

QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定 水果中高氯酸盐

张小刚*, 徐志华, 孙洪峰

(康师傅控股有限公司食安研管中心, 上海方便食品工程技术研究中心, 上海 201101)

摘要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法测定水果中高氯酸盐的分析方法。**方法** 水果样品经乙腈-水(1:1, V:V)提取, C₁₈ 和石墨化炭黑(graphitized carbon black, GCB)净化后, Waters Torus DEA 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)分离, 用 0.9%(V:V)甲酸乙腈-50 mmol/L 甲酸铵(pH=2.9)溶液进行梯度洗脱, 电喷雾负离子模式下, 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式进行测定, 内标法定量。**结果** 高氯酸盐在 0.5~20 μg/L 浓度范围内呈良好的线性关系, 相关系数 $r=0.9987$, 方法检出限为 0.8 μg/kg, 定量限为 2.5 μg/kg。在浓度分别为 10、20、100 μg/kg 加标水平下, 高氯酸盐的回收率为 87.7%~102%, 相对标准偏差小于 6.1%。**结论** 该方法简单快捷、准确可靠, 适用于水果中高氯酸盐的测定。

关键词: 高氯酸盐; 超高效液相色谱-串联质谱; 水果; QuEChERS

Determination of perchlorate in fruit by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHANG Xiao-Gang*, XU Zhi-Hua, SUN Hong-Feng

(Food Safety Research & Management Center of Masterkong, Shanghai Engineering Research Center for Convenience Food, Shanghai 201103, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of perchlorate in fruit by QuEChERS- ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The samples were extracted with acetonitrile-water(1:1, V:V), cleaned up with C₁₈ powder and graphitized carbon black powder, separated on a Waters Torus DEA column (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)with gradient elution using acetonitrile containing 0.9% formic acid and 50 mmol/L ammonium acetate(pH=2.9), and detected by negative ion electrospray ionization mass spectrometry under multiple reaction monitoring(MRM) mode, and then quantitatively detected with internal standard method. **Results** The calibration curve showed a good linear in the range of 0.5–20 μg/L, and the correlation coefficient was 0.9987. The limit of detection was 0.8 μg/kg and the limit of quantification was 2.5 μg/kg. At spiked levels of 10, 20, 100 μg/kg ($n=6$), the recoveries of perchlorate were 87.7%–102%. The relative standard deviations were less than 6.1%. **Conclusion** This method is simple and sensitive, which can be used for the analysis of perchlorate in fruit.

KEY WORDS: perchlorate; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; fruit; QuEChERS

*通信作者: 张小刚, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: zxcg6963470@126.com

*Corresponding author: ZHANG Xiao-Gang, Master, Engineer, Food Safety Research & Management Center of Masterkong, Shanghai Engineering Research Center for Convenience Food, No 1688, Wuzhong Road, Minhang District, Shanghai 201103, China. E-mail: zxcg6963470@126.com

0 引 言

高氯酸盐指含有高氯酸根(ClO_4^-)的盐类, 其物理化学性质稳定, 具有扩散速度快、难降解等特性。高氯酸盐在工业生产中具有广泛的应用, 其通过人类活动进入生态系统中造成环境污染^[1], 动植物吸收富集后经食物链进入人体, 造成新陈代谢紊乱、发育迟缓、注意力分散等危害^[2-3]。美国环境保护署规定高氯酸盐的每日可耐受摄入量为 $0.7\text{ }\mu\text{g/kg}\cdot\text{bw}$, 饮用水安全阈值为 $24.5\text{ }\mu\text{g/L}$, 该值于 2009 年调整为 $15\text{ }\mu\text{g/L}$ ^[4]; 欧盟食品安全局于 2014 年规定高氯酸盐的每日耐受摄入量为 $0.3\text{ }\mu\text{g/kg}$ ^[5]。

