

附件2:

《水产加工食品中全氟烷基化合物的 测定 高效液相色谱-串联质谱法》 (征求意见稿)

标准编制说明

青岛市产品质量监督检验研究院

二零二一年三月十九日

目录

一、工作简介	3
二、制定标准的必要性和意义	3
三、主要起草过程	4
四、制定标准的原则和依据	4
五、标准技术路线及条件优化	4
六、标准中如果涉及专利，应有明确的知识产权说明.....	10
七、采用国际标准和国外先进标准的情况，与国际、国内同类标准水平的对比情况	10
八、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系.....	10
六、重大分歧意见的处理经过和依据	10
七、贯彻标准的要求和措施建议	10
八、废止现行有关标准的建议	10
九、其他应予说明的事项	10

一、工作简介

1、任务来源

2020年11月4日，由青岛市产品质量监督检验研究院申请的团体标准《水产加工食品中全氟烷基化合物的测定 高效液相色谱-串联质谱法》在青岛市标准化协会立项。该标准依托于国家市场监督管理总局技术保障专项项目《水产加工食品中全氟烷基物质高灵敏检测技术研发及健康风险评价》，课题编号：2020YJ027。

2、主要工作过程

本标准起草单位对国内外相关标准和方法进行了调研和考察，在此基础上研发检测多种全氟烷基物质(PFASs)的快速精确检测方法，对方法中的样品提取净化方式、色谱条件、质谱条件等因素进行优化筛选，改进以往方法的不足之处。利用UPLC-串联四级杆质谱仪高压条件下快速检测以及高灵敏度的特点，实现短时间内完成一个样品22种PFASs的仪器检测。采用该方法检测多种水产加工食品，验证检测方法操作实用性。

3、起草单位、协作单位

起草单位：青岛市产品质量监督检验研究院

协作单位：中国水产科学研究院黄海水产研究所，青岛市华测检测技术有限公司，山东众合天成检验有限公司，青岛市标准化研究院。

4、主要起草人

姓名	性别	职称/职务	工作单位	任务分工
王智	男	高级工程师	青岛市产品质量监督检验研究院	首席起草人
郭萌萌	女	高级工程师	中国水产科学研究院黄海水产研究所	首席起草人
谭燕	女	高级工程师	青岛市产品质量监督检验研究院	首席起草人
乔海清	女	高级工程师	青岛市产品质量监督检验研究院	参与者
付燕秋	女	工程师	青岛市产品质量监督检验研究院	参与者
姚建华	女	高级工程师	青岛市华测检测技术有限公司	参与者
肖林霞	女	高级工程师	山东众合天成检验有限公司	参与者
王晓滨	男	研究员	青岛市产品质量监督检验研究院	参与者
李建兵	男	高级工程师	青岛市产品质量监督检验研究院	参与者
苏晓钰	女	高级工程师	青岛市产品质量监督检验研究院	参与者
邓建刚	男	高级工程师	青岛市产品质量监督检验研究院	参与者
褚学军	男	高级工程师	青岛市产品质量监督检验研究院	参与者
苏涛	男	工程师	青岛市标准化研究院	参与者
汪浩	男	工程师	青岛市产品质量监督检验研究院	参与者
张毅	女	助理工程师	青岛市产品质量监督检验研究院	参与者
吕妍燕	女	助理工程师	青岛市产品质量监督检验研究院	参与者

二、制定标准的必要性和意义

全氟烷基物质(PFASs)是一类合成含氟有机化合物，从二十世纪五十年代就开始广泛应用于工业和民用产品领域。该类化合物的耐降解性、生物累积性等特性使其在水体、土壤等各种环境和生物体内广泛分布，而且有较强的多器官毒性、基因毒性和致癌毒性。因此，作为新型可持续性有机污染物(POPs)，PFASs已经引起国内外高度关注。2009年《斯德哥尔摩公约》优控名单中增加了全氟辛烷磺酸(PFOS)及全氟辛基磺酰氟，2019年斯德哥尔摩公约将全氟辛酸(PFOA)及其相关物质增列入致癌物附件A。根据我国生态环境部要求，自2019年3月26日起禁止全氟辛基磺酸及其盐类和全氟辛基磺酰氟除可接受用途外的生产、流通、使用和进出口。

