

离子色谱-串联质谱检测牛奶和婴幼儿配方乳粉中的氯酸盐和高氯酸盐

张明辉, 贾 舸, 乔为仓, 赵军英, 王亚玲, 陈历俊*

(北京三元食品股份有限公司, 国家母婴乳品健康工程技术研究中心, 北京市乳品工程技术研究中心, 母婴研究技术创新中心 北京 100163)

摘要 为建立高效阴离子交换色谱-串联质谱法检测牛乳和婴儿配方粉中高氯酸盐和氯酸盐的方法,通过优化沉淀蛋白试剂和婴儿配方粉的纯化条件,用乙腈沉淀蛋白,离子色谱前处理柱净化上清液,使用 Dionex IonPac AS19 高效阴离子色谱柱分离,以氢氧化钾淋洗液进行梯度洗脱,流速 0.35 mL/min,进样体积 50 μ L,柱温 30 $^{\circ}$ C,采用质谱检测器检测。结果表明:在该试验条件下,高氯酸盐和氯酸盐能够很好地分离,且在较宽的浓度范围与其对应的定量离子峰面积呈良好的线性关系($R^2>0.999$)。高氯酸盐和氯酸盐的检出限分别为 7 ng/L 和 1.7 ng/L,定量限分别为 20 ng/L 和 5 ng/L。牛乳和婴儿配方粉的加标回收率在 88.95%~102.33%范围,RSD 在 1.86%~3.21%范围。该方法样品处理简单,具有较低的检出限与定量限,较好的稳定性,良好的重复性与回收率,能广泛用于牛奶及婴幼儿配方奶粉的检测。

关键词 离子色谱-串联质谱;高氯酸盐;氯酸盐;婴幼儿配方奶粉

文章编号 1009-7848(2022)09-0239-09 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2022.09.025

氯酸盐和高氯酸盐是一种持续性的环境污染物。氯酸盐是使用液氯、二氧化氯和次氯酸盐消毒时产生的副产物^[1-3]。婴幼儿配方奶粉中的氯酸盐残留主要来源于含有氯酸盐的生产用水和加工设备消毒^[4-6]。高氯酸盐是国际上广泛关注的环境污染物^[7-8]。乳品中高氯酸盐可能来源于饲料和饮水的源头污染^[9-10],包括肥料的施用、氯类消毒剂的降解、氯类杀菌剂、除草剂的施用等^[11-12]。氯酸盐可影响人体的血液系统和甲状腺系统,从而影响人体健康;高氯酸盐可以竞争性结合钠/碘转运体(NIS),从而干扰人体正常代谢,尤其对孕妇及婴儿健康有较大威胁^[13-15]。2020年5月25日,欧盟委员会发布(EU)2020/685号条例,修订高氯酸盐在婴儿配方奶粉、后续配方奶粉、婴幼儿专用医疗食品和幼儿配方奶粉最大残留限量 0.01 mg/kg,婴儿食品最大残留限量 0.02 mg/kg^[16-18]。研究牛奶和婴幼儿配方乳粉中氯酸盐和高氯酸盐的定量分析方法具有重要意义。

目前,关于氯酸盐和高氯酸盐的检测方法主要有分光光度计法、拉曼光谱法、高效液相色谱-串联质谱法、离子色谱法及离子色谱-质谱法^[19]。分光光度计法前处理步骤繁琐且灵敏度低,仅适用于高含量物质的测定。拉曼光谱法本身信号强度较弱,导致其检测的灵敏度较低,检出限无法满足大部分食品中高氯酸盐含量的测定。液相色谱-质谱法灵敏度高、选择性好,具有灵敏、准确、线性范围广,可同时测定多种组分等优点,可用于食品中多种离子的同时检测^[20-22],然而,由于其流动相多为无机盐类,长期检测对离子源有一定污染,从而影响长期分析稳定性。离子色谱法的电导检测器的选择性较差,检测液体乳等基质复杂的样品时容易造成假阳性。由于婴幼儿配方奶粉的基质比较复杂,因此使得常规的离子色谱法和液相色谱-串联质谱法不再适用于奶粉中高氯酸盐含量的检测^[23]。而离子色谱-串联质谱法的流动相在经过色谱柱后,通过抑制器去除其中的碱,再进入质谱检测器,提高了检测灵敏度,也避免了非挥发性碱对质谱检测器造成的伤害^[24]。该方法灵敏度高,前处理方法简便。本文拟优化前处理方法,采用离子色谱-串联质谱技术建立牛奶和婴幼儿配方奶粉中氯酸盐和高氯酸盐含量的检测方法,为氯酸盐和高氯酸盐的食品安全风险评估提供技术支持。

收稿日期: 2022-07-27

基金项目: 家畜产业技术体系北京市创新团队项目;国家重点研发计划项目(2021YFD2100700);北京市科技专项(Z201100002620005)

作者简介: 张明辉(1983—),女,硕士生,高级工程师

通信作者: 陈历俊 E-mail: chenlijun@sanyuan.com.cn

1 材料与方法

1.1 样品与试剂

婴儿配方奶粉(I段、II段、III段),市售;氯酸钠、高氯酸钠(分析纯),美国 sigma 公司;甲醇、乙腈(色谱纯),赛默飞世尔科技有限公司;试验用水为超纯水。

