

团 体 标 准

T/SATA 033—2022

食品中双醋酚丁的测定 高效液相色谱-串联质谱法

Determination of oxyphenisatin acetate in foods—HPLC-MS/MS
method

2022 - 03 - 24 发布

2022 - 04 - 24 实施

深圳市分析测试协会 发布

目 次

前 言.....	II
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 仪器和设备.....	2
7 分析步骤.....	2
8 结果计算.....	4
9 检测方法的灵敏度、精密度和专属性.....	4
附录 A（规范性附录）双醋酚丁的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量.....	5
附录 B（资料性附录）质谱参考条件.....	6
附录 C（资料性附录）标准品色谱图.....	7

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。

本文件由深圳市分析测试协会归口。

本文件起草单位：深圳市计量质量检测研究院、深圳市计量质量检测研究院（集团）有限责任公司。

本文件主要起草人：李芸、罗敏、林爽、程晓帆、邹幼成、柏文良、冯荣虎、罗尔伦、区振豪、翁晓君、彭晓羽、张贵虹。

本文件为首次发布。

食品中双醋酚丁的测定 高效液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了食品中双醋酚丁的高效液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于饮料、蜜饯、硬胶囊、软胶囊、压片糖果、茶叶等食品（含保健食品）中双醋酚丁的定性定量测定。

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

试样经甲醇提取，过滤后，滤液供高效液相色谱-串联质谱测定，保留时间和相对离子丰度定性，外标法定量。

5 试剂与材料

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

5.1 乙腈：色谱纯。

5.2 甲酸：色谱纯。

5.3 甲醇：色谱纯。

5.4 0.1%甲酸水溶液

取甲酸1mL用水稀释至1000 mL，用滤膜过滤后备用。

5.5 标准品

双醋酚丁的中文名称、英文名称、CAS号、分子式、相对分子质量详见附录A，纯度≥97%。

5.6 标准储备液（100 μg/mL）

精密称量适量双醋酚丁标准品（5.5）至容量瓶中，用甲醇溶解并制成浓度为100 μg/mL的双醋酚丁标准储备液，于4℃冷藏保存，有效期3个月。

5.7 标准中间液（100 ng/mL）

准确移取0.100 mL双醋酚丁标准储备液（5.6）至100 mL棕色容量瓶中，用甲醇稀释配制成浓度为100 ng/mL的标准中间液，临用时配制。

5.8 空白基质提取液

称取空白试样适量，与样品同法处理（7.2），作为空白基质提取液。

5.9 标准工作溶液

准确移取适量的标准中间液（5.7），采用空白基质提取液（5.8）配制成浓度为0.500、1.00、2.00、5.00、10.0 ng/mL的系列标准工作溶液S1~S5，或依仪器响应和实际情况配制适当浓度的系列标准工作溶液，临用时配制。

6 仪器和设备

- 6.1 高效液相色谱-串联质谱仪，配有电喷雾（ESI）离子源。
- 6.2 电子天平：感量为0.0001 g。
- 6.3 微孔滤膜：0.22 μm，有机相型。
- 6.4 离心机。
- 6.5 超声萃取仪。
- 6.6 涡旋振荡器。
- 6.7 高速粉碎机。
- 6.8 摇床。

7 分析步骤

7.1 试样制备

7.1.1 蜜饯、硬胶囊、软胶囊、压片糖果、茶叶

取适量样品，采用捣碎、剪碎或研碎等方式混匀，装入洁净容器中，密封并标记。

7.1.2 液体饮料

充分混匀，直接取用。

7.2 试样处理

7.2.1 蜜饯试样

准确称取试样 1 g（精确至 0.0001 g）于 50mL 离心管中，准确加入甲醇 25.0 mL，振荡提取 30 min 后再超声提取 15 min，9500 r/min 离心 3 min，用微孔滤膜过滤，取续滤液，待测。

7.2.2 硬胶囊、软胶囊、压片糖果、茶叶试样

准确称取试样 0.5 g（精确至 0.0001 g）于 50 mL 离心管中，准确加入甲醇 50.0 mL，振荡提取 30 min，9500 r/min 离心 3 min，用微孔滤膜过滤，取续滤液，待测。

7.2.3 饮料试样

准确称取试样 1 g（精确至 0.0001 g）于 50mL 离心管中，准确加入甲醇 20.0 mL，振荡提取 30 min，9500 r/min 离心 3 min，将上清液完全转移至 25.0 mL 容量瓶中，加甲醇定容至刻度，用微孔滤膜过滤，取续滤液，待测。

7.3 仪器参考条件

7.3.1 色谱条件

- a) 色谱柱：C₁₈ 色谱柱（1.8 μm，2.1×100 mm），或性能相当者。
- b) 流动相：A 为 0.1%甲酸水溶液，B 为乙腈，梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间 (min)	A (%)	B (%)
0	85	15
0.50	85	15

1.50	5	95
2.50	5	95
3.50	85	15
4.00	85	15

- c) 流速：0.3 mL/min。
- d) 柱温：40 °C。
- e) 进样量：4 μ L。

7.3.2 质谱条件

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI 源）。
- b) 检测方式：多反应监测（MRM）。
- c) 扫描方式：正离子模式
- d) 气帘气（CUR）、雾化气（GS1）、辅助气（GS2）、碰撞气（CAD）均为高纯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）、碰撞能量（CE）等参数使用前应优化至最佳灵敏度，监测离子对和定量离子对等信息详见附录 B。

