

- 549-551.
- [7] 陈伟珠, 洪专, 张怡评, 等. 河豚毒素的高效液相/荧光精确定量技术研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(2): 261-262.
- [8] 王智, 褚学军, 郭萌萌, 等. 免疫亲和柱净化-亲水液相色谱-串联质谱法测定水产食品中河鲀毒素[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(3): 306-310.
- [9] 严忠雍, 张小军, 李奇富, 等. 免疫亲和柱净化-液相色谱-串联质谱法测定海洋生物中河豚毒素[J]. 分析化学, 2015, 43(2): 277-281.
- [10] 张秀尧, 蔡欣欣. 石墨化炭黑固相萃取-亲水液相色谱-三重四极杆质谱法测定海产品中河豚毒素[J]. 中华预防医学杂志, 2013, 47(3): 274-277.
- [11] 骆和东, 贾玉珠, 朱宝平. 固相萃取-超过滤-液相色谱/质谱联用法测定织纹螺中的河豚毒素[J]. 色谱, 2007, 25(6): 917-921.
- [12] 日本厚生劳动省. 食品卫生检查指针[M]. 东京: 日本食品卫生协会, 2005: 661-667.

实验技术与方法

超高效液相色谱-串联质谱法测定食品中高氯酸盐

贺巍巍, 杨杰, 王雨昕, 李雨哲, 陈达炜, 赵云峰, 周爽, 方从容

(国家食品安全风险评估中心 卫生部食品安全风险评估重点实验室, 北京 100021)

摘要:目的 建立食品中高氯酸盐的超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)的测定方法。方法 香辛料调味品用水提取, 蔬菜、水果用乙腈-水(1:1, V/V)提取, 肉、禽、蛋、奶和水产品用乙腈-水(2:1, V/V)提取, C₁₈柱(3 ml, 200 mg)净化, 以高氯酸根为内标定量, 采用UPLC-MS/MS法测定。结果 在0.3~20.0 μg/L范围内, 3种提取溶液中高氯酸盐有良好的线性关系, $R^2 \geq 0.999$ 。加标浓度在2.0~50.0 μg/kg范围内, 内标相对平均回收率为82.6%~108.6%, 相对标准偏差(RSD)为1.0%~9.9%。牛奶的定量限为2.0 μg/kg, 其他食品的定量限为10.0 μg/kg。结论 本方法简单快捷, 定量准确, 适用于食品中高氯酸盐的测定。

关键词:超高效液相色谱-串联质谱法; 高氯酸盐; 食品污染物; 食品安全; 检测方法

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2017)04-0438-07

DOI: 10.13590/j.cjfh.2017.04.010

Determination of perchlorate in food by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

HE Wei-wei, YANG Jie, WANG Yu-xin, LI Yu-zhe, CHEN Da-wei,
ZHAO Yun-feng, ZHOU Shuang, FANG Cong-rong

(Key Laboratory of Food Safety Risk Assessment of Ministry of Health, China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

Abstract: Objective To establish a method for the determination of perchlorate in food by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** The perchlorate residue in spices and condiments was extracted with water, that in vegetables and fruits was extracted with acetonitrile-water (1:1, V/V), and that in meat, poultry, eggs, milk and aquatic products was extracted with acetonitrile-water (2:1, V/V). The supernatant was cleaned up with C₁₈ SPE (3 ml, 200 mg), and the detection was carried out by UPLC-MS/MS with internal standard method for quantification. **Results** The calibration curve was linear in the concentration range of 0.3-20.0 μg/L ($R^2 \geq 0.999$), the recovery was in the range of 82.6%-108.6%, the relative standard deviation (RSD) was in the range of 1.0%-9.9%, and the limit of detection was 2.0 μg/kg for milk, and 10.0 μg/kg for other food. **Conclusion** The method was simple, accurate and highly sensitive, and suitable for the determination of perchlorate in food.

Key words: Ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; perchlorate; food contaminants; food safety; testing methods

收稿日期: 2017-05-04

基金项目: 国家自然科学基金(21537001); 国家食品安全风险评估中心高层次人才队伍建设523项目(1311613106702)

