

安徽东南和西部地区茶叶中高氯酸盐含量分析

张南, 张根荣, 焦卫婷, 花日茂*

(安徽省农产品质量安全重点实验室, 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036)

摘要: 高氯酸盐已成为茶叶中的一种新型污染物, 故采用超高效液相色谱串联质谱法, 对安徽东南和西部地区两地茶叶主产区 50 份茶叶样品中的高氯酸盐进行检测分析, 同时监测了西部地区不同部位茶鲜叶中高氯酸盐含量。结果表明, 茶叶样品中高氯酸盐含量检出率为 100%, 超标率为 0%, 总体茶叶是安全的; 茶鲜叶中老叶的高氯酸盐含量约为嫩芽中的 17 倍, 茶鲜叶中高氯酸盐主要富集在老叶部位。

关键词: 茶叶; 高氯酸盐; 超高效液相色谱串联质谱; 安徽

中图分类号: S571.1; X132

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2020)03-0345-04

Analysis of perchlorate content in tea from southeastern and western Anhui

ZHANG Nan, ZHANG Genrong, JIAO Weiting, HUA Rimao

(Key Laboratory of Anhui Agricultural Product Quality and Safety, School of Resource and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: Perchlorate has become a new pollutant in tea, therefore, we used ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) to detect and analyze perchlorate in 50 tea samples from major tea producing areas in southeastern and western Anhui Province. Meanwhile, we also monitored perchlorate in the fresh tea leaves from different parts in western Anhui. The results showed that perchlorate was detected out in all of the collected tea samples, but which was not exceeded the national standard. In general, the tea from southeastern and western Anhui is safe and the perchlorate in the old leaves is about 17 times of that in the young buds, which is the main accumulation of perchlorate in the fresh tea leaves.

Key words: tea; perchlorate; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS); Anhui

茶叶作为一种人们津津乐道的传统饮品, 富含茶多酚、氨基酸、生物碱等多种有益于身体健康的元素。高氯酸盐是一种新型污染物, 它与碘离子结构相似, 可以与碘的转运蛋白结合抑制人体对碘的吸收, 进而影响促甲状腺激素和甲状腺激素的合成, 干扰甲状腺的正常生理功能。高氯酸盐还能影响女性甲状腺吸收碘^[1-3]。欧洲食品安全局发布了食品中高氯酸盐对人体健康的科学意见, 规定高氯酸盐每日容许摄入量为 0.000 3 mg·kg⁻¹^[4]。高氯酸盐主要来源于工业排放、含氯化肥施用、氯类杀虫剂除草剂使用及自然形成^[5-8]。高氯酸盐的特点是高水溶性、高稳定性及易扩散性, 在水环境中广泛且持久存在^[9]。目前, 高

氯酸盐的研究分析主要集中在污水、饮料、蔬菜、奶粉、茶叶等方面, 高氯酸盐的检测方法主要有离子色谱法^[10]、离子色谱-质谱联用法^[11]和液相色谱串联质谱法^[12]。

茶树具有富集高氯酸盐的能力。陈桂葵等^[13]研究发现叶片是高氯酸盐积累的主要器官, 高氯酸盐通过茶树根系吸收后经根茎维管组织传输富集在叶片中^[14], 但茶树老叶和嫩叶的富集能力研究至今还鲜见报道。其他农产品如辣椒、大豆、黄瓜都会富集高氯酸盐, 但其富集能力均没有茶树强^[15-16]。因此, 2015 欧盟规定了高氯酸盐在农产品中的最高限量, 其中茶叶中高氯酸盐不能超过 0.75 mg·kg⁻¹。为

收稿日期: 2019-12-12

基金项目: 茶叶中高氯酸盐的残留风险评估项目 (GJFP2019014) 资助。

作者简介: 张南, 硕士, E-mail: 2945774950@qq.com

* 通信作者: 花日茂, 教授, E-mail: rimaohua@ahau.edu.cn

了了解安徽省茶叶中的高氯酸盐含量水平,我们采集了安徽东南和西部两个地区 50 份茶叶样品以及西部地区不同部位茶鲜叶样品,利用超高效液相色谱串联质谱技术,对于茶叶样品中的高氯酸盐含量进行检测,分析了解老叶和嫩叶中高氯酸盐含量的区别,以期为茶叶安全采收及指导科学饮用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

