

BJS

食品补充检验方法

BJS 202209

食品中双醋酚丁等 19 种化合物的测定

2022-09-10 发布

国家市场监督管理总局 发布

食品中双醋酚丁等 19 种化合物的测定

1 范围

本方法规定了食品中阿米洛利、茶碱、纳曲酮、氨苯蝶啶、脱乙酰比沙可啶、氯苯丁胺、苯甲吗酮、西酞普兰、帕罗西汀、苯佐卡因、托吡酯、舍曲林、奈法唑酮、螺内酯、双醋酚丁、新利司他、依他尼酸、大黄素和唑尼沙胺的高效液相色谱-串联质谱测定方法。

本方法适用于压片糖果、蜜饯、果冻、除含乳饮料外的饮料、果蔬粉、饼干、代用茶、配制酒和果酒中阿米洛利、茶碱、纳曲酮、氨苯蝶啶、脱乙酰比沙可啶、氯苯丁胺、苯甲吗酮、西酞普兰、帕罗西汀、苯佐卡因、托吡酯、舍曲林、奈法唑酮、螺内酯、双醋酚丁、新利司他、依他尼酸、大黄素和唑尼沙胺的测定。

2 原理

试样经 50% 甲醇溶液(含 0.1% 甲酸)提取,经稀释、过滤膜后,采用液相色谱-串联质谱仪检测,外标法定量。

3 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为色谱纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

3.1.1 乙腈(C_2H_3N)。

3.1.2 甲醇(CH_4O)。

3.1.3 甲酸(CH_2O_2)。

3.1.4 二甲基亚砷(C_2H_6OS)。

3.1.5 丙酮(C_3H_6O)。

3.2 试剂配制

3.2.1 50% 甲醇溶液(含 0.1% 甲酸):量取 125 mL 甲醇(3.1.2)和 0.25 mL 甲酸(3.1.3),加水稀释至 250 mL,混匀备用。

3.2.2 0.1% 甲酸水溶液:量取甲酸 1 mL(3.1.3),加水稀释至 1 000 mL,混匀备用。

3.2.3 0.1% 甲酸乙腈溶液:量取甲酸 1 mL(3.1.3),加乙腈(3.1.1)稀释至 1 000 mL,混匀备用。

3.3 标准品

阿米洛利、茶碱、纳曲酮、氨苯蝶啶、脱乙酰比沙可啶、氯苯丁胺、苯甲吗酮、西酞普兰、帕罗西汀、苯佐卡因、托吡酯、舍曲林、奈法唑酮、螺内酯、双醋酚丁、新利司他、依他尼酸、大黄素和唑尼沙胺标准品,纯度 $\geq 96\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。19 种标准品的中文名称、英文名称、CAS 编号、分子式和相对分子质量见附录 A。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 标准储备液(500 mg/L):分别准确称取各标准品 12.5 mg(精确至 0.1 mg),加乙腈(3.1.1)溶解,

然后分别转移至 25 mL 容量瓶中,用乙腈定容至刻度,配制成质量浓度均为 500 mg/L 的标准储备液。氨苯蝶啶标准品溶解时需先使用 2 mL 二甲基亚砜(3.1.4)溶解,然后用乙腈(3.1.1)定容。新利司他标准品溶解时需先使用 2 mL 丙酮(3.1.5)溶解,然后用乙腈(3.1.1)定容。-18 ℃及以下避光保存,有效期 6 个月。

3.4.2 混合标准中间溶液:分别准确移取各标准储备液(3.4.1)0.10 mL(其中托吡酯和新利司他标准储备液各移取 0.50 mL)于 25 mL 容量瓶中,用 50%甲醇溶液(含 0.1%甲酸)(3.2.1)稀释并定容,配制成混合标准中间溶液,其中阿米洛利、茶碱、纳曲酮、氨苯蝶啶、脱乙酰比沙可啶、氯苯丁胺、苯甲吗酮、西酞普兰、帕罗西汀、苯佐卡因、舍曲林、奈法唑酮、螺内酯、双醋酚丁、依他尼酸、大黄素和唑尼沙胺的质量浓度均为 2.0 mg/L,托吡酯和新利司他的质量浓度均为 10.0 mg/L。0 ℃~4 ℃避光保存,有效期 1 个月。

3.4.3 标准系列工作溶液:用空白基质提取液(5.2.3)将混合标准中间溶液(3.4.2)逐级稀释,配制成系列标准工作溶液,其中阿米洛利、茶碱、纳曲酮、氨苯蝶啶、脱乙酰比沙可啶、氯苯丁胺、苯甲吗酮、西酞普兰、帕罗西汀、苯佐卡因、舍曲林、奈法唑酮、螺内酯、双醋酚丁、依他尼酸、大黄素和唑尼沙胺的系列质量浓度为 2.00 ng/mL、5.00 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL、50.0 ng/mL 和 100 ng/mL,托吡酯和新利司他的系列质量浓度为 10.0 ng/mL、25.0 ng/mL、50.0 ng/mL、100 ng/mL、250 ng/mL 和 500 ng/mL,现用现配。

3.5 材料

3.5.1 微孔滤膜:0.22 μm,聚四氟乙烯滤膜。

4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱-串联质谱仪,带电喷雾离子源(ESI)。

4.2 分析天平:感量分别为 0.1 mg 和 1 mg。

4.3 超声波提取仪:工作频率不低于 40 kHz。

4.4 恒温水浴锅:水浴温度不低于 80 ℃。

4.5 离心机:转速不低于 4 000 r/min。

4.6 涡旋混合器。

5 分析步骤

5.1 试样制备和保存

取 300 g 试样或所有试样(试样低于 300 g 时)充分搅碎、均质或粉碎混匀,蜜饯样品剪碎至 2 mm 以下,果冻样品充分搅碎至浆状,含二氧化碳的液体样品通过加热或超声去除二氧化碳,含有乙醇的试样通过 60 ℃水浴加热去除乙醇。制备好的试样于 4 ℃冰箱保存。

