

加速溶剂萃取-GC-MS 法检测食品接触材料——纸、纸板、木材和木制品中的 6 种氯酚类物质残留

付善良¹, 丁利¹, 肖家勇¹, 龚强¹, 焦艳娜¹, 王晓兵², 王利兵¹

(1. 湖南出入境检验检疫技术中心 食品安全科学技术湖南省重点实验室, 长沙 410004; 2. 中国石油和化学工业联合会, 北京 100029)

摘要: 建立了检测食品接触材料——纸、纸板、木材和木制品中含氯酚(CPs)残留量的气相色谱-质谱(GC-MS)分析方法。采用加速溶剂萃取(ASE)法为样品前处理手段, 优化了萃取溶剂、萃取温度、静态萃取时间、冲洗体积和萃取循环次数等实验参数。优化结果为: 以二氯甲烷为萃取溶剂, 萃取温度为 150 °C, 静态萃取时间为 10 min, 冲洗体积为(占萃取罐体积的)60%, 萃取循环次数为 1 次。结果表明: 6 种 CPs 在 0.05~2.0 µg/mL 质量浓度范围内具有良好的线性关系($R>0.99$); 平均回收率在 86.8%~108.8%之间($n=6$); 相对标准偏差(RSD)为 1.8%~14.2%($n=6$); 方法的检测限为 0.01 mg/kg。研究表明该方法高效、简便、快捷、灵敏、准确可靠, 可用于实际样品的 CPs 残留量的监测。

关键词: 加速溶剂萃取; 气相色谱-质谱; 含氯酚

中图分类号: TB487; TS206 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2011)15-0048-05

Determination of 6 Chlorophenols in Paper, Paperboard, Wood and Wood Products Used as Food Contact Materials by Accelerated Solvent Extraction and GC-MS

FU Shan-liang¹, DING Li¹, XIAO Jia-yong¹, GONG Qiang¹, JIAO Yan-na¹, WANG Xiao-bing², WANG Li-bing¹

(1. Technology Center of Hunan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Hunan Key Laboratory of Food Safety Science & Technology, Changsha 410004, China; 2. China Petroleum and Chemical Industry Federation, Beijing 100029, China)

Abstract: A new analytical method was developed for the determination of CPs in paper, paperboard, wood and wood products used as food contact materials by accelerated solvent extraction (ASE) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The operational parameters of ASE, such as extraction solvent, extraction temperature, static extraction time, flush volume and extraction cycles, were optimized. The optimized procedure was using dichloromethane as extraction solvent, 150 °C of extraction temperature, 10 min of static extraction time, and 60% flush volume; the extraction recoveries of 6 CPs were nearly to 100% for only one cycle. The results indicated that the developed method has good linearity ($R>0.99$) in 0.05~2.0 µg/mL mass concentration, good recoveries (86.8%~108.8%) and precision (relative standard deviation (RSD) 1.8%~14.2%); the limited of detection (LOD) of the 6 CPs are 0.01 mg/kg. It was concluded that the developed method is efficient, simple, rapid, sensitive, accurate and reliable, which can be utilized for CPs residual inspection of sample.

Key words: accelerated solvent extraction (ASE); gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); chlorophenols (CPs)

含氯酚类化合物(CPs)常被用来作为木材、油漆、植物纤维和皮革的防腐剂, 由于其毒性和残留持久

收稿日期: 2011-05-18

作者简介: 付善良(1977—), 男, 长沙人, 硕士, 湖南出入境检验检疫技术中心工程师, 主要研究方向为食品安全与检验检疫安全。

通讯作者: 王晓兵(1972—), 男, 北京人, 博士, 中国化工协会副教授, 主要研究方向为食品安全与检验检疫安全。

性^[1],已经受到公众的普遍关注。美国环保署(EPA)^[2]和欧洲理事会(EC)^[3]都将几种 CPs 列入优先控制污染物名单。五氯苯酚(PCP)是 CPs 中毒性最强、应用最多的一种,具有致癌、致畸和致突变性^[4-5],因此,许多国家严格限制其使用。如欧盟 Resolution ResAP(2002) 1 指令规定食品包装纸的水抽提液中 PCP 的含量不得超过 0.15 mg/kg。

