

QuEChERS-气相色谱-质谱法检测鱼肉中 19 种氯酚类化合物

穆应花^{1,2}, 邢家溧^{2*}, 沈 坚², 应 璐², 毛玲燕²,
徐晓蓉², 娄永江^{1*}, 吴 希¹

(1. 宁波大学食品与药品学院, 浙江 宁波 315211;

2. 宁波市产品食品质量检验研究院(宁波市纤维所), 浙江 宁波 315048)

摘要:大量含氯农药、次氯酸消毒水以及水产品杀虫剂和杀菌剂的广泛使用,使鱼类容易受到氯酚类化合物的污染,因而建立鱼肉中氯酚类化合物的检测方法十分重要。建立了 QuEChERS 结合气相色谱-质谱法同时检测鱼肉中 19 种氯酚类化合物的分析方法。19 种氯酚类化合物选用 DB-5MS 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),载气流速 1 mL/min 进行分离,可以得到很好的峰形。前处理采用改良的 QuEChERS 方法,通过对提取剂的种类和剂量、净化剂的种类和剂量,以及衍生条件中的衍生温度、衍生时间和衍生剂量等进行优化,确定最优的前处理方法。选择 10 mL 乙酸乙酯作为提取剂,500 mg 的 C₁₈作为净化剂,加入 3 g 氯化钠和 5 g 无水硫酸镁,过 0.22 μm 的有机滤膜,加入 50 μL 的硅烷化衍生剂在 45 °C 条件下衍生 30 min,用 EI 源测定,选择离子监测模式,以外标法定量。19 种氯酚类化合物在 0.4~10 μg/L 范围内具有良好的线性关系,相关系数 R² 大于 0.998,方法定量限为 0.04~0.16 μg/kg。空白基质不同加标水平的回收率为 70.6%~115.0%,相对标准偏差为 2.6%~10.5%。将建立的方法应用于实际样品的检测分析,结果显示,各种鱼肉中均有不同程度的氯酚类化合物检出,其中,黄花鱼检出的氯酚类化合物总量最大,为 8.74 μg/kg;其次为鲫鱼 7.59 μg/kg;米鱼的检出量最少,为 1.59 μg/kg。所建立的方法简化了样品的前处理步骤,操作简单,方法灵敏度高、重复性好,可满足鱼肉中 19 种氯酚类化合物的高通量检测要求,能显著提高氯酚类化合物的检测效率。

关键词:气相色谱-质谱;QuEChERS;氯酚类化合物;鱼肉

中图分类号:O658 文献标识码:A 文章编号:1000-8713(2022)05-0477-11

Determination of 19 chlorophenols in fish by QuEChERS-gas chromatography-mass spectrometry

MU Yinghua^{1,2}, XING Jiali^{2*}, SHEN Jian², YING Lu², MAO Lingyan²,
XU Xiaorong², LOU Yongjiang^{1*}, WU Xi¹

(1. College of Food and Pharmaceutical Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China; 2. Ningbo Academy of Product and Food Quality Inspection (Ningbo Fibre Inspection Institute), Ningbo 315048, China)

Abstract: With the increasing use of chlorine-containing pesticides, hypochlorous acid disinfection water as well as aquatic product insecticides and fungicides are widely used in the cultivation of fish. This has led to the contamination of fish by chlorophenol compounds. However,

收稿日期:2021-12-03

* 通讯联系人.Tel:(0574)89078647,E-mail:nbsjy2017@163.com(邢家溧);E-mail:louyongjiang@nbu.edu.cn(娄永江).

基金项目:国家市场监督管理总局科技计划项目(2020MK117);浙江省市场监管系统科技计划项目(20210140);浙江省基础公益研究计划项目(LGC20C200003);宁波市自然科学基金项目(202003N4196,2019A610438,2019A610437);宁波市泛 3315 创新团队项目(2018B-18-C);宁波市高新精英创新团队项目(甬高科[2018]63);宁波市公益类科技计划项目(2021S194);宁波市重大科技攻关项目(2021ZDYF020179).

Foundation item: Science and Technology Plan Program of State Administration for Market Regulation (No. 2020MK117); Science and Technology Program of Market Supervision System in Zhejiang (No. 20210140); the Basic Research Plan Project of Zhejiang (No. LGC20C200003); the Natural Science Foundation of Ningbo (Nos. 202003N4196, 2019A610438, 2019A610437); Project of Fan-3315 Innovation Team of Ningbo (No. 2018B-18-C); Project of Ningbo High-Tech Elite Innovation Team (Yong gao ke [2018] No. 63); Ningbo Public Welfare Science and Technology Plan Project (No. 2021S194); Ningbo Major Science and Technology Research Project (No. 2021ZDYF020179).

currently, there is no standard method for the simultaneous determination of 19 chlorophenol compounds in fish.

