

饲料中氯酸盐和高氯酸盐的测定  
液相色谱-串联质谱法

Determination of chlorate and perchlorate in feeds—  
Liquid chromatography-tandem mass spectrometry

(征求意见稿)

2025-××-××发布

2025-××-××实施

中华人民共和国农业农村部 发布

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国农业农村部畜牧兽医局提出。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）归口。

本文件起草单位：陕西秦云农产品检验检测股份有限公司、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所[国家饲料质量检验检测中心(北京)]、陕西省畜牧技术推广总站、中国农业科学院饲料研究所。

本文件主要起草人：

# 饲料中氯酸盐和高氯酸盐的测定

## 液相色谱-串联质谱法

### 1 范围

本文件规定了饲料中氯酸盐和高氯酸盐的液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料和植物源性饲料原料中氯酸盐和高氯酸盐的测定。

本文件氯酸盐和高氯酸盐的检出限为 $2.0\ \mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 $5.0\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

### 3 术语与定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

### 4 原理

试样中的氯酸盐和高氯酸盐用甲醇提取，经固相萃取小柱净化，液相色谱-串联质谱仪检测，内标法定量。

### 5 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

5.1 水：GB/T 6682，一级。

5.2 乙腈：色谱纯。

5.3 甲醇：色谱纯。

5.4 甲酸铵：色谱纯。

5.5 20 mmol/L甲酸铵溶液：称取1.26 g甲酸铵于1000 mL容量瓶中，用水溶解并定容至刻度，混匀，过 $0.22\ \mu\text{m}$ 滤膜后备用。

5.6 标准储备溶液（1 mg/mL）：分别准确称取氯酸钠（CAS号：7775-09-9，纯度 $\geq 98\%$ ）和高氯酸钠（CAS号：7601-89-0，纯度 $\geq 98\%$ ）各适量（精确至0.01 mg）于棕色容量瓶中，用水溶解并稀释定容，

混匀，制成质量浓度为1 mg/mL的标准储备溶液（分别以氯酸根和高氯酸根计），2°C~8°C避光保存，有效期12个月。或有证标准溶液。

5.7 氯酸根- $^{18}\text{O}_3$  ( $\text{ClO}_3\text{-}^{18}\text{O}_3$ )、高氯酸根- $^{18}\text{O}_4$  ( $\text{ClO}_4\text{-}^{18}\text{O}_4$ ) 同位素内标标准储备溶液（1 mg/mL）：2°C~8°C避光保存，有效期12个月。或有证标准溶液。

5.8 混合标准中间溶液（10  $\mu\text{g/mL}$ ）：准确移取标准储备溶液（5.6）各1 mL于100 mL棕色容量瓶中，用水稀释并定容，混匀。2°C~8°C避光保存，有效期3个月。

5.9 混合标准工作溶液（1  $\mu\text{g/mL}$ ）：准确移取混合标准中间溶液（5.8）10 mL于100 mL棕色容量瓶中，用水稀释并定容，混匀。2°C~8°C避光保存，有效期1个月。

5.10 混合同位素内标中间溶液（10  $\mu\text{g/mL}$ ）：准确移取同位素内标标准储备溶液（5.7）各1 mL于100 mL棕色容量瓶中，用水稀释并定容，混匀。2°C~8°C避光保存，有效期3个月。

5.11 混合同位素内标工作溶液（1  $\mu\text{g/mL}$ ）：准确移取同位素内标中间溶液（5.10）10 mL于100 mL棕色容量瓶中，用水稀释并定容，混匀。2°C~8°C避光保存，有效期1个月。

5.12 混合系列标准溶液：准确移取混合标准工作溶液（5.9）和混合同位素内标工作溶液（5.11）适量，用甲醇稀释并定容，配制成浓度为1 ng/mL、2 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、40 ng/mL、100 ng/mL，同位素内标物浓度为10 ng/mL的混合系列标准工作液，临用现配。

5.13 二乙烯苯和N-乙烯基吡咯烷酮共聚物混合型填料（HLB）固相萃取小柱：200 mg/6 mL，或性能相当者。

5.14 石墨碳黑固相萃取小柱：200 mg/6 mL，或性能相当者。

5.15 微孔滤膜：0.22  $\mu\text{m}$ ，水系。

5.16 微孔滤膜：0.22  $\mu\text{m}$ ，有机系。

## 6 仪器设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：带电喷雾离子源（ESI<sup>+</sup>）。

6.2 分析天平：精度0.1 mg和0.01 mg。

6.3 涡旋混合器。

6.4 振荡器。

6.5 离心机：转速不低于6000 r/min。

6.6 固相萃取装置。

## 7 样品

按照GB/T 20195制备试样。取试样至少200 g，粉碎使其全部通过0.425 mm孔径的试验筛，充分混匀，密闭容器中避光保存。

## 8 试验步骤

提示：在避光条件下操作。

## 8.1 提取

平行做两份试验。称取2 g（精确至0.1 mg）试样于50 mL离心管中，准确加入100  $\mu$ L混合同位素内标工作溶液（5.11）、加入甲醇10 mL，涡旋混匀，振荡提取20 min，每5 min振摇一次，于6000 r/min离心5 min，上清液待净化用。

