DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2019.07.014

ASPE-UPLC-MS/MS 测定动物源食品中痕量五氯酚及其钠盐

Establishment of trace pentachlorophenol and its sodium salt in animal-origin foods by automated solid phase extraction-coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

陈彦宏[1] 陈 穗[2] 宋安华[1] 黄景初[1]

CHEN Yan-hong[1] *CHEN Sui*[2] *SONG An-hua*[1] *HUANG Jing-chu*[1]

陈悦铭[1] 刘 佳[1] 王 宇[1,2]

CHEN Yue-ming[1] *LIU Jia*[1] *WANG Yu*[1,2]

(1. 广州市食品检验所,广东 广州 511400;2. 广东美味鲜调味食品有限公司,广东 中山 528437)

(1. *Guangzhou Institute For Food Inspection*, *Guangzhou*, *Guangdong* 511400, *China*;
2. *Guangdong Meiweixian Flavoring Foods Co., Ltd.*, *Zhongshan*, *Guangdong* 528437, *China*)

摘要:建立了全自动固相萃取—超高效液相色谱—串联质谱法测定动物源食品中五氯酚及其钠盐的分析方法,比较了提取溶剂、固相萃取柱、洗脱液、质谱分析和色谱分离条件、内标物等对测定结果的影响。最终选用 5%氨水—乙腈提取,MAX 固相萃取柱净化,10%甲酸甲醇溶液洗脱,氮吹浓缩后用乙腈—水溶液(50∶50,体积比)定容,Kinetex C_{18} 色谱柱(100 mm×2.1 mm,2.6 μm)分离,乙腈和 5 mmol/L 乙酸铵的 0.1%甲酸水溶液梯度洗脱,电喷雾电离负离子(ESI^-)多反应监测模式(MRM)检测,内标法定量。结果显示:五氯酚在 0.2~10.0 μg/L 范围内线性关系良好,相关系数 $r>0.999$;1.0,5.0,10.0 μg/kg 添加水平下的加标回收率在 86.0%~106.0%,相对标准偏差(*RSD*)为 1.62%~4.27%。该方法灵敏度高,重现性好,具有较高的准确度和精密度,可用于测定动物源食品中痕量五氯酚及其钠盐残留。

关键词:自动固相萃取;超高效液相色谱—串联质谱法;内标法;动物源食品;五氯酚;五氯酚钠

Abstract: In order to develop a method for the determination of trace pentachlorophenol and its sodium salt in animal-origin foods by automated solid phase extraction-coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, the effects of extractive solvents, solid phase extraction columns, eluents, mass spectrum and chromatographic separation conditions, internal standards were studied and compared. Finally, the sample was extracted by 5% ammonia acetonitrile, purified by MAX solid phase extraction column and eluted by 10% formic acid methanol. The extract was dried-up with nitrogen and re-dissolved with acetonitrile water solution (50∶50). The solution was separated on a Kinetex C_{18} column (100 mm×2.1 mm, 2.6 μm) with gradient elution program of acetonitrile and 5mmol/L ammonium acetate (0.1% formic acid) as the mobile phase. The detection was performed by UPLC-MS/MS using the negative electrospray ionization interface under the multiple reaction monitoring mode (MRM), and quantified with internal standard method. The developed method showed a good linearity in the range of 0.2~10.0 μg/L, with correlation coefficients (r) above 0.999. The mean recoveries spiked at levels of 1.0, 5.0, 10.0 μg/kg were within 86.0%~106.0%, with relative standard deviations (*RSD*) were in the range of 1.62%~4.27% ($n=6$). The method is sensitive, reproducible, accurate and precise, and is suitable for the determination of trace pentachlorophenol and its sodium salt residues in animal-origin foods.

Keywords: auto-solid phase extraction (ASPE); ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS); internal standard method; animal-origin foods; pentachlorophenol; sodium pentachlorophenolate

基金项目:广东省科技计划项目(编号:2016A040403077);广州市科技计划项目(编号:201804010403);广东美味鲜博士后科技创新项目(编号:2018)

