



中华人民共和国国家标准

GB 5009.9—xxxx

食品安全国家标准 食品中二噁英及其类似物毒性当量的 测定

(征求意见稿)

xxxx-xx-xx 发布

xxxx-xx-xx 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局

发布

前 言

本标准代替GB 5009.205-2013《食品安全国家标准 食品中二噁英及其类似物毒性当量的测定》。

本标准与GB 5009.205-2013相比，主要变化如下：

- 增加了第二法 同位素稀释—气相色谱—三重四极杆质谱法；
- 删除世界卫生组织（WHO）1998年制定的毒性当量因子（TEF）；
- 修改了第一法 同位素稀释—气相色谱—磁式高分辨质谱法部分内容的表述和格式。

食品安全国家标准

食品中二噁英及其类似物毒性当量的测定

1 范围

本标准规定了食品中17种2,3,7,8-取代的多氯代二苯并二噁英、多氯代二苯并呋喃(PCDD/Fs)和12种二噁英样多氯联苯(DL-PCBs)含量及其毒性当量(TEQ)(附录A表A.1)的测定方法。

第一法同位素稀释—气相色谱—磁式高分辨质谱法适用于食品中17种PCDD/Fs和12种DL-PCBs含量及其TEQ的测定。

第二法同位素稀释—气相色谱—三重四极杆质谱法适用于肉及肉制品、水产动物及其制品、乳及乳制品、蛋及蛋制品和油脂中17种PCDD/Fs和12种DL-PCBs含量及其TEQ的测定。

第一法 同位素稀释—气相色谱—磁式高分辨质谱法

2 原理

试样经提取、净化和浓缩后,采用气相色谱—磁式高分辨质谱仪测定,稳定性同位素稀释法定量;以各目标化合物的毒性当量因子(TEF)与所测得的含量相乘后累加,计算样品中PCDD/Fs和DL-PCBs的毒性当量(TEQ)。

3 试剂和材料

3.1 试剂

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为GB/T 6682规定的一级水。

- 3.1.1 丙酮(C₃H₆O):农残级。
- 3.1.2 正己烷(C₆H₁₄):农残级。
- 3.1.3 甲苯(C₇H₈):农残级。
- 3.1.4 环己烷(C₆H₁₂):农残级。
- 3.1.5 二氯甲烷(CH₂Cl₂):农残级。
- 3.1.6 甲醇(CH₃OH):色谱级。
- 3.1.7 正壬烷(C₉H₂₀)。
- 3.1.8 乙酸乙酯(CH₃COOCH₂CH₃):农残级。
- 3.1.9 无水硫酸钠(Na₂SO₄):优级纯。
- 3.1.10 浓硫酸(H₂SO₄):优级纯。
- 3.1.11 氢氧化钠(NaOH):优级纯。
- 3.1.12 硝酸银(AgNO₃):优级纯。
- 3.1.13 提取用硅藻土:碱度<0.25 mmol(如EXTrelut NT,或等效产品)。
- 3.1.14 凝胶色谱填料:聚苯乙烯凝胶(如Bio-Beads S-X3, 38 μm~75 μm;或等效产品)。
- 3.1.15 硅胶:75 μm~250 μm。
- 3.1.16 碱性氧化铝:63 μm~200 μm(如EcoChrom™ MP Alumina B-Super I;或等效产品)。
- 3.1.17 弗罗里土:150 μm~250 μm。
- 3.1.18 活性炭:150 μm~180 μm(如Carbopak C, Supelco 1-0258;或等效产品)。
- 3.1.19 净化用硅藻土:26 μm(如Celite 545, Supelco 2-0199;或等效产品)。

3.2 试剂配制

3.2.1 活性硅胶：硅胶（3.1.15）先后用甲醇和二氯甲烷清洗，晾干后在600℃下至少烘烤12 h，临用现配。

3.2.2 酸化硅胶（44%，质量分数）：称取112.0 g活性硅胶（3.2.1）于250 mL具塞磨口旋转烧瓶中，加入88.0 g浓硫酸（3.1.10），密闭后置于摇床上振荡，直至硅胶呈均匀流动状态，临用现配。

3.2.3 碱化硅胶（33%，质量分数）：称取100.0 g活性硅胶（3.2.1）于250 mL具塞磨口旋转烧瓶中，加入49 g 1mol/L NaOH溶液，密闭后置于摇床上振荡，直至硅胶呈均匀流动状态，临用现配。

3.2.4 硝酸银硅胶：称取10.0 g硝酸银（3.1.12）于250 mL具塞磨口旋转烧瓶中，加入40 mL水使之溶解，再慢慢加入90.0 g活性硅胶（3.2.1），密闭后置于摇床上振荡，直至硅胶呈均匀流动状态，使用前制备。

3.2.5 碱性氧化铝：取碱性氧化铝（3.1.16）在600℃下活化24 h，临用现配。

3.2.6 含水弗罗里土（1%，质量分数）：取适量弗罗里土（3.1.17）装入索氏提取器中，用正己烷:二氯甲烷（1:1，体积比）提取24 h，晾干后，称取99.0 g，加水1.0 mL，搅拌均匀，临用现配。