超高效液相色谱-串联质谱仪 (UPLC-exvoTQMS); 涡旋仪 (HYQ-3110); 乙腈 (分析纯, 西陇科学有限公司; 色谱纯, 美国 Tedia 公司); 超纯水; 高氯酸根离子标液 (1 000 mg·L⁻¹ 溶于 H₂O, 上海安谱实验科技股份有限公司)。

1.2 供试茶样

从安徽东南和西部两个地区共采集成品茶叶样品 50 份, 编号 AHXB1901~AHXB1920、AHDN1901~AHDN1930; 在西部地区村庄附近采摘茶鲜叶及成熟叶 2 kg。

1.3 样品前处理

称取 2 g 茶叶 (精确到 0.01 g), 加入提取溶剂 20 mL (0.1% 乙酸水溶液), 以 1 500 r·min⁻¹ 涡旋提取 2 min, 40℃ 超声提取 30 min。以 8 000 r·min⁻¹ 离心 5

min, 取 1 mL 上清液至含有 200 mg 石墨化炭黑 (GCB:120~400 mesh) 的离心管中, 以 2 500 r·min⁻¹ 涡旋 2 min, 以 15 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 过 0.22 μm 亲水聚四氟乙烯 (PTFE) 滤器, 进 LC-MS/MS。

1.4 标准溶液的配制

量取 ClO₄⁻ 0.01 mL 至于 10 mL 容量瓶中, 用去离子水定容至 10 mL, 配制母液浓度为 1 000 mg·L⁻¹。从 1 000 mg·L⁻¹ 的母液中取 0.1 mL 置于 10 mL 容量瓶中, 再用去离子水定容至 10 mL, 得到 10 mg·L⁻¹ 的混合标准溶液备用。以空白样品提取液配制 0.5、0.1、0.05、0.01、0.005、0.001 和 0.000 5 mg·L⁻¹ 基质匹配标准溶液。

1.5 检测条件

色谱条件: 色谱柱: Waters ACQUITY UPLC R BEH Amide, 色谱柱尺寸为 100 mm×2.1×1.7 μm。柱温为 40℃, 流速为 0.3 mL·min⁻¹, 进样量为 5 μL, 流动相流动相为乙腈: 20 mmol 甲酸铵+0.1% 甲酸水溶液= 50:50。

ClO₄⁻ 质谱条件: 电离方式: EST⁺; 毛细管电压: 3.0 kV; 离子源温度: 150℃;

锥孔反吹气流量: 50 L/Hr; 脱溶剂气温度: 500℃; 脱溶剂气流量: 900 L/Hr; 监测模式: MRM 模式。具体参数见表 1。

表 1 吡虫啉的质谱条件

Table 1 Mass spectrometric conditions for the analysis of imidacloprid

目标物 Target object	母离子 (<i>m/z</i>) Parent ion	子离子 (<i>m/z</i>) Daughter ion	保留时间/min Retention time	锥孔电压/V Cone voltage	碰撞电压/V Fragmentor voltage
ClO ₄ ⁻	98.9	83.0*	1.224	20	18
	100.9	85.0		20	16

注: “*” 为定量离子 Note: “*” means quantitative ion

1.6 数据处理

标准曲线方程: $A=ac^2+bc+A_0$; A 为高氯酸盐峰面积, c 为基质标样浓度 (mg·L⁻¹)。

茶叶样品中高氯酸盐含量:

$$X = \frac{\left[\frac{\sqrt{b^2 - 4 \times a \times (A_0 - A)} - b}{2 \times a} + c_0 \right] \times V}{m}$$

$$c_0 = \frac{b - \sqrt{b^2 - 4 \times a \times A_0}}{2 \times a}$$

X 为茶叶样品中高氯酸盐含量 (mg·kg⁻¹), v 为提取溶剂体积 (mL), m 为样品质量 (g) (由于基质空白普遍存在本底, 需计算本底含量 c_0 以扣除)。