作者简介:陈彦宏,女,广州市食品检验所助理工程师。

通信作者:王宇(1980—),男,广州市食品检验所高级工程师,博士。E-mail:94180681@qq.com

收稿日期:2019-03-01

五氯酚（pentachlorophenol，PCP）及其钠盐属高毒有机氯农药，被广泛应用于防腐、抗菌、杀虫、除草等方面。中国主要将五氯酚用于吸血虫中间宿主钉螺的灭杀，稗草的防治，皮革、木材的防腐，以及养殖水体的消毒、清塘等[1]。五氯酚化学性质稳定，不易降解，具有生物蓄积作用，致畸、致癌、致突变等毒副作用，被国际癌症研究机构 IARC 列为 2B 类致癌物[2]。五氯酚钠具有较好的水溶性，可通过水载体广泛传播，进入食物链并产生生物蓄积[3]。五氯酚进入高等动物体内，可通过血液参与机体循环，与血液中细胞、功能蛋白等发生作用，抑制生物代谢过程的氧化磷酸化，影响肝、肾、中枢神经等器官、组织的正常生理活动[4]。农业部公告第 193 号及第 235 号规定，所有动物源食品中禁止使用五氯酚及其钠盐[5-6]，动物性食品中不得检出。《国家食品安全监督抽检实施细则（2018 年版）》也明确规定畜禽肉及其副产品须检测五氯酚及其钠盐项目[7]。因此，建立灵敏度高、重现性好、可用于确证动物源食品中痕量五氯酚及其钠盐残留的检测方法显得尤为重要。

目前，针对五氯酚及其钠盐常用的检测方法有气相色谱法（GC）[8-10]、气相色谱—质谱法（GC-MS）[11-13]、液相色谱法（LC）[14-16]、液相色谱—串联质谱法（LC-MS/MS）[17-19]、免疫分析法[20]等。GC 和 GC-MS 需柱前衍生，操作繁琐；LC 灵敏度不高，定性较差；LC-MS/MS 具有灵敏度高、选择性强等特点，已广泛运用于动物源食品中兽药残留及非法添加物的确证检测。GB 23200.92—2016 为动物源食品中五氯酚的测定提供了依据，但该法规使用基质标准曲线进行定量，当同时检测多种不同类型样品时，需配制多条基质标准曲线，基质复杂，操作繁琐。

本研究拟运用全自动高通量柱式固相萃取系统，在 GB 23200.92—2016 的基础上，优化样品前处理方法，采用内标法定量，研究提取溶液的选择、固相萃取条件的选择与优化、内标的选择等对测定结果的影响，建立显著降低基质效应、响应度高、定性定量准确的检测方法，以满足食品安全监管中大批量实际样品的测定分析。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

1.1.1　材料与试剂

猪肉、猪肝、鸡肉、鸡蛋、红立鱼、明虾、大闸蟹、鲜牛奶：市售；

C_{18} 固相萃取柱：500 mg/6 mL，天津博纳艾杰尔科技有限公司；

Oasis HLB 固相萃取柱：200 mg/6 mL，美国 Waters 公司；

Oasis MAX 固相萃取柱：150 mg/6 mL，美国 Waters 公司。

五氯酚钠（PCP-Na）标准品：批号 Lot 94492，纯度 86.0%，德国 Dr. Ehrenstorfer 公司；

五氯酚-$^{13}C_6$（PCP-$^{13}C_6$）标准品：批号 Lot M-310，纯度 99%，加拿大 CDN 公司；

五溴酚（PBP）标准品：批号 Lot 160473，纯度 99.6%，德国 Dr. Ehrenstorfer 公司；

乙腈：色谱纯，美国 Fisher 公司；

三乙胺：分析纯，德国 CNW 公司；

氨水、甲酸、盐酸、乙酸铵：分析纯，广州化学试剂厂；

试验用水：一级水，经 Synergy 超纯水系统纯化的超纯水（18.2 MΩ·cm）。

1.1.2　仪器与设备

超高效液相色谱仪：UPLC-30A 型，日本 Shimadzu 公司；

三重四级杆质谱仪：Triple Quad 5500 型，美国 AB SCIEX 公司；

全自动高通量柱式固相萃取系统：SPE1000-8 型，美国 LabTech 公司；

分析天平：UW6200H 型，日本 Shimadzu 公司；

分析天平：CP225D 型，德国 Sartorius 公司；

均质机：T18 digital ULTRA-TURRAX 型，德国 IKA 公司；

旋涡混合器：MS 3 digital 型，德国 IKA 公司；

涡旋振荡器：Multi Reax 型，德国 Heidolph 公司；

离心机：Allegra X-30R 型，美国 BECKMAN 公司；

氮吹仪：N-EVAP 112 型，美国 Organomation 公司；

超纯水系统：Synergy 型，德国 Merck 公司。

1.2　试验方法

1.2.1　提取溶剂的选择　称取 2.00 g 均质猪肉样品若干份于 50 mL 离心管，分别使用 10 mL 乙腈、5%三乙胺乙腈、2%三乙胺的乙腈—水溶液（70∶30，体积比）、5%三乙胺的乙腈—水溶液（70∶30，体积比）、8%三乙胺的乙腈—水溶液（70∶30，体积比）、2%氨水—乙腈、5%氨水—乙腈和 8%氨水—乙腈充分提取，均质 1 min，旋涡混合 5 min，8 000 r/min 离心 3 min，收集提取液。

1.2.2　固相萃取条件的确定

（1）固相萃取柱的选择：使用 1.0，5.0，10.0 μg/kg 添加水平下的猪肉样品，比较 C_{18}、Oasis HLB 和 Oasis MAX 固相萃取柱的萃取回收率。