5.2 样品前处理

5.2.1 压片糖果、饮料、果蔬粉、饼干、代用茶、蜜饯、配制酒和果酒

准确称取 1.0 g(精确至 0.001 g)样品于 25 mL 具塞刻度离心管中,加入 20 mL 50%甲醇溶液(含 0.1%甲酸)(3.2.1),超声提取 10 min(超声过程中摇匀 2~3 次),冷却至室温,用 50%甲醇溶液(含 0.1%甲酸)(3.2.1)稀释至刻度并摇匀。取 5 mL 溶液经 4 000 r/min 离心 5 min,精确吸取 1.0 mL 离心后清液,用水稀释至 2 mL,涡旋均匀后用微孔滤膜(3.5.1)过滤,待高效液相色谱-串联质谱仪测定。

5.2.2 果冻、其他糖果

准确称取 1.0 g(精确至 0.001 g)样品于 25 mL 具塞刻度离心管中,加入 10 mL 水,80 °C 水浴至样品溶解(水浴过程中注意摇散),冷却至室温,加入 10 mL 甲醇(3.1.2),超声提取 10 min(超声过程中摇匀 2~3 次),冷却至室温,用 50% 甲醇溶液(含 0.1% 甲酸)(3.2.1)稀释至刻度并摇匀。取 5 mL 溶液经 4 000 r/min 离心 5 min,精确吸取 1.0 mL 离心后清液,用水稀释至 2 mL,涡旋均匀后用微孔滤膜(3.5.1)过滤,待高效液相色谱-串联质谱仪测定。

5.2.3 空白基质提取液

选取阴性基质样品,按照 5.2.1 或 5.2.2 操作步骤进行基质提取液的制备。
阴性基质样品中各目标物含量应在方法检出限以下。

5.3 仪器参考条件

5.3.1 色谱参考条件如下。

- 色谱柱: C₈ 柱, 1.7 μm, 100 mm × 2.1 mm(内径), 或性能相当者。
- 流动相: A 为 0.1% 甲酸水溶液(3.2.2), B 为 0.1% 甲酸乙腈溶液(3.2.3), 梯度洗脱程序见表 1。
- 流速: 0.3 mL/min。
- 柱温: 30 °C。
- 进样量: 5 μL。

表 1 梯度洗脱程序表

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	90	10
2.0	90	10
8.0	30	70
12.0	5	95
17.0	5	95
17.1	90	10
20.0	90	10

5.3.2 质谱参考条件如下。

- 离子源: ESI。
- 检测方式: 多反应监测(MRM)。
- 扫描方式: 正离子模式和负离子模式。
- 气帘气(CUR)、雾化气(GS1)、辅助气(GS2)、碰撞气(CAD)均为氮气或其他合适气体,使用前应调节相应参数使质谱灵敏度达到检测要求,电喷雾电压(IS)、去簇电压(DP)、碰撞能(CE)等参数使用前应优化至最佳灵敏度,定量离子对和定性离子对等信息详见附录 B。

5.4 标准曲线的制作

将标准系列工作溶液(3.4.3)分别注入高效液相色谱-串联质谱仪中,测定相应的峰面积,以标准系列工作溶液中各化合物的质量浓度为横坐标,以对应化合物色谱峰的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。标准溶液的色谱图参见附录 C。

5.5 试样溶液的测定

5.5.1 定性测定

按照高效液相色谱-串联质谱条件(5.3)测定试样溶液和标准工作溶液,记录试样和标准溶液中各化合物的色谱保留时间和定量离子与定性离子的相对离子丰度。当试样中化合物色谱峰保留时间与标准溶液的保留时间相对偏差不大于 2.5%,且定量离子与定性离子的相对离子丰度与浓度相当标准溶液中相对离子丰度(k)偏差不超过表 2 规定的范围,则可确定试样中检出相应化合物。

表 2 相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 $k/\%$	$k > 50$	$20 < k \leq 50$	$10 < k \leq 20$	$k \leq 10$
最大允许偏差/ $\%$	± 20	± 25	± 30	± 50

5.5.2 定量测定

将试样溶液(5.2)按仪器参考条件(5.3)进行测定,得到相应的样品溶液的色谱峰面积。根据标准曲线得到待测物的浓度。试样溶液中待测物的响应值均应在标准曲线的线性范围之内,超出线性范围时应根据测定浓度进行适当倍数稀释,同时用同等稀释倍数的空白基质配制标准曲线溶液后再测定。

5.6 空白试验

除不加试样外,均按 5.2 步骤操作。

6 结果计算

试样中各待测组分的含量按式(1)计算:

$$X = \frac{(\rho - \rho_0) \times V \times V_2}{m \times V_1 \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X —— 试样中各待测组分的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- ρ —— 由标准曲线得到的试样溶液中各待测组分的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- ρ_0 —— 由标准曲线得到的空白溶液中各待测组分的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- V —— 稀释体积,单位为毫升(mL);
- V_2 —— 移取清液稀释后的体积,单位为毫升(mL);
- m —— 试样称取的质量,单位为克(g);
- V_1 —— 移取离心后清液的体积,单位为毫升(mL);
- 1 000 —— 换算系数。

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,计算结果保留三位有效数字。

7 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 15%。

8 其他

当取样量为 1.0 g,定容体积为 25 mL,移取体积 1.0 mL 并稀释至 2 mL 时,阿米洛利、茶碱、纳曲酮、氨苯蝶啶、脱乙酰比沙可啶、氯苯丁胺、苯甲吗酮、西酞普兰、帕罗西汀、苯佐卡因、舍曲林、奈法唑酮、螺内酯、双醋酚丁、依他尼酸、大黄素和唑尼沙胺的检出限均为 0.03 mg/kg,定量限均为 0.10 mg/kg;托吡酯和新利司他的检出限均为 0.15 mg/kg,定量限均为 0.50 mg/kg。