水产加工食品以其较高的营养价值和独特的风味特点一直受到我国消费者青睐，其安全性也备受关注。根据以往研究情况，目前我国水产品中全氟化合物的含量相对高于乳、肉、蔬菜和蛋等食品，所以水产加工食品中PFASs的污染情况不容乐观。水产加工食品不仅高油脂高蛋白，而且含有较多的食品添加剂，基质十分复杂，这给检测过程带来较多干扰，

需要建立快速而精确的检测方法来满足检测需求。本项目以水产加工食品为研究对象，参考2020年国家食品安全监督抽查实施细则中规定的食品分类进行样品类别设计，研究干制水产品、熟制动物性水产制品、盐渍水产品、鱼糜制品及水产动物类罐头等不同类别水产加工食品中PFASs的检测方法。

目前，测定水产品和肉类等食品中全氟化合物的方法多采用液相色谱-串联质谱法结合固相萃取柱净化技术。本方法采用分散固相萃取结合通过式过滤柱净化方式进行样品前处理，既能保证复杂基质的净化效果，又能提高检测速度，可有效减少水产加工食品的基质干扰。验证了不同的提取试剂以及C18萃取剂、乙二胺-N-丙基(N-propylethylenediamine, PSA)萃取剂和石墨化碳黑(PestiCarb)吸附剂的净化效果。利用超高效液相色谱(UPLC)的高分离度实现22种PFASs的快速分离，采用同位素内标法进行串联质谱定量分析。本方法前处理步骤简便，分析速度快，灵敏度高，适合水产加工食品中PFASs的快速定量检测。

三、主要起草过程

提案阶段	成立标准筹备小组，填写标准项目立项申请书。拟定工作大纲。	2020.10-2020.11
立项阶段	立项审查	2020.11
起草阶段	起草标准建议稿和初稿	2020.11-2021.1
征求意见阶段	完成意见征求	2021.2-2021.3
通过和发布阶段	申请标准发布、实施	2021.4

四、制定标准的原则和依据

1. 本标准方法是根据GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写规则》和GB/T 20001.4-2001《标准编制规则 第四部分：化学分析方法》的要求进行编写。
2. 遵守国家有关的法律、法规，及强制性标准的要求。
3. 结合当前全氟化合物的检测方法和分析技术水平，适当考虑政府及第三方检测机构需求、科研机构和相关企业的设备配置。充分发扬技术民主，充分采纳产学研等业内各单位的意见。
4. 针对目前全氟化合物的检测状况，本标准编制过程中，遵循以下原则：
 - 体现先进技术：标准体现了检测行业发展趋势快速、高通量等特点
 - 标准先进性：符合行业发展需要、符合技术发展趋势。
 - 体现适用性：具有实操性、可执行性。

五、标准技术路线及条件优化

5.1 方法概述

本方法涉及水产加工食品中22种全氟烷基物质(PFASs)，包括全氟丁酸(PFBA)、全氟戊酸(PFPeA)、全氟己酸(PFHxA)、全氟庚酸(PFHpA)、全氟辛酸(PFOA)、全氟壬酸(PFNA)、全氟癸酸(PFDA)、全氟十一烷酸(PFUdA)、全氟十二烷酸(PFDoA)、全氟十三烷酸(PFTrDA)、全氟十四烷酸(PFTeDA)、全氟十六烷酸(PFHxDA)、全氟十八烷酸(PFODA)、全氟丁烷磺酸(PFBS)、全氟戊烷磺酸(PFPeS)、全氟己烷磺酸(PFHxS)、全氟庚烷磺酸(PFHpS)、全氟辛烷磺酸(PFOS)、全氟壬烷磺酸(PFNS)、全氟癸烷磺酸(PFDS)、全氟十二烷磺酸(PFDoS)及全氟辛烷磺酰胺(PFOSA)。用分散固相萃取结合通过式过滤柱净化方式进行样品前处理，既能保证复杂基质的净化效果，又能提高检测速度，可有效减少水产加工食品的基质干扰。利用超高效液相色谱(UPLC)的高分离度实现22种PFASs的快速分离，采用同位素内标法进行串联质谱定量分析。本标准对前处理步骤进行了筛选和比较，对液相色谱条件、质谱检测条件进行了优化，还进行了定量限试验、回收率及精密度试验，最终进行了实际样品验证。各项结果表明，本标准方法的性能指标能够符合分析要求，可以满足水产加工食品中22种全氟烷基物质的检测要求。

