

水产品中五氯苯酚及其钠盐含量的气相色谱内标测定法

梁倩¹, 朱晓华^{2,3,4}, 王凯^{2,3,4}, 吴光红^{2,3,4*}

(1. 中国海洋大学食品学院, 山东 青岛 266003;

2. 江苏省水产质量检测中心, 江苏 南京 210017;

3. 江苏省淡水水产研究所, 江苏 南京 210017;

4. 农业部渔业产品质量监督检验测试中心(南京), 江苏 南京 210017)

摘要: 检测水产品中氯苯酚及其钠盐含量的常规方法存在诸多问题, 建立气相色谱内标检测法可以降低乳化、衍生等前处理过程而造成提取物的损失, 增强方法可操作性和准确性, 降低检测的不稳定性, 通过对前处理方法中衍生温度、衍生产物提取液吹干与否对回收率影响的比较研究和色谱条件的改进, 建立了鲫、鳙、日本沼虾、中华绒螯蟹可食部分中五氯苯酚及其钠盐残留量的气相色谱内标法。样品中的五氯苯酚及其钠盐在酸性介质中全部转化为五氯苯酚, 由正己烷提取, 碳酸钾溶液反萃取, 萃取物经乙酸酐衍生生成五氯苯乙酸酯, 正己烷提取衍生物, HP-5MS (30 m×0.25 mm×0.25 μm)色谱柱分离, 用配备微池电子捕获检测器的气相色谱测定, 以2,4,6-三溴苯酚作为内标物, 内标法定量。结果表明: 该方法在0.2~20.0 μg/L范围内线性关系良好, 相关系数 $R^2=0.9996$, 在加标水平为2.0、5.0、10.0、50.0 μg/kg, 内标为50.0 μg/kg, 加标回收率为85.8%~109.0%, RSD为0.8%~9.3%, 最低检测限为0.6 μg/kg。

关键词: 水产品; 五氯苯酚; 五氯酚钠; 2,4,6-三溴苯酚; 残留; 气相色谱; 内标法

中图分类号: TS 254.7

文献标志码: A

五氯苯酚(pentachlorophenol, PCP)是一种氯代酚类物质, 简称五氯酚, 曾在世界范围内被广泛用作工业农业上的除草剂、木材防腐剂 and 生物杀伤剂等^[1], 其钠盐形式—五氯酚钠(sodium pentachlorophenolate, PCP-Na)在我国曾作为血吸虫病疫区常用的杀灭血吸虫中间宿主钉螺的药物, 在长江中下游11个省、市、自治区长时间使用。水产养殖中, 曾作为清塘药物在水体中大量使用^[2]。近年来的研究发现, 因其化学稳定性致使残留不易降解, 具有很强的“三致”(致畸、致癌、致突变)效应, 在动植物体内的富集率高, 能抑制生物代谢过程中氧化磷酸化作用, 导致动物肺、肝、肾脏以及神经系统的损伤。美国环境保护署(U.S Environmental Protection Agency, EPA)、北美和加拿大等国家已将PCP

列为优先控制的持久性有机污染物(persistent organic pollutants, POPs)之一^[3-4], 已列入EPA污染物数据库(编号CASRN 87-86-5), 欧盟于1992年限制其使用^[2]。我国《无公害食品渔用药物使用准则》(NY 5071-2002)明确规定了食品动物生产中禁用PCP-Na^[5]。近年, 政府加大了水产品中PCP及其钠盐残留量的监测, 从汇总的结果来看, 虽然目前已禁用PCP-Na, 但以往施用的PCP-Na在环境中的残留还会持续相当长的一段时间^[6], 对渔业产品质量的影响仍较严重。

目前国内外PCP及其钠盐的检测方法主要有: 分光光度法^[7-8]、ELISA^[9]、离子选择电极法^[10-11]、高效液相色谱法^[12-15]、气相色谱法^[16-21]以及气质法^[22-24], 应用于水质^[14,17,25]、土壤^[26-27]、木材^[28]、皮

收稿日期: 2011-10-11

修回日期: 2012-02-17

资助项目: 江苏省科技支撑计划—社会发展项目(BE2011813)