1.2 仪器与设备

Dionex ICS-6000 离子色谱,美国 Thermo Scientific 公司,配有四元梯度泵、抑制型电导检测器、EGC 500 KOH 淋洗液自动发生器、ADRS 600 2 mm 阴离子抑制器、XCalibur 色谱工作站;色谱柱,美国 Thermo Scientific 公司:IonPac AS19, 7.5 μm , 250 mm \times 2 mm (P/N:062886); IonPac AG19,

11 μm , 250 mm \times 2 mm (P/N:062888); TSQ Quantiva 三重四极杆串联质谱系统(MS/MS), 美国 Thermo Scientific 公司,配有电喷雾离子化源(ESI)和 TSQ Quantiva 3.0 Tune 工作软件; OnGuard II RP 前处理小柱, 美国 Dionex 公司; Milli-Q.A10 超纯水净化器, 美国 MILLIPORE 公司; 0.22 μm 滤膜, Agela 公司; 电子天平 AL104, 梅特勒-托利多仪器有限公司高速冷冻离心机 3K-15, 美国 Sigma 公司; 恒温水浴锅 Polystat K6, 德国 Huber 公司。

1.3 标准溶液配制

称取一定质量的标品,将高氯酸盐、氯酸盐分别溶于超纯水中,并按表 1 中的质量浓度配制混合标准系列工作液。

表 1 标准系列工作液中高氯酸盐和氯酸盐的质量浓度

Table 1 Mass concentrations of perchlorate and chlorate in standard series working solutions

分析组分	浓度范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	标准系列工作液组分质量浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$					
高氯酸盐	0.1~2	0.1	0.2	0.5	0.8	1	2
氯酸盐	0.5~10	0.5	1	2	5	8	10

1.4 样品前处理

1.4.1 牛乳 吸取 1 mL 牛乳于 10 mL 离心管中,加入 4 mL 乙腈沉淀蛋白,涡旋振荡 2 min 后,在 4 $^{\circ}\text{C}$,以 8 000 r/min 转速离心 10 min,取上清液 1 mL 加入 9 mL 去离子水稀释后,过 0.22 μm 的尼龙滤膜,取 5 mL 滤液备用。

RP 小柱活化方法:用 10 mL 甲醇和 5 mL 去离子水将 RP 小柱淋洗活化。将上述滤液以 1 mL/min 的速率通过 RP 小柱净化,弃去初滤液,流出液经 0.22 μm 膜过滤,上机分析。

1.4.2 婴幼儿配方乳粉 精确称量 1 g 奶粉于 4 mL 超纯水中,加热至 50 $^{\circ}\text{C}$,使奶粉充分溶解。按 1.4.1 节的方法对复溶婴幼儿配方乳粉进行处理。

1.5 色谱条件

采用 IonPac AS19, 7.5 μm , 250 mm \times 2 mm 分析柱; IonPac AG19, 11 μm , 250 mm \times 2 mm 保护柱; 抑制器温度: 35 $^{\circ}\text{C}$; Legacy 模式, 61 mA 电流。流速: 0.35 mL/min; 进样量: 50 μL ; AXP 泵外接水模式, 流速: 0.8 mL/min; 流动相 A: 超纯水。采用 EGC 淋洗液自动发生器产生的高纯 KOH 溶液, 浓度梯度洗脱程序见表 2。

表 2 梯度洗脱程序表

Table 2 Gradient elution procedure

时间/min	浓度/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
0.00	15
10.00	15
10.1	70
20	70
20.1	15
25	15

1.6 质谱条件

TSQ Quantiva 串联质谱联用仪; ESI 负离子模式; Negative Ion (V): 3 000 (V); Sheath gas (Arb): 45; Aux Gas (Arb): 10; Sweep Gas (Arb): 2; 离子传输管温度 ($^{\circ}\text{C}$): 320; Vaporizer Temp ($^{\circ}\text{C}$): 400; 多反应监测 (SRM) 模式。

1.7 精密度和回收率测定

精密度: 取 1 $\mu\text{g/L}$ 的高氯酸盐和 1 $\mu\text{g/L}$ 的氯酸盐标品溶液按 1.5 节色谱条件连续进样 6 次, 进行重复测定。

回收率: 取牛乳和婴儿配方粉样品, 分别按表 8 加入低、中、高浓度的标品, 取牛奶样品, 第 1 组

加入高氯酸盐 0.06 $\mu\text{g/L}$, 加标量分别为 1, 5, 10 $\mu\text{g/L}$; 第 2 组加入氯酸盐 4.43 $\mu\text{g/L}$, 加标量分别为 10, 15, 20 $\mu\text{g/L}$ 。取婴幼儿配方奶粉样品, 第 1 组加入高氯酸盐 8.53 $\mu\text{g/L}$, 加标量分别为 5, 10, 20 $\mu\text{g/L}$; 第 2 组加入氯酸盐 98.87 $\mu\text{g/L}$, 加标量分别为 50, 100, 200 $\mu\text{g/L}$ 。然后按 1.4 节样品前处理和 1.5 节色谱方法检测高氯酸盐、氯酸盐含量, 平行测定 3 次, 取其平均值, 计算方法的回收率和相对标准偏差。