5.2 仪器分析条件优化

5.2.1 色谱条件的优化

本方法利用 UPLC 的高解析度特点，能够实现短时间内 22 种 PFASs 的有效分离。考察了 100mm 和 50mm 两种型号的 ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱，结果显示 100mm 的色谱柱具有更好的分离效果，能够在 6min 内有效分离 22 种 PFASs。色谱峰结果详见图 1。



图 1 空白样品中添加 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 水平 22 种 PFASs 及内标总离子流图

不同的流动相系统对色谱行为的影响显著，本方法对乙腈-水、乙腈-乙酸铵和甲醇-乙酸铵三种流动相体系进行了比较。结果显示，乙腈-水体系峰型较差，乙腈-乙酸铵体系虽峰型较好，但灵敏度降低，甲醇-乙酸铵体系峰型对称且灵敏度较高。所以本方法选择甲醇-5mmol/L 乙酸铵水溶液 (0.1%甲酸) 作为流动相。

色谱条件：

色谱柱：ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 \times 100mm, 1.7 μm)

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

流速：0.3mL/min;

进样量：5 μL ;

流动相：A 为 5mmol/L 乙酸铵水溶液 (0.1%甲酸)，B 为甲醇；

洗脱梯度：0-1.0min, 5% B; 1.0-3.0min, 5%-95% B; 3.0-3.01min, 95%-5%B; 3.01-6.0min, 95%-5%B。

5.2.2 质谱条件的优化

在 ESI 源负离子模式下将 PFASs 的混合标准溶液以针泵流动注射方式注入质谱，对毛细管电压、锥孔电压、碰撞电压、脱溶剂气温度等关键质谱参数进行调谐，以信号响应值为依据确定各化合物的最佳质谱条件。其中毛细管电压对各化合物的响应值影响较大，最终确定 2.5kV 为毛细管电压，其他质谱参数详见表 1。

质谱条件：

离子源：电喷雾离子源 (ESI)；
 监测模式：多反应监测 (MRM)，负离子模式；
 毛细管电压：2.5kV；
 离子源温度：140℃；
 脱溶剂气流量：氮气 1000L/h；
 脱溶剂气温度：350℃；
 锥孔气流量：氮气 30 L/h；
 碰撞气流量：氩气 0.15 mL/min。

表1 22种PFASs及内标物的质谱分析参数

序号	化合物	CAS 号	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)	锥孔电压 (kV)
1	全氟丁酸 (PFBA)	375-22-4	213	169*	20	8
				168.9	20	8
2	全氟戊酸 (PFPeA)	2706-90-3	263	219*	20	8
				209	20	11
3	全氟己酸 (PFHxA)	307-24-4	312.9	269*	25	8
				119	20	18
4	十三氟庚酸 (PFHpA)	375-85-9	363	319*	20	15
				169	20	27
5	全氟辛酸 (PFOA)	335-67-1	413	369*	20	16
				169	20	30
6	全氟壬酸 (PFNA)	375-95-1	463	419*	25	20
				219	25	30
7	十九氟癸酸 (PFDA)	335-76-2	513	469*	20	20
				219	20	30
8	全氟十一烷酸 (PFUdA)	2058-94-8	563	519*	20	20
				219	20	30
9	全氟十二烷酸 (PFDoA)	307-55-1	613	569*	25	23
				169	25	45
10	全氟十三酸 (PFTrDA)	72629-94-8	663	619*	25	23
				169	25	45
11	全氟十四酸 (PFTeDA)	376-06-7	713	669*	25	26
				169	25	55
12	全氟十五酸 (PFHxDA)	67905-19-5	813	769*	25	25
				169	25	58
13	全氟十六酸	16517-11-6	913	869*	25	25

