



中华人民共和国国家标准

GB 5009.253—2016

食品安全国家标准

动物源性食品中全氟辛烷磺酸(PFOS)和 全氟辛酸(PFOA)的测定

2016-08-31 发布

2016-09-20 实施

中华人民共和国
国家卫生和计划生育委员会 发布

食品安全国家标准

动物源性食品中全氟辛烷磺酸(PFOS)和 全氟辛酸(PFOA)的测定

1 范围

本标准规定了动物源性食品中全氟辛烷磺酸(PFOS)和全氟辛酸(PFOA)含量的同位素稀释液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于动物源性食品中 PFOS 和 PFOA 含量的测定。

2 原理

试样中 PFOS 和 PFOA 经乙腈提取,通过分散固相萃取净化,用液相色谱-串联质谱仪测定,采用内标法定量。

3 试剂和材料

除非另有说明,所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

- 3.1 甲醇(CH_3OH):色谱纯。
- 3.2 乙腈(CH_3CN):色谱纯。
- 3.3 盐酸(HCl)。
- 3.4 氯化钠(NaCl)。
- 3.5 乙酸铵($\text{CH}_3\text{COONH}_4$):色谱纯。
- 3.6 N-丙基乙二胺固相吸附剂(PSA): $40\ \mu\text{m}\sim 60\ \mu\text{m}$,ProElut 填料,或相当者。
- 3.7 C_{18} 吸附剂: $40\ \mu\text{m}\sim 60\ \mu\text{m}$,ProElut 填料,或相当者。
- 3.8 石墨化碳黑吸附剂(GCB): $40\ \mu\text{m}\sim 60\ \mu\text{m}$,ProElut 填料,或相当者。
- 3.9 乙酸铵溶液($5\ \text{mmol/L}$):准确称 $0.385\ 5\ \text{g}$ (精确至 $0.000\ 1\ \text{g}$)乙酸铵,用水溶解定容至 $1\ 000\ \text{mL}$ 。
- 3.10 全氟辛烷磺酸(PFOS)和全氟辛酸(PFOA)标准品溶液:准确称取 PFOA[纯度 $\geq 98\%$,CAS:335-67-1, $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_6\text{COOH}$]和 PFOS(纯度 $\geq 99\%$,CAS:1763-23-1, $\text{C}_8\text{HF}_{17}\text{O}_3\text{S}$)各 $10.00\ \text{mg}$ (精确至 $0.000\ 1\ \text{g}$),用甲醇稀释至 $100\ \text{mL}$,配置成浓度均为 $100\ \mu\text{g/mL}$ 的 PFOA 和 PFOS 标准溶液。 $-4\ ^\circ\text{C}$ 环境下保存,有效期为 6 个月。
- 3.11 PFOA 标准储备溶液:吸取 PFOA 标准品溶液,用甲醇稀释,配制成浓度为 $100.0\ \mu\text{g/L}$ 的 PFOA 标准储备溶液;PFOS 标准储备溶液:吸取 PFOS 标准溶液,用甲醇稀释,配制成浓度为 $100.0\ \mu\text{g/L}$ 的 PFOS 标准储备溶液。均在 $-4\ ^\circ\text{C}$ 环境下保存,有效期为 4 个月。

注:全氟辛烷磺酸(PFOS)在溶液中以全氟辛烷磺酸离子状态存在,样品溶液以及标准溶液以全氟辛烷磺酸定量。

- 3.12 混合系列标准工作溶液:吸取标准储备溶液,用甲醇稀释,配制成 PFOA 浓度依次为 $0.05\ \mu\text{g/L}$ 、 $0.1\ \mu\text{g/L}$ 、 $0.5\ \mu\text{g/L}$ 、 $1.0\ \mu\text{g/L}$ 、 $2.0\ \mu\text{g/L}$ 、 $10.0\ \mu\text{g/L}$,PFOS 浓度依次为 $0.1\ \mu\text{g/L}$ 、 $0.2\ \mu\text{g/L}$ 、 $1.0\ \mu\text{g/L}$ 、 $10.0\ \mu\text{g/L}$ 、 $20.0\ \mu\text{g/L}$ 、 $40.0\ \mu\text{g/L}$ 的混合系列标准工作溶液。 $-4\ ^\circ\text{C}$ 环境下保存,有效期为 2 个月。
- 3.13 $^{13}\text{C}_4$ -PFOA 标准品溶液:通过甲醇稀释配制,稀释至浓度为 $50.0\ \mu\text{g/mL}$ 的标准品溶液;