附 录 A

(资料性)

双醋酚丁等 19 种化合物相关信息

双醋酚丁等 19 种化合物相关信息见表 A.1。

表 A.1 双醋酚丁等 19 种化合物的中文名称、英文名称、CAS 编号、分子式和相对分子质量

序号	中文名称	英文名称	CAS 编号	分子式	相对分子质量
1	阿米洛利	Amiloride	2609-46-3	$C_6 H_8 ClN_7 O$	229.63
2	茶碱	Theophylline	58-55-9	$C_7 H_8 N_4 O_2$	180.16
3	纳曲酮	Naltrexone	16590-41-3	$C_{20} H_{23} NO_4$	341.40
4	氨苯蝶啶	Triamterene	396-01-0	$C_{12} H_{11} N_7$	253.26
5	脱乙酰比沙可啶	Deacetylbisacodyl	603-41-8	$C_{18} H_{15} NO_2$	277.32
6	氯苯丁胺	Chlorophentermine	461-78-9	$C_{10} H_{14} ClN$	183.68
7	苯甲吗酮	Fenmetramide	5588-29-4	$C_{11} H_{13} NO_2$	191.23
8	西酞普兰	Citalopram	59729-33-8	$C_{20} H_{21} FN_2 O$	324.39
9	苯佐卡因	Benzocaine	94-09-7	$C_9 H_{11} NO_2$	165.19
10	托吡酯	Topiramate	97240-79-4	$C_{12} H_{21} NO_8 S$	339.36
11	帕罗西汀	Paroxetine	61869-08-7	$C_{19} H_{20} FNO_3$	329.37
12	舍曲林	Sertraline	79617-96-2	$C_{17} H_{17} Cl_2 N$	306.23
13	奈法唑酮	Nefazodone	83366-66-9	$C_{25} H_{32} ClN_5 O_2$	470.01
14	螺内酯	Spirolactone	52-01-7	$C_{24} H_{32} O_4 S$	416.57
15	双醋酚丁	Diaotylidiphenolisatinum	115-33-3	$C_{24} H_{19} NO_5$	401.41
16	新利司他	Cetilistat	282526-98-1	$C_{25} H_{39} NO_3$	401.58
17	唑尼沙胺	Zonisamide	68291-97-4	$C_8 H_8 N_2 O_3 S$	212.23
18	依他尼酸	Ethacrynic acid	58-54-8	$C_{13} H_{12} Cl_2 O_4$	303.14
19	大黄素	Emodin	518-82-1	$C_{15} H_{10} O_5$	270.24

附录 B
(资料性)
质谱参考条件

以下所列的质谱条件仅供参考,当采用不同质谱仪器时,仪器参数可能存在差异,各实验室可根据所配置仪器的具体情况作出适当调整。为提高检测灵敏度,可根据保留时间分段监测各化合物。

- a) 离子源:ESI。
- b) 检测方式:MRM。
- c) 扫描方式:正离子模式和负离子模式。
- d) IS:5 000 V(ESI⁺);4 500 V(ESI⁻)。
- e) 离子源温度(TEM):500 °C。
- f) GS1 压力:345 kPa(50 psi)。
- g) GS2 压力:345 kPa(50 psi)。
- h) CUR 压力:276 kPa(40 psi)。
- i) 碰撞室出口电压(CXP):10 V。
- j) 离子化模式、母离子、子离子、去簇电压、碰撞能见表 B.1。

表 B.1 双醋酚丁等 19 种化合物定性离子、定量离子和质谱分析参数

序号	化合物名称	扫描方式	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	去簇电压/V	碰撞能/eV	保留时间/min
1	阿米洛利	ESI ⁺	229.9	171.1 ^a	60	25	1.27
				143.2		35	
2	茶碱	ESI ⁺	181.3	124.2 ^a	80	27	1.90
				96.2		32	
3	纳曲酮	ESI ⁺	342.3	324.2 ^a	80	29	2.86
				270.2		39	
4	氨苯蝶啶	ESI ⁺	254.1	237.1 ^a	115	36	3.98
				195.1		42	
5	脱乙酰比沙可啶	ESI ⁺	278.1	184.2 ^a	70	26	4.38
				167.2		50	
6	氯苯丁胺	ESI ⁺	184.3	125.0 ^a	50	26	5.42
				167.2		14	
7	苯甲吗酮	ESI ⁺	192.1	117.1 ^a	80	25	6.09
				134.3		20	
8	西酞普兰	ESI ⁺	325.2	109.1 ^a	80	40	6.34
				262.2		27	
9	苯佐卡因	ESI ⁺	166.1	138.1 ^a	80	17	6.48
				94.2		25	