作者简介: 贺巍巍 女 助理研究员 研究方向为食品安全风险监控 E-mail: heweiwei@cfsa.net.cn

通信作者: 方从容 女 主任技师 研究方向为食品理化检验 E-mail: fangcr@cfsa.net.cn

高氯酸盐为国际上广泛关注的环境污染物。2014年欧盟食品安全局(EFSA)对食品中高氯酸盐的健康危害进行了再评估。EFSA根据收集的水果、蔬菜及其制品中高氯酸盐的污染资料及文献中果汁、酒精饮料、牛奶、婴儿配方食品及母乳中高氯酸盐含量评估了高氯酸盐的毒性和暴露量,并根据对健康成年人甲状腺碘的抑制作用,建立了高氯酸盐耐受摄入量(TDI)为0.3 g/kg BW,同时,EFSA认为高氯酸盐对胎儿和婴儿具有潜在的急性影响。根据已获得的食品和饮用水中高氯酸盐的含量,EFSA认为单次暴露高氯酸盐不可能造成健康危害,因此,尚没有必要建立高氯酸盐的急性参考剂量。但是,长期暴露高氯酸盐对人体的健康危害值得关注,尤其是对于患有轻度碘缺乏的年轻人群,特别是对于碘摄入量低的哺乳婴儿和低年龄儿童更应关注高氯酸盐的短期暴露^[1]。在EFSA评估报告中,高氯酸盐浓度在蔬菜中的加权范围值为4.8~111 μg/kg,水果加权范围值为0.5~28 μg/kg,蔬菜和水果汁加权范围值为0.047~463.5 μg/kg,婴幼儿配方粉加权平均值为10 μg/kg,牛奶加权平均值为6.8 μg/kg,全麦面粉加权平均值为3.5 μg/kg,大米加权平均值为1 μg/kg,鱼和渔业产品加权范围值为0.32~1 593 μg/kg^[1]。ZHANG等^[2]对中国7个城市的灰尘、人尿液、饮用水、乳制品中的高氯酸盐浓度进行了检测,高氯酸盐含量为灰尘1.67~821 μg/g干重,检出率为100%;人尿液<1.00~995 ng/ml,检出率为99%;饮用水0.26~280 ng/ml,检出率为100%;乳制品1.74~22.0 ng/ml,检出率为100%,为此,广泛了解各类食品中高氯酸盐的污染水平极为必要。

食品中高氯酸盐的测定主要有离子色谱(IC)法^[3-5]、离子色谱-串联质谱(IC-MS/MS)法^[6-11]、液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法^[12-15]等。为提高食品中高氯酸盐检测的灵敏度,美国环保局(EPA)于2007年提出了IC-MS/MS用于高氯酸盐测定。但在实际应用中发现IC-MS/MS在国内存在普及率低、离子色谱柱不耐受有机溶剂、大体积进样易造成柱子过载等问题。随着LC-MS/MS性能和检测灵敏度的提高,其在高氯酸盐检测中的应用日渐增加。我国SN/T 4089—2015《进出口食品中高氯酸盐的测定 液相色谱-质谱/质谱法》^[15]建立了采用阴离子色谱柱进行高氯酸盐测定的液相色谱-串联质谱法。通过方法验证发现,高氯酸盐液相色谱峰型宽(保留时间的跨度约1 min),且流动相含有高浓度的盐溶液,易对质谱仪造成污染。为提高食品中高氯酸盐测定的准确性,本试验在原有工作基础上,扩大了食品范围,优化了前处理方法和仪器方法,进一步验

证了超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)法测定不同食品基质中高氯酸盐的应用性。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

8050 高效液相色谱-质谱/质谱仪(配备电喷雾离子源 ESI,日本岛津)、固相萃取(SPE)装置、冷冻离心机(最大转速 10 000 r/min)。

乙腈、甲醇、甲酸均为色谱纯,高氯酸根标准溶液(ClO_4^- ,浓度 1 000 mg/L,美国 INORGANIC),高氯酸根内标溶液($\text{Cl}^{18}\text{O}_4^-$,浓度 100 mg/L,美国 Cambridge Isotope Laboratories),提取溶液 1 为乙腈-水(1:1, V/V),提取溶液 2 为乙腈-水(2:1, V/V),超纯水(电导率 <1.0 μs/cm,由 Milli-Q 超纯水系统制得),Synergi™ Max-RP 柱(4.6 mm × 150 mm, 4 μm,美国 phenomenex),Sep-pak Vac C₁₈(3 ml, 200 mg,美国 Waters)。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液的配制

高氯酸根标准使用液(1.0 mg/L):吸取高氯酸根标准溶液,用水配制成中间液(10 mg/L);吸取中间液 1.0 ml,置 10 ml 容量瓶中,用水稀释至刻度,混匀,置 4 °C 冰箱中保存。

高氯酸根内标使用液(1.0 mg/L):吸取高氯酸根内标溶液,用水配制成中间液(10 mg/L);吸取中间液 1.0 ml,置 10 ml 容量瓶中,用水稀释至刻度,混匀,置 4 °C 冰箱中保存。

高氯酸根系列标准液:使用前,分别吸取高氯酸根标准使用液和内标使用液适量,分别用水、提取溶液 1、提取溶液 2 稀释,制成高氯酸根浓度分别为 0.3、0.5、1.0、2.0、10.0、20.0 μg/L 的系列标准液,各溶液中内标高氯酸根的浓度为 5.0 μg/L。

1.2.2 样品前处理

水果、蔬菜:称取样品 5 g(精确到 0.01 g)于 50 ml 离心管中,加高氯酸根内标使用液(1.0 mg/L) 150 μl,加 20 ml 提取溶液 1,1 600 r/min 涡旋混匀 5 min,超声提取 20 min 后,4 °C 10 000 r/min 离心 10 min,上清液转移至另一支 50 ml 离心管中,用水稀释至 30 ml,混匀,待净化。