通讯作者: 吴光红, E-mail:ghwu2007@163.com

革^[29]等。关于水产品中PCP及其钠盐的残留,已有研究采用气相色谱法对鱼、虾、蟹进行了检测^[16-18],朱晓华等^[30]比较研究了不同前处理方法对回收率的影响及衍生操作方式等,使气相色谱测定方法得以优化。廖林川等^[12]还报道了高效液相色谱法,但该法检测限较高。上述报道均采用外标法定量,气相色谱法是农业部、各地对水产品中PCP及其钠盐残留检测的通用检测方法,在实际检测过程中发现该方法前处理过程对检测人员操作技术要求较高,各类水产品在不同室温下检测均存在不同程度的乳化现象,严重影响检测结果的稳定性,加之进样前需进行衍生化反应,进一步增加了检测结果的不稳定性。本研究以鲫(*Crucian carp*)、鳙(*Gadous macrocephalus*)、日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)、中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)作为样品基质,经过较为系统的试验,对内标物的选择、前处理条件的控制进行了比较研究,建立了以2,4,6-三溴苯酚(TBP)作为内标物的气相色谱检测方法,通过内标物与待测物响应值的比较来校正,降低因乳化现象及衍生过程等前处理变化而造成的影响,增强方法可操作性和准确性,降低检测不稳定性。

1 材料与方 法

1.1 材 料

仪器与设备 7890N气相色谱仪,配有⁶³Ni微电子俘获检测器(μ -ECD)(美国 Agilent 公司); Allegra™ 21R 台式高速冷冻离心机(美国 Beckman 公司); XW-80A 微型涡旋混合仪(上海沪西分析仪器厂); AE200 电子天平,感量 0.000 1 g(瑞士梅特勒-托利多公司); JY5002 电子天平,感量 0.01 g(上海精天电子仪器厂); DK-8D 数显恒温水浴锅(金坛市医疗仪器厂)。

药品与试剂 PCP 标准品:纯度 99.0%(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司, Lot: 70504); TBP 标准品:纯度 99.0%(Sigma-aldrich 公司); 硫酸,分析纯(南京化学试剂一厂); 正己烷,色谱纯(美国 Tedia 公司); 碳酸钾,分析纯(中国医药上海化学试剂公司); 乙酸酐,分析纯(上海凌峰化学试剂有限公司); 无水硫酸钠,分析纯(南京化学试剂一厂,使用前 550 °C 灼烧 5 h)。

样品及其制备 实验中所采用的样品为鲫、

鳙、日本沼虾与中华绒螯蟹。鲫,去头去鳞,取肌肉部分,鳙取肌肉并去水,日本沼虾去头去壳,取其肌肉,蟹取可食部分。用高速万能试样粉碎机打成匀浆,放置-20 °C 冰箱中冷冻贮存,测定前将其室温解冻。

1.2 方 法

样品前处理 准确称取 1.00 g 混合均匀的样品于 50 mL 具塞离心管中,加入 100 μ g/L 的 TBP 500 μ L,加入 8 mL 1:1 的硫酸溶液,涡旋混匀,80 °C 水浴 30 min,冷却至 40 °C 后加入 10 mL 正己烷,涡旋 2 min,8 000 r/min 离心 10 min,吸取正己烷于另一具塞离心管中,重复加 10 mL 正己烷提取 1 次,合并正己烷。在正己烷中加入 4 mL 0.1 mol/L 的 K₂CO₃ 溶液,涡旋 2 min,8 000 r/min 离心 10 min,吸取 K₂CO₃(下层)于 15 mL 的具塞离心管中,重复加 4 mL K₂CO₃ 溶液萃取 1 次,合并 K₂CO₃ 溶液。在 K₂CO₃ 溶液中加入 200 μ L 乙酸酐,40~50 °C 下衍生,旋涡 2 min 并不断放气;分两次用 2.4 mL 正己烷提取衍生产物(五氯苯乙酸酯),提取液收集于 5 mL 容量瓶中,正己烷定容,加入少量无水硫酸钠脱水,移入进样瓶上机检测。

色谱条件 色谱柱: HP-5 MS(30 m \times 250 μ m \times 0.25 μ m); 进样口温度: 250 °C; 检测器温度: 300 °C; 柱温: 采用程序升温,初温: 80 °C(1 min),升温速率: 15 °C/min,升温至 160 °C,再以 8 °C/min 的升温速率升温至 230 °C,再以 30 °C/min 的升温速率升温至 280 °C,终温: 280 °C(保持 3 min); 载气: 99.999% 的高纯氦气,流速: 1.2 mL/min; 尾吹气: 99.999% 高纯氮气,流量 60.0 mL/min; 进样量: 1 μ L; 进样方式: 不分流进样,吹扫放空时间 0.75 min。