3.2.7 混合活性炭：称取9.0 g 活性炭（3.1.18）和41.0 g分散剂（3.1.19），混和均匀，130℃活化6 h，临用现配。

3.2.8 无水硫酸钠：在660℃下灼烧6 h，临用现配。

3.3 标准溶液

3.3.1 分离度检查标准溶液：含有天然PCDD/Fs的溶液，具体化合物和浓度见附录B表B.1。

3.3.2 PCDD/Fs的同位素标记定量内标标准溶液：含15种¹³C₁₂-PCDD/Fs的溶液，具体化合物及浓度见附录B表B.2。

3.3.3 PCDD/Fs的同位素标记回收率内标标准溶液：含¹³C₁₂-1,2,3,4-TCDD和¹³C₁₂-1,2,3,7,8,9-HxCDD的溶液，具体浓度见附录B表B.3。

3.3.4 PCDD/Fs的校正标准溶液：含有天然和同位素标记的PCDD/Fs系列校正曲线标准溶液，具体化合物及浓度见附录B表B.4。

3.3.5 DL-PCBs的同位素标记定量内标标准溶液：含12种¹³C₁₂-DL-PCBs的溶液，具体化合物和浓度见附录B表B.5。

3.3.6 DL-PCBs的同位素标记回收率内标标准溶液：含¹³C₁₂-PCB 70、¹³C₁₂-PCB 111和¹³C₁₂-PCB 170溶液，具体浓度见附录B表B.6。

3.3.7 DL-PCBs的校正标准溶液：含有天然和同位素标记的DL-PCBs系列校正曲线标准溶液，具体化合物及浓度见附录B表B.7。

3.3.8 灵敏度检查标准溶液：含有天然和同位素标记的PCDD/Fs系列的标准溶液，具体化合物及浓度见附录B表B.8。

注：标准溶液于室温下避光保存，保存期为6年。

4 仪器和设备

4.1 气相色谱—磁式高分辨质谱仪（GC-HRMS）。

4.2 天平：感量为0.1 g和0.001 g。

4.3 组织匀浆器。

4.4 冻干机。

4.5 旋转蒸发器。

4.6 氮气浓缩器。

4.7 超声波清洗器。

4.8 振荡器。

- 4.9 索氏提取器，配备提取套筒。
- 4.10 加速溶剂提取仪。
- 4.11 马弗炉：能够在200 °C~700 °C范围内保持恒温（±10 °C）。
- 4.12 烘箱：能够在 105 °C~250 °C范围内保持恒温（±5 °C）。
- 4.13 玻璃层析柱：带聚四氟乙烯柱塞，150 mm（长）×8 mm（内径），300 mm（长）×15 mm（内径）。
- 4.14 全自动样品净化系统：配备酸碱复合硅胶柱、碱性氧化铝柱和活性炭净化柱。
- 4.15 凝胶渗透色谱柱（GPC）：玻璃柱（内径 15 mm~20 mm），内装 50 g S-X3 凝胶，或等效全自动 GPC。

5 分析步骤

5.1 试样制备

- 5.1.1 一般食品样品：脱水食品称取 10 g~20 g（精确到 0.1 g）备用；乳粉取 15.0 g（精确到 0.1 g）备用；其他样品匀质化后，称取 50 g~200 g（精确到 0.1 g），经过冷冻干燥后备用。
- 5.1.2 油脂样品：直接称取 5.0 g 样品（精确到 0.001 g）于茄形瓶中，加入 10 mL 正己烷使之溶解后，添加定量内标溶液（3.3.2 和 3.3.5）各 10 μL，混匀后从 5.3 开始进行下一步净化处理。

5.2 提取

5.2.1 索氏提取

提取前，在索氏提取器（4.9）中装入一支空的提取套筒，以正己烷:二氯甲烷（1:1，体积比）为提取溶剂，以 3 次/h~4 次/h 的回流速度预提取 8 h 后取出晾干。

将试样（5.1.1）置于陶瓷研钵中，加入无水硫酸钠研磨，制成能自由流动的粉末。转移至预先清洗的套筒中，分别加入定量内标溶液（3.3.2 和 3.3.5）各 10 μL，用玻璃棉盖住样品，平衡 30 min 后装入索氏提取器中，以正己烷:二氯甲烷（1:1，体积比）为提取溶剂，以 3 次/h~4 次/h 的回流速度提取 18 h~24 h。

5.2.2 加速溶剂提取

将样品（5.1.1）置于陶瓷研钵中，研磨后与适量硅藻土混合均匀，转移至提取池中，分别加入定量内标溶液 3.3.2 和 3.3.5 各 10 μL，密闭后置于加速溶剂提取仪（4.10）上提取，提取参考条件为：提取溶剂：正己烷:二氯甲烷（1:1，体积比）；压力：10.3 MPa；温度：150 °C；静态提取时间：10 min；循环 1 次。

5.2.3 脂肪含量计算

准确称量茄形瓶重量 m_1 （精确至 0.001 g），将提取液（5.2.1 或 5.2.2）转移至茄形瓶中，用旋转蒸发仪将溶剂蒸干后准确称重 m_2 （精确至 0.001 g），然后按式（1）计算样品中脂肪含量（%）：

$$X = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

式中：

X ——脂肪含量，%；

m_1 ——初始茄形瓶重量，单位为克（g）；

m_2 ——溶剂蒸干后茄形瓶重量，单位为克（g）；

m ——试样的质量，单位为克（g）。

5.3 脂类祛除

5.3.1 酸化硅胶除脂

用 150 mL 正己烷溶解试样 (5.1.2 或 5.2.3), 再加入 50 g 酸化硅胶 (3.2.2), 用旋转蒸发仪在大气压下以 60 °C 旋转加热 20 min, 过程中避免暴沸。静置 8 min~10 min 后, 将上清液倒入一洁净茄形瓶中。再用 50 mL 正己烷清洗瓶中的酸化硅胶, 合并上清液至茄形瓶中。如果酸化硅胶颜色较深, 则应重复上述过程, 直至酸化硅胶为浅黄色。将合并后的上清液以旋转蒸发仪浓缩至 3 mL~5 mL, 供下一步净化用, 浓缩过程中避免暴沸。

5.3.2 凝胶渗透色谱除脂

分别以甲苯、环己烷:乙酸乙酯 (1:1, 体积比) 冲洗 GPC 系统 (4.15), 然后将试样 (5.2.3) 溶于正己烷后上柱 (5.1.2 处理后油脂样品直接上样), 用 10 mL 环己烷:乙酸乙酯 (1:1, 体积比) 分两次洗涤原茄形瓶, 一并转入柱内。先用 100 mL 环己烷:乙酸乙酯 (1:1, 体积比) 淋洗, 再用 90 mL 环己烷:乙酸乙酯 (1:1, 体积比) 以 1 滴/秒~2 滴/秒的流速洗脱, 用茄形瓶接收洗脱液, 再用旋转蒸发仪浓缩至 3 mL~5 mL, 供下一步净化用, 浓缩过程中避免暴沸。

