

LC-MS/MS 法测定动物源性食品中 13 种全氟化合物

LCMSMS-665

摘要: 本文参考食品安全国家标准《动物性食品中全氟化合物残留的测定 液相色谱 - 串联质谱法》(报批稿), 使用岛津超高效液相色谱三重四极杆质谱联用仪测定动物性食品中 13 种全氟化合物残留的方法, 13 min 内完成 13 种全氟化合物的分析。该方法采用内标法校准, 线性关系好, 相关系数均在 0.9981 以上。仪器分析精密度高, 各化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07%~0.17% 和 0.80%~3.95% 之间。加标回收率方面, 13 种全氟化合物的回收率在 85.0~118.0% 之间。该方法具有灵敏度高、重复性好、准确度高的特点, 可用于动物性食品中 13 种全氟化合物的残留检测。

关键词: 三重四极杆质谱 动物源性食品 全氟化合物

全氟化合物 (Perfluoroalkyl Substances, 简称 PFAS) 是指有机物分子中至少一个碳原子上结合的氢原子被氟原子取代, 其化学通式为 $F(CF_2)_n-R$, 属于这类化合物的主要有全氟羧酸类和全氟磺酸类。由于 PFAS 分子中 C-F 键非常稳定, 不易被水解、光解或生物降解, 可在环境中持久性存在、可长距离传输、可沿生物链累积放大, 它是国际上备受关注的新型有机污染物。近年来, 在全球生态环境系统、生物体、人体、食品等多种介质中均有 PFAS 检出。鉴于其广泛存在性以及具有神经毒性、生殖毒性和免疫毒性等特点, PFAS 可能对人健康带来危害, 已引起人们的广泛关注。人类膳食水产品、乳及乳制品、肉及肉制品、果蔬等均有不同程度 PFAS 污染, 这是人主要的膳食摄入风险,

但目前国内外关于食品中 PFAS 的检测及限量标准仍是空白。基于 PFAS 易与蛋白质结合而累积于生物体组织器官的富集特性, 膳食占比较大的动物源性食品, 特别是肝脏、肾脏、肌肉等蛋白质含量较高的器官组织中的富集现象较为普遍, 但整体含量较低 (通常在 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 级别)。因此, 建立快速、准确、灵敏的检测方法, 可以为食品中 PFAS 的风险评估提供重要技术支持。

本文参考《动物性食品中全氟化合物残留的测定 液相色谱 - 串联质谱法》(报批稿), 使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050, 建立了动物源性食品中 13 种全氟化合物的分析方法, 为相关行业人员作参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-40A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。

具体配置为:

系统控制器: CBM-40A

脱气机: DGU-20A₅

输液泵: LC-40AD×2

自动进样器: SIL-40AC

柱温箱: CTO-40AC

质谱仪: LCMS-8050

色谱工作站: LabSolutions Ver.5.99

1.2 分析条件

液相色谱条件

延迟柱: Shim-pack XR-ODS II 75 mm. L×3.0 mm I.D., 2.2 μm

(岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 228-41624-91)

色谱柱: Shim-pack GIST C18-AQ 100 mm. L×2.1 mm I.D., 1.9 μm

(岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30807-02)

流动相: A-10 mM 乙酸铵水溶液, B- 甲醇

流速：0.4 mL/min

柱温：40 °C

进样体积：10 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B相初始比例为10%，时间程序见表1。

表1 梯度洗脱程序

Time(min)	Modle	Command	Value
1.50	Pumps	Pump B Conc.	60
6.00	Pumps	Pump B Conc.	85
710	Pumps	Pump B Conc.	100
9.00	Pumps	Pump B Conc.	100
9.10	Pumps	Pump B Conc.	10
13.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式：ESI-

雾化气流速：3 L/min

加热模块温度：400 °C

接口温度：300 °C

DL 温度：250 °C

加热气流速：10 L/min

干燥气流速：10 L/min

碰撞气：氩气 270 kPa

扫描模式：多反应监测 (MRM)