目前, 国内外已大量报道在饮用水^[6-7]、土壤^[8]、茶叶^[9-10]、果蔬^[11-12]等物质中检出高氯酸盐, 检测方法主要有离子色谱法^[13-14]、离子色谱-质谱法^[15-17]和高效液相色谱-串联质谱法^[18-20]等。离子色谱法适宜基质较为简单的样品, 基质复杂时易受其他共存离子的干扰, 影响目标化合物的准确定量; 离子色谱-质谱法虽然灵敏度高、抗干扰能力强, 但目前该设备普及率并不高, 不利于检测方法的推广; 高效液相色谱-串联质谱法灵敏度高、分析速度快、抗干扰能力强, 且设备普及率较高, 已在高氯酸盐的检测中得到了大量的应用。但水果中高氯酸盐的测定采用快速简便的 QuEChERS 法较少, 本研究结合 QuEChERS 前处理技术, 采用超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)定性定量分析, 以期建立一种处理速度快、简便易行、准确度高、可批量检测水果中高氯酸盐的分析方法, 以期为食品监管和执法提供技术支撑和方法储备, 保障消费者健康权益。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Triple QuadTM5500 超高效液相色谱-串联质谱仪(美国 SCIEX 公司); 冷冻离心机(Centrifuge 5810R 德国 Eppendorf 公司); Milli-Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司)。

乙腈、甲酸铵(色谱纯, 德国 CNW 公司); C_{18} 、石墨化碳黑(graphitized carbon black, GCB)吸附剂(上海安谱实验科技股份有限公司); 高氯酸盐(纯度 $\geq 99.5\%$, 美国 o2si 公司); 高氯酸盐内标(纯度 $\geq 98.0\%$, 美国 CIL 公司); 水为超纯水。

水果样品: 草莓、苹果、梨、香蕉、橘子、橙子(市售)。

1.2 实验方法

1.2.1 前处理方法

准确称取 1 g (精确至 0.001 g)样品于 10 mL 离心管中, 加入一定量的内标, 再加入 5 mL 乙腈-水(1:1, V:V), 混匀, 超声提取 30 min , 将提取液转移至 10 mL 容量瓶中, 用乙腈-水(1:1, V:V)润洗离心管, 合并提取液并定容至刻度; 提

取液转移至 50 mL 离心管中, 8000 r/min 离心 5 min , 上清液备用。取 1 mL 上清液于装有 100 mg C_{18} 和 100 mg GCB 的离心管中, 涡旋混匀 1 min , 10000 r/min 离心 2 min , 上清液经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤, 供 UPLC-MS/MS 分析。

1.2.2 色谱条件

色谱柱: Waters Torus DEA 柱($100\text{ mm}\times 2.1\text{ mm}$, $1.7\text{ }\mu\text{m}$); 进样体积: $10\text{ }\mu\text{L}$; 柱温: $30\text{ }^\circ\text{C}$; 流动相 A 为 50 mmol/L 甲酸铵溶液($\text{pH}=2.9$), B 为 0.9% (V:V)甲酸乙腈; 流速: 0.4 mL/min ; 梯度洗脱程序: $0\sim 0.2\text{ min}$, $90\%\text{ B}$; $0.2\sim 2.5\text{ min}$, $90\%\sim 40\%\text{ B}$; $2.5\sim 3.0\text{ min}$, $40\%\text{ B}$; $3.0\sim 3.1\text{ min}$, $40\%\sim 90\%\text{ B}$; $3.1\sim 5.0\text{ min}$, $90\%\text{ B}$ 。

1.2.3 质谱条件

电喷雾离子(electrospray ionization, ESI)源; 负离子扫描; 多反应监测(multiple reactions monitoring, MRM); 离子源温度: $450\text{ }^\circ\text{C}$; 喷雾电压: 4500 V ; 气帘气压力: 276 kPa ; 雾化气压力: 138 kPa ; 辅助加热气压力: 138 kPa ; 碰撞室进口电压: 10 V ; 碰撞室出口电压: 6 V ; 优化后的质谱参数见表 1。