纸、纸板、木材和木制品为常见的食品接触材料,由于直接与食品接触,其中的 CPs 很容易迁移到食品中。因此,对这类材料中的 CPs 进行监测,对保护消费者的健康安全具有十分重要的意义。

CPs 的检测常使用气相色谱(GC)法^[6-8]。质谱检测器(MSD)分辨率高、选择性好,因而常被用作分析 CPs 的检测器^[9-11]。尽管不衍生也可以直接检测^[12],但由于极性太强,CPs 容易被分析系统吸附,导致色谱峰拖尾,响应降低。因而,一般先将它们转化成弱极性的衍生物后,再进行色谱分析。CPs 常用的衍生化试剂有重氮甲烷、碘甲烷、五氟苄基溴和乙酸酐等^[13]。其中,乙酸酐衍生法简单、快速、安全,因而最常用^[14-16]。

样品前处理是残留分析的一个关键步骤。在分析大批量的样品时,快速、有效地萃取分析物变得尤其重要。加速溶剂萃取(ASE)是一个相对较新的自动化萃取技术,它使用低沸点的有机溶剂或溶剂混合物在较高的温度(可高达 200 °C)和压力(可高达 20 MPa)下萃取目标化合物。与索氏提取、超声萃取(USE)等传统的液-固萃取方法相比,ASE 具有许多优点,如:较高的萃取效率、较少的溶剂消耗、较短的萃取时间和自动化同时萃取多个样品等。然而,国内外目前尚无 ASE 用于纸、纸板、木材和木制品中 CPs 萃取的报道。

笔者以 ASE 技术作为样品前处理手段,建立一种气相色谱-质谱(GC-MS)方法,用于食品包装材料——纸、纸板、木材和木制品中 6 种 CPs 残留的检测,并优化萃取溶剂、萃取温度、静态萃取时间、冲洗体积和萃取循环次数等实验参数。

1 实验

1.1 材料与试剂

2,3,5-三氯苯酚(2,3,5-TCP)、2,4,6-三氯苯酚(2,4,6-TCP)、2,3,5,6-四氯苯酚(2,3,5,6-TeCP)、

2,3,4,5-四氯苯酚(2,3,4,5-TeCP)、2,3,4,6-四氯苯酚(2,3,4,6-TeCP)、五氯苯酚(PCP),均购自 Dr. S. Ehernstorfer 公司,纯度大于 99%;硅藻土;甲醇,乙酸乙酯,二氯甲烷,正己烷,均为 HPLC 级;醋酸酐(A. R.);无水碳酸钠(A. R.);实验用水为超纯水。

纸样品为市售面包纸袋;纸板样品取自牛奶纸盒;木材样品取自常见的水果装运木箱;软木塞样品取自葡萄酒瓶。

1.2 仪器与设备

Shimadzu GCMS-QP2010 Plus 气质联用仪(日本岛津公司);ASE 300 加速溶剂萃取仪(美国戴安公司)。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件

色谱柱:DB-17MS 石英毛细柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm);升温程序:80 °C 保持 1 min,以 15 °C/min 升至 175 °C,保持 5.5 min,再以 30 °C/min 升至 250 °C,保持 5 min;载气(He)流速 1.0 mL/min,进样量 1 μL;不分流进样。

1.3.2 质谱条件

电子轰击(EI)离子源;电子能量 70 eV;传输线温度 250 °C;离子源温度 200 °C;选择离子监测(SIM)模式。

1.4 步骤

1.4.1 标准溶液配制

将 6 种 CPs 标准品用甲醇配制成 1 mg/mL 的单标准储备液,棕色容量瓶盛装,-20 °C 避光保存;使用前将上述单标准储备液用甲醇稀释配制成 10 μg/mL 的混合标准使用液。