MRM 参数：见表 2

表2 MRM 质谱参数

No.	中文名称	英文简称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1Pre Bias(V)	CE(V)	Q3Pre Bias(V)
1	全氟丁烷羧酸	PFBA	375-22-4	212.80	169.20	10	10	16
2	全氟戊烷羧酸	PFPeA	2706-90-3	262.90	219.10	17	8	21
3	全氟己烷羧酸	PFHxA	307-24-4	313.00	269.00	11	9	12
					119.10	11	21	12
4	全氟庚烷羧酸	PFHpA	375-85-9	362.90	319.00	17	9	15
					169.10	17	16	16
5	全氟己烷磺酸钠	PFHxS	82382-12-5	398.85	80.10	14	44	11
					99.10	11	35	10
6	全氟辛烷羧酸	PFOA	335-67-1	412.90	369.00	20	10	18
					169.10	11	17	16
7	全氟辛烷磺酸钠	PFOS	4021-47-0	498.80	80.10	14	52	10
					99.10	18	40	10
8	全氟壬烷羧酸	PFNA	375-95-1	462.85	419.10	13	11	20
					219.10	13	16	22
9	全氟癸烷羧酸	PFDA	335-76-2	512.80	469.00	24	11	12
					219.20	24	17	13
10	全氟癸烷磺酸钠	PFDS	2806-15-7	598.75	80.10	22	55	10
					99.10	22	50	16

11	全氟十一烷羧酸	PFUdA	2058-94-8	562.80	518.90	28	12	26
					269.10	28	17	27
12	全氟十二烷羧酸	PFDoA	2058-94-8	612.80	568.90	22	12	30
					169.20	30	26	10
13	全氟十二烷 磺酸钠	PFDOS	-	698.70	80.10	34	60	28
					99.00	20	55	12
14	¹³ C ₄ -全氟辛烷 磺酸钠	MPFOS	-	502.80	79.85	24	53	12
					98.95	24	38	11
15	¹³ C ₄ -全氟 辛烷羧酸	MPFOA	-	416.90	371.90	20	10	18

1.3 标准溶液的配制

将 13 种全氟化合物混合标准溶液 (2 μg/mL) 和 2 种内标溶液 (MPFOS 和 MPFOA, 浓度均为 50 μg/mL), 用甲醇稀释, 配制成浓度分别为 0.05 ng/mL、0.1 ng/mL、0.5 ng/mL、1 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL 和 10 ng/mL 混合标准工作液, 其中内标物 MPFOS 和 MPFOA 的浓度均为 2.0 ng/mL。

1.4 样品前处理方法

1.4.1 提取方法:

取试样 2 g (准确至 ±0.01 g), 于 50 mL 聚丙烯离心管, 准确加混合内标工作液 (2 μg/mL) 10 μL、水 2 mL, 涡旋 1 min; 加 0.2% 盐酸乙腈溶液 10 mL, 200 r/min 振荡 10 min, 加氯化钠 2 g, 200 r/min 再振荡 10 min, 5000 r/min 离心 5 min。取上清液至 15 mL 聚丙烯离心管, 40°C 氮吹至约 4 mL。

1.4.2 净化方法:

1.4.2.1 肌肉、肝脏、肾脏

在上述聚丙烯离心管中加 PSA 100 mg、C₁₈ 80 mg、GCB 30 mg, 涡旋 1 min, 200 r/min 振荡 10 min, 5000 r/min 离心 10 min。取上清液至另一个 15 mL 聚丙烯离心管中, 40°C 氮吹至近干, 加甲醇 1.0 mL 使溶解, 15000 r/min 离心 5 min, 取上清液待机测定。

