

ICS 67.060
CCS B 04

团 体 标 准

T/NAIA XXX—2021

大米中 2-乙酰基-1-吡咯啉的测定

顶空固相微萃取-气质联用法

Determination of 2-acetyl-1-pyrroline in rice by headspace solid-phase
microextraction technique coupled with gas chromatography mass
spectrometry (HS SPME-GCMS)

2023-XX-XX 发布

2023-XX-XX 实施

宁夏化学分析测试协会 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这些专利的责任。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本文件负责起草单位：宁夏农林科学院农业生物技术研究中心、宁夏农林科学院农业资源与环境研究所、南京农业大学农学院、中国农业科学院农业生物技术研究中心、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：陈晓军、姜瑞、惠建、白海波、李新、聂峰杰、钟楠、汤冬、张文利、谷晓峰。

本文件为首次发布。

大米中 2-乙酰基-1-吡咯啉的测定

顶空固相微萃取-气质联用法

警示—本文件的使用可能涉及到某些有危险的材料、操作及设备,但并未对所有的安全问题都提出建议。因此,用户在使用本文件前应建立适当的安全防护措施,并确定相关规章限制的适用性。

1 范围

本文件规定了大米中 2-乙酰基-1-吡咯啉的顶空固相微萃取—串联气相色谱质谱测定方法。

本文件适用于大米中 2-乙酰基-1-吡咯啉的测定。大米中其他风味物质也可参照本文件,本文件未做验证。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 方法概要

试样经粉碎后,经顶空固相微萃取串联气相色谱质谱仪(HS-SPME-GC-MS)检测;以保留时间及特征离子的相对丰度定性,外标法定量。

5 试剂和材料

5.1 试剂

无水乙醇(C_6H_6O , CAS号: 64-17-5): 色谱纯。

纯水: 三级水。

5.2 标准品

2-乙酰基-1-吡咯啉(缩写2-AP)(C_6H_9NO , CAS号: 85213-22-5): 纯度: $\geq 95.0\%$ 。

5.3 标准溶液的配制

5.3.1 2-AP标准储备溶液(1000 mg/L): 准确称取2-AP标准品(5.2) 10.0 mg(精确至0.1 mg)于10 mL容量瓶中,立即用无水乙醇(5.1)定容至刻度,放置于-80 °C冰箱,有效期6个月。

5.3.2 2-AP标准工作溶液(100.0 mg/L): 取2-AP标准储备溶液(5.3.1) 1.0 mL于10 mL容量瓶中,用无水乙醇(5.1)定容,放置于-20 °C冰箱,有效期3个月。

2-AP基质标准曲线的配制：准确吸取2-AP标准工作溶液（5.3.2）0.05 mL、0.25 mL、0.50 mL、0.75 mL、1.00 mL、1.25 mL 于10 mL 的容量瓶中，加无水乙醇定容至刻度，配得浓度分别为0.5 mg/L、2.5 mg/L、5.0 mg/L、7.5 mg/L、10.0 mg/L、12.5 mg/L的系列标准溶液。标准工作溶液的浓度亦可根据实际情况自行调整。分别取10 μ L标准工作液加入到1 g的空白大米粉中（空白大米粉的制备：乙醇反复洗涤大米粉，至香气成分含量在GC-MS中无法检出或含量很低，并自然晾干；或者用超临界二氧化碳萃取出去大米中的香气成分），测定方式同样品的测定。以在空白基质中的质量浓度为横坐标，以定量离子峰面积为纵坐标，建立标准曲线。

5.4 材料

顶空瓶：20mL。

6 仪器和设备

6.1 气相色谱-质谱仪（GC-MS）：仪器至少应包括汽化室、控温色谱柱箱、配有电子轰击电离源（EI 源）的质谱检测器和色谱工作站（详见第 8 章）。色谱柱：5%苯基-95%聚二甲硅氧烷，或其他类型色谱柱若被验证能够达到良好的分离效果亦可用于本文件。