In this study, the optimum chromatography and mass spectrometry conditions were determined by investigating the instrument parameters. The 19 chlorophenol compounds were well separated using the DB-5MS capillary chromatographic column (30 m×0.25 mm×0.25 μm) with a carrier gas flow rate of 1 mL/min. Under this condition, the chromatographic peak was sharp and symmetric. An analytical method was developed for the simultaneous determination of the 19 chlorophenol compounds in fish using gas chromatography-mass spectrometry coupled with QuEChERS pretreatment. The improved QuEChERS method was used in sample preparation. The 19 chlorophenol compounds were extracted with organic solvents and purified with purifying agents. During the experiment, the effect of the kinds and volumes of the extraction solvent, as well as the types and dosages of the purifying agent, on the recoveries of the 19 chlorophenol compounds were investigated. Moreover, the temperature and time of derivatization, as well as the dosage of the derivatization agent, were optimized. All aforementioned analyses were conducted with the aim of determining the optimal pretreatment method. Finally, the optimized gas chromatography-mass spectrometry conditions were employed for the quantitative determination of 19 chlorophenol compounds in fish samples. Based on the experimental results, the best extraction method was determined to be the one where the extraction agent (10 mL ethyl acetate) was added to 3 g sodium chloride and 5 g anhydrous magnesium sulfate in the test tube, followed by ultrasonication for 15 min. The sample was centrifuged at 4 500 r/min for 5 min, and 500 mg C_{18} was selected as the purifying agent to purify the supernatant. The purified supernatant was blown with nitrogen to less than 1 mL at 45 °C, and then redissolved with ethyl acetate to 1 mL. Subsequently, the sample solution was passed through a 0.22 μm organic filter membrane, following which 50 μL bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide was added for derivatization at 45 °C for 30 min. Lastly, the 19 chlorophenol compounds were determined by gas chromatography-mass spectrometry with an electrospray ionization source and selecting ion monitoring mode. The 19 chlorophenol compounds were then quantitatively analyzed by the external standard method. The compounds showed good linearity in the concentration range of 0.4–10 μg/L, with correlation coefficients (R^2) greater than 0.998. The limits of detection and limits of quantification were 0.01–0.05 μg/kg and 0.04–0.16 μg/kg, respectively. Moreover, the average recoveries of the 19 chlorophenol compounds were in the range of 70.6%–115.0% at three spiked levels, and the relative standard deviations were in the range of 2.6%–10.5%. The established method in this study was applied to detect and analyze chlorophenol compounds in actual samples. The experimental results showed that various levels of chlorophenol compounds could be detected in different fishes. Among them, the total amount of chlorophenol compounds detected in the Corvina was 8.74 μg/kg, followed by the Crucian carp at 7.59 μg/kg, and the minimum detected amount in rice fish (1.59 μg/kg). With its simple operation, high sensitivity, and good repeatability, the established method simplifies the

引用本文:穆应花,邢家溧,沈坚,应璐,毛玲燕,徐晓蓉,娄永江,吴希. QuEChERS-气相色谱-质谱法检测鱼肉中 19 种氯酚类化合物. 色谱, 2022, 40(5):477–487.

MU Yinghua, XING Jiali, SHEN Jian, YING Lu, MAO Lingyan, XU Xiaorong, LOU Yongjiang, WU Xi. Determination of 19 chlorophenols in fish by QuEChERS-gas chromatography-mass spectrometry. Chinese Journal of Chromatography, 2022, 40(5):477–487.

pre-treatment of fish samples. It can also meet the requirements for the high-throughput detection of 19 chlorophenol compounds in fish, thereby significantly improving the detection efficiency of chlorophenols. Moreover, the method provides crucial technical support and a theoretical basis for the establishment of feasible detection standards for chlorophenols in China, as well as for the control of residue levels of chlorophenol compounds in fish. The findings have important practical significance to implement management measures during fish breeding and transportation.

Key words: gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); QuEChERS; chlorophenols; fish

氯酚类化合物(chlorophenols, CPs)是苯环上活性位点的氢原子被氯原子取代后的产物,根据所取代的氯原子数不同可分为单氯酚(chlorophenol, CP)、二氯酚(dichlorophenol, DCP)、三氯酚(trichlorophenol, TrCP)、四氯酚(tetrachlorophenol, TeCP)和五氯酚(pentachlorophenol, PCP)共19种同分异构体^[1],其中单氯酚和四氯酚共有3种同分异构体,二氯酚和三氯酚共有6种同分异构体。CPs是木材、纺织品、皮革制品及纸制品的防霉防腐剂,是果树、蔬菜及其他农作物和水产品的杀虫剂和杀菌剂,以及农作物的除草剂^[2]。大量研究表明,CPs具有致畸、致癌和致突变作用,且其毒性随着氯原子数目的增多而增强,间位氯取代基的毒性明显高于邻位氯取代基^[3-5]。CPs种类多、危害大、不易降解,低浓度的CPs便可带来严重的水质污染,并可通过生物富集在鱼体内达到很高的浓度,进而给人类带来安全隐患,已成为重点监控的环境污染物之一,现已被许多国家禁止使用。如美国环境保护署(environmental protection agency, EPA)与人类环境健康评估组根据对2,4,5-三氯酚可能的致肿瘤效应的研究将其归为D等级致癌物^[6]。此外,2-氯酚、2,4-二氯酚、2,4,6-三氯酚和五氯酚已经被EPA列为优先控制污染物^[7]。因而有必要对水环境和其中的生物体进行监测。但目前对生物体中氯酚的检测标准仅见于五氯酚或五氯酚钠盐的测定^[8-10],国内外尚无水生生物体中涵盖19种CPs同时检测的方法标准和限量标准。

现有文献报道的CPs的测定方法多为色谱法,主要有气相色谱法(GC)^[11,12]、气相色谱-质谱法(GC-MS)^[13-15]、液相色谱法(LC)^[16]、液相色谱-质谱法(LC-MS)等^[17-19]。LC和LC-MS不需要衍生化处理且检测较快,但其定性能力和灵敏度较低,对溶剂要求较高,分析成本和日常维护费用较高。GC

和GC-MS都需将CPs进行衍生化处理再进行分析,但GC-MS灵敏度更高,定性更可靠,相比于LC-MS检测成本更低,被广泛应用于CPs的测定。目前对于环境样品、纺织品以及皮革制品和纸制品中多种CPs同时测定的方法已有文献报道,如王成云等^[20]建立了GC-MS测定纸和纸制品中19种CPs的方法,各组分的定量限均为2 μg/kg。莫贤科等^[21]建立了GC-MS测定皮革中19种CPs的方法,前处理方法较为复杂,但也能满足皮革中CPs的日常检测。

