

# 团 体 标 准

T/CBJ 2204—2023

## 白酒酿造原料、酒曲、酒醅中 氰化物的检测方法

Quantification of cyanide in Baijiu-making raw materials,  
Jiuqu and fermented grains

2023-08-08 发布

2023-09-08 实施

中国酒业协会 发布  
中国标准出版社 出版



## 目 次

前言 .....	III
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 原理 .....	1
5 试剂与材料 .....	1
6 仪器与设备 .....	2
7 试样的制备和保存 .....	3
8 分析步骤 .....	3
9 精密度 .....	4
10 其他 .....	4
附录 A (资料性) QuEChERS-分光光度法测定氰化物的分析流程和标准曲线 .....	5



## 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。

本文件由中国酒业协会提出。

本文件由中国酒业协会团体标准审查委员会归口。

本文件起草单位：中国酒业协会、江南大学、无锡市检验检测认证研究院、山东省食品药品检验研究院、国家食品安全风险评估中心、国家市场监督管理总局重点实验室(白酒监管技术)。

本文件主要起草人：徐岩、宋书玉、陈双、韩业慧、王旭亮、杜静怡、丁云连、王琳、骆鹏杰、王紫菲、余晓琴。



# 白酒酿造原料、酒曲、酒醅中 氰化物的检测方法

## 1 范围

本文件规定了白酒酿造原料、酒曲(白酒酿造用到的大曲、小曲、麸曲等)、酒醅中氰化物含量的 QuEChERS-分光光度法。

本文件适用于高粱、小麦、大麦、酒曲、酒醅中氰化物含量的测定。

## 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/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

试样在碱性缓冲条件下,经 QuEChERS 前处理提取净化,氰化物与氯胺 T 反应,转变为氯化氰,再与异烟酸-巴比妥酸显色反应生成紫蓝色染料,与标准系列比较定量。

## 5 试剂与材料

除另有说明,所有试剂均为分析纯,实验用水应符合 GB/T 6682 中规定的一级水。

### 5.1 试剂

- 5.1.1 磷酸二氢钾( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,CAS 号:7778-77-0)。
- 5.1.2 磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,CAS 号:7558-79-4)。
- 5.1.3 乙腈( $\text{CH}_3\text{CN}$ ,CAS 号:75-05-8)。
- 5.1.4 硫酸镁( $\text{MgSO}_4$ ,CAS 号:7487-88-9)。
- 5.1.5 氯化钠( $\text{NaCl}$ ,CAS 号:7647-14-5)。
- 5.1.6 氢氧化钠( $\text{NaOH}$ ,CAS 号:1310-73-2)。
- 5.1.7 酚酞( $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$ ,CAS 号:77-09-8)。
- 5.1.8 乙酸( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ,CAS 号:64-19-7)。
- 5.1.9 氯胺 T( $\text{C}_7\text{H}_7\text{ClNNaO}_2\text{S}$ ,CAS 号:127-65-1)。
- 5.1.10 异烟酸( $\text{C}_5\text{H}_5\text{NO}_2$ ,CAS 号:55-22-1)。

