.8; D. m/z 268.8/268.8; E. m/z 272.8/272.8。图4同。

图3 基质匹配标准品(10 µg/L)的提取离子色谱图

Fig. 3 Extracted ion chromatogram of matrix matching standard solution (10 µg/L)

2.2 前处理方法选择与优化

2.2.1 提取条件优化

五氯苯酚含酚羟基呈酸性，其 pK_a 值为4.93，在酸性条件下呈分子态，易溶于甲醇、乙腈等有机溶剂；在碱性条件下呈离子态，溶于甲醇、乙腈，更易溶于水^[27]，因此，利用五氯苯酚与五氯苯酚钠可相互转化的性质可提高萃取回收率。由于有机试剂不能溶解奶粉样品，无法形成分散性好的溶液，因此，只能萃取样品表面的五氯苯酚，无法有效萃取奶粉颗粒内部的五氯苯酚，导致检测结果不准确。本实验先以5倍于奶粉质量的水体积充分溶解奶粉，破坏奶粉颗粒，释放奶粉中可能存在的待测化合物，然后通过酸水解法或碱水解法使可能以结合态形式存在的待测化合物转化为游离态，再进一步用有机试剂提取，使检测结果更准确。甲醇或乙腈均可作为提取试剂和蛋白沉淀剂，但乙腈的萃取回收率和蛋白沉淀效果优于甲醇，因此，本实验选择乙腈作为提取试剂和蛋白沉淀剂。

为避免同位素稀释法经内标折算后不能体现方法的回收率差异，除特殊说明外，本实验涉及的回收率比较均采用基质匹配外标法定量，以此确定最佳的实验条件，最终形成最优的同位素稀释样品前处理方法。

采用空白奶粉样品添加五氯苯酚5 µg/kg，比较酸水解法和碱水解法的回收率差异。酸水解法是用甲酸替代氢氧化钾或氢氧化钠溶液，其余步骤按1.3.3节操作；碱水解法完全按1.3.3节操作。结果表明，碱水解法比酸水解法回收率约25%~35%，且重复性更好。其原因可能是部分五氯苯酚与奶粉中含有羧基(—COOH)或氨基(—NH₂)的物质相互作用^[28]，形成了结合态，碱水解法可以将结合态、分子态等形式存在的待测化合物充分转化为易溶于水的五氯苯酚钠，有利于充分提取，回收率更高，重复性更好；酸水解法对结合态存在的待测化合物作用不明显，回收率偏低。因此，本实验选择碱水解法。

2.2.2 QuEChERS方法优化

QuEChERS法^[29]萃取与固相萃取法相比，更简单、更高效、成本更低、重复性更好，同时具备萃取和初

步净化样品作用,避免了固相萃取法步骤繁琐^[30]、耗时长、堵塞柱子以及重复性不稳定等缺点,本实验优先选择QuEChERS法萃取,适用于大批量样品快速检测。

QuEChERS萃取常用的盐析试剂有无水硫酸镁、无水硫酸钠、乙酸钠、氯化钠等。在优化的实验条件下,比较无水硫酸镁、无水硫酸钠、乙酸钠、氯化钠对五氯苯酚萃取回收率的影响,以基质匹配外标法定量计算回收率,结果表明,无水硫酸镁作盐析试剂时,回收率最高。进一步比较无水硫酸镁添加量为1、2、3、4 g对回收率的影响。结果表明,当溶解奶粉的水与无水硫酸镁添加量比例为5:1 (mL/g) 时,回收率最佳;当无水硫酸镁添加量超过该比例时,回收率有所下降,这可能是由于过量无水硫酸镁加入瞬间局部水分被迅速吸收,形成的颗粒物吸附五氯苯酚。

多次萃取可提高目标化合物的回收率,但前处理耗时长,需要消耗更多有机试剂。本实验使用同位素稀释内标法检测,仅需QuEChERS法萃取一次,回收率达到90%以上,操作简单、显著缩短样品前处理时间,有利于大批量样品快速检测。

2.2.3 样品净化

奶粉样品含有大量蛋白质、约16%脂肪以及约1%~3%磷脂。QuEChERS法同时起到萃取和去除无机盐、水溶性杂质等净化作用,但脂肪和磷脂也会被乙腈提取出来,这些杂质对五氯苯酚检测起基质抑制作用,需进一步净化。Captive EMR-Lipid脂质去除净化柱^[31]可同时去除乙腈提取液中脂肪和磷脂,有效降低基质抑制,与GB 23200.92—2016的MAX固相萃取柱净化相比,整个净化过程省略了活化、淋洗、洗脱等步骤,简化净化流程,直接收集流出液即完成净化操作,显著提高前处理效率,且样品加标绝对回收率比GB 23200.92—2016高约10%~15%,因此,选择采用Captive EMR-Lipid脂质去除净化柱对样品提取液作进一步净化。

