

团 体 标 准

T/SATA 042—2023

鲜湿米粉中米酵菌酸的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of bongkrekic acid in fresh wet rice noodles
by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

2023 - 03 - 21 发布

2023 - 04 - 21 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 试剂和材料	1
5.1 试剂	1
5.2 溶液配制	1
5.3 标准品	1
5.4 标准溶液配制	1
5.5 材料	2
6 仪器	2
7 试样的制备与保存	2
7.1 试样的制备	2
7.2 试样保存	2
8 测定方法	2
8.1 提取	2
8.2 测定	2
9 结果与计算	3
10 定量限、准确度和精密度	3
10.1 定量限	3
10.2 准确度	3
10.3 精密度	3
附 录 A （资料性） 米酵菌酸定性定量离子对及去簇电压、碰撞能量	4
附 录 B （资料性） 液相色谱梯度洗脱程序	5
附 录 C （资料性） 米酵菌酸标准溶液特征离子质量色谱图	6

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。

本文件由深圳市分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：深圳凯吉星农产品检测认证有限公司，深圳市质量安全检验检测研究院、深圳市分析测试协会。

本文件主要起草人：苑婷婷、梁景文、姜学涯、朱国柱、李丹、陆文婵、刘成文、杨杰、陈思羽、汪璇、王一晨。

鲜湿米粉中米酵菌酸的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了鲜湿米粉中米酵菌酸的液相色谱-串联质谱法。
本文件适用于鲜湿米粉中米酵菌酸的测定。

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
DBS45/ 050-2021 食品安全地方标准 鲜湿米粉

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样用乙腈提取，液相色谱-质谱联用仪检测，外标法定量。

5 试剂和材料

5.1 试剂

- 5.1.1 乙腈（ C_2H_3CN ，CAS号:75-05-8）：色谱纯。
- 5.1.2 甲醇（ CH_3OH ，CAS号:67-56-1）：色谱纯。
- 5.1.3 甲酸（ $HCOOH$ ，CAS号:64-18-6）：色谱纯。

5.2 溶液配制

0.1%甲酸水溶液：量取 1 mL甲酸，使用一级水定容至 1 L，混匀。

5.3 标准品

米酵菌酸（Bongkrekic acid，分子式 $C_{28}H_{42}O_3$ ，CAS号：11076-19-0），纯度 $\geq 95\%$ 。

5.4 标准溶液配制

- 5.4.1 标准储备溶液（100 mg/L）：准确称取米酵菌酸 10 mg（精确至 0.1 mg），用甲醇溶解并稀释至 100 mL，摇匀，制成质量浓度为 100 mg/L 标准储备溶液。-18℃避光保存，有效期 6 个月。
- 5.4.2 标准中间溶液（10 mg/L）：准确吸取米酵菌酸标准储备溶液（5.4.1）1 mL，用甲醇稀释至 10 mL，摇匀，制成 10 mg/L 的标准中间溶液；0℃~4℃避光保存，有效期 1 个月。
- 5.4.3 标准中间溶液（1 mg/L）：准确吸取米酵菌酸标准中间溶液（5.4.2）1 mL，用甲醇稀释至 10 mL，摇匀，制成 1 mg/L 的标准中间溶液；0℃~4℃避光保存，有效期 1 个月。
- 5.4.4 标准工作溶液：根据药物的灵敏度和仪器线性范围，移取标准中间溶液（5.4.3），用甲醇稀释

配成不同浓度（0.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL、50.0 ng/mL、100 ng/mL）的标准工作溶液，临用现配。

5.5 材料

5.5.1 离心管：50 mL。

5.5.2 吸管：5 mL。

5.5.3 微孔滤膜（有机相）：0.22 μm。

6 仪器

6.1 液相色谱三重四极杆质谱联用仪。

6.2 分析天平：感量 0.1 mg 和 0.01 g。

6.3 离心机：转速不低于 10000 r/min。

6.4 涡旋振荡器。

6.5 超声仪。

6.6 振荡器。

6.7 组织捣碎机。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

实验室样品经剪碎，用组织捣碎机绞碎制成匀浆，装入洁净容器，密封标识保存，其中分出 0.5 kg 作为试样。

7.2 试样保存

试样置于 < -18 °C 冰箱条件下避光保存。

8 测定方法

8.1 提取

称取 5 g（精确至 0.01 g）试样于 50 mL 塑料离心管中，加入 15 mL 乙腈提取，涡旋振荡 2 min，超声提取 20 min，以 10000 r/min 4 °C 离心 10 min，取上清液 1 mL 过 0.22 μm 有机滤膜后进行上机分析。

8.2 测定

8.2.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱：C₁₈ 色谱柱（2.1 mm×50 mm，1.7 μm），或相当者；
- 流动相：A 相：乙腈；B 相：0.1 % 甲酸水溶液；
- 梯度洗脱程序：参见附录 B；
- 流速：0.30 mL/min；
- 柱温：40 °C；
- 进样量：10.0 μL。

8.2.2 质谱参考条件

- 离子源：电喷雾离子源；
- 扫描方式：负离子模式；
- 检测方式：多反应监测；

- d) 电离电压: 5.50 kV;
- e) 雾化温度: 550 °C;
- f) 喷雾气: 50 psi;
- g) 辅助加热气: 50 psi。

8.2.3 标准工作曲线的制作

精确吸取 10 μL 的米酵菌酸系列标准工作溶液 (5.4.4), 由低浓度到高浓度依次注入液相色谱-质谱联用仪中进行测定。以米酵菌酸定量用子离子的质量色谱图峰面积为纵坐标, 相对应的标准工作溶液浓度为横坐标, 绘制标准工作曲线。