根据实验室条件, 5.3.1和5.3.2选择使用。

5.4 净化分离

5.4.1 填充柱净化

5.4.1.1 复合硅胶柱净化

取内径 15 mm 玻璃层析柱 (4.13) 底部填以玻璃棉后, 依次装入 2 g 活性硅胶 (3.2.1)、5 g 碱化硅胶 (3.2.3)、2 g 活性硅胶 (3.2.1)、10 g 酸化硅胶 (3.2.2)、2 g 活性硅胶 (3.2.1)、5 g 硝酸银硅胶 (3.2.4)、2 g 活性硅胶 (3.2.1) 和 2 g 无水硫酸钠 (3.2.8), 干法装柱, 轻敲层析柱, 使其分布均匀。

先用 150 mL 正己烷预淋洗, 当液面降至无水硫酸钠层上方约 2 mm 时, 关闭柱阀, 弃去淋洗液。检查层析柱, 如果出现沟流现象应重新装柱。加入除脂后提取液 (5.3), 并用 5 mL 正己烷分两次洗涤原茄形瓶 (5.1.2 或 5.3), 一并加入柱中, 打开柱阀, 当液面降至无水硫酸钠层时, 加入 400 mL 正己烷, 以 1 滴/秒~2 滴/秒的流速洗脱, 收集洗脱液, 用旋转蒸发仪浓缩至 3 mL~5 mL, 供下一步净化用, 浓缩过程中避免暴沸。

5.4.1.2 碱性氧化铝柱分离

取内径 15 mm 玻璃层析柱 (4.13) 底部填以玻璃棉后, 依次装入 25 g 碱性氧化铝 (3.2.5)、10 g 无水硫酸钠 (3.2.8)。干法装柱, 轻敲层析柱, 使其分布均匀。先用 150 mL 正己烷预淋洗, 当液面降至氧化铝上方约 2 mm 时, 关闭柱阀。弃去淋洗液。检查层析柱, 如果出现沟流现象应重新填柱。加入经混合硅胶柱净化的提取液 (5.4.1.1), 并用 5 mL 正己烷分两次洗涤原茄形瓶 (5.4.1.1), 一并加入柱中。用 60 mL 正己烷淋洗氧化铝柱, 弃去淋洗液。用 90 mL 甲苯以 1 mL/min~2 mL/min 流速洗脱, 收集洗脱液, 供 DL-PCBs 分析用。再用 200 mL 正己烷:二氯甲烷 (1:1, 体积比) 以 1 滴/秒~2 滴/秒的流速洗脱, 收集洗脱液, 供 PCDD/Fs 分析用。各洗脱液分别用旋转蒸发仪浓缩至 1 mL~2 mL, 再加入 50 mL 正己烷, 浓缩至 1 mL~2 mL, 浓缩过程中避免暴沸。

5.4.1.3 碱性氧化铝柱净化

含 PCDD/Fs 组分洗脱液的进一步净化: 取内径 8 mm 玻璃层析柱 (4.13) 底部填以玻璃棉后, 依次装入 2.5 g 碱性氧化铝 (3.2.5) 和 2 g 无水硫酸钠 (3.2.8)。干法装柱, 轻敲层析柱, 使其分布均匀。用 20 mL 正己烷预淋洗, 弃去淋洗液。加入浓缩后洗脱液。用 40 mL 正己烷:二氯甲烷 (98:2, 体积比) 淋洗, 弃去淋洗液。用 30 mL 正己烷:二氯甲烷 (1:1, 体积比) 以 1 滴/秒~2 滴/秒的流速洗脱, 收集洗脱液, 用旋转蒸发仪浓缩至 1 mL~2 mL, 浓缩过程中避免暴沸。

含 DL-PCBs 组分洗脱液的进一步净化: 取内径 8 mm 玻璃层析柱 (4.13) 底部填以玻璃棉后, 依次装入 2.5 g 碱性氧化铝 (3.2.5) 和 2 g 无水硫酸钠 (3.2.8)。干法装柱, 轻敲层析柱, 使其分布均匀。用 30 mL 正己烷:二氯甲烷 (99:1, 体积比) 预淋洗, 弃去淋洗液。加入浓缩后洗脱液。用 15 mL 正己

烷:二氯甲烷(1:1, 体积比)以1滴/秒~2滴/秒的流速洗脱, 收集洗脱液, 用旋转蒸发仪浓缩至1 mL~2 mL, 浓缩过程中避免暴沸。

5.4.2 全自动样品净化系统自动净化分离

将酸碱复合硅胶柱、碱性氧化铝柱和活性炭净化柱等按顺序连接在全自动样品净化系统上, 按程序配好各洗脱溶液并连接好管路(参见附录D图D.1), 将脂类祛除后的试样(5.3)转移到全自动样品净化系统的进样管。按照洗脱程序顺序洗脱(参见附录D表D.1), 对样品进行净化、分离, 分别收集含PCDDs/Fs和DL-PCBs组分的洗脱液, 用旋转蒸发仪浓缩至1 mL~2 mL, 再加入50 mL正己烷, 浓缩至1 mL~2 mL, 浓缩过程中避免暴沸。

根据实验室条件, 5.4.1和5.4.2选择使用。

5.4.3 补充净化方法

5.4.3.1 活性炭柱净化

取10 mL一次性玻璃移液管, 切除两端, 制成约10 cm长玻璃管, 装入适量玻璃棉并塞紧, 再装入0.55 g混合活性炭(3.2.7), 随后装入适量玻璃棉压实并塞紧。先后用如下溶液进行预淋洗: 5 mL甲苯、2 mL二氯甲烷:甲醇:甲苯(15:4:1, 体积比)溶液、1 mL二氯甲烷:环己烷(1:1, 体积比)溶液和5 mL正己烷。如果流速超过0.5 mL/min, 则弃用该活性炭柱。将浓缩到约1 mL的PCDD/Fs组分净化液(5.4.1.3)移入活性炭柱, 然后用1 mL正己烷洗涤原瓶两次, 并移入活性炭柱内。分别以3 mL正己烷、2 mL二氯甲烷:环己烷(1:1, 体积比)溶液、2 mL二氯甲烷:甲醇:甲苯(15:4:1, 体积比)溶液淋洗, 弃去淋洗液。倒置活性炭柱, 以20 mL甲苯以1滴/秒~2滴/秒的流速洗脱。收集洗脱液, 用旋转蒸发仪浓缩至1 mL~2 mL, 再加入50 mL正己烷, 浓缩至1 mL~2 mL, 待进一步处理, 浓缩过程中避免暴沸。