牛奶、豆浆、含乳饮料:称取样品 5 g(精确到 0.01 g)于 50 ml 离心管中,加高氯酸根内标使用液(1.0 mg/L) 150 μl,加水 5 ml,混匀,加 20 ml 乙腈,1 600 r/min 涡旋混匀 5 min,超声提取 20 min 后,4 °C 10 000 r/min 离心 10 min,上清液转移至另一支 50 ml 离心管中,用水稀释至 30 ml,混匀,待净化。

谷物和动物源性食品:称取样品 5 g(精确到 0.01 g)于 50 ml 离心管中,加高氯酸根内标使用液(1.0 mg/L)150 μ l,加 20 ml 提取溶液 2,1 600 r/min 涡旋混匀 5 min,超声提取 20 min 后,4 $^{\circ}$ C 10 000 r/min 离心 10 min,上清液转移至另一支 50 ml 离心管中,用水稀释至 30 ml,混匀,待净化。

香辛料调味品(桂皮、花椒、大料、五香粉、咖喱粉等):称取样品 1 g(精确到 0.01 g)于 50 ml 离心管中,加高氯酸根内标使用液(1.0 mg/L)150 μ l,加 20 ml 水,1 600 r/min 涡旋混匀 5 min,超声提取 20 min 后,4 $^{\circ}$ C 10 000 r/min 离心 10 min,上清液转移至另一支 50 ml 离心管中,用水稀释至 30 ml,混匀,待净化。

1.2.3 净化

C_{18} 柱在使用前依次用 3 ml 乙腈、3 ml 水溶液活化,重力条件下自然流出。吸取 1.2.2 中上清液 2.0 ml 过 C_{18} SPE 柱,弃去前 1.0 ml 流出液,收集流出液 1.0 ml,涡旋 10 s,供 UPLC-MS/MS 测定。

1.2.4 仪器条件

色谱: SynergiTM MAX-RP 色谱柱(4.6 mm \times 150 mm, 4 μ m);流速 0.5 ml/min;流动相 A:0.1% 甲酸溶液,流动相 B: 甲醇;梯度洗脱:10% B 保持 1 min,在 1 min 内增至 15% B,保持 3 min,再在 0.1 min 内增至 95% B,保持 3 min;柱温 30 $^{\circ}$ C;进样量 10 μ l。

质谱:电喷雾离子源(ESI),负离子模式;毛细管电压 4 kV;雾化气流速 3 L/min;干燥气流速 10 L/min;加热气流速 10 L/min;脱溶剂气温度 300 $^{\circ}$ C;接口温度 350 $^{\circ}$ C;加热模块温度 400 $^{\circ}$ C;碰撞器压力 270 kPa;多反应监测(MRM)离子对:高氯酸 m/z 99.1/83.0(定量离子)、101.1/85.0,高氯酸内标 m/z 107.1/88.9(定量离子);离子对碰撞能均

为 -26 V。

2 结果与分析

2.1 色谱柱的选择

高氯酸根在 C_{18} 柱上难以保留,因此选用了 SynergiTM Max-RP 柱(4.6 mm \times 250 mm, 4 μ m)、HYPERCARB 柱(2.1 mm \times 100 mm, 3 μ m)和 Primesep-B₄(2.1 mm \times 150 mm, 5 μ m)为分析柱,流动相为 0.1% 甲酸-甲醇体系,比较 50 μ g/L 高氯酸根标准水溶液在不同色谱柱上的色谱行为。结果表明,高氯酸根在 Primesep-B₄ 柱上无信号,更换流动相为甲酸铵-乙腈体系,高氯酸根保留时间为 14.34 min,但灵敏度低且保留时间易漂移;在 SynergiTM Max-RP 柱和 HYPERCARB 柱上,高氯酸根峰型对称,与氯酸根的分度度都 > 1.5,但在同种浓度下, HYPERCARB 柱的高氯酸根响应值比 SynergiTM Max-RP 柱的高氯酸根响应值低 10 倍,因此,选择 SynergiTM Max-RP 柱为分析柱。

在确定 SynergiTM Max-RP 柱为分析柱后,又对 3 种规格的 SynergiTM Max-RP 柱(4.6 mm \times 250 mm, 4 μ m、4.6 mm \times 150 mm, 4 μ m 和 2.1 mm \times 100 mm, 4 μ m)的性能进行优化,并从高氯酸根保留时间、峰型和灵敏度 3 个方面考察其色谱柱的性能。结果显示:从峰型、灵敏度考虑,250 mm 柱 = 150 mm 柱 > 100 mm 柱;250 mm 柱保留时间为 7.51 min,完成全部分析需要 18 min;150 mm 柱保留时间为 4.32 min,完成全部分析需要 11 min。250 mm 柱和 150 mm 柱的峰型和灵敏度都能满足分析的要求,因此综合考虑后采用 SynergiTM Max-RP(4.6 mm \times 150 mm, 4 μ m)为分析柱。不同色谱柱分离高氯酸根的比较见表 1,不同规格的 SynergiTM Max-RP 柱分离高氯酸根和氯酸根的情况见图 1。

