

# 高效液相色谱-串联质谱法测定大米中高氯酸盐含量

戴玉婷, 赵琴\*, 朱伟, 曹扬

(上海市质量监督检验技术研究院, 上海 200233)

**摘要:** **目的** 建立高效液相色谱-串联质谱法测定大米中高氯酸盐的含量。**方法** 样品提取液经过固相萃取柱快速净化处理后去除基质干扰物, 采用 Thermo Acclaim TRINITY P1 色谱柱分离, 以乙腈-20 mmol/L 甲酸铵为流动相进行梯度洗脱, 流速为 0.3 mL/min, 柱温 30 °C, 外标法定量检测。**结果** 在高氯酸盐浓度为 1.0~100.0 ng/mL 的范围内的线性相关系数较好( $r=0.999$ ), 检出限为 4.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 定量限为 10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 高、中、低 3 个浓度水平的加标回收率在 82.3%~93.2%之间, 测定值的相对标准偏差小于 5%( $n=6$ )。**结论** 该方法简便快捷、灵敏可靠, 适用于大米中高氯酸盐的快速检测。

**关键词:** 高效液相色谱-串联质谱法; 电喷雾离子源; 大米; 高氯酸盐

## Determination of perchlorate in rice by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

DAI Yu-Ting, ZHAO Qin\*, ZHU Wei, CAO Yang

(Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, Shanghai 200233, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for determination of perchlorate in rice by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods** The sample extract was quickly purified by a solid phase extraction column to remove matrix interferences. The samples were separated with a Thermo Acclaim TRINITY P1 column at the flow rate of 0.3 mL/min by gradient elute using acetonitrile and 20 mmol/L ammonium formate as mobile phase. The flow rate was 0.3 mL/min, and the column temperature was 30 °C. The external standard method was used for quantitative determination. **Results** The linear correlation coefficient was good in the range of perchlorate concentration of 1.0 to 100.0 ng/mL ( $r=0.999$ ). The limit of detection of method was 4.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , and the limit of quantification of method was 10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . When the recoveries at 3 levels ranged from 82.3% to 93.2%, the values of the relation standard deviation were less than 5% ( $n=6$ ). **Conclusion** This method is simple, rapid, sensitive and reliable, and is suitable for the rapid detection of perchlorate in rice.

**KEY WORDS:** high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; electrospray ionization; rice; perchlorate

基金项目: 上海市科学技术委员会科研计划项目(17DZ2201200)、上海市质量技术监督局科研项目(2017-21)

Fund: Supported by the Shanghai Science and Technology Commission Research Project(17DZ2201200) and the Shanghai Municipal Bureau of Quality and Technology Supervision Research Project (2017-21)

\*通讯作者: 赵琴, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: zhaoqin@sqi.org.cn

\*Corresponding author: ZHAO Qin, Engineer, Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, No.381, Cangwu Road, Shanghai 200233, China. E-mail: zhaoqin@sqi.org.cn

## 1 引言

高氯酸盐是一种持久性的无机污染物。环境中的高氯酸盐主要有自然来源和人为污染 2 部分。其中自然来源主要包括阿塔卡马沙漠的智利硝石<sup>[1,2]</sup>(被广泛用作化肥原料)等, 而人为污染主要来自于工业生产排放, 在火箭燃料、军工业生产、烟花爆竹等行业高氯酸盐均是常用的高稳定性安全氧化剂<sup>[3,4]</sup>。

环境中的高氯酸盐降解过程十分缓慢, 往往需要几十年甚至更长的时间<sup>[5]</sup>。这些高氯酸盐易迁移至地表水<sup>[6,7]</sup>, 进而污染土壤<sup>[8]</sup>、灌溉水等, 经水稻、小麦、蔬菜等农作物的吸收富集, 通过食物链进入人体<sup>[9,10]</sup>。由于高氯酸盐的离子结构和价态与碘离子极为相似, 因此会与碘离子竞争进入人体甲状腺, 从而影响甲状腺功能, 导致人体新陈代谢功能紊乱<sup>[11]</sup>。水稻是我国重要的粮食作物之一, 其产物大米在人们的主食结构中占据着巨大的主导地位, 它的食用安全性对我国民众的生活健康具有重大影响。因此, 开展大米中高氯酸盐的定量分析及监测具有重要意义。