5.4.3.2 弗罗里土柱净化

取直径为15 mm的玻璃柱, 底部填上玻璃棉后, 依次装入2 g无水硫酸钠(3.2.8)、15 g弗罗里土(3.2.6)、2 g无水硫酸钠(3.3.8)。以正己烷湿法装柱, 轻敲层析柱, 使其分布均匀。用200 mL正己烷淋洗, 当液面至距无水硫酸钠层约2 mm时, 关闭柱阀, 弃去淋洗液。将浓缩到约1 mL的PCDD/Fs组分净化液(5.4.1.3)移入该弗罗里土柱, 打开柱阀。用200 mL正己烷淋洗, 弃去淋洗液。用300 mL二氯甲烷以1滴/秒~2滴/秒的流速洗脱, 收集洗脱液, 用旋转蒸发仪浓缩至1 mL~2 mL, 待进一步处理, 浓缩过程中避免暴沸。

若前述方法达不到PCDD/Fs测定净化需要的, 含有PCDD/Fs组分的洗脱液(5.4.1和5.4.2)可选择5.4.3.1或5.4.3.1进一步净化。

5.5 浓缩

将上述浓缩液转移至带有玻璃衬管的进样小瓶中, 在氮气流下吹至近干, 加入10 μ L正壬烷(3.1.7), 分别加入PCDD/Fs回收率内标标准溶液5 μ L(3.3.3)和DL-PCBs回收率内标标准溶液10 μ L(3.3.6), 密闭, 涡旋混匀后待测, 如果样品当日不进行仪器分析, 则于<-10 $^{\circ}$ C下避光保存。

5.6 空白试验

除不加试样外, 其他操作步骤与实际样品相同。

5.7 仪器参考条件

5.7.1 PCDD/Fs 分析条件

5.7.1.1 气相色谱参考条件

色谱柱: 5%二苯基-95%二甲基聚硅氧烷柱, 60 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m, 或相当者;

进样口温度: 280 $^{\circ}$ C;

进样模式: 不分流进样, 恒流模式;

进样体积: 2 μ L;

传输线温度：310 °C；

柱温：120 °C（保持1 min）；以43 °C/min升至220 °C（保持15 min）；以2.3 °C/min 升至250 °C，以0.9 °C/min升至260 °C，以20 °C/min升至310 °C（保持9 min）；

载气：高纯氦气（>99.999%），0.8 mL/min。

5.7.1.2 质谱参考条件

电离模式：电子轰击源（EI）；

电子能量：45 eV；

参考气：全氟三丁胺（FC-43）或全氟化煤油（PFK）；

分辨率：≥10 000，参考离子：313.983 3（FC-43）或342.9787（PFK）；

离子源温度：270 °C；

离子监测模式：多离子监测（MID）；

监测离子：各化合物监测离子的精确质量数见附录C表C.1。

5.7.2 DL-PCBs 分析条件

5.7.2.1 气相色谱条件

色谱柱：同5.7.1.1；

进样口温度：290 °C；

进样模式：同5.7.1.1；

进样体积：1 μL；

传输线温度：290 °C；

柱温：80 °C（保持2 min）；以15 °C/min升至150 °C；再以2.5 °C/min升至270 °C（保持3 min），以15 °C/min升至330 °C（保持1 min）；

载气：高纯氦气（>99.999%），1.2 mL/min。

5.7.2.2 质谱条件

同5.7.1.2。

5.7.3 仪器性能要求

5.7.3.1 分离度

在给定条件下，进样分离度检查标准溶液（3.3.1）， $m/z=319.896 5$ 时，2,3,7,8-TCDD与其他TCDD峰谷高比（附录C图C.1）不应超过25%；1,2,3,4,7,8-HxCDF和1,2,3,6,7,8-HxCDF色谱峰的峰谷高比（如附录C图C.2），不应超过25%。

按式（2）计算峰谷高比。

$$HV = \frac{x}{y} \times 100\% \dots \dots \dots (2)$$

式中：

HV ——峰谷高比；

x ——2,3,7,8-TCDD 与其他 TCDD 或 1,2,3,4,7,8-HxCDF 与 1,2,3,6,7,8-HxCDF 的峰谷高度，单位为毫米（mm）；

y ——2,3,7,8-TCDD或1,2,3,6,7,8-HxCDF的峰高，单位为毫米（mm）。

5.7.3.2 灵敏度

进样灵敏度检查标准溶液（3.3.8），2,3,7,8-TCDD的 $S/N \geq 10$ 。

5.7.3.3 相对保留时间

在给定条件下，分别进样PCDD/Fs和PCBs校正标准溶液（3.3.4和3.3.7）的CS1标准溶液，各目标化合物的相对保留时间应符合规定（附录C表C.2）。

5.7.3.4 离子丰度比

在给定条件下，分别进样PCDD/Fs和PCBs校正标准溶液（3.3.4和3.3.7）的CS1标准溶液，各目标化合物的离子丰度比应符合规定（附录C表C.3）。

5.8 标准曲线的制作

5.8.1 相对响应因子

将PCDD/Fs校正标准溶液（3.3.4）和DL-PCBs标准校正溶液（3.3.7）分别按浓度由低到高的顺序注入GC-HRMS中，得到峰面积。各目标化合物的相对响应因子（RRF）按公式（3）计算。该公式适用于除1,2,3,7,8,9-HxCDD和OCDF之外的其他PCDD/Fs和DL-PCBs。

$$RRF = \frac{(A_{n1}+A_{n2}) \times c_l}{(A_{l1}+A_{l2}) \times c_n} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