2 结果与分析

2.1 色谱条件优化

2.1.1 色谱柱优化 试验分别考察了 Dionex

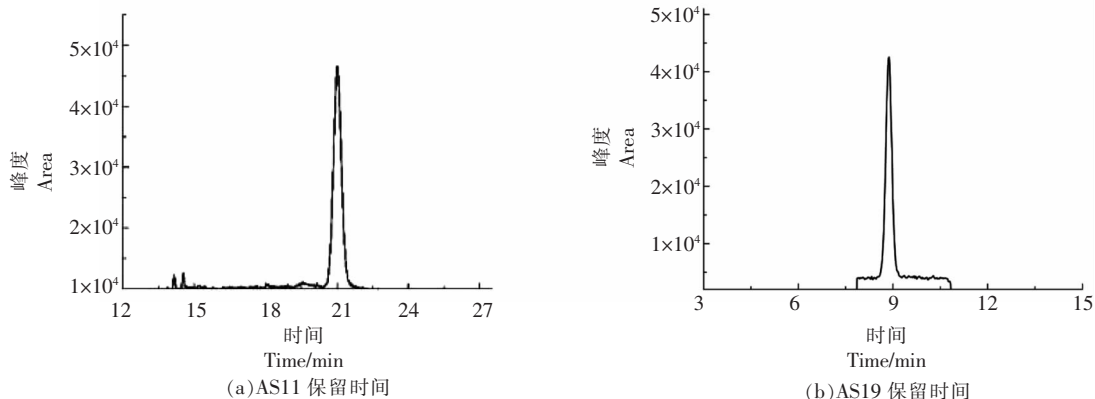


图 1 高氯酸盐在 AS11、AS19 色谱柱的保留时间

Fig.1 Retention time of perchlorate in AS11 column and AS19 column

2.1.2 洗脱程序优化 以 EGC 在线产生 KOH 为淋洗液, 优化了 KOH 淋洗液浓度, 对比了 50, 70, 100 mmol/L 等浓度, 随着淋洗液浓度升高, 保留时间缩短, 但背景基线也会更高, 见图 2。最终选择梯度洗脱方式, 氢氧化钾浓度从 15 mmol/L 到 70 mmol/L 梯度洗脱, 该模式下两组分可以得到很好的分离, 并避免了一直选择高浓度碱液对仪器的影响。淋洗液经抑制器 61 mA 电抑制后, 进入质谱检测器, 从而消除无机酸和碱对质谱检测器的影响。

2.1.3 检测器选择优化 食品中高氯酸盐、氯酸盐等的测定主要采用离子色谱法, 检测器主要有电导检测器和质谱检测器。分别取 10 $\mu\text{g/L}$ 混标通过两种检测器上机对比分析, 由图 3 可知氯酸盐

IonPac AS19 色谱柱与 Dionex IonPac AS11 色谱柱的分离效果, 见图 1。由于 AS11 色谱柱疏水性较强, 高氯酸盐在 AS11 色谱柱上具有较强的保留性, 当淋洗液氢氧化钾溶液的浓度为 100 mmol/L (淋洗液自动发生器在线产生的最高浓度) 时, 高氯酸盐的保留时间超过 30 min, 且色谱峰形较差。与 AS11 色谱柱相比, AS19 色谱柱具有更强的亲水性, 当淋洗液发生器产生 100 mmol/L 氢氧化钾溶液进行洗脱时, 高氯酸盐保留时间为 15 min。同时 IonPac AS19 分析柱的柱容量大、背景低。所以选择以 IonPac AS19 为分析柱, IonPac AG19 为保护柱。

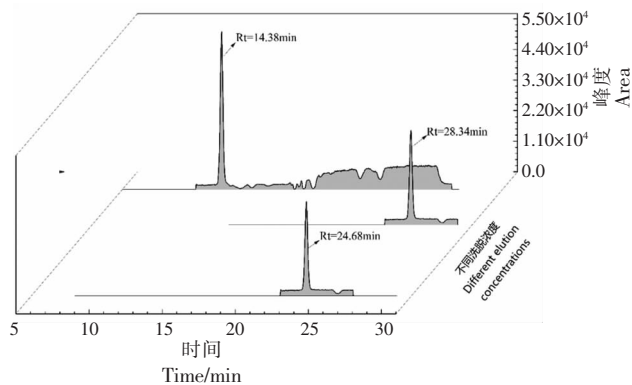
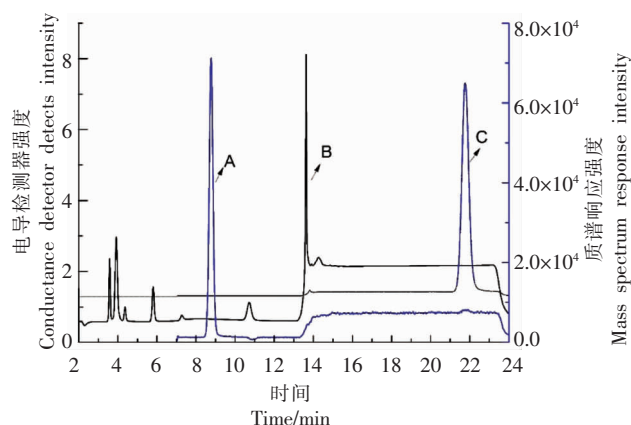