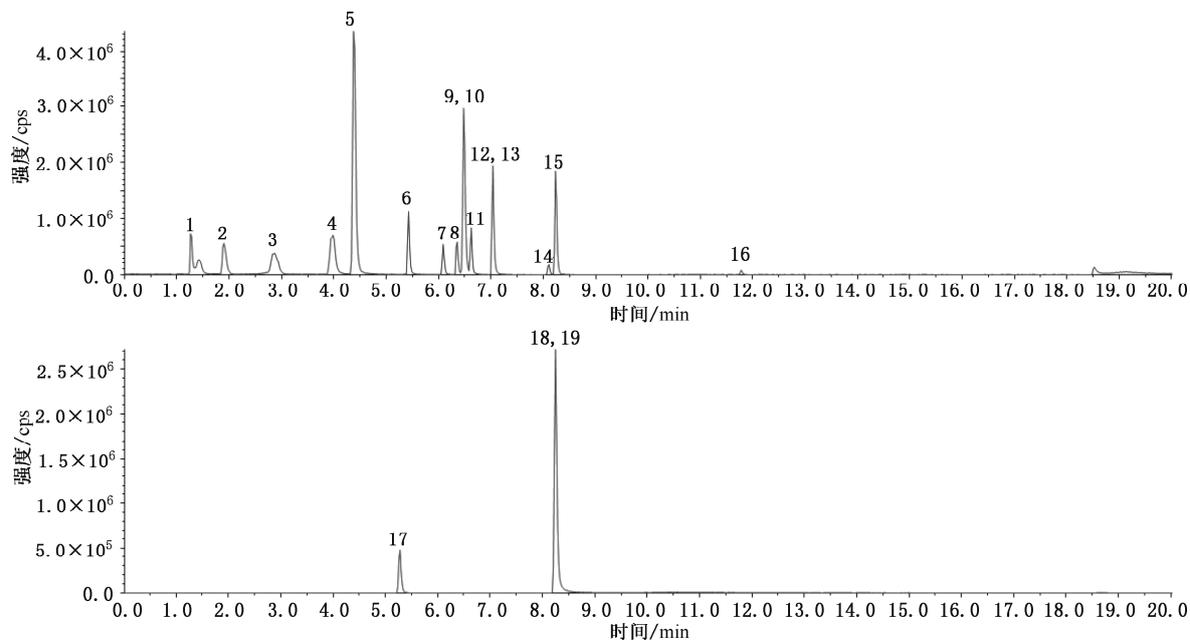
表 B.1 双醋酚丁等 19 种化合物定性离子、定量离子和质谱分析参数 (续)

序号	化合物名称	扫描方式	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压/V	碰撞能/eV	保留时间/min
10	托吡酯	ESI ⁺	340.2	264.1 ^a	30	14	6.51
				281.9		9	
11	帕罗西汀	ESI ⁺	330.1	192.2 ^a	90	28	6.62
				151.1		35	
12	舍曲林	ESI ⁺	306.3	275.2 ^a	50	17	7.03
				159.1		33	
13	奈法唑酮	ESI ⁺	471.3	275.2 ^a	120	41	7.05
				247.2		49	
14	螺内酯	ESI ⁺	341.3	107.1 ^a	60	42	8.09
				186.9		35	
15	双醋酚丁	ESI ⁺	402.1	224.1 ^a	80	27	8.23
				266.2		16	
16	新利司他	ESI ⁺	402.1	160.2 ^a	40	35	11.8
				177.9		16	
17	依他尼酸	ESI ⁻	300.9	242.9 ^a	-70	-15	8.23
				206.9		-35	
18	大黄素	ESI ⁻	268.9	224.8 ^a	-120	-36	8.25
				241.0		-38	
19	唑尼沙胺	ESI ⁻	210.8	119.0 ^a	-60	-22	5.27
				147.1		-14	

^a 定量离子对。

附录 C
(资料性)
标准溶液色谱图

标准溶液的总离子流色谱图见图 C.1,提取离子色谱图见图 C.2。



标引序号说明:

- | | |
|-------------|-----------|
| 1——阿米洛利; | 11——帕罗西汀; |
| 2——茶碱; | 12——舍曲林; |
| 3——纳曲酮; | 13——奈法唑酮; |
| 4——氨苯蝶啶; | 14——螺内酯; |
| 5——脱乙酰比沙可啶; | 15——双醋酚丁; |
| 6——氯苯丁胺; | 16——新利司他; |
| 7——苯甲吗酮; | 17——唑尼沙胺; |
| 8——西酞普兰; | 18——依他尼酸; |
| 9——苯佐卡因; | 19——大黄素。 |
| 10——托吡酯; | |

图 C.1 标准溶液总离子流色谱图(10.0 ng/mL)

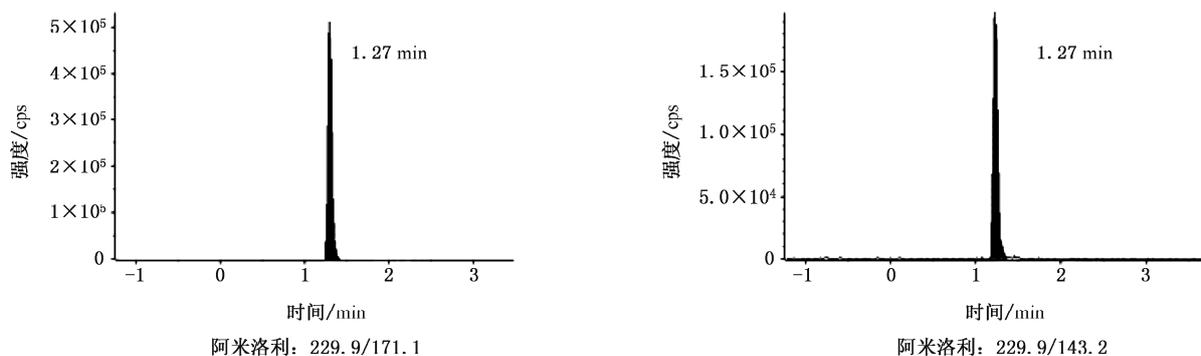


图 C.2 各化合物提取离子色谱图(10.0 ng/mL)

