

附件 2

食品中氯酸盐和高氯酸盐的测定

BJJS 201706

1 范围

本方法规定了食品中氯酸盐和高氯酸盐含量的液相色谱-串联质谱测定方法。

本方法适用于包装饮用水、液体乳、大米、胡萝卜、哈密瓜、猪肉、鱼肉、茶叶、婴幼儿配方乳粉（不包括特殊医学用途的婴幼儿配方乳粉）中氯酸盐和高氯酸盐的测定。

2 原理

试样经提取、离心后，上清液经固相萃取柱净化，用液相色谱-串联质谱测定，内标法定量。

3 试剂和材料

3.1 试剂

3.1.1 乙腈（ CH_3CN ）：色谱纯。

3.1.2 甲醇（ CH_3OH ）：色谱纯。

3.1.3 甲酸（ HCOOH ）：色谱纯。

3.1.4 甲酸铵（ HCOONH_4 ）：液质联用级。

3.1.5 超纯水（ H_2O ）：电阻率为 $18.2\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ 。

注：以上试剂在使用前均应做本底测试。

3.2 试剂配制

3.2.1 含 0.1% 甲酸的水溶液：量取 1.0mL 甲酸（3.1.3）至 1000mL 容量瓶，用超纯水（3.1.5）稀释至刻度，混匀。

3.2.2 20mmol/L 甲酸铵溶液：称取 0.63g 甲酸铵（3.1.4），用超纯水（3.1.5）溶解并稀释至 500mL，混匀。

3.2.3 甲酸铵甲醇溶液：取 100mL 甲酸铵溶液（3.2.2），加入 200mL 甲醇（3.1.2），混匀。

3.3 标准品

3.3.1 氯酸钠标准品：采用具有证书的标准品或高纯试剂，纯度 $>99\%$ 。中文名称、英文名称、

CAS 登录号、分子式、相对分子量详见表 1。

3.3.2 高氯酸钠盐标准品：采用具有证书的标准品或高纯试剂，纯度>99%。中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子量详见表 1。

表 1 氯酸盐和高氯酸盐的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子量

| 中文名称 | 英文名称 | CAS 登录号 | 分子式 | 相对分子量 |
|------|-------------------|-----------|--------------------|--------|
| 氯酸钠 | Sodiumchlorate | 7775-09-9 | NaClO ₃ | 106.44 |
| 高氯酸钠 | Sodiumperchlorate | 7601-89-0 | NaClO ₄ | 122.45 |

3.4 同位素内标

3.4.1 氯酸盐同位素内标：氯酸盐-¹⁸O₃（200μg/mL，以氯酸根-¹⁸O₃离子计，北京振祥提供，EURL-SRMLotNo:024），4℃保存。

3.4.2 高氯酸盐同位素内标：高氯酸盐-¹⁸O₄（100μg/mL，以高氯酸根-¹⁸O₄离子计，美国剑桥提供，CILOLM-7310-1.2），4℃保存。

3.5 标准溶液的配制

3.5.1 氯酸盐标准储备液（1mg/mL，以氯酸根计）：精密称取氯酸钠 0.128g（精确至 0.0001g），置于 100mL 容量瓶中，用超纯水（3.1.5）溶解并稀释至刻度，摇匀，制成浓度为 1mg/mL 标准储备液，4℃保存。

3.5.2 高氯酸盐标准储备液（1mg/mL，以高氯酸根计）：精密称取高氯酸钠 0.123g（精确至 0.0001g），置于 100mL 容量瓶中，用超纯水（3.1.5）溶解并稀释至刻度，摇匀，制成浓度为 1mg/mL 标准储备液，4℃保存。

3.5.3 混合标准中间液：分别准确量取 0.2mL 氯酸盐标准储备液（3.5.1）、0.1mL 高氯酸盐标准储备液（3.5.2），置于同一 100mL 容量瓶中，用超纯水（3.1.5）稀释至刻度，摇匀，制成氯酸盐、高氯酸盐浓度分别为 2.0μg/mL、1.0μg/mL 的混合标准中间液，4℃保存。