A_{n1} 和 A_{n2} ——目标化合物的第一个和第二个质量数离子的峰面积；

c_l ——定量内标化合物的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

A_{l1} 和 A_{l2} ——定量内标化合物的第一个和第二个质量数离子的峰面积；

c_n ——目标化合物的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）。

在校正标准溶液的浓度范围内，每个化合物的RRF的相对标准偏差≤20%。

5.8.2 响应因子

5.8.2.1 1,2,3,7,8,9-HxCDD 和 OCDF 的响应因子

将PCDD/Fs校正标准溶液（3.3.4）按浓度由低到高的顺序注入GC-HRMS中，得到峰面积。1,2,3,7,8,9-HxCDD 和 OCDF 的响应因子（RF）按公式（4）计算（1,2,3,7,8,9-HxCDD 采用¹³C₁₂-1,2,3,6,7,8-HxCDD作为定量内标，OCDF采用¹³C₁₂-OCDF作为定量内标）。

$$RF = \frac{(A_{n1}+A_{n2}) \times c_l}{(A_{l1}+A_{l2}) \times c_n} \dots\dots\dots (4)$$

式中：

A_{n1} 和 A_{n2} ——目标化合物的第一个和第二个质量数离子的峰面积；

c_l ——定量内标的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

A_{l1} 和 A_{l2} ——定量内标的第一个和第二个质量数离子的峰面积；

c_n ——目标化合物的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）。

在校正标准溶液的浓度范围内，每个化合物的RF的相对标准偏差≤35%。

5.8.2.2 定量内标的响应因子

定量内标的响应因子（ RF_l ）按公式（5）计算。

$$RF_l = \frac{(A_{l1}+A_{l2}) \times c_r}{(A_{r1}+A_{r2}) \times c_l} \dots\dots\dots (5)$$

式中：

A_{l1} 和 A_{l2} ——定量内标的第一个和第二个质量数离子的峰面积；

c_r ——回收率内标的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

A_{r1} 和 A_{r2} ——回收率内标的第一个和第二个质量数离子的峰面积；

c_l —— 定量内标的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）。

在校正标准溶液的浓度范围内，每个化合物的RF的相对标准偏差 $\leq 35\%$ 。

5.9 试样溶液的测定

5.9.1 定性测定

目标化合物的两个监测离子响应在 2 s 内达到最大；目标化合物的相对保留时间应符合附录 C 表 C.2 的规定；各化合物的离子丰度比应符合附录 C 表 C.3 的规定。

5.9.2 定量测定

将试样溶液注入GC-HRMS中，得到目标化合物两个监测离子的峰面积与对应同位素定量内标的两个监测离子峰面积的比值，根据标准溶液的平均相对响应因子或平均响应因子计算试样中目标化合物的量。定量内标回收率应满足如下要求：1,2,3,4,6,7,8-HpCDD、1,2,3,4,6,7,8-HpCDF、1,2,3,4,7,8,9-HpCDF 以及OCDD 的定量内标回收率为40%~140%，其他定量内标回收率为50%~130%。

6 分析结果的表述

6.1 样品中二噁英及其类似物含量

6.1.1 同位素稀释法

试样中目标化合物的浓度（除1,2,3,7,8,9-HxCDD和OCDF）按公式（6）计算样品中目标化合物的浓度。

$$c_x = \frac{(A_{n1} + A_{n2}) \times m_l \times 1000}{(A_{l1} + A_{l2}) \times RRF \times m_x} \dots\dots\dots (6)$$

式中：

c_x ——试样中目标化合物的浓度，单位为纳克每千克（ng/kg）；

A_{n1} 和 A_{n2} ——目标化合物的第一个和第二个质量数离子的峰面积；

m_l ——加入的定量内标的量，单位为纳克（ng）；

A_{l1} 和 A_{l2} ——定量内标化合物的第一个和第二个质量数离子的峰面积；

RRF ——相对响应因子；

m_x ——试样量，单位为克（g）；

1 000——折算系数。

6.1.2 内标法

试样中 1,2,3,7,8,9-HxCDD 采用 $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDD 作为定量内标，OCDF 采用 $^{13}\text{C}_{12}$ -OCDD 作为定量内标，按公式（7）计算。

$$c_x = \frac{(A_{n1} + A_{n2}) \times m_l \times 1000}{(A_{l1} + A_{l2}) \times RF \times m_x} \dots\dots\dots (7)$$

式中：

c_x ——试样中目标化合物的浓度，单位为纳克每千克（ng/kg）；

A_{n1} 和 A_{n2} ——目标化合物的第一个和第二个质量数离子的峰面积；

m_l ——加入的定量内标的量，单位为纳克（ng）；

A_{l1} 和 A_{l2} ——定量内标的第一个和第二个质量数离子的峰面积；

RF ——响应因子；

m_x ——试样量，单位为克（g）。

6.2 定量内标回收率

试样溶液中定量内标的量按公式（8）计算。

$$m_s = \frac{(A_{l1}+A_{l2}) \times m_r}{(A_{r1}+A_{r2}) \times RF_l} \dots\dots\dots (8)$$