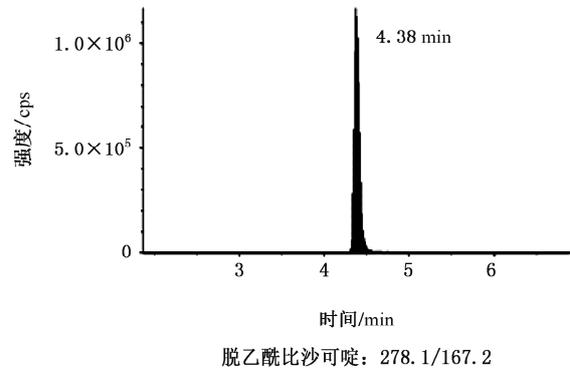
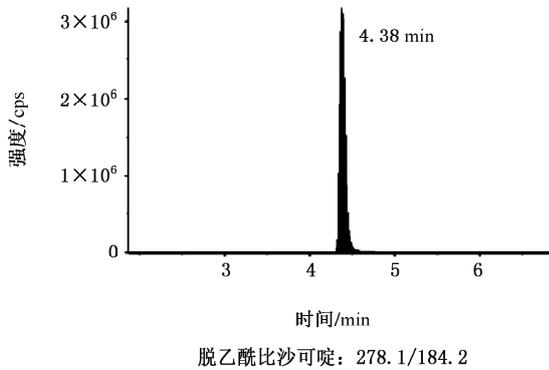
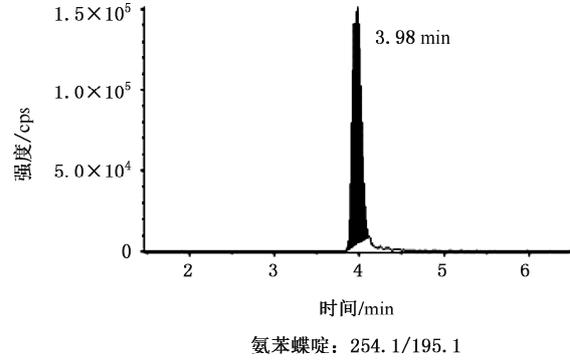
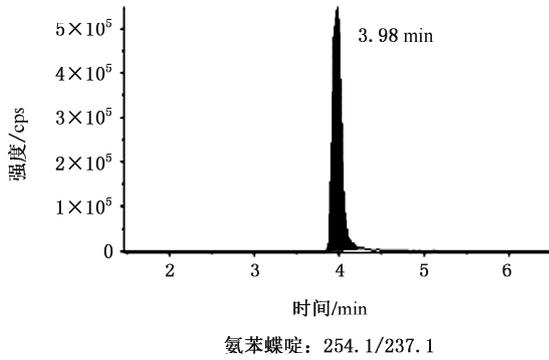
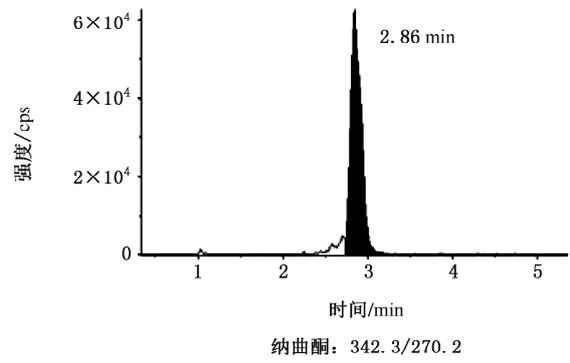
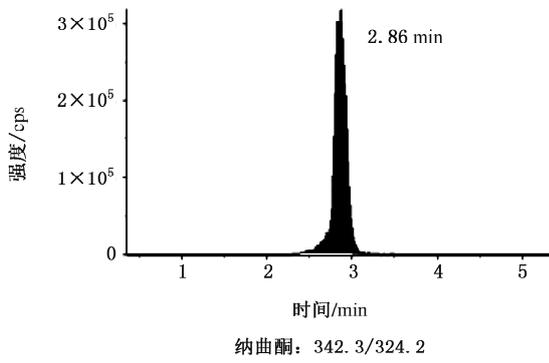
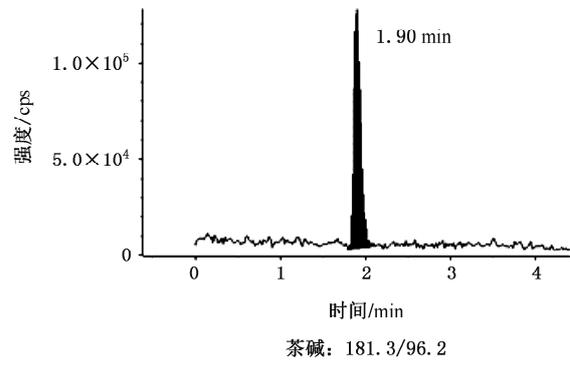
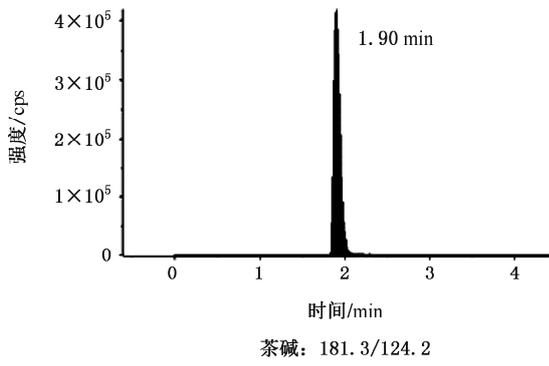
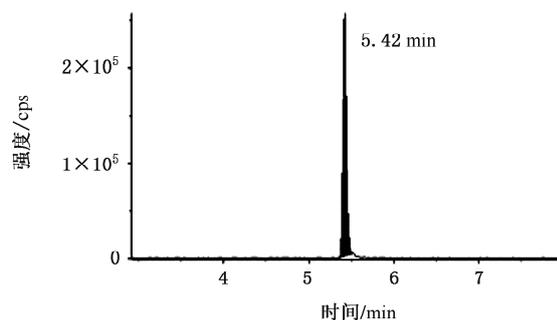
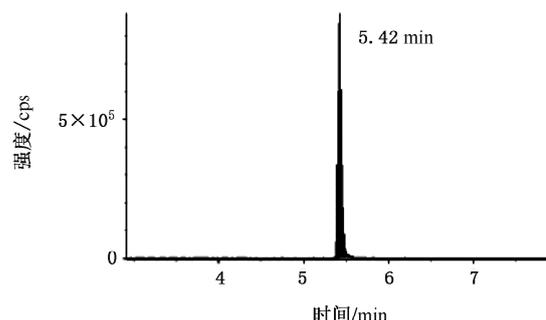