3.5.4 混合同位素内标液：分别准确量取 75μL 氯酸盐同位素内标（3.4.1）、20μL 高氯酸盐同位素内标（3.4.2）置于同一 10.0mL 容量瓶中，用超纯水（3.1.5）稀释至刻度，摇匀，制成氯酸盐-¹⁸O₃、高氯酸盐-¹⁸O₄浓度分别为 1500ng/mL、200ng/mL 的混合同位素内标液，4℃保存。

3.5.5 混合标准工作溶液：分别准确量取混合标准中间液（3.5.3）0μL、10μL、25μL、50μL、75μL、100μL、250μL、500μL、750μL、1000μL，及混合同位素内标液（3.5.4）100μL，用甲酸铵甲醇溶液（3.2.3）稀释并定容至 10mL，作为混合标准工作溶液 S0、S1—S9。氯酸盐浓度依次为：0.00ng/mL、2.00ng/mL、5.00ng/mL、10.0ng/mL、15.0ng/mL、20.0ng/mL、50.0ng/mL、100ng/mL、150ng/mL、200ng/mL，高氯酸盐浓度依次为：0.00ng/mL、1.00ng/mL、2.50ng/mL、5.00ng/mL、7.50ng/mL、

10.0ng/mL、25.0ng/mL、50.0ng/mL、75.0ng/mL、100ng/mL，混合标准工作液中氯酸盐- $^{18}O_3$ 、高氯酸盐- $^{18}O_4$ 浓度分别为15.0ng/mL、2.0ng/mL，或依需要配制适当浓度的混合标准工作液。临用新制。

4 仪器和设备

- 4.1 液相色谱-串联质谱仪，配有电喷雾离子源（ESI源）。
- 4.2 涡旋振荡器。
- 4.3 组织捣碎机。
- 4.4 均质器。
- 4.5 离心机：转速 ≥ 10000 r/min。
- 4.6 电子天平：感量分别为0.0001g和0.001g。
- 4.7 超声波恒温水浴振荡器。
- 4.8 具塞离心管：50mL。
- 4.9 PRiMEHLB固相萃取柱：3cc，150mm，或性能相当者。

注：4.8、4.9的耗材在使用前均应做本底测试。

5 试样制备与保存

5.1 包装饮用水

充分混匀，直接取用。

5.2 液体乳：

充分摇匀，取适量有代表性的试样，均分成两份，作为试样和留样，分别装入洁净容器中，密封并标记，于4℃避光保存。

5.3 猪肉、鱼肉：

取适量有代表性的可食部分试样，切成小块，组织捣碎机捣碎，均分成两份，作为试样和留样，分别装入洁净容器中，密封并标记，于-18℃避光保存。

5.4 胡萝卜、哈密瓜：

取适量有代表性的试样，去皮去籽，切成小块，组织捣碎机捣碎，均分成两份，作为试样和留样，分别装入洁净容器中，密封并标记，于-18℃避光保存。

5.5 婴儿配方乳粉：

充分混匀，取适量有代表性的试样，均分成两份，作为试样和留样，分别装入洁净容器中，密封并标记，于常温避光保存。

5.6 大米、茶叶：

取适量有代表性的试样，粉碎机粉碎后过40目筛，均分成两份，作为试样和留样，分别装入洁净容器中，密封并标记，于常温避光保存。

6 测定步骤

6.1 提取

6.1.1 包装饮用水:

准确移取1.0mL试样,加入10.0 μ L混合同位素内标液(3.5.4),涡旋震荡10s,经0.22 μ m再生纤维素滤膜过滤后,取续滤液供液相色谱-串联质谱仪测定。

6.1.2 胡萝卜、哈密瓜、茶叶:

准确称取1g(精确至0.001g)试样置于50mL具塞离心管(4.8)中,加入200 μ L混合同位素内标液(3.5.4),准确加入7.0mL超纯水(3.1.5),涡旋振荡5min,再准确加入13.0mL甲醇(3.1.2),混匀,振荡超声提取30min,10000r/min常温离心10min,取上清液待净化。

6.1.3 大米:

准确称取2g(精确至0.001g)试样置于50mL具塞离心管(4.8)中,加入200 μ L混合同位素内标液(3.5.4),准确加入7.0mL超纯水(3.1.5),涡旋振荡5min,再准确加入13.0mL甲醇(3.1.2),混匀,振荡超声提取30min,10000r/min常温离心10min,取上清液待净化。

6.1.4 婴儿配方乳粉:

准确称取2g(精确至0.001g)试样置于50mL具塞离心管(4.8)中,加入150 μ L混合同位素内标液(3.5.4),准确加入5.0mL0.1%甲酸水溶液(3.2.1),迅速混匀,置于45 $^{\circ}$ C水浴超声20min,涡旋振荡5min,再准确加入10.0mL甲醇(3.1.2),混匀,10000r/min常温离心10min,取上清液待净化。

6.1.5 液体乳:

准确称取5g(精确至0.001g)试样置于50mL具塞离心管(4.8)中,加入150 μ L混合同位素内标液(3.5.4),加入1.0mL0.1%甲酸水溶液(3.2.1),9.0mL甲醇(3.1.2),涡旋振荡5min,10000r/min常温离心10min,取上清液待净化。

6.1.6 猪肉、鱼肉:

准确称取2g(精确至0.001g)试样置于50mL具塞离心管(4.8)中,加入200 μ L混合同位素内标液(3.5.4),准确加入7.0mL超纯水(3.1.5),13.0mL甲醇(3.1.2),10000r/min均质30s,10000r/min常温离心10min,取上清液待净化。

6.2 净化

吸取约3.0mL上述上清液(6.1.2~6.1.6),按附录A中的图A.1方式过固相萃取柱(4.9)及0.22 μ m再生纤维素滤膜,弃去约1mL流出液,收集续滤液,供液相色谱-串联质谱仪测定。

6.3 色谱测定

6.3.1 液相色谱-串联质谱检测

6.3.1.1 参考液相色谱条件

a)色谱柱：AcclaimTRINITYP1 复合离子交换柱（50mm×2.1mm，3μm；100mm×2.1mm，3μm），或性能相当者。

b)流动相：A 为乙腈，B 为 20mmol/L 甲酸铵溶液。梯度洗脱程序见表 2。

c)样品系列运行完后，按表 3 的色谱柱清洗梯度程序对色谱柱进行清洗。

d)流速：0.5mL/min。

e)柱温：35℃。

f)进样量：3μL。

表 2 梯度洗脱程序

| 50mm×2.1mm, 3μm 规格色谱柱 | | | 100mm×2.1mm, 3μm 规格色谱柱 | | |
|-----------------------|----------|----------|------------------------|----------|----------|
| 时间(min) | 流动相 A(%) | 流动相 B(%) | 时间(min) | 流动相 A(%) | 流动相 B(%) |
| Initial | 35 | 65 | Initial | 70 | 30 |
| 0.5 | 35 | 65 | 0.2 | 70 | 30 |
| 4.0 | 65 | 35 | 3.0 | 90 | 10 |
| 5.0 | 90 | 10 | 7.0 | 90 | 10 |
| 7.0 | 90 | 10 | 8.0 | 70 | 30 |
| 8.0 | 35 | 65 | 10.0 | 70 | 30 |

表 3 色谱柱清洗梯度程序

| 50mm×2.1mm, 3μm 规格色谱柱 | | | | 100mm×2.1mm, 3μm 规格色谱柱 | | | |
|-----------------------|------------|----------|----------|------------------------|------------|----------|----------|
| 时间 (min) | 流速(mL/min) | 流动相 A(%) | 流动相 B(%) | 时间 (min) | 流速(mL/min) | 流动相 A(%) | 流动相 B(%) |
| Initial | 0.5 | 35 | 65 | Initial | 0.5 | 70 | 30 |
| 10.0 | 0.15 | 90 | 10 | 15.0 | 0.15 | 90 | 10 |
| 100.0 | 0.15 | 90 | 10 | 150.0 | 0.15 | 90 | 10 |

注：色谱柱按该程序清洗后保存，有助于延长色谱柱寿命。

6.3.1.2 参考质谱条件

a)离子源：电喷雾离子源（ESI 源）。

b)检测方式：多反应监测（MRM）。

c)扫描方式：负离子模式扫描。

d)毛细管电压：200V。

e)锥孔电压：60V。

f)脱溶剂温度：500℃。

g)脱溶剂气流量：1000L/h。

h)锥孔气流量：150L/h。

i)采用多反应监测（MRM）模式采集数据，质谱参数见表 4。

表 4 氯酸盐和高氯酸盐定性、定量离子对和质谱分析参数

| 化合物 | 母离子 (m/z) | 子离子 (m/z) | 锥孔电压 (V) | 碰撞能量 (eV) |
|--------|-----------|-----------|----------|-----------|
| 氯酸根 | 83.0 | 67.0* | 60 | 15 |
| | 85.0 | 69.0 | 60 | 15 |
| 高氯酸根 | 99.0 | 83.0* | 60 | 18 |
| | 101.0 | 85.0 | 60 | 18 |
| 氯酸根内标 | 89.0 | 71.0* | 60 | 16 |
| 高氯酸根内标 | 107.0 | 89.0* | 60 | 18 |

