



中华人民共和国国家标准

GB 23200.118—2021

食品安全国家标准 植物源性食品中单氰胺残留量的测定 液相色谱-质谱联用法

National food safety standard—
Determination of cyanamide residues in foods of plant origin—
Liquid chromatography tandem mass spectrometry method

2021-03-03 发布

2021-09-03 实施



中华人民共和国国家卫生健康委员会
中华人民共和国农业农村部发布
国家市场监督管理总局

前　　言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第一部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件系国内首次发布。

食品安全国家标准

植物源性食品中单氰胺残留量的测定

液相色谱-质谱联用法

1 范围

本文件规定了植物源性食品中单氰胺残留量的液相色谱-质谱联用检测方法。

本文件适用于植物源性食品中单氰胺残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB 2763—2021 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试样中的单氰胺用水和丙酮等溶剂提取,再经固相材料分散净化处理,净化液与丹磺酰氯(dansyl chloride)反应后生成的衍生物经液相色谱-质谱联用法检测,外标法定量。

4 试剂和材料

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。

4.1 试剂

4.1.1 乙腈(CH_3CN , CAS号:75-05-8);色谱纯。

4.1.2 丙酮(CH_3COCH_3 , CAS号:67-64-1);色谱纯。

4.1.3 碳酸钠(Na_2CO_3 , CAS号:497-19-8)。

4.1.4 碳酸氢钠(NaHCO_3 , CAS号:144-55-8)。

4.1.5 丹磺酰氯($\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{ClNO}_2\text{S}$, CAS号:605-65-2);纯度98.0%, $-20^{\circ}\text{C} \sim -18^{\circ}\text{C}$ 保存。

4.2 溶液配制

4.2.1 碳酸钠溶液(0.2 mol/L):称取0.53 g碳酸钠,用水溶解混匀并定容至25 mL。

4.2.2 碳酸氢钠水溶液(0.2 mol/L):称取1.68 g碳酸氢钠,用水溶解混匀并定容至100 mL。

4.2.3 碳酸钠-碳酸氢钠溶液(4:46,体积比):吸取4 mL碳酸钠溶液(4.2.1),加入46 mL碳酸氢钠溶液(4.2.2),混合均匀。

4.2.4 丹磺酰氯丙酮溶液(5.0 g/L):称取0.5 g丹磺酰氯,用丙酮溶解混匀并定容至100 mL。

4.2.5 甲酸溶液(0.1%):吸取100 μL 甲酸,加水混匀定容至100 mL。

4.3 标准品

单氰胺(CN_2H_2 , CAS号:420-04-2)标准品;纯度 $\geqslant 98.0\%$ 。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 单氰胺标准储备溶液(100 mg/L):准确称取单氰胺标准品10 mg(精确至0.1 mg)于50 mL烧杯中,用丙酮溶解后转移到100 mL容量瓶中,并用丙酮定容。放置于 -18°C 冰箱,有效期1个月。

4.4.2 单氰胺标准工作液(10 mg/L):吸取5.0 mL单氰胺标准储备溶液于50 mL容量瓶中,用丙酮定容。放置于 -18°C 冰箱,有效期2周~3周。

4.5 材料

4.5.1 多壁碳纳米管(MWCNTs):粒径为10 nm~20 nm;颗粒物长度为5 μm~15 μm;比表面积为(225±25)m²/g。

4.5.2 滤膜:0.22 μm,有机系。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-质谱联用仪:配有电喷雾离子源(ESI)。

5.2 分析天平:感量0.000 1 g、感量0.01 g。

5.3 组织捣碎仪。

5.4 离心机:转速不低于10 000 r/min。

5.5 涡旋振荡器。

5.6 恒温水浴锅。

6 试样的制备和储存

样品测定部位按照GB 2763—2021中附录A的规定执行。食用菌、热带和亚热带水果(皮可食)随机取样1 kg,水生蔬菜、茎菜类蔬菜、豆类蔬菜、核果类水果、热带和亚热带水果(皮不可食)随机取样2 kg,瓜类蔬菜和水果取4个~6个个体(取样量不少于1 kg),其他蔬菜和水果随机取样3 kg。对于个体较小的样品,取样后全部处理;对于个体较大的基本均匀样品,可在对称轴或对称面上分割或切成小块后处理;对于细长、扁平或组分含量在各部分有差异的样品,可在不同部位切取小片或截成小段后处理;取后的样品将其切碎,充分混匀,用四分法取一部分或全部用组织捣碎机匀浆后,放入聚乙烯瓶中。