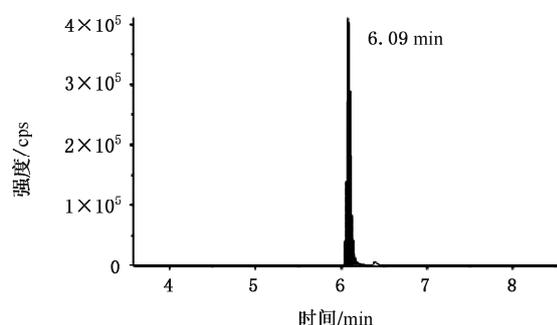
图 C.2 各化合物提取离子色谱图(10.0 ng/mL) (续)



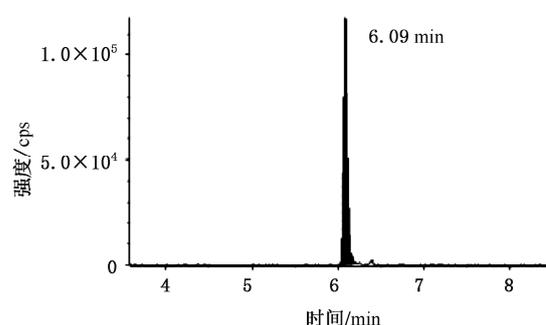
氯苯丁胺: 184.3/167.2



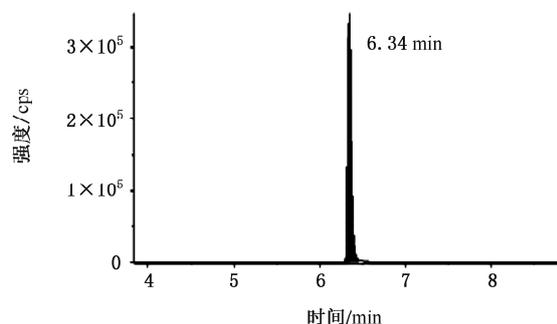
氯苯丁胺: 184.3/125.0



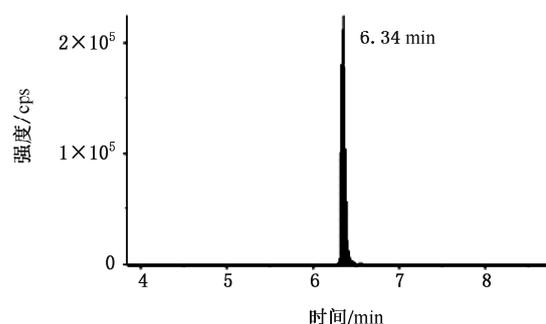
苯甲吗酮: 192.1/117.1



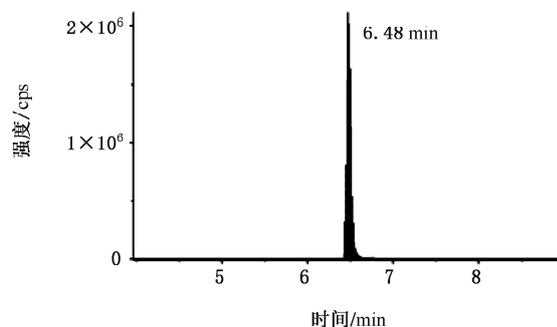
苯甲吗酮: 192.1/134.3



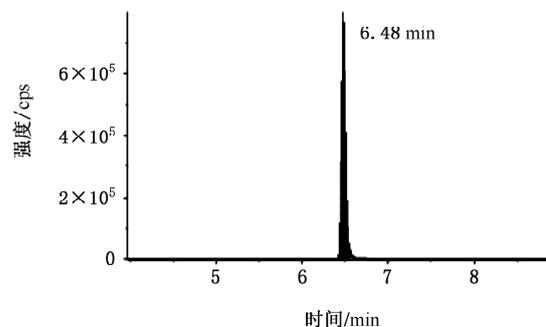
西酞普兰: 325.2/109.1



西酞普兰: 325.2/262.2

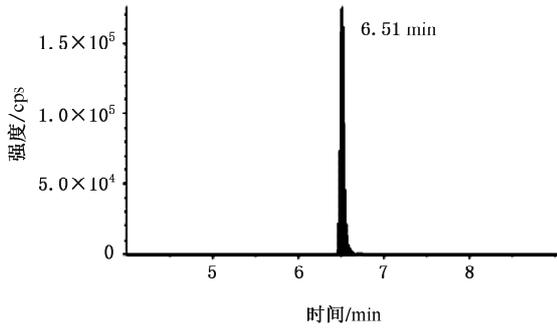


苯佐卡因: 166.1/138.1

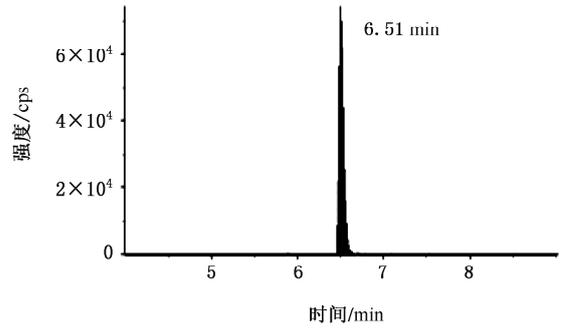


苯佐卡因: 166.1/94.2

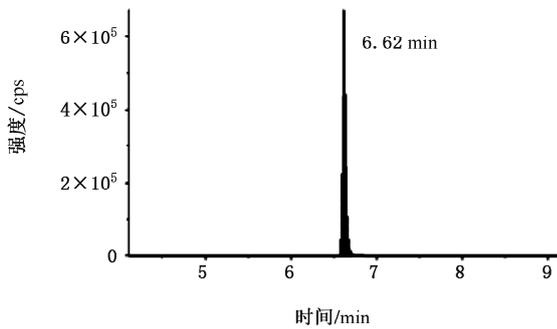
图 C.2 各化合物提取离子色谱图(10.0 ng/mL) (续)