（2）洗脱液的选择：确定使用 Oasis MAX 固相萃取柱后，比较 4%甲酸—甲醇、6%甲酸—甲醇、8%甲酸—甲醇、10%甲酸—甲醇、0.2%盐酸—甲醇、0.4%盐酸—甲醇等不同酸度的酸性甲醇溶液的洗脱能力。使用甲醇、水活化 Oasis MAX 柱，移取 5 mL 提取液以 1 mL/min 流速通过固相萃取柱，用 5 mL 5%氨水溶液、甲醇、甲酸—甲醇—水溶液（2∶49∶49，体积比）淋洗，气推抽干，分别使

用 5 mL 4%甲酸—甲醇、6%甲酸—甲醇、8%甲酸—甲醇、10%甲酸—甲醇、0.2% 盐酸—甲醇和 0.4%盐酸—甲醇洗脱，收集洗脱液。

(3) 定容溶剂的选择：洗脱液于 40 ℃下氮气吹至近干，分别用水、乙腈和乙腈—水溶液(50∶50，体积比)定容至 2.0 mL，经 0.22 μm 滤膜过滤，供液相色谱—串联质谱仪测定。

1.2.3　超高效液相色谱—串联质谱法条件的确定

(1) 质谱条件：使用电喷雾电离负离子(ESI^-)多反应监测模式(MRM)，气帘气(CUR)0.206 9 MPa(即 30.0 Psi)，碰撞气(CAD)0.062 1 MPa(即 9.0 Psi)，电喷雾电压(IS)—4 500 V，离子源温度(TEM)500 ℃，雾化气(GS1) 0.344 8 MPa(即 50.0 Psi)，辅助气(GS2) 0.344 8 MPa(即 50.0 Psi)，选定母离子对，优化去簇电压(DP)、射入电压(EP)、碰撞电压(CE)和碰撞室射出电压(CXP)。

(2) 色谱条件：色谱柱为 Kinetex C_{18} 柱(100 mm×2.1 mm，2.6 μm)，流速 0.3 mL/min，柱温 40 ℃，进样量 5 μL，以乙腈为流动相 A 相，比较水、5 mmol/L 乙酸铵水溶液和 5 mmol/L 乙酸铵的 0.1%甲酸水溶液为流动相 B 相时的分离效果，选择最佳流动相。

(3) 基质效应与内标的选择：配制猪肉、猪肝、鸡肉、鸡蛋、鱼肉、虾、蟹和牛奶样品的基质标准曲线，与相应浓度的溶剂标准曲线比较，研究基质效应。基质效应(ME)=[(基质标准曲线的斜率÷溶剂标准曲线的斜率)－1]×100%。比较五氯酚-$^{13}C_6$ 和五溴酚的性质，选择合适内标。

1.2.4　方法学考察

(1) 线性关系与定量限：使用乙腈—水溶液(50∶50，体积比)逐级稀释标准储备液，加入内标，制得 0.2，0.5，1.0，2.0，5.0，10.0 μg/L 的标准工作溶液，内标浓度 1.0 μg/L。以五氯酚与内标的峰面积之比为纵坐标 y，浓度为横坐标 x，加权后进行线性回归。进样量 5 μL，计算目标物峰高与基线噪声的信噪比(S/N)，以 $S/N=10$ 为仪器定量限，并测定空白样品加标回收后的信噪比，确证方法定量限。

(2) 准确度与精密度：在猪肉、猪肝、鸡肉、鸡蛋、鱼肉、虾、蟹和牛奶样品中各添加 1.0，5.0，10.0 μg/kg 五氯酚，重复测定 6 次，计算加标回收率和相对标准偏差(RSD)。

1.3　数据处理

采用 Excel 2016 进行数据整理、分析，并绘制图表。

2　结果与分析

2.1　提取溶剂的确定

由表 1 可知，提取回收率随着提取溶剂中碱浓度的增加而增加，当碱浓度增加至一定程度后，回收率趋于稳定，且提取溶剂中含水的提取效果优于不含水的。5%三乙胺的乙腈—水溶液(70∶30，体积比)和 5%氨水乙腈提取效率相近，此方法最终选用 5%氨水—乙腈进行提取。动物组织内部的五氯酚以结合态存在[21]，提取前需将其水解(加酸或加碱)或酶解成游离态。加碱可调节溶剂 pH 值，PCP 的 pKa 为 4.74[22]，当 pH＞pKa＋2 个单位时，PCP 发生离子化，呈游离的离子形态。

表 1　提取溶剂对猪肉加标样品中五氯酚提取回收率的影响

Table 1　Extraction percentage of pentachlorophenol from pork spiked samples by different extraction solvents (5 μg/kg)

