

高效液相色谱 - 串联质谱法测定婴幼儿配方羊奶粉中的高氯酸盐和氯酸盐残留

LCMSMS-503

摘要：本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用系统同时测定婴幼儿配方羊奶粉中高氯酸盐和氯酸盐残留量的方法。高氯酸盐和氯酸盐在优化后的色谱及质谱条件下，采用负离子模式进行电离，通过多反应监测 (MRM) 模式对目标化合物进行测定。结果表明：使用内标法定量，高氯酸盐和氯酸盐在各自线性范围内峰面积与其质量浓度线性关系良好，所得校准曲线线性相关系数均在 0.999 以上，各校准点准确度分别在 85.9%~107.4% 和 98.1%~104.3% 之间，且精密度和回收率实验结果良好。

关键词：三重四极杆质谱 婴幼儿配方羊奶粉 高氯酸盐 氯酸盐

近年来，婴幼儿配方奶粉中高氯酸盐和氯酸盐的污染问题，越来越受到公众的普遍关注。羊奶粉作为一种新兴的奶粉品种，因其营养丰富、易于吸收，已频频成为媒体报道中的乳品“新贵”。羊奶粉使用羊奶作为奶源加工制作而成。羊奶中蛋白质、乳脂、维生素、矿物质的总含量均高于牛奶，且羊奶富含短链脂肪酸，低级挥发性脂肪酸占有所有脂肪酸含量的 25% 左右，而牛奶中则不到 10%。羊奶脂肪球直径小，使其更容易被人体消化吸收。目前，针对婴幼儿配方羊奶粉中高氯酸盐和氯酸盐污染物的检测报道还不多见，因此开发高效简便的分析方法对监控婴幼儿配方羊奶

粉中高氯酸盐和氯酸盐的污染具有重要意义。

当前，关于高氯酸盐和氯酸盐的分析方法主要有分光光度法、离子色谱法、液相色谱 - 串联质谱法和离子色谱 - 串联质谱法等。超高效液相色谱 - 串联质谱法检测灵敏度高、结果选择性好的特点，已广泛应用于复杂基质中痕量物质的测定。本文基于岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用技术，建立了同时检测婴幼儿配方羊奶粉中高氯酸盐和氯酸盐的方法。该方法样品前处理过程简单，且准确度高，可用于婴幼儿配方羊奶粉中高氯酸盐和氯酸盐的监控。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用系统。具体配置为：

系统控制器：CBM-20A

脱气机：DGU-20A5R

输液泵：LC-30AD×2

自动进样器：SIL-30AC

柱温箱：CTO-20AC

检测器：LCMS-8045

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.96

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：TRINITYP 离子交换柱 (50 mm x 2.1 mm I.D., 3 μm)

流动相：A 相 -50 mM 甲酸铵水溶液； B 相 - 乙腈

流速：0.55 mL/min

进样体积：3 μL

柱温：35°C

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 55%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	55
2.50	Pumps	Pump B Conc.	90
3.00	Pumps	Pump B Conc.	90
3.50	Pumps	Pump B Conc.	55
5.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源: ESI, 负离子模式	脱溶剂管温度: 200 °C
离子源接口电压: -3.0 kV	加热模块温度: 400 °C
雾化气: 氮气 3.0 L/min	接口温度: 300 °C
干燥气: 氮气 10 L/min	扫描模式: 多反应监测 (MRM)
加热气: 空气 10 L/min	MRM 参数: 见表 2
碰撞气: 氩气	驻留时间: 60 ms

表 2 MRM 参数

化合物名称	英文名称	CAS No.	监测离子对	Q1 pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
高氯酸盐	Sodiumperchlorate	7601-89-0	99.0>83.0*	18	28	28
			101.0>85.0	18	28	28
高氯酸盐 - ¹⁸ O ₄	Sodiumperchlorate-- ¹⁸ O ₄	-	107.0>89.0	18	28	28
氯酸盐	Sodiumchlorate	7775-09-9	83.0>67.0*	14	28	22
			85.0>69	14	28	22
氯酸盐 - ¹⁸ O ₃	Sodiumchlorate - ¹⁸ O ₃	-	89.0>71.0	14	24	22