表 1 不同色谱柱分离高氯酸根的比较

Table 1 Separation of perchlorate in different chromatographic column

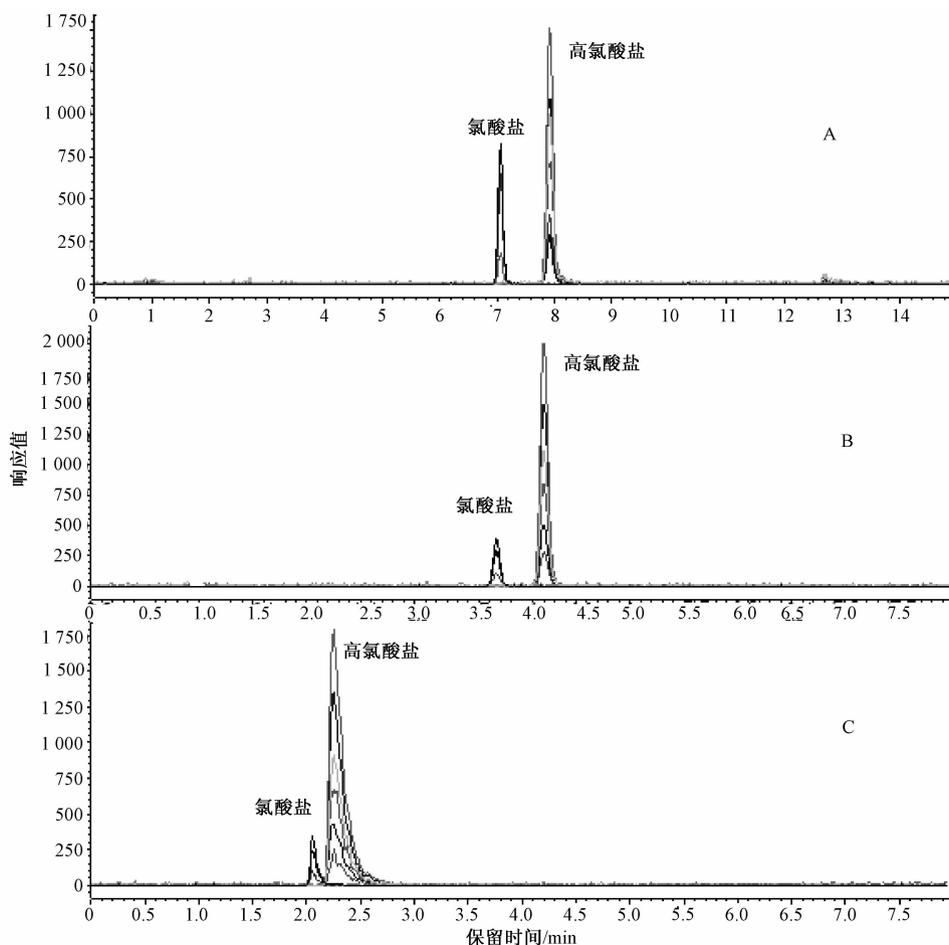
色谱柱	型号	流动相	保留时间 /min	线性范围 /(μ g/L)	色谱行为
Synergi TM Max-RP	4.6 mm \times 250 mm, 4 μ m	A:0.1% 甲酸, B: 甲醇, 梯度洗脱	7.51	0.3 ~ 50	峰型对称、尖锐, 峰宽 0.3 min
Synergi TM Max-RP	4.6 mm \times 150 mm, 4 μ m	A:0.1% 甲酸, B: 甲醇, 梯度洗脱	4.32	0.3 ~ 50	峰型对称、尖锐, 峰宽 0.3 min
Synergi TM Max-RP	2.1 mm \times 100 mm, 4 μ m	A:0.1% 甲酸, B: 甲醇, 梯度洗脱	2.51	—	高氯酸根后拖尾
HYPERCARB	2.1 mm \times 100 mm, 3 μ m	A:10 mm 甲酸铵, B: 甲醇, 梯度洗脱	5.56	—	峰型对称, 峰宽 1 min
Primesep-B ₄	2.1 mm \times 150 mm, 5 μ m	A:10 mm 甲酸铵, B: 乙腈, 等度洗脱	14.34	1 ~ 50	峰型对称, 保留时间易漂移

注:—表示没有线性范围

2.2 提取溶剂的优化

常见的高氯酸盐包括高氯酸铵、高氯酸钠、高氯酸锂、高氯酸镁、高氯酸银、高氯酸钾、高氯酸铯等。根据高氯酸盐中除高氯酸钾和高氯酸铯可溶于水外,其他都易溶于水的化学性质,参考 SN/T 4089—2015^[15]的方法,选择乙腈-水体系、乙腈-

0.2% 乙酸体系和乙腈-1% 乙酸体系为提取溶剂,但在前期试验中发现,用含有 1% 乙酸溶液配制的高氯酸根标准溶液,在 SynergiTM Max-RP 色谱柱上,其高氯酸根色谱峰为双峰,而用乙腈-水体系和乙腈-0.2% 乙酸体系配制的高氯酸根标准溶液,在 SynergiTM Max-RP 色谱柱为单峰,因此初步选择提取