1.4.2 标准工作溶液的乙酰化

取一定体积的 CPs 混合标准使用液(10 μg/mL)于 10 mL 具塞试管中,用氮气吹干溶剂,加入 4 mL 碳酸钠溶液(0.1 mol/L),混匀,加入 200 μL 醋酸酐,快速涡旋 1 min,移入 1 mL 正己烷,再快速涡旋 1 min,静置(或离心)分层后,取出正己烷提取液供 GC-MS 进样分析。

1.4.3 样品前处理

木材、软木塞样品粉碎,过 80 目筛网;纸、纸板样品用剪刀剪成 5 mm×5 mm 以下的碎片。用于实验条件优化和回收率试验的加标样品的制备方法为:空白样品用适当体积的标准贮备溶液浸泡 1 h,然后在室温下挥干溶剂。

1.0 g 样品与 3.0 g 硅藻土拌匀后,装入底部放有玻璃纤维素滤纸片的 34 mL 不锈钢萃取池中,进行加速溶剂萃取。萃取条件为:萃取溶剂为二氯甲烷;压力为 10 MPa;萃取温度为 150 ℃;静态萃取时间为 10 min;循环次数为 1 次;溶剂冲洗体积为 60%。萃取完成后,将萃取液转入 50 mL 鸡心瓶中,旋转蒸发(35 ℃)至干。残留物用 4 mL 碳酸钠溶液(0.1 mol/L)分 3 次转移入 10 mL 玻璃试管中,加入 2 mL 正己烷,快速振荡混匀 1 min,离心,弃去上层有机相,用氮气吹除残余正己烷,衍生化后,取正己烷提取液供 GC-MS 进样分析。

1.4.4 GC-MS 检测

按照上述的色谱、质谱条件对衍生化的标样和样品溶液进行 GC-MS 测定,采用保留时间以及定性、定量特征离子的丰度比定性,见表 1,采用定量离子的峰面积外标法定量。

表 1 6 种 CPs 的保留时间、定量离子、线性范围和相关系数

Tab.1 Retention time, quantitative ions, linear ranges and correlation coefficients of 6 CPs

CPs	保留时间 /min	定量离子 (<i>m/z</i>)	线性范围 /($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	相关系数 <i>R</i>
2,4,6-TCP	8.83	196	0.05~2.0	0.994 9
2,4,5-TCP	9.93	196	0.05~2.0	0.999 1
2,3,4,5-TeCP	11.97	232	0.05~2.0	0.997 9
2,3,4,6-TeCP	12.07	232	0.05~2.0	0.999 8
2,3,5,6-TeCP	13.73	232	0.05~2.0	0.998 2
PCP	14.83	266	0.05~2.0	0.999 5

2 结果与分析

2.1 ASE 条件的优化

为了达到最好的萃取效果,以加标木材样品为实验材料,对萃取溶剂、萃取温度、静态萃取时间、萃取循环次数、冲洗体积等参数进行了详细优化。由于使用的 ASE 仪压力固定为 10 MPa,因此未进行压力的优化。

2.1.1 萃取溶剂的选择

不同的溶剂对目标化合物和干扰测定的杂质的溶解能力不同,因而对萃取效果的影响很大。考察了甲醇、乙酸乙酯和二氯甲烷 3 种有机溶剂为提取剂的提取效率。固定温度为 120 ℃,静态时间为 5 min,循环 2 次,冲洗体积为 60%,考察 3 种溶剂对各种 CPs

的萃取率。结果表明,甲醇的萃取回收率最低,乙酸乙酯和二氯甲烷的萃取回收率相当,但乙酸乙酯萃取液颜色较深,供萃取的干扰杂质较多,因此,选择二氯甲烷为萃取溶剂。

2.1.2 萃取温度的优化

随着温度的升高,溶剂的渗透力和溶解力增加,因而萃取效率增加,但共萃取出来的干扰杂质也会增加,而且可能会导致某些不稳定组分的降解损失^[17-18]。为此,考察了不同温度的萃取效果。其它条件为:静态时间 10 min,循环次数为 2 次,冲洗体积为 60%,结果见图 1。结果表明,各组分萃取效率随