5.1.11 巴比妥酸( $C_4H_4N_2O_3$ ,CAS号:67-52-7)。

5.1.12 乙酸钠(NaAc,CAS号:127-09-3)。

## 5.2 试剂配制

5.2.1 氢氧化钠溶液(20 g/L):称取 2.0 g 氢氧化钠,溶于水中,并稀释至 100 mL。

5.2.2 氢氧化钠溶液(10 g/L):称取 1.0 g 氢氧化钠,溶于水中,并稀释至 100 mL。

5.2.3 氢氧化钠溶液(2 g/L):量取 10 mL 20 g/L 的氢氧化钠溶液,用水稀释至 100 mL。

5.2.4 酚酞溶液(10 g/L):称取 1 g 酚酞,溶于 100 mL 乙醇中[ $\varphi(C_2H_5OH) = 95\%$ ]。

5.2.5 乙酸溶液(1+10):将乙酸和水按 1:10 的体积比混匀。

5.2.6 氯胺 T 溶液(10 g/L):称取 1 g 氯胺 T 溶于水中,并稀释至 100 mL。临用时配制。

5.2.7 磷酸盐缓冲液(pH=7):称取 3.40 g 磷酸二氢钾和 3.55 g 磷酸氢二钠溶于纯水中,稀释至 100 mL。

5.2.8 磷酸盐缓冲液(pH=9.0):称取 2.84 g 无水磷酸氢二钠溶于纯水中,稀释至 100 mL。

5.2.9 异烟酸-巴比妥酸试剂:称取 2.50 g 异烟酸和 1.25 g 巴比妥酸,加到 100 mL 60 °C~70 °C 的氢氧化钠(20 g/L)溶液中,搅拌至溶解,冷却后加水至 100 mL。此试剂 pH 约为 12,为无色或极浅黄色,尽量用时现配,或密封后避光 4 °C 下保存一月内使用。

## 5.3 标准品及标准溶液配制

5.3.1 水中氰成分分析标准物质(50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ):标准物质编号为 GBW(E)080115。

5.3.2 氰离子标准中间液(1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ):取 2 mL 水中氰成分分析标准物质(50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )用氢氧化钠溶液(2 g/L)定容至 100 mL。

## 5.4 材料

5.4.1 十八烷基硅烷键合硅胶( $C_{18}$ ):40  $\mu\text{m}$ ~60  $\mu\text{m}$ 。

5.4.2 石墨化炭黑(GCB):40  $\mu\text{m}$ ~120  $\mu\text{m}$ 。

5.4.3 氨丙基键合硅胶( $\text{NH}_2$ ):40  $\mu\text{m}$ ~120  $\mu\text{m}$ 。

5.4.4 陶瓷均质子:2 cm×1 cm。

5.4.5 微孔滤膜(有机相):13 mm×0.45  $\mu\text{m}$ 。

## 6 仪器与设备

6.1 粉碎机。

6.2 均质器。

6.3 分析天平:感量 0.1 mg 和 0.01 g。

6.4 塑料离心管(50 mL、15 mL)。

6.5 超声波清洗机。

6.6 多管涡旋振荡仪。

6.7 高速离心机。

6.8 氮吹仪。

6.9 恒温水浴锅。

6.10 紫外/可见分光光度计。



## 7 试样的制备和保存

酿造原料和酒曲样品直接粉碎后过 425  $\mu\text{m}$  标准筛;酒醅样品经均质器处理,所有样品于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下密封保存。样品分析在温度为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度为25%~75%的室内实验室开展。

警示:整个分析操作过程应在指定区域内进行。该区域应避光(直射阳光)、具备相对独立的操作台和废弃物存放装置。在整个实验过程中,操作者应采取一定的保护措施。

## 8 分析步骤

### 8.1 QuEChERS 前处理

#### 8.1.1 原料

准确称取粉碎后的原料样品 5 g(精确到 0.1 g,以下相同)于 50 mL 塑料离心管中,加入 10 mL(精确到 0.1 mL,以下相同)水涡旋混匀,50  $^{\circ}\text{C}$  浸泡 15 min,加入 15 mL 乙腈,超声 8 min,放入一颗陶瓷均质子,加入 6.0 g  $\text{MgSO}_4$ 、1.5 g NaAc,立即摇动涡旋 1 min,然后 5 000 r/min 离心 5 min,吸取 8 mL 上清液到内含 1 200 mg  $\text{MgSO}_4$ 、500 mg  $\text{C}_{18}$  和 500 mg GCB 的 15 mL 塑料离心管中,涡旋 1 min,5 000 r/min离心 5 min,吸取 1 mL 上清液到 5 mL EP 管中,氮吹至近干,加入 5 mL 2 g/L NaOH 待比色分光分析。