*定量离子对。

注：6.3.1.2 的质谱条件仅供参考，当采用不同质谱仪器时，仪器参数可能存在差异，测定前应将质谱参数优化到最佳。

6.3.2 标准工作曲线制作

将混合标准工作溶液（3.5.5）按仪器参考条件（6.3.1）进行测定。以混合标准工作溶液的浓度为横坐标，以内标校正后的响应值为纵坐标绘制标准工作曲线。

6.3.3 定性测定

在相同试验条件下测定试样和混合标准工作溶液，记录试样和混合标准工作液中氯酸盐、高氯酸盐的色谱保留时间，以相对于最强离子丰度的百分比作为定性离子的相对离子丰度。若试样中检出与混合标准工作液（3.5.5）中氯酸盐、高氯酸盐保留时间一致的色谱峰，且其定性离子与浓度相当的标准溶液中相应的定性离子的相对丰度相比，偏差不超过表5规定的范围，则可以确定试样中检出相应的氯酸盐、高氯酸盐。

表 5 定性确证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 | ≤10 |
|-------------|-----|--------|--------|-----|
| 允许的相对偏差 (%) | ±20 | ±25 | ±30 | ±50 |

6.3.4 定量测定

若试样检出与混合标准工作液（3.5.5）一致的氯酸盐、高氯酸盐，根据标准工作曲线按内标法以内标校正后的响应值计算得到其含量。

空白样品加标试样参考色谱图见附录B中的图B.1、B.2。

6.4 空白试验

除不加试样外，均按试样同法操作。

7 结果计算

结果按式（1）计算：

$$X = \frac{c \times V \times f}{m} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

X —试样中各待测组分的含量，包装饮用水单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ），其他样品单位为微克每千克（ $\mu\text{g/kg}$ ）；

c —从标准工作曲线中读出的供试品溶液中各待测组分的浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；

V —试样溶液最终定容体积，单位为毫升（ mL ）；

f —试样制备过程中的稀释倍数；

m —称样量，包装饮用水单位为毫升（ mL ），其他样品单位为克（ g ）。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

8 检测方法的灵敏度、准确度、精密度

8.1 灵敏度

当试样量为 1.0mL 时，包装饮用水中氯酸盐的检出限为 0.6 $\mu\text{g/L}$ 、定量限为 2.0 $\mu\text{g/L}$ ；高氯酸盐的检出限为 0.4 $\mu\text{g/L}$ 、定量限为 1.0 $\mu\text{g/L}$ 。

当试样量为 1g（精确至 0.001g）、定容体积为 20.0mL 时，胡萝卜、哈密瓜、茶叶中氯酸盐的检出限为 12.0 $\mu\text{g/kg}$ 、定量限为 40.0 $\mu\text{g/kg}$ ；高氯酸盐的检出限为 8.0 $\mu\text{g/kg}$ 、定量限为 20.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

当试样量为 2g（精确至 0.001g）、定容体积为 20.0mL 时，猪肉、鱼肉、大米中氯酸盐的检出限为 6.0 $\mu\text{g/kg}$ 、定量限为 20.0 $\mu\text{g/kg}$ ；高氯酸盐的检出限为 4.0 $\mu\text{g/kg}$ 、定量限为 10.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

当试样量为 5g（精确至 0.001g）、定容体积为 15.0mL 时，液体乳中氯酸盐的检出限为 1.8 $\mu\text{g/kg}$ 、定量限为 6.0 $\mu\text{g/kg}$ ；高氯酸盐的检出限为 1.2 $\mu\text{g/kg}$ 、定量限为 3.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