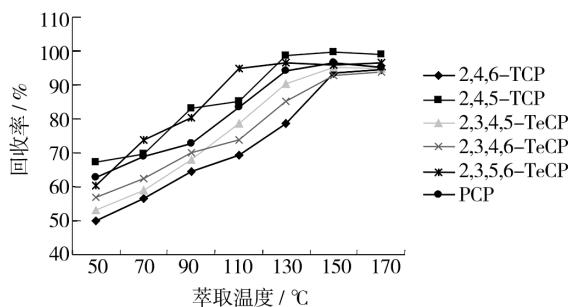


图 1 萃取温度对萃取效率的影响

Fig.1 Effect of extraction temperature on extraction efficiency

萃取温度升高而增加,当达到 150 ℃时,萃取效率达到最大值。继续升高温度时,回收率不再增加,而萃取液颜色更深,说明共萃取杂质增多,因此,选择 150 ℃作为萃取温度。

2.1.3 静态萃取时间的优化

考察了静态萃取时间(5,10,15,20 min)对萃取效率的影响。其它条件为:萃取温度为 150 ℃,循环次数为 2 次,冲洗体积为 60%,结果见图 2。从图 2 可以看出,静态萃取时间从 10 min 延长到 20 min 对萃取效率基本无影响,因此,将静态萃取时间定为 10 min,以节约样品处理时间。

2.1.4 冲洗体积的优化

实验发现冲洗体积(40%,60%,80%,100%)对萃取效率没有明显影响,因此,将冲洗体积定为仪器的默认参数,即 60%。

2.1.5 萃取循环次数的优化

将同一添加样品连续萃取 3 次,分别收集每次的萃取液,并分析其中的 CPs 含量。结果发现,各 CPs 在第 2 次萃取液中的含量相对于第 1 次萃取液中的

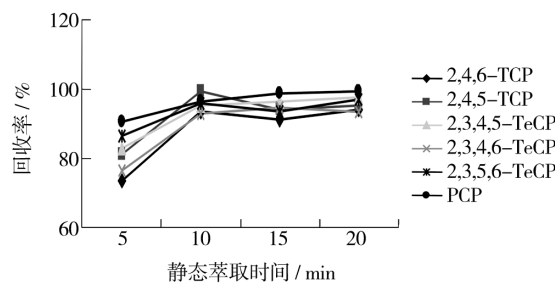
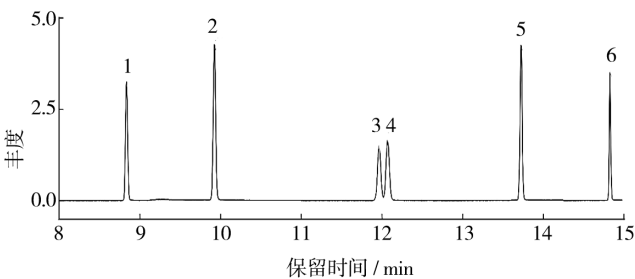


图 2 静态萃取时间对萃取效率的影响
Fig. 2 Effect of static extraction time on extraction efficiency

含量均低于 2%，而第 3 次萃取液中的含量均低于检测限。选择萃取循环次数为 1 次，以节省溶剂用量和样品处理时间。

2.2 方法的线性范围与检测限

分别取 CPs 混合标准使用液(10 μg/mL)5, 10, 20, 50, 100, 200 μL 于 6 支 10 mL 具塞试管中，用氮气吹干溶剂，衍生、提取后，进行 GC-MS 分析，根据标样浓度与峰面积绘制标准曲线。线性范围及线性相关系数见表 1。标准溶液的 GC-MS 色谱图见图 3。以 3 倍信噪比计算，方法对 6 种 CPs 的检测限均线为 0.01 mg/kg。



