方法验证报告

方法名称	母乳、血液和尿液中氯酸盐和高氯酸盐的测定
制订单位	北京市疾病预防控制中心
验证单位	北京市延庆区疾病预防控制中心
样品前处理方法	**1.仪器和材料** Sciex TRAP 6500 plus 超高效液相色谱仪串联三重四极杆质谱仪； 电子天平、高速冷冻离心机；涡旋混合器；超声波清洗器。 **2.试剂和材料** 试验室用水为一级水；甲醇、乙腈、甲酸、氢氧化钾均为色谱纯；复合净化小柱由制定单位提供。 **3.标准储备溶液的配制** 按照制定单位提供的方法草案进行配制。 **4.前处理方法** 母乳、血清、尿液称取0.5 g（精确至0.01 g），置于2 mL离心管中，加入20.0 μL氯酸盐和高氯酸盐同位素内标混合标准中间液，涡旋混合后静置30 min。加入1 mL乙腈，具塞后震摇混匀，涡旋混匀30 s，超声提取15 min， 10 000 r/min离心5 min，取上清液待净化。 吸取1.0 mL上清液过复合固相萃取净化小柱，收集流出液，10 000 r/min离心5 min，取上清液，离子色谱-串联质谱仪或液相色谱-串联质谱仪测定。

仪器条件

1.仪器型号：

离子色谱仪串联三重四极杆质谱仪（型号：Sciex 6500+），色谱柱： Ion Pac AS 20(250mm×2.0mm, 10 μm)离子色谱柱。

液相色谱仪串联三重四极杆质谱仪（型号：Sciex 6500+），色谱柱：Waters CSH PFP(100mm×2.1mm, 1.7 μm)色谱柱。

2.色谱分离条件：按照制定单位提供的方法草案进行操作

3.质谱条件：

离子源：电喷雾离子源（ESI）
扫描方式：负离子扫描；
检测方式：多反应检测（MRM）；
电喷雾电压（IS）：-4500V；
离子源温度：550℃；
雾化气压力（GS1）：60 psi；
气帘气压力（CUR）：30 psi；
辅助气压力（GS2）：60 psi。其它质谱参数见下表

表 1 质谱条件

化合物	母离子 m/z	子离子 m/z	去簇电压（V）	碰撞电压 (V)
氯酸根	83.0	67.0*	-100	-30
	85.0	69.0	-100	-27
高氯酸根	99.0	83.0*	-100	-36
	101.0	85.0	-100	-38
氯酸根内标	89.0	71.0*	-100	-30
高氯酸根内标	107.0	89.0*	-100	-36

标记*的为定量离子

4.实验结果：

氯酸盐和高氯酸盐在 2.5-500 ng/mL 和 0.25-500 ng/mL 范围内线性相关系数良好，在 1 倍、8 倍和 20 倍定量限时回收率符合生物样品中痕量污染物检测的要求，结果见附表 1。

验证人 林强	验证单位签章
2023年 9月15日	2023年 9月 15日

附表 1 离子色谱-串联质谱法测定三种生物样品中氯酸盐和高氯酸盐的回收率和 RSD（n=6）

样品名称	氯酸盐（ g/kg）						高氯酸盐（μg/kg）					
	本底值	添加水平	实测值	回收率（%）	平均回收率（%）	相对标准偏差 RSD%	本底值	添加水平	实测值	回收率（%）	平均回收率（%）	相对标准偏差 RSD%
1 母乳	ND	25	21.8	87.1	90.7	4.29	ND	2.5	2.86	114	113	3.80
			22.0	87.9					2.68	107		
			22.3	89.1					2.71	108		
			22.5	90.1					2.87	115		
			23.1	92.6					2.93	117		
			24.4	97.7					2.92	117		
		200	174	87.1	91.7	6.12		20	19.0	94.9	93.5	1.86
			173	86.6					18.5	92.6		
			200	99.8					18.4	92.0		
			180	89.8					18.5	92.7		
			195	97.5					19.3	96.4		
			178	89.2					18.5	92.6		
		500	503	101	94.0	7.71		50	43.8	87.5	87.1	1.13
			419	83.8					43.9	87.7		
			449	89.8					43.1	86.3		