## 8.2 净化

### 8.2.1 精料补充料、配合饲料、浓缩饲料、添加剂预混合饲料

HLB 固相萃取小柱用 5 mL 甲醇活化。准确移取 5 mL 待净化液注入 HLB 固相萃取小柱中，弃去约 1 mL 初滤液，收集续滤液，过微孔滤膜（5.14），待测。

### 8.2.2 植物源性饲料原料

石墨碳黑固相萃取小柱用5 mL甲醇活化。准确移取5 mL待净化液注入石墨碳黑固相萃取小柱中，弃去约1 mL初滤液，续滤液按8.2.1操作。

## 8.3 测定

### 8.3.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

a) 色谱柱：填料为纳米杂化硅聚合物的P1 色谱柱，柱长100 mm，内径2.1 mm，粒径3  $\mu$ m，或性能相当者；

b) 流动相：A相：20 mmol/L甲酸铵溶液（5.5）；B相：乙腈（5.2）；

c) 流速：0.5 mL/min；

d) 柱温：35  $^{\circ}$ C；

e) 进样量：10  $\mu$ L；

f) 梯度洗脱，洗脱程序见表1。

表 1 梯度洗脱程序

时间 min	A 相 %	B 相 %
0.0	30	70
3.0	10	90
7.0	10	90
7.1	30	70
10.0	30	70

### 8.3.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

a) 电离方式：电喷雾电离，负离子模式（ESI<sup>-</sup>）；

- b) 监测方式：多反应监测（MRM）；
- c) 毛细管电压：2.5 kV；
- d) 离子源温度：150 °C；
- e) 脱溶剂气温度：350 °C；
- f) 脱溶剂气流速：800 L/h；
- g) 雾化气、干燥气为高纯氮气，碰撞气为高纯氩气或其他合适气体；
- h) 监测离子对、锥孔电压及碰撞能量见表2。

表2 氯酸盐、高氯酸盐及内标物的监测离子对、锥孔电压和碰撞能量

被测物名称	定性离子对 $m/z$	定量离子对 $m/z$	锥孔电压 V	碰撞能量 eV
氯酸盐	83.0>67.0	83.0>67.0	22.0	94
	85.0>69.0		22.1	95
高氯酸盐	99.0>83.0	99.0>83.0	27.2	98
	101.0>85.0		27.0	93
氯酸盐- $^{18}O_3$	89.0>71.0	/	23.4	91
高氯酸盐- $^{18}O_4$	107.0>89.0	/	28.1	104

### 8.3.3 标准系列工作溶液和试样溶液的测定

在仪器的最佳条件下，分别取混合系列标准溶液（5.12）和试样溶液（8.2）上机测定。标准溶液中各待测物的定量离子色谱图见附录 A。

### 8.3.4 定性

在相同试验条件下，试样溶液与标准系列溶液中待测物的保留时间相对偏差应在 $\pm 2.5\%$ 之内。根据表2选择的定性离子对，比较试样谱图中待测物定性离子的相对离子丰度与浓度接近的标准系列溶液中对应的定性离子的相对离子丰度，若偏差不超过表3规定的范围，则可判定为样品中存在对应的待测物。

表3 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 %	>50	>20~50	>10~20	$\leq 10$
最大允许偏差 %	$\pm 20$	$\pm 25$	$\pm 30$	$\pm 50$

### 8.3.5 定量

在仪器最佳工作条件下，取试样溶液和标准溶液分别进样，以标准溶液中待测组分峰面积与对应内标峰面积比值为纵坐标，待测组分浓度为横坐标，进行单点或多点校正，采用内标法定量。试样溶液中

待测物的响应值与对应内标物响应值的比值均应在仪器测定的线性范围内。标准曲线的相关系数应不低于0.99。试样溶液中待测物的浓度超出线性范围，需重新测定。单点校正定量时，试样溶液中待测物的浓度与标准溶液浓度相差不超过30%。

## 9 试验数据处理

试样中氯酸盐（以氯酸根计）、高氯酸盐（以高氯酸根计）的含量以质量分数  $w_i$  表示，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ），多点校准按式（1）计算，单点校准按式（2）计算：

$$w_i = \frac{\rho \times V \times 1000}{m \times 1000} \times n \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$\rho$  ——从标准曲线查得的试样溶液待测物的质量浓度，单位为纳克每毫升（ $\text{ng}/\text{mL}$ ）；

$V$  ——试样提取溶液的体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；

$n$  ——稀释倍数；

$m$  ——试样的质量，单位为克（ $\text{g}$ ）。

$$w_i = \frac{C_s \times C_{is} \times A_i \times A'_{is} \times V}{C'_{is} \times A_s \times A_{is} \times m} \times n \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$C_{is}$  ——试样溶液中各内标物浓度，单位为纳克每毫升（ $\text{ng}/\text{mL}$ ）；