1,2,3,4-¹³C₄-PFOS 标准品溶液:通过甲醇稀释配制,稀释至浓度为 50.0 μg/mL 的标准品溶液。均在 -4 °C 环境下保存,有效期为 6 个月。

3.14 内标混合使用溶液 I:吸取¹³C₄-PFOA 和 1,2,3,4-¹³C₄-PFOS 标准品溶液,用甲醇稀释,配制成¹³C₄-PFOA 和 1,2,3,4-¹³C₄-PFOS 浓度分别为 10.0 μg/L 和 50.0 μg/L 的内标混合使用溶液。-4 °C 环境下保存,有效期为 4 个月。

3.15 内标混合使用溶液 II:吸取¹³C₄-PFOA 和 1,2,3,4-¹³C₄-PFOS 内标混合使用溶液 I,用甲醇稀释,配制成¹³C₄-PFOA 和 1,2,3,4-¹³C₄-PFOS 浓度分别为 1.0 μg/L 和 5.0 μg/L 的内标混合使用溶液。-4 °C 环境下保存,有效期为 2 个月。

3.16 含有碳 13 同位素内标的混合系列标准工作溶液:吸取标准储备溶液以及内标混合使用溶液 I,用甲醇稀释,配制成 PFOA 浓度依次为 0.05 μg/L、0.1 μg/L、0.5 μg/L、1.0 μg/L、2.0 μg/L、10.0 μg/L, PFOS 浓度依次为 0.1 μg/L、0.2 μg/L、1.0 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L、40.0 μg/L,以及¹³C₄-PFOA 和 1,2,3,4-¹³C₄-PFOS 浓度均分别为 1.0 μg/L 和 5.0 μg/L 的含有¹³C 同位素内标的混合系列标准工作溶液。-4 °C 环境下保存,有效期为 2 个月。

3.17 滤膜:0.22 μm,有机相型。

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)。

4.2 氮吹仪。

4.3 粉碎机。

4.4 离心机,转速≥5 000 r/min。

4.5 均质机,参考转速:3 400 r/min~24 000 r/min。

4.6 分析天平:感量 0.1 mg 和 0.01 g。

5 样品制备

鱼、虾、蟹、贝类、章鱼、鸡肉、猪肉、牛肉取其可食部分(去骨,去壳),切成小块,用粉碎机制成肉糜;蛋品去壳,制成匀浆;牛奶,混匀备用。将样品置于玻璃样品瓶中,密封,标识后置于-18 °C 保存。

6 分析步骤

6.1 样品前处理

6.1.1 提取

称取试样 5 g(准确至 0.01 g)(样品使用前解冻均质),置于 50 mL 聚丙烯离心管中,加入内标混合使用溶液 II 400 μL,加水 5 mL,漩涡混合 1 min,加入 10 mL 乙腈(3.2)和 30 μL 盐酸(3.3),震荡 10 min。加入 2 g 氯化钠(3.4),再次振摇 10 min,以 5 000 r/min 离心 10 min。移取上层乙腈溶液于另一试管中,在 45 °C 水浴中氮气吹至约 4 mL,待净化。

6.1.2 净化

将上述溶液转移至装有 100 mg PSA(3.6)、40 mg C₁₈(3.7)和 20 mg GCB(3.8)的 15 mL 聚丙烯离心管中,振摇 10 min,以 5 000 r/min 离心 10 min,移取上清溶液于另一试管中,在 45 °C 水浴中氮气吹至干,用 1 mL 甲醇(3.1)溶解,吸入 1 mL 注射器,经 0.22 μm 有机滤膜过滤后,待测。

6.2 测定

6.2.1 液相色谱参考条件

6.2.1.1 为降低高效液相色谱管道中引入的 PFOS 和 PFOA 的污染,液相系统中加一预柱,并对部分特氟龙材质管路替换为 PEEK 管路或不锈钢管路。

6.2.1.2 分析色谱柱: C_{18} ,150 mm \times 2.1 mm(内径),5 μ m,或相当者。

6.2.1.3 预吸附柱: C_{18} ,50 mm \times 4.6 mm(内径),5 μ m,或相当者。

6.2.1.4 流动相梯度洗脱程序见表 1。

6.2.1.5 流速:200 μ L/min。

6.2.1.6 进样量:10 μ L。

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间 min	5 mmol/L 乙酸铵 %	甲醇 %
0.00	90	10
1.00	90	10
1.01	50	50
9.00	20	80
9.01	70	30
10.0	70	30