2 结果与分析

2.1 方法准确度与精密度

在宋正规等^[17]的研究方法基础上, 我们对检测

方法进行了优化, 并采用准确度和精密度验证方法的可行性。称取茶叶样本 2 g, 分别加入标准溶液 (0.4、4 和 40 mg·L⁻¹) 100 μL, 使其添加浓度分别为 0.02、0.2 和 2 mg·kg⁻¹, 每个处理设置 4 个重复, 混匀后静置 1 h。按 1.3 的方法提取与净化, 在 1.5 条件下测定 ClO₄⁻ 的浓度, 计算其回收率和变异系数。结果表明, 样品加标平均回收率为 99.25%~117.32%, RSD 值为 0.21%~2.14% (表 2)。表明回收率和精密度较好, 符合分析要求。

表 2 高氯酸盐添加回收率及精密度

Table 2 Experiment results of perchlorate recovery rates and precision

添加水平/mg·kg ⁻¹ Spiked concentration	平均回收率/% Average recovery	相对标准偏差/% RSD
0.02	117.31	0.24
0.2	108.14	2.14
2	99.25	0.21

2.2 线性范围和定量限

根据 1.4 配制标准溶液并进行分析,以高氯酸根离子的浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 为横坐标,高氯酸盐峰面积比为纵坐标,绘制标准曲线: $Y = -15\,207.3 X^2 + 81\,846.8 X + 203.611$, $R^2 = 0.9991$,可见该法在 $0.0005 \sim 0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内线性关系良好。采用基质配制标准曲线,能够降低基质效应对高氯酸盐定量、定性的影响。本方法的检测限为 (LOD) 为 $0.001 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 相比较宋正规等^[17]采用的检测方法检测限有所降低。图 1 是浓度为 $0.01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的基质配标准溶液色谱图。

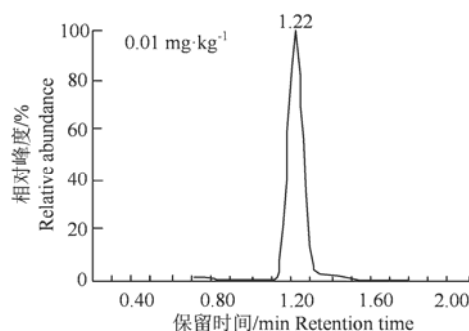


图 1 高氯酸盐标准溶液 $0.01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 色谱图

Figure 1 Chromatogram of standard perchlorate at $0.01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

表 3 安徽两地区茶叶中的高氯酸盐检出结果

Table 3 Detection results of perchlorate in tea samples from two areas of Anhui Province

地区 Area	样品编号 Number	$\text{ClO}_4^-/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	地区 Area	样品编号 Number	$\text{ClO}_4^-/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
安徽东南部 Southeastern Anhui	AHDN1901	0.075	安徽西部 Western Anhui	AHXB1901	0.169
	AHDN1902	0.305		AHXB1902	0.136
	AHDN1903	0.109		AHXB1903	0.124
	AHDN1904	0.133		AHXB1904	0.025
	AHDN1905	0.194		AHXB1905	0.079
	AHDN1906	0.119		AHXB1906	0.359
	AHDN1907	0.260		AHXB1907	0.419
	AHDN1908	0.255		AHXB1908	0.376
	AHDN1909	0.572		AHXB1909	0.418
	AHDN1910	0.222		AHXB1910	0.243
	AHDN1911	0.286		AHXB1911	0.289
	AHDN1912	0.542		AHXB1912	0.625
	AHDN1913	0.597		AHXB1913	0.120
	AHDN1914	0.306		AHXB1914	0.039
	AHDN1915	0.025		AHXB1915	0.073
	AHDN1916	0.411		AHXB1916	0.046
	AHDN1917	0.448		AHXB1917	0.072
	AHDN1918	0.469		AHXB1918	0.609
	AHDN1919	0.702		AHXB1919	0.116
	AHDN1920	0.384		AHXB1920	0.151
	AHDN1921	0.465			
	AHDN1922	0.463			
	AHDN1923	0.288			
	AHDN1924	0.289			
	AHDN1925	0.025			
	AHDN1926	0.131			
	AHDN1927	0.293			
	AHDN1928	0.497			
	AHDN1929	0.077			
	AHDN1930	0.295			
均值为 $0.308 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 中位数为 $0.291 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 95%分位值为 $0.584 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, MRL 为 $0.75 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 超标率为 0			均值为 $0.224 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 中位数为 $0.160 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 95%分位值为 $0.608 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, MRL 为 $0.750 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 超标率为 0		