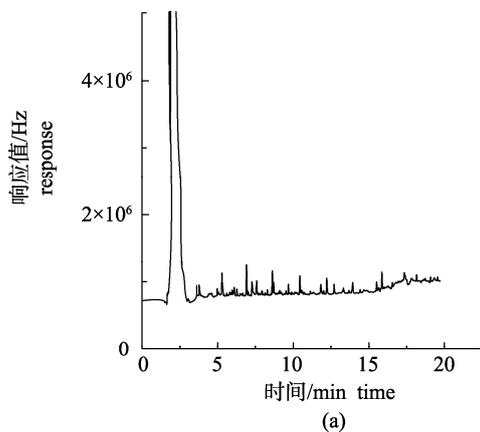
标准溶液与标准曲线 准确称取 PCP 标准品 0.010 0 g,用 0.1 mol/L K₂CO₃ 溶液溶解并定容于 100 mL 容量瓶中,配制成 100 μ g/mL 标准储备液,准确称取 TBP 标准品 0.0100 g,加 0.1 mol/L K₂CO₃ 溶液溶解并定容于 100 mL 容量瓶中,配制成 100 μ g/mL 标准储备液,置 4 °C 冰箱中保存,使用时用 0.1 mol/L K₂CO₃ 溶液进行梯度稀释,配制成分别含 PCP 0.2、0.5、1、2、4、5、10、20 μ g/L、TBP 10 μ g/L 的标准工作液,各吸取 5 mL,处理步骤同“样品前处理”,衍生后进样测定峰面积响应值,以峰面积比(y)对质量浓度比(x)做标准曲线,考察标准曲线线性关系。

衍生温度的比较 分别移取含有2 μg/L PCP、10 μg/L TBP的标准工作液5 mL于36个15 mL具塞离心管中, 其中每6份分别置于10、20、30、40、50、60 °C(低温通过冰箱控制, 高温通过水浴锅调节)放置10 min, 处理步骤同“样品前处理”, 加入200 μL乙酸酐衍生, 正己烷提取, 上机测定, 比较衍生温度对衍生效果的影响。

衍生产物提取液吹干与否对回收率的影响 分别移取含有2 μg/L PCP、10 μg/L TBP的标准工作液5 mL于12个15 mL具塞离心管中, 前6份处理步骤同“样品前处理”, 后6份按照“样品前处理”处理后, 正己烷提取液吹干, 加入1 mL正己烷定容, 上机测定, 比较不同操作方法对添加回收率的影响。

精密度、回收率和最低检测限 在1.00 g空白样品(鲫、鳕、日本沼虾和中华绒螯蟹)中分别添加20、50、100、500 μL浓度为100 μg/L的PCP标准工作液和500 μL浓度为100 μg/L的TBP(添加水平分别相当于2、5、10和50 μg/kg, 含内标50 μg/kg), 按照“样品前处理”进行处理并按照色谱条件测定, 每个添加水平作6个平行, 计算各种水产品PCP平均回收率和日内相对标准偏差。同时, 选取鲫和日本沼虾样品, 添加100 μL浓度为100 μg/L的PCP和500 μL浓度为100 μg/L的TBP, 添加水平在不同时间重复做3次(3个平行), 计算日间相对标准偏差。当样品中添加水平为2 μg/kg, 按照3倍信噪比计算最低检测限。

内标法、外标法计算结果的比较 实验样品分别用内标法与外标法定量, 比较内标法、外标法定量结果。



2 结果

2.1 色谱图

标准溶液色谱图见图1, 样品空白及样品加标色谱图见图2。从色谱图中可以看出本检测方法能有效地分离目标物和内标物, 且在目标物和内标物出峰处无杂质干扰。

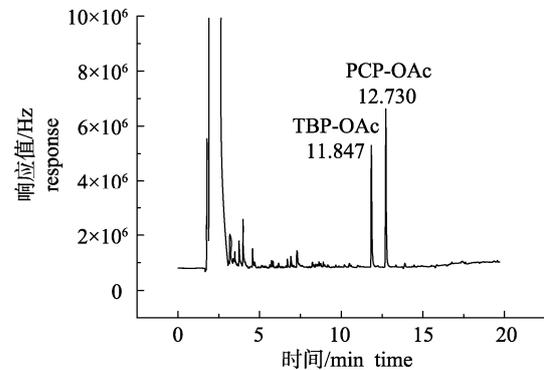


图1 TBP和PCP标准溶液(10.0 μg/L)色谱图
Fig. 1 The chromatogram of TBP and PCP (10.0 μg/L) standard solution