8.2.4 定性测定

在相同实验条件下进行样品测定时, 被测试样中目标药物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较, 相对误差应在 ±2.5% 之内, 并且在扣除背景后的样品质谱图中, 所选择的离子均出现, 而且所选择的离子丰度比与标准样品的离子丰度比相一致 (相对丰度 > 50% , 允许 ±20% 偏差; 相对丰度 20% ~ 50% , 允许 ±25% 偏差; 相对丰度 10% ~ 20% , 允许 ±30% 偏差; 相对丰度 ≤ 10% , 允许 ±50% 偏差), 则可判断样品中存在米酵菌酸。

8.2.5 定量测定

本标准采用外标-标准曲线法定量测定, 定量用标准溶液采用同种基质配置, 且所测样品中米酵菌酸的相应值应在仪器的线性范围内。色谱图参见附录C。

9 结果与计算

$$W = \frac{C \times F \times V}{m} \dots \dots \dots (1)$$

式中:

- W*——待测组分含量 (μ g/kg)
- C*——由标准曲线求得样液中被测组分浓度 (ng/mL)
- F*——样品稀释倍数
- V*——定容体积 (mL)
- m*——样品称样量 (g)

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, 计算结果保留两位有效数字。

10 定量限、准确度和精密度

10.1 定量限

米酵菌酸在米粉中的定量限为: 15.0 μ g/kg。

10.2 准确度

本方法: 米酵菌酸在 15.0 μ g/kg ~ 300 μ g/kg 添加浓度的范围内, 用空白添加标准溶液校正, 其回收率范围为 70% ~ 110% 。

10.3 精密度

本方法相对标准偏差 ≤ 15% 。

附录 A

(资料性)

米酵菌酸定性定量离子对及去簇电压、碰撞能量

米酵菌酸定性定量离子对及去簇电压、碰撞能量见表A.1。

表 A.1 米酵菌酸定性定量离子对及去簇电压、碰撞能量

序号	名称	分子量	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	ID	DP (volts)	CE (volts)
1	米酵菌酸	486.597	485.300	441.300	Bongkreki acid 1*	-66.000	-24.000
			485.300	397.200	Bongkreki acid 2	-66.000	-27.000

注：带*为定量离子对。

附 录 B
(资料性)
液相色谱梯度洗脱程序

米酵菌酸检测液相色谱梯度洗脱程序参见表B.1。

表 B.1 液相色谱梯度洗脱程序

时间/min	流动相A/%	流动相B/%
0.50	5	95
1.00	90	10
3.00	90	10
4.00	5	95
5.00	5	95

附录 C
(资料性)

米酵菌酸标准溶液特征离子质量色谱图

米酵菌酸标准溶液特征离子质量色谱图参见图C.1。

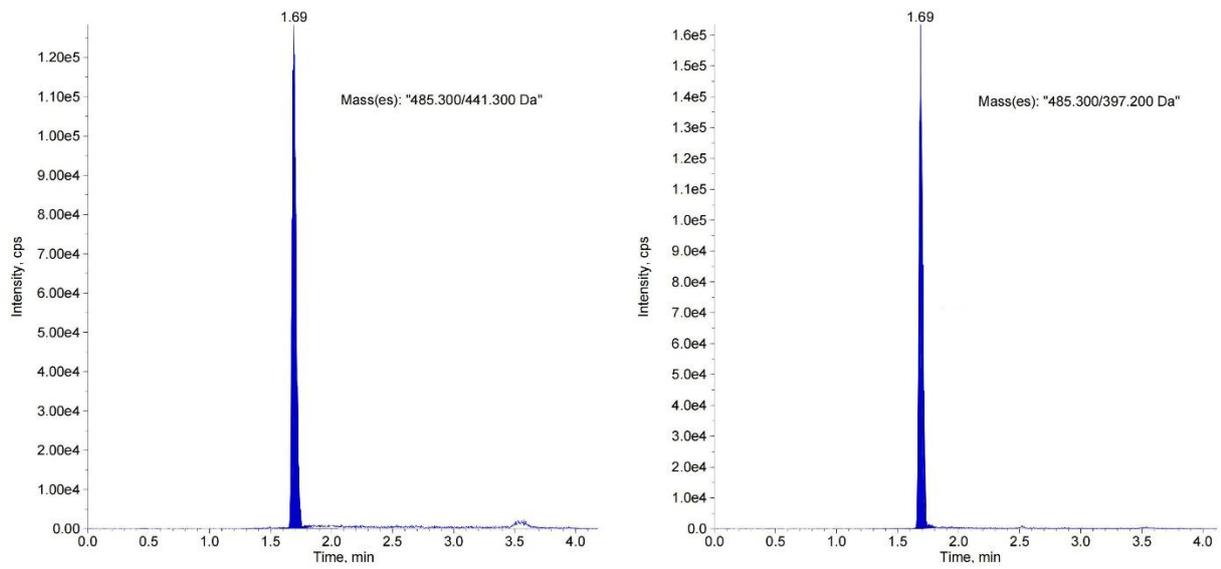


图 C.1 米酵菌酸标准溶液特征离子质量色谱图

^a 米酵菌酸 10 ng/mL。