



# 中华人民共和国国家标准

GB ×××××—××××

## 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 residue in foods of plant origin

Liquid chromatography tandem mass spectrometry

(征求意见稿)

201×-××-××发布

201×-××-××实施

中 华 人 民 共 和 国 国 家  
卫 生 健 康 委 员 会 发 布  
中 华 人 民 共 和 国 农 业 农 村 部  
国 家 市 场 监 督 管 理 总 局

## 前 言

本标准系国内首次发布。

征求意见稿

# 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

本标准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。

本标准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

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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 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规定的实验室一级水。

#### 4.1 试剂

4.1.1 乙腈（ $\text{CH}_3\text{CN}$ ，CAS 号：75-05-8）：色谱纯。

4.1.2 丙酮（ $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ，CAS 号：67-64-1）：色谱纯。

4.1.3 碳酸钠（ $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ，CAS 号：497-19-8）。

4.1.4 碳酸氢钠（ $\text{NaHCO}_3$ ，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：420-04-2）：纯度 98.0%，-18~-20℃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，用水溶解并定容至 25 mL。

4.2.2 碳酸氢钠溶液（0.2 mol/L）：称取 1.68 g 碳酸氢钠，用丙酮溶解并定容至 100 mL。

4.2.3 碳酸钠/碳酸氢钠溶液 (0.2 mol/L, 4+46)：吸取 4 mL 碳酸钠溶液 ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 0.2 mol/L)，加入 46 mL 碳酸氢钠溶液 ( $\text{NaHCO}_3$ , 0.2 mol/L)，混合均匀。

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

4.2.5 水 (0.1% 甲酸)：称取 100  $\mu\text{L}$  甲酸，用水溶解并定容至 100 mL。

#### 4.3 标准品

单氰胺 ( $\text{CN}_2\text{H}_2$ , CAS 号：420-04-2) 标准品：纯度  $\geq 98.0\%$ 。

#### 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 10.0 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 0~4℃ 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 0~4℃ 冰箱，有效期 2~3 周。

#### 4.5 材料

4.5.1 多壁碳纳米管 (MWCNTs)：粒径范围，10 nm~20 nm；颗粒物长度：5  $\mu\text{m}$ ~15  $\mu\text{m}$ ；比表面积 ( $225 \pm 25$ )  $\text{m}^2/\text{g}$ 。

4.5.2 滤膜：0.22  $\mu\text{m}$ ，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 0.0 1 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

蔬菜、水果和食用菌样品按相关标准取一定量，取样部位按 GB 2763 规定执行。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或处理；取后的样品将其切碎，充分混匀，用四分法取样或直接放入组织捣碎机中捣碎成匀浆。匀浆放入聚乙烯容器中。

取谷类样品 500 g，粉碎后使其全部可通过 425  $\mu\text{m}$  的标准网筛，放入聚乙烯瓶或袋中。取油料作

物、茶叶、坚果和香辛料样品各 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。

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 10-30 mL 丙酮 (4.1.2)，不同基质有机提取溶剂用量参考附表 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，参见附表 A.1 补水，然后视基质不同加入 10-20 mL 丙酮 (4.1.2)，不同基质有机提取溶剂用量参考附表 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、茶叶类

称取 2 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 食用菌类

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 提取液于称有 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 或 4.5.3) 于 2 mL 离心管中，并用空白基质配制好基质标准品，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，并用空白基质配制好基质标准品，待衍生化。

### 7.2.3 香辛料、茶叶类

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，重复净化一次，取乙腈层1 mL于称有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，并用空白基质配制好基质标准品，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于称有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，并用空白基质配制好基质标准品，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1min，于50℃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，单氰胺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

- a) 色谱柱：C<sub>18</sub>，100 mm × 2.1 mm，粒径1.9 μm；
- b) 流动相：乙腈-水（0.1%甲酸）=50+50，等度洗脱；
- c) 流速：0.2 mL/min；
- d) 柱温：室温；
- e) 进样体积：10 μL；
- f) 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C18色谱柱，150mm×3.0mm，粒径5μ m，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

- a) 离子源：电喷雾离子源；
- b) 扫描方式：负离子扫描；
- c) 喷雾电压：3000 V；

- d) 毛细管温度：350 °C；  
 e) 气化温度：300 °C；  
 f) 鞘气：N<sub>2</sub>，30 psi；  
 g) 辅助气：N<sub>2</sub>，10 arb；  
 h) 碰撞气：氩气，1.5 mTorr；  
 i) 检测方式：多反应监测（MRM），多反应监测条件见表2。

