

团体标准

T/GXAF 0011—2023

大米中 2-乙酰基-1-吡咯啉含量的测定 气相色谱-质谱法

Determination of 2—acetyl—1—pyrroline in rice—
Gas chromatography-mass spectrometry

2023 – 04 – 10 发布

2023 – 05 – 01 实施

广西肥料协会 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广西壮族自治区分析测试研究中心提出。

本文件由广西肥料协会归口。

本文件起草单位：广西壮族自治区分析测试研究中心、广西大学、广西西大检测有限公司、广西壮族自治区产品质量检验研究院。

本文件主要起草人：范晓苏、韦婷彦、黄一帆、裴根、潘扬昌、黄宏飞、沈方科、刘双斌、何善廉、陈桂鸾、韦英亮、梁鑫佳、李泉、莫达松、李妍。

大米中 2-乙酰基-1-吡咯啉含量的测定

气相色谱-质谱法

1 范围

本文件描述了气相色谱-质谱法测定大米中 2-乙酰基-1-吡咯啉含量的原理，规定了试剂和材料、仪器和设备、分析步骤、结果计算和表述、精密度等的要求。

本文件适用于大米中 2-乙酰基-1-吡咯啉含量的测定，检出限为 0.005 mg/kg，测定下限为 0.015 mg/kg。

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/T 5491 粮食、油料检验 扦样、分样法
GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

大米试样在水浴加热条件下经二氯甲烷提取，气相色谱-质谱法测定，内标法定量。

5 试剂和材料

除特别说明外，下列试剂均为分析纯。

- 5.1 水为 GB/T 6682 规定的一级水。
- 5.2 二氯甲烷：色谱纯。
- 5.3 容量瓶：10 mL。
- 5.4 2-乙酰基-1-吡咯啉标准品（2-AP）：10% w/w 于甲苯，纯度 $\geq 95\%$ 。
- 5.5 2,4,6-三甲基吡啶标准品（TMP）：纯度 $\geq 99\%$ 。
- 5.6 0.22 μm 有机滤膜。
- 5.7 12 mL 螺纹盖培养管。
- 5.8 标准溶液配制：
 - 5.8.1 2-乙酰基-1-吡咯啉（2-AP）标准储备液：称取 2-乙酰基-1-吡咯啉标准品（5.4）0.1000 g（精确至 0.1 mg），置于 10 mL 容量瓶中，加二氯甲烷（5.2）溶解并定容至刻度，配制成浓度为 1000 mg/L 储备液，于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下避光保存，有效期 6 个月。
 - 5.8.2 内标标准储备液：称取 2,4,6-三甲基吡啶标准品（5.5）0.0100 g（精确至 0.1 mg），置于 10 mL 容量瓶中，加二氯甲烷（5.2）溶解并定容至刻度，配制成浓度为 1000 mg/L 储备液，于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下避光保存，有效期 6 个月。
 - 5.8.3 内标标准工作液：取适量内标标准储备液（5.8.2），用二氯甲烷稀释浓度为 10 mg/L 的内标标准工作液，于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下避光保存，有效期 1 个月。

5.8.4 基质标准曲线溶液：取 1000 mg/L 2-乙酰基-1-吡咯啉标准储备液（5.8.1），用基质溶液稀释，配成浓度分别为 15 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、500 ng/mL、1000 ng/mL 的标准曲线溶液，待用。基质标准曲线溶液应现配现用。

注：基质溶液与相应的试样处理取样量及前处理方式一致。

6 仪器和设备

6.1 气相色谱-质谱仪：气相色谱-质谱，EI 源。

6.2 电子天平：感量 0.1 mg。

6.3 冷冻研磨仪。

6.4 恒温水浴锅。

7 试样制备和测定步骤

7.1 试样的制备与贮藏

按照 GB 5491 的规定将不少于 1000 g 大米（已脱壳）混匀，四分法取样，放入冷冻研磨仪中粉碎制成试样，放入密封袋中密封，做上标记，并置于 -80 °C 条件下保存，待测。

7.2 试样提取

称取 1 g（精确至 0.1 mg）制备好的试样于 12 mL 螺纹盖培养管中，加入 10 mg/L 内标标准工作液 0.01 mL，向瓶中加入 1 mL 二氯甲烷，涡旋混匀后置 80 °C 下水浴提取 3 h，涡旋混匀，冷却静置 20 min，经 0.22 μm 滤膜过滤，滤液供气相色谱质谱仪测定。

7.3 仪器分析条件

7.3.1 气相色谱条件

- a) 色谱柱：BP-5MS（30 m×0.25 mm×0.25 μm）毛细管气相色谱柱或等效柱；
- b) 载气条件：氦气，纯度≥99.999%，流速：1.0 mL/min；
- c) 进样方式：不分流进样；
- d) 进样口温度：200 °C；
- e) 进样量：1 μL；
- f) 柱温箱升温程序：炉温初始为 50 °C，保持 2 min，以 8 °C/min 升温至 100 °C 保持 2 min，以 50 °C/min 升温至 280 °C，保持 2 min。

7.3.2 质谱条件

- a) 电离方式：电子轰击电离源（EI 源）；
- b) 离子源温度：300 °C；
- c) 传输线温度：280 °C；
- d) 溶剂峰延迟时间：4 min；
- e) 选择离子监测（SIM）：
 - 1) 2-AP（m/z）：111、83、43（定量离子）；
 - 2) TMP（m/z）：121（定量离子）、106、79。