1—2,4,6-TCP；2—2,4,5-TCP；3—2,3,4,5-TeCP；4—2,3,4,6-TeCP；5—2,3,5,6-TeCP；6—PCP

图 3 标准溶液的 GC-MS 色谱

Fig. 3 GC-MS chromatography of reference solution

2.3 回收率和精密度

应用优化的方法对木材、软木塞、纸和纸板等 4 种不同类型的食品接触材料的加标样品进行检测，加标量为 0.1 mg/kg。根据测定值(减去样品背景值)与添加值的比值计算回收率，结果见表 2。结果表明，4 种样品中 CPs 的平均回收率($n=6$)为 86.8%~108.8%；相对标准偏差(RSD)为 1.8%~14.2%。

表 2 加标样品中 6 种 CPs 的回收率

Tab. 2 Recovery of 6 CPs from fortified samples

CPs	回收率±SD($n=6$)/%			
	纸	纸板	木材	软木塞
2,4,6-TCP	96.9±4.6	91.3±6.6	93.6±13.7	87.9±5.4
2,4,5-TCP	105.4±5.8	96.5±8.1	99.5±5.9	93.1±8.6
2,3,4,5-TeCP	94.8±3.9	88.0±9.5	95.2±6.7	90.9±11.3
2,3,4,6-TeCP	90.2±6.1	86.8±7.9	92.8±12.6	94.5±14.2
2,3,5,6-TeCP	102.5±1.8	91.7±10.8	95.7±10.4	97.2±6.9
PCP	98.3±2.7	95.9±9.2	96.4±8.7	108.8±7.4

2.4 实际样品的检测

应用本方法对水果储运箱木板、葡萄酒瓶软木塞、面包包装纸袋和牛奶纸盒等 4 个样品进行检测。结果：木板和牛奶纸盒中均未检出 6 种 CPs；软木塞中检出含有 2,4,6-TCP，含量为 0.031 mg/kg；面包包装纸袋中检出含有 PCP，含量为 0.025 mg/kg。

3 结论

以 ASE 技术作为样品前处理手段，成功地建立了 GC-MS 方法用于食品接触材料——纸、纸板、木材和木制品中 6 种 CPs 残留的检测。为了提高 ASE 萃取效率，实验优化了萃取溶剂、萃取温度、静态萃取时间、冲洗体积和萃取循环次数等主要实验参数。优化的 ASE 条件为：以二氯甲烷为萃取溶剂，萃取温度为 150 ℃，静态萃取时间为 10 min，冲洗体积为 60%，萃取循环次数为 1 次。方法具有简便快捷、准确、灵敏度高、消耗溶剂少等优点，可用于实际样品中 CPs 的检测。

参考文献：

[1] PUMA G, YUE P. Photocatalytic Oxidation of Chlorophenols in Single-component and Multicomponent Systems[J]. Ind Eng Chem Res, 1999, 38(9): 3238—3245.

[2] US Environmental Protection Agency[EPA], Ground Water and Drinking Water: List of Drinking Water Contaminants and MCLs[EB/OL]. <http://www.epa.gov/safe-water/mcl.html>.

[3] The List of Priority Substances in the Field of Water Policy and Amending Directive, Council Directive 2455/2001/ECC [J]. Official Journal L331, 2001(20): 1—5.

[4] 李梦耀, 杨婧晖, 钱会. 五氯苯酚测定方法研究进展[J].