目前, 高氯酸盐检测方法的研究主要集中在环境样品及饮用水方面, 常见的检测方法有离子色谱电导法<sup>[12]</sup>、离子色谱-串联质谱法<sup>[13]</sup>和液相色谱-串联质谱法<sup>[14]</sup>等。其中离子色谱电导法是检测饮用水中高氯酸盐的主流方法, 但该方法易受基质中较高浓度的氯离子和硫酸根离子干扰, 难以准确地对样品中的高氯酸盐进行定性、定量分析<sup>[15]</sup>。离子色谱-串联质谱法克服了离子色谱电导法的不足, 但其流动相多为无机酸碱, 不适合直接进入离子源, 需经过抑制法转换成 H<sub>2</sub>O, 检测成本较高, 操作复杂, 且离子色谱仪与质谱仪的联用设备较少且价格昂贵, 难以普及<sup>[12]</sup>。另由于稻谷属于天然农作物, 其加工产品大米的成分比较复杂, 上述的离子色谱电导法和离子色谱-串联质谱法均不适用于大米中高氯酸盐的检测。

本研究拟采用高效液相色谱-串联质谱法 (high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS) 对大米中高氯酸盐的含量进行测定, 建立高效、灵敏度高、稳定性好的检测方法, 为国家食品监督机构开展高氯酸盐的食品安全风险评估提供依据。

## 2 材料与方 法

### 2.1 仪器、试剂与材料

TQ-XS 高效液相色谱-串联质谱仪(美国 Waters 公司); Milli-Q 超纯水发生器(美国 Milli-Q 公司); D-91126 Schwabach 旋涡振荡仪(德国 Heidolph 公司); Centrifuge 5804 高速离心机(Eppendorf 公司); SK8210LHC 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司); Waters Oasis PRiME HLB 固相萃取柱(3 cc, 150 mg, 美国 Waters 公司)。

乙腈、甲醇(色谱纯, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司); 甲酸铵(色谱纯, 美国 Anaqua 公司)。

被测大米样品共 23 批次, 其中 8 批次来自黑龙江, 5 批次来自江苏北部, 3 批次来自上海, 5 批次来自辽宁, 2 批次来自广东; 23 批次样品中粳米为 21 批次, 籼米为 2 批次。

### 2.2 溶液的配制

1.00 mg/L 高氯酸钠标准储备溶液: 称取 NaClO<sub>4</sub> 标准品(纯度大于 98%)0.10 mg 于 100 mL 容量瓶中, 用超纯水溶解并稀释至刻度, 于 4 °C 冰箱中保存, 备用。

1.00 mg/L 高氯酸钠内标储备溶液: 称取内标物 NaCl<sup>18</sup>O<sub>4</sub> 标准品(纯度大于 98%)0.10 mg 于 100 mL 容量瓶中, 用超纯水溶解并稀释至刻度, 于 4 °C 冰箱中保存, 备用。

20 mmol/L 甲酸铵溶液: 称取 0.63 g 甲酸铵, 用超纯水溶解并稀释至 500 mL, 混匀。

### 2.3 实验方法

#### 2.3.1 液相色谱条件

色谱柱: Thermo Acclaim TRINITY P1(50 mm × 2.1 mm, 3 μm); 柱温: 30 °C; 进样体积: 10 μL; 流速: 0.3 mL/min; 梯度淋洗条件见表 1。

表 1 梯度洗脱条件  
Table 1 Gradient elution condition

时间/min	流动相	
	A: 乙腈/%	B: 20 mmol/L 甲酸铵/%
0.0	40	60
0.5	40	60
4.0	65	35
5.0	90	10
6.0	90	10
8.0	40	60

#### 2.3.2 质谱条件

离子源: 电喷雾电离 ESI(-); 毛细管电压: 2.0 kV; 离子源温度: 150 °C; 脱溶剂温度: 400 °C; 脱溶剂气流量: 800 L/h; 锥孔气流量: 150 L/h; 采用多反应监测(multi-reaction monitor, MRM)模式采集数据。质谱参数见表 2。

