第 29卷 第 9期
2010年 9月

分析测试学报
FENXI CESHI XUEBAO (Journal of Instrumental Analysis)

Vol. 29 No. 9
953~ 957

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

张 盼[1,2], 苏福海[1], 戴新华[1], 杨 晶[2]

(1. 中国计量科学研究院 化学计量与分析科学研究所, 北京 100013;
2. 北京化工大学 生命科学与技术学院, 北京 100029)

摘 要: 应用液相色谱 –同位素稀释质谱联用法(LC– IDMS)对棉类纺织品中的痕量五氯酚(PCP)残留进行测定。采用稀硫酸酸化的正己烷提取棉类纺织品样品中的残留五氯酚, 以 5 mmol/L醋酸铵 – 甲醇(体积比 20∶ 80)为流动相、在 C_{18}色谱柱上进行分离, 结合电喷雾电离离子化技术, 在负离子模式下进行质谱定量分析, 以 PCP– $^{13}C_6$同位素标记物作内标, 以 *m/z* 264.8和 270.9为定量离子对。方法的定量下限为 0.005 μg/g 在 0.099、0.244、0.494 μg/g 3个添加水平的平均回收率为 96%~ 104%, 相对标准偏差为 0.81%~ 1.4%, 并对该方法的不确定度来源进行了评定。方法准确、可靠, 适用于纺织品中痕量五氯酚残留的测定及方法验证。同时可以作为对该类国家标准物质的定值手段, 用于标准物质的定值。

关键词: 五氯酚; 液相色谱; 同位素稀释质谱法; 纺织品; 不确定度
中图分类号: O657.63; TQ414 文献标识码: A 文章编号: 1004– 4957(2010)09– 0953– 05
doi: 10.3969/j.issn.1004– 4957.2010.09.016

Analysis of Trace Pentachlorophenol in Cotton Textiles by Liquid Chromatography – Isotope Dilution Mass Spectrometry and Its Uncertainty Evaluation

ZHANG Pan[1,2], SU Fu-hai[1], DAI Xin-hua[1], YANG Jing[2]

(1. Division of Chemical Metrology and Analytical Science, National Institute of Metrology of China, Beijing 100013, China;
2. College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract An accurate method of liquid chromatography– isotope dilution mass spectrometry (LC– IDMS) was developed for determination of trace pentachlorophenol (PCP) residue in cotton textile sample. The sample was extracted by acidified *n*-hexane and separated on C_{18} column with mobile phase of ammonium acetate and methanol. PCP– $^{13}C_6$ was used as internal standard, and the ion pair *m/z* 264.8/270.9 was used for the quantification analysis of PCP in textile sample by MS. The limit of quantitation was 0.005 μg/g. Spiked recoveries for all analytes at three spiked concentration levels of 0.099, 0.244, 0.494 μg/g were in the range of 96% – 104% with relative standard deviations of 0.81% – 1.4%. The uncertainty evaluation for this method was carried out. The results indicated that the method was sensitive, fast and accurate, and could be used for the determination of PCP in textile CRMs and the method validation of field laboratory.

Key words pentachlorophenol; liquid chromatography; isotope dilution mass spectrometry (IDMS); textile; uncertainty

五氯酚属高毒杀菌剂, 也是一种重要的防腐剂, 常用于纺织品的防腐、防霉。由于其化学性质稳定、残留期长, 会在生物体内蓄积, 且具有致畸、致癌、致突变等毒副作用。因此, 世界各发达国家均将其列为对环境不利的化学品, 并严格限制其使用。欧盟立法限制五氯苯酚、五氯苯酚盐及五氯苯酚的其他化合物的使用。1999/51/EC以及 REACH 危险物质列表规定[1], 产品中五氯苯酚的最大允许浓度为 1.0 mg/g。主要是限制在纺织品和皮革中的应用。挪威提出了消费品中有毒有害物质限量指令, 即 PoHS指令, 规定消费品中 18种有毒有害物质的限量要求, 其中五氯酚的限量为 0.1%[2]。

收稿日期: 2010– 06– 02; 修回日期: 2010– 06– 28
基金项目: 科技部创新方法工作资助项目(2008IM021800)
第一作者: 张 盼(1985–), 女, 河北石家庄人, 硕士
通讯作者: 苏福海, Tel: 010– 64271638, E-mail: sufh@nim.ac.cn