注: * 表示定量离子对

1.3 混合同位素内标溶液的配制

分别准确量取适量高氯酸盐 -¹⁸O₄ 和氯酸盐 -¹⁸O₃ 储备液, 使用超纯水配制成高氯酸盐 -¹⁸O₄、氯酸盐 -¹⁸O₃ 浓度分别为 200 ng/mL、1500 ng/mL 的混合同位素内标液。

1.4 混合标准溶液的配制

分别准确量取高氯酸盐和氯酸盐混合标准中间液适量, 再加入混合同位素内标液, 使用甲酸铵甲醇溶液 (20 mmol/L 甲酸铵 / 甲醇 = 1/2 ; v/v) 配制混合标准工作溶液, 其中高氯酸盐浓度分别为 1、2.5、5、10、25、50、100 ng/mL, 氯酸盐浓度分别为 2、5、10、20、50、100、200 ng/mL, 各混合标准工作溶液中含有两种同位素内标高氯酸盐 -¹⁸O₄ 和氯酸盐 -¹⁸O₃ 浓度分别为 2 ng/mL、15 ng/mL。

1.5 样品前处理方法

准确称取 1 g (精确至 0.01g) 试样置于 15 mL 聚四氟乙烯具塞离心管中, 依次加入高氯酸盐和氯酸盐混合内标工作液 50 uL, 以及 2 mL 热水 (60~70 °C), 涡旋混匀后再加入 3 mL 乙腈, 超声提取 10 min。再以 6000 rpm 离心 5 min, 吸取 1 mL 上清液用 4 mL 乙腈饱和的正己烷液液分配, 取中间层溶液过 0.22 μm 滤膜后进行 LC-MS/MS 分析。

结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

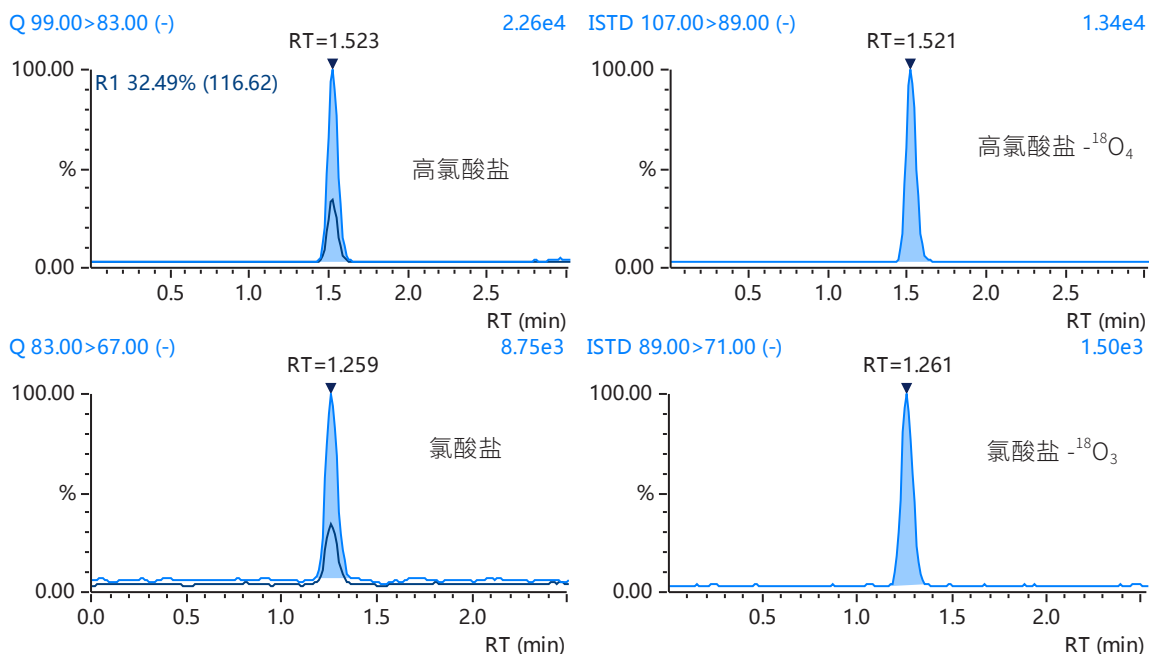


图1 高氯酸盐 (5 ng/mL) 和氯酸盐 (50 ng/mL) 的 MRM 图谱

2.2 线性范围与检出限

将不同浓度的高氯酸盐和氯酸盐混合标准工作液，按照 1.2 中的分析条件进行测定，使用内标法定量。以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示。所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。