图 2 不同洗脱浓度下高氯酸盐的保留时间

Fig.2 Retention time of perchlorate at different elution concentrations

(A) 的保留时间为 8.8 min, 高氯酸盐 (C) 保留时间为 21.9 min, 电导检测器在相同时间未出峰。对比



注:A、C分别为质谱采集的氯酸盐和高氯酸盐的MRM谱图;B为同时检测的电导检测器色谱图。

图3 高氯酸盐、氯酸盐混标电导检测色谱图与质谱图
Fig.3 Chromatogram of IC-CD and MRM spectrometry of perchlorate and chlorate

结果表明:质谱检测器测定高氯酸盐、氯酸盐的灵敏度高于电导检测器约1000倍。

2.2 质谱分析条件优化

首先针泵连续直接进样,吸取500 μL 质量浓度为10 $\mu\text{g/L}$ 的氯酸钠和高氯酸钠混标溶液,针泵流速为20 $\mu\text{L/min}$ 。ESI负离子模式,扫描方式为

Q1全扫模式,通过优化电压和载气流量,分别确定了高氯酸根(m/z 99)和氯酸根(m/z 83.8)的母离子信息。在电喷雾负离子扫描模式下,高氯酸盐标准溶液经质谱扫描后会产生(m/z)99和(m/z)101两种母离子。由于自然界中 ^{35}Cl 含量为 ^{37}Cl 的3倍, $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}_4^-$ 的含量较高,试验选择(m/z)99作为高氯酸盐定性及定量的母离子。母离子经质谱碰撞后分别丢失一个氧原子和两个氧原子产生 $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}_3^-$ 和 $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}_2^-$ 两种碎片离子,其对应的子离子分别为(m/z)83.2、(m/z)67.3,选择响应强度较大的碎片(m/z)99/83作为高氯酸盐定量离子对,选择(m/z)101/85作为定性离子^[25]。同样,氯酸盐溶液经电喷雾负离子扫描后,产生(m/z)83.8、(m/z)85两种母离子;以(m/z)83.8为母离子进行二级质谱扫描,选择响应强度较大的碎片离子(m/z)83.8/67作为氯酸盐定量碎片离子(m/z),85/69作为定性离子^[26-27]。进而分别对两对离子对进行其它条件优化。分别优化碰撞能量(v)、RF lens(V)等参数(见表3),选择最优参数使得信号稳定、灵敏度达到最佳。经过条件优化,高氯酸盐和氯酸盐能达到很好的分离和检测。为减少对质谱的污染,进样程序采用切换溶液进质谱方式,见表4。

表3 高氯酸盐和氯酸盐质谱参数

Table 3 MS parameters of perchlorate and chlorate

化合物	离子模式	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能量/ V	透镜电压/ V
氯酸盐	negative	83.8	67*	21	69
氯酸盐	negative	85	69	21	69
高氯酸盐	negative	99	83*	26	70
高氯酸盐	negative	101	85	26	70

注:*为定量离子。

表4 质谱进样切换程序

Table 4 MS or WASTE

时间/ min	位置	方向
0	1~2	废液
7	1~6	质谱
24.5	1~2	废液

2.3 样品前处理优化

2.3.1 样品沉淀蛋白试剂优化 检测牛奶和婴幼儿配方奶粉样品中的氯酸盐和高氯酸盐含量,需要用有机试剂进行沉淀蛋白,在比较了甲醇和乙

腈的沉淀蛋白效果后发现使用甲醇和乙腈都可以很好的将蛋白沉淀,但是处理样本在4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜后,甲醇沉淀样本溶液中会有肉眼可见的絮状沉淀,乙腈沉淀样本可保持澄清,没有出现该状况。所以本试验选择乙腈沉淀蛋白。

有机溶剂用量不足,会影响蛋白沉淀效果,过高的有机试剂对离子色谱的基线有严重影响,试验对乙腈用量进行了优化。首先将乙腈直接加入婴幼儿配方奶粉中,取2 g样品直接加入20 mL乙腈,奶粉样品中蛋白质与乙腈接触后发生变质,在奶粉样品的外层形成包裹,阻止了奶粉样品的分

散,无法达到提取效果。因此,选择先将婴幼儿配方奶粉样品制成复原乳,再用乙腈提取的模式。试验对比了还原乳与乙腈的体积比分别为1:1、1:4和1:9时,高氯酸盐和氯酸盐的提取效果。结果表明:加大乙腈用量,可以得到更清澈的上清液,但是也增加了目标物的稀释倍数,加大了检测难度。由于高氯酸盐、氯酸盐在很多样品中的含量很低,稀释倍数过高会导致上机浓度低于检出限,造成假阴性。因此,选择1 mL 婴幼儿配方奶粉样品加入4 mL 乙腈提取时,不仅保证了提取效果,而且高氯酸盐、氯酸盐上机浓度均在检测范围内,且基线平稳。