注:A为 Synergi™ Max-RP,4.6 mm×250 mm,4 μm;B为 Synergi™ Max-RP,4.6 mm×150 mm,4 μm;C为 Synergi™ Max-RP,2.1 mm×100 mm,4 μm

图1 氯酸根、高氯酸根标准水溶液在不同规格的 Synergi™ Max-RP 柱分离谱图
Figure 1 Chromatogram of separation of chlorate and perchlorate standard in different specifications Synergi™ Max-RP column

溶剂为乙腈-水体系和乙腈-0.2%乙酸体系(其中乙腈与水相的比例为0:1、1:1、2:1,V/V),分别对水果(梨、香蕉)、蔬菜(西红柿、油菜、藕、蘑菇)、香辛料调味品(五香粉、花椒)、谷物(面粉)、动物源性食品(牛奶、鸡蛋、牛肉、桂鱼)13种样品进行提取,并经过 C_{18} SPE柱净化后,比较同一食品在不同提取溶剂中的色谱行为及基质效应。试验结果显示经乙腈-0.2%乙酸体系提取的水果、蔬菜、香辛料调味品、面粉样品的内标绝对回收率明显高于乙腈-水体系,且内标绝对回收率在200%~300%,这是由于上述样品中溶于酸和乙腈的物质造成了基质效应的增加。而经乙腈-水体系和乙腈-0.2%乙酸体系分别提取的牛奶、鸡蛋、牛肉、桂鱼样品中的内标绝对回收率结果相当(80%~120%)。采用含酸溶液提取的目的主要是改善峰型和提高提取率,但由于高氯酸盐大多易溶于水,在提取溶液中加入酸的意义不大,因此舍去乙腈-0.2%乙酸体系,选用乙腈-水体系为提取溶剂。

应用乙腈-水体系(其中乙腈与水的比例为0:1、1:1、2:1,V/V)对上述13种样品中的高氯酸盐进行提取, C_{18} SPE柱净化。从色谱行为看,水果、蔬菜类样品中的香蕉、油菜采用水提取,进样液中的高氯酸根色谱峰型变宽,峰分叉,且 C_{18} SPE净化液略有浑浊;采用乙腈-水(1:1,V/V)提取,香蕉、油菜进样液中的高氯酸根色谱峰型明显改善,峰型对称,无拖尾,且 C_{18} SPE净化液澄清,因此水果、蔬菜类的提取溶剂为乙腈-水(1:1,V/V)。香辛料调味品采用水为提取溶剂时,提取液颜色浅,提取液中含有的色素、脂肪酸、芳香类化合物等杂质明显少于采用含有乙腈的提取溶剂得到的提取液,且进样液中的高氯酸根色谱峰型对称、尖锐,高氯酸根内标绝对回收率在40%~100%之间,因此将水作为香辛料调味品的提取溶剂。乙腈具有很好地沉淀蛋白质的作用,经过比较,乙腈和水体积比例为2:1对沉淀面粉、牛奶、鸡蛋、牛肉、桂鱼中的蛋白质的效果最好,因此谷物和动物源性食品的提取溶剂为乙腈-水

(2:1, V/V)。

文献^[6]和 SN/T 4089—2015^[15]中均采用乙腈-1%乙酸体系作为提取溶剂,而本试验采用乙腈-水体系作为提取溶剂,因此需考察两种提取溶剂体系对不同食品基质中高氯酸盐的提取率。分别按 SN/T 4089—2015 和本试验的提取溶剂体系、提取步骤对麻椒(10.30 mg/kg)、散玉米面(0.54 mg/kg)、有机小米(0.063 mg/kg)、油菜(0.26 mg/kg)、菠萝(0.040 mg/kg)和草鱼(0.050 mg/kg)6种样品中的高氯酸盐进行提取,并将提取液用水进行稀释,以消除液质测定中基质效应的影响。其中,麻椒提取液稀释100倍,散玉米面提取液稀释20倍,其他4种样品提取液分别稀释10倍,经4℃ 10 000 r/min离心10 min后,取上清液进行UPLC-MS/MS分析,并用外标法定量。结果表明,本试验方法和 SN/T 4089—2015方法测定的6种食品基质中高氯酸盐含量差异无统计学意义($P > 0.05$),且两种方法样品中高氯酸盐含量相对标准偏差在3.6%~7.1%之间,因此,本试验采用乙腈-水体系,并通过涡旋和超声提取的方式,完全可以将不同基质食品中的高氯酸盐提取出来。

