

高效液相色谱 - 串联质谱法测定牛奶粉中的高氯酸盐和氯酸盐残留

LCMSMS-564

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牛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 95.8% ~ 104.8% 和 90.1% ~ 107.6% 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 牛奶粉 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，引起了全社会的普遍关注。高氯酸盐是一种新型持久性环境污染物，在运载火箭和烟花爆竹的燃料中大量存在，残留在环境中的高氯酸盐可通过空气、水源进入奶粉生产。较低浓度的高氯酸盐可以干扰人体甲状腺的正常功能。它与碘离子竞争进入人体的甲状腺，从而阻碍碘的吸收，最终影响人体的发育，特别是对大脑组织发育的影响。氯酸盐作为生产环节消毒剂杀菌过程中的副产物很有可能在婴幼儿配方奶粉中存在残留。氯酸盐具有较强的氧化性，进入人体会对内环境造成影响。目前，我国尚未制定高氯酸盐和氯酸盐污染物的限量标准，因此开发高效简便的分

析方法对监控婴幼儿配方奶粉中高氯酸盐和氯酸盐的污染具有重要意义。

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。运用超高效液相色谱 - 串联质谱法同时检测牛奶粉中高氯酸盐和氯酸盐污染物的报道还不多见。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-20A_{5R}

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 2 g (精确至 0.01 g) 试样置于 50 mL 聚四氟乙烯具塞离心管中, 加入 150 μL 混合同位素内标液, 准确加入 5 mL 0.1% 甲酸水溶液, 迅速混匀, 置于 45°C 水浴超声 20 min, 涡旋振荡 5 min, 再准确加入 10 mL 甲醇, 混匀, 再以 10000 rpm 离心 10 min, 取上清液待净化。吸取约 3 mL 上述上清液, 过 HLB 固相萃取柱及 0.22 μm 微孔滤膜, 弃去约 1 mL 流出液, 收集续滤液进行 LC-MS/MS 分析。

■ 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

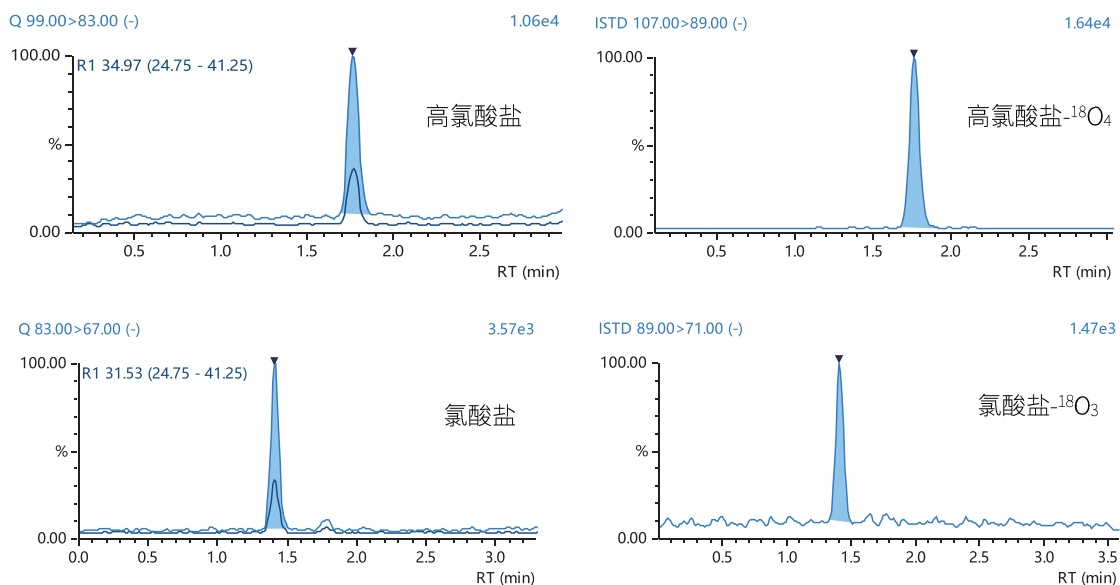


图 1 高氯酸盐 (5 ng/mL) 和氯酸盐 (50 ng/mL) 的 MRM 图谱

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。

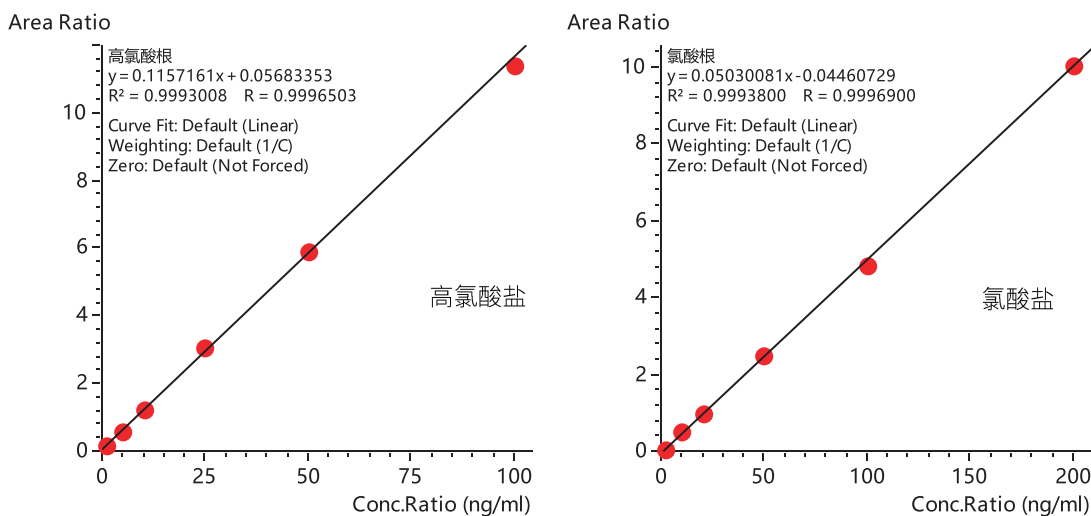


图 2 高氯酸盐和氯酸盐的校准曲线

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	$Y=0.1157X+0.0568$	0.9996	1~100	95.8~104.8	0.3
氯酸盐	$Y=0.0530X-0.0446$	0.9996	2~200	90.1~107.6	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 0.09% ~ 0.31% 和 1.91% ~ 5.14% 之间，显示仪器精密度良好。

表 4 保留时间 (R. T.) 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	0.21	3.93
	10	0.16	3.55
	25	0.09	1.91
氯酸盐	10	0.31	5.14
	20	0.27	3.68
	50	0.11	3.34

2.4 加标回收率实验

准确称取某婴儿配方牛奶粉样品，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 9.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 44.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。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 37.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，氯酸盐的加标浓度分别为 75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。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	37.5	97.9
	75	101.0
	150	102.3
氯酸盐	75	108.7
	150	109.0
	300	99.4

■ 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用同时测定牛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 95.8% ~ 104.8% 和 90.1% ~ 107.6% 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，且准确度高，可用于婴幼儿配方牛奶粉中高氯酸盐和氯酸盐残留量的快速测定。

岛津应用云

