

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4676—2016

出口食品中联二脲的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of biurea in foods for export—LC-MS/MS method

2016-12-12 发布

2017-07-01 实施



中 华 人 民 共 和 国
国 家 质 量 监 督 检 验 检 疫 总 局 发 布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中国检验检疫科学研究院、中华人民共和国重庆出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：王俊苏、彭涛、胡雪艳、关天横、陈辉、常巧英、郝存显、王国民。

出口食品中联二脲的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了出口食品中联二脲的液相色谱-串联质谱测定及确证方法。

本标准适用于面包、馒头、油条、方便面等食品中联二脲的测定。

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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 方法提要

试样中的联二脲采用水振荡提取,经高锰酸钾氧化后,转变为偶氮甲酰胺,再加入对甲苯亚磺酸钠使偶氮甲酰胺衍生为对甲苯磺酰氨基脲,液相色谱-串联质谱测定和确证,内标法定量。

4 试剂材料

除另有规定外,所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 正己烷:色谱纯。

4.2 二甲基亚砷:色谱纯。

4.3 乙腈:色谱纯。

4.4 甲酸:色谱纯。

4.5 乙酸铵:色谱纯。

4.6 冰乙酸。

4.7 对甲苯亚磺酸钠:纯度大于 95%。

4.8 亚铁氰化钾。

4.9 乙酸锌。

4.10 高锰酸钾。

4.11 2.5 mmol/L 对甲苯亚磺酸钠溶液:称取 0.044 g 对甲苯亚磺酸钠,加乙腈-水(1:1,体积比)溶液稀释并定容至 100 mL。

4.12 1.0 mol/L 乙酸锌溶液:称取 183 g 乙酸锌,加 30 mL 冰乙酸溶解,用水稀释至 1 L。

4.13 0.25 mol/L 亚铁氰化钾溶液:称取 106 g 亚铁氰化钾,用水溶解并稀释至 1 L。

4.14 10 g/L 高锰酸钾溶液:称取高锰酸钾 1 g,用水溶解并稀释至 100 mL。室温保存,有效期 90 d。

4.15 0.2%甲酸-2 mmol/L 乙酸铵溶液:取 2 mL 甲酸和 0.154 g 乙酸铵,用水稀释并定容至 1 L。

4.16 标准物质:联二脲分子式 $C_2H_6N_4O_2$,相对分子质量 118.1,CAS 号 110-21-4; $^{13}C_2$, $^{15}N_2$ -联二脲分子式 $^{13}C_2$, $^{15}N_2$ - $C_2H_6N_4O_2$,相对分子质量 122.0,CAS 号 1189730-21-9。

4.17 联二脲标准储备液(20 mg/L):准确称取适量联二脲标准物质(精确至 0.01 mg),用水配制成浓度为 20 mg/L 的联二脲标准储备液。

4.18 $^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}_2$ -联二脲内标储备液(20 mg/L):准确称取适量 $^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}_2$ -联二脲标准物质(精确至 0.01 mg),用水配制成浓度为 20 mg/L 的 $^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}_2$ -联二脲内标储备液。

4.19 $^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}_2$ -联二脲内标溶液(10 mg/L):准确移取 $^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}_2$ -联二脲内标储备液(4.18),用水稀释成浓度为 10 mg/L 的 $^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}_2$ -联二脲内标溶液。

4.20 混合标准溶液:准确移取联二脲标准储备液(4.17)和 $^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}_2$ -联二脲内标储备液(4.18),混合,根据需要用水稀释成合适的浓度,使系列混合标准溶液中联二脲浓度为 0.005 mg/L、0.01 mg/L、0.1 mg/L、1 mg/L、2 mg/L, $^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}_2$ -联二脲浓度为 1 mg/L。

4.21 微孔滤膜:0.22 μm ,水相。

5 仪器与设备

5.1 液相色谱-串联质谱仪:配电喷雾离子源。

5.2 天平,感量为 0.01 g 和 0.01 mg。

5.3 离心机:转速不低于 8 000 r/min。

5.4 振荡器。

5.5 旋涡混匀器。

5.6 离心管,具塞,50 mL。

5.7 比色管,25 mL。

6 试样制备与保存

6.1 试样制备

从所取样品中取出具有代表性样品适量,磨碎混匀后,装入洁净的塑料袋中,密封,并标明标记,存放。

6.2 试样保存

将试样于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下存放。

7 分析步骤

7.1 前处理

7.1.1 提取

称取 2 g(精确至 0.01 g)试样于 50 mL 离心管中,加 0.2 mL $^{13}\text{C}_2, ^{15}\text{N}_2$ -联二脲内标溶液(4.19)和 10 mL 水,旋涡混匀 1 min,振荡提取 15 min,以 8 000 r/min 的转速离心 5 min,移取上层清液于 25 mL 比色管(5.7)中,残留物再用 10 mL 水提取 1 次,合并提取液。