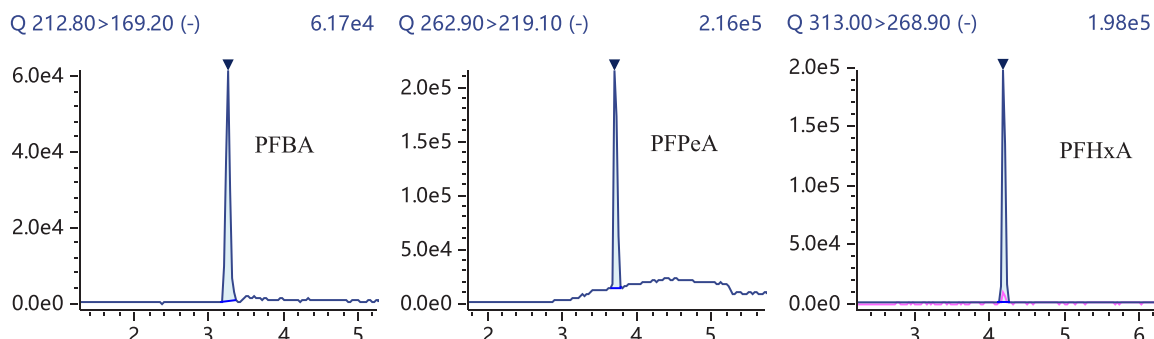
1.4.2.2 脂肪类

在上述聚丙烯离心管中加 PSA 100 mg、C₁₈ 80 mg、GCB 30 mg, 涡旋 1 min, 200 r/min 振荡 10 min, 5000 r/min 离心 10 min。取上清液至另一个 15 mL 聚丙烯离心管中, 40°C 氮吹至近干, 加甲醇 1.0 mL 使溶解, 然后加 1 mL 乙腈饱和的正己烷, 涡旋 1 min, 15000 r/min 离心 5 min, 弃去上层正己烷, 取下层溶液供液相色谱-串联质谱测定。