目前对鱼肉中氯酚的检测多见于三氯酚、四氯酚、五氯酚或五氯酚钠盐的测定^[22],而19种CPs同时检测的方法报道较少。钟惠英等^[23]建立了GC-MS法测定大黄鱼和草鱼中的19种CPs,前处理采用硫酸消解后的液液萃取,较为复杂,且消耗大量有机溶剂。近年来发展较快的QuEChERS简化了样品处理过程,且对环境污染较小,具有高效、经济、快速、简便等优点,被广泛应用于有机污染物残留检测的前处理中^[24,25]。如Padilla-Sanchez等^[26]采用QuEChERS前处理结合气相色谱-三重四级杆质谱法对农用土壤中的2-氯酚、4-氯酚、2,4-二氯酚、2,4,6-三氯酚、2,4,5-三氯酚和五氯酚进行了检测,实现了样品的快速前处理,节省了检测时间。王连珠等^[27]建立了QuEChERS结合UPLC-MS/MS测定动物源食品(猪肉、猪肝、鸡肉、鱼肉、牛奶、鸡蛋)中痕量五氯酚。黄建芳^[28]采用QuEChERS结合HPLC-MS/MS测定大黄鱼中五氯酚的含量,检出限为0.1 μg/kg,但该方法只对五氯酚进行检测,未对其他氯酚类化合物的同分异构体进行分析。

鉴于当前鱼中19种CPs同时检测的方法较少,现有的研究存在前处理复杂或仅能检测少数几种CPs的现状,因此本研究开发了基于改良的QuEChERS前处理提取净化方法,结合GC-MS技

术对鱼中 19 种 CPs 同时测定,通过化合物的色谱保留时间和峰面积进行定性和定量分析,并通过实际样品进行了方法的验证。建立的方法能够减少分析时间和溶剂消耗、降低环境污染、提高检测效率,可适用于鱼肉中 19 种 CPs 的快速检测。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

TSQ 8000 Evo 气相色谱-三重四极杆质谱联用仪(美国安捷伦科技有限公司); DB-5MS 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);分析天平(中国北京赛多利斯科学仪器有限公司);高速离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Vortex 3 自动漩涡混合器(德国 IKA 公司);一次性无菌注射器(中国上海金塔医用器材有限公司); Milli-Q Academic 超纯水仪(美国 Millipore 公司); KQ-500E 超声波清洗仪(中国宁波海曙科盛超声设备有限公司);多功能涡旋混合器(德国 IKA 公司);多功能全自动氮吹浓缩仪(瑞典 Biotage 公司);移液枪(法国 GILSON 公司); 0.22 μm 滤膜(美国 Waters 公司)。

实验用的鱼类(带鱼、鲫鱼、鲈鱼、鲢鱼、鲤鱼、草鱼等)购于宁波路林市场。乙腈、丙酮(色谱纯),购自德国 Merck 公司;正己烷、乙酸乙酯(色谱纯),购自中国天津致远化学试剂有限公司;二氯甲烷、环己烷(色谱纯),购自中国江苏永华化学科技有限公司;无水硫酸镁、氯化钠(分析纯),购自中国国药化学试剂有限公司;十八烷基键合硅胶(octadecylsilane chemically bonded silica, C₁₈)、中性氧化铝(alumina-N, AL-N)、石墨化炭黑(graphitized carbon black, GCB)、乙二胺-*N*-丙基硅烷(primary secondary amine, PSA)、硅烷化衍生试剂:*N*,*O*-双(三甲基硅烷)三氟乙酰胺(bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide, BSTFA),购自中国上海安谱实验科技股份有限公司。

氯酚混合标准溶液:一氯酚(2-CP、3-CP、4-CP),二氯酚(2,3-DCP、2,4-DCP、2,5-DCP、2,6-DCP、3,4-DCP、3,5-DCP),三氯酚(2,3,4-TrCP、2,3,5-TrCP、2,3,6-TrCP、2,4,5-TrCP、2,4,6-TrCP、3,4,5-TrCP),四氯酚(2,3,4,5-TeCP、2,3,4,6-TeCP、2,3,5,6-TeCP),五氯酚(PCP)(上海安谱实验科技股份有限公司),质量浓度均为 1 000 μg/mL,使用时用正己烷稀释至所需浓度。

1.2 标准溶液的配制

氯酚标准储备液的配制:原混合标准溶液质量浓度为 1 000 μg/mL,溶于二氯甲烷,使用时用正己烷配制。准确量取 100 μL 原混合标准溶液于 10 mL 的容量瓶中,用正己烷定容至刻度线,摇匀,配制成 10 μg/mL 的储备液,置于 4 °C 的冰箱中保存备用。

混合标准溶液系列梯度的配制:吸取 10 μg/mL 的混合标准储备液 10 μL 于 1 mL 的进样瓶中,用正己烷定容至刻度线,摇匀,配制成 100 μg/L 的中间液,依次取 100 μg/L 的中间液 10、20、40、60、80、100 μL 于 6 个 2 mL 的进样瓶中,分别用正己烷定容至 1 mL,密封、摇匀。再取 10 μg/L 的溶液 40、80 μL 用正己烷定容至 1 mL,密封、摇匀。得到标准系列溶液,质量浓度依次为 0.4、0.8、1、2、4、6、8、10 μg/L。

1.3 样品的制备及其前处理

提取:选取鱼样的肌肉组织绞碎均质,置于-18 °C 的冰箱中保存,准确称取 5.00 g 鱼肉样品于 50 mL 的聚乙烯塑料离心管中,加入 5 mL 超纯水和 10 mL 乙酸乙酯,涡旋分散 30 s,然后向管中加入 3 g 氯化钠和 5 g 无水硫酸镁,涡旋振荡 1 min,随后 40 °C 超声 15 min,再以 4 500 r/min 离心 5 min。