7.1.2 净化

提取液中分别加入 2 mL 乙酸锌溶液(4.12)和 2 mL 亚铁氰化钾溶液(4.13),加水定容至刻度,振荡混匀,溶液转移至 50 mL 离心管,加入 5 mL 正己烷(4.1)脱脂,以 8 000 r/min 的速度离心 3 min,弃去正己烷层,准确移取 5 mL 上清液于另一离心管中。

7.1.3 衍生化

加入 200 μL 高锰酸钾溶液(4.14),振荡反应 30 min 后,加入 50 μL 二甲基亚砷(4.2),振荡 3 min 后,加入 5 mL 对甲苯亚磺酸钠溶液(4.11),振荡衍生 10 min,以 8 000 r/min 的速度离心 5 min,过 0.22 μm 微孔滤膜后供液相色谱-串联质谱测定。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱¹⁾:Shimpak XR-ODS II, 2.2 μm , 2.0 mm \times 150 mm。
- b) 流动相及梯度洗脱程序见表 1。
- c) 流速:0.3 mL/min。
- d) 柱温:40 $^{\circ}\text{C}$ 。
- e) 进样量:10 μL 。

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间 min	乙腈 %	0.2%甲酸-2 mmol/L 乙酸铵溶液 %
2.0	95	5
4.0	10	90
7.0	10	90
7.5	95	5
8.0	95	5

7.2.2 质谱条件

质谱条件如下:

- a) 离子源:电喷雾离子源(ESI);
- b) 扫描方式:正离子;
- c) 监测方式:多反应监测(MRM);
- d) 其他条件参见附录 A。

7.2.3 液相色谱-串联质谱测定

7.2.3.1 定性

根据试样中被测物的含量,选取响应值适宜的标准工作溶液进行分析。在相同的实验条件下,样液中被测物的色谱峰保留时间与标准工作溶液相同,并且在扣除背景后的样液图谱中,所选择的离子对均出现,各定性离子的相对丰度与标准品离子的相对丰度相比,偏差不超过表 2 规定的范围,则可判断样品中存在对应的被测物。

1) Shimpak XR-ODS II 色谱柱是岛津公司产品的商品名称,给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不是表示对该产品的认可,如果其他等效产品具有相同的效果,则可以使用这些等效产品。

表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

7.2.3.2 定量

在仪器最佳工作条件下,对标准工作溶液和样液进样,内标法定量。标准工作液和样液中待测物的响应值均应在仪器线性响应范围内。在上述色谱和质谱条件下联二脲的保留时间为 4.8 min,联二脲和 ¹³C₂, ¹⁵N₂-联二脲标准物质衍生产物的多反应监测(MRM)图参见附录 B 中图 B.1 和图 B.2。

7.3 空白试验

除不加试样外,均按上述操作步骤进行。

7.4 标准工作溶液的制备

准确量取 2.0 mL 混合标准溶液(4.20),按照 7.1 和 7.2 进行处理,制备标准工作溶液。

8 结果计算

按式(1)进行计算:

$$X = \frac{c \times V}{m} \dots\dots\dots (1)$$

- X —— 试样中联二脲的含量,单位为微克每千克(μg/kg);
- c —— 从标准工作曲线得到的联二脲溶液浓度,单位为微克每升(μg/L);
- V —— 样液最终定容体积,单位为毫升(mL);
- m —— 样品溶液所代表最终试样的质量,单位为克(g)。

注: 计算结果需将空白值扣除。

9 测定低限和回收率

9.1 测定低限

本方法联二脲的测定低限为 5 μg/kg。

9.2 回收率

样品的添加浓度及回收率的实验数据见表 3。

表 3 添加浓度及回收率的实验数据

基质	添加水平 μg/kg	平均回收率 %
面包	5	89.6~119.2
	10	100.6~116.6
	50	90.6~102.0

表 3 (续)