式中：

m_s ——试样溶液中定量内标的量，单位为纳克（ng）；

A_{l1} 和 A_{l2} ——定量内标的第一个和第二个质量数离子的峰面积；

m_r ——试样溶液中回收率内标的量，单位为纳克（ng）；

A_{r1} 和 A_{r2} ——回收率内标的第一个和第二个质量数离子的峰面积；

RF_l ——响应因子。

由上述测定结果，按公式（9）计算定量内标的回收率（%）：

$$Rec = \frac{m_s}{m_l} \times 100\% \dots\dots\dots (9)$$

式中：

Rec ——定量内标回收率，%；

m_s ——试样溶液中定量内标的量，单位为纳克（ng）；

m_l ——加入的定量内标的量，单位为纳克（ng）。

6.3 毒性当量

按照 WHO 规定的二噁英及其类似物的毒性当量因子（TEF，见附录 A 表 A.1）和式(10)~式(12)计算样品中的二噁英类化合物的毒性当量(TEQ)。

$$TEQ_{PCDD/Fs} = \sum(c_{iPCDD/Fs} \times TEF_{iPCDD/Fs}) \dots\dots\dots (10)$$

$$TEQ_{DL-PCBs} = \sum(c_{iDL-PCBs} \times TEF_{iDL-PCBs}) \dots\dots\dots (11)$$

$$TEQ_{total} = TEQ_{PCDD/Fs} + TEQ_{DL-PCBs} \dots\dots\dots (12)$$

式中：

$TEQ_{PCDD/Fs}$ ——试样中 PCDD/Fs 的毒性当量，单位为纳克毒性当量每千克（ng TEQ/kg）；

$TEQ_{DL-PCBs}$ ——试样中 DL-PCBs 的毒性当量，单位为纳克毒性当量每千克（ng TEQ/kg）；

TEQ_{total} ——试样中二噁英及其类似物的毒性当量，单位为纳克毒性当量每千克（ng TEQ/kg）；

c_i ——试样中 PCDD/Fs 和 DL-PCBs 的浓度，单位为纳克每千克（ng/kg）；

TEF_i —— PCDD/Fs 和 DL-PCBs 的毒性当量因子。

6.4 结果报告

计算结果保留三位有效数字。

PCDD/Fs 和 DL-PCBs 中未检出的组分, 可根据实际需要, 赋值为 0、 $1/2 \times \text{LOD}$ 或 LOD, 分别计算样品中 PCDD/Fs 和/或 DL-PCB 毒性当量 (6.3) 的低端 (LB)、中等 (MB) 或高端 (UB) 估计结果。报告以脂肪量计结果时, 按样品中脂肪含量 (5.1.2 或 5.2.3) 进行折算。

7 精密度

实验室内重复性, 以 $\text{TEQ}_{\text{total}}$ 计算, $\text{RSD} \leq 15\%$ 。

8 检出限

以取样量为 50 g 样品计, 2,3,7,8-四氯代二苯并二噁英 (2,3,7,8-TCDD) 和 2,3,7,8-四氯代二苯并呋喃 (2,3,7,8-TCDF) 为 0.04 ng/kg、八氯代二苯并二噁英 (OCDD) 和八氯代二苯并呋喃 (OCDF) 为 0.40 ng/kg、其余 PCDD/Fs 为 0.20 ng/kg、DL-PCB 为 1.00 ng/kg。

9 其它

9.1 分析所用有机试剂浓缩 10 000 倍后, 不得出现 $\text{S/N} > 3$ 的 PCDD/Fs 色谱峰。空白试验中 2,3,7,8-TCDD 的 S/N 不得大于 3。

9.2 用于检测食品中二噁英及其类似物的实验室应该单独设置, 不得与其他检测项目尤其是环境样品中二噁英检测共用实验室。检测过程中, 应谨慎使用并保存标准溶液、添加稳定同位素取代标准后样品提取液及样品提取残渣, 避免实验室污染。在检测过程中, 实验人员应佩戴手套、吸附型口罩、安全眼镜并穿着实验服, 避免不必要的人员接触和暴露。实验室内应具备性能良好的专用独立实验室通风系统, 通风柜应符合负压运行要求, 应在其排风口末端设置活性炭吸附装置, 吸附材料应定期更换确保废气排放符合环保要求。二噁英实验室在样品提取、净化、浓缩和分析过程中产生的液体和固体废弃物应全部收集并按国家和地方的废弃物管理法规进行处理。

第二法 同位素稀释—气相色谱—三重四极杆质谱法

10 原理

试样经提取、净化、分离, 采用气相色谱—三重四极杆—质谱联用仪测定, 稳定性同位素稀释法定量; 以各目标化合物的毒性当量因子 (TEF) 与所测得的含量相乘后累加, 计算样品中 PCDD/Fs 和 DL-PCBs 的毒性当量 (TEQ)。

11 试剂和材料

同 3。

12 仪器和设备

12.1 气相色谱—三重四极杆质谱联用仪 (GC-MS/MS): 带电子轰击电离源 (EI) 或气相色谱-大气压化学电离源 (APCI)。

其他仪器和设备同 4.2~4.15。

13 分析步骤

13.1 试样制备

同5.1。

13.2 提取

同5.2。

13.3 脂类祛除

同5.3。

13.4 净化分离

同5.4。

13.5 浓缩

同5.5。

13.6 空白实验

同5.6。

13.7 仪器参考条件

13.7.1 PCDD/Fs 分析条件

13.7.1.1 气相色谱参考条件

色谱柱：5%二苯基-95%二甲基聚硅氧烷柱，60 m×0.25 mm×0.25 μm，或相当者；

进样口温度：280 °C；

进样模式：不分流进样，恒流模式；

进样体积：2 μL；

传输线温度：310 °C；

柱温：120 °C（保持1 min）；以43 °C/min升至220 °C（保持15 min）；以2.3 °C/min 升至250 °C，以0.9 °C/min升至260 °C，以20 °C/min升至310 °C（保持9 min）；

载气：高纯氦气（>99.999%），0.8 mL/min。

13.7.1.2 质谱参考条件

分辨率：四极杆的分辨率应优于或等于单位质量分辨率。

电离模式：电子轰击源（EI），能量为70 eV；或气相色谱—大气压化学电离源（APGC+），电晕针电流为3 μA。

离子源温度：280 °C。

数据采集模式：多反应离子监测模式（MRM），对于所有化合物监测两个特定的母离子和每个母离子产生的一个子离子。各化合物离子对具体信息见附录C表C.4。

13.7.2 DL-PCBs 分析条件

13.7.2.1 气相色谱参考条件

色谱柱：同5.7.1.1；

进样口温度：290 °C；

进样模式：同5.7.1.1；

进样体积：1 μL；

传输线温度：290 °C；

柱温：80 °C（保持2 min）；以15 °C/min升至150 °C；再以2.5 °C/min升至270 °C（保持3 min），以15 °C/min升至330 °C（保持1 min）；