2.3.2 净化柱的选择 分别选择不同净化柱 HLB 柱、C18 柱、RP 柱对样品提取液进行净化。HLB、C18、RP 柱都能得到澄清的待测液。因此,选用 HLB、C18、RP 柱做回收率试验,结果表明 RP 柱净化后的回收率最高,见表5。因此,本研究采用 RP 固相萃取柱作为前处理净化柱。

2.3.3 RP 柱净化效率试验优化 取5 mL 质量浓度为10 $\mu\text{g/L}$ 混标过 RP 小柱,分段截取溜出液,每管收集1 mL,共5管,上机检测。RP 净化柱洗脱效率,见表6。结果表明由于前段流出液中会掺

表5 不同固相萃取柱对回收率的影响

Table 5 Effects of different SPE columns

on recovery rates		
净化固相萃取柱	氯酸盐/%	高氯酸盐/%
HLB	88.3	86.4
C18	82.6	80.6
RP	98.3	92.9

表6 RP 净化柱洗脱效率

Table 6 Elution efficiency of RP purification column

管号	洗脱率/%
1	52.18
2	59.25
3	84.86
4	96.31
5	99.21

杂洗脱液,影响目标物浓度,所以应收集后2 min 的流出液上机。

2.4 方法学验证

2.4.1 标准曲线 在优化的最佳试验条件下,将配制好的标准系列工作液进样检测,以质量浓度为横坐标,以对应峰面积为纵坐标绘制标准曲线,计算标准曲线方程,结果见表7。

表7 高氯酸盐和氯酸盐的标准曲线和线性范围

Table 7 Linear range and standard curve of perchlorate and chlorate

分析组分	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	保留时间/min	线性方程	相关系数(R^2)	保留时间 RSD/%
高氯酸盐	0.1~2	22.3	$y=25.7585+2.237\times 10^6x$	0.9998	0.98%
氯酸盐	0.5~10	8.95	$y=1\ 323.77+1.195\times 10^6x$	0.9995	0.95%

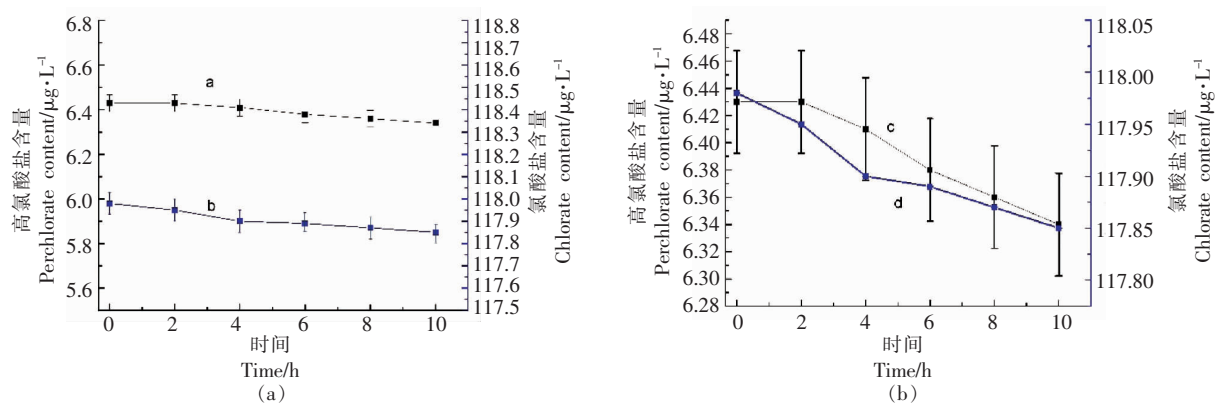
2.4.2 精密度试验 取1 $\mu\text{g/L}$ 的高氯酸盐和1 $\mu\text{g/L}$ 的氯酸盐标品溶液按1.5 节色谱条件连续进样6次,离子峰面积相对标准偏差(RSD)分别为1.06%和0.96%,表明此方法精密度良好。

2.4.3 检出限和定量限 取0.1 $\mu\text{g/L}$ 的高氯酸盐和0.5 $\mu\text{g/L}$ 的氯酸盐标品溶液上机分析。根据仪器信噪比和检出限的计算,该方法高氯酸盐检出限为7 ng/L,定量限为20 ng/L;氯酸盐检出限为1.7 ng/L,定量限为5 ng/L,与许小茜等^[12]建立的高效液相色谱质谱联用法相比,具有更低的检出限。

2.4.4 重复性 按1.4 节试验条件对牛奶和婴幼儿配方奶粉样品进行前处理,并按1.5 节色谱条件对其高氯酸盐、氯酸盐含量进行检测,每组试验

6个平行。结果显示,牛奶样品中高氯酸盐和氯酸盐的RSD分别为2.31%和3.45%,均小于5%($n=6$);婴幼儿配方奶粉样品中高氯酸盐和氯酸盐的RSD分别为2.1%和3.22%,均小于5%($n=6$),表明该检测方法具有良好的重复性。