	(PFODA)			169	25	60
14	全氟丁烷磺酸 (PFBS)	45187-15-3	299	79.9*	50	48
				99	50	35
15	全氟戊烷磺酸 (PFPeS)	2706-91-4	348.9	79.9*	32	31
				98.9	32	30
16	全氟己烷磺酸 (PFHxS)	355-46-4	399	79.9*	65	55
				99	65	40
17	全氟庚烷磺酸 (PFHpS)	375-92-8	449	79.9*	16	34
				99	16	34
18	全氟辛烷磺酸 (PFOS)	1763-23-1	499	79.9*	20	55
				99	20	55
19	全氟壬烷磺酸 (PFNS)	98789-57-2	549	80*	65	55
				99	60	50
20	全氟癸烷磺酸 (PFDS)	335-77-3	599	79.9*	85	60
				99	85	52
21	全氟十二烷磺酸 (PFDoS)	1260224-54-1	699	99*	70	57
				130	70	60
22	全氟辛基磺酰胺 (PFOSA)	754-91-6	498	77.9*	25	80
				169	25	30
23	全氟辛烷磺酸内 标 (MPFOS)		507	79.9	30	70
				99.0	30	65
24	全氟辛酸内标 (MPFOA)		421	223	20	16
				376	20	16

5.3 样品前处理方法的优化

5.3.1 提取剂的优化

考虑到水产加工食品普遍具有高蛋白，高脂肪，含有较多添加剂等特点，本方法分别用0.1%甲酸乙腈、0.1%甲酸甲醇和5%氨水甲醇进行了提取，用回收率来比较不同提取液对目标化合物的提取效率。结果显示，0.1%甲酸乙腈提取效果最好，在2.5 μg/kg添加水平下，目标化合物的回收率在76.2%-116.0%之间。

5.3.2 净化方式的优化

本方法采用通过式过滤柱结合分散固相萃取，对C18萃取剂、PSA萃取剂和GCB等不同的分散固相萃取材料进行比较。结果显示，通过PSA萃取剂去除有机酸和碳水化合物等杂质，利用石墨化碳黑(GCB)去除色素，再结合通过式过滤柱去除蛋白和脂类物质，既能较短时间内完成净化，又能保证净化效果。本方法以鱼罐头为样品对PSA萃取剂和GCB的不同比例(1:1, 2:1, 3:1)进行了回收率验证，结果表明，在2:1比例条件下鱼罐头中PFASs的回收率较好，背景干扰相对较小。

5.4 方法灵敏度、线性范围、准确度和精密度的优化

用PFASs混合标准溶液以及内标配制系列浓度曲线,以各组分峰面积和内标物峰面积比值为纵坐标,各组分的质量浓度为横坐标进行线性回归分析,22种PFASs在0.5 μg/L-10 μg/L质量浓度范围内线性关系良好,详见表2。分别在鱼丸、即食海参、鱼罐头样品中添加0.5、2.5、5.0 μg/kg浓度水平的标准物质做加标回收实验,每个浓度水平平行测定6次计算回收率及相对标准偏差(RSD),结果显示,即食海参中PFASs在三种浓度水平下的加标回收率在78.3%-112.6%之间,相对标准偏差为6.2%-11.4%;鱼丸中PFASs的加标回收率在76.2%-116.0%之间,相对标准偏差为5.8%-12.7%;鱼罐头中PFASs的加标回收率在78.5%-109.1%之间,相对标准偏差为6.1%-12.9%,说明本方法的准确度与精密度良好。在空白样品中添加低浓度水平标准溶液,测定结果以信噪比(S/N) ≥ 10确定各组分定量限(LOQ),结果详见表2。各组分定量限为0.10 μg/kg - 0.25 μg/kg。