净化:收集离心好的上清液至装有 500 mg 的 C₁₈ 和 100 mg 无水硫酸镁的 15 mL 聚乙烯塑料离心管中,涡旋振荡 30 min,超声 15 min,高速离心后取 5 mL 上清液于另一 15 mL 试管中,在 45 °C 水浴中氮吹浓缩至小于 1 mL,再用乙酸乙酯定容至 1 mL,然后过 0.22 μm 的有机滤膜后再加入 50 μL 衍生试剂,在 45 °C 衍生 30 min,最后摇匀、冷却至室温,用 GC-MS 进行上机检测。

1.4 仪器分析条件

GC 条件:DB-5MS 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);进样口温度为:260 °C;载气为高纯 He(纯度≥99%);流速为 1.0 mL/min。程序升温条件:初始温度 70 °C,维持 1 min;然后以 8 °C/min 升至 160 °C;再以 3 °C/min 升至 200 °C;最后以 40 °C/min 升至 300 °C,保持 3 min。不分流进样;进样量为 1 μL。

MS 条件:离子源温度 260 °C,传输线温度 280 °C, EI 离子源,电子能量:70 eV,溶剂延迟 10 min,数据采集采用全扫模式定性,选择离子监测(SIM)模式定量,19 种 CPs 的监测离子详见表 1。

表1 19种CPs的保留时间、定量、定性离子
Table 1 Retention times, quantitation ions and identification ions of the 19 chlorophenols (CPs)

Chlorophenol	Retention time/min	Quantitation ion (m/z)	Identification ions (m/z)
2-Chlorophenol (2-CP)	8.04	185	185, 187, 200
3-Chlorophenol (3-CP)	8.29	185	185, 187, 200
4-Chlorophenol (4-CP)	8.16	185	185, 187, 200
2,5-Dichlorophenol (2,5-DCP)	10.50	219	93, 219, 234
2,6-Dichlorophenol (2,6-DCP)	10.54	219	93, 219, 234
3,5-Dichlorophenol (3,5-DCP)	10.55	219	93, 219, 234
2,4-Dichlorophenol (2,4-DCP)	10.80	219	93, 219, 234
2,3-Dichlorophenol (2,3-DCP)	11.21	219	93, 219, 234
3,4-Dichlorophenol (3,4-DCP)	11.39	219	93, 219, 234
2,4,6-Trichlorophenol (2,4,6-TrCP)	12.75	253	253, 255, 268
2,3,5-Trichlorophenol (2,3,5-TrCP)	13.05	253	253, 255, 268
2,4,5-Trichlorophenol (2,4,5-TrCP)	13.16	253	253, 255, 268
2,3,6-Trichlorophenol (2,3,6-TrCP)	13.34	253	253, 255, 268
3,4,5-Trichlorophenol (3,4,5-TrCP)	13.80	253	253, 255, 268
2,3,4-Trichlorophenol (2,3,4-TrCP)	14.18	253	253, 255, 268
2,3,5,6-Tetrachlorophenol (2,3,5,6-TeCP)	16.10	289	287, 289, 304
2,3,4,6-Tetrachlorophenol (2,3,4,6-TeCP)	16.32	289	287, 289, 304
2,3,4,5-Tetrachlorophenol (2,3,4,5-TeCP)	16.83	289	287, 289, 304
Pentachlorophenol (PCP)	20.62	323	321, 323, 325, 338

2 结果与讨论

2.1 仪器条件的优化

2.1.1 色谱条件的优化

CPs含羟基,使分子的极性增强,不利于直接色谱分离^[29]。因此,需要衍生化,变成极性弱的物质,提高其挥发性,减少色谱分离过程中的峰拖尾,便于在色谱柱上分离。国家标准 GB/T 18414.2-2006《纺织品含氯苯酚的测定》中采用了 DB-17MS 具有中等极性的色谱柱^[30],但该色谱柱只对 TeCP 和 PCP 这两类酚有很好的分离效果,对 TrCP 分离效果不好,因此本实验参照 ISO 17070:2015(E)《皮革化学测试测定含氯苯酚的含量》^[31],采用 DB-5MS 毛细管色谱柱对 19 种 CPs 的衍生化产物进行检测,各同分异构体的出峰顺序及保留时间分别见图 1 和表 1。

如图 1 所示, DB-5MS 色谱柱除了无法分离 2,6-DCP 和 3,5-DCP 外,对其他 17 种氯酚均能完全分开且峰形较好。这进一步说明了 2,6-DCP 和 3,5-DCP 性质相似,因而难以将两者分离。所以应用本方法进行测定时 2,6-DCP 和 3,5-DCP 只能测定其二者的总量。

为进一步优化方法,获得更好的检测效率,在上述色谱柱的条件下进行载气流速的优化,选择不同流速 0.8、1.0、1.2 mL/min,实验结果发现随着载气流速的降低,2,6/3,5-DCP 峰未见很好的分离,但载

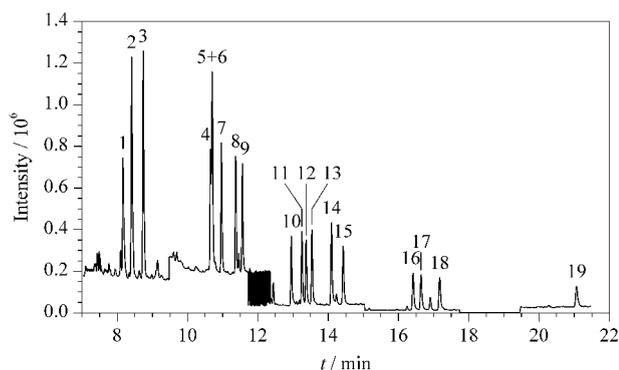


图1 19种CPs的总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatogram of the 19 CPs

1. 2-CP; 2. 3-CP; 3. 4-CP; 4. 2,5-DCP; 5-6. 2,6-DCP+3,5-DCP; 7. 2,4-DCP; 8. 2,3-DCP; 9. 3,4-DCP; 10. 2,4,6-TrCP; 11. 2,3,5-TrCP; 12. 2,4,5-TrCP; 13. 2,3,6-TrCP; 14. 3,4,5-TrCP; 15. 2,3,4-TrCP; 16. 2,3,5,6-TeCP; 17. 2,3,4,6-TeCP; 18. 2,3,4,5-TeCP; 19. PCP.