2.2 标准曲线及线性关系

混合工作液经过乙酸酐衍生化后上机测定, 以峰面积比(y)对质量浓度比(x)做标准曲线(图3), 得线性回归方程: $y = 1.36x - 2.83 \times 10^{-2}$ (其中x表示浓度比, y表示峰面积比), 相关系数 $R^2 = 0.9996$ (表1)。结果表明: PCP在0.2~20 μg/L范围内线性关系良好。

2.3 不同衍生温度对回收率的影响

不同衍生温度对添加回收率的影响差异不显著($P > 0.05$), 但提高衍生温度可以加快衍生速度, 减少样品处理过程中的乳化, 考虑到温度过高会加快衍生物的分解, 故本试验选择40~50 °C下进行衍生(表2)。

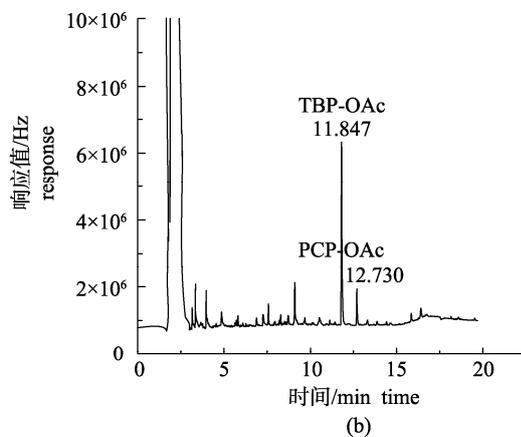


图2 鳕空白样品(a)和2.0 μg/L加标样品(b)的色谱图

Fig. 2 The chromatogram of blank cod sample (a) and 2.0 μg/L spiked sample (b)

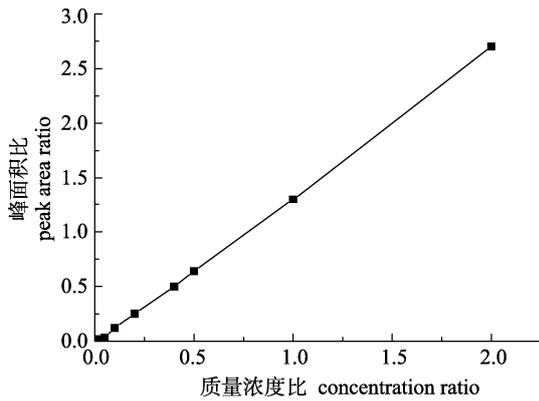


图3 PCP 标准曲线

Fig. 3 The standard curve of PCP

2.4 衍生产物提取液吹干与否对回收率的影响

由表 3 可知, 正己烷吹干与未吹干其添加回收率分别为 303.6%和 106.5%, 差异显著($P<0.05$), 可能因为衍生过后五氯苯乙酸酯和三溴苯酚乙酸酯的热不稳定性, 正己烷吹干使得 PCP 和 TBP 的添加回收率都降低, 而 TBP 的降解较 PCP 严重, 使测定的添加回收率过高, 故本实验正己烷采用不吹干。

2.5 回收率和精密度

从表 4 和表 5 可知, 通过内标法测定的回收率为

85.8%~109.0%, 精密度为 0.8%~9.3%, 外标法测定的回收率为 51.2%~126.0%, 精密度为 3.0%~17.2%, 数据结果显示外标法测定的 RSD 值相对较大, 回收率的变化范围也较大, 其结果忽高忽低, 不易掌控, 而内标法通过内标物的校正, 其测定的 RSD 值较小, 回收率也相对稳定。

2.6 最低检测限

当样品中添加 PCP 水平为 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 以 3 倍信噪比确定分析物的检测限, 得方法的最低检测限为 0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

3 讨论

3.1 前处理方法的确定

使用离心管的洗涤 实验过程中发现仅仅通过洗涤剂清洗, 去离子水冲洗的离心管中仍会有部分 PCP 残留, 做空白试验时会有 0.1~0.2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的 PCP 被检出, 若离心管通过酒精清洗并超声 10 min 后 PCP 的残留量大量减少, 基本可以清除。同时发现玻璃离心管对 PCP 的吸附能力较低, 不易残留, 所以建议采用酒精超声清洗离心管或采用玻璃离心管进行实验。

表 1 PCP、TBP 各标准工作液浓度比对应峰面积比

Tab. 1 The corresponding peak area ratio of PCP and TBP standard solution

	质量浓度比 concentration ratio							
	0.020	0.050	0.1	0.2	0.4	0.5	1.0	2.0
峰面积比 peak area ratio	0.018	0.034	0.12	0.25	0.50	0.64	1.3	2.7