6.2.2 质谱参考条件

6.2.2.1 离子源:电喷雾离子源负离子模式(ESI⁻)。

6.2.2.2 扫描方式:多反应监测模式(MRM)。

6.2.2.3 分辨率:单位分辨率。

其他质谱条件参见附录 A。

6.2.3 定性测定

按照 6.2.1 和 6.2.2 所述条件测定试样和标准工作溶液,试样的质量色谱峰保留时间应与标准物质一致,允许偏差小于 $\pm 2.5\%$;定性离子对的相对丰度与浓度相当的标准工作溶液的相对丰度一致,定性离子参考附录 A 表 A.1,相对丰度允许偏差不超过表 2 规定的范围,则可判断样品中存在相应的被测物。

表 2 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
允许的最大偏差 %	± 20	± 25	± 30	± 50

6.2.4 定量测定

以各混合系列标准工作溶液中的 PFOA 或 PFOS 浓度和 PFOA 或 PFOS 与其相对应的¹³C 同位素标记物的峰面积比绘制标准曲线,按照内标法进行定量计算。在 6.2.1 所述的色谱条件下,PFOA 和 PFOS 的参考保留时间约为 7.66 min 和 8.78 min,¹³C₄-PFOA 和 1,2,3,4-¹³C₄-PFOS 的参考保留时间约为 7.66 min 和 8.79 min,标准溶液的多反应监测(MRM)图参见附录 B。

标准工作溶液和样液中待测物的响应值均应在标准曲线的线性响应范围内,如果含量超过范围,则重新取样分析,增加相应内标添加量,使内标浓度与待测液浓度相匹配,然后用甲醇稀释到适当浓度后分析。

6.3 空白试验

除不加试样外,均按 6.1 及 6.2 所述操作步骤进行。

7 质量控制

7.1 取样抽样

取样抽样均应采用不锈钢仪器,避免接触塑料。

7.2 有机溶剂和试验器皿

本标准中使用到的所有有机溶剂及试验器皿,在使用前,应进行空白试验。如本底值高于定量限,应对有机溶剂进行重蒸,或更换试验器皿,直至本底值低于定量限。

8 分析结果的表述

试样中 PFOA 和 PFOS 的含量按式(1)计算:

$$X = \frac{(A - A_0) \times V \times f}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X —— 试样中 PFOA 或 PFOS 的含量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);
- A —— 试液中 PFOA 或 PFOS 色谱峰与相对应内标物色谱峰的峰面积比值,经标准曲线求得的对应的 PFOA 或 PFOS 浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);
- A₀ —— 空白溶液中 PFOA 或 PFOS 色谱峰与相对应内标物色谱峰的峰面积比值,经标准曲线求得的对应的 PFOA 或 PFOS 浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);
- V —— 试液最终定容体积,单位为毫升(mL);
- f —— 试液稀释倍数;
- m —— 试样的质量,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,结果保留两位有效数字。

9 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 30%。

10 其他

本方法 PFOA 和 PFOS 的检出限分别为 0.002 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限分别为 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

附 录 A
质谱参考条件

质谱参考条件：

- a) 喷嘴电压：-500 V；
- b) 雾化气压力：45 Pa；
- c) 鞘气温度：260 ℃；
- d) 鞘气流速：11 L/min；
- e) 干燥气温度：300 ℃；
- f) 干燥气流速：6 L/min；
- g) 毛细管电压：-3 500 V；
- h) 定性离子对、定量离子对、碎裂电压、碰撞电压、驻留时间见表 A.1。

表 A.1 给出了 PFOA、PFOS、¹³C₄-PFOA 和 1,2,3,4-¹³C₄-PFOS 的定性离子对、定量离子对、碎裂电压、碰撞电压、驻留时间。

**表 A.1 PFOA、PFOS、¹³C₄-PFOA 和 1,2,3,4-¹³C₄-PFOS 的
定性离子对、定量离子对、碎裂电压、碰撞电压、驻留时间**

化合物	母离子	子离子	碎裂电压 V	碰撞电压 eV	驻留时间 ms
PFOA	413.0	368.9 ^a	-80	-4	100
		219.0	-80	-12	100
		169.0	-80	-16	100
PFOS	498.9	130.0 ^a	-200	-50	100
		99.0	-200	-55	100
		80.0	-200	-90	100
¹³ C ₄ -PFOA	417.1	372.0 ^a	-85	-3	100
		172.1	-85	-12	100
1,2,3,4- ¹³ C ₄ -PFOS	503.1	80.1 ^a	-170	-65	100
		99.1	-170	-50	100