2.4.5 稳定性 分别取1份婴幼儿配方奶粉样品,按1.4 节前处理条件处理后,分别在0,2,4,6,8,24,48,72,96 h 上机检测,平行测定3次,取其平均值。测得的样品含量如图4所示,样品各组分含量随时间增长无明显变化,其中样品8 h 的RSD均<0.4%,检测了4 d 的日间稳定性,其RSD均<2.21%,结果表明样品可以在较长时间保持稳定。



注:a.婴幼儿配方奶粉样品高氯酸盐;b.婴幼儿配方奶粉样品氯酸盐。

图4 婴幼儿配方奶粉样品中高氯酸盐和氯酸盐稳定性

Fig.4 Intraday and inter-day stability of perchlorate and chlorate in the samples of infant formula

2.4.6 加标回收率 取牛奶和婴幼儿配方奶粉样品,分别按表8加入低、中、高浓度的标品,按1.4节前处理方法和1.5节色谱方法检测高氯酸盐、氯酸盐含量,平行测定3次,取其平均值,计算回

收率。结果见表8,显示各组分RSD均<0.68%,回收率在82.00%~97.85%,表明该方法具有良好的回收率,能够准确地同时检测牛奶和婴幼儿配方奶粉样品中的高氯酸盐、氯酸盐含量。

表8 牛奶和婴儿配方粉样品加标回收率

Table 8 Spiked recoveries of milk and infant formula samples

样品	分析组分	样品质量浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	加标量/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	加标后测定值/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	加标回收率/%	RSD/%
牛奶	高氯酸盐	0.06	1	0.98	92.00	0.66
			5	4.16	82.00	
			10	9.78	97.20	
	氯酸盐	4.43	10	13.91	94.80	0.65
			15	18.39	93.07	
婴幼儿配方奶粉	高氯酸盐	8.53	5	13.22	93.80	0.67
			10	18.11	95.80	
			20	27.21	93.40	
	氯酸盐	98.87	50	146.27	94.80	0.68
			100	195.87	97.00	
			200	294.56	97.85	

2.4.7 样品分析 分别取牛奶样品20个、市售段婴幼儿配方奶粉(I、II、III)样品6个,采用本研究建立的IC-MS/MS方法进行高氯酸盐、氯酸盐检测,每个样品平行测定3次,外标法定量。20个牛乳样品中,高氯酸盐检出5个,含量范围在0.06~4.35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,氯酸盐检出4个,含量范围在2.43~13.49 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,其余均未检出。婴幼儿配方奶粉样品中,高氯酸盐均有不同程度的检出,含量范围在1.02~14.95 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。

3 结论

本研究通过对样品前处理条件和离子色谱及串联质谱参数的优化,建立了利用离子色谱-串联质谱法,同时测定牛奶和婴幼儿配方奶粉样品中高氯酸盐、氯酸盐含量的方法,该方法的回收率为82.00%~97.85%,RSD<0.68%,高氯酸盐、氯酸盐的检出限分别为7 ng/L和1.7 ng/L,定量限分别为20 ng/L和5 ng/L,表明该方法具有较好的重复性及稳定性,测定结果准确可靠。与传统的液相质谱

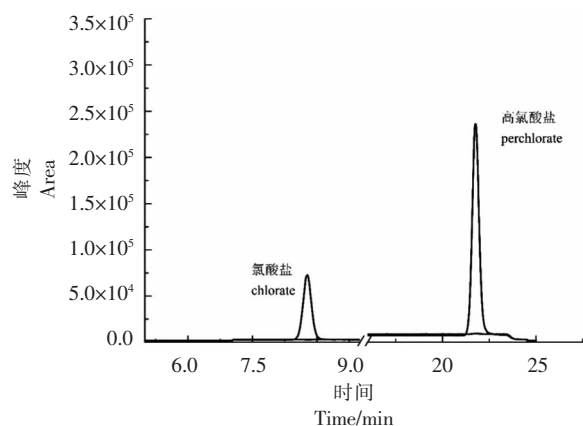


图5 婴幼儿配方奶粉样品谱图

Fig.5 Chromatograms of chlorate and perchlorate of infant formula samples

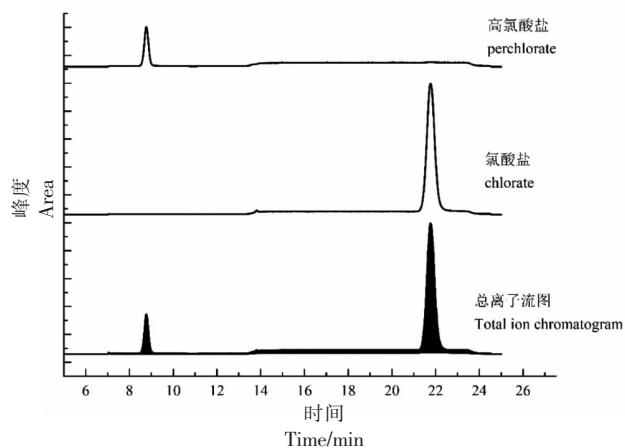


图6 10 µg/L 高氯酸盐、氯酸盐标品谱图

Fig.6 Spectrum of perchlorate and chlorate standard at 10 µg/L

法相比,该方法前处理简便,试验成本低,分析时间短,定性准确,回收率高,检出限低,灵敏度高,能够广泛应用于不同种类乳制品及婴幼儿配方奶粉中高氯酸盐、氯酸盐的定量与分析,为食品安全提供了技术保障。