■ 结果与讨论

2.1 MRM 色谱图

13 种全氟化合物及其 2 个内标物的 MRM 色谱图如下图 1 所示。



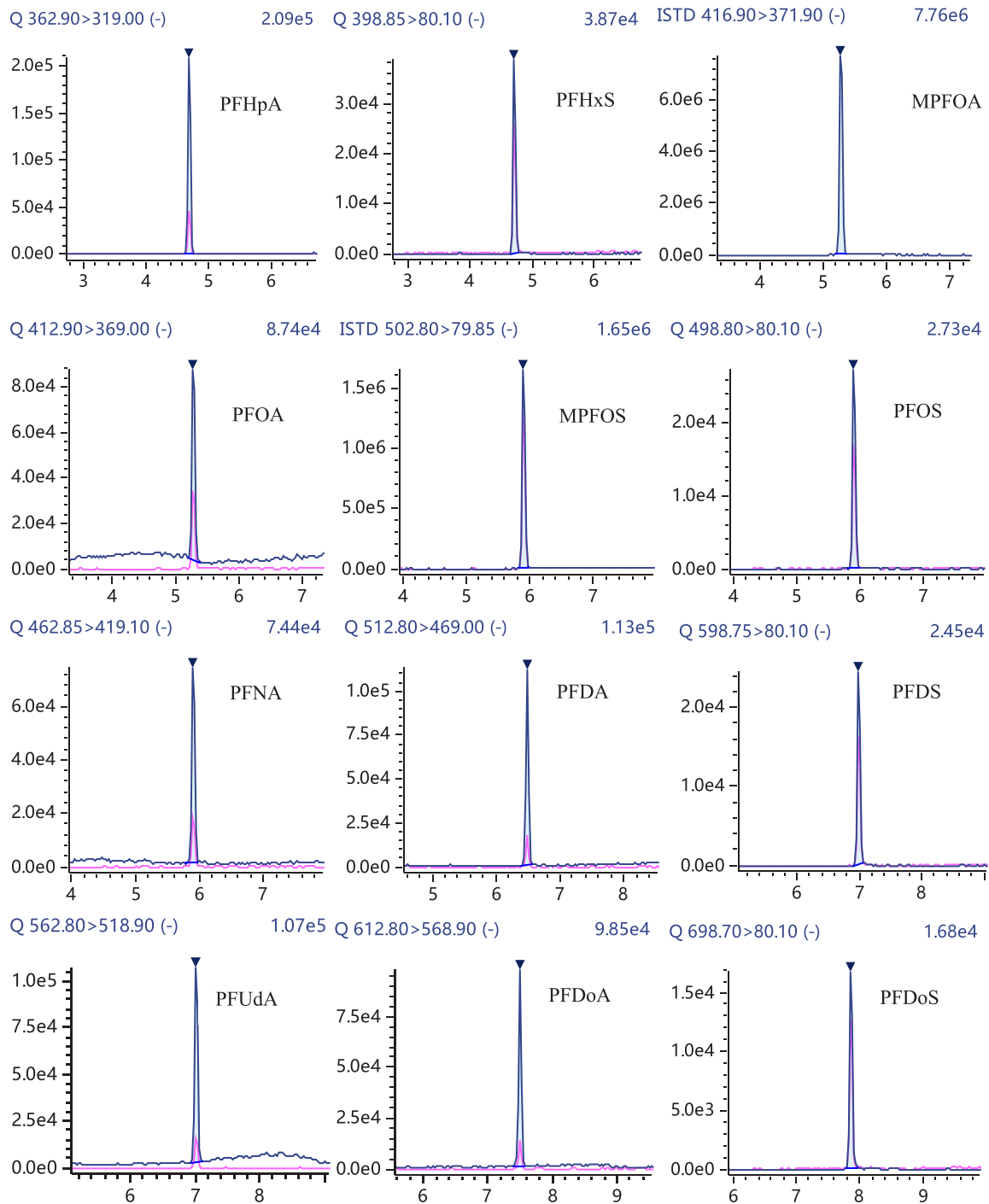


图 1 13 种全氟化合物及内标物的 MRM 色谱图 (0.5 ng/mL)

2.2 线性关系

将上述 13 种全氟化合物校准工作溶液,按 1.2 条件进行测定,内标法定量,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制校准曲线,部分校准曲线图如图 2 所示,所得校准曲线线性关系良好,相关系数均大于 0.9981,线性回读精确度在 89.4~109.3% 之间(结果见表 3)。

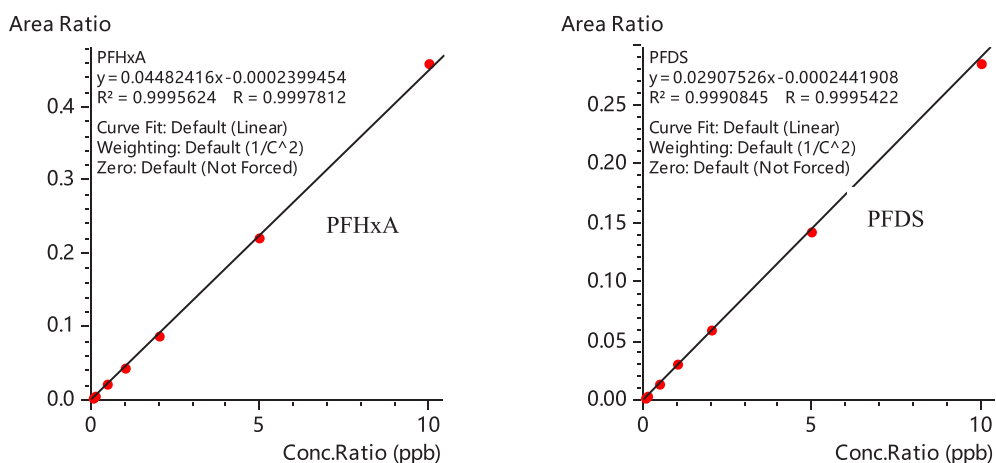


图 2 部分化合物校准曲线图

表 3 13 种全氟化合物线性范围 (权重 1/C²)

序号	名称	校准曲线	线性范围 (µg/L)	相关系数 r	准确度 %
1	PFBA	$Y = 0.0200549X - 0.000149753$	0.05~10	0.9984	91.5~105.4
2	PFPeA	$Y = (0.0461087)X + (-0.000127913)$	0.05~10	0.9995	95.9~104.0
3	PFHxA	$Y = (0.0448242)X + (-0.000239945)$	0.05~10	0.9998	97.5~102.5
4	PFHpA	$Y = (0.0487403)X + (-0.000212494)$	0.05~10	0.9992	96.5~106.7
5	PFHxS	$Y = (0.0415425)X + (-0.000313071)$	0.05~10	0.9983	93.6~108.2
6	PFOA	$Y = (0.0218606)X + (9.97543e-005)$	0.05~10	0.9992	95.4~105.8
7	PFOS	$Y = (0.0334070)X + (-5.12636e-006)$	0.05~10	0.9981	91.0~105.6
8	PFNA	$Y = (0.0196191)X + (-1.14861e-005)$	0.05~10	0.9982	94.2~108.7
9	PFDA	$Y = (0.0269292)X + (7.86894e-006)$	0.05~10	0.9986	93.6~107.7
10	PFDS	$Y = (0.0290753)X + (-0.000244191)$	0.05~10	0.9995	96.2~104.3
11	PFUdA	$Y = (0.0245862)X + (-1.15510e-005)$	0.05~10	0.9990	89.4~108.7
12	PFDoA	$Y = (0.0235097)X + (9.12263e-005)$	0.05~10	0.9985	93.7~109.3
13	PFDoS	$Y = (0.0186516)X + (-8.88578e-005)$	0.05~10	0.9982	91.5~108.1