气流速过慢导致拖尾峰以及分析时间大幅增加。因此,在保证分离度的基础上,综合评估,选取 1.0 mL/min 的载气流速。

2.1.2 质谱条件的优化

先对 19 种 CPs 单标准溶液采用全扫描模式进样,初步确定其对应的特征定量离子及其保留时间,分别找出丰度最高的离子碎片,如表 1 所示。进一步采用 SIM 模式,只对待测组分物质离子信号进行定性定量采集,很大程度上提高了对目标化合物的检测灵敏度,减少了杂质的干扰,从而使试验结果更加准确可靠。

2.2 前处理方法的优化

2.2.1 提取溶剂种类及用量的优化

不同的提取剂对 CPs 的提取效果不同,且产生的杂质干扰也不同。为了确定合适的提取溶剂,本实验选择正己烷、环己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯进行考察,结果如图 2 所示。二氯甲烷和乙酸乙酯的回

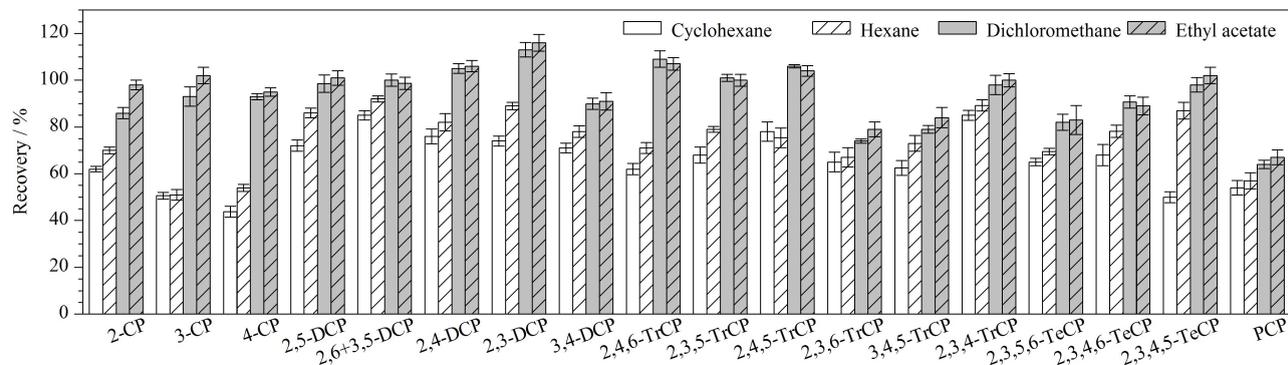


图 2 不同提取剂对 19 种 CPs 回收率的影响 ($n=6$)

Fig. 2 Effect of different extraction agents on the recoveries of the 19 CPs ($n=6$)

同时,本实验还考察了提取剂用量(6、8、10、12 mL)的影响。结果显示,10 mL 乙酸乙酯足以完全提取基质中的目标化合物,19 种 CPs 的平均加标回收率达到最佳,在 78.0%~112.0% 之间;提取溶剂过多不仅会造成试剂浪费,还会导致基质中共萃取干扰物不断增多,从而导致基质效应不断加强;与黄武等^[32]的实验结果一致(5 g 样品选择 10 mL 提取剂时提取酚类化合物的回收率最高)。因此,本实验最终选择提取剂用量为 10 mL。

2.2.2 净化剂种类及用量的优化

鱼肉中含有脂肪、蛋白质、色素等物质,这些物质会干扰 19 种 CPs 的离子化,影响其检测分析^[33]。所以本实验选择 C_{18} 、AL-N、PSA 和 GCB 这 4 种净化剂,考察净化效果。

由表 2 可以看出,使用 AL-N 和 GCB 时都有 3 种氯酚的平均回收率低于 60.0%,分别是 2,4,6-TrCP、2,3,5-TrCP、PCP 和 2,4,6-TrCP、2,4,5-TrCP、PCP。PSA 和 C_{18} 的回收率范围分别是 60.5%~103.0% 和 69.8%~108.0%,但使用 PSA 时 2,4,6-TrCP、2,3,4-TrCP 和 PCP 的回收率较低(64.3%、68.9% 和 60.5%),使用 C_{18} 时只有 PCP 的回收率较低(69.8%),其余 18 种 CPs 大多集中在 82.0%~108.0% 之间。可能的原因是, C_{18} 可以很好地除去疏水性共提物,如脂肪、有机酸等,还能有效除去非极性杂质,而 CPs 是极性的,所以除杂效果

收率相当(64.0%~113.0% 和 67.0%~116.0%, $p>0.05$),高于弱极性的环己烷和正己烷的回收率(43.8%~85.0% 和 51.0%~92.0%)。考虑到二氯甲烷沸点较低,在实验操作过程中易挥发,且二氯甲烷易带来杂质峰,不利于大批量样本的测定,因此选取强极性的乙酸乙酯作为提取剂。

表 2 不同净化剂对 19 种 CPs 回收率的影响 ($n=6$)

Table 2 Effect of different purifying agents on the recoveries of the 19 CPs ($n=6$)