提取溶剂	回收率/%
乙腈	64.0
5%三乙胺—乙腈	72.2
2%三乙胺的乙腈—水溶液	76.9
5%三乙胺的乙腈—水溶液	83.2
8%三乙胺的乙腈—水溶液	80.1
2%氨水—乙腈	74.8
5%氨水—乙腈	85.4
8%氨水—乙腈	80.4

2.2　固相萃取条件的确定

2.2.1　固相萃取柱的选择　由图 1 可知，在 1.0，5.0，10.0 μg/kg 添加水平下，Oasis MAX 柱的萃取回收率最佳，Oasis HLB 柱次之，C_{18} 柱最差。这是由于 C_{18} 柱更适合于非极性到中等极性的化合物，对强极性的五氯酚吸附保留效果较弱。HLB 柱为亲水亲脂平衡柱，是适用于酸性、中性和碱性化合物的通用型小柱，对极性化合物的保留需提供较好的水浸润性环境，对水样品中五氯酚的回收率较好，但对动物源食品中五氯酚的回收率一般。Oasis MAX柱为一种混合型的阴离子交换柱，其填料为

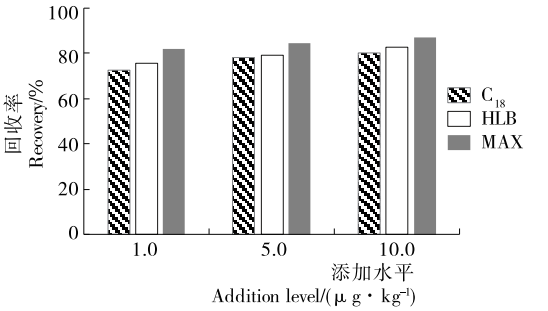

图 1　固相萃取柱对猪肉中五氯酚萃取回收率的影响

Figure 1　Extraction percentage of pentachlorophenol from pork by different solid phase extraction columns

N-乙烯基吡咯烷酮-二乙烯苯共聚物基质－$CH_2N(CH_3)_2C_4H_9$。碱性环境下，呈酸性的五氯酚发生离子化，带电荷，其酚羟基表现为 1 个负电荷的阴离子，酚羟基与 MAX 柱填料上表现为 1 个正电荷阳离子的季铵基发生离子交换作用，使五氯酚被强吸附并保留于 MAX 柱上[17]。因此，最终选用 Oasis MAX 固相萃取柱进行净化。

2.2.2　洗脱液的选择与优化　由图 2 可知，随着甲酸浓度的增加，洗脱液的洗脱能力逐渐增强。盐酸的酸度强于甲酸，洗脱液中加入微量盐酸同样可实现五氯酚的洗脱，但由于盐酸酸度过强，洗脱下部分强吸附的干扰物质，基质干扰加重，影响回收率。因此，最终选用 10% 甲酸—甲醇进行洗脱。

使用酸性甲醇洗脱，主要是利用其酸性 pH 可中和被吸附的阴离子，使其去离子化，不再与填料上的季铵基产生静电吸引。当 pKa－2 个单位＜pH＜pKa＋2 个单位时，五氯酚为分子形态，不带电荷。当酸浓度不足时，五氯酚难以完全去离子化，不能完全洗脱；当酸浓度过大时，将同时洗脱下填料上强吸附的干扰物质。在洗脱前使用弱酸性的甲酸—甲醇—水溶液（2∶49∶49，体积比）淋洗，则是在确保目标物五氯酚不被提前洗脱的前提下，去除部分弱吸附的干扰物质，降低基质效应。

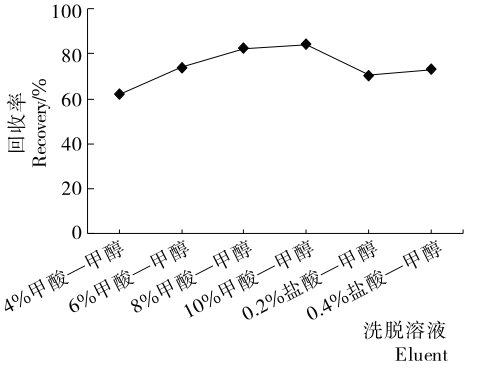

图 2　酸性甲醇溶液浓度对五氯酚洗脱能力的影响

Figure 2　Elution ability of acid methanol solution with different acid concentration on pentachlorophenol

2.2.3　定容溶液的选择与优化　分别使用水、乙腈和乙腈—水溶液（50∶50，体积比）定容，发现水中未检测到目标物五氯酚；乙腈中五氯酚峰型较差，出现溶剂效应；乙腈—水溶液（50∶50，体积比）中五氯酚峰型良好。因此，最终选用乙腈—水溶液（50∶50，体积比）进行定容。五氯酚钠水溶液经酸化至 pH 为 6.6～6.8 时，将全部转化为五氯酚析出[3]。MAX 固相萃取时，酸性甲醇洗脱液已使五氯酚钠转化为五氯酚。五氯酚钠易溶于水，而分子形态的五氯酚难溶于水，可溶于多数有机溶剂。