参 考 文 献

- [1] PLEUS R C, COREY L M. Environmental exposure to perchlorate: A review of toxicology and human health [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2018, 358(3): 102–109.
- [2] 凌小芳, 李铭, 刘高. 食品中高氯酸盐的污染现状及检测技术研究进展[J]. *四川化工*, 2020, 23(6): 9–12.
- [3] LING X F, LI M, LIU G. Research progress of perchlorate contamination and detection technology in food[J]. *Sichuan Chemical Industry*, 2020, 23(6): 9–12.
- [3] 宋瑞, 李清清, 陆志芸. 食品中氯酸盐和高氯酸盐分析方法综述[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(21): 7115–7120.
- [3] SONG R, LI Q Q, LU Z Y. Review of analysis methods for chlorate and perchlorate in food [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2019, 10(21): 7115–7120.
- [4] CONSTANTINOU P, LOUCA-CHRISTODOULOU D, AGAPIOU A. LC-ESI-MS/MS determination of oxyhalides (chlorate, perchlorate and bromate) in food and water samples, and chlorate on household water treatment devices along with perchlorate in plants[J]. *Chemosphere*, 2019, 235(11): 757–766.
- [5] CALDERON R, GODOY E, ESCUDEY M, et al. A review of perchlorate (ClO₄⁻) occurrence in fruits and vegetables [J]. *Environmental Monitoring and Assessment: An International Journal*, 2017, 30(3): 289–301.
- [6] 张文婷, 华永有, 陆秋艳, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿配方奶粉中氯酸盐和高氯酸盐[J]. *卫生研究*, 2021, 50(4): 625–632.
- [6] ZHANG W T, HUA Y Y, LU Q Y, et al. Determination of chlorate and perchlorate in infant formula by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Health Research*, 2021, 50(4): 625–632.
- [7] 王飞, 高飞, 崔宗岩, 等. 离子色谱法测定乳粉中的高氯酸盐[J]. *中国无机分析化学*, 2017, 7(3): 8–11.
- [7] WANG F, GAO F, CUI Z Y, et al. Determination of perchlorate in milk powder by ion chromatography [J]. *Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry*, 2017, 7(3): 8–11.
- [8] 王浩, 贾婧怡, 张杉, 等. 液质联用法同时测定婴幼儿配方乳粉中氯酸盐和高氯酸盐残留[J]. *中国乳品工业*, 2019, 47(2): 48–50, 64.
- [8] WANG H, JIA J Y, ZHANG S, et al. Simultaneous determination of chlorate and Perchlorate residues in infant formula milk powder by liquid mass spectrometry [J]. *China Dairy Industry*, 2019, 47(2): 48–50, 64.

- [9] 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.
ZHANG S H, YING L, ZHANG S F, et al. Simultaneous determination of thiocyanates and perchlorates in vegetables by ultrasonic assisted hot water extraction and ion chromatography[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(7): 224-227.
- [10] 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): 10.
DENG J J, PAN H, ZHANG F S, et al. Tea perchlorate contamination and analysis technology [J]. Tea Science, 2019, 39(4): 10.
- [11] PISARENKO A N, STANFORD B D, QUIÑONES O, et al. Rapid analysis of perchlorate, chlorate and bromate ions in concentrated sodium hypochlorite solutions[J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 659(1/2): 216-223.
- [12] 许小茜, 李清清, 顾颖娟. 高效液相色谱联用质谱法测定羊奶粉中的氯酸盐和高氯酸盐[J]. 分析仪器, 2020, 10(5): 52-57.
XU X Q, LI Q Q, GU Y J. Determination of chlorate and perchlorate in sheep milk powder by high performance liquid Chromatography combined with mass spectrometry[J]. Analytical Instruments, 2020, 10(5): 52-57.
- [13] CHAIN E P O C I. Risks for public health related to the presence of chlorate in food[J]. Efsa Journal, 2016, 13(6): 4135-4135.
- [14] SONG S, RUAN J, BAI X, 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]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 174(6): 175-180.
- [15] ALOMIRAH H F, KANNAN K, ALASWAD M C, et al. Widespread occurrence of perchlorate in water, foodstuffs and human urine collected from Kuwait and its contribution to human exposure [J]. Food Additives & Contaminants, 2016, 33(6): 1016-1025.
- [16] European Food Safety Authority. Risks for public health related to the presence of chlorate in food EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM)[J]. EFSA J, 2015, 13(6): 4135.
- [17] KATHARINA V, ROLAND G, HERMANN U, et al. Risk assessment of dietary exposure to perchlorate for the Austrian population[J]. Food Additives & Contaminants, 2018, 35(4): 624-632.
- [18] Commission E. Commission Regulation (EC).No 1881/2006.Setting Maximum Levels for Certain Contaminants in Foodstuffs[S]. European Union: FAO, FAOLEX, 2006.
- [19] 国家食品药品监督管理总局. 食品中氯酸盐和高氯酸盐的测定: BJS201706[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
State Food and Drug Administration. Determination of chlorate and perchlorate in food: BJS201706[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [20] 吴映璇, 林峰, 谢敏玲, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定乳制品中高氯酸盐[J]. 中国食品卫生杂志, 2017, 29(2): 160-164.
WU Y X, LIN F, XIE M L, et al. Determination of perchlorate in dairy products by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2017, 29(2): 160-164.
- [21] 才凤, 贾宏新, 周明, 等. 反相超高效液相色谱-串联质谱法测定大米中氯酸盐和高氯酸盐[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(23): 7853-7857.
CAI F, JIA H X, ZHOU M, et al. Determination of chlorate and perchlorate in rice by reversed-phase ULTRA-high performance Liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2019, 10(23): 7853-7857
- [22] CONSTANTINOU P, LOUCA-CHRISTODOULOU D, AGAPIOU A. LC-ESI-MS/MS determination of oxyhalides (chlorate, perchlorate and bromate) in food and water samples, and chlorate on household water treatment devices along with perchlorate in plants[J]. Chemosphere, 2019, 235(11): 757-766.
- [22] 刘丽菁, 杨艳, 张文婷, 等. 离子色谱法同时测定饮用水中亚氯酸盐, 氯酸盐和高氯酸盐[J]. 理化检验: 化学分册, 2021, 57(3) 247-251.
LIU L J, YANG Y, ZHANG W T, et al. Simultaneous determination of chlorite, chlorate and perchlorate in drinking water by ion chromatography[J]. Physical and chemical Testing: Chemistry, 2021, 57(3): 247-251.
- [23] 朱伟, 宁啸骏, 秦宇. 离子色谱串联质谱法测定婴幼儿配方奶粉中氯酸盐和高氯酸盐[J]. 食品安全质