表 2 不同衍生温度对回收率的影响

Tab. 2 The effects of different derivative temperature on recoveries

n=6

衍生温度/ $^{\circ}\text{C}$ derivative temperature	标样浓度/ $(\mu\text{g}/\text{L})$ standard solution	检测浓度/ $(\mu\text{g}/\text{L})$ detected concentration	平均回收率/% average recovery	RSD/%
10	2.0	1.79 ^a ±0.26	89.3	7.1
20	2.0	1.77 ^a ±0.24	88.5	7.2
30	2.0	1.79 ^a ±0.18	89.4	5.2
40	2.0	1.87 ^a ±0.08	93.4	2.8
50	2.0	1.92 ^a ±0.12	95.9	4.7
60	2.0	1.66 ^a ±0.11	83.2	3.8

表 3 正己烷吹干与否对回收率的影响

Tab. 3 The effects of n-hexane blow dry or not on recoveries

n=6

处理方式 handle method	标样浓度/ $(\mu\text{g}/\text{L})$ standard concentration	检测浓度/ $(\mu\text{g}/\text{L})$ detected concentration	平均回收率/% average recovery	RSD/%
吹干 blow-dry	2.0	6.1 ^b ±0.6	303.6	3.8
未吹干 not blow dry	2.0	2.1 ^a ±0.1	106.5	3.6

表 4 批内回收率与精密度结果
Tab. 4 Intra-day average recovery and precisions of PCP

样品名称 sample name	添加浓度/($\mu\text{g}/\text{kg}$) spiking concentration	内标法 internal standard method			外标法 external standard method		
		检测浓度/($\mu\text{g}/\text{kg}$) detected concentration	平均回收率/% average recovery	RSD/ %	检测浓度/($\mu\text{g}/\text{kg}$) detected concentration	平均回收率/% average recovery	RSD/ %
鳕 <i>G.macrocephalus</i>	2.0	2.2 \pm 0.1	109.0	4.2	2.5 \pm 0.2	126.0	9.6
	5.0	4.4 \pm 0.3	87.3	3.6	4.6 \pm 1.0	91.2	16.1
	10.0	8.5 \pm 0.1	85.1	0.8	9.1 \pm 2.1	91.5	12.1
	50.0	49.9 \pm 2.3	99.9	2.7	47.2 \pm 2.1	94.4	11.8
鲫 <i>C.carp</i>	2.0	2.0 \pm 0.2	102.0	4.6	1.7 \pm 0.1	87.3	6.0
	5.0	5.2 \pm 0.3	104.3	5.5	3.6 \pm 0.3	72.7	4.5
	10.0	8.7 \pm 0.6	86.6	5.3	5.1 \pm 1.3	51.2	9.7
	50.0	47.7 \pm 4.1	95.4	5.8	52.1 \pm 9.0	104.2	10.3
日本沼虾 <i>M.nipponense</i>	2.0	2.0 \pm 0.1	98.0	4.2	2.1 \pm 0.4	104.0	14.0
	5.0	5.2 \pm 1.2	104.0	1.9	3.0 \pm 0.5	60.5	4.7
	10.0	8.6 \pm 0.7	85.8	5.3	8.9 \pm 3.0	89.4	17.1
	50.0	48.9 \pm 4.3	97.7	5.0	43.4 \pm 6.6	86.9	11.2
中华绒螯蟹 <i>E.sinensis</i>	2.0	2.0 \pm 0.9	99.0	5.0	2.3 \pm 0.5	117.0	15.0
	5.0	4.9 \pm 0.6	97.8	9.1	4.5 \pm 0.4	89.4	3.9
	10.0	8.9 \pm 1.6	89.1	9.3	9.7 \pm 2.2	96.7	12.5
	50.0	46.6 \pm 1.8	93.2	2.4	43.1 \pm 2.7	86.2	3.0

表 5 批间回收率与精密度结果
Tab. 5 Inter-day average recovery and precisions of PCP

样品名称 sample name	添加浓度/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) spiking concentration	内标法			外标法		
		检测浓度/($\mu\text{g}/\text{kg}$) detected concentration	平均回收率/% average recovery	RSD/ %	检测浓度/($\mu\text{g}/\text{kg}$) detected concentration	平均回收率/% average recovery	RSD/ %
鲫 <i>C.carp</i>	10.0	8.7 \pm 0.6	86.7	3.8	6.6 \pm 2.5	65.5	17.2
日本沼虾 <i>M.nipponense</i>	10.0	8.6 \pm 0.4	86.5	3.3	8.3 \pm 3.7	87.3	13.4