当试样量为 2g（精确至 0.001g）、定容体积为 15.0mL 时，婴儿配方乳粉中氯酸盐的检出限为 4.5 $\mu\text{g/kg}$ 、定量限为 15.0 $\mu\text{g/kg}$ ；高氯酸盐的检出限为 3.0 $\mu\text{g/kg}$ 、定量限为 7.5 $\mu\text{g/kg}$ 。

8.2 准确度

本方法在 5~800 $\mu\text{g/kg}$ 添加浓度范围内，回收率为 80%~110%。

8.3 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

附录 A

净化方式示意图

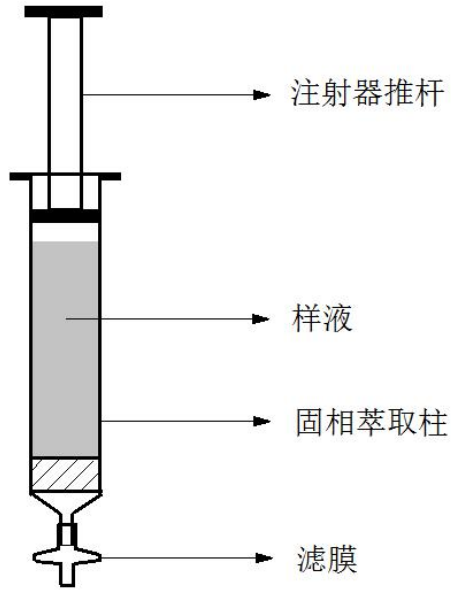


图 A.1 9 种基质样液净化方式示意图

附录 B

氯酸盐、高氯酸盐特征离子色谱图

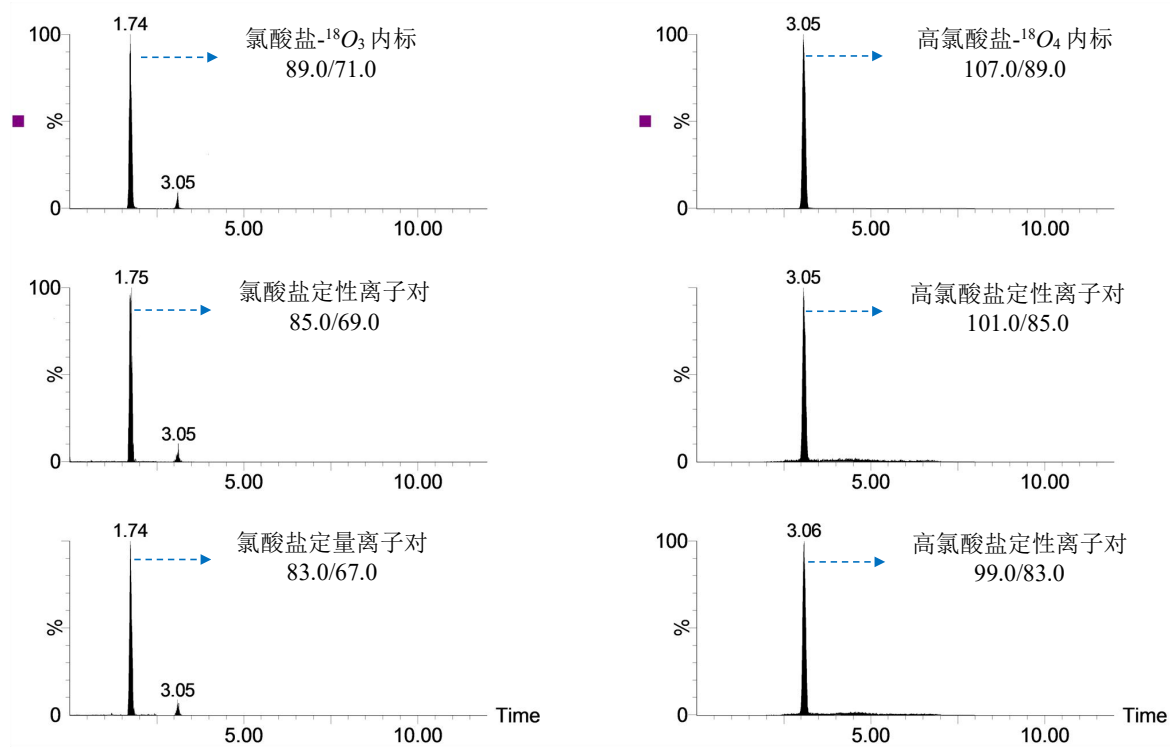


图 A.2 氯酸盐、高氯酸盐特征离子色谱图 (50mm×2.1mm, 3 μ m 规格色谱柱)