2.3　超高效液相色谱—串联质谱法条件的确定

2.3.1　质谱条件的确定　五氯酚是一种氯代酚类物质。五氯酚所含苯环中存在共轭双键，使 π 键电子云完全平均化，每个碳—碳键的键长和键能均相等，故五氯酚具有较强的稳定性。五氯酚分子离子（$[M-H]^-$）在三重四级杆碰撞室内不易被打碎，当碰撞能量（CE）增加至较大程度也只能使母离子裂解出 1 个 $[Cl]^-$，较难获得特征子离子，如图 3 所示。

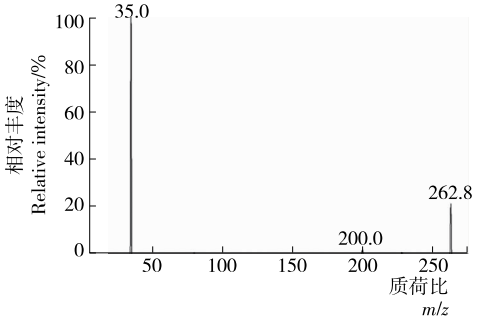

图 3　五氯酚 m/z 262.8 离子的产物离子扫描质谱图

Figure 3　Production scanning mass spectrum of pentachlorophenol m/z 262.8 ion (CE －40 V)

因此，利用五氯酚中氯元素的 ^{35}Cl 和 ^{37}Cl 两种同位素，选定 4 个同位素母离子对（262.8＞262.8，264.8＞264.8，266.7＞266.7 和 268.7＞268.7）进行定性定量分析，满足确证要求[23]。其中，定量离子对为 262.8＞262.8，定性离子对为 264.8＞264.8，266.7＞266.7 和 268.7＞268.7，具体条件见表 2。

2.3.2　色谱条件的确定　比较水，5 mmol/L 乙酸铵水溶液和 5 mmol/L 乙酸铵的 0.1% 甲酸水溶液 3 种流动相后发现，以水为流动相，五氯酚峰型较差，影响定量准确；以 5 mmol/L 乙酸铵水溶液为流动相，峰型改善，但保留性较差，易受强极性杂质干扰；以 5 mmol/L 乙酸铵的 0.1% 甲酸水溶液为流动相，峰型尖锐，保留增强。因此，最终选用 5 mmol/L 乙酸铵的 0.1% 甲酸水溶液为流动相 B 相，与乙腈（A 相）组合进行梯度洗脱，梯度洗脱程序见表 3。五氯酚为强极性的酸性化合物，C_{18} 色谱柱上保留较差。流动相中加入甲酸，可降低 pH 值，使五氯酚以分子形态存在，水中溶解性降低，极性减弱，获得较好保留；同时可降低色谱柱残余硅羟基的活性，降低五氯酚与硅羟基的次级相互作用，获得较好色谱峰型。加入乙酸铵，可提高五氯酚的离子化效率，提高灵敏度[3]，改善峰型，具有缓冲作用，能维持流动相 pH 值稳定。

2.3.3　基质效应与内标选择

（1）基质效应：液相色谱—质谱分析中，受共流出干扰物和电离竞争抑制的影响，目标物的质谱信号会小于或大于相同浓度的溶剂标准溶液的响应值，存在基质效

表 2　五氯酚、五氯酚-$^{13}C_6$和五溴酚的质谱条件

Table 2　Mass spectrum conditions of pentachlorophenol, pentachlorophenol-$^{13}C_6$ and pentabromophenol

名称	缩写	母离子(m/z)	产物离子(m/z)	DP/V	EP/V	CE/V	CXP/V
五氯酚	PCP-1	262.8	262.8	−110	−10	−15	−15
	PCP-2	264.8	264.8	−110	−10	−15	−15
	PCP-3	266.7	266.7	−110	−10	−15	−15
	PCP-4	268.7	268.7	−110	−10	−15	−15
五氯酚-$^{13}C_6$	PCP-$^{13}C_6$-1	268.7	268.7	−120	−10	−20	−15
	PCP-$^{13}C_6$-2	270.7	270.7	−120	−10	−20	−15
	PCP-$^{13}C_6$-3	272.7	272.7	−120	−10	−20	−15
	PCP-$^{13}C_6$-4	274.8	274.8	−120	−10	−20	−15
五溴酚	PBP-1	484.4	484.4	−170	−10	−20	−15
	PBP-2	486.4	486.4	−170	−10	−20	−15
	PBP-3	488.4	488.4	−170	−10	−20	−15
	PBP-4	490.4	490.4	−170	−10	−20	−15

