ICS 67.220
CCS X 04

T/BPMA

北 京 预 防 医 学 会 团 体 标 准

T/BPMA XXXX—XXXX

火锅底料中去甲乌药碱和曲托喹酚的测定液相色谱-串联质谱法

Determination of higenamine and tretoquinol in condiments by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

(征求意见稿)

XXXX 年 XX 月 XX 日发布　　XXXX 年 XX 月 XX 日实施

北京预防医学会 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》给出的规则起草。

本文件由北京预防医学会提出并归口。

本文件负责起草单位：北京市科学技术研究院分析测试研究所（北京市理化分析测试中心），北京市疾病预防控制中心，北京市延庆区疾病预防控制中心。

本文件主要起草人：王建凤，冯月超，刘艳，郭巧珍，姚凯，张晶、林强

火锅底料中去甲乌药碱和曲托喹酚的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了火锅底料中去甲乌药碱和曲托喹酚液相色谱-串联质谱的检测方法。

本文件适用于火锅底料中去甲乌药碱和曲托喹酚的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过本文的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中凡是注日期的引用文件，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 方法原理

火锅底料中的去甲乌药碱和曲托喹酚，用含5%甲酸的乙醇溶液提取，经C_{18}、GCB以及EMR组合填料净化后，采用液相色谱串联质谱法测定，内标法定量。

5 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为优级纯，水为GB/T 6682 规定的一级水

5.1 试剂

5.1.1 甲醇（CH_3OH）：色谱纯。

5.1.2 乙醇（C_2H_5OH）：色谱纯。

5.1.3 甲酸（CH_3COOH）：色谱纯。

5.1.4 甲酸铵（NH_4HCO_3）：色谱纯。

5.2 溶液配制

5.2.1 含 5%甲酸的乙醇溶液：取甲酸 12.5 mL，用乙醇定容至 250 mL 容量瓶中，混匀。

5.2.2 10 mmol/L 甲酸铵水溶液（含 0.1%甲酸）：称取 0.315g 甲酸铵溶解于 500 mL 水中，加入 0.5 mL 甲酸，0.22 μm 聚醚砜微孔滤膜过滤。

5.3 标准品

标准物质：去甲乌药碱（CAS：5843-65-2）； 曲托喹酚盐酸盐（CAS：18559-59-6；去甲乌药碱-D_4（CAS： 2249814-83-1）、曲托喹酚盐酸盐-D_9（CAS：18559-63-2），纯度均≥99.0%。

5.4 标准溶液的制备

5.4.1 标准储备液：分别准确称取按其纯度折算为100%的去甲乌药碱、曲托喹酚盐酸盐、去甲乌药碱-D_4、曲托喹酚盐酸盐-D_9标准物质 10 mg，用甲醇溶解并定容于 10 mL 容量瓶，得到 1000 mg/L 标准储备液，-20℃避光保存。

5.4.2 混合标准储备液：分别准确移取两种标准储备液各 100 μL 于 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度，配制成 10 μg/mL 的混合标准储备溶液。

5.4.3 混合标准储备液：准确移取混合标准储备溶液（10 μg/mL）100 μL 于 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度，配制成 100 ng/mL 的混合标准储备溶液。

5.4.4 混合内标标准溶液：准确移取去甲乌药碱-D_4和曲托喹酚盐酸盐-D_9标准溶液各 100 μL 于 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度，得到 10 mg/L 混合内标标准储备溶液。

5.4.5 混合内标工作溶液：准确移取 10 mg/L 混合内标标准储备溶液 1.0mL 于 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度，得到 1 mg/L 混合内标工作溶液。

5.4.6 取适量混合标准溶液和混合内标工作溶液，用甲醇+10 mmol/L 甲酸铵水溶液（含 0.1%甲酸）（1+1）稀释配制成浓度为 0.1 ng/mL、0.5 ng/mL、1 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL 的系列标准工作溶液，其中内标浓度为 5 ng/mL。

5.5 材料

5.5.1 石墨化碳黑（120 μm ~ 400 μm）。

5.5.2 十八烷基键合硅（40 μm ~ 60 μm）。

5.5.3 EMR 净化材料。

6 仪器和设备

6.1 超高效液相色谱仪串联三重四极杆质谱仪；

6.2 离心机；

6.3 恒温水浴氮吹仪；

6.4 多管涡旋混匀仪；

6.5 涡旋混合器；

6.6 超声波清洗器；

7 试样制备和保存

7.1 试样制备

取适量代表性样品，用搅碎机充分搅碎混匀（块状样品需先在 60℃水浴中融化后再用搅碎机充分搅碎混匀；组合包装样品需将干制蔬菜包、干制菌菇包等全部料包倒入搅碎机内搅碎混匀），分成适量等份，并标明标记。

8 测定步骤

8.1 样品的处理

8.1.1 提取

称取试样 2 g（精确到 0.01g）于 50 mL 的具塞螺旋盖聚丙烯离心管中，准确加入 100 μL1 mg/L 混合内标工作溶液，加入 20 mL 含 5%甲酸的乙醇溶液，涡旋混匀，振荡提取 3 0min，8000 r/min 离心 5 min。

8.1.2 净化

移取 2.0 mL 上清液于含有 10 mL 的净化管中，加入 65 mg GCB、65 mg C_{18} 和 65 mg EMR，涡旋混合，8000 r/min 离心 5 min，移取 1.0 mL 上清液，氮气吹至近干，用 1.0 mL 甲醇+10mmol/L 甲酸铵水溶液（含 0.1%甲酸）（1+1）定容，涡旋 30 s，0.22 μm 尼龙微孔滤膜过滤，供高效液相色谱串联质谱测定。