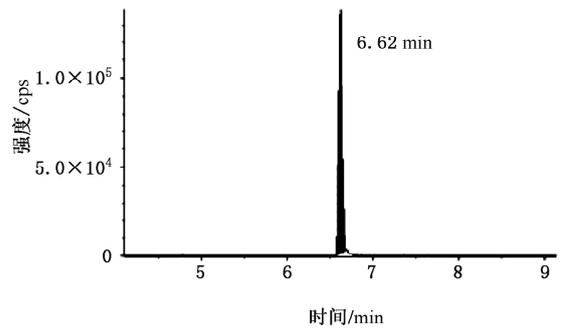
托吡酯: 340.2/264.1



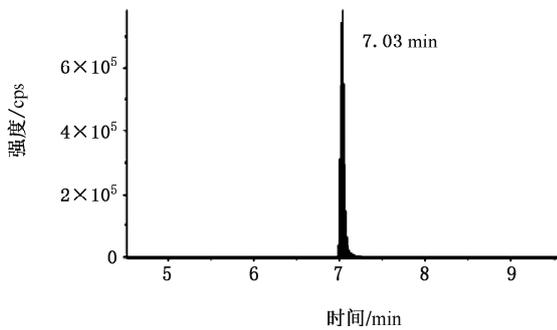
托吡酯: 340.2/281.9



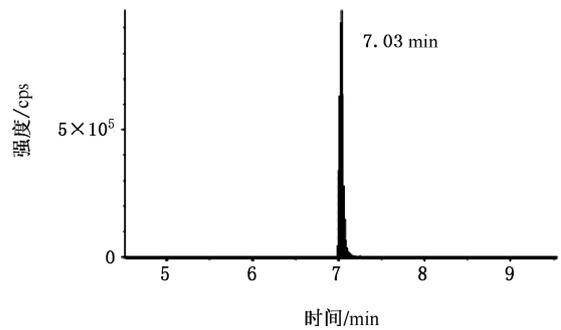
帕罗西汀: 330.1/192.2



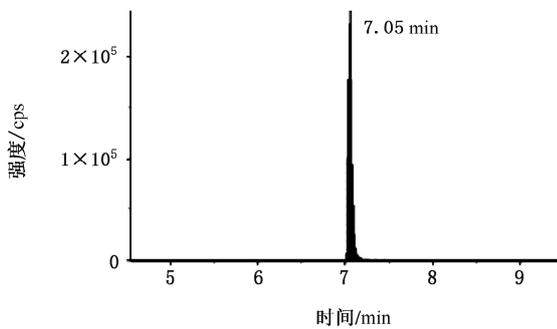
帕罗西汀: 330.1/151.1



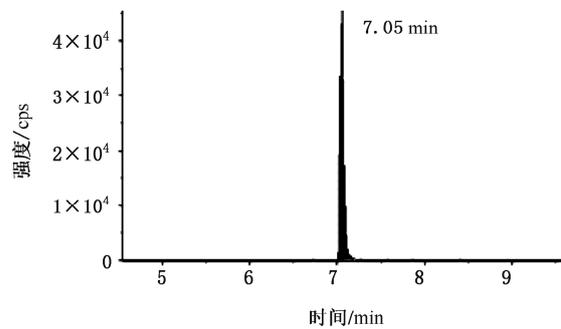
舍曲林: 306.3/275.2



舍曲林: 306.3/159.1



奈法唑酮: 471.3/275.2



奈法唑酮: 471.3/247.2

图 C.2 各化合物提取离子色谱图(10.0 ng/mL) (续)