表 2 高氯酸盐的质谱参数  
Table 2 Mass spectrometric parameters of perchlorate

化合物	RT/min	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	锥孔电压 /V	碰撞能量 /V
高氯酸根	4.69	99.0	83.0*	60	18
		101.0	85.0	60	18
高氯酸根内标	4.69	107.0	89.0*	60	18

注: “\*”为定量离子

## 2.4 样品前处理

称取大米样品 2.0 g, 置于离心管中, 加入 100.0  $\mu\text{L}$  高氯酸钠内标储备溶液, 准确加入 7.0 mL 超纯水, 涡旋振荡 5 min, 准确加入 13.0 mL 甲醇, 混匀, 振荡超声提取 30 min, 10000 r/min 高速(常温)离心 10 min, 取上清液过柱净化, 流出液过滤膜后, 用液相色谱-串联质谱仪进行测定。

## 2.5 高氯酸盐含量的计算

为了校准和消除由于试验操作条件的波动而引起的实验结果误差, 本试验选用  $\text{NaCl}^{18}\text{O}_4$  作为内标物进行内标法定量。通过测得样品中高氯酸盐与  $\text{NaCl}^{18}\text{O}_4$  的峰面积比值, 在标准曲线上查得样品溶液中高氯酸盐与  $\text{NaCl}^{18}\text{O}_4$  的质量浓度比值, 再按下式(1)计算样品中高氯酸盐的含量:

$$X = \frac{R \times c \times V}{m} \times \frac{1000}{1000} \quad (1)$$

式中:  $X$  为样品中高氯酸盐的质量分数,  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ;  $R$  为由标准曲线计算得到的样品溶液中高氯酸盐与  $\text{NaCl}^{18}\text{O}_4$  的质量浓度比值;  $c$  为样品溶液中  $\text{NaCl}^{18}\text{O}_4$  的质量浓度,  $\mu\text{g}/\text{L}$ ;  $V$  为样品的定容体积, mL;  $m$  为样品的称样量, g。

## 3 结果与分析

### 3.1 样品前处理方法的选择

试验比较了甲醇、乙腈等不同有机溶剂的提取效果, 结果显示甲醇和乙腈的提取效率都较高, 考虑到在实际操作中甲醇更经济, 因此选用甲醇作为提取溶剂。超声提取

时间对实验结果也存在较大影响, 为此本实验分别考察了超声 10、30、50 min 时的提取效率, 结果见表 3, 数据显示当超声 30 min 后样品回收率已经能够满足检测要求, 在此基础上再延长超声时间对回收率的影响不大, 因此综合考虑各种影响因素, 最终样品提取方法选定为甲醇超声提取 30 min。

表 3 超声时间对实验回收率的影响

Table 3 Effects of ultrasonic time on the recoveries

超声时间/min	加标量/ $\mu\text{g}/\text{kg}$	测定值/ $\mu\text{g}/\text{kg}$	平均回收率/%
10	100	83.7	83.7
30	100	93.2	93.2
50	100	93.8	93.8

### 3.2 液相条件的优化

试验中分别比较了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-20 mmol/L 甲酸铵溶液、乙腈-20 mmol/L 甲酸铵溶液这几种流动相对目标化合物离子化程度的影响, 结果表明在流动相中加入了甲酸铵溶液后, 质谱的离子化效果明显得到改善, 检测的灵敏度也大大提高, 另一方面乙腈的洗脱效果较强, 优于甲醇, 因此, 最终选定乙腈-20 mmol/L 甲酸铵作为流动相。另外, 相对于等度洗脱, 采用梯度洗脱时高氯酸盐的出峰时间较短, 并且经梯度洗脱能有效地去除色谱柱中残留的杂质, 于是本实验选择梯度洗脱进行分析, 所得色谱图见图 1。