			448	89.7					43.3	86.6		
			492	98.5					44.3	88.6		
			508	102					43.0	86.1		
2 血液	0.530	50	40.1	79.2	83.4	10.9	1.82	5	5.74	78.5	95.4	9.83
			40.1	79.0					6.64	96.5		
			49.0	96.8					7.19	107		
			38.1	75.2					6.73	98.3		
			47.0	92.9					6.59	95.4		
			39.1	77.1					6.62	96.1		
		200	178	88.7	84.9	7.68		20	19.1	86.5	86.0	3.86
			154	76.8					19.5	88.4		
			170	84.7					19.7	89.3		
			155	77.2					18.4	83.1		
			184	91.8					19.4	87.8		
			180	90.0					18.0	80.9		
		1000	977	97.7	86.7	9.98		100	78.7	76.9	85.2	5.52
			848	84.8					85.2	83.4		

			778	77.7					87.2	85.4		
			931	93.0					92.1	90.3		
			908	90.7					89.8	88.0		
			761	76.1					89.1	87.3		
3 尿液	ND	25	19.9	79.5	81.2	9.62	ND	2.5	1.84	73.5	78.1	5.23
			21.5	86.0					2.06	82.5		
			19.5	78.2					1.90	76.1		
			23.5	94.2					1.85	74.0		
			19.5	77.8					2.05	81.9		
			17.9	71.7					2.02	80.8		
		200	194	97.1	102	7.00		20	20.3	102	100	1.24
			192	96.0					20.2	101		
			209	105					19.7	98.4		
			230	115					19.9	100		
			195	97.3					20.2	101		
			206	103					19.8	98.9		
		500	506	101	103	9.88		50	51.9	104	102	2.08

			444	88.8					51.7	103		
			513	103					49.6	99.3		
			548	110					51.5	103		
			589	118					51.3	103		
			480	96.1					49.5	99.1		

附表 2 液相色谱-串联质谱法测定三种生物样品中氯酸盐和高氯酸盐的回收率和 RSD（*n*=6）

样品名称	氯酸盐（ g/kg）						高氯酸盐（μg/kg）					
	本底值	添加水平	实测值	回收率（%）	平均回收率（%）	相对标准偏差 RSD%	本底值	添加水平	实测值	回收率（%）	平均回收率（%）	相对标准偏差 RSD%
1 母乳	ND	25	24.3	97.0	95.5	5.59	ND	2.5	2.95	118	110	4.78
			25.2	101					2.74	110		
			23.3	93.1					2.64	105		
			21.5	85.9					2.85	114		
			24.7	98.9					2.60	104		
			24.4	97.5					2.80	112		
		200	192	96.0	97.4	1.80		20	20.9	104	103	2.52
			194	96.9					20.2	101		

			197	98.5					20.6	103		
			195	97.7					20.0	100		
			200	100					20.6	103		
			191	95.4					21.5	107		
		500	483	96.7	96.1	1.50		50	52.3	105	101	3.41
			484	96.9					50.7	101		
			491	98.2					52.7	105		
			474	94.8					49.1	98.1		
			480	95.9					49.4	98.7		
			472	94.3					48.6	97.2		
2 血液	1.69	50	44.2	84.9	88.1	2.01	1.62	5	6.12	89.9	93.1	3.88
			46.9	90.3					6.02	88.0		
			45.8	88.1					6.47	96.9		
			46.1	88.9					6.32	94.0		
			45.7	88.1					6.26	92.8		
			45.8	88.2					6.46	96.8		
		200	174	86.1	87.3	1.40		20	20.3	93.3	94.8	1.64
			180	89.1					21.1	97.4		

			177	87.6					20.7	95.4		
			173	85.9					20.4	93.8		
			176	87.1					20.3	93.5		
			178	88.2					20.6	95.0		
		1000	920	91.9	86.7	6.96		100	92.8	91.2	84.8	7.07
			923	92.1					90.1	88.5		
			768	76.6					77.7	76.1		
			907	90.5					91.3	89.7		
			838	83.6					85.0	83.4		
			859	85.7					81.4	79.8		
3 尿液	ND	50	41.7	83.4	91.1	6.43	0.650	5	5.39	94.9	100	5.49
			46.7	93.4					5.62	99.5		
			48.8	97.7					5.88	105		
			48.0	95.9					5.31	93.2		
			45.7	91.4					5.69	101		
			42.4	84.8					6.02	107		
		200	179	89.3	89.1	1.13		20	19.8	95.6	93.3	1.97

			179	89.4					19.1	92.2		
			178	88.8					18.8	90.6		
			177	88.5					19.1	92.5		
			182	90.9					19.6	94.6		
			176	87.9					19.5	94.2		
		1000	818	81.8	84.7	11.7		100	82.4	81.8	89.0	9.93
			757	75.7					82.1	81.4		
			939	93.9					97.1	96.4		
			798	79.8					83.2	82.5		
			770	77.0					103	103		
			998	99.8					89.8	89.2		