2.3 净化柱的选择

试验选择 Sep-pack C₁₈柱(200 mg,含碳量为12%)、CNW C₁₈柱(200 mg,含碳量为18%)、Oasis-prime(200 mg)和 Supelelean ENVI-Carb 石墨碳黑柱(500 mg)4种 SPE柱,并采用通过式净化方式。首先将只含有高氯酸根内标的水空白、提取溶液1空白、提取溶液2空白3种提取溶剂经4种 SPE柱净化,以考察高氯酸根内标回收率情况。其次以鸡腿菇、牛奶、平鱼、桂皮为样品,按照1.2.2样品前处理方法进行提取,并分别经上述4种 SPE柱净化,以比较4种 SPE柱对上述样品中杂质的净化效果。试验结果显示,3种含高氯酸根内标的空白溶剂经 Sep-pack C₁₈柱、CNW C₁₈柱、Oasis-prime 净化后,高氯酸根内标绝对回收率均为100%,而 Supelelean ENVI-Carb 石墨碳黑柱对3种空白溶液中的高氯酸根内标均有极强的吸附,内标绝对回收率为0%,但在样品净化过程中是优先吸附样品提取液中的杂质,因此在同种样品净化试验中, Supelelean ENVI-Carb 石墨碳黑柱的内标绝对回收率与其他3种 SPE柱中的内标绝对回收率相当。桂皮样品的提取液经 Oasis-prime SPE柱净化后,高氯酸根内标绝对回收率只有30%,其水空白中的内标回收率可达到100%,说明此 SPE柱吸附杂质的效果差,且净化液中的杂质在质谱上产生了强抑制。4种样品提取液经含碳量为12%和18%的不同 C₁₈ SPE柱净化后,

同种样品间的净化液颜色和高氯酸根内标绝对回收率差异无统计学意义($P > 0.05$)。综合考虑后,选择 Sep-pack C₁₈柱(200 mg,含碳量为12%)为净化柱。4种食品提取液经 SPE柱净化后高氯酸根内标绝对回收率的比较见图2。

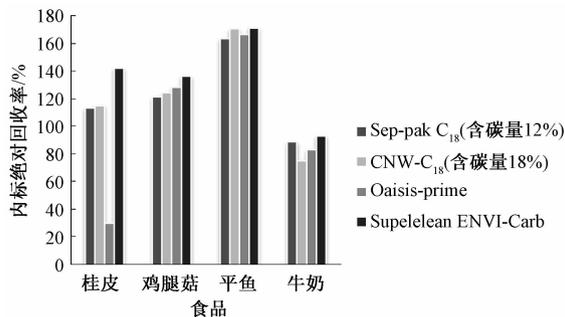


图2 4种食品提取液经4种SPE柱净化后高氯酸根内标绝对回收率的比较

Figure 2 Comparison of perchlorate internal standard absolute recovery by 4 kinds SPE in 4 kinds of food

2.4 基质效应

采用常用的标准曲线比较法^[16]对建立的UPLC-MS/MS方法中的动物源性食品的前处理方法进行基质效应的评估。标准曲线A,用提取溶剂2配制标准曲线,浓度为0、2.5、10、20、50 μg/kg;标准曲线B,分别选择不含高氯酸盐的鸡胸、羊肉、平鱼和五花肉4种样品,按照1.2.2样品前处理方法进行提取、净化,并于上机前用净化液配制浓度范围为上述6个浓度点的标准曲线;标准曲线C,4个样品制备前,分别进行上述6个浓度点的加标,再按同样方法进行提取和净化。基质效应(ME,%) = 斜率_{B曲线}/斜率_{A曲线} × 100%,绝对回收率(RE,%) = 斜率_{C曲线}/斜率_{A曲线} × 100%,相对回收率(RE_R,%) = 斜率_{C曲线}/斜率_{B曲线} × 100%。结果显示,ME为173%~221%,RE为151%~295%,即采用本方法的4种样品基质效应为基质增强,因此如采用外标法定性定量误差极大,而采用同位素稀释法可有效的解决因基质效应造成定量不准确的问题。动物源性食品中高氯酸盐的ME、RE和RE_R结果见表2。

表2 动物源性食品中高氯酸盐的ME、RE和RE_R(%)
Table 2 Matrix effect (ME), absolute recoveries (RE) and relative (RE_R) estimated using slopes data for perchlorate analysis in foodstuffs of animal origin

动物食品	ME	RE	RE _R
鸡胸	180	188	105
羊肉	221	295	124
平鱼	173	187	108
五花肉	175	151	116

2.5 线性范围

用水、提取溶剂1和提取溶剂2分别制成高氯酸根浓度分别为0.30~20.0 μg/L的标准工作液,

吸取 10 μl 系列标准溶液注入 UPLC-MS/MS 进行分析,内标法定量,得线性回归方程为 $y_1 = 1.68224x + 0.007166$ (水配制), $R^2 = 0.9999$; $y_2 = 1.61879x + 0.02065$ (提取溶剂 1), $R^2 = 0.9999$, $y_3 = 1.62676x + 0.02926$ (提取溶剂 2), $R^2 = 0.9998$ 。

2.6 准确度和精密度

分别选取西红柿、油菜、香蕉、平鱼、牛肉、牛奶、大米、面粉、桂皮 9 种样品,按 1.2.2 样品前处理方法进行处理,牛奶中添加 2、5、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的高氯酸盐,其他食品添加水平为 10、20、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的高氯酸盐,回收率试验结果见表 3。