用空白基质提取液配制相同质量浓度的标准溶液,分别用尼龙66(材质为聚己二酰己二胺)和聚四氟乙烯材质的有机系针式滤头过滤,比较不同材质滤头对五氯苯酚的吸附作用。结果表明,尼龙66有机系针式滤头对五氯苯酚有吸附,五氯苯酚损失约30%~35%;聚四氟乙烯有机系针式滤头对五氯苯酚无吸附。其原因可能是尼龙66滤膜材质的胺基(—NH—)与五氯苯酚的酚羟基结合,使部分五氯苯酚保留在滤膜上,导致五氯苯酚损失,但将过滤后的滤液用同一个滤头再过滤一次,损失率下降至10%左右,可能是由于再次过滤能将保留在滤膜上的五氯苯酚洗脱下来;聚四氟乙烯不存在与五氯苯酚发生反应的基团,所以五氯苯酚无损失。因此,选择使用PTFE材质的有机系针式滤头过滤。

2.3 方法学考察

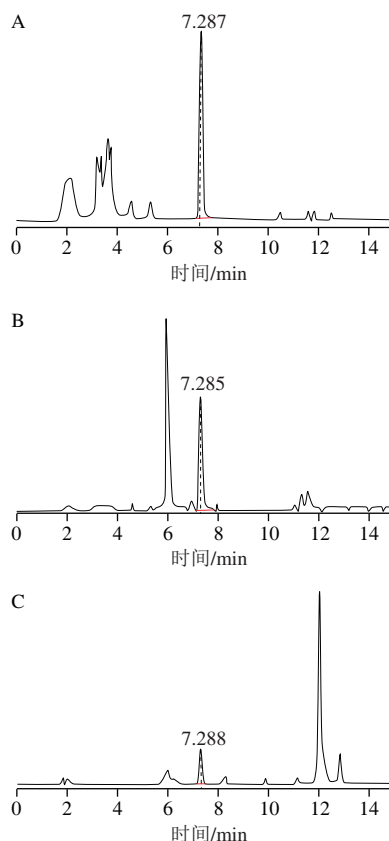
2.3.1 基质效应

除不加同位素内标外,按照优化的前处理方法对添加五氯苯酚3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的奶粉样品进行6个平行测定,制得样品待测液,考察基质效应。分别用乙腈、甲醇、空白基质提取液配制标准工作曲线,分别对样品待测液进行外标法定量,计算平均回收率,见表2。结果表明,以乙腈、甲醇配制的标准工作曲线定量的平均回收率分别为33%、25%;以空白基质提取液配制的标准工作曲线定量(基质匹配外标法定量)的回收率为63%;表明存在较强的基质抑制作用。为降低或消除基质抑制作用,本实验采用空白基质提取液与同位素稀释内标法相结合配制标准工作曲线进行定量,平均回收率为90%,有效降低基质抑制作用,使定量结果更加准确、可靠。由于五氯苯酚未能碎裂形成子离子碎片,实际样品的提取离子色谱图显示杂峰较多(图4),采用同位素稀释内标法可提高定性鉴别准确度。

表2 标准曲线配制方法对回收率的影响

Table 2 Influence of standard curve preparation methods on PCP recovery

定量方法	标准工作曲线溶剂	平均回收率/% (n=6)
外标法	乙腈	33
	甲醇	25
	空白基质提取液(基质匹配外标法定量)	63
内标法	空白基质提取液-同位素稀释内标法	90



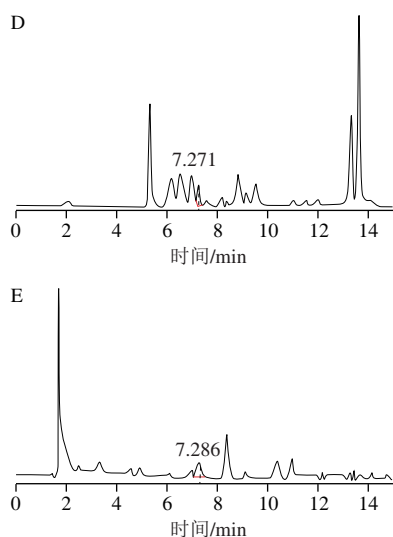


图4 空白奶粉样品添加15.0 μg/kg标准品的提取离子色谱图

Fig. 4 Extracted ion chromatogram of spiked blank sample at 15.0 μg/kg

2.3.2 线性关系、检出限和定量限

五氯苯酚的空白基质提取液-同位素稀释内标标准工作曲线在质量浓度0.2~150 μg/L范围内,具有良好的线性关系,线性方程为 $y=0.242\ 56x+0.044\ 70$,相关系数 $r=0.996\ 0$ 。以不含五氯苯酚的奶粉样品添加标准品的方式考察方法检出限和定量限,分别以定量离子3倍信噪比和10倍信噪比响应值对应的含量作为方法检出限和定量限,方法检出限和定量限分别为0.5、1.5 μg/kg。在1.3.5节和1.3.6节条件下测定,获得的基质匹配标准品(10 μg/L)的提取离子色谱图(图3)。