干制蔬菜、水果和食用菌随机取样500 g,粉碎后充分混匀,放入聚乙烯瓶或袋中。

谷类随机取样500 g,粉碎后使其全部可通过425 μm的标准网筛,放入聚乙烯瓶或袋中。

油料、茶叶、坚果和香辛料(调味料)随机取样500 g,粉碎后充分混匀,放入聚乙烯瓶或袋中。

植物油类搅拌均匀,放入聚乙烯瓶中。

试样于-18 ℃条件下保存。

7 分析步骤

7.1 提取

7.1.1 蔬菜、水果类

称取10 g(精确至0.01 g)试样于50 mL离心管中,参见附表A.1补水,然后视基质不同加入10 mL~30 mL丙酮(4.1.2),不同基质有机提取溶剂用量见表A.1,涡旋振荡5 min,超声10 min后,以4 000 r/min离心5 min,待净化。

7.1.2 谷物、坚果、油料作物、植物油类

称取5 g(精确至0.01 g)试样于50 mL离心管中,见表A.1补水,静置30 min后,然后视基质不同加入10 mL~20 mL丙酮,不同基质有机提取溶剂用量见表A.1,涡旋振荡5 min,超声10 min后,以4 000 r/min离心5 min,待净化。

7.1.3 香辛料(调味料)、茶叶类

称取2 g(精确至0.01 g)试样于50 mL离心管中,见表A.1补水,静置30 min后,然后加入8 mL乙腈(4.1.1),涡旋振荡5 min,超声10 min后,以4 000 r/min离心5 min,待净化。

7.1.4 植物油

称取5 g(精确至0.01 g)试样于50 mL离心管中,见表A.1补水,然后视基质不同加入20 mL丙酮,不同基质有机提取溶剂用量见表A.1,涡旋振荡5 min,超声10 min后,以4 000 r/min离心5 min,待净

化。

7.1.5 食用菌类

称取 10 g(精确至 0.01 g)试样于 50 mL 离心管中,见表 A.1 补水,然后加入 8 mL 乙腈(4.1.1),涡旋振荡 5 min,超声 10 min 后,以 4 000 r/min 离心 5 min,待净化。

7.2 净化

7.2.1 蔬菜、水果、坚果、谷物类

吸取 1 mL 提取液于含 5 mg 多壁碳纳米管(4.5.1)的 1.5 mL 离心管中,涡旋 1 min 后,以 10 000 r/min 离心 1 min,取上清液过 0.22 μm 有机系滤膜(4.5.2)于 2 mL 离心管中,待衍生化。

注:特殊干扰严重基质例如韭菜,需采用 10 mg 多壁碳纳米管(4.5.1)。

7.2.2 植物油、油料作物类

吸取 1 mL 提取液直接过 0.22 μm 有机系滤膜(4.5.2)于 2 mL 离心管中,待衍生化。

7.2.3 香辛料(调味料)、茶叶类

准确吸取 2 mL 提取液于 5 mL 具塞离心管中,加入 2 mL 正己烷,涡旋振荡 3 min,弃去正己烷层,重复净化一次,取乙腈层 1 mL 于含 10 mg 多壁碳纳米管(4.5.1)的 1.5 mL 离心管中,涡旋 1 min,以 10 000 r/min 离心 1 min,取上清液过 0.22 μm 有机系滤膜(4.5.2)于 2 mL 离心管中,待衍生化。

7.2.4 食用菌类

准确吸取 2 mL 提取液直接于 5 mL 离心管中,加入 2 mL 正己烷,涡旋振荡 3 min,弃去正己烷层,取乙腈层 1 mL 于含 10 mg 多壁碳纳米管(4.5.1)的 1.5 mL 离心管中,涡旋 1 min,以 10 000 r/min 离心 1 min,取上清液过 0.22 μm 有机系滤膜(4.5.2)于 2 mL 离心管中,待衍生化。

7.3 衍生化

取 0.5 mL 净化后的提取液于 2 mL 离心管中,加入 0.5 mL 碳酸钠-碳酸氢钠混合溶液(4.2.3),混匀后再加入 0.5 mL 丹磺酰氯丙酮溶液(4.2.4),涡旋 1 min,于 50°C 水浴中衍生 1 h,衍生后以 10 000 r/min 离心 1 min,取上清液过 0.22 μm 有机系滤膜(4.5.2),供检测。除样品外,单氯胺基质匹配标准溶液也应按此方法同时进行衍生化。

7.4 仪器参考条件

7.4.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱: C_{18} , 100 mm×2.1 mm, 粒径 1.9 μm ;
- 流动相:乙腈-甲酸溶液=50:50(体积比),等度洗脱;
- 流速:0.2 mL/min;
- 柱温:室温;
- 进样体积:10 μL ;
- 运行时间:4 min。