表 2 单氰胺衍生物的保留时间和多反应监测（MRM）条件

中文名称	保留时间 min	定量离子对	定性离子对	碰撞能量 V
单氰胺衍生物	1.8	274/258	274/230	30; 33

## 7.5 标准工作曲线

将单氰胺标准工作液用空白提取液稀释成质量浓度为0.0015 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 定性及定量

### 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±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相一致，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，至少应包括一个母离子和两个子离子，而且同一检测批次，对同一化合物，样品中目标化合物的两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 3 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

相对离子丰度	>50%	>20%至 50%	>10%至 20%	≤10%
允许相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

## 7.7 测定

将基质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 $\omega$ 计，数值以毫克每千克（mg/kg）表示，按公式（1）计算：

$$\omega = \frac{A \times \rho_s \times V \times 3}{A_s \times m} \quad \text{错误！未找到引用源。错误！未找到引用源。} \quad (1)$$

式中：

$A$ —— 试样溶液中单氰胺衍生物的峰面积；

$A_s$ —— 标准溶液中单氰胺衍生物的峰面积；

$\rho_s$ —— 标准工作溶液中单氰胺的质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

$V$  —— 提取液的总体积（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）；

$m$  —— 试样的质量，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两次独立测定结果的算术平均值表示，保留两位有效数字，当结果大于 1 mg/kg 时保留三位有效数字。

## 9 精密度

9.1 在重复性条件下，两次独立测定结果的绝对差不大于重复性限（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，两次独立测定结果的绝对差不大于再现性限（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、香辛料和茶叶方法的定量限为0.05 mg/kg，其它样品方法的定量限为0.01 mg/kg。