表 3　流动相梯度洗脱程序

Table 3　Gradient of mobile phase

时间/min	A 相/%	B 相/%
0.0	50	50
0.5	50	50
4.0	80	20
6.0	80	20
6.1	50	50
8.0	50	50

应。基质效应影响分析的灵敏度、准确度和精密度。稀释样品基质、净化样品基质、优化色谱分离条件和质谱分析条件、使用内标物、配制基质标准曲线等可减小基质效应[24]。

通过配制猪肉、猪肝、鸡肉、鸡蛋、鱼肉、虾、蟹、牛奶等样品的基质标准曲线，与溶剂标准曲线比较，测得猪肉、猪肝、鸡肉、鸡蛋、鱼肉、虾、蟹和牛奶的基质效应分别为−22.8%，−32.3%，−23.6%，6.0%，10.8%，−34.8%，−25.9%，−7.1%。其中，鸡蛋、鱼肉、牛奶因含水量较大，基质效应较低，为弱基质效应($|ME|<20\%$)，其他样品为中等强度基质效应($20\%\leqslant|ME|\leqslant50\%$)[25]。当同时检测多种不同类型样品时，需配制多条基质标准曲线，基质复杂，操作繁琐。故本研究采用内标法定量，简化操作。

(2) 内标物的选择：通过比较五氯酚的同位素内标五氯酚-$^{13}C_6$和性质相近的卤素内标五溴酚，由图 4 可知，五氯酚-$^{13}C_6$和五氯酚 m/z 只相差 6，而基于氯元素的同位素选择母离子对，五氯酚-$^{13}C_6$和五氯酚存在相同母离子对 268.7>268.7，质谱信号发生叠加，影响定量定性结果。因此，最终选用五溴酚作为内标。

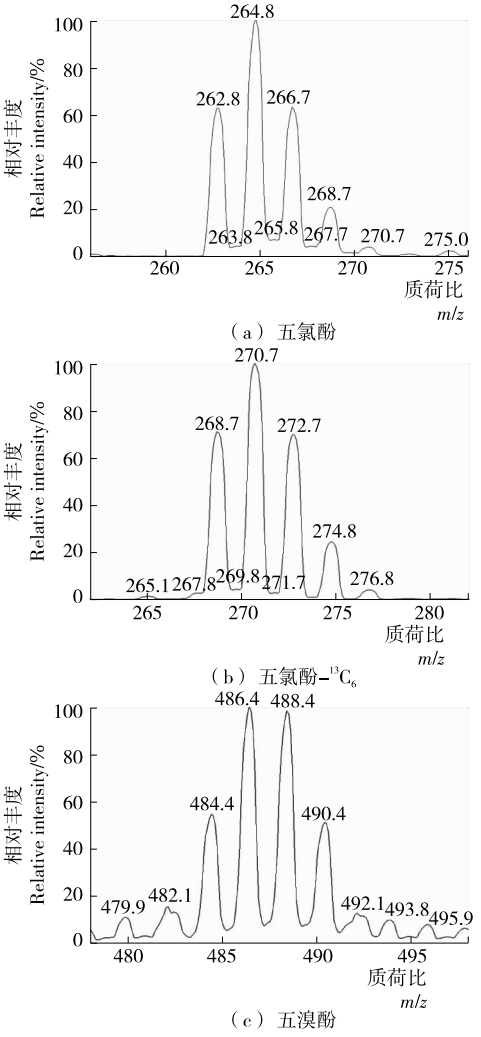

图 4　五氯酚、五氯酚-$^{13}C_6$和五溴酚的一级质谱图

Figure 4　Mass spectrum of pentachlorophenol, pentachlorophenol-$^{13}C_6$ and pentabromophenol

2.4 方法学评价

五氯酚在 0.2～10.0 μg/L 范围内线性关系良好，回归方程为 $y=0.600\ 75x+0.030\ 01$（$r=0.999\ 38$），定量限为 1.0 μg/kg。由表 4 可知，五氯酚的回收率为 86.0%～106.0%，相对标准偏差为 1.62%～4.27%。由图 5 可知，五氯酚和五溴酚的色谱分离效果良好，无杂质峰干扰。此方法灵敏度高，重现性好，准确度和精密度较高。