注：氯酸盐- $^{18}O_3$ 内标、氯酸盐特征离子色谱图中，3.05min处为高氯酸盐- $^{18}O_4$ 内标、高氯酸盐的碎片离子峰。

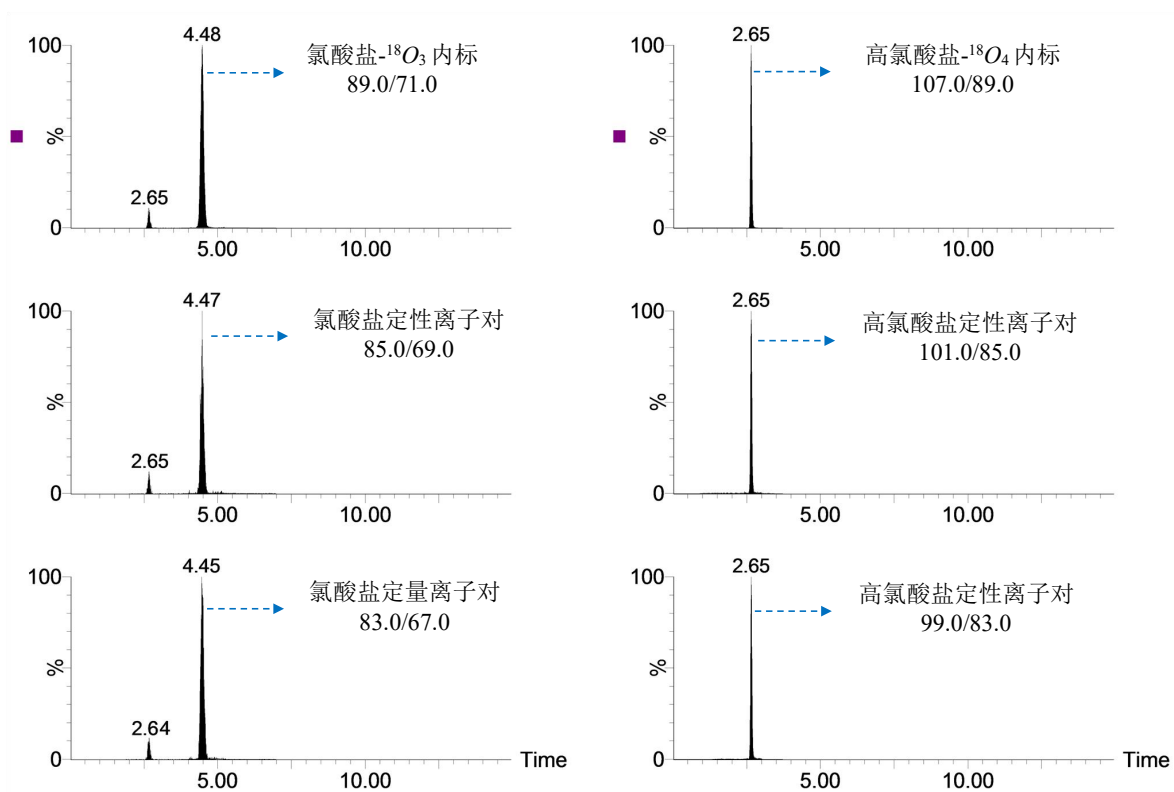


图 A.3 氯酸盐、高氯酸盐特征离子色谱图 (100mm×2.1mm, 3μm 规格色谱柱)

注：氯酸盐-¹⁸O₃ 内标、氯酸盐特征离子色谱图中，2.65、2.64min 处为高氯酸盐-¹⁸O₄ 内标、高氯酸盐的碎片离子峰。

本方法负责起草单位：成都市食品药品检验研究院。

验证单位：浙江省食品药品检验研究院、北京市疾病预防控制中心、上海市质量监督检验技术研究院、四川省食品药品检验检测院、绿城农科检测技术有限公司、内蒙古伊利实业集团股份有限公司。

主要起草人：李绍波、许森、万渝平、叶梅、谢瑞龙、梁晶晶。