2.3.3 回收率和精密度

在2 g(精确至0.01 g)不含五氯苯酚的奶粉样品中分别添加质量浓度为0.1 μg/mL五氯苯酚标准溶液30、60 μL,1 μg/mL五氯苯酚标准溶液30 μL(添加水平分别相当于样品中五氯苯酚含量为1.5、3.0、15.0 μg/kg),然后在每个样品中添加100 μL质量浓度为0.5 μg/mL的五氯苯酚- $^{13}\text{C}_6$ 标准溶液,每个添加水平平行测定6次,空白基质提取液-同位素稀释内标法定量,考察方法回收率和精密度,结果见表3,平均回收率为90.3%~119.2%,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为5.8%~7.5%,回收率和精密度均符合GB/T 27404—2008附录F之F.1回收率和F.3精密度要求,满足奶粉中五氯苯酚残留量检测要求。1.3.5节和1.3.6节条件下测定,获得的空白奶粉样品添加15.0 μg/kg标准品的提取离子色谱图。

表3 五氯苯酚加标回收率及精密度($n=6$)

Table 3 Recoveries and precision RSDs of PCP from spiked samples ($n=6$)

加标量/(μg/kg)	回收率/%	RSD/%
1.5	90.3	7.5
3.0	114.6	6.1
15.0	119.2	5.8

2.4 实际样品测定

采用建立的方法对45批奶粉样品(婴幼儿配方奶粉1段15批次,2段10批次,3段10批次,中老年奶粉10批次)进行检测,均未检出五氯苯酚。

3 结论

本实验建立QuEChERS萃取, Captiva EMR-Lipid脂质去除净化柱净化,基质匹配-同位素稀释内标法结合LC-MS/MS测定奶粉中五氯苯酚的分析方法。在水浴加热条件下,采用碱水解法将奶粉中可能以结合态、分子态形式存在的待测化合物充分转化为易溶于水的五氯苯酚钠,在乙腈存在条件下,用甲酸将五氯苯酚钠转化为不溶于水、易溶于乙腈的五氯苯酚,再以无水硫酸镁为盐析试剂的QuEChERS法萃取,用Captiva EMR-Lipid脂质去除净化柱对样品提取液作进一步净化,净化液与水按1:1比例混合后,用LC-MS/MS测定,以基质匹配-同位数稀释内标标准工作曲线法定量,本方法具有操作简单、快速、回收率高、准确可靠等优点,弥补了奶粉中五氯苯酚残留量检测方法缺失,为开展相关风险监测提供技术支持。

参考文献:

- [1] FERNANDES A R, MORTIMER D, ROSE M, et al. Recently listed Stockholm convention POPs: analytical methodology, occurrence in food and dietary exposure[J]. Science of the Total Environment, 2019, 678: 793-800. DOI:10.1016/j.scitotenv.2019.04.433.
- [2] 黄铁昕. 我国灭螺药物研究和现场应用[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2019, 31(6): 679-684. DOI:10.16250/j.32.1374.2019080.
- [3] 庞书南, 吴天良, 梁毅, 等. 电化学共沉积石墨烯/金纳米颗粒复合物修饰玻碳电极用于木材、纺织品中五氯苯酚的测定[J]. 分析测试学报, 2014, 33(12): 1404-1409.
- [4] 樊苑牧, 贺小雨, 俞雪钧, 等. 气相色谱-质谱联用对纺织品中16种含氯酚及邻苯基苯酚、β-萘酚残留量的测定[J]. 分析测试学报, 2009, 28(7): 794-798; 803.
- [5] 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.
- [6] HATTEMER-FREY H A, TRAVIS C C. Pentachlorophenol: environmental partitioning and human exposure[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1989, 18: 482-489. DOI:10.1007/bf01055013.
- [7] MACHERA K, MILIADIS G E, ANAGNOSTOPOULOS E, et al. Determination of pentachlorophenol in environmental samples of the S. Euboic Gulf, Greece[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1997, 59: 909-916. DOI:10.1007/s001289900568.
- [8] WAGNER S L, DURAND L R, INMAN R D. Residues of pentachlorophenol and other chlorinated contaminants in human tissues: analysis by electron capture gas chromatography and electron capture negative ion mass spectrometry[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1991, 21: 596-606. DOI:10.1007/bf01183883.
- [9] 黄季维, 梅玉琴, 刘天洁, 等. 全自动固相萃取-气相色谱质谱法检测动物性食品中五氯酚钠残留量[J]. 中国卫生产业, 2016, 13(30): 74-76. DOI:10.16659/j.cnki.1672-5654.2016.30.074.