表 1 高氯酸盐的质谱参数
Table 1 Parameters for mass spectrometric analysis of perchlorate

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压 /V	碰撞能 /eV
高氯酸盐	98.9	82.9*	70	34
	100.9	84.8	70	32
高氯酸盐内标	106.9	88.9	70	37

注: *为定量离子。

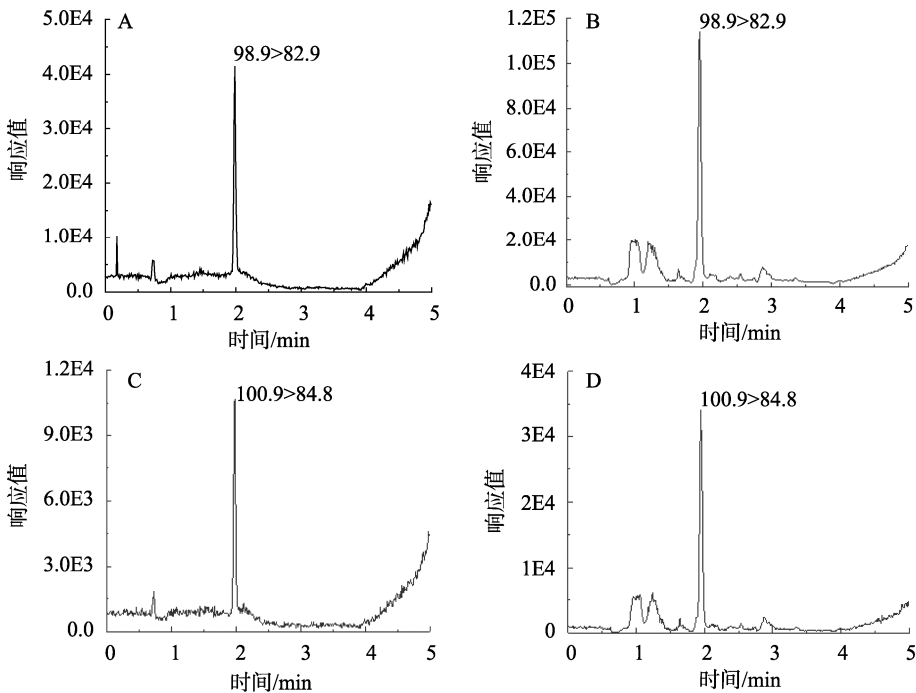
2 结果与分析

2.1 色谱柱的选择

高氯酸盐具有较强的极性, 使用常规的 C_{18} 柱难以保留, 不适合样品中高氯酸盐的分析。Waters Torus DEA 原为 UPC^2 色谱柱, 使用适当的流动相将其转换成 HILIC 模式后可用于极性化合物的分析, 本研究选择其作为色谱柱进行测定。在 1.2.2 的色谱条件下高氯酸盐具有较好的保留, 分离效果较好, 峰型尖锐, 适于水果中高氯酸盐的分析。高氯酸盐 d 的色谱图见图 1。

2.2 提取试剂的优化

本研究以梨为基质进行研究, 根据高氯酸盐强极性的性质, 选用水和乙腈作为提取溶剂, 并比较不同比例的乙腈和水溶液对水果中高氯酸的提取效率。实验结果显示, 5 种提取溶液提取时的总体回收率在 $85.2\%\sim 99.5\%$ 间, 如图 2 所示。当乙腈和水比例为 1:1 时, 提取率达到了 99.5% , 具有较好的提取效率, 故本研究选择乙腈-水(1:1, V:V)为提取溶剂。



注: A: 高氯酸盐标准品色谱图, 浓度为 1 µg/L; B: 样品中高氯酸盐色谱图, 浓度为 10 µg/L。上下图分别表示不同母离子。
图 1 高氯酸盐色谱图