表 3 食品中高氯酸盐的回收率试验结果($n=6$)

Table 3 Recovery and precision of perchlorate in food

样品名称	高氯酸盐			
	添加水平 /($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD /%
牛奶	2	86.1 ~ 102.2	95.2	6.5
	5	91.5 ~ 101.0	98.0	3.4
	10	92.1 ~ 105.3	103.2	4.0
西红柿	10	85.4 ~ 94.8	90.3	4.2
	20	90.2 ~ 111.0	102.4	5.1
	50	93.2 ~ 108.2	101.2	4.2
油菜	10	86.4 ~ 114.5	101.7	9.9
	20	88.9 ~ 113.1	95.2	7.1
	50	92.5 ~ 118.0	108.3	5.8
香蕉	10	98.8 ~ 102.3	100.1	1.4
	20	101.4 ~ 113.1	104.2	2.2
	50	99.1 ~ 107.4	104.6	2.4
平鱼	10	96.7 ~ 101.1	98.7	2.9
	20	98.9 ~ 115.3	106.3	3.3
	50	101.6 ~ 117.2	108.1	3.8
牛肉	10	85.4 ~ 94.0	90.0	4.8
	20	88.7 ~ 106.0	92.1	5.1
	50	90.6 ~ 110.6	96.8	4.2
大米	10	81.7 ~ 83.2	82.6	1.0
	20	87.5 ~ 92.6	89.6	1.9
	50	92.4 ~ 109.1	102.8	2.9
面粉	10	91.6 ~ 120.4	106.3	6.5
	20	93.2 ~ 115.3	107.1	5.1
	50	92.7 ~ 109.1	102.9	3.3
桂皮	10	102.8 ~ 116.2	108.1	6.8
	20	98.0 ~ 118.7	108.6	3.6
	50	103.0 ~ 110.5	107.1	3.2

2.7 定量限及检出限

根据回收率试验结果,低水平加标试验结果符合定量要求,以此作为方法的定量限,即牛奶中高氯酸盐的定量限为 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,蔬菜、水果、谷物、动物源性食品、香辛料调味品为 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$;以信噪比为 3 的含量作为方法的检出限,即牛奶中高氯酸盐的检出限为 0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$,蔬菜、水果、谷物、动物源性食品、香辛料调味品为 1.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2.8 样品测定

采用建立的方法测定购自北京市内超市和市

场的 163 份样品,包括蔬菜 81 份、动物源性食品(肉、禽、蛋和水产品)28 份、牛奶等饮品 20 份、谷物 17 份、香辛料调味品 17 份。目前,国际上尚没有高氯酸盐限量标准,欧盟 2014 年对高氯酸盐的评估报告^[1]中,规定了欧盟成员国之间的高氯酸盐推荐限量值(见表 4),据此浓度值,在 17 份谷物样品中有 1 份有机小米(0.063 mg/kg)、1 份散玉米米面(0.54 mg/kg)超过欧盟其他食品的推荐值 0.05 mg/kg ,17 份香辛料调味品中有 9 份样品高氯酸盐含量超过了 1.0 mg/kg ,这 9 份样品全部为花椒,含量范围为 1.10 ~ 10.30 mg/kg ,蔬菜和动物源性食品均在欧盟推荐的浓度值内。163 份样品中高氯酸盐含量范围见表 5。

表 4 欧盟成员国内部成员之间推荐的高氯酸盐限量值
(mg/kg)

Table 4 Levels of perchlorate as reference for intra-Union trade

食品	浓度
水果和蔬菜	0.1
干香料(除干香草和辣椒粉),干啤酒花	0.5
干茶叶	0.75
干草本茶和水果茶	1.0
婴幼儿食品	0.02
其他食品	0.05

注:水果和蔬菜中的葫芦科和叶状蔬菜、温室种植的芹菜和菠菜、温室种植的香草和生菜以及沙拉植物高氯酸盐浓度值分别为 0.2、0.5 和 1.0 mg/kg

表 5 163 份样品中高氯酸盐含量范围

Table 5 Levels of perchlorate for 163 samples

检测品种	样品份数	高氯酸盐含量/(mg/kg)
牛奶	12	0.0018 ~ 0.015
乳酸菌饮料	5	0.0054 ~ 0.011
豆浆	3	0.00065 ~ 0.0038
米类(大米、小米、糙米等)	10	<0.0018 ~ 0.063
面类	5	<0.0018 ~ 0.54
豆类	2	<0.0018 ~ 0.0042
香辛料调味品	17	<0.0018 ~ 10.30
肉类(猪肉、牛肉、羊肉)	7	0.0019 ~ 0.0058
禽类(鸡、鸭)	8	0.0021 ~ 0.016
水产品	10	0.0018 ~ 0.050
蛋类	3	0.0060 ~ 0.0069
蔬菜类(根菜类)	3	0.0062 ~ 0.035
蔬菜类(白菜类)	15	0.0064 ~ 0.12
蔬菜类(绿叶菜类)	22	0.0050 ~ 0.26
蔬菜类(葱蒜类)	3	0.036 ~ 0.12
蔬菜类(茄果类)	14	<0.0018 ~ 0.016
蔬菜类(瓜类)	11	<0.0018 ~ 0.047
蔬菜类(豆类)	4	0.0043 ~ 0.0079
蔬菜类(薯芋类)	4	0.0051 ~ 0.052
蔬菜类(水生蔬菜类)	3	0.0038 ~ 0.012
蔬菜类(食用菌类)	2	0.0040 ~ 0.0071