表2 22种PFASs的线性范围、回归方程、相关系数和定量限

化合物	线性范围(μg/L)	回归方程	相关系数(r)	定量限(LOQ)(μg/kg)
PFBA	0.5~10	$y=0.107024x+0.14179$	0.998815	0.10
PFPeA	0.5~10	$y=0.100064x+0.00472$	0.998853	0.10
PFBS	0.5~10	$y=0.481905x+0.10115$	0.999245	0.10
PFHpA	0.5~10	$y=0.0788913x+0.01450$	0.998313	0.10
PFHxS	0.5~10	$y=0.635881x+0.014244$	0.999653	0.10
PFHxA	0.5~10	$y=0.194514x+0.0523412$	0.997781	0.10
PFOA	0.5~10	$y=0.103678x+0.0343127$	0.998034	0.10
PFNA	0.5~10	$y=0.0275602x+0.001794$	0.998133	0.25
PFOS	0.5~10	$y=0.766576x+0.098636$	0.999657	0.10
PFDA	0.5~10	$y=0.056391x-0.003524$	0.998783	0.10
PFUdA	0.5~10	$y=0.102155x+0.009059$	0.997269	0.10
PFDS	0.5~10	$y=0.860263x+0.048053$	0.998615	0.10
PFDoA	0.5~10	$y=0.0536934x+0.004738$	0.998030	0.10
PFTTrDA	0.5~10	$y=0.0541849x-0.001187$	0.995640	0.10
PFTeDA	0.5~10	$y=0.0218498x-0.009098$	0.994737	0.25
PFHxDA	0.5~10	$y=0.0718024x-0.006240$	0.998400	0.10
PFODA	0.5~10	$y=0.107525x+0.005113$	0.997218	0.10
PFHpS	0.5~10	$y=0.194514x+0.052341$	0.997781	0.10
PFPeS	0.5~10	$y=1.23804x+0.091755$	0.999183	0.10
PFOSA	0.5~10	$y=0.0761557x-0.018315$	0.996058	0.10
PFNS	0.5~10	$y=0.856569x+0.057385$	0.998014	0.10

5.5 定性定量分析

进行样品测定时，如果检出的色谱峰的保留时间与标准物质保留时间一致（0.5%以内），并且在扣除背景后的样品质谱图中，所选择的离子均出现，而且所选择的离子丰度比与标准样品的离子丰度比一致（见表3），则可判断样品中存在这种成分。

表3 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 (%)	k>50%	50%≥k>20%	20%≥k>10%	k≤10%
允许的最大偏差 (%)	± 20	± 25	± 30	± 50

本标准采用内标法定量测定，用峰面积比值绘制系列曲线。标准溶液的浓度应包含待测化合物的浓度。用色谱数据处理软件或按下式计算试样中 PFASs 成分含量：

$$X_i = \frac{C_i \times V \times F}{m}$$

X_i ——试样中 PFASs 含量，ng/g

C_i ——提取液中 PFASs 含量，ng/mL

V ——样液定容体积，mL

F ——样液稀释倍数

m ——称量样品质量，g

5.6 典型样品测定

本方法参考国家食品安全监督抽检实施细则（2020年版）中的样品分类方法进行样品类别设计，选取水产动物类罐头、干制水产品、熟制动物性水产制品等不同类别水产加工食品进行检测。检测结果发现，22种 PFASs 中，PFOA 和 PFOS 检出率较高，水产动物类罐头样品中 PFOA 含量最高为 31.59 μg/kg。不同样品各组分检出率详见表4。

表4 不同水产加工食品中 PFASs 各组分的检出率(%)

PFASs	水产动物类罐头	干制水产品	熟制动物性水产制品
PFBA	63.6	11.1	46.7
PFPeA	54.5	5.6	36.7
PFBS	18.2	5.6	13.3
PFHpA	13.6	0	23.3
PFHxS	4.5	0	3.3
PFHxA	13.6	11.1	16.7
PFOA	95.5	88.9	93.3
PFNA	13.6	0	10.0
PFOS	72.7	55.6	66.7
PFDA	4.5	0	3.3
PFUdA	9.1	0	3.3
PFDS	4.5	0	10.0
PFDOA	27.7	0	6.7
PFTrDA	31.8	11.1	40.0
PFTeDA	4.5	0	3.3
PFHxDA	13.6	5.6	6.7
PFODA	9.1	0	16.7
PFHpS	0	0	3.3

PFPeS	4.5	0	6.7
PFOSA	31.8	5.6	23.3
PFNS	4.5	0	6.7
PFDoS	0	0	3.3

六、标准中如果涉及专利，应有明确的知识产权说明

本标准未涉及专利及知识产权问题。

七、采用国际标准和国外先进标准的情况，与国际、国内同类标准水平的对比情况

本标准没有采用国际标准。本标准与国内标准相配套协调。

五、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系

本标准与相关法律、法规、规章及相关标准协调一致，没有冲突。

六、重大分歧意见的处理经过和依据

无

七、贯彻标准的要求和措施建议

本标准发布后，应向所有单位进行宣传、贯彻，及相关人员推荐执行本标准。

八、废止现行有关标准的建议

无

九、其他应予说明的事项

无

标准起草工作组
2021. 3. 19