

附件 2

食品中西布曲明二氯代异戊基替代物的 执法检验方法

1 范围

本方法规定了食品中西布曲明二氯代异戊基替代物的液相色谱—串联质谱测定方法。

本方法适用于饮料、果冻、糖果和蜜饯等食品中西布曲明二氯代异戊基替代物的定性和定量测定。

2 原理

试样经甲醇—水溶液超声提取,提取液采用液相色谱—串联质谱仪检测,外标法定量。

3 试剂与材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯;水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

3.1.1 乙腈(CH_3CN):色谱纯。

3.1.2 甲酸(HCOOH):色谱纯。

3.1.3 甲醇(CH_3OH)。

3.2 试剂配制

3.2.1 0.1%甲酸水溶液:量取 1 mL 甲酸(3.1.2),用水稀释至 1 000 mL,混匀。

3.2.2 甲醇—水溶液(1+1):将甲醇(3.1.3)与水等体积混合。

3.3 标准品

西布曲明二氯代异戊基替代物(又名:氯代西戊曲明)标准品纯度 $\geq 98\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。标准品中文名称、英文名称、CAS 号、化学结构式、分子式及相对分子质量等信息见附录 A。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 标准储备液的配制(100 $\mu\text{g/mL}$)

准确称取西布曲明二氯代异戊基替代物标准品(3.3)10 mg(精确至 0.01 mg),用甲醇—水溶液(3.2.2)溶解,转移至 100 mL 容量瓶中,用甲醇—水溶液(3.2.2)定容至刻度,摇匀,配制成质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液。—18℃避光贮存,有效期 3 个月。

3.4.2 标准中间液的配制(1 $\mu\text{g/mL}$)

准确吸取标准储备液(3.4.1)0.1 mL 至 10 mL 容量瓶中,用甲醇—水溶液(3.2.2)定容至刻度,摇匀,配制成质量浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$ 的标准中间液。现用现配。

3.4.3 系列标准工作液的配制

分别准确吸取 20 μL 、50 μL 、100 μL 、200 μL 、500 μL 、1 000 μL 标准中间液(3.4.2),置于一组 10 mL 容量瓶中,用空白基质溶液(5.3)定容,配制成 2 $\mu\text{g/L}$ 、5 $\mu\text{g/L}$ 、10 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准工作液,或依仪器响应情况配制适当浓度的标准工作液。现用现配。

3.5 材料

3.5.1 微孔滤膜:0.22 μm ,有机相。

3.5.2 离心管:50 mL。

3.5.3 容量瓶:10 mL、50 mL、100 mL。

4 仪器与设备

4.1 液相色谱—串联质谱仪,配有电喷雾离子源(ESI)。

4.2 分析天平:感量分别为 1 mg 和 0.01 mg。

4.3 超声波提取仪:功率≥500 W,频率≥37 kHz。

4.4 恒温水浴锅:水浴温度≥80℃。

4.5 离心机:转速≥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

取代表性试样 100 g 或所有试样(试样低于 100 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。制备好的试样根据样品储存条件存储。

5.2 试样处理

5.2.1 饮料、压片糖果、蜜饯

称取 1 g 试样(精确至 0.001 g)置于 50 mL 具塞离心管(3.5.2)中,加入 40 mL 甲醇—水溶液(3.2.2),超声提取 15 min,冷却至室温,于 4 000 r/min 离心 5 min,上清液全部转移至 50 mL 容量瓶(3.5.3)中,用甲醇—水溶液(3.2.2)定容至刻度,混匀。取适量上清液过微孔滤膜(3.5.1),待测定。

5.2.2 果冻、其他糖果

称取 1 g 试样(精确至 0.001 g)置于 50 mL 具塞离心管(3.5.2)中,加入 10 mL 水,80℃水浴 15 min(水浴过程中注意摇散),取出,冷却至室温,加入 30 mL 甲醇—水溶液(3.2.2),超声提取 15 min,冷却至室温,于 4 000 r/min 离心 5 min,上清液全部转移至 50 mL 容量瓶(3.5.3)中,用甲醇—水溶液(3.2.2)定容至刻度,混匀。取适量上清液过微孔滤膜(3.5.1),待测定。