- [10] 农业农村部. 附件: 食品动物中禁止使用的药品及其他化合物清单. 第250号公告[EB/OL]. [2020-01-06]. http://www.moa.gov.cn/nybg/2020/202002/202004/t20200414_6341556.htm.
- [11] 蔡灏斌, 陈广银, 夏飞. 柱前衍生化-固相萃取-气相色谱法快速测定水中五氯酚[J]. 环境监控与预警, 2018, 10(5): 22-25.
- [12] CHUANG J C, VAN EMON J M, FINEGOLD J K, et al. Immunoassay method for the determination of pentachlorophenol in soil and sediment[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2006, 76: 381-388. DOI:10.1007/s00128-006-0932-z.
- [13] 国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化管理委员会. 纸、纸板和纸浆水抽提液中五氯苯酚的测定: GB/T 25002—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [14] 何正和, 魏云计, 何健, 等. 液液萃取-气相色谱/串联质谱法测定水中五氯酚及其钠盐[J]. 环境监测管理与技术, 2021, 33(2): 49-51. DOI:10.19501/j.cnki.1006-2009.2021.02.011.
- [15] 林长钦, 苏哪锋, 李家宏, 等. QuEChERS-气相色谱-质谱法测定不同食品基质中五氯酚及其钠盐残留量[J]. 安徽农业科学, 2021, 49(6): 190-192.
- [16] 兰红军, 吴雪梅, 冯耀基, 等. 旋涡辅助-柱前衍生-气相色谱-串联质谱法测定木砧板及木筷子中的五氯酚[J]. 中国食品卫生杂志, 2019, 31(3): 231-236. DOI:10.13590/j.cjfh.2019.03.008.
- [17] 国家质量监督检验检疫总局. 食品接触材料木制品类食品模拟物种五氯苯酚的测定气相色谱-质谱法: SN/T 2204—2015[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [18] 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鱼肉中的五氯酚[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(9): 2096-2100.
- [19] ROSA D E D, GUZMAN-MAR J L, SALAS-ESPINOSA E A, et al. Multi-residual determination of multi-class pesticides in groundwater by direct immersion solid-phase microextraction with gas chromatography-selected Ion monitoring mass spectrometry (GC-MS/SIM) detection[J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2022, 233: 76-90. DOI:10.1007/s11270-022-05555-3.
- [20] 孙金影, 安丽红, 杨敏, 等. QuEChERS-高效液相色谱串联质谱法快速筛查分析食品中五氯酚酸钠残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(14): 4757-4762. DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.2020.14.044.
- [21] 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. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2020.07.061.
- [22] 李诗言, 王鼎南, 周凡, 等. 水产品中五氯酚及其钠盐的高效液相色谱串联质谱检测方法的优化[J]. 中国渔业质量与标准, 2019, 9(5): 23-29.
- [23] XIN L N, JIANG D Z, LIANG F Y, et al. A new method for detecting environmental pollutant sodium pentachlorophenolate (PCP-Na) based on PAX solid-phase extraction and UPLC-MS/MS[J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2022, 233: 51-58. DOI:10.1007/s11270-022-05511-1.
- [24] 国家卫生和计划生育委员会, 农业农村部, 食品药品监督管理总局. 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.
- [25] 陈晓红, 潘胜东, 金米聪. 固相萃取-超快速液相色谱串联质谱测定食品中五氯酚[J]. 卫生研究, 2018, 47(3): 440-445; 458. DOI:10.19813/j.cnki.weishengyanjiu.2018.03.018.
- [26] 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性食品中五氯酚的残留量[J]. 分析试验室, 2019, 38(4): 438-441. DOI:10.13595/j.cnki.issn1000-0720.2018.071302.
- [27] 邱慧珍, 黄凤妹, 何孝金. GB 23200.92—2016动物源性食品中五氯酚残留量的测定标准解读及方法优化[J]. 现代食品, 2021(22): 190-194. DOI:10.16736/j.cnki.cn41-1434/ts.2021.22.053.
- [28] 陈岩. 氯酚类污染物与牛血清白蛋白相互作用的表观及微观效应研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2011.
- [29] ANASTASSIADES M, LESHOTAY S J, STAJNBAHER D, et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce[J]. Journal of AOAC International, 2003, 86(2): 412-431.
- [30] 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性食品中痕量五氯酚及其钠盐[J]. 色谱, 2018, 36(6): 518-522. DOI:10.3724/SP.J.1123.2018.03017.
- [31] 夏宝林, 严秋钊, 杨娜, 等. 增强型除脂固相萃取技术结合超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中五氯酚残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(14): 4698-4705.