Fig.1 Chromatograms of perchlorates

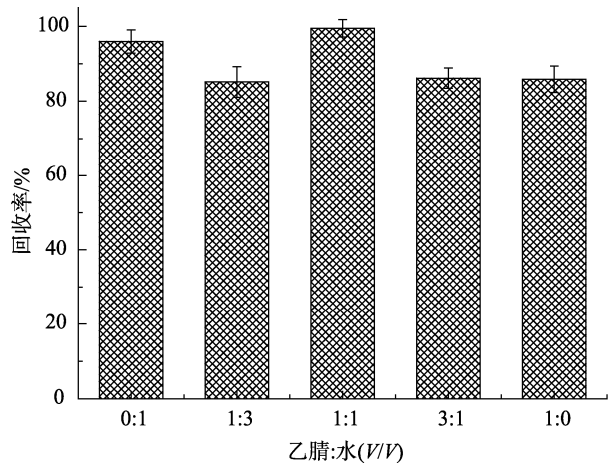


图 2 提取试剂中乙腈与水的比例对高氯酸盐回收率的影响(n=3)
Fig.2 Effects of the ratio of acetonitrile and water on the recovery of perchlorate(n=3)

2.3 净化条件的优化

水果中含有大量的有机酸、糖和色素等物质, 基质较为复杂。本研究采用 QuEChERS 对水果样品进行净化, 降低基质效应。根据高氯酸盐的极性性质, 选用可吸附非极性物质的 C₁₈ 和 GCB 对提取液进行净化。在高氯酸盐浓度较低的梨样品中添加高氯酸盐 10 µg/kg, 按照实验方法 1.2.1 中的方法进行前处理, 考察 C₁₈ 和 GCB 对高氯酸盐检测结果的影响。结果显示经 C₁₈ 和 GCB 净化后, 高氯酸盐

的回收率在 92.6%~106%间, 具有较高的回收率, 结果见图 3。综合实验数据, 选取 100 mg C₁₈ 和 100 mg GCB 作为本研究净化材料。

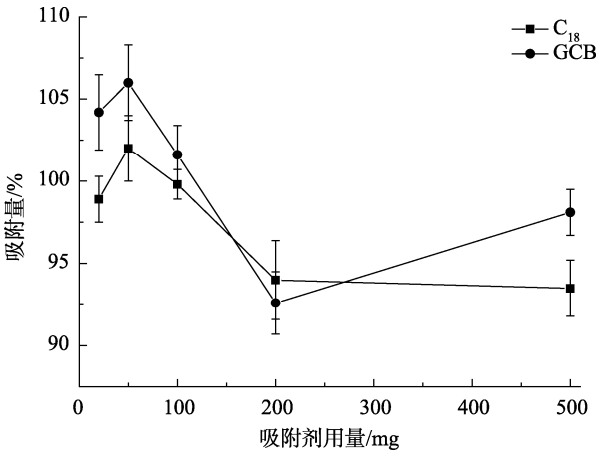


图 3 吸附剂用量对高氯酸盐回收率的影响(n=3)
Fig.3 Effects of the amount of adsorbent on the recovery of perchlorate (n=3)

2.4 线性关系、检出限与定量限

配制质量浓度为 0.5、1、2、5、20 µg/L 的高氯酸盐标准溶液, 以高氯酸盐与内标的质量浓度(X)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线, 得到目标化合物的线性回归方程和相关系数(r)。结果表明, 在 0.5~20 µg/L 浓度范围内

呈良好的线性关系, 线性方程为 $Y=1.32182X+0.02927$, 相关系数 r 为 0.9987。以 3 倍和 10 倍信噪比(S/N)确定各化合物的检出限(limit of detection, LOD)和定量限(limit of quantitation, LOQ), 分别为 0.8 $\mu\text{g/kg}$ 和 2.5 $\mu\text{g/kg}$ 。