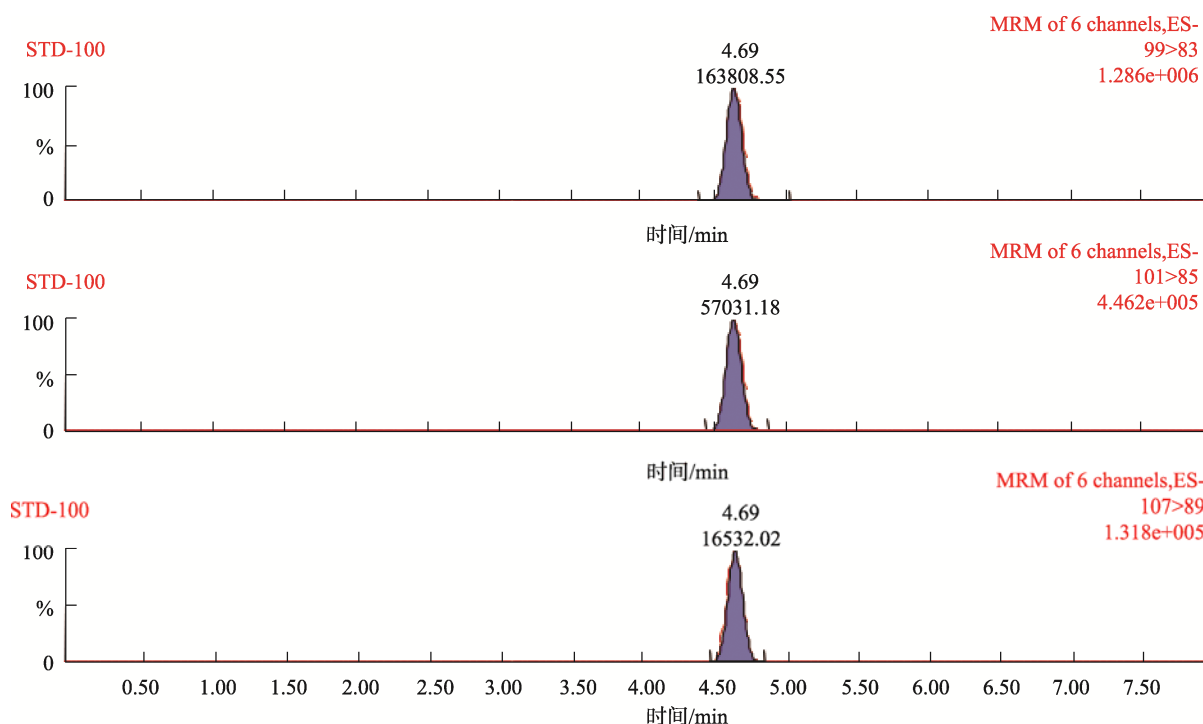


图 1 高氯酸盐色谱图

Fig.1 Chromatogram of perchlorate

### 3.3 质谱条件的优化

本方法采用电喷雾离子源和多反应监测模式对目标化合物进行分析。首先,利用流动注射泵连续进样,在正离子和负离子模式下进行全扫描以选择适当的电离模式和特征离子对。结果表明,高氯酸盐在负离子化模式下易形成一级特征离子峰 99.0( $m/z$ )。以 99.0( $m/z$ )为母离子做二级质谱扫描,得到高氯酸根离子脱去 1 个氧后的碎片离子峰 83.0( $m/z$ )。所以质谱检测高氯酸根宜采用负离子扫描模式。在确定了待测化合物检测的母离子和子离子的基础上,对待测化合物的 ESI 电喷雾电压、脱溶剂气、辅助气、离子传输毛细管温度等条件进行了优化,结果如试验部分所述。

### 3.4 线性范围和检出限

准确量取 0.10、0.50、1.00、2.00、5.00、10.00 mL 高氯酸钠标准储备溶液分别于 6 只 100 mL 容量瓶中,各加入 0.50 mL 高氯酸钠内标储备溶液,用超纯水稀释至刻度,配制成 1.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 ng/mL 系列浓度高氯酸盐标准溶液,每种标准溶液中均含 5.0 ng/mL 高氯酸钠内标储备溶液。以高氯酸盐与  $\text{NaCl}^{18}\text{O}_4$  的质量浓度比值作为横坐标,两者峰面积的比值作为纵坐标,绘制标准曲线。结果显示:高氯酸盐的质量浓度在 1.0 ~ 100.0 ng/mL 范围内呈线性,线性回归方程为  $Y=3.739X+0.881$ ,相关系数为 0.999。计算得高氯酸盐的检出限为 4.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限为 10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 3.5 回收率和精密度