#### 8.1.2 酒曲

准确称取粉碎后的曲粉 5 g 于 50 mL 塑料离心管中,加入 10 mL 水涡旋混匀,50  $^{\circ}\text{C}$  浸泡 15 min,加入 15 mL 乙腈,超声 8 min,放入一颗陶瓷均质子,加入 6.0 g  $\text{MgSO}_4$ 、1.5 g NaAc,立即摇动涡旋 1 min,然后 5 000 r/min 离心 5 min,吸取 8 mL 上清液到内含 1 200 mg  $\text{MgSO}_4$ 、400 mg  $\text{C}_{18}$  和 400 mg GCB 的 15 mL 塑料离心管中,涡旋 1 min,5 000 r/min 离心 5 min,吸取 1 mL 上清液到 5 mL EP 管中,氮吹至近干,加入 5 mL 2 g/L NaOH 待比色分光分析。

#### 8.1.3 酒醅

准确称取酒醅 3 g 于 50 mL 塑料离心管中,加入 7.5 mL 磷酸盐缓冲液( $\text{pH}=9.0$ )涡旋混匀,50  $^{\circ}\text{C}$  浸泡 15 min,加入 10 mL 乙腈,超声 8 min,放入一颗陶瓷均质子,加入 4.0 g  $\text{MgSO}_4$ 、1.0 g NaCl,立即摇动涡旋 1 min,然后 5 000 r/min 离心 5 min,吸取 6 mL 上清液到内含 750 mg  $\text{MgSO}_4$ 、120 mg  $\text{C}_{18}$ 、120 mg  $\text{NH}_2$ 、20 mg GCB 的 15 mL 塑料离心管中,涡旋 1 min,5 000 r/min 离心 5 min,吸取 1 mL 上清液到 5 mL EP 管中,氮吹至近干,加入 5 mL 2 g/L NaOH 待比色分光分析。

### 8.2 显色分析

将 QuEChERS 处理后的样品移至 10 mL 具塞比色管中,加入 2 滴酚酞指示剂,用乙酸溶液调至红色褪去,再用 2 g/L 氢氧化钠溶液调至近红色,然后加入 2 mL 磷酸盐缓冲溶液( $\text{pH}=7.0$ ,如果室温低于 20  $^{\circ}\text{C}$ ,放入 30  $^{\circ}\text{C}$  的水浴中 10 min),再加入 0.2 mL 氯胺 T(现配)溶液,摇匀放置 3 min,加入 2 mL 异烟酸-巴比妥酸溶液,加水至比色管刻度 10 mL,加塞振荡混合均匀,在 25  $^{\circ}\text{C}$  反应 15 min,用 1 cm 比色皿,以空白管调节零点,于波长 600 nm 处测吸光度。

### 8.3 标准曲线的绘制

用移液管分别吸取 0.1 mL、0.4 mL、0.7 mL、1.0 mL、1.3 mL、1.6 mL、1.9 mL、2.0 mL 氰离子标准

中间液(1 μg/mL)于 10 mL 具塞比色管中,与 GB 5009.36—2016 中 5.2.3 标准溶液配制方法一致,加 2 g/L 氢氧化钠至 5 mL,按 8.2 的步骤测吸光度,绘制曲线。

QuEChERS-分光光度法测定氰化物的标准曲线见附录 A 的图 A.2。

#### 8.4 结果计算(以 CN<sup>-</sup> 计)

计算见公式(1):

$$\omega_{(\text{CN}^-)} = \frac{V_0}{V_1} \cdot \frac{A}{m_0} \cdot \frac{1\ 000}{1\ 000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- $\omega_{(\text{CN}^-)}$  ——样品中氰化物含量(以 CN<sup>-</sup> 计),单位为毫克每千克(mg/kg);
- $V_0$  ——QuEChERS 前处理试样乙腈萃取体积,单位为毫升(mL);
- $V_1$  ——QuEChERS 前处理净化试样后取用的体积,单位为毫升(mL);
- $A$  ——分光测定试样对比标准曲线得到的氰化物质量(以 CN<sup>-</sup> 计),单位为微克(μg);
- $m_0$  ——试样质量,单位为克(g);
- 1 000 ——单位换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