离心速度、时间的确定 费志良等^[16]、薛辉利等^[18]研究前处理过程离心分离时所采用的转速均为 4 000 r/min, 时间为 5 min, 但操作过程中发现该转速、该时间下离心后, 部分乳化现象较严重的样品分层仍不明显, 张世娟等^[31]在研究时将离心时间改为 10 min, 通过延长离心时间来减少乳化现象, 同时本实验通过研究发现增大离心速度降低乳化现象的效果较明显, 故本实验设置离心的转速为 8 000 r/min, 离心时间为 10 min。

萃取、衍生要充分 试验研究发现, 冬季室温较低时(<20 $^{\circ}\text{C}$), 所测定 PCP 和 TBP 的响应值都会有所下降, 可能是低温涡旋时物质混合不充分, 使萃取效果下降, 同时在低温下衍生速度会下降, 会因涡旋、静止时间过短而造成衍生不完全, 使 PCP 和 TBP 的响应值有所下降。同时研究中还发现低温时乳化现象比较严重, 造成提取物质的

损失, 带来检测结果的不确定性, 而提高温度可以一定程度上降低乳化现象。同时还可以增加衍生速率, 提高测定值的稳定性, 但温度过高可能会因为检测物质的热不稳定性而造成损失, 所以通过实验结果建议设定衍生温度 40~50 $^{\circ}\text{C}$, 以降低乳化现象, 提高衍生速率, 提高萃取效果。

衍生产物提取液吹干与否对回收率的影响 试验结果表明, 衍生产物提取液吹干会使 PCP 和 TBP 的响应值降低, 可能因为两种物质的热不稳定性使其在吹干过程中造成部分损失, PCP 氮吹浓缩后的含量变为原来含量的 50%左右, 而 TBP 氮吹浓缩后的含量变为原来的 10%左右, 两者的损失量不一致, 造成测定的添加回收率的不稳定性。张世娟等^[31]的研究中也报道了相类似的结果, 氮吹过程中会造成药物相当大一部分的损失, 所以该实验未采取氮吹浓缩的方式。

3.2 检测条件的优化

内标物选择 实验比较了 TBP、艾氏剂、四氯苯酚 3 种不同药物作为内标物的效果,发现艾氏剂见光易分解,损失量较大,操作过程难以掌握,四氯酚钠在环境、水产品基质中存在,空白值测定时有干扰,可能会对实验结果造成影响,而 TBP 性质较稳定且环境中不存在,通过试验发现 PCP、TBP 的回收率较一致,故本实验选用 TBP 作为内标物。

色谱柱选择 PCP 在测定过程中需要衍生,衍生过程会使基质变复杂,带来部分干扰。本试验通过试剂空白试验、样品空白试验和样品加标试验,比较了弱极性 HP-5 柱与中等极性 DB-35 柱的分离效果。实验结果表明,选择 HP-5 柱,PCP 出峰处干扰较少,而 DB-35 柱,在其出峰处干扰严重,难以得到适合检测各类水产品的色谱条件,本试验选择 HP-5 柱为色谱柱,通过多种检测条件的比较试验,建立一种适合鲫、日本沼虾、中华绒螯蟹、鳕等各类水产品检测的方法。

色谱条件 在以前的试验中,采用的色谱条件初温均为 140 °C,维持 2 min,然后分别以 10 °C/min 的速度升至 200 °C,维持时间分别为 7、6、7 min,在温度维持的过程中药物分别出峰,最后以较快的速度升至 260 °C^[16,30-31]。当加入内标后在此程序升温条件下药物出峰时会出现肩峰,可能是初始温度过高造成 TBP 的分解而产生的。当降低初始温度至 80 °C 后则无肩峰出现,通过反复实验,综合出峰时间,峰形,待测物与内标物的分离度等各种因素,该试验选择 80 °C 的初始温度,维持 1 min,然后以升温速率 15 °C/min 升温至 160 °C,再以 8 °C/min 的升温速率升温至 230 °C,最后以 30 °C/min 的升温速率升温至 280 °C,保持 3 min。

内标法、外标法定量结果比较 通过外标法定量测定的 PCP 的回收率为 51.2%~126.0%,RSD 为 3.0%~17.2%,内标法定量测定的 PCP 的回收率为 85.8%~109.0%,RSD 为 0.8%~9.3%,外标法测定的 PCP 的回收率和 RSD 值变化范围较大,其结果忽高忽低,不易掌控,对前处理的操作过程要求非常严格,而内标法通过内标物的校正,降低了前处理过程中的药物损失,其测定的 RSD 值较小,回收率也相对稳定,适合残留检测方法对回收率与精密度的要求。