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

目前五氯酚的分析方法主要有气相色谱法[3]、气相色谱串联质谱法[4-6]、液相色谱法[7-8]以及液相色谱串联质谱法[9]等。近年来，液相色谱串联质谱作为一项新的分析技术广泛用于环境样品中五氯酚的检测[10-11]。由于实际样品基体的复杂性，方法检测的准确性是当前研究的一个重点。而用于现场检测验证的权威方法目前尚未见报道。液相色谱同位素稀释质谱法(LC-IDMS)利用内标物，克服了样品处理过程中待测物与内标物在回收率方面存在的差异问题，准确性高、重复性好，可实现复杂基体中微量组分的准确测定。本文在同位素稀释质谱法的基础上结合液相色谱发展了纺织品中痕量五氯酚的检测方法。方法准确、可靠，可用于实验室的方法验证。由于测量结果不可避免地具有不确定度[12]，为保证测量结果准确可靠，根据相关国际标准[13]对测量结果应给出不确定度的要求，本文对所建立方法的不确定度来源进行了评定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 6410高效液相色谱-四极杆串联质谱仪(安捷伦科技有限公司)，KL 512型氮吹仪(美国Organomation公司)，B8510E超声波清洗器(美国Branson公司)；五氯酚(PCP，纯度99.5%)、五氯酚同位素标记物(PCP-$^{13}C_6$，纯度96.5%)均购自Cambridge Isotope Laboratories公司，甲醇、正己烷(色谱级)购自Merck公司，浓硫酸(MOS级)，超纯水(Milli-Q纯水系统)。

纺织品试样为全棉布，实验前进行粉碎处理。

1.2 标准工作溶液的配制

用重量法制备5 μg/g的五氯酚甲醇标准储备液，于4 ℃下保存于棕色玻璃瓶中；以同样的方法制备25 μg/g的PCP-$^{13}C_6$同位素标记物标准储备液；分别取一定量的五氯酚及PCP-$^{13}C_6$储备液稀释至所需浓度，即得到五氯酚与PCP-$^{13}C_6$同位素标记物的标准工作溶液。

1.3 校准溶液的配制

精确移取五氯酚标准液和PCP-$^{13}C_6$同位素标记物标准溶液，以含量比为1∶1配制0.099、0.244、0.494 μg/g 3个含量的工作溶液。

1.4 样品制备

准确称取1.0 g样品，加入一定量的PCP-$^{13}C_6$同位素标记物标准溶液和五氯酚标准溶液，使标准溶液的五氯酚含量与PCP-$^{13}C_6$同位素标记物的含量比接近1∶1，混匀室内平衡2 h，加入20 mL 6.0 mol/L硫酸溶液，混匀2 min，加入20 mL正己烷，振摇3 min，超声提取5 min，以4 000 r/min离心2 min，再将正己烷层移入另一提取管中。在水相中加入10 mL正己烷，重复提取2次。合并正己烷层，缓慢加入10 mL浓硫酸，旋涡混匀5 min，以4 000 r/min离心2 min，弃去浓硫酸层；用50 mL 2%硫酸钠水溶液洗涤正己烷层2次，弃去水相，于室温下用氮气吹至近干，加入2 mL甲醇溶解，过0.22 μm滤膜后，待分析。

1.5 色谱-质谱条件

色谱柱：Eclipse Plus C_{18}柱(100 mm × 2.1 mm i.d.，3.5 μm)；流动相为5 mmol/L醋酸铵(pH 3.0)-甲醇(20∶80)，等度洗脱；流速0.2 mL/min；柱温40 ℃；进样量1 μL。

采用电喷雾离子源ESI，负离子选择性监测(SIM)模式；毛细管电压4 000 V；干燥温度350 ℃；干燥气流速为9.0 L/min；喷雾器压力0.28 MPa。

1.6 五氯酚浓度的计算公式

纺织品中五氯酚的含量由下式计算：$M = (A_1/A'_1)/(A_2/A'_2) \times (M'_1/M'_2) \times (M_2/M_S) \times P_S$ (1)

其中，M：纺织品样品中五氯酚的含量(μg·g^{-1})；A_1：纺织品样品中测得的五氯酚的峰面积；A'_1：纺织品样品中测得的PCP-$^{13}C_6$同位素标记物的峰面积；A_2：标准溶液中测得的五氯酚的峰面积；A'_2：标准溶液中测得的PCP-$^{13}C_6$同位素标记物的峰面积；M'_1：加入纺织品样品中的PCP-$^{13}C_6$同位素标记物的质量(g)；M'_2：加入标准溶液中的PCP-$^{13}C_6$同位素标记物的质量(g)；M_2：加入标准溶液中的五氯酚的质量(μg)；M_S：纺织品样品的质量(g)，P_S：五氯酚标准物质的纯度。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2　结果与讨论