选取空白大米样品,添加 10、100、1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  3 个不同浓度(以高氯酸根计)的高氯酸盐标准溶液,按上述检测方法测定,进行加标回收率试验,重复测定 6 次,计算其回收率和精密度。测定结果列于表 4,满足实验要求。

表 4 实际大米样品中测定高氯酸盐的加标回收率和精密度( $n=6$ )  
Table 4 Determination of standard recovery and precision of perchlorate in rice samples ( $n=6$ )

加标量/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	测定值/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	平均回收率/%	RSD/%
10	9.16	91.6	4.37
100	93.2	93.2	4.02
1000	823	82.3	3.91

### 3.6 实际样品的测定

按试验方法对市场上具有代表性的 23 批次大米样品进行了测定,结果表明:被测大米中高氯酸盐含量均低于检出限。

## 4 结论

本研究成功建立并优化了液相色谱-串联质谱联用法

检测大米中高氯酸盐含量的方法,方法优化了前处理,各参数的色谱、质谱条件,且灵敏度高,结果稳定,检出限为 4.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,定量限为 10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,方法的准确度(回收率为 82.3%~93.2%)、精密度(相对标准偏差为 3.91%~4.37%)均能很好地满足大米中高氯酸盐的分析要求,在实际工作中具有较强的实用性,具有较高的应用价值。

### 参考文献

- [1] Renner, Rebecca. Fertilizers not a source of perchlorate [J]. Environ Sci Technol, 2001, 35(17): 359A.
- [2] Marion GM, Catling DC, Zahnle KJ, *et al.* Modeling aqueous perchlorate chemistries with applications to Mars [J]. Icarus, 2010, 207(2): 675-685.
- [3] Urbansky ET. Perchlorate chemistry: Implication for analysis and remediation [J]. Bioremed J, 1998, 2(2): 81-95.
- [4] 闻自强,郑雯静,沈昊宇,等. 高氯酸盐的危害、水污染现状与去除技术研究进展[Z]. 2018.  
Wen ZQ, Zheng WJ, Shen HY, *et al.* Research progress on the hazard, water pollution status and removal technique of perchlorate [Z]. 2018.
- [5] Motzer WE. Perchlorate: Problems, detection and solutions [J]. Environ Forensic, 2001, 2: 301-311.
- [6] Backus SM, Klawuun P, Brown S, *et al.* Determination of perchlorate in selected surface waters in the Great Lakes Basin by HPLC/MS/MS [J]. Chemosphere, 2005, 61(6): 834-843.
- [7] Kannan K, Praamsma ML, Oldi JF, *et al.* Occurrence of perchlorate in drinking water, groundwater, surface water and human saliva from India [J]. Chemosphere, 2009, 76(1): 22-26.
- [8] Gan ZW, Sun HW, Wang RN, *et al.* Occurrence and exposure evaluation of perchlorate in outdoor dust and soil in mainland China [J]. Sci Total Environ, 2014, 470: 99-106.
- [9] 姚清华,柯秋璇,李捷,等. 固相萃取 $^{18}\text{O}$ 标记高氯酸根稀释高效液相色谱-三重四级杆质谱法测定茶叶中的高氯酸盐[J]. 分析科学学报, 2018, 34(4): 565-568.  
Yao QH, Ke QX, Li J, *et al.* Determination of perchlorate in tea by solid phase extraction/ $^{18}\text{O}$  labeled perchlorate dilution high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Anal Sci, 2018, 34(4): 565-568.
- [10] 张少华,应璐,张书芬. 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/OL]. 食品工业科技, 1-10[2019-02-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20181112.1031.004.html>.  
Zhang SH, Ying L, Zhang SF. Determination of thiocyanate and perchlorate in vegetables by ultrasonic assisted extraction of hot water Ionchromatography [J/OL]. Sci Technol Food Ind, 1-10 [2019-02-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1759.TS.20181112.1031.004.html>.
- [11] 顾华坚. 高氯酸盐对女性甲状腺功能的影响调查[J]. 中国现代医生, 2012, 50(20): 5-7.  
Gu HJ. Investigation on thyroid function effect of perchlorate in female [J]. China Mod Doctor, 2012, 50(20): 5-7.
- [12] 张萍,史亚利,蔡亚歧,等. 大体积进样离子色谱法测定环境水样中的高氯酸根[J]. 分析化学, 2006, 34(11): 1575-1578.  
Zhang P, Shi YL, Cai YQ, *et al.* Determination of perchlorate in nature water by ion chromatography with large volume injection [J]. Chin J Anal Chem, 2006, 34(11): 1575-1578.