载气：高纯氦气（>99.999%），1.2 mL/min。

13.7.2.2 质谱参考条件

同13.7.1.2。

13.7.3 仪器性能要求

13.7.3.1 分离度

同5.7.3.1。

13.7.3.2 灵敏度

进样灵敏度检查标准溶液（3.3.8），目标化合物的RRF(RF)与校正标准曲线计算得到的该目标化合物平均RRF(RF)的偏差小于30%。

13.7.3.3 离子丰度比

进样灵敏度检查标准溶液（3.3.8）和DL-PCBs校正标准溶液（3.3.7）的CS1，目标化合物的相对离子丰度比与经校正标准溶液得到的目标化合物相对离子丰度比平均值的最大偏差在±目标化内。

13.7.3.4 相对保留时间

同5.7.3.4。

13.8 标准曲线的制作

13.8.1 相对响应因子

将PCDD/Fs校正标准溶液（3.3.4）和DL-PCBs标准校正溶液（3.3.7）分别按浓度由低到高的顺序注入GC-MS/MS中，得到峰面积。各目标化合物的相对响应因子（RRF）按公式（13）计算。该公式适用于除1,2,3,7,8,9-HxCDD和OCDF之外的其他PCDD/Fs和DL-PCBs。

$$RRF = \frac{(A_{n1} + A_{n2}) \times c_l}{(A_{l1} + A_{l2}) \times c_n} \dots\dots\dots (13)$$

式中：

A_{n1} 和 A_{n2} ——目标化合物的第一个和第二个离子对的峰面积；

c_l ——定量内标化合物的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

A_{l1} 和 A_{l2} ——定量内标化合物的第一个和第二个离子对的峰面积；

c_n ——目标化合物的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）。

在校正标准溶液的浓度范围内，每个化合物的RRF的相对标准偏差≤20%。

13.8.2 响应因子

13.8.2.1 1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDD和OCDF的响应因子

将PCDD/Fs校正标准溶液（3.3.4）按浓度由低到高的顺序注入GC-MS/MS中，得到峰面积。1,2,3,7,8,9-HxCDD和OCDF的响应因子（RF）按公式（14）计算（1,2,3,7,8,9-HxCDD采用¹³C₁₂-1,2,3,6,7,8-HxCDD作为定量内标，OCDF采用¹³C₁₂-OCDD作为定量内标）。

$$RF = \frac{(A_{n1} + A_{n2}) \times c_l}{(A_{l1} + A_{l2}) \times c_n} \dots\dots\dots (14)$$

式中：

A_{n1} 和 A_{n2} ——目标化合物的第一个和第二个离子对的峰面积；

c_l ——定量内标的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

A_{l1} 和 A_{l2} ——定量内标的第一个和第二个离子对的峰面积；

c_n ——目标化合物的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）。

在校正标准溶液的浓度范围内，每个化合物的 RF 的相对标准偏差≤35%。

13.8.2.2 定量内标的响应因子

定量内标的响应因子按公式（15）计算。

$$RF_l = \frac{(A_{l1}+A_{l2}) \times c_r}{(A_{r1}+A_{r2}) \times c_l} \dots\dots\dots (15)$$

式中：

A_{l1} 和 A_{l2} ——定量内标的第一个和第二个离子对的峰面积；

c_r ——回收率内标的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

A_{r1} 和 A_{r2} ——回收率内标的第一个和第二个离子对的峰面积；

c_l ——定量内标的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；。

在校正标准溶液的浓度范围内，每个化合物的 RF 的相对标准偏差≤35%。

13.9 试样溶液的测定

13.9.1 定性测定

各化合物的相对保留时间应符合附录C表C.2的规定；目标化合物的相对离子丰度比与经校正标准溶液得到的目标化合物相对离子丰度比平均值的最大偏差在±15%内。

13.9.2 定量测定

将试样溶液注入GC-MS/MS中，得到目标化合物监测离子对的峰面积与对应同位素定量内标的监测离子对峰面积的比值，根据标准曲线的平均相对响应因子或平均响应因子计算试样中目标化合物的量。回收率应满足如下要求：1,2,3,4,6,7,8-HpCDD、1,2,3,4,6,7,8-HpCDF、1,2,3,4,7,8,9-HpCDF以及OCDD 的定量内标回收率为40%~140%，其他定量内标回收率为50%~130%。

14 分析结果的表述

14.1 样品中二噁英及其类似物含量

14.1.1 同位素稀释法

根据测定的相对响应、样品取样量以及 $^{13}\text{C}_{12}$ 标记定量内标加入量，按公式（16）计算试样中除1,2,3,7,8,9-HxCDD 和 OCDF 外的其他目标化合物的浓度。

$$c_x = \frac{(A_{n1}+A_{n2}) \times m_l \times 1000}{(A_{l1}+A_{l2}) \times RRF \times m_x} \dots\dots\dots (16)$$

式中：

c_x ——试样中目标化合物的浓度，单位为纳克每千克（ng/kg）；

A_{n1} 和 A_{n2} ——目标化合物的第一个和第二个离子对的峰面积；

m_l ——加入的定量内标的量，单位为纳克（ng）；

A_{l1} 和 A_{l2} ——定量内标化合物的第一个和第二个离子对的峰面积；

RRF ——相对响应因子；

m_x ——试样量，单位为克（g）。

1 000——折算系数。

14.1.2 内标法

试样中 1,2,3,7,8,9-HxCDD 采用 $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-HxCDD 作为定量内标, OCDF 采用 $^{13}\text{C}_{12}$ -OCDF 作为定量内标, 按公式 (17) 计算:

$$c_x = \frac{(A_{n1}+A_{n2}) \times m_l \times 1000}{(A_{l1}+A_{l2}) \times RF \times m_x} \dots\dots\dots (17)$$

式中:

c_x ——试样中目标化合物的浓度, 单位为纳克每千克 (ng/kg);

A_{n1} 和 A_{n2} ——目标化合物的第一个和第二个离子对的峰面积;

m_l ——加入的定量内标的量, 单位为纳克 (ng);