2.3 精密度

对不同浓度校准工作液连续测定 6 次, 考察仪器精密度, 结果见下表 4, 各化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07% ~ 0.17% 和 0.80% ~ 3.95% 之间, 仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性及灵敏度结果

序号	名称	线性范围 (µg/L)	相关系数 r	准确度 %
PFBA	0.12	2.31	0.09	1.09
PFPeA	0.13	1.94	0.08	1.42
PFHxA	0.11	1.43	0.08	1.75
PFHpA	0.10	2.07	0.08	1.48
PFHxS	0.10	2.84	0.08	0.80
PFOA	0.11	2.21	0.09	1.89
PFOS	0.13	2.85	0.15	1.16
PFNA	0.14	1.47	0.15	1.27
PFDA	0.17	1.39	0.15	2.21

PFDS	0.16	3.95	0.16	1.89
PFUdA	0.16	2.36	0.16	1.05
PFDoA	0.12	2.88	0.12	1.57
PFDoS	0.07	3.13	0.08	2.02

2.4 加标回收率测试

取猪瘦肉 2 g, 按照 1.4 样品制备方法, 考察方法的加标回收率, 根据标准中的方法限值为 0.2 μg/kg 的要求, 设定实验加标浓度分别为 0 (空白)、0.2、0.5 和 2.5 μg/kg, 此时处理后的溶液样本的理论体积浓度分别为 0 (空白)、0.4、1.0 和 5.0 ng/mL, 每个浓度 3 个平行样。实验中发现, 猪瘦肉检出几个 PFAS 化合物, 其色谱图和测试结果见 2.6, 加标回收样品的色谱图见图 3, 回收率结果如下表 5 所示, 13 种全氟化合物的加标回收率在 85.0~118.0% 之间。

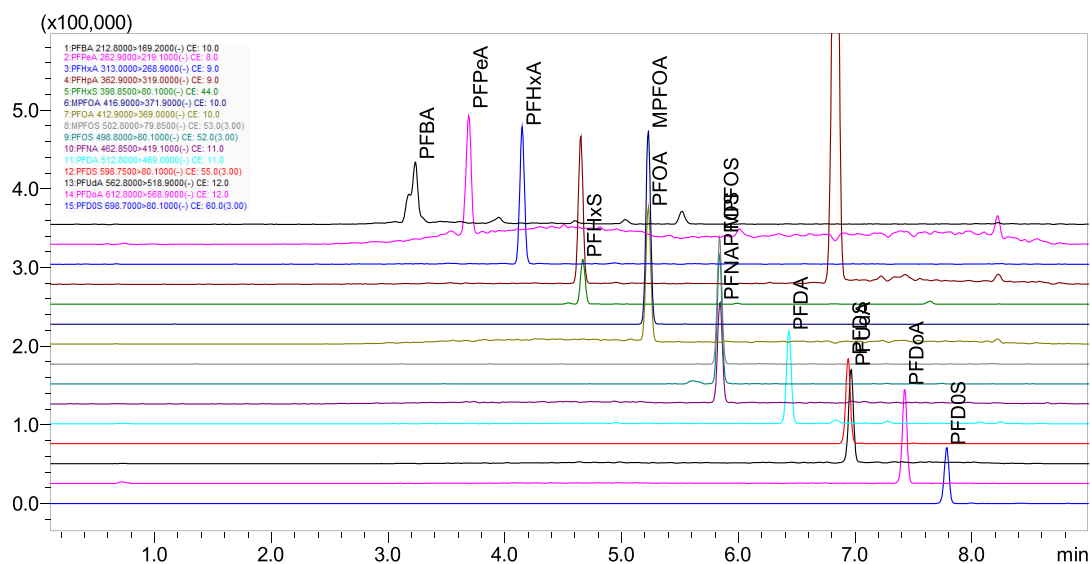


图 3 猪瘦肉加标回收测试色谱图 (1.0 ng/mL)