#### 8.5 分析流程

QuEChERS-分光光度法测定氰化物的分析流程图见图 A.1。

### 9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的 20%。

### 10 其他

本方法检出限为 2.3 μg/L,定量限为 7.6 μg/L。

## 附录 A

(资料性)

## QuEChERS-分光光度法测定氰化物的分析流程和标准曲线

QuEChERS-分光光度法测定氰化物的分析流程图见图 A.1。

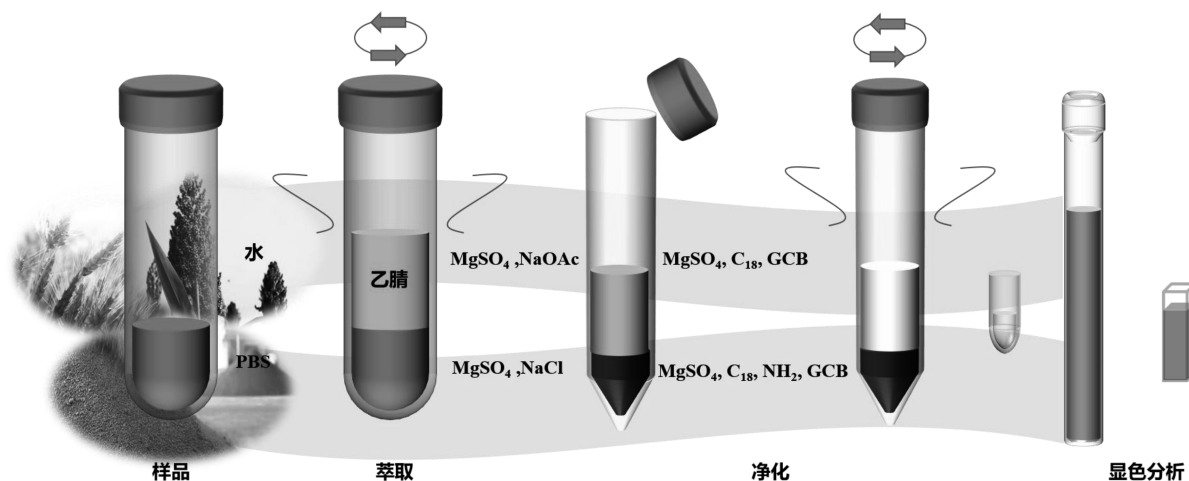


图 A.1 QuEChERS-分光光度法测定氰化物的分析流程图

QuEChERS-分光光度法测定氰化物的标准曲线图见图 A.2。

C-A标准曲线

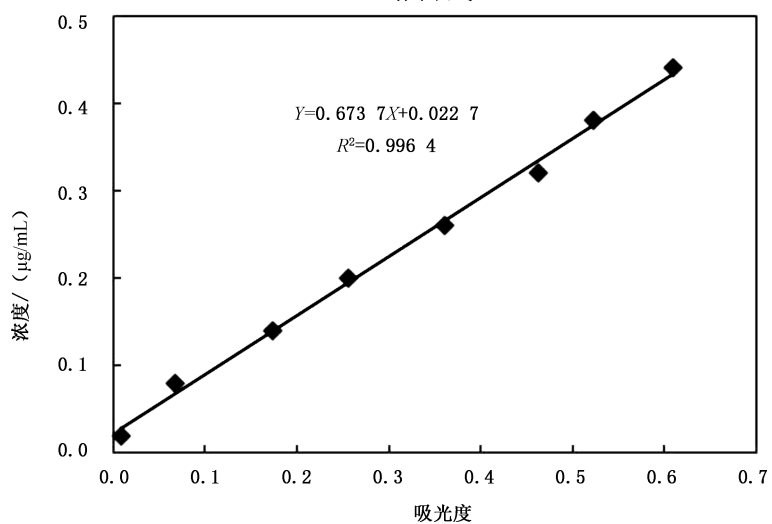


图 A.2 QuEChERS-分光光度法测定氰化物的标准曲线图