- [13] 张萍, 史亚利, 蔡亚歧, 等. 离子色谱-质谱联用测定牛奶中的高氯酸盐、溴酸盐和碘离子[J]. 分析测试学报, 2007, 26(5): 690-693.  
Zhang P, Shi YL, Cai YQ, *et al.* Analysis of perchlorate, bromated and iodide in milk using ion chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2007, 26(5): 690-693.
- [14] Li YT, George EJ. Reversed-phase liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry for analysis of perchlorate in water [J]. J Chromatogr A, 2006, 1133(1): 215-220.
- [15] Krol J. Determination of perchlorate in water using LC/MS/MS [J]. Environ Chem, 2008, 27(5): 701-702.

(责任编辑: 韩晓红)

## 作者简介



戴玉婷, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: daiyt@sqi.org.cn



赵 琴, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: zhaoqin@sqi.org.cn

## “淀粉及其功能化修饰与深加工”专题征稿函

淀粉是自然界最丰富的物质之一, 作为重要的可再生环境友好工业原料, 主要用于食品、纺织、造纸、水产饲料、制药、化工、机械、石油、建筑等行业, 越来越受到社会的广泛重视。对淀粉的极大需求推动了淀粉工业的发展, 因此淀粉工业也被称为黄金产业, 对国民经济具有重要作用。改革开放以来, 我国淀粉及其相关制品工业迅速发展。中国淀粉工业协会联合艾格农业发布报告称, 2017年我国淀粉产量为2720万吨, 创历史新高, 同比增幅15.4%, 淀粉深加工产品产量达到1,450万吨。其中仅玉米淀粉产量达到2,595万吨, 需求量达到2,550万吨, 增幅为13.8%。

淀粉工业领域基础研究、产品开发等各方面的发展, 有力地支撑了我国高速发展的淀粉及相关制品工业。近年来, 在淀粉科学与工程研究领域, 科研工作者不断与生物化工、营养学、医学、材料科学等多学科知识和生物技术、医疗技术、纳米技术等前沿高新技术交叉融合, 推动了淀粉基础研究与高新技术新的突破。

鉴于此, 本刊特别策划了“淀粉及其功能化修饰与深加工”专题, 由华南理工大学 陈玲 教授担任专题主编, 华南理工大学 李晓玺 教授担任专题副主编, 主要包括淀粉的生物合成与转化, 淀粉的结构与功能特性, 淀粉修饰、转化与应用, 淀粉现代分析检测与质量控制, 变性淀粉生产新工艺新技术等方面内容或您认为本领域有意义的问题进行论述。本专题计划在2019年8月出版。

鉴于您在该领域丰富的研究经历和突出的学术造诣, 学报主编吴永宁研究员、专题主编陈玲教授和专题副主编李晓玺教授特别邀请您为本专题撰写稿件, 综述、研究论文、研究简报均可, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。请在**2019年6月30日**前通过网站或E-mail投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同行之间转发, 再次感谢您的关怀与支持!

投稿方式:

网站: [www.chinafoodj.com](http://www.chinafoodj.com)

E-mail: [jfoodsqa@126.com](mailto:jfoodsqa@126.com)

《食品安全质量检测学报》编辑部