## 11 图谱

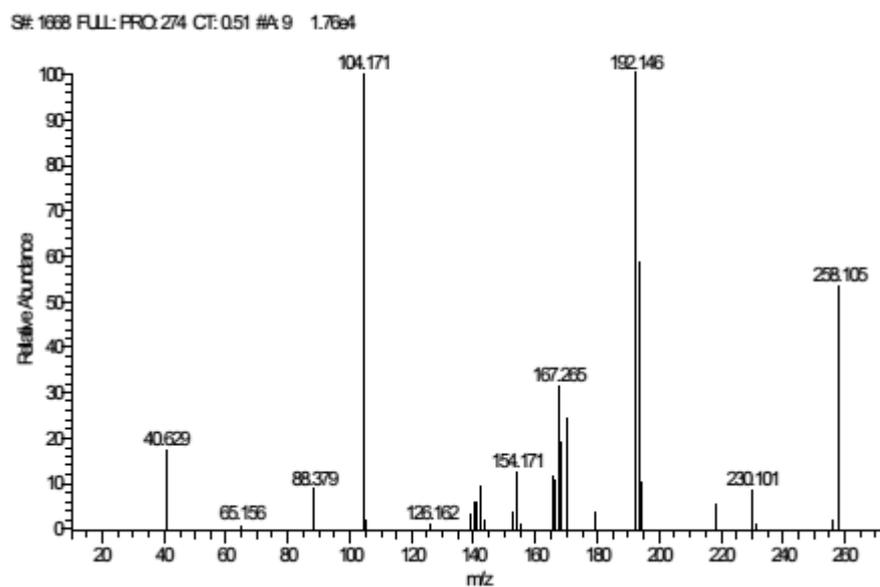


图1 单氰胺衍生物全扫质谱图

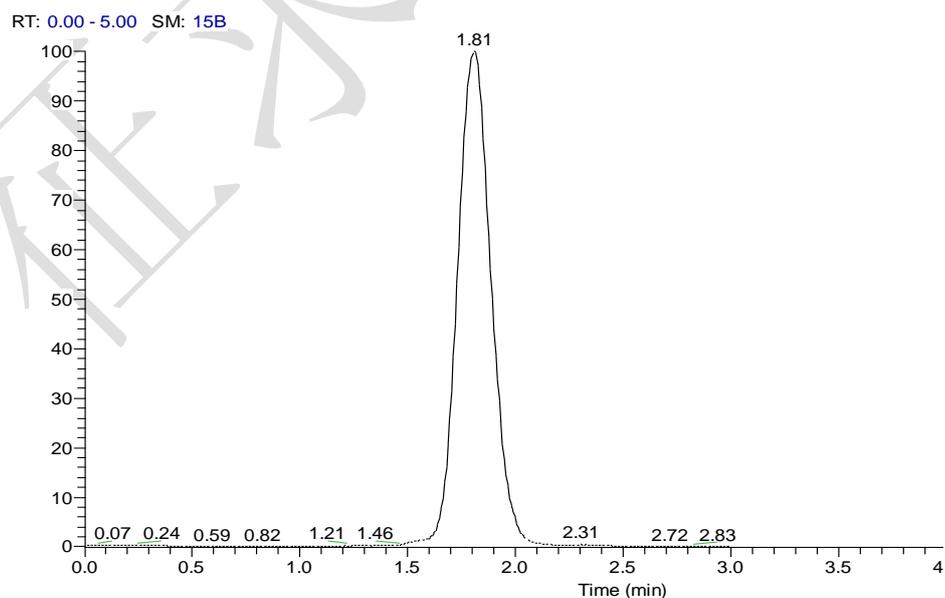
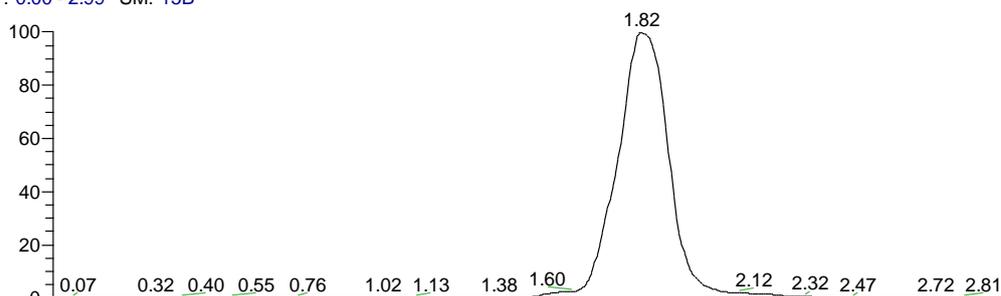
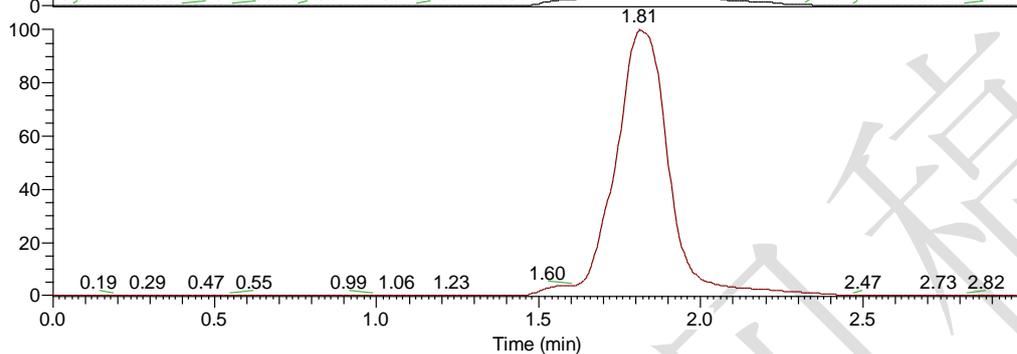


图2 0.000 5 mg/L单氰胺衍生物标准溶液色谱图

RT: 0.00 - 2.99 SM: 15B



NL: 3.24E3  
 m/z= 229.61-230.61 F: -  
 c ESI SRM ms2  
 274.099  
 [230.114-230.116,  
 258.118-258.120] MS  
 std-5ppb



NL: 3.35E4  
 m/z= 257.62-258.62 F: -  
 c ESI SRM ms2  
 274.099  
 [230.114-230.116,  
 258.118-258.120] MS  
 std-5ppb

图3 0.00 5 mg/L单氰胺衍生物标准溶液多反应监测色谱图

**附录 A**  
**(资料性附录)**

**所选基质含水量、称样量及提取前补水量信息表**

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	1.5	丙酮	30
芹菜	95	10	0.5	丙酮	20
番茄	95	10	10.5	丙酮	20
茄子	90	10	1.0	丙酮	30
马铃薯	80	10	2.0	丙酮	30
萝卜	95	10	10.5	丙酮	20
菜豆	75	10	2.5	丙酮	30
韭菜	85	10	1.5	丙酮	30
苹果	85	10	21.5	丙酮	10
桃	90	10	11.0	丙酮	20
葡萄	80	10	11.5	丙酮	20
柑橘	85	10	1.5	丙酮	30
香菇	90	10	1.0	乙腈	8
杏仁	<10	5	10	丙酮	10
大豆油	<10	5	2.0	丙酮	20
糙米	<10	5	0.5	丙酮	20
小麦	<10	5	0.5	丙酮	20
玉米	<10	5	0.5	丙酮	20
花生	<10	5	10	丙酮	20
绿茶	<10	2	0	乙腈	8
花椒	<10	2	0	乙腈	8

注 1: 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。  
注 2: “-”表示不使用有机溶剂, 提取溶剂为水。