3 结论

本研究对提取溶剂、固相萃取柱、洗脱液、质谱分析和色谱分离条件、内标物等进行了优化，建立了动物源食品中五氯酚及其钠盐测定的全自动固相萃取—超高效液相色谱—串联质谱法。样品中加入五溴酚内标，经 5%氨水—乙腈提取，运用全自动高通量柱式固相萃取系统，Oasis MAX 固相萃取柱净化，5%氨水溶液、甲醇、甲酸—甲醇—水溶液（2∶49∶49，体积比）淋洗，10%甲酸—甲醇溶液洗脱，氮吹浓缩后用乙腈—水溶液（50∶50，体积比）定容，以乙腈和 5 mmol/L 乙酸铵的 0.1%甲酸水溶液为流动相梯度洗脱，Kinetex C_{18} 色谱柱分离，利用氯的同位素选定母离子对并进行质谱分析测定。在不同动物源样品基质下，该方法分离效果良好，灵敏度高，准确度和精密度较好，能满足动物源性食品中五氯酚及其钠盐残留的确证分析要求，后续可进一步研究并建立动物源食品中多种氯酚类化合物的测定方法。

表 4 不同样品中五氯酚的回收率和相对标准偏差

Table 4 Extraction percentage and relative standard deviations of pentachlorophenol in different samples ($n=6$)

样品	加标量/（μg·kg^{-1}）	测定值/（μg·kg^{-1}）	回收率/%	*RSD*/%
猪肉	1.0	0.87	87.0	4.13
	5.0	4.71	94.2	3.42
	10.0	9.82	98.2	2.32
猪肝	1.0	1.06	106.0	4.27
	5.0	4.66	93.2	3.90
	10.0	9.56	95.6	3.88
鸡肉	1.0	0.94	94.0	4.05
	5.0	4.92	98.4	3.16
	10.0	9.72	97.2	3.04
鸡蛋	1.0	0.92	92.0	3.15
	5.0	5.02	100.4	2.39
	10.0	9.65	96.5	2.66
鱼肉	1.0	0.93	93.0	3.27
	5.0	4.72	94.4	2.46
	10.0	10.09	100.9	1.62
虾	1.0	0.86	86.0	2.15
	5.0	4.82	96.4	3.18
	10.0	9.66	96.6	3.63
蟹	1.0	0.89	89.0	3.43
	5.0	4.57	91.4	2.89
	10.0	9.25	92.5	3.27
牛奶	1.0	0.95	95.0	2.94
	5.0	4.72	94.4	1.95
	10.0	9.61	96.1	2.08

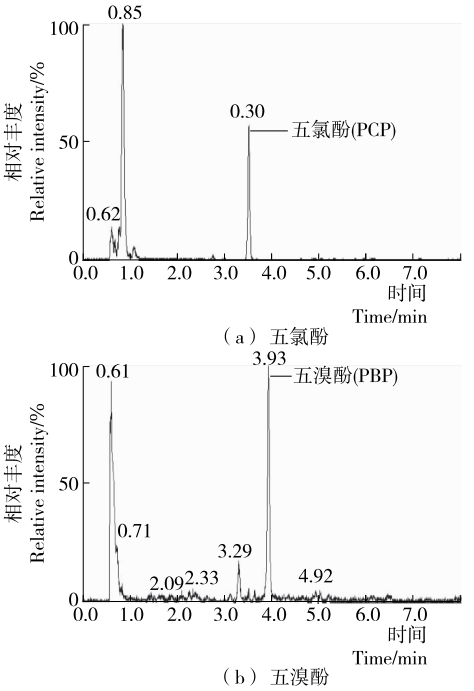

图 5 猪肉加标样品的 MRM 质谱图

Figure 5 MRM mass spectrum of pork spiked sample (5 μg/kg)

参考文献

[1] 杨淑贞，韩晓冬，陈伟，等. 五氯酚对生物体的毒性研究进展[J]. 环境与健康杂质，2005，22(5)：396-398.

[2] World Health Organization. IPCS international programme on chemical safety：Health and safety guide N0.19，pentachlorophenol [EB/OL]. (2014-05-25) [2019-03-28]. http://www.inchem.org/documents/hsg/hsg/hsg019.htm.

[3] 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.

[4] 梁倩，朱晓华，吴光红. 五氯苯酚及其钠盐在渔业产品中的残留与检测方法的研究进展[J]. 中国渔业质量与标准，2012，2(1)：71-75.

[5] 农业部. 中华人民共和国农业部公告第 193 号[EB/OL]. (2002-04-09) [2019-03-28]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwllm/tzgg/gg/201104/t20110422_1976324.htm.