A_{l1} 和 A_{l2} ——定量内标的第一个和第二个离子对的峰面积;

RF ——响应因子;

m_x ——试样量, 单位为克 (g)。

14.2 定量内标回收率

试样溶液中定量内标的量按公式 (18) 计算。

$$m_s = \frac{(A_{l1}+A_{l2}) \times m_r}{(A_{r1}+A_{r2}) \times RF_l} \dots\dots\dots (18)$$

式中:

m_s ——试样溶液中定量内标的量, 单位为纳克 (ng);

A_{l1} 和 A_{l2} ——定量内标的第一个和第二个离子对的峰面积;

m_r ——试样溶液中回收率内标的量, 单位为纳克 (ng);

A_{r1} 和 A_{r2} ——回收率内标的第一个和第二个离子对的峰面积;

RF_l ——响应因子。

由上述测定的浓度, 按公式 (19) 计算定量内标的回收率 (%)。

$$Rec = \frac{m_s}{m_l} \times 100\% \dots\dots\dots (19)$$

式中:

Rec ——定量内标回收率, %;

m_s ——试样溶液中定量内标的量, 单位为纳克 (ng);

m_l ——加入的定量内标的量, 单位为纳克 (ng)。

14.3 毒性当量的计算

同 6.3。

14.4 结果报告

同 6.4。

15 精密度

同 7。

16 方法的定量限

本方法的定量限为：

以取样量为 50 g 样品计，2,3,7,8-TCDD 和 2,3,7,8-TCDF 为 0.008 ng/kg；1,2,3,7,8-PeCDD、1,2,3,7,8-PeCDF、2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,4,7,8-HxCDF、1,2,3,6,7,8-HxCDF、2,3,4,6,7,8-HxCDF 和 1,2,3,7,8,9-HxCDF 为 0.02 ng/kg；1,2,3,4,7,8-HxCDD、1,2,3,6,7,8-HxCDD、1,2,3,7,8,9-HxCDD、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD、1,2,3,4,6,7,8-HpCDF 和 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF 为 0.03 ng/kg；OCDD 和 OCDF 为 0.10 ng/kg；DL-PCBs 为 0.08 ng/kg。

17 其他

17.1 分析所用有机试剂浓缩 10 000 倍后，不得检出高于定量限的 PCDD/Fs 目标物。空白试验中 2,3,7,8-TCDD 的检出值不得高于定量限。

17.2 用于检测食品中二噁英及其类似物的实验室应该单独设置，不得与其他检测项目尤其是环境样品中二噁英检测共用实验室。检测过程中，应谨慎使用并保存标准溶液、添加稳定同位素取代标准后样品提取液及样品提取残渣，避免实验室污染。在检测过程中，实验人员应佩戴手套、吸附型口罩、安全眼镜并穿着实验服，避免不必要的人员接触和暴露。实验室内应具备性能良好的专用独立实验室通风系统，通风柜应符合负压运行要求，应在其排风口末端设置活性炭吸附装置，吸附材料应定期更换确保废气排放符合环保要求。二噁英实验室在样品提取、净化、浓缩和分析过程中产生的液体和固体废弃物应全部收集并按国家和地方的废弃物管理法规进行处理。

附录 A

本方法测定的 PCDD/Fs 和 DL-PCBs

17 种 2,3,7,8-取代的 PCDD/Fs 和 12 种 DL-PCBs 及 WHO 规定的毒性当量因子 (TEF) 见表 A.1。

表 A.1 17 种 2, 3, 7, 8-取代 PCDD/Fs 和 12 种 DL-PCBs 及 WHO 规定的 TEF 值

化合物 ¹	CAS 编号	IUPAC 编号	WHO-2005-TEF	
PCDD/Fs	2,3,7,8-TCDD	1746-01-6	-	1.0
	2,3,7,8-TCDF	51207-31-9	-	0.1
	1,2,3,7,8-PeCDD	40321-76-4	-	1.0
	1,2,3,7,8-PeCDF	57117-41-6	-	0.03
	2,3,4,7,8-PeCDF	57117-31-4	-	0.3
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	39227-28-6	-	0.1
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	57653-85-7	-	0.1
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	19408-74-3	-	0.1
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	70648-26-9	-	0.1
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	57117-44-9	-	0.1
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	72918-21-9	-	0.1
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	60851-34-5	-	0.1
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	35822-46-9	-	0.01
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	67562-39-4	-	0.01
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	55673-89-7	-	0.01
	OCDD	3268-87-9	-	0.0003
OCDF	39001-02-0	-	0.0003	
DL-PCBs	3,3',4,4'-TeCB	32598-13-3	77	0.0001
	3,4,4',5'-TeCB	70362-50-4	81	0.0003
	2,3,3',4,4'-PeCB	32598-14-4	105	0.00003
	2,3,4,4',5'-PeCB	74472-37-0	114	0.00003
	2,3',4,4',5'-PeCB	31508-00-6	118	0.00003
	2',3,4,4',5'-PeCB	65510-44-3	123	0.00003
	3,3',4,4',5'-PeCB	57465-28-8	126	0.1
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	38380-08-4	156	0.00003
	2,3,3',4,4',5'-HxCB	69782-90-7	157	0.00003
	2,3',4,4',5,5'-HxCB	52663-72-6	167	0.00003
	3,3',4,4',5,5'-HxCB	32774-16-6	169	0.03
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	39635-31-9	189	0.00003

注：¹ TCDD：四氯代二苯并二噁英；TCDF：四氯代二苯并呋喃；PeCDD：五氯代二苯并二噁英；PeCDF：五氯代二苯并呋喃；HxCDD：六氯代二苯并二噁英；HxCDF：六氯代二苯并呋喃；HpCDD：七氯代二苯并二噁英；HpCDF：七氯代二苯并呋喃；OCDD：八氯代二苯并二噁英；OCDF：八氯代二苯并呋喃；TeCB：四氯联苯；PeCB：五氯联苯；HxCB：六氯联苯；HpCB：七氯联苯。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/927015200054006140>