- 分析测试技术与仪器, 2007, 13(4): 285—290.
- [5] 黄崇杏, 王志伟, 王双飞. 纸质食品包装材料中的残留污染物[J]. 包装工程, 2007, 28(7): 12—15.
- [6] 曾利, 范友华, 吴永辉, 等. 木材中五氯苯酚的定量测定[J]. 中南林业科技大学学报, 2010, 30(5): 157—159.
- [7] DOMENO C, MUNIZZA G, NERIN C, et al. Development of a Solid-phase Microextraction Method for Direct Determination of Pentachlorophenol in Paper and Board Samples: Comparison with Conventional Extraction Method[J]. J Chromatogr A, 2005, 1095(1—2): 8—15.
- [8] 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, 34(3): 29—32.
- [9] PINO V, AYALA J H, GONZALEZ V, et al. Focused Microwave-assisted Micellar Extraction Combined with Solid-phase Microextraction-gas Chromatography/mass Spectrometry to Determine Chlorophenols in Wood Samples[J]. Anal Chim Acta, 2007, 582(1): 10—18.
- [10] KOVACS A, KENDE A, MORTL M, et al. Determination of Phenols and Chlorophenols as Trimethylsilyl Derivatives Using Gas Chromatography-mass Spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2008, 1194(1): 139—142.
- [11] 牟峻, 陈明岩, 邹明强. 纺织品、皮革及其制品中五氯苯酚残留量的气相色谱-质谱法测定[J]. 色谱, 1999, 17(4): 386—388.
- [12] WENNRICH L, POPP P, MOLDER M. Determination of Chlorophenols in Soils Using Accelerated Solvent Extraction Combined with Solid-phase Microextraction[J]. Anal Chem, 2000, 72(3): 546—551.
- [13] 孙磊, 蒋新, 周健民, 等. 环境样品中五氯苯酚分析方法的研究进展[J]. 分析科学学报, 2004, 20(6): 642—646.
- [14] 葛修丽, 褚庆华, 施雁林. 乙酰化气相色谱法快速测定皮革及皮革制品中的五氯苯酚残留量[J]. 分析化学, 1994, 22(1): 81—83.
- [15] 胡志国. 气相色谱法测定皮革与纺织品中五氯苯酚[J]. 理化检验——化学分册, 2005, 41(3): 203—205.
- [16] INSA S, SALVADO V, ANTICO E. Development of Solid-phase Extraction and Solid-phase Microextraction Methods for the Determination of Chlorophenols in Cork Macerate and Wine Samples[J]. J Chromatogr A, 2004, 1047: 15—20.
- [17] CHEN Jun-hui, LI Wen-long, YANG Bai-juan, et al. Determination of Four Major Saponins in the Seeds of *Aesculus Chinensis* Bunge Using Accelerated Solvent Extraction Followed by High-performance Liquid Chromatography and Electrospray-time of Flight Mass Spectrometry[J]. Anal Chim Acta, 2007, 596(2): 273—280.
- [18] TAO Yan-fei, CHEN Dong-mei, CHAO Xiao-qin, et al. Simultaneous Determination of Malachite Green, Gentian Violet and Their Leuco-metabolites in Shrimp and Salmon by Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry with Accelerated Solvent Extraction and Auto Solid-phase Clean-up[J]. Food Control, 2011, 22(8): 1246—1252.

(上接第 8 页)

参考文献:

- [1] 王芳, 张兰威. 乳清蛋白可食用膜的研究进展[J]. 乳业科学与技术, 2007(3): 109—112.
- [2] 田丰伟, 任举, 卢蓉蓉, 等. 乳清浓缩蛋白可食用膜的应用研究[J]. 乳品科学与技术, 2009(3): 106—109.
- [3] 王洪江, 孙诚, 黄利强. 乳清蛋白添加量对交联羧甲基玉米淀粉可食膜阻隔性能的影响[J]. 包装工程, 2011, 32(1): 46—49.
- [4] 张蕾, 潘丽, 王静. 相对湿度对去皮椒盐油炸花生氧化酸败的影响[J]. 包装工程, 1999, 20(1): 21—23.
- [5] 任举, 王新保, 卢蓉蓉, 等. 乳清浓缩蛋白可食用膜成膜工艺的研究[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(1): 55—59.
- [6] 雷俊. 可食性膜的成膜性能及其应用研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2008.
- [7] QB/T 1733. 6—93, 烤花生仁[S].
- [8] KRISTO E, BILIADERIS C G, ZAMPRAKA A. Water Vapor Barrier and Tensile Properties of Composite Caseinate-pullulan Films: Biopolymer Composition Effects and Impact of Beeswax Lamination[J]. Food Chem, 2006, 20(7): 753—764.
- [9] RODRIGUEZ M, OSÉS J, ZIANI K, et al. Combined Effect of Plasticizers and Surfactants on the Physical Properties of Starch Based Edible Films[J]. Food Res Int, 2006, 39: 840—846.