2.5 方法回收率和精确度

在水果样品中分别添加 3 个浓度水平的高氯酸盐, 每个浓度水平测定 6 次, 考察方法的回收率和精密度, 结果见表 2。结果显示高氯酸盐在水果中的平均回收率为 87.7%~102%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 2.2%~6.1%, 该方法的准确度和重复性均能满足水果中高氯酸盐的测定。

表 2 水果中高氯酸盐的平均回收率和相对标准偏差($n=6$)
Table 2 Average recoveries and the relative standard deviations of perchlorate in fruits($n=6$)

样品	加标量/ $(\mu\text{g/kg})$	回收率/%	相对标准偏差/%
草莓	10	99.3	3.7
	20	102	5.6
	100	99.9	6.1
苹果	10	87.7	3.8
	20	96.4	4.3
	100	102	2.2
梨	10	101	5.4
	20	93.9	6.1
	100	99.1	3.5

2.6 实际样品的测定

采用本研究建立的方法对市售草莓、苹果、梨、香蕉、橘子、橙子等常见水果进行测定, 除苹果外的其他样品中均检出高氯酸盐, 含量在 2.7~10.8 $\mu\text{g/kg}$ 之间。

3 结 论

本研究基于 QuEChERS 样品前处理技术, 建立了一种超高效液相色谱-串联质谱法测定水果中高氯酸盐的分析方法。该方法前处理操作简单、灵敏度高、准确可靠, 可为测定水果中高氯酸盐提供技术支持。

参考文献

[1] 高宝玉, 宋雯, 姚广平, 等. 环境中高氯酸盐的来源、水污染现状与处理工艺研究进展[J]. 山东大学学报(工学版), 2020, 50(5): 107-117.
GAO BY, SONG W, YAO GP, *et al.* Research advance in the source, water pollution status and treatment processes of perchlorate [J]. J Shandong Univ (Eng Sci), 2020, 50(5): 107-117.
[2] 吴春筠, 李顺, 许小红, 等. 高氯酸盐的环境毒理学效应及其机制的研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2013, 30(1): 85-89.

WU CD, LI S, XU XH, *et al.* Environmental toxicological effect and mechanism of perchlorate [J]. J Environ Health, 2013, 30(1): 85-89.
[3] ARIBI HE, BLANC YJCL, ANTONSEN S, *et al.* Analysis of perchlorate in foods and beverages by ion chromatography coupled with tandem mass spectrometry (IC-ESI-MS/MS) [J]. Anal Chim Acta, 2006, 567(1): 39-47.
[4] US EPA. Revised assessment guidance for perchlorate [EB/OL]. [2009-01-08]. <https://www.epa.gov/fedfac/revised-assessment-guidance-perchlorate>. [2021-03-27].
[5] EPOCI Chain. Scientific opinion on the risks to public health related to the presence of perchlorate in food, in particular fruits and vegetables [J]. EFSA J, 2014, 12(10): 3869.
[6] KHAN MR, AZAM M, MOIDALAMMARI A. Ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry for the trace-level identification of perchlorate in filtered drinking watertreated with ozonation and chlorination disinfection processes [J]. J King Saud Univ Sci, 2021, 33(1): 101267.
[7] LIN SL, LO CY, FUH MR. Quantitative determination of perchlorate in bottled water and tea with online solid phase extraction high-performance liquid chromatography coupled totandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2012, 1246: 40-47.
[8] 孙文闪, 诸骏杰, 钟寒辉, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定土壤中的高氯酸盐[J]. 食品质量安全检测学报, 2020, 11(15): 5126-5130.
SUN WS, ZHU JJ, ZHONG HH, *et al.* Determination of perchlorate in soil by solid phase extraction-ultrapformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(15): 5126-5130.
[9] 张南, 张根荣, 焦卫婷, 等. 安徽东南和西部地区茶叶中高氯酸盐含量分析[J]. 安徽农业大学学报, 2020, 47(3): 1-4.
ZHANG N, ZHANG GR, JIAO WT, *et al.* Analysis of perchlorate content in tea from southeastern and western Anhui [J]. J Anhui Agric Univ, 2020, 47(3): 1-4.
[10] LIU Y, SUN HZ, ZHOU L, *et al.* Quantitative determination and contamination pattern of perchlorate in teaby ultra performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry [J]. Food Chem, 2019, 274: 180-186.
[11] DONG H, XIAO KJ, XIAN YP, *et al.* A novel approach for simultaneous analysis of perchlorate (ClO_4^-) and bromate (BrO_3^-) in fruits and vegetables using modified QuEChERS combined with ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Chem, 2019, 270: 196-203.
[12] 盛华栋, 潘项捷, 张水锋, 等. 改良 QuEChERS 技术结合超高效液相色谱-串联质谱法同时测定果蔬中高氯酸盐、氯酸盐和溴酸盐[J]. 食品科学, 2020, 41(10): 324-329.
SHENG HD, PAN XJ, ZHANG SF, *et al.* Simultaneous determination of perchlorate, chlorate and bromate in vegetables and fruits by modified QuEChERS method coupled with UPLC-MS/MS [J]. Food Sci, 2020, 41(10): 324-329.
[13] MACMILLAN DK, DALTON SR, BEDNAR AJ, *et al.* Influence of soil type and extraction conditions on perchlorate analysis by ion chromatography [J]. Chemosphere, 2007, 67(2): 344-350.
[14] CANAS JE, CHENG QQ, TIAN K, *et al.* Optimization of operating conditions for the determination of perchlorate in biological samples using preconcentration/preelution ion chromatography [J]. J Chromatogr A,