表 5 加标回收率结果

样品名称	加标浓度 (0.4 ng/mL)		加标浓度 (1.0 ng/mL)		加标浓度 (5.0 ng/mL)	
	检测值	回收率 (%)	检测值	回收率 (%)	检测值	回收率 (%)
PFBA	0.35	87.5	0.92	92.0	5.26	105.2
PFPeA	0.37	92.5	0.93	93.0	5.29	105.8
PFHxA	0.39	97.5	1.04	104.0	5.60	112.0
PFHpA	0.34	85.0	1.02	102.0	4.96	99.2
PFHxS	0.39	97.5	0.82	82.0	5.33	106.6
PFOA	0.49	122.5	1.05	105.0	5.30	106.0
PFOS	0.47	117.5	1.08	108.0	5.45	109.0
PFNA	0.44	110	0.97	97.0	5.69	113.8
PFDA	0.43	107.5	1.08	108.0	5.73	114.6
PFDS	0.38	95.0	1.04	104.0	5.62	112.4
PFUdA	0.45	112.5	1.11	111.0	5.75	115.0
PFDaA	0.45	112.5	1.13	113.0	5.90	118.0
PFDoS	0.39	97.5	1.04	104.0	5.51	110.2

2.5 样品测试

根据 2.5 在猪瘦肉中加标回收率实验中的测试结果，发现有检出几个 PFAS 化合物，其色谱图见下图 4，测得该瘦肉样品中分别含有 PFBA 0.06 ng/mL，PFHxS 0.10 ng/mL，PFOA 0.08 ng/mL，PFOS 0.12 ng/mL。

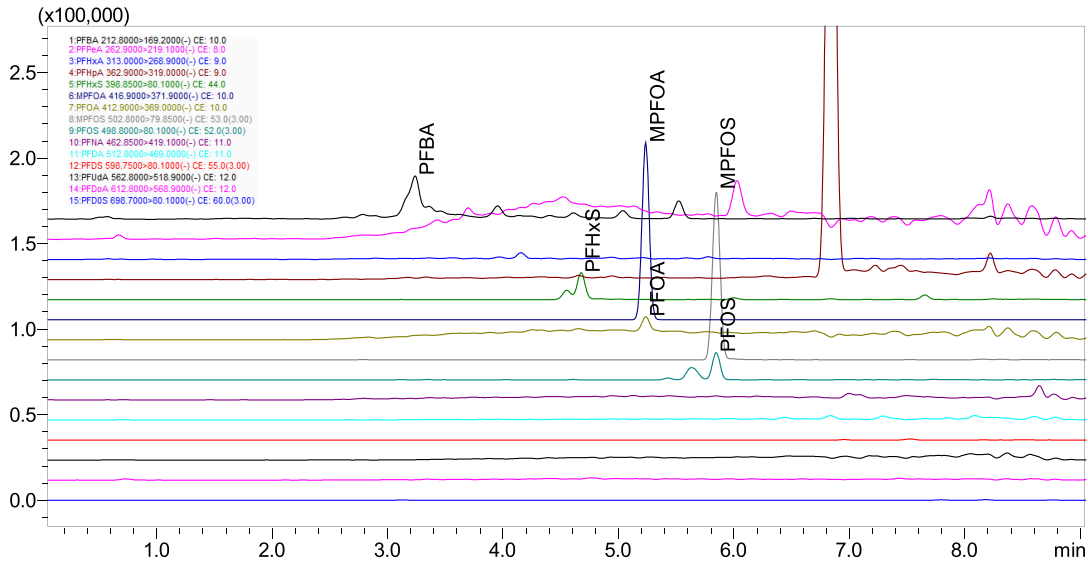


图 4 猪瘦肉测试色谱图

■ 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050 测定动物性食品中 13 种全氟化合物残留的方法。方法线性范围宽、前处理简单、灵敏度高、稳定可靠，适用于动物性食品中全氟化合物残留量的检测和监控。

岛津应用云