2.1　同位素标记物的选择

由于 PCP–$^{13}C_6$同位素标记物与待测物具有非常相似的物理化学性质，在样品前处理或色谱响应上均表现出一致的特性，因此加入同位素作为内标能减少干扰，提高测量的准确性。为减少质谱峰的相互干扰，以标记物与待测物的相对分子质量相差 3个单位或以上为佳。

2.2　样品提取方法的优化

对于土壤或木材中的五氯酚，一般采用索氏提取法[14]、超声法[15]、微波萃取法[16]以及快速溶剂萃取法[17]。考虑到纺织品基体的复杂性，在样品的提取中添加一些助剂，如稀硫酸[3]、碳酸钙[18]等。用稀硫酸进行提取时，样品中含有的五氯酚盐能够在酸性条件下转化为五氯酚，提高了提取效率。本文以 6.0 mol/L稀硫酸和正己烷对样品中的五氯酚进行提取，提取液经浓硫酸净化后，可直接进行质谱分析。

2.3　色谱分离条件的优化

当流动相为甲醇 – 水(80∶ 20)时，五氯酚的保留时间为 1.3 min，但色谱峰的对称性较差。以 5 mmol/L的乙酸铵代替水，可以大大提高色谱峰的对称性。原因主要是由于甲醇 – 乙酸铵体系的酸性较强，在该体系中五氯酚容易离解形成负离子，大大增加了其在 ESI负离子模式下的灵敏度。为提高灵敏度，采用 SIM 模式检测。图 1为五氯酚及内标的总离子流图。

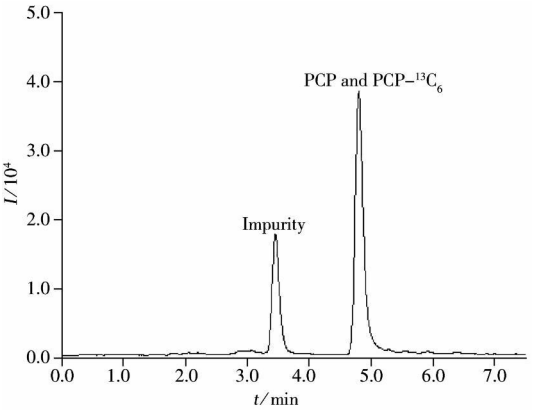

图 1　PCP及 PCP–$^{13}C_6$同位素内标的总离子流谱图

Fig. 1　TIC chromatogram of PCP and PCP–$^{13}C_6$ in textile sample

2.4　质谱条件的优化

将 0.5 μg/g的五氯酚标准溶液流动注射进质谱检测，优化质谱条件，以保证被测离子具有较好的灵敏度和稳定性。考察了不同毛细管电压、干燥温度、干燥气流速、锥孔电压和裂解能量对测定的影响。采用未标记五氯酚 m/z 264.8(M^-)和 PCP–$^{13}C_6$同位素标记物 m/z 270.9 (M^-) 在质谱上的峰面积比进行定量。定量离子对为 m/z 264.8和 270.9，在优化的实验条件下，其丰度大，检测干扰小。图 2为 PCP标准物质和 PCP–$^{13}C_6$同位素标记物的质谱图，A图为 PCP标准物质的分子离子峰，B图为同位素标记物的分子离子峰。由于^{35}Cl和^{37}Cl同位素的存在，因此质谱图有如图所示的多个离子峰存在。

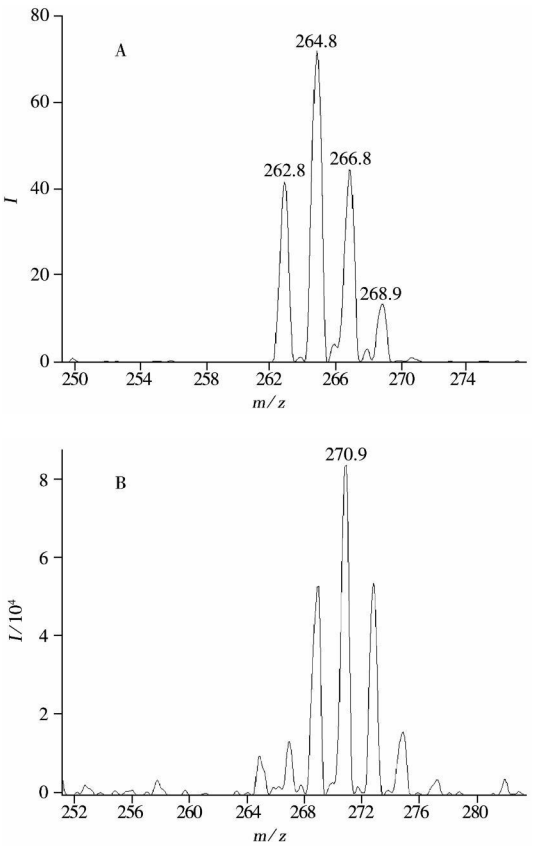

图 2　PCP标准物质(A)与 PCP–$^{13}C_6$同位素标记物(B)的质谱图

Fig. 2　Mass spectra of natural PCP(A) and PCP–$^{13}C_6$(B)