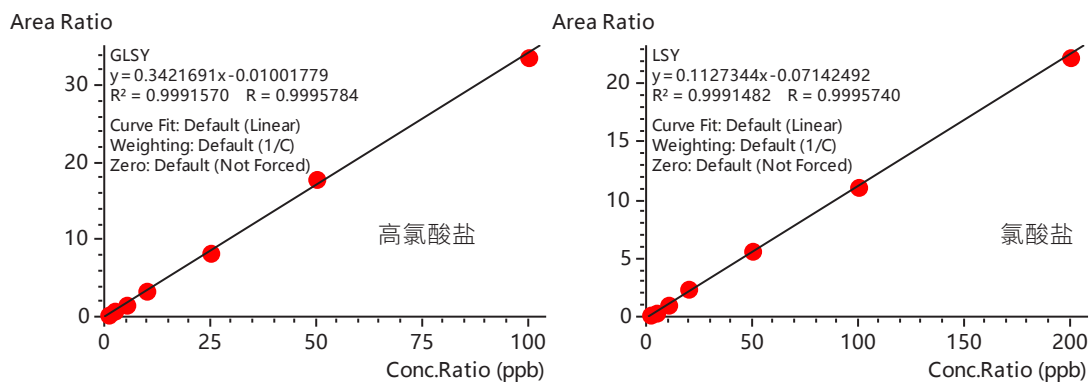


图2 高氯酸盐和氯酸盐的校准曲线

表3 标准曲线与检出限信息

化合物名称	校准曲线	r	线性范围 (ng/mL)	准确度 (%)	检出限 (ng/mL)
高氯酸盐	$Y=0.3422X-0.01002$	0.9995	1~100	85.9~107.4	0.3
氯酸盐	$Y=0.1127X-0.07142$	0.9995	2~200	98.1~104.3	0.7

2.3 精密度实验

对不同浓度的高氯酸盐和氯酸盐混合标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：不同浓度样品溶液中高氯酸盐和氯酸盐的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.04% ~ 0.18% 和 0.76% ~ 3.22% 之间，显示仪器精密度良好。

表 4 保留时间 (RT) 和峰面积 (Area) 重复性结果 (n=6)

名称	Conc.(ng/mL)	RSD% (R.T.)	RSD% (Area)
高氯酸盐	5	0.05	1.26
	10	0.09	1.03
	25	0.04	0.76
氯酸盐	10	0.12	3.22
	20	0.18	3.05
	50	0.09	2.79

2.4 加标回收率实验

准确称取某婴儿配方羊奶粉样品，按照 1.5 中的样品前处理方法提取净化后，上机测试。根据实验结果计算后，检出高氯酸盐和氯酸盐的残留量分别为 63.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 87.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。向测试样品中加入少量高氯酸盐和氯酸盐的标准储备液，使得高氯酸盐的加标浓度分别为 12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，氯酸盐的加标浓度分别为 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。加标样品经过前处理后，测定高氯酸盐和氯酸盐的加标回收率，加标回收率结果见表 5。由结果可知，该方法简便，且准确率好。

表 5 高氯酸盐和氯酸盐的加标回收率结果 (n=3)

名称	加标水平 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率 %
高氯酸盐	12.5	94.1
	50	93.5
	125	97.1
氯酸盐	25	99.1
	100	92.4
	250	100.2

■ 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用系统同时测定婴幼儿配方羊奶粉中高氯酸盐和氯酸盐残留量的方法。使用内标法定量，高氯酸盐和氯酸盐在各自线性范围内峰面积与其质量浓度线性关系良好，所得校准曲线线性相关系数均在 0.999 以上，各校准点准确度分别在 85.9%~107.4% 和 98.1%~104.3% 之间，且精密度和回收率实验结果良好。方法学结果表明，本方法操作简便，精密度高，回收率好，可用于婴幼儿配方羊奶粉中高氯酸盐和氯酸盐残留量的快速测定。

岛津应用云