7.4 测定

7.4.1 定性确证

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中，所选择的离子均出现，所选择的离子丰度比与标准样品的离子丰度比相一致，相似度最大容许误差见表 1，则可判断样品中存在 2-AP。如果不能确证，应重新进样，以扫描方式（有足够灵敏度）或采用增加其他确证离子的方式或用其他灵敏度更高的分析仪器来确证。2-AP 及 TMP 的保留时间及离子丰度比见表 2。

表1 使用气相色谱-质谱定性时相对离子丰度最大容许误差

相对离子丰度	>50%	20%~50%	10%~20%	≤10%
允许的相对偏差	±10%	±15%	±20%	±50%

表2 2-AP和TMP保留时间及离子丰度比

名称	特征离子 m/z	保留时间 min	相对强度 %	允许相对偏差 %
2-AP	43*	6.636	100	—
	83		13	±20
	111		5	±50
TMP	121*	8.077	100	—
	79		25	±15
	106		15	±20
* 表定量离子				

7.4.2 定量测定

本方法以2-AP定量离子（m/z 43）与TMP定量离子（m/z 121）质量色谱图（见附录A）的峰面积比多点校准，内标法定量。为减少基质的影响，定量采用基质标准曲线溶液。

7.5 平行试验

按7.4.1~7.4.2步骤对同一试样进行平行测定。

7.6 空白试验

除不称取试样外，按7.4.1~7.4.2步骤进行空白操作。

8 结果计算和表述

试样中2-乙酰基-1-吡咯啉（2-AP）的含量 ω 按公式（1）计算：

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

式中：

- ω ——试样中 2-AP 含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；
- A ——试样溶液中 2-AP 与 TMP 定量离子的峰面积比值；
- A_s ——标准溶液中 2-AP 与 TMP 定量离子的峰面积比值；
- C_s ——标准溶液中 2-AP 浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；
- V ——定容体积的数值，单位为毫升（mL）；
- m ——试样质量的数值，单位为克（g）；
- 1000 ——单位换算系数。

计算结果应扣除空白值，测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留三位有效数字。

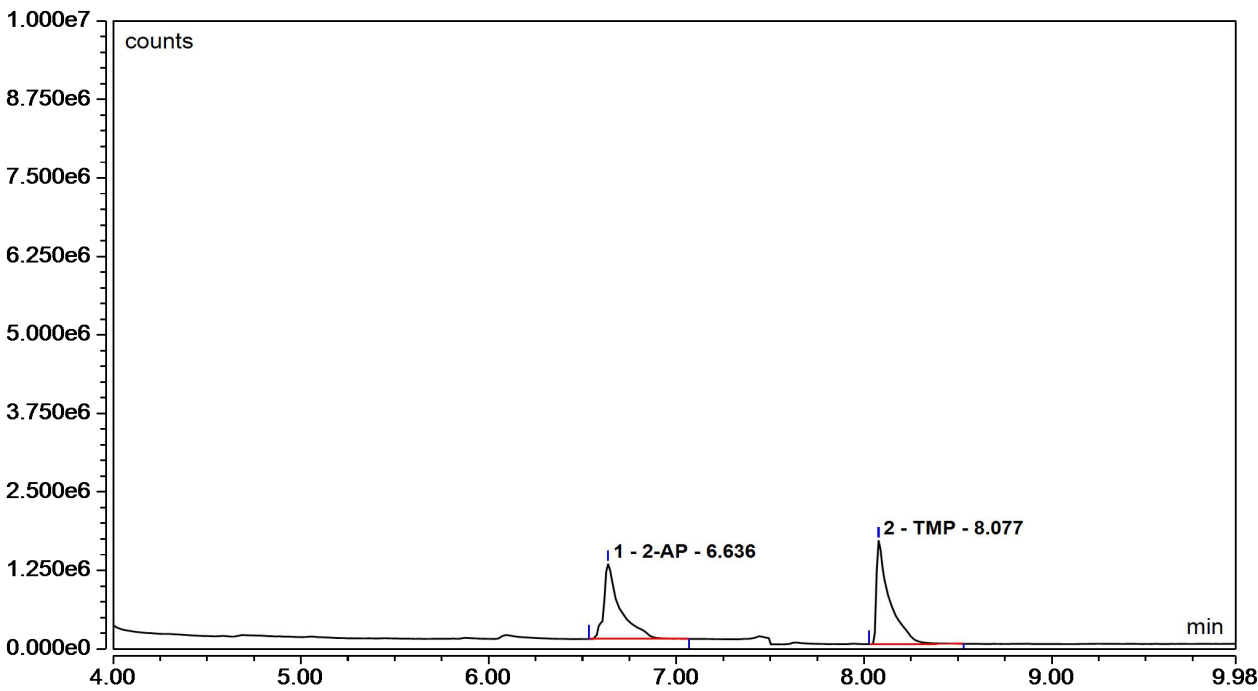
9 精密度

9.1 在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于其算术平均值的 10%。

9.2 在再现性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不大于其算术平均值的 15%。

附录A
(资料性附录)
2-AP与TMP标准溶液谱图

2-AP 定量离子 (m/z 43) 与 TMP 定量离子 (m/z 121) 质量色谱图见下图。



图A.1 2-AP与TMP标准溶液SIM色谱图