2.5　方法的线性范围与检出限

分别配制一系列标准工作溶液，在优化的实验条件下进行测定，结果表明，五氯酚的含量在 0.001~ 0.5 μg/g范围内，标准溶液与同位素溶液的浓度比与其峰面积比呈良好的线性关系，其线性方程为 $y = 16.05x + 0.034$，$r = 0.999$，y为标准物质五氯酚与同位素的峰面积之比，x为标准物质五氯酚与同位素浓度之比。以信噪比为 10计算得到五氯酚的定量下限(LOQ)为 0.005 μg/g。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2.6 五氯酚的回收率

取棉类纺织品作为实验样品，分别加入 0.099、0.244、0.494 μg/g 3个水平的标准溶液，进行加标回收实验，每个水平平行测定 6次。结果表明，方法的平均回收率为 96%～104%，相对标准偏差为 0.81%～1.4%。

2.7 测量不确定度的评定

影响纺织品中五氯酚测量结果的因素，除了各种随机因素外，系统因素主要有仪器测量的重复性、天平称量的系统因素、标准物质及标准溶液的不确定度等。从纺织品中五氯酚的含量计算公式 (1) 可见，测量的不确定度由测量的重复性、称量的不确定度、标准物质纯度的不确定度等构成。

五氯酚标准物质的称量采用分度值为 0.01 mg的天平，根据检定证书，该天平全量程法定允差为 ±0.01 mg 假定均匀分布，计算不确定度：$\mu_m = 0.01\ mg/\sqrt{3} = 0.005\ 7\ mg$。分度值为 0.001 g的天平，根据检定证书，该天平全量程法定允差为 ±0.001 g 不确定度为 0.000 57 g。

从不确定度来源的分析来看 (见表 1)，对合成相对不确定度贡献最大的分量主要为样品测量的重复性和标准物质纯度的不确定度分量，而本文采用重量法配制标准贮备液和标准工作溶液，经计算，由称量引起的不确定度分量可以忽略。

表 1 不确定度来源及数据分析表

Table 1 Expanded uncertainty for PCP in textile sample by LC-MS measurements

Item	Value	Standard uncertainty	Relative standard uncertainty
Weight of PCP CRM (五氯酚标准物质的称量) *m* /mg	87.03	0.005 7	0.000 07
Weight of methanol(甲醇的称量) *m* /g	86.595	0.000 57	0.000 007
Purity of PCP CRM (五氯酚标准物质的纯度)	99.5	0.5%	0.503
Weight of textile sample(纺织品的称量) *m* /g	1.003	0.000 57	0.000 5
Weight of IS(内标的称量) *m* /mg	1.086	0.000 57	0.000 5
Repeatable of measurement(样品测量的重复性)	0.25 μg/g		1.264

* the table was calculated based on 0.25 μg/g PCP, combined uncertainty was 1.36%, relative standard uncertainty was 2.7% (*k*= 2, 95% of confidence)

3 结 论

液相色谱同位素稀释质谱法作为一个基准方法，应用于纺织品中痕量五氯酚的检测，提高了复杂样品中痕量组分检测的灵敏度，并减少了样品的净化程序，简化了分析过程，从而提高了分析效率。本文以 PCP-$^{13}C_6$同位素标记物为内标，在优化色谱质谱条件的基础上，建立了纺织品样品中五氯酚残留的液相色谱同位素稀释质谱的分析方法。该方法快速、准确，不仅适用于高准确度检测纺织品样品中的痕量五氯酚残留，更为现场检测提供了方法验证。

参考文献:

[1] 陈荣圻. REACH法规与印染助剂中的高度关注物质(五) [J]. 印染, 2009, 35(9): 38-43.

[2] 梁元媛. 解读挪威 PoHS禁令[J]. 电子质量, 2008, (4): 78-81.

[3] 孙磊, 蒋新, 周健民, 王代长, 孔德洋, 陶润先. 红壤中痕量五氯酚的气相色谱法测定[J]. 分析化学, 2003, 31(6): 716-719.