[6] 农业部. 中华人民共和国农业部公告第 235 号[EB/OL]. (2002-12-24) [2019-03-28]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwllm/tzgg/gg/200302/t20030226_59300.htm.
[7] 国家食品药品监督管理局. 国家食品安全监督抽检实施细则：2018 年版 [EB/OL]. (2018-01-24) [2019-03-28]. http://samr.cfda.gov.cn/WS01/CL1605/223270.html.
[8] 杭学宇，冯晓青，汪怡，等. 气相色谱法测定小龙虾中五氯酚[J]. 现代预防医学，2014，41(5)：803-805.
[9] 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)：1 026-1 028.
[10] 张博，梅勇，邹晓雪，等. 顶空固相微萃取—气相色谱法测定尿中五氯酚[J]. 环境与职业医学，2016，33(12)：1 187-1 190.
[11] 史玉坤，杨梅佳，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.
[12] 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)：619-621，625.
[13] 朱晓华，梁倩，王凯，等. 气相色谱—负化学源质谱法测定河蟹中五氯苯酚及其钠盐的残留量[J]. 食品安全质量检测学报，2016，7(9)：3 650-3 655.
[14] 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，2004，35(3)：427-428.
[15] 牛增元，包艳，叶曦雯，等. 高效液相色谱法测定木材及其制品中的酚类防腐剂[J]. 分析试验室，2009，28(6)：57-60.
[16] 欧天成，郭艳芬，陈少芬，等. 高效液相色谱法同时测定水中挥发性酚(以苯酚计)、2,4,6-三氯酚、五氯酚[J]. 中国卫生工程学，2018，17(1)：55-57.
[17] 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.
[18] 李淑红，赵仕沛，李迎芳. 直接进样超高效液相色谱—串联质谱法测定水中五氯酚[J]. 河南科学，2014，32(2)：169-171.
[19] 闵剑青，陈梅兰，陈晓红，等. 离子液体超声辅助萃取-LC/MS 法测定环境水中痕量五氯酚[J]. 分析测试学报，2015，34(4)：438-442.
[20] 余宇燕，张淑玲，邹艳辉，等. 五氯酚免疫层析检测试纸条的研究[J]. 分析测试学报，2014，33(7)：830-834.
[21] 潘胜东，陈晓红，何仟，等. 超高效液相色谱—高分辨质谱确证分析泥鳅体内五氯酚代谢物[J]. 色谱，2017，35(12)：1 245-1 250.
[22] JIN Mi-cong，CHEN Xiao-hong，PAN Bing-xian. Simultaneous determination of 19 chloropheols in water by liquid chromatography-mass spectrome-try with solid-phase extraction[J]. Journal of Liquid Chromatography & Related，2006，29(9)：1 369-1 380.
[23] 2002/657/EC. Commission decision of 12 August 2002 implementing council directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results[S]. [S.l.]：Official Journal of the European Communities，2002.
[24] 张盼，苏福海，戴新华，等. 棉类纺织品中痕量五氯酚的液相色谱—同位素稀释质谱法测定及不确定度评定[J]. 分析测试学报，2010，29(9)：953-957.
[25] GONZÁLEZ Oskar，BLANCO María-Encarnación，IRIARTE Gorka，et al. Bioanalytical chromatographic method validation according to current regulations，with a special focus on the non-well defined parameters limit of quantification，robustness and matrix effect[J]. Journal of Chromatography A，2014，1 353：10-27.

(上接第 6 页)

[14] GUNES H，GULEN D，MUTLU R，et al. Antibacterial effects of curcumin：an in vitro minimum inhibitory concentration study[J]. Toxicology & Industrial Health，2016，32(2)：246-250.
[15] BAO Zhi-jie，CHENG Yuan，CHI Yu-jie. Preparation of microencapsulated egg albumin antioxidant peptide with Muti-phase emulsion method[J]. China Poultry，2016，38(4)：29-33.
[16] GÉSAN-GUIZIOU G，JIMENEZ A，ARCELIN C. Cake properties in dead-end ultrafiltration of casein micelles：determination of critical operating conditions [J]. Desalination，2017，199(1)：20-22.
[17] DESBRIERES J，MAZET J，RINAUDO M. Gel permeation chromatography on polyelectrolytes in aqueous solution[J]. European Polymer Journal，2017，18(3)：269-272.
[18] 张养军，王京兰，李蕾，等. 用反相液相色谱分离多肽时峰容量与色谱柱长度关系的研究[J]. 色谱，2004，22(1)：24-26.
[19] 谭才邓，朱美娟，杜淑霞，等. 抑菌试验中抑菌圈法的比较研究[J]. 食品工业，2016，37(11)：122-125.
[20] 宁初光，杨洋，吴小勇. 电导率法快速检测食品细菌总数的研究[J]. 现代食品科技，2012，28(2)：237-240.
[21] XIE De-ao. Determination of reducing sugar content in wine by potentiometric titration[J]. Food Engineering，2007，3(4)：61-63.
[22] WANG Jun-gang，CHEN Guo-cang，ZHANG Cheng-lie. The effects of water stress on soluble protein content，the activity of SOD，POD and CAT of two ecotypes of reeds (Phragmites communis)[J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica，2002，22(3)：561-565.
[23] MARUTHUPANDY M，ANAND M，MADURAIVEERAN G，et al. Electrical conductivity measurements of bacterial nanowires from Pseudomonas aeruginosa [J]. Advances in Natural Sciences Nanoscience & Nanotechnology，2015，6(4)：045007.