$C_s$  ——标准溶液中各待测物浓度，单位为纳克每毫升（ $\text{ng}/\text{mL}$ ）；

$C'_{is}$  ——标准溶液中各内标物浓度，单位为纳克每毫升（ $\text{ng}/\text{mL}$ ）；

$A_i$  ——试样溶液中各待测物峰面积；

$A_{is}$  ——试样溶液中各内标物峰面积；

$A_s$  ——标准溶液中各待测物峰面积；

$A'_{is}$  ——标准溶液中各内标物峰面积；

$V$  ——提取溶液的体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；

$m$  ——试样的质量，单位为克（ $\text{g}$ ）；

$n$  ——稀释倍数。

测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留3位有效数字。

## 10 精密度

在重复性条件下，获得的两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的20%。

## 附录 A

(资料性)

## 氯酸盐、高氯酸盐标准溶液和内标溶液定量离子色谱图

氯酸盐、高氯酸盐标准溶液和内标溶液定量离子色谱图见图 A.1。

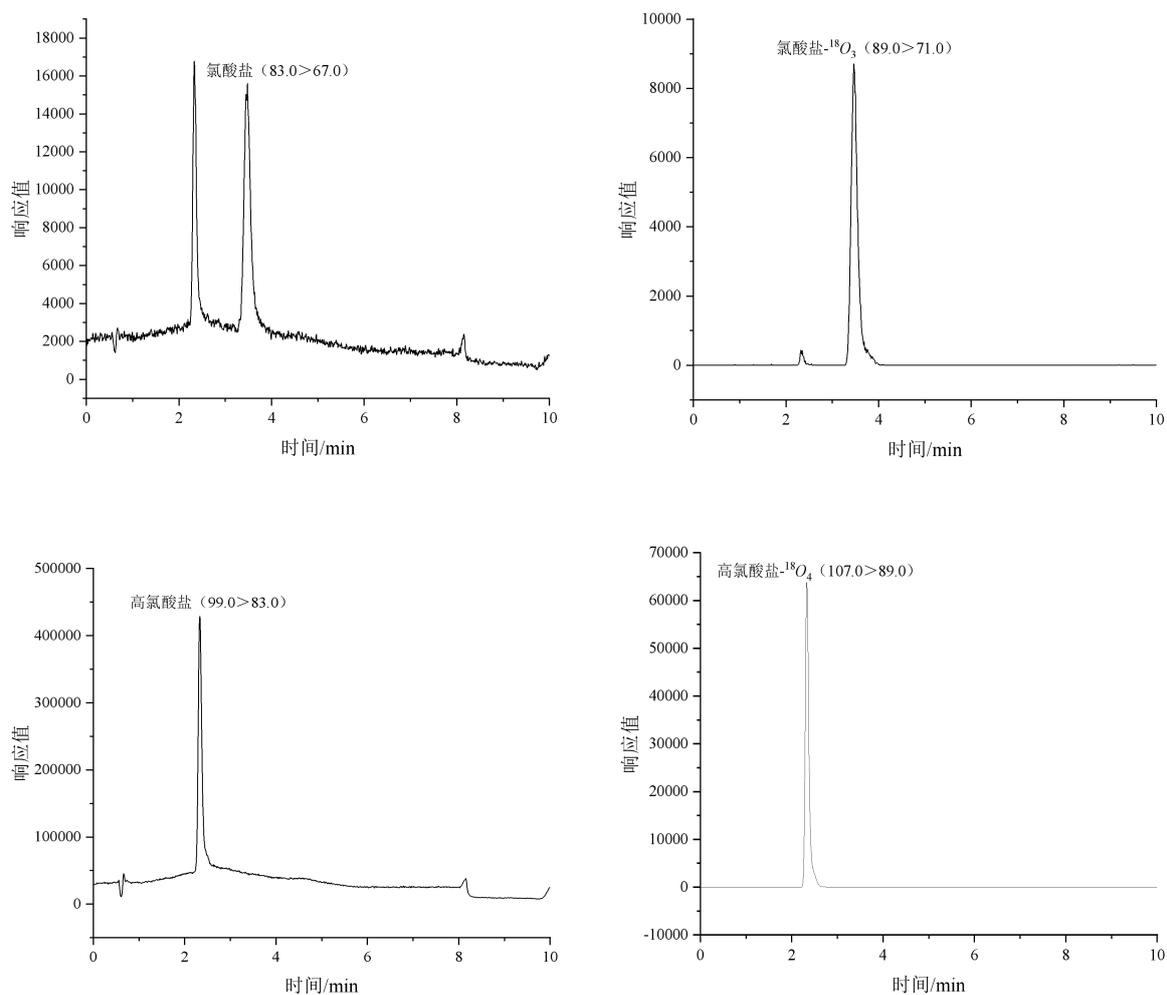


图 A.1 氯酸盐、高氯酸盐标准溶液和内标溶液（浓度为 10 ng/mL）定量离子色谱图