基质	添加水平 $\mu\text{g/kg}$	平均回收率 %
馒头	5	70.6~84.4
	10	84.2~95.1
	50	88.7~98.6
油条	5	77.8~102.4
	10	81.4~99.2
	50	91.0~102.3
方便面	5	85.0~101.8
	10	88.1~103.3
	50	93.4~102.6

SN/T 4676—2016

附 录 A
(资料性附录)
参考质谱条件²⁾

- 参考质谱条件如下：
- a) 电喷雾电压(IS):5 500 V；
 - b) 雾化气压力(GS1):80 psi；
 - c) 气帘气压力(CUR):35 psi；
 - d) 辅助气压力(GS2):50 psi；
 - e) 离子源温度(TEM):650 ℃；
 - f) 碰撞室入口电压(EP):10 V；
 - g) 碰撞室出口电压(CXP):12 V；
 - h) 定性离子对、定量离子对、驻留时间、去簇电压(DP)、碰撞电压(CE)等参数见表 A.1。

表 A.1 待测物离子对、驻留时间、去簇电压和碰撞电压

化合物名称	离子对	驻留时间 ms	去簇电压 V	碰撞电压 V
对甲苯磺酰氨基脒	230.0/157.0 *	4.97	41	17
	230.0/91.3	4.97	41	35
¹³ C, ¹⁵ N-对甲苯磺酰氨基脒	232.3/157.2 *	4.97	55	16
	232.3/91.1	4.97	55	40
注：带“*”的离子为定量离子。				

2) 非商业性声明:表 A.1 所列参数是用 API4000 质谱仪完成的,此处列出试验用仪器型号仅是为了提供参考,并不涉及商业目的,鼓励标准使用者尝试采用不同厂家或型号的仪器。

附录 B
(资料性附录)

联二脲和 $^{13}\text{C}_2$, $^{15}\text{N}_2$ -联二脲标准物质衍生生产物的多反应监测(MRM)图

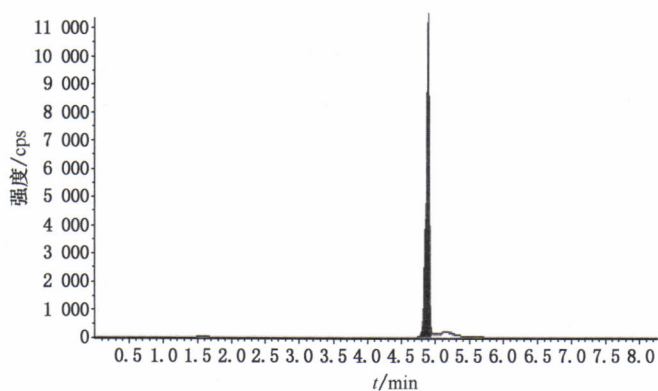


图 B.1 联二脲衍生生产物的多反应监测(MRM)图

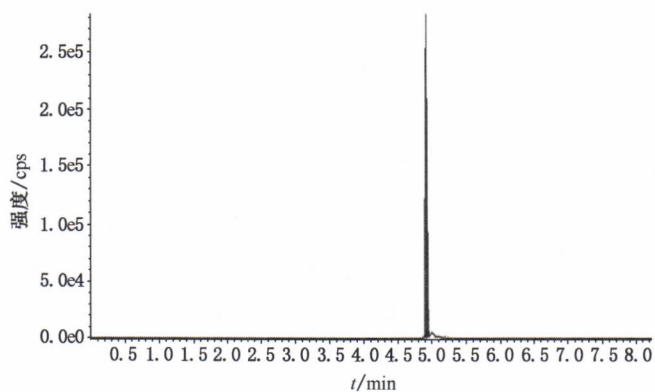


图 B.2 $^{13}\text{C}_2$, $^{15}\text{N}_2$ -联二脲衍生生产物的多反应监测(MRM)图

中华人民共和国出入境检验检疫

行 业 标 准

出口食品中联二胺的测定

液相色谱-串联质谱法

SN/T 4676—2016

*

中国标准出版社出版

北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)

北京市西城区三里河北街16号(100045)

总编室:(010)68533533

网址 www.spc.net.cn

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 14 千字

2017年11月第一版 2017年11月第一次印刷

印数 1—500

*

书号: 155066·2-32203 定价 16.00 元



SN/T 4676-2016