Chlorophenol	Average recoveries/%			
	AL-N	PSA	C_{18}	GCB
2-CP	98.7	81.6	92.5	85.7
3-CP	106.0	101.0	102.0	102.0
4-CP	87.2	79.8	82.8	77.3
2,5-DCP	76.4	82.5	89.4	68.2
2,6-DCP+3,5-DCP	76.4	76.9	99.8	68.2
2,4-DCP	98.7	101.0	108.0	109.7
2,3-DCP	66.2	93.4	86.7	69.3
3,4-DCP	101.3	83.4	89.0	92.4
2,4,6-TrCP	56.8	64.3	83.5	58.7
2,3,5-TrCP	53.7	81.4	89.4	88.3
2,4,5-TrCP	64.3	82.7	82.0	51.3
2,3,6-TrCP	96.3	72.1	90.2	101.0
3,4,5-TrCP	95.3	101.0	103.5	89.2
2,3,4-TrCP	94.2	68.9	99.3	90.2
2,3,5,6-TeCP	101.9	103.0	106.7	94.4
2,3,4,6-TeCP	91.4	71.1	86.0	88.4
2,3,4,5-TeCP	112.0	87.4	107.9	110.0
PCP	58.0	60.5	69.8	57.8

AL-N: alumina-N; PSA: primary secondary amine; C_{18} : octadecylsilane chemically bonded silica; GCB: graphitized carbon black.

更好,与黄建芳^[28]的研究结果一致。因此,选择 C_{18} 作为 19 种 CPs 的净化剂。

本实验进一步考察了不同 C_{18} 用量(100、300、500、700 mg)对 19 种 CPs 回收率的影响。由图 3 可以看出, C_{18} 为 500 mg 时,目标化合物的回收率相

表 4 19 种 CPs 的线性范围、线性方程、相关系数、检出限和定量限
Table 4 Linear ranges, linear equations, correlation coefficients (R^2), limits of detection and limits of quantification of the 19 CPs

Chlorophenol	Linear range/($\mu\text{g/L}$)	Linear equation	R^2	LOD/($\mu\text{g/kg}$)	LOQ/($\mu\text{g/kg}$)
2-CP	0.4-10	$y = 7.758 \times 10^4 x + 1.023 \times 10^4$	0.9990	0.02	0.07
3-CP	0.4-10	$y = 1.549 \times 10^5 x + 2.241 \times 10^4$	0.9990	0.05	0.15
4-CP	0.4-10	$y = 1.427 \times 10^5 x - 9.968 \times 10^3$	0.9995	0.03	0.10
2,5-DCP	0.4-10	$y = 5.411 \times 10^4 x - 6.486 \times 10^2$	0.9997	0.01	0.04
2,6-DCP+3,5-DCP	0.4-10	$y = 1.719 \times 10^5 x + 3.156 \times 10^4$	0.9983	0.01	0.04
2,4-DCP	0.4-10	$y = 5.162 \times 10^4 x - 2.254 \times 10^3$	0.9997	0.02	0.06
2,3-DCP	0.4-10	$y = 5.653 \times 10^4 x - 4.791 \times 10^3$	0.9993	0.02	0.08
3,4-DCP	0.4-10	$y = 7.47 \times 10^4 x - 3.027 \times 10^2$	0.9997	0.01	0.04
2,4,6-TrCP	0.4-10	$y = 3.203 \times 10^4 x - 2.479 \times 10^3$	0.9996	0.04	0.14
2,3,5-TrCP	0.4-10	$y = 4.044 \times 10^4 x - 4.319 \times 10^3$	0.9990	0.03	0.12
2,4,5-TrCP	0.4-10	$y = 3.232 \times 10^4 x + 1.416 \times 10^3$	0.9992	0.04	0.14
2,3,6-TrCP	0.4-10	$y = 3.974 \times 10^4 x - 3.531 \times 10^3$	0.9993	0.03	0.10
3,4,5-TrCP	0.4-10	$y = 4.474 \times 10^4 x - 1.513 \times 10^3$	0.9998	0.01	0.04
2,3,4-TrCP	0.4-10	$y = 3.388 \times 10^4 x - 4.986 \times 10^2$	0.9996	0.05	0.16
2,3,5,6-TeCP	0.4-10	$y = 2.850 \times 10^4 x - 1.921 \times 10^3$	0.9993	0.04	0.12
2,3,4,6-TeCP	0.4-10	$y = 2.732 \times 10^4 x - 2.681 \times 10^3$	0.9991	0.02	0.07
2,3,4,5-TeCP	0.4-10	$y = 2.845 \times 10^4 x - 2.113 \times 10^3$	0.9992	0.04	0.15
PCP	0.4-10	$y = 1.361 \times 10^4 x - 7.501 \times 10^2$	0.9991	0.05	0.16

y : peak area; x : mass concentration, $\mu\text{g/L}$.

表 5 19 种 CPs 的加标回收率和相对标准偏差 ($n=6$)
Table 5 Spiked recoveries and RSDs of the 19 CPs ($n=6$)