[4] KONTSAS H, ROSENBERG C, PFAFFLI P, PAAVO J. Gas chromatographic mass spectrometric determination of chlorophenols in the urine of sawmill workers with past use of chlorophenol containing anti-stain agents[J]. Analyst, 1995, 120(6): 1745-1749.

[5] LEE M R, YEH Y C, HSIANG W S, HWANG B H. Solid-phase microextraction and GC-MS for determining chlorophenols from landfill leaches and soil[J]. J Chromatogr A, 1998, 806(2): 317-324.

[6] CRESPIN M A, CARDENSAS S, GALLEGO M, VALCARCEL M. Discrimination of structural isomers of chlorinated phenols in waters using gas chromatography-mass spectrometry in the negative chemical ionization mode[J]. J Chromatogr A, 1999, 830(1): 165-174.

[7] PUIG D, BARCELO D. Comparative study of on-line solid phase extraction followed by UV and electrochemical detection in liquid chromatography for the determination of priority phenol in river water samples[J]. Anal Chim Acta, 1995, 311(1): 63-69.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[8] MARCE R M, PROSEN H, CRESPO C, CALUILL M, BORRULL F, BRINKMAN U A T. On-line trace enrichment of polar pesticides in environmental waters by reversed-phase liquid chromatography－diode array detection-particle beam mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 1995, 696(1): 63－74.

[9] JIN M C, ZHU Y. Ion chromatography－atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for the determination of trace chlorophenols in clam tissues[J]. J Chromatogr A, 2006, 1118(1): 111－117.

[10] MARCHESE S, GENTILIA, PPRRET D, SERGI M, NOTARI S. Hybrid quadrupole time-of-flight for the determination of chlorophenols in surface water by liquid chromatography－tandem mass spectrometry[J]. Chromatographia, 2004, 59(7/8): 411－417.

[11] SARRION M N, SANTOS F J, MOYANO E, GALCERAN M T. Solid-phase microextraction liquid chromatography/tandem mass spectrometry for the analysis of chlorophenols in environmental samples[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2003, 17(1): 39－48.

[12] JJF 1059－1999. 测量不确定度评定与表示[S].

[13] ISO/IEC 17025: 2005－5－15. General Requirement for the Competence of Test and Calibration Lab[S].

[14] JAUREGUI O, MOYANO E, GALCERAN M T. Liquid chromatography－atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for chlorinated phenolic compounds: application to the analysis of polluted soils[J]. J Chromatogr A, 1998, 823(1/2): 241－248.

[15] BUHR A, GENNING C, SALTHAMMER T. Automated in situ trace element analysis of silicate materials by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. Fresenius' J Anal Chem, 2000, 367(1): 73－78.

[16] CRESPÍN M A, GALLEGO M, VALCÁRCEL M. Continuous microwave-assisted extraction, solvent changeover and preconcentration of monophenols in agricultural soils[J]. J Chromatogr A, 2000, 897(1/2): 279－293.

[17] PORSCHMANN J, PLUGGE J, TOTH R. In situ derivatisation using pressurized liquid extraction to determine phenols, sterols and carboxylic acids in environmental samples and microbial biomasses[J]. J Chromatogr A, 2001, 909(1): 95－109.

[18] 王明泰，牟峻，靳颖，吴剑，李爱军，韩大川. GC－MSD法测定纺织品中含氯苯酚残留量[J]. 印染，2007, 33(5): 31－34.

仪器信息网 “耗材”和 “配件”栏目全新上线

仪器信息网的 “耗材”和 “配件”栏目在紧锣密鼓的筹备工作之后，终于全新上线！这两个栏目汇聚了国内外近 600家仪器常用配件耗材生产商和供应商信息以及 50万条产品信息。如实验过程中常用的色谱柱、氘灯、传感器等仪器零配件；玻璃器皿、化学试剂和标准物品等实验耗材，均可在这两个栏目中找到并询价。

同时，通过本次改版，我们优化了网站搜索功能，用户可通过输入产品名称、厂家名称、型号或者 CAS号找到所需产品；还可以在产品之间横向对比，查看不同产品的性能和信息。其次，用户可以对感兴趣的产品留言，产品供应商将在第一时间反馈和答复，用户选购产品将非常便捷。

此外，为了让广大用户能够以最优惠的价格买到所需的实验耗材和仪器配件，我们还专门开辟了 “促销产品”栏目，让用户第一时间了解厂家的相关促销信息。

仪器信息网最新版块 “耗材”和 “配件”的更多详情，敬请访问 http://www.instrument.com.cn/Consumables/和 http://www.instrument.com.cn/parts/。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net