- 2006, 1103(1): 102–109.
- [15] MELTON LM, TAYLOR MJ, FLYNN EE. The utilisation of ion chromatography and tandem mass spectrometry (ICMS/MS) for the multi-residue simultaneous determination of highly polar anionic pesticides in fruit and vegetables [J]. Food Chem, 2019, 298: 125028.
- [16] JIANG S, LI YS, SUN B. Determination of trace level of perchlorate in Antarctic snow and ice by ionchromatography coupled with tandem mass spectrometry using an automatedsample on-line preconcentration method [J]. Chin Chem Lett, 2013, 24(4): 311–314.
- [17] 高峰, 刘岩, 孔维恒, 等. 离子色谱-质谱测定碳酸饮料中的亚氯酸盐、氯酸盐和高氯酸盐[J]. 食品科学, 2013, 34(22): 261–264.
- GAOF, LIU Y, KONG WH, *et al.* Determination of chlorite chlorate and perchlorate in carbonated beverage by ion chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Food Sci, 2013, 34(22): 261–264.
- [18] 张惠贤, 郑丹, 夏虹, 等. 分散固相萃取净化-超高效液相色谱串联质谱检测荸荠中的高氯酸盐[J]. 分析实验实验室, 2020, 39(8): 899–903.
- ZHANG HX, ZHENG D, XIA H, *et al.* Determination of perchlorate in water chestnut by disperse solid phaseextraction cleanup coupled with ultra-high performance liquid chromatographytandem mass spectrometry [J]. Chin J Anal Lab, 2020, 39(8): 899–903.
- [19] SONG SM, RUAN JJ, BAI XY, *et al.* One-step sample processing method for the determination of perchlorate in human urine, whole blood and breast milk using liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Ecotox Environ Saf, 2019, 174: 175–180.
- [20] ZHAO YG, ZHANG Y, WANG FL, *et al.* Determination of perchlorate from tea leaves using quaternary ammonium modified magnetic carboxyl-carbon nanotubes followed by liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry [J]. Talanta: Int J Pure Appl, 2018, 185: 411–418.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



张小刚, 硕士, 工程师, 主要研究方向
为食品质量与安全。
E-mail: zxcg6963470@126.com