^a 定量离子(quantification ion)。

附录 B

PFOA 和 PFOS 及其内标的典型液相色谱-串联质谱多反应监测(MRM)图

PFOA 和 PFOS 及其内标的液相色谱-串联质谱多反应监测(MRM)图见图 B.1。

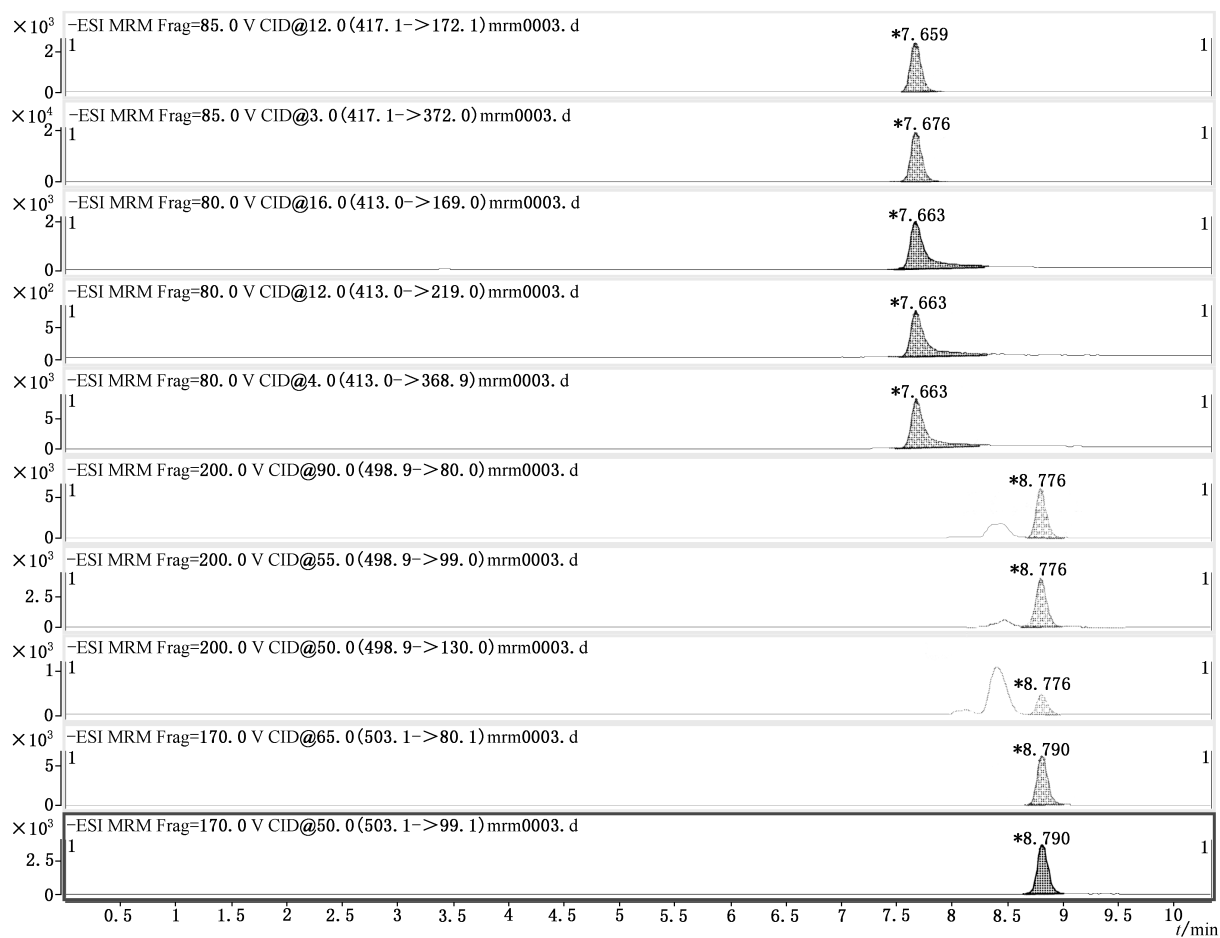


图 B.1 PFOA 和 PFOS 及其内标的液相色谱-串联质谱多反应监测(MRM)图