- 量检测学报, 2019, 10(11): 3474-3480.
- ZHU W, NING X J, QIN Y. Determination of chlorate and perchlorate in infant formula by ion chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2019, 10(11): 3474-3480.
- [24] 宋瑞, 李清清, 陆志芸. 食品中氯酸盐和高氯酸盐分析方法综述[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(21): 6. 7115-7120.
- SONG R, LI Q Q, LU Z Y. Review of methods for analysis of chlorate and perchlorate in food[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2019, 10(21): 6. 7115-7120.
- [25] ARIBI H E, BLANC Y, ANTONSEN S, et al. Analysis of perchlorate in foods and beverages by ion chromatography coupled with tandem mass spectrometry (IC-ESI-MS/MS)[J]. Analytica Chimica Acta, 2006, 567(1): 39-47.
- [26] 郑雯静, 闻自强, 沈昊宇, 等. 高氯酸盐的来源, 危害及其检测方法研究进展[J]. 环境科学与技术, 2018, 41(S1): 103-108.
- ZHENG W J, WEN Z Q, SHEN H Y, et al. Research progress on sources, hazards and detection methods of perchlorate[J]. Environmental Science & Technology, 2018, 41 (S1): 103-108.
- [27] 梁志森, 岑建斌, 区硕俊. 同位素稀释超高效液相色谱-串联质谱法同时测定液态乳中的高氯酸盐和氯酸盐[J]. 当代化工, 2019, 48(7): 4.
- LIANG Z S, CEN J B, OU S J. Simultaneous determination of perchlorates and chlorates in liquid milk by isotope dilution ULTRA performance Liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Contemporary Chemical Industry, 2019, 48(7): 4.

Determination of Perchlorate and Chlorate in Milk and Infant Formula Powder by Ion Chromatography – Tandem Mass Spectrometry

Zhang Minghui, Jia Ge, Qiao Weicang, Zhao Junying, Wang Yaling, Chen Lijun*

(Beijing Sanyuan Foods Co., Ltd., National Engineering Research Center of Dairy Health for Maternal and Child, Beijing Engineering Research Center of Dairy, Beijing Technical Innovation Center of Human Milk Research, Beijing 100163)

Abstract A method for the determination of perchlorate and chlorate in bovin milk and infant formula by high performance anion exchange chromatography-tandem mass spectrometry was developed. It was optimized about the protein precipitation reagent and the purification conditions of infant formula. The protein was precipitated by acetonitrile and the supernatant was purified by ion chromatographic pretreatment column. The separation was performed on a Dionex IonPac AS19 high performance anion column with gradient elution using potassium hydroxide eluent at the flow rate of 0.35 mL/min. The injection volume was 50 μ L. The column temperature was 30 $^{\circ}$ C. The results showed that the perchlorate and chlorate could be separated well under the experimental conditions and showed a good linear relationship with its corresponding quantitative ion peak area in a wide concentration range ($R^2 > 0.999$). The limits of detection for perchlorate and chlorate were 7 ng/L and 1.7 ng/L, respectively, and the limits of quantification were 20 ng/L and 5 ng/L. The recoveries of milk and infant formula were 88.95%~102.33%, and the RSDs were 1.86%~3.21%. This method has the advantages of simple sample processing, low limit of detection, low limit of quantification, good stability, good repeatability and recovery, and could be widely used in the detection of milk and infant powder.

Keywords ion chromatography – tandem mass spectrometry; perchlorate; chlorate; infant formula