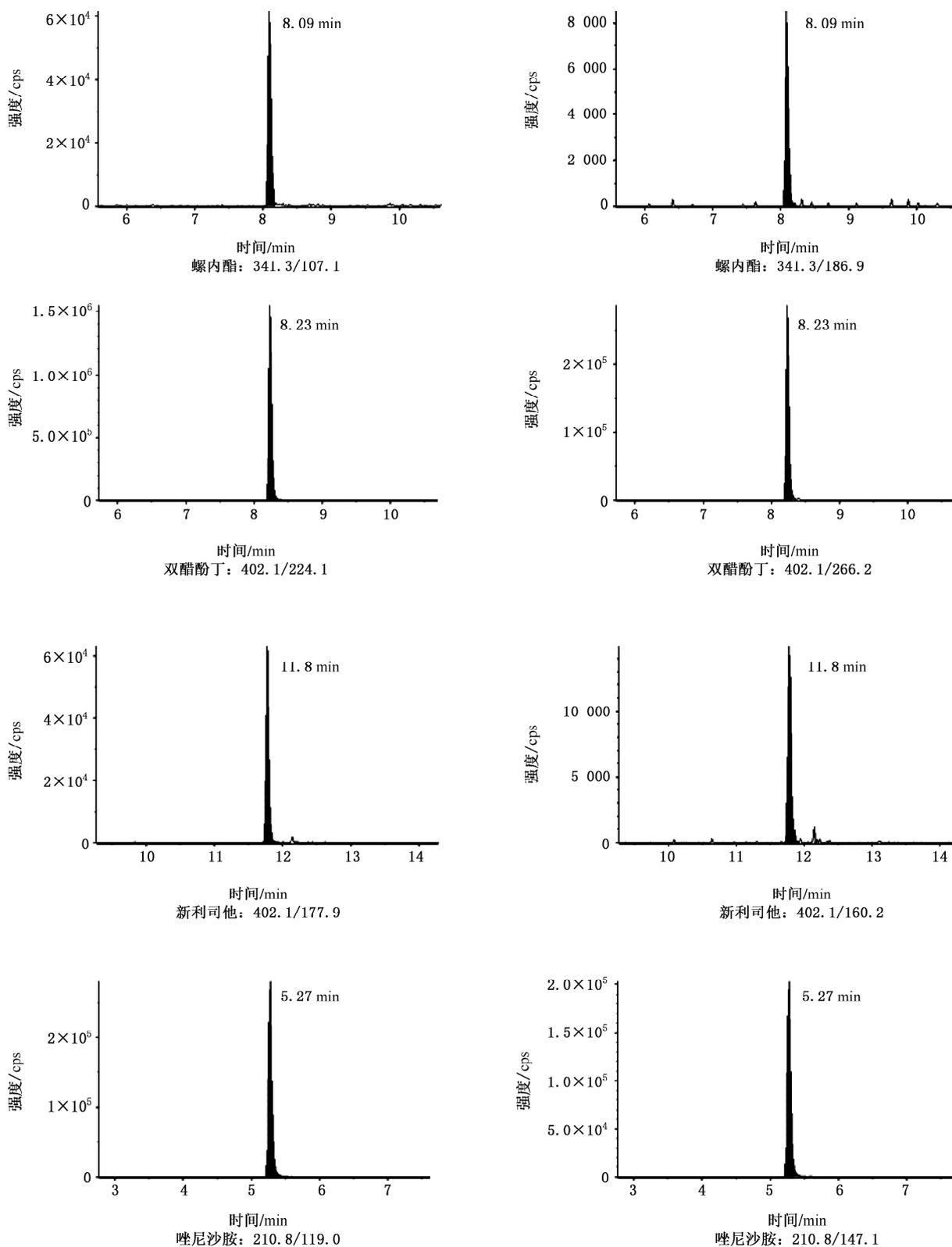


图 C.2 各化合物提取离子色谱图(10.0 ng/mL) (续)

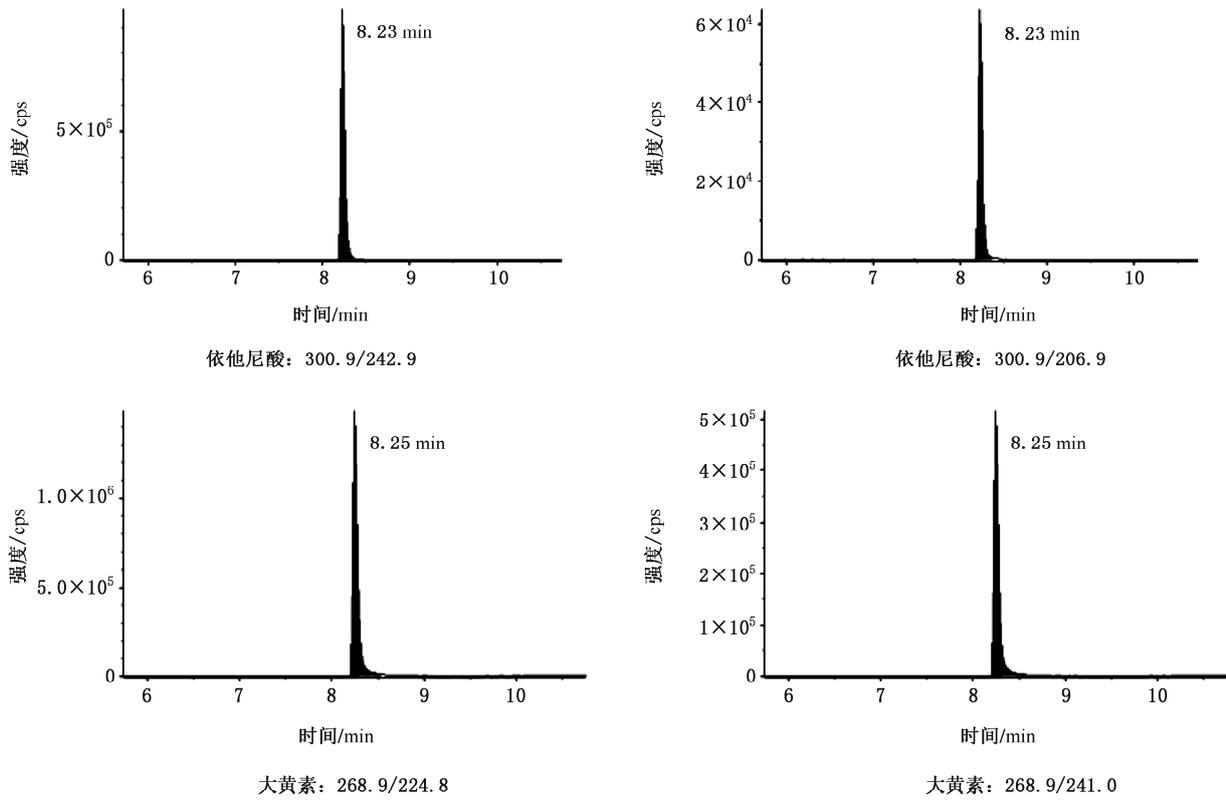


图 C.2 各化合物提取离子色谱图(10.0 ng/mL) (续)

本方法负责起草单位:广州质量监督检测研究院、广东省药品检验所。

本方法验证单位:北京市食品安全监控和风险评估中心(北京市食品检验所)、河北省食品检验研究院、深圳市计量质量检测研究院、南京市产品质量监督检验院、广州海关技术中心。

本方法主要起草人:黄金凤、寻知庆、温家欣、陈杰锋、汪晨霞、何嘉雯、贾亚丽、赖宇红、谢刘静、黄志宁。