3 小结

本方法选用 SynergiTM Max-RP 为分析柱,流动相体系为 0.1% 甲酸-甲醇溶液, C_{18} SPE 柱净化,并

采用 UPLC-MS/MS 进行分析和同位素内标法定量。此方法适用于食品中高氯酸盐的测定。

参考文献

- [1] European Food Safety Authority. Scientific opinion on the risks to public health related to the presence of perchlorate in food, in particular fruits and vegetables [J]. *EFSA Journal*, 2014, 12(10):3869.
- [2] ZHANG T, CHEN X J, WANG D, et al. Perchlorate in indoor dust and human urine in China; contribution of indoor dust to total daily intake [J]. *Environmental Science and Technology*, 2015, 49(4):2443-2450.
- [3] 李柚, 喻宏伟, 王飞. 离子色谱法测定葡萄酒中的高氯酸盐 [J]. *色谱*, 2016, 34(10):989-911.
- [4] 孟维伟. 茶叶中高氯酸盐的检测——离子色谱法 [J]. *轻工科技*, 2016, 216(11):12-13.
- [5] 丛鑫, 苏葳艺, 赵晓云, 等. 离子色谱法同时测定牛乳及牛乳制品中硫酸盐和氯酸盐 [J]. *沈阳医药科技大学学报*, 2013, 30(8):601-604.
- [6] U. S. Food and Drug Administration. Revision 2; rapid determination of perchlorate anion in foods by ion chromatography-tandem mass spectrometry [EB/OL]. (2005-04-12) [2017-04-01]. <https://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/ChemicalContaminants/ucm077793.htm>.
- [7] SHI Y L, ZHANG P, WANG Y W, et al. Perchlorate in sewage sludge, rice, bottled water and milk collected from different areas in China [J]. *Science Direct*, 2007, 33(7):955-962.
- [8] ARIBI H E, BLANC Y J C L, 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.
- [9] KIRK A B, KROLL M, DYKE J V, et al. Perchlorate, iodine supplements, iodized salt and breast milk iodine content [J]. *Science of the Total Environment*, 2012, 420(1):73-78.
- [10] BLASINI L V, BLOUNT B C, SANTOS S O, et al. Perchlorate exposure and dose estimates in infants [J]. *Environ Sci Technol*, 2011, 45(9):4127-4132.
- [11] BORJAN M, MARCELLA S, BLOUNT B, et al. Perchlorate exposure in lactating women in an urban community in New Jersey [J]. *Science of the Total Environment*, 2011, 409(3):460-464.
- [12] LI Y T, GEORGE E J. Analysis of perchlorate in water by reversed phase LC/ESI-MS/MS using an internal standard technique [J]. *Analytical Chemistry*, 2005, 77(14):4453-4458.
- [13] PISARENKO A N, STANFORD B D, QUINONES 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.
- [14] 黄晓兰, 罗辉泰, 吴惠勤, 等. 奶粉中高氯酸盐的液相色谱-串联质谱测定 [J]. *分析测试学报*, 2009, 28(8):896-899.
- [15] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 进出口食品中高氯酸盐的测定 液相色谱-质谱/质谱法: SN/T 4089—2015 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [16] HOFF R B, RÜBENSAM G, JANK L, et al. Analytical quality assurance in veterinary drug residue analysis methods: matrix effects determination and monitoring for sulfonamides analysis [J]. *Talanta*, 2015, 132(6):443-450.

· 请示批复 ·

总局办公厅关于明确进口特殊医学用途配方食品和婴幼儿配方乳粉产品配方注册管理过渡期执行日期问题的复函

食药监办特食管函〔2017〕466号

上海市食品药品监督管理局:

你局《关于特殊医学用途配方食品注册和婴幼儿配方乳粉产品配方注册要求中进口产品执行日期问题的请示》(沪食药监食生函〔2017〕131号)收悉。经研究,现函复如下:

根据总局《关于给予特殊医学用途配方食品注册管理过渡期的公告》(2016年第119号)和《关于婴幼儿配方乳粉产品配方注册管理过渡期的公告》(2016年第160号)规定,未经注册但2018年1月1日前(不含2018年1月1日)经有关部门批准进口的境外生产的特殊医学用途配方食品和婴幼儿配方乳粉,可以在我国境内销售至其保质期结束。

食品药品监管总局办公厅
二〇一七年七月十三日

(相关链接:<http://www.cfd.gov.cn/WS01/CL1605/174811.html>)