4 结论

该方法添加 TBP 作为内标物,通过对前处理过程中衍生温度、衍生产物提取液吹干与否以及不同色谱条件进行了比较研究,建立了鲫、鳕、日本沼虾、中华绒螯蟹中 PCP 及其钠盐残留量的气相色谱内标检测方法。样品在体积比 1:1 的硫酸溶液中将 PCP 及其钠盐全部转化为 PCP,由正己烷提取,碳酸钾溶液反萃取,萃取物在 40~50 °C 下,乙酸酐衍生,正己烷提取衍生物,HP-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm)色谱柱分离后,用配备微池电子捕获检测器的气相色谱测定,以 TBP 作为内标物,通过内标法定量。该方法通过内标物与待测物响应值的比较来校正,降低因乳化现象及衍生过程等前处理变化而造成的影响,增强方法可操作性和准确性,降低检测的不稳定性。

参考文献:

- [1] Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for pentachlorophenol(update): report of Department of Health and Human Services[R]. Public Health Service, U S. Atlanta: DHHS, 2001: 152-163.
- [2] 张彤晴,蒋丽娟,葛家春,等. 五氯苯酚对渔业环境的危害与对策研究进展[J]. 江苏农业科技, 2007(4): 256-259.
- [3] 史雅娟,吕永龙,任鸿昌,等. 持久性有机污染物研究国际发展动态[J]. 世界科技研究与发展, 2003, 25(2): 73-78.
- [4] 余刚,黄俊,张彭义. 持久性有机污染物:倍受关注的全球性环境问题[J]. 环境保护, 2001(4): 37-39.
- [5] 中华人民共和国农业部. NY5071-2002 无公害食品渔业药物使用准则[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [6] 张兵,郑明辉,刘芑岩,等. 五氯酚在洞庭湖环境介质中的分布[J]. 中国环境科学, 2001, 21(2): 165-167.
- [7] 荣宝晶,崔杨卓. 4-氨基安替比林法测定水样中酚的探讨和改进[J]. 北方环境, 2005, 30(2): 72-74.
- [8] 国家环保局规划标准处. GB 9803-1988 水质五氯酚的测定藏红T分光光度法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1988.
- [9] Patricia N, Ángel M, Rosa P, *et al.* Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for pentachlorophenol [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2002, 460: 279-288.
- [10] Abbas M N, Mostafa G A E, Homoda A M A. PVC membrane ion selective electrode for the determination of pentachlorophenol in water, wood and soil using tetrazolium pentachlorophenolate[J]. *Talanta*, 2001, 55: 647-656.