2.3 采集的茶叶样品检测

根据以上建立的简单高效、快速准确的分析方法,对于安徽东南部和西部两个茶叶主产区采集的 50 份茶叶样品进行检测。结果(表 3)显示,安徽两地茶叶样品中高氯酸盐普遍检出,其中西部地区最低含量为 $0.0248 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,最高含量为 $0.625 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,中值为 $0.160 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值为 $0.224 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;东南部地区最低含量为 $0.025 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,最高含量为

$0.702 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间,中值为 $0.291 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值为 $0.308 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。总体表现为东南部地区茶叶高氯酸盐的平均含量比西部地区高。虽然不同地区茶叶中的高氯酸盐均有检出,但目前均未超出欧盟规定的高氯酸盐在茶叶中的最大残留限量 (MRL) $0.750 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 标准,总体是安全的。然而有的地方茶叶样品中的高氯酸盐残留浓度数值已经较高,需要引起生产者与管理者重视。

表 4 不同部位茶鲜叶中高氯酸盐检出结果

Table 4 Results of perchlorate in fresh tea leaves from different parts of tea plants

序号 Number	叶片部位 Leaf part	ClO ₄ ⁻ / mg·kg ⁻¹
1	1 芽 2 叶	0.632
2	1 芽 3 叶	1.012
3	1 芽 4 叶	1.347
4	1 芽 5 叶	1.619
5	成熟叶	10.552
6	完整新梢	2.959

2.4 不同部位茶鲜叶中高氯酸盐含量

在安徽西部地区, 设立 3 个采样点, 在生长至 1 芽 4 叶至 1 芽 5 叶时采摘新梢和成熟叶, 新梢分解为 1 芽 2 叶、1 芽 3 叶、1 芽 4 叶和 1 芽 5 叶样品, 并保留部分完整的新梢样品。检测结果(表 4)表明, 成熟叶即老叶中的高氯酸盐含量约为嫩叶中的 17 倍, 是茶树高氯酸盐含量的主要富集部位。

3 讨论与结论

本研究利用超高效液相色谱串联质谱手段优化了茶叶中高氯酸盐的测定方法。该方法平均回收率在 99.25%~117.32%之间, 相对标准偏差 (*RSD*) < 3%, 检出限为 0.001 mg·kg⁻¹, 可以满足茶叶中高氯酸盐含量的检测要求。冯德建^[18]、陈东^[19]和李雨哲^[20]等建立液相色谱串联质谱测定茶叶中高氯酸盐的方法中, 出峰时间在 3~7.5 min, 而本方法出峰时间更快, 缩短了样品分析时间。相对于宋正规等^[17]建立的茶叶中高氯酸盐检测方法的检测限 0.003 mg·kg⁻¹, *RSD* 在 4.9%~7.7%之间, 本方法检测限更低且准确度更高。

安徽东南部和西部两个地区茶叶样品检测结果表明, 50 份茶样中均检测到高氯酸盐污染物, 但均未超过欧盟规定的茶叶中高氯酸盐含量的最大残留限量 (0.75 mg·kg⁻¹) 标准。不同部位茶鲜叶中的高氯酸盐含量检测分析结果表明, 高氯酸盐主要富集在茶树中的成熟叶部位, 约为嫩叶中高氯酸盐含量的 17 倍。由于茶鲜叶采摘自西部某村庄周围的茶区, 推测村庄居民生活中燃放的烟花爆竹是导致茶鲜叶中高氯酸盐含量高的原因。而成品茶中的高氯酸盐含量远低于茶鲜叶中的, 这可能是茶叶在加工过程中减少了高氯酸盐的污染, 该问题还需要进一步调查研究。本试验对成品茶和茶鲜叶中高氯酸盐污染物的研究为茶叶饮用安全提供了科学依据。

参考文献:

[1] LEUNG A M, PEARCE E N, BRAVERMAN L E. Per-

chlorate, iodine and the thyroid[J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2010, 24(1): 133-141.