6.2 分析天平：精确到 0.0001 g 和 0.01 g。

6.3 固相微萃取装置。

6.4 棕色容量瓶：10 mL、25 mL、50 mL，A 级，若干。

6.5 移液枪：1 μ L~10 μ L、10 μ L~100 μ L、100 μ L~1000 μ L、0.5 mL~5 mL、1 mL~10 mL。

6.6 水浴锅。

6.7 涡旋震荡器。

6.8 粉碎机。

6.9 标准网筛：0.25 mm。

7 试样及其制备

称取大米样品250 g，粉碎过标准网筛（6.8）后于样品瓶中，宜用封口膜封口后，4 $^{\circ}$ C 条件下保存。

8 分析步骤

8.1 样品前处理

称取 1.00 g 试样（精确至 0.01 g）于 20 mL 玻璃顶空瓶中，加入 5 mL 水（5.1），立即用压盖机压紧盖子，利用 CAR/DVB/PDMS 固相萃取头在 60 $^{\circ}$ C 水浴下萃取 30 min，待上机测定。

8.2 测定

8.2.1 参考色谱质谱工作条件（表1）

表1 参考色谱-质谱工作条件

色谱-质谱			工作条件/仪器参数
GC	进样系统	控制方式	HS-SPME-GC-MS
		载气	氦气（He），纯度≥99.999%，流速 1 mL/min。
		进样模式	不分流
		分流比	
		进样口温度/℃	280
		解析时间/min	5
	色谱柱	类型	5%苯基-95%二甲基聚硅氧烷石英毛细管柱，或性能相当者。
		柱长度/m	30
		膜厚/μm	0.25
		内径/mm	0.25
	柱箱	最高温度/℃	325
		程序升温方式	初温 40 ℃，保持 5 min，以 5℃/min 升温至 150 ℃，保持 3 min，再以 15 ℃/min 升温至 250 ℃，保持 5 min。
MS	离子源（EI）温度/℃		280
	电子轰击源		70 eV
	接口温度/℃		280
	溶剂延迟时间/min		0
	采集方式	定性	SIM。
		定量	SIM
注：色谱条件允许根据实际情况适当变动，上述条件仅供参考。			

Commented [M1]: 是不是改成定量

表 2 2-AP的定性定量参考质谱条件

目标化合物	保留时间, min	定性离子对, m/z	定量离子, m/z	定性离子丰度比	碰撞电压 CE, V
2-AP	8.11	111/83/68	83 和 111	4: 10: 2.6	无

Commented [M2]: sim 模式没有碰撞电压

定性分析

Commented [M3]: 和 5.3.2 重复

通过对比试样和标准溶液中目标物的保留时间及特征离子的相对丰度定性,所检测的特定 2-AP 色谱峰信噪比 (S/N) 大于 3, 被测试样中特定 2-AP 的保留时间与标准溶液中目标化合物的保留时间比较, 相对误差应在±2.5%之内。同时, 被测试样中特定 2-AP 的相应特征离子丰度比与标准溶液中特定 2-AP 的色谱丰度比, 允许的偏差见表 3。

表 3 定性确定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	%
允许相对偏差	±20	±25	±30	±50	

8.2.3 定量分析

采用外标法定量, 将 SPME 萃取头插入进样口后解析 5min 后拔出萃取头, 试样中待测组分注入气相色谱-质谱联用仪中, 得到相应的 2-AP 的峰面积, 根据标准曲线得到待测液中 2-AP 的浓度。试样待测液中的被测物的响应值均应在仪器测定的线性范围内, 若试样待测液的质量浓度超过曲线上限浓度, 使用空白基质提取溶液稀释后测定。上述条件下, 0.5 mg/kg 2-AP 标准溶液 (空白基质配) 的选择离子监测 (SIM) 色谱图 (TIC) 和质谱图见附录 A。

8.3 空白试验

采用空白基质, 按照 8.1~8.2 的规定的操作。

9 质量控制

通过分析QC样品以确保仪器状态正常或检测过程无误, 可每批次运行5个试样后验证一次标准曲线或分析QC样品, 测定结果与QC样品的参比值之差应小于再现性要求, 否则应确定误差来源, 并对方法操作和仪器状态进行必要检查。如果实验室已经建立QC或质量保证 (QA) 协议, 则在确认测试结果可靠性时可以使用。