- [11] Wu Y H. Nano-TiO₂/dihexadecylphosphate based electrochemical sensor for sensitive determination of pentachlorophenol[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2009, 137: 180–184.
- [12] 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*, 2004, 35(3): 427–428.
- [13] 刘桂明, 邓义敏. 水中苯酚、五氯酚、2,4,6-三氯酚的高效液相色谱法[J]. *云南环境科学*, 2000, 19(4): 59–61.
- [14] 李萍, 管秀娟. 固相萃取和高效液相色谱联用测定污水中的五氯苯酚[J]. *环境工程*, 2007, 25(3): 75–76.
- [15] Han D M, Fang G Z, Yan X P. Preparation and evaluation of a molecularly imprinted sol-gel material for on-line solid-phase extraction coupled with high performance liquid chromatography for the determination of trace pentachlorophenol in water samples[J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1100: 131–36.
- [16] 费志良, 葛家春, 吴军, 等. 气相色谱测定青虾、草鱼肌肉中五氯苯酚及其钠盐残留总量的方法[J]. *南京师大学报*, 2004, 27(3): 70–73.
- [17] 池缔萍. 固相微萃取气相色谱法测定水产品中五氯苯酚及其钠盐残留量[J]. *分析实验室*, 2007, 12(26): 321–323.
- [18] 薛辉利, 张晓辉, 杜建明, 等. 虾类中五氯苯酚残留的气相色谱分析[J]. *福建分析测试*, 2009, 18(3): 64–65.
- [19] 邵昌松, 赵萍, 徐小作, 等. 水中五氯酚的顶空固相微萃取气相色谱测定法[J]. *环境与健康杂志*, 2004, 21(2): 107–109.
- [20] 李萍. 液-液微萃取气相色谱法测小量水样中痕量 PCP 的研究[J]. *广东化工*, 2007, 7(34): 29–32.
- [21] 褚春莹, 宣肇菲, 房贤文, 等. 毛细管柱气相色谱法测定水质五氯酚[J]. *干旱环境监测*, 2009, 23(3): 145–147, 151.
- [22] Kawaguchi M, Inoue K, Yoshimura M, *et al.* Trace analysis of phenolic xenoestrogens in water samples by stir bar sorptive extraction with *in situ* derivatization and thermal desorption-gas chromatography mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1041: 19–26.
- [23] Montero L, Conradi S, Weiss H, *et al.* Determination of phenols in lake and ground water samples by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1071: 163–169.
- [24] Kawaguchi M, Ishii Y, Sakui N, *et al.* Stir bar sorptive extraction with *in situ* derivatization and thermal desorption-gas chromatography mass spectrometry for determination of chlorophenols in water and body fluid samples[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2005, 533: 57–65.
- [25] 洪爱华, 尹平河, 梁志红. 高效液相色谱-质谱联用法测定饮用水中的五氯苯酚[J]. *生态环境学报*, 2010, 19(1): 69–71.
- [26] Polese L, Ribeiro M L. Methods for determination of hexachlorobenzene and pentachlorophenol in soil samples[J]. *Talanta*, 1998, 46: 915–920.
- [27] 陈骥, 陈舜湖, 张祖麟, 等. 毛细管气相色谱法测定鳌江表层沉积物中五氯酚和六氯酚[J]. *环境监测管理*与技术, 2008, 20(4): 40–42.
- [28] 方邢有, 张文, 邵秋荣, 等. 进出口木产品中五氯苯酚的气相色谱测定方法[J]. *分析实验室*, 2008, 12(27): 331–332.
- [29] 沈兵. 皮革和毛皮制品中五氯苯酚残留量的测定方法[J]. *中国皮革*, 2003, 32(5): 92–94.
- [30] 朱晓华, 吴燕如, 王凯, 等. 气相色谱法测定水产品中五氯苯酚及其钠盐残留量[J]. *江苏农业学报*, 2011, 27(1): 188–194.
- [31] 张世娟, 徐英江, 宫向红, 等. 气相色谱法测定水产品种五氯酚[J]. *理化检验*, 2010, 46(9): 996–999.

Determination of residues of pentachlorophenol and its sodium salt in aquatic product by gas chromatography using internal standard method

LIANG Qian¹, ZHU Xiao-hua^{2,3,4}, WANG Kai^{2,3,4}, WU Guang-hong^{2,3,4*}

(1. College of Food Science and Technology, Ocean University of China, Qingdao, 266003, China;

2. Aquatic Products Analysis and Testing Center of Jiangsu Province, Nanjing 210017, China;

3. Freshwater Fishery Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing 210017, China;

4. Fishery Products Quality Supervision and Testing Center (Nanjing), Ministry of Agriculture, Nanjing 210017, China)

Abstract: The aim of this study was to reduce the loss of preliminary treatment of sample such as derivatives and emulsification, to enhance the maneuverability and accuracy of method, to promote the in stability of detection. Residues of pentachlorophenol and its sodium salt in edible tissues of crucian, freshwater shrimp, cod and chinese mitten crab were determined by gas chromatography using internal standard method. Such factors as derivation method, Whether n-hexane was blowed or not for pentachlorophenol and its sodium salt were compared in this paper. Moreover, the chromatographic conditions were surveyed and optimized for detection of the residues of pentachlorophenol and its sodium salt in edible tissues. The target compounds were first extracted two times with n-hexane in an acidic medium, and then back extracted with potassium carbonate solution. The extract was derived with acetic anhydride, and the derivative was extracted with n-hexane. The HP-5MS (30 m×0.32 mm×0.25 μm) column and the micro-cell electron capture detector was used for the determination. This method chooses 2,4,6-TBP as internal standard substance. The working curves were linear ($R^2=0.9996$) in the range of 0.2-20.0 μg/L. When spiked with 2.0, 5.0, 10.0, 50.0 μg/kg of pentachlorophenol and 50 μg/kg of 2,4,6-tribromophenol, the average recoveries were 85.8%-109.0% and the RSD were 0.8%-9.3%. The detection limit was 0.6 μg/kg.

Key words: aquatic product; pentachlorophenol; sodium pentachlorophenate; 2,4,6-tribromophenol; residue; gas chromatography; internal standard method

Corresponding author: WU Guang-hong. E-mail: ghwu2007@163.com