- [2] BLOUNT B C, PIRKLE J L, OSTERLOH J D, et al. Urinary perchlorate and thyroid hormone levels in adolescent and adult men and women living in the United States[J]. Environ Heal Perspect, 2006, 114(12): 1865-1871.
- [3] 刘小芳, 方从容, 刘慧, 等. 离子色谱-串联质谱法检测茶叶中的高氯酸盐[J]. 色谱, 2016, 34(10): 986-988.
- [4] ON CONTAMINANTS IN THE FOOD CHAIN (CONTAM) E P. 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.
- [5] JACKSON W A, BÖHLKE J K, GU B H, et al. Isotopic composition and origin of indigenous natural perchlorate and co-occurring nitrate in the southwestern United States[J]. Environ Sci Technol, 2010, 44(13): 4869-4876.
- [6] RAO B, ANDERSON T A, REDDER A, et al. Perchlorate formation by ozone oxidation of aqueous chlorine/oxy-chlorine species: role of ClxOy radicals[J]. Environ Sci Technol, 2010, 44(8): 2961-2967.
- [7] RAO B, ESTRADA N, MCGEE S, et al. Perchlorate production by photodecomposition of aqueous chlorine solutions[J]. Environ Sci Technol, 2012, 46(21): 11635-11643.
- [8] 邓家军, 潘华, 张富生, 等. 茶叶高氯酸盐污染及分析技术[J]. 茶叶科学, 2019, 39(4): 372-381.
- [9] 张卫. 关于茶叶中的新型污染物高氯酸盐[J]. 中国食品, 2016(6): 130-131.
- [10] 方黎, 吴杰, 苏宇亮. 离子色谱法测定水中的高氯酸盐[J]. 广东微量元素科学, 2008, 15(12): 61-63.
- [11] 孙文闪, 诸骏杰, 余鹏飞, 等. 分散固相萃取净化离子色谱-串联质谱测定茶叶中高氯酸盐[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(20): 6927-6932.
- [12] 冯德建, 邹燕, 史谢飞, 等. 茶叶中高氯酸盐的液相色谱-串联质谱测定方法研究[J]. 中国测试, 2016, 42(4): 1-4.
- [13] 陈桂葵, 骆世明, 杜宁宁, 等. 高氯酸盐对水稻生理生态的影响及其在稻田系统中的分布规律[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(11): 2137-2144.
- [14] SÆBØ A, POPEK R, NAWROT B, et al. Plant species differences in particulate matter accumulation on leaf surfaces[J]. Sci Total Environ, 2012, 427/428: 347-354.
- [15] 杨佳佳, 杨奕, 张晶, 等. 离子色谱-串联质谱同时测定蔬菜中的溴酸盐和高氯酸盐[J]. 卫生研究, 2012, 41(2): 273-278.
- [16] 张少华, 应璐, 张书芬, 等. 超声辅助热水提取-离子色谱法同时测定蔬菜中的硫氰酸盐和高氯酸盐[J]. 食品工业科技, 2019, 40(7): 224-227.
- [17] 宋正规, 张书芬, 周子焱, 等. 超高效液相色谱-串联质谱同时测定茶叶中高氯酸盐和氯酸盐[J]. 茶叶科学, 2017, 37(6): 597-604.
- [18] 冯德建, 邹燕, 史谢飞, 等. 茶叶中高氯酸盐的液相色谱-串联质谱测定方法研究[J]. 中国测试, 2016, 213(4): 8-11.
- [19] 陈东, 范赛, 沙博郁, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定茶叶中高氯酸盐[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(4): 925-929.
- [20] 李雨哲, 杨杰, 王雨昕, 等. 同位素稀释-超高效液相色谱-串联质谱法测定茶叶中的高氯酸盐[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(5): 616-619.