注:如液相色谱不是超高效液相色谱,也可配置普通规格 C_{18} 色谱柱,150 mm×3.0 mm,粒径 5 μm ,或相当者,运行时间根据出峰情况进行调整。

7.4.2 质谱参考条件

- 离子源:电喷雾离子源;
- 扫描方式:负离子扫描;
- 喷雾电压:3 000 V;
- 毛细管温度:350 °C;
- 气化温度:300 °C;
- 鞘气: N_2 , 206.8 kPa;
- 辅助气: N_2 , 3 L/min;
- 碰撞气:氩气,0.2 Pa;
- 检测方式:多反应监测(MRM),多反应监测条件见表 1。

表 1 单氰胺衍生物的保留时间和多反应监测(MRM)质谱参数

化合物	定性离子对 <i>m/z</i>	定量离子对 <i>m/z</i>	碰撞能(CE) V
单氰胺衍生物	274/258	274/258	30
	274/230		33

7.5 标准工作曲线

将单氰胺标准工作液用空白基质溶液稀释成质量浓度为 0.001 5 mg/L、0.015 mg/L、0.03 mg/L、0.15 mg/L、0.3 mg/L 或 0.6 mg/L 的系列基质匹配标准溶液, 经衍生化(7.3)后按参考色谱和质谱条件测定。以单氰胺质量浓度为横坐标, 其衍生物的峰面积(扣除空白基质中的本底)为纵坐标, 绘制线性标准曲线, 求回归方程和相关系数。基质匹配标准溶液应现配现用。

注: 如空白基质中出现干扰峰, 在绘制线性基质匹配标准工作曲线时需将本底扣除。

7.6 定性

7.6.1 保留时间

被测试样中单氰胺衍生物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较, 相对误差应在 $\pm 2.5\%$ 之内。

7.6.2 定量离子、定性离子及子离子丰度比

在相同实验条件下进行样品测定时, 如果检出的色谱峰的保留时间与标准样品一致, 并且在扣除背景后的样品质谱图中, 目标化合物的质谱定性离子必须出现, 至少应包括 1 个母离子和 2 个子离子, 而且同一检测批次, 对同一化合物, 样品中目标化合物的 2 个子离子的相对丰度比与浓度相当的标准溶液相比, 其允许偏差不超过表 2 规定的范围, 则可判断样品中存在单氰胺。

表 2 定性时相对离子丰度的最大允许偏差

单位为百分号

相对离子丰度	>50	$>20\sim 50$	$>10\sim 20$	≤ 10
允许相对偏差	± 20	± 25	± 30	± 50

7.7 定量测定

将基质匹配标准工作溶液和待测溶液经衍生化后分别注入液相色谱-质谱联用仪中, 以保留时间和定性离子定性, 样品中单氰胺质量浓度应在基质标准工作曲线质量浓度范围内, 超过标准工作曲线最高点的则应稀释后再进行分析, 采用外标法定量。

7.8 空白试验

除不加试样外, 采用完全相同的步骤进行平行操作。

8 结果计算

试样中单氰胺的残留量以质量分数 ω 计, 单位为毫克每千克(mg/kg), 按公式(1)或公式(2)计算。

$$\omega = \frac{\rho_1 \times A \times V \times 3}{A_s \times m} \times \frac{1000}{1000} \quad \dots\dots\dots (1)$$

$$\omega = \frac{\rho_2 \times V \times 3}{m} \times \frac{1000}{1000} \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

A ——试样溶液中单氰胺衍生物的峰面积;

A_s ——基质匹配标准工作溶液中单氰胺衍生物的峰面积;

ρ_1 ——基质匹配标准工作溶液中单氰胺质量浓度的数值, 单位为毫克每升(mg/L);

ρ_2 ——从基质匹配标准工作曲线中得到的试样溶液中单氰胺质量浓度的数值, 单位为毫克每升(mg/L);

V —— 提取液总体积的数值(提取有机溶剂体积加补水的体积再加上基质含水的体积), 单位为毫升(mL);

m —— 试样质量的数值, 单位为克(g);

3 —— 衍生化稀释倍数。

计算结果以重复性条件下获得的2次独立测定结果的算术平均值表示, 保留2位有效数字, 当结果大于1 mg/kg时保留3位有效数字。

注:附录A中含水量<10%的基质, 其含水的体积忽略不计。

9 精密度

9.1 在重复性条件下, 2次独立测定结果的绝对差值不大于重复性限(r), 重复性限(r)的数据为:

- 含量为0.01 mg/kg时, 重复性限(r)为0.004;
- 含量为0.05 mg/kg时, 重复性限(r)为0.014;
- 含量为0.1 mg/kg时, 重复性限(r)为0.019;
- 含量为0.5 mg/kg时, 重复性限(r)为0.094。

9.2 在再现性条件下, 2次独立测定结果的绝对差值不大于再现性限(R), 再现性限(R)的数据为:

- 含量为0.01 mg/kg时, 再现性限(R)为0.006;
- 含量为0.05 mg/kg时, 再现性限(R)为0.032;
- 含量为0.1 mg/kg时, 再现性限(R)为0.036;
- 含量为0.5 mg/kg时, 再现性限(R)为0.27。

10 其他

食用菌、香辛料(调味料)和茶叶方法的定量限为0.05 mg/kg, 其他样品方法的定量限为0.01 mg/kg。

11 图谱

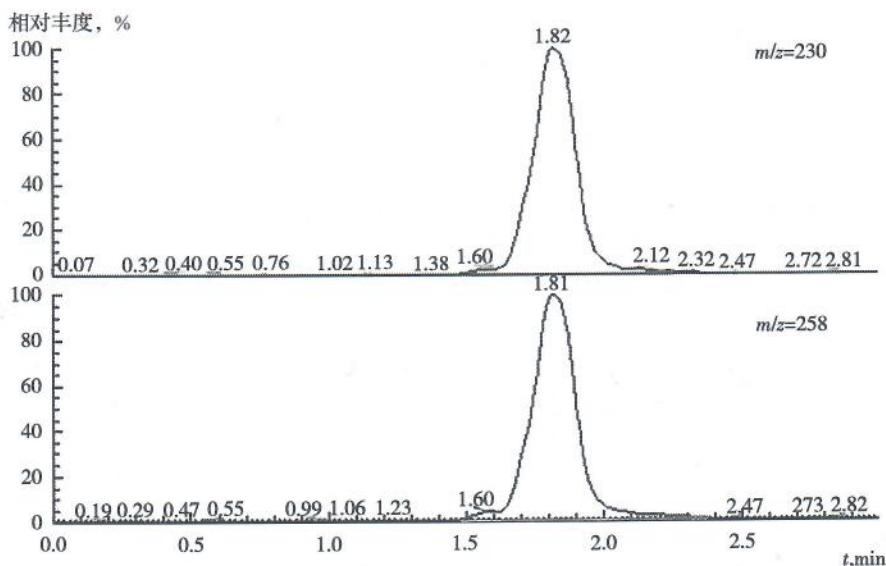


图1 0.005 mg/L 单氰胺衍生物标准溶液多反应监测色谱图

附录 A

(资料性)

所选基质含水量、称样量、提取前补水量及有机提取溶剂用量信息表

所选基质含水量、称样量、提取前补水量及有机提取溶剂用量信息表见表 A.1。

表 A.1 所选基质含水量、称样量、提取前补水量及有机提取溶剂用量信息表

基质名称	含水量 %	称样量 g	提取前补水量 g	有机提取溶剂	有机提取溶剂用量 mL
结球甘蓝	85	10	2	丙酮	30
芹菜	95	10	10	丙酮	20
番茄	95	10	10	丙酮	20
茄子	90	10	2	丙酮	30
马铃薯	80	10	2	丙酮	30
萝卜	95	10	10	丙酮	20
菜豆	75	10	2	丙酮	30
韭菜	85	10	2	丙酮	30
苹果	85	10	10	丙酮	20
桃	90	10	10	丙酮	20
葡萄	80	10	10	丙酮	20
柑橘	85	10	10	丙酮	30
香菇	90	10	1	乙腈	8
杏仁	<10	5	10	丙酮	10
大豆油	<10	5	2	丙酮	20
糙米	<10	5	5	丙酮	15
小麦	<10	5	5	丙酮	15
玉米	<10	5	5	丙酮	15
花生	<10	5	10	丙酮	20
绿茶	<10	2	2	乙腈	8
花椒	<10	2	2	乙腈	8

注:不包含在本表中的基质可根据基质类型及其含水量测试结果进行补水。

中华人民共和国
国家标准
食品安全国家标准 植物源性食品中单氯胺
残留量的测定 液相色谱-质谱联用法

GB 23200.118—2021

* * *

中国农业出版社出版
(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)
(邮政编码:100125 网址:www.ccap.com.cn)

北京印刷一厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

* * *

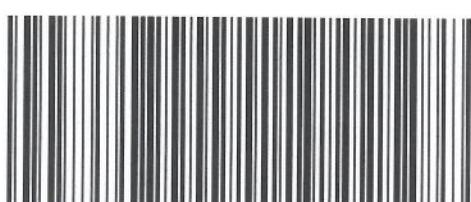
开本 880mm×1230mm 1/16 印张 0.75 字数 15 千字

2021 年 4 月第 1 版 2021 年 4 月北京第 1 次印刷

书号: 16109 · 8543

定价: 24.00 元

版权专有 侵权必究
举报电话: (010) 59194261



GB 23200.118—2021