8.2 空白试验

除不称取试样外，均按 8.1 的步骤进行。

8.3 仪器分析条件

8.3.1 液相色谱条件

a) 色谱柱：ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱，1.8 μm，100mm × 2.1 mm

b) 柱温：30℃；

c) 进样量：5 μL；

d) 流速：0.3 mL/min，梯度洗脱程序见表 1。

表 1 HPLC 梯度洗脱条件

时间（min）	甲醇（%）	10mmol/L 甲酸铵水溶液（含 0.1%甲酸）（%）
0.0	3	97
1.5	3	97
5.5	95	5

5.6	3	97
7.5	3	97

8.3.2 质谱条件

a) 离子源：电喷雾离子源，正离子扫描（*ESI*+）；

b) 检测方式：多重反应监测（MRM）；

c) 毛细管电压：3.0 kV；

d) 离子源温度：150 ℃；

e) 脱溶剂温度：500 ℃；

f) 脱溶剂气流量：800 L/hr；

g) 锥孔气流量：50 L/hr；

h) 碰撞气体：氩气；

i) 甲乌药碱和曲托喹酚的MRM参数见表 2。

表2 甲乌药碱和曲托喹酚的MRM参数

序号	被测物	定量离子对（*m*/*z*）	CV/CE	定性离子对（*m*/*z*）	CV/CE
1	去甲乌药碱	272.4>107.2	40/20	272.4>161.2	40/18
2	去甲乌药碱-D_4	276.5>108.3	40/20	276.5>164.3	40/18
3	曲托喹酚	346.5>164.2	6/14	346.5>149.1	6/5
4	曲托喹酚-D_9	355.6>164.1	12/16	355.6>137.1	12/46

8.4 **定性判定**

用液相色谱-串联质谱联用法对试样进行定性判定，在相同试验条件下，样液谱图中应呈现定量离子对和定性离子对的色谱峰，被测物质的质量色谱峰保留时间与标准溶液中对应物质的色谱峰保留时间偏差在±5%之内；试样色谱图中所选择的监测离子对的相对丰度与相当浓度标准溶液的离子相对丰度比的偏差不超过表3规定范围，则可以判断试样中存在对应的目标物质。

表 3 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（含）	10~20（含）	≤10
允许的相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

8.5 **定量测定**

在仪器最佳工作条件下，将系列标准工作溶液由低浓度至高浓度依次注入液质联用仪后，以标准工作液浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线，用标准工作曲线对试样进行内标

法定量，试样溶液中待测物的响应值均应在仪器测定的线性范围内。2 种被测物质的多反应监测（MRM）色谱图参见附录 A。

9 结果计算和表述

结果按式（1）计算：

$$X = \frac{c \times V \times 1000}{m \times 1000} \quad \text{.....（1）}$$

式中:

X—— 试样中被测组分含量，单位为：微克/千克（μg/kg）；

m—— 试样的称样量，单位为：克（g）；

c—— 从标准工作曲线得到的被测组分溶液浓度，单位为：纳克/毫升（ng/mL）；

V—— 提取液的体积，单位为：毫升（mL）。

注：计算结果需扣除空白值，测定结果用平行测定的算术平均值表示，保留一位小数。

10 方法准确度、精密度和灵敏度

10.1 准确度

本方法被测物在 1 μg/kg~100 μg/kg 添加浓度水平上的回收率范围是 60%~120%。

10.2 精密度

本方法的批内相对标准偏差≤20%，批间相对标准偏差≤20%。

10.3 灵敏度

去甲乌药碱检和曲托喹酚的定量限均为1.0 μg/kg。

附录 A

（资料性）

去甲乌药碱和曲托喹酚以及内标的 MRM 选择离子流图

去甲乌药碱和曲托喹酚以及内标的 MRM 选择离子流图见 A.1。

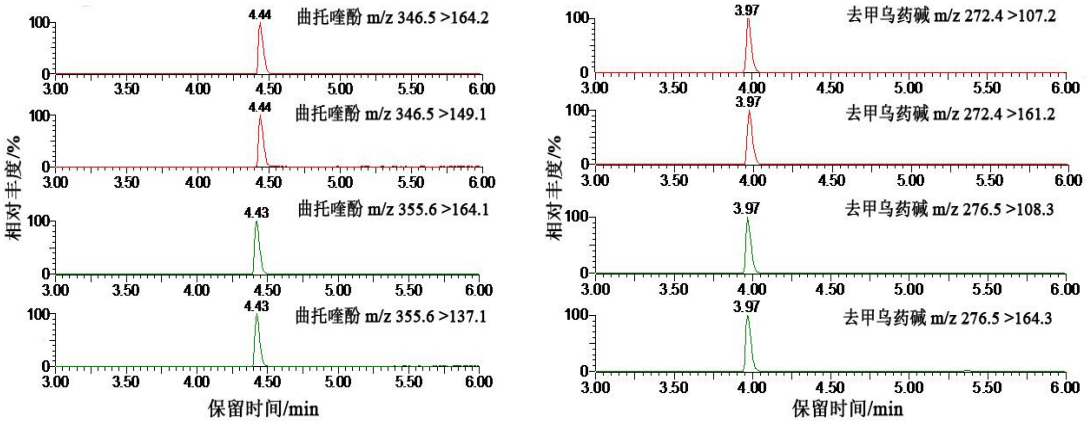

图 A.1 去甲乌药碱和曲托喹酚以及内标的 MRM 选择离子流图（10 ng/mL）