Chlorophenol	Low level (0.16 $\mu\text{g/kg}$)		Medium level (0.32 $\mu\text{g/kg}$)		High level (1.6 $\mu\text{g/kg}$)	
	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
2-CP	76.5	8.7	78.7	6.8	75.0	7.5
3-CP	94.0	8.9	96.5	7.6	86.4	6.8
4-CP	82.0	7.6	86.4	6.2	82.7	4.3
2,5-DCP	93.0	6.8	97.0	5.7	107.0	7.6
2,6-DCP+3,5-DCP	98.5	6.5	102.0	7.4	114.0	8.2
2,4-DCP	109.0	9.4	103.0	10.5	97.0	7.3
2,3-DCP	76.0	10.5	79.4	7.1	82.0	6.2
3,4-DCP	102.0	5.5	96.0	4.2	98.5	4.7
2,4,6-TrCP	79.0	7.5	82.0	3.5	83.0	5.6
2,3,5-TrCP	96.5	3.5	98.0	6.2	95.0	5.2
2,4,5-TrCP	97.2	3.6	94.6	4.5	103.8	4.3
2,3,6-TrCP	80.4	2.6	88.7	2.8	94.2	7.4
3,4,5-TrCP	93.6	6.2	95.7	3.6	102.0	3.4
2,3,4-TrCP	96.5	8.3	84.2	3.2	88.7	4.6
2,3,5,6-TeCP	79.6	5.4	76.5	4.3	86.0	6.6
2,3,4,6-TeCP	89.6	4.2	87.5	5.4	95.1	6.1
2,3,4,5-TeCP	102.0	7.1	103.0	7.3	115.0	2.9
PCP	74.9	9.5	70.6	3.7	73.5	5.7

计算公式为： $ME = [(\text{基质匹配标准曲线斜率} / \text{溶剂标准曲线斜率}) - 1] \times 100\%$ 。 ME 为负值表示存在基质抑制效应，正值表示存在基质增强效应。以其绝对值为判断依据，绝对值越大则基质效应越强^[35-37]。当 $|ME| < 20\%$ ，为弱基质效应，可忽略；当 $20\% \leq |ME| \leq 50\%$ ，为中等强度基质效应；当 $|ME| > 50\%$ ，为强基质效应^[38,39]。结果如表 6 所示，带鱼

中除 2,5-DCP 表现为强基质增强效应，其他化合物均为弱或中等强度基质效应；黄花鱼中除 2,3-DCP、2,3,5,6-TeCP 和 2,3,4,6-TeCP 表现为强基质抑制效应，其他均为弱或中等强度基质效应；鲤鱼均表现为弱基质效应或中等基质效应。因此，本方法采用基质匹配标准溶液进行校正，以消除基质带来的影响，改善回收率。

表 8 (续)
Table 8 (Continued)

Chlorophenol	Huang Sang fish	Crucian	Snakehead	Croaker	Groupers	Corvina	Blanquillo	Black lotus fish	Sawa fish	Cyprinoid	Rice fish	Saury	Hairtail	Pangasius	Grass carp
4-CP	ND	ND	ND	2.27	2.81	0.22	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.09
2,5-DCP	0.34	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.11	0.16	0.04	ND	ND	ND	ND	ND
2,6-DCP+3,5-DCP	ND	ND	2.29	1.21	ND	1.44	0.45	ND	ND	0.12	0.22	0.11	ND	0.04	ND
2,4-DCP	2.92	1.66	ND	ND	ND	ND	1.13	0.24	4.8	0.36	1.04	0.61	2.29	1.32	2.3
2,3-DCP	0.52	ND	ND	ND	ND	ND	0.52	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3,4-DCP	0.06	0.64	ND	1.73	1.92	2.32	ND	0.22	0.64	0.20	0.08	2.40	0.34	0.19	0.41
2,4,6-TrCP	0.61	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2,3,5-TrCP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.2	0.04	0.17	ND	ND	ND	ND
2,4,5-TrCP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2,3,6-TrCP	ND	0.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.04	0.04	ND	ND
3,4,5-TrCP	0.05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2,3,4-TrCP	0.05	3.87	ND	ND	1.14	1.97	ND	ND	0.04	ND	ND	0.06	0.06	0.08	0.72
2,3,5,6-TeCP	ND	0.72	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2,3,4,6-TeCP	ND	ND	ND	1.87	1.16	0.87	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2,3,4,5-TeCP	1.02	ND	ND	ND	ND	ND	1.44	1.12	ND	0.88	ND	ND	0.29	0.36	0.32
PCP	0.09	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.08	ND	ND	0.55	ND

ND: not detected.

3 结论

本研究建立了 QuEChERS-气相色谱-质谱测定鱼肉样品中 19 种 CPs 含量的方法。通过优化前处理条件以及衍生条件,该方法在 0.4~10 μg/L 范围内呈良好的线性关系,线性相关系数均大于 0.998,方法检出限为 0.01~0.05 μg/kg。应用本方法进行实际样品检测,不同鱼肉样品中均有不同程度的氯酚类污染物检出。其中,黄花鱼和鲫鱼污染最严重,石斑鱼和大黄鱼次之,米鱼污染程度最轻。所建立的方法简化了样品的前处理步骤,操作简单,方法灵敏度高、重复性好,可满足鱼肉中 19 种 CPs 的高通量检测要求,显著提高 CPs 的检测效率。

参考文献:

- [1] Tang Y H, Wei X C, Huang X K. West Leather, 2018, 40 (3): 46
唐玉红,魏小春,黄小凯.西部皮革,2018,40(3):46
- [2] Lei B L, Jin X W, Huang S B, et al. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(1): 40
雷炳莉,金小伟,黄圣彪,等.生态毒理学报,2009,4(1):40
- [3] Xie S Y, Zhang J L, Shen H Y, et al. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2017, 36(11): 1351
谢晟瑜,张佳丽,沈昊宇,等.分析实验室,2017,36(11):1351
- [4] Huff J. Chemosphere, 2012, 89(5): 521
- [5] Haimi J, Salminen J, Huhta V, et al. Soil Biol Biochem, 1992, 24(12): 1699
- [6] Olaniran A O, Pillay D, Pillay B. Chemosphere, 2004, 55 (1): 27
- [7] Zhang X L, Guo J, Yang W L, et al. Environmental Chemistry, 2017, 36(1): 201
张秀蓝,郭婧,杨文龙,等.环境化学,2017,36(1):201
- [8] GB 23200.92-2016
- [9] GB 29708-2013
- [10] SC/T 3030-2006
- [11] Fattahi N, Assadi Y, Hosseini M R M, et al. J Chromatogr A, 2007, 1157(1): 23
- [12] Zhang S J, Xu Y J, Gong X H, et al. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2010, 46 (9): 996
张世娟,徐英江,宫向红,等.理化检验(化学分册),2010,46(9):996
- [13] Zhong Y, Yu C L, Peng P A. Chinese Journal of Chromatography, 2010, 28(10): 923
钟颖,于赤灵,彭平安.色谱,2010,28(10):923
- [14] Shi Y K, Yang M G, Yang Q H, et al. Chinese Journal of Food Hygiene, 2015, 27(1): 19
史玉坤,杨梅桂,杨清华,等.中国食品卫生杂志,2015,27(1):19
- [15] Wang K D, Chen P S, Huang S D. Anal Bioanal Chem, 2014, 406(8): 2123