10 结果计算

试样中2-AP的含量以质量分数ω计, 按式 (1) 计算:

$$\omega = \rho - \rho_0 \cdots \cdots \cdots (1)$$

式中:
ω—试样中2-AP质量分数的数值, 单位为毫克每千克 (mg/kg) ;
ρ—基质标准工作溶液中被测物的质量浓度的数值, 单位为毫克每千克 (mg/ kg) ;
ρ₀—通过标准工作曲线计算得空白基质的浓度的数值, 单位为毫克每千克 (mg/ kg) ;

计算结果用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, 精确至 3 位有效数字。

11 精密度和灵敏度

11.1 精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测试结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%。

11.2 灵敏度

方法检出限为0.01mg/kg，方法定量限为0.03 mg/kg。

12 试验报告

试验报告至少应给出以下内容：

- a) 试样编号；
- b) 使用的文件；
- c) 采用方法；
- d) 试验项目；
- e) 试验结果；
- f) 试验人员；
- g) 试验日期。

附录 A

(资料性)

大米中 2-AP 的多反应监测 (MRM) 色谱图和离子对图

大米中 2-APTIC 色谱图和离子对图分别见图 A.1 和图 A.2。

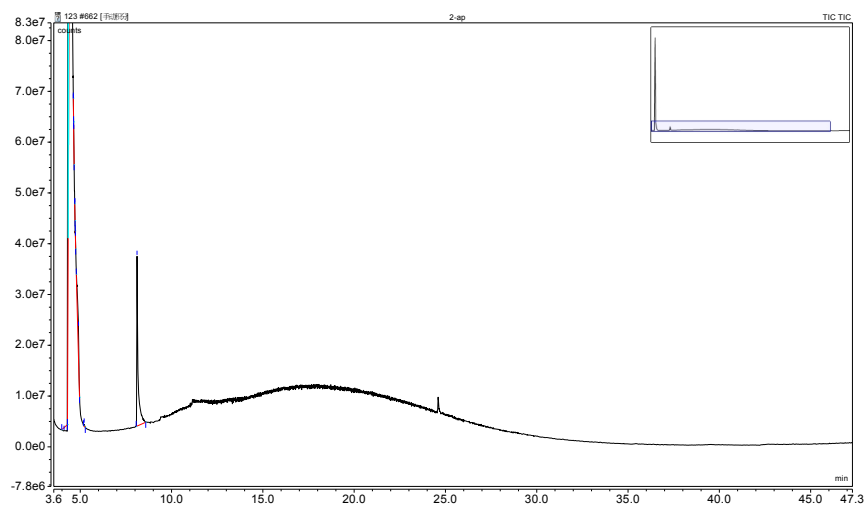
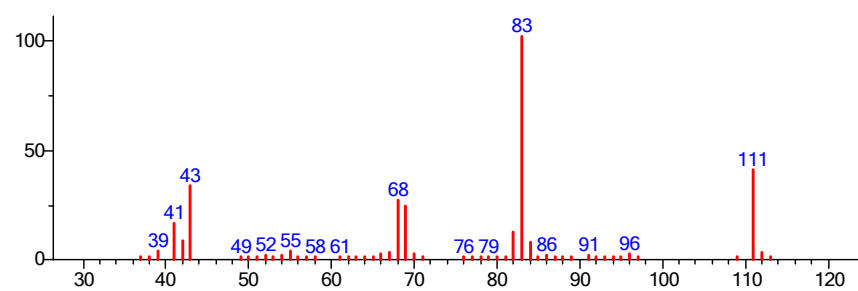


图 A.1 0.5 mg/kg 2-AP 标准溶液（空白基质配）的 TIC



(Text File) 123: 2-ap#1356 RT: 8.11

图 A.2 0.5 mg/kg 2-AP 标准溶液（空白基质配）离子对图

参 考 文 献

- [1] NY/T 4350 大米中 2-乙酰基-1-吡咯啉的测定 气相色谱-串联质谱法
 - [2] NY/T 596 香稻米
-