7.4 定性测定

按照高效液相色谱-串联质谱条件测定试样和标准工作溶液，记录试样和标准溶液中各化合物的色谱保留时间，以相对于最强离子丰度的百分比作为定性离子对的相对丰度，记录浓度相当的试样与标准工作溶液中相应成分的相对离子丰度。当试样中检出与标准品质量色谱峰保留时间一致的色谱峰（变化范围在 $\pm 2.5\%$ 之内），并且相对离子丰度允许偏差不超过表 2 规定的范围，可以确定试样中检出相应化合物。

表 2 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	>10-20	≤ 10
允许的相对偏差/%	± 20	± 25	± 30	± 50

7.5 定量测定

7.5.1 标准曲线的制作

将标准工作溶液（5.9）分别按仪器参考条件（7.3）进行测定，得到相应的标准溶液的色谱峰面积。以标准工作溶液的浓度为横坐标，以色谱峰的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，在浓度范围0.500~10.0 ng/mL内，相关系数不低于0.99。

标准品色谱图见附录C。

7.5.2 试样溶液的测定

将试样溶液（7.2）按仪器参考条件（7.3）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液中组分的浓度。

7.6 空白试验

除不加试样外，均按试样同法操作。

8 结果计算

将液相色谱-质谱测得浓度代入下式计算含量：

$$X = \frac{c \times V}{m} \times K \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X — 试样中双醋酚丁的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

c — 从标准曲线中读出的供试品溶液中双醋酚丁的浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；

V — 样液最终定容体积，单位为毫升（ mL ）；

m — 试样溶液所代表的质量，单位为克（ g ）；

K — 稀释倍数；

计算结果需扣除空白值。计算结果保留三位有效数字。

9 检测方法的灵敏度、精密度和专属性

9.1 灵敏度

当称样量为 1 g，定容体积为 25.0 mL 时，饮料和蜜饯的检出限为 5.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；当称样量为 0.5 g，定容体积为 50.0 mL 时，硬胶囊、软胶囊、压片糖果、茶叶的检出限为 20.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

9.2 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得超过算术平均值的 10%。

9.3 选择性

取空白溶液（7.6）进样测定，应无干扰。

附 录 A

(规范性附录)

双醋酚丁的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量

中文名称	英文名称	CAS号	分子式	相对分子质量
双醋酚丁	Oxyphenisatin acetate	115-33-3	C ₂₄ H ₁₉ NO ₅	401.41

附录 B

(资料性附录)

质谱参考条件

- a) 离子源：电喷雾离子源(ESI)；
 b) 检测方式：多反应监测 (MRM)；
 c) 扫描方式：正离子模式；
 d) 电喷雾电压 (IS)：5500 V；
 e) 离子源温度 (TEM)：500 °C ；
 f) 雾化气(GS1)：60 psi；
 g) 辅助气 (GS2)：60 psi；
 h) 气帘气 (CUR)：30 psi；
 i) 其他质谱参数见表B.1。

表B.1 双醋酚丁的定性离子、定量离子和质谱分析参数参考值

化合物名称	电离方式	母离子(m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压/V	碰撞能量 (eV)	保留时间 (min)
双醋酚丁	ESI ⁺	402.4	224.2*	130	31.9	2.36
			196.1	130	62.0	
			266.1	130	15.9	

注：* 定量离子对

附录 C
(资料性附录)
标准品色谱图

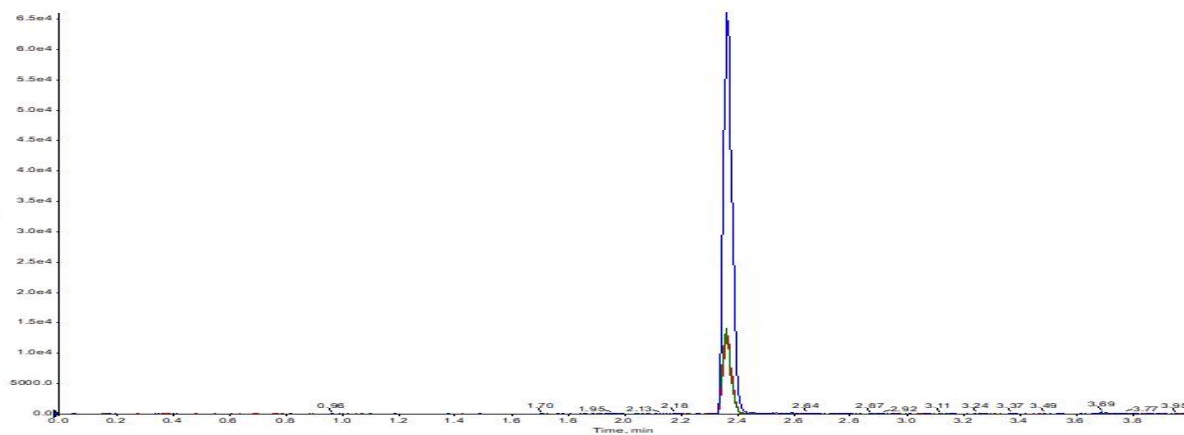


图4-3 双醋酚丁的色谱图 (0.500 ng/mL)