- [16] Wang J Q, Cao Y H, Zhu L N, et al. *Analytical Instrumentation*, 2020(4): 38
王嘉琦, 曹英华, 朱琳娜, 等. *分析仪器*, 2020(4): 38
- [17] Zhang Z R, Zhang L Y, Wang Y J, et al. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2019, 31(3): 226
张志荣, 张来颖, 王玉江, 等. *中国食品卫生杂志*, 2019, 31(3): 226
- [18] Wang T J, Lin Q B, Song H. et al. *Journal of Instrumental Analysis*, 2010, 29(12): 1153
王天娇, 林勤保, 宋欢, 等. *分析测试学报*, 2010, 29(12): 1153
- [19] Jin M C, Chen X H, Pan B X. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2006, 29(9): 1369
- [20] Wang C Y, Lin J F, Shen Y L. et al. *Paper Science & Technology*, 2015, 34(6): 68
王成云, 林君峰, 沈雅蕾, 等. *造纸科学与技术*, 2015, 34(6): 68
- [21] Mo X K, Huang Z L, Liu L Q. *Leather Science and Engineering*, 2017, 27(1): 58
莫贤科, 黄泽琳, 刘丽琴. *皮革科学与工程*, 2017, 27(1): 58
- [22] Fu C Y, Duan W F, Shi J W, et al. *Journal of Food Safety & Quality*, 2016, 7(7): 2852
符昌雨, 段文锋, 施敬文, 等. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(7): 2852
- [23] Zhong H Y, Liu H, Chai L Y, et al. *Journal of Analytical Science*, 2016, 32(3): 371
钟惠英, 柳海, 柴丽月, 等. *分析科学学报*, 2016, 32(3): 371
- [24] Swagata M, Rajlakshmi P, Sudip B, et al. *J AOAC Int*, 2020, 103(1): 62
- [25] Bresin B, Piol M, Fabbro D, et al. *J Chromatogr A*, 2015, 1376: 167
- [26] Padilla-Sanchez J A, Plaza-Bolanos P, Romero-Gonzalez R, et al. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(36): 5724
- [27] Wang L Z, Fang E H, Wang C J, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2018, 36(6): 518
王连珠, 方恩华, 王彩娟, 等. *色谱*, 2018, 36(6): 518
- [28] Huang J F. *Modern Food*, 2020(21): 170
黄建芳. *现代食品*, 2020(21): 170
- [29] Wang M T, Mou J, Jin Y, et al. *Chinese Dyeing & Finishing*, 2007(5): 31
王明泰, 牟峻, 靳颖, 等. *印染*, 2007(5): 31
- [30] GB/T 18414. 2-2006
- [31] ISO 17070-2015
- [32] Huang W, Li H Q, Liu J F, et al. *Journal of Food Safety & Quality*, 2018, 9(2): 422
黄武, 李红权, 刘建芳, 等. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(2): 422
- [33] Xian Y P, Guo X D, Hou X C, et al. *J Chromatogr A*, 2017, 1526: 31
- [34] Wang J Z, Liu J, Luo X, et al. *Tobacco Science & Technology*, 2017, 50(6): 53
王加忠, 刘剑, 罗熹, 等. *烟草科技*, 2017, 50(6): 53
- [35] Yao L, Zhao J L, Liu Y S, et al. *Anal Bioanal Chem*, 2016, 408(28): 8177
- [36] Qin F, Deng Q D, Li Y, et al. *Journal of Instrumental Analysis*, 2018, 37(8): 879
秦富, 邓全道, 李湧, 等. *分析测试学报*, 2018, 37(8): 879
- [37] Xu W J, Wang Z G, Ding K Y, et al. *Journal of Instrumental Analysis*, 2017, 36(1): 54
许文娟, 王振刚, 丁葵英, 等. *分析测试学报*, 2017, 36(1): 54
- [38] Zhang C, Zhou C Y, Jiang F, et al. *Journal of Instrumental Analysis*, 2018, 37(8): 887
张聪, 周常义, 江锋, 等. *分析测试学报*, 2018, 37(8): 887
- [39] Wang J, Ling Y, Deng Y M, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2020, 38(6): 655
王佳, 凌云, 邓亚美, 等. *色谱*, 2020, 38(6): 655
- [40] Huang J, Chen Y W, Ma M, et al. *Journal of Hubei University (Natural Science)*, 2015, 37(4): 391
黄姣, 陈有为, 马明, 等. *湖北大学学报(自然科学版)*, 2015, 37(4): 391
- [41] Chen Q K, Yan Y Z, Liu Z R, et al. *West Leather*, 2020, 42(5): 37
陈秋凯, 颜远瞻, 刘志荣, 等. *西部皮革*, 2020, 42(5): 37
- [42] Leng J, Xia Q, Tang J. *Environmental Monitoring and Forewarning*, 2016, 8(2): 20
冷俊, 夏青, 汤洁. *环境监控与预警*, 2016, 8(2): 20