果冻、糖果除特殊固体组成(如胶基糖果中的胶基等)无法溶解外,应全部溶解。

5.3 空白基质溶液

取与试样基质基本相同或相近的空白试样,按 5.2 同法制备,制得对应的空白基质溶液。进样测定,不应检出待测化合物。

5.4 仪器参考条件

5.4.1 色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a)色谱柱:C₁₈ 色谱柱,100 mm×2.1 mm(内径),2.7 μm,或性能相当者;
- b)流动相:A 相为 0.1%甲酸水溶液(3.2.1),B 相为乙腈(3.1.1),梯度洗脱程序见表 1;
- c)流速:0.30 mL/min;
- d)柱温:30℃;
- e)进样量:1 μL。

表 1 梯度洗脱程序表

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	95	5
5	95	5

22	2	98
27	2	98
27.5	95	5
32	95	5

5.4.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下:

- 离子源:电喷雾离子源(ESI)。
- 检测方式:多反应离子监测(MRM)。
- 扫描方式:正离子模式。
- 毛细管电压:4000 V。
- 离子源温度:200 ℃。
- 干燥气流量:12 L/min。
- 雾化气压力:25 psi(1 psi=6.895 kPa)。
- 鞘气温度:250 ℃;鞘气(N₂)流量:10 L/min。
- 喷嘴电压:500 V。
- 其他参考质谱参数见表 2。

表 2 其他参考质谱参数

化合物名称	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	碰撞电压(V)
西布曲明二氯代异戊基替代物	328.2	159.0 ⁺	36
		122.9	64

⁺为定量离子

5.5 标准曲线的制作

将系列标准工作液(3.4.3)分别注入液相色谱—串联质谱仪中,测定相应的峰面积,以系列标准工作液中目标化合物的浓度为横坐标,以定量离子色谱峰的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。西布曲明二氯代异戊基替代物标准溶液的液相色谱—质谱/质谱多反应监测色谱图参见附录 B。

5.6 试样溶液的测定

5.6.1 定性测定

在相同试验条件下,试样中被测组分的保留时间与标准溶液中对应的保留时间偏差在±2.5%之内;且试样中被测组分定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液中对应的定性离子的相对丰度进行比较,偏差不超过表 3 规定的范围,则可判定为试样中存在西布曲明二氯代异戊基替代物。

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	>10~20	≤10
允许相对偏差(%)	± 20	± 25	± 30	± 50

5.6.2 定量测定

将试样溶液注入液相色谱—串联质谱仪中,得到相应的峰面积,根据标准曲线得到试样溶液中西布曲明二氯代异戊基替代物的浓度。

用标准曲线对试样进行定量,应使试样溶液被测组分的响应值在仪器测定的线性范围内,若被测组分含量超出标准曲线的测定范围,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测定。

5.7 空白试验

除不加试样外,完全按照上述操作步骤进行。

6 结果计算

试样中被测组分含量按式(1)计算:

$$X = \frac{c \times V}{m \times 1000} \times f \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X ——试样中西布曲明二氯代异戊基替代物的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c ——试样溶液中西布曲明二氯代异戊基替代物的质量浓度,单位为微克每升(μg/L);

V ——试样溶液的定容体积,单位为毫升(mL);

m ——试样取样的质量,单位为克(g);

1000 ——换算系数;

f ——稀释倍数。

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,结果保留 3 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得超过算术平均值的 15%。

8 其他

当取样量为 1 g,定容体积为 50 mL 时,西布曲明二氯代异戊基替代物的检出限为 0.05 mg/kg,定量限为 0.10 mg/kg。

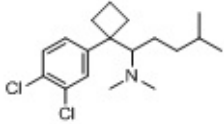
空白试验应无干扰。

附录A
(规范性)

西布曲明二氯代异戊基替代物标准品的基本信息

西布曲明二氯代异戊基替代物标准品的中文名称、英文名称、CAS号、化学结构式、分子式和相对分子质量见表A.1。

表A.1 西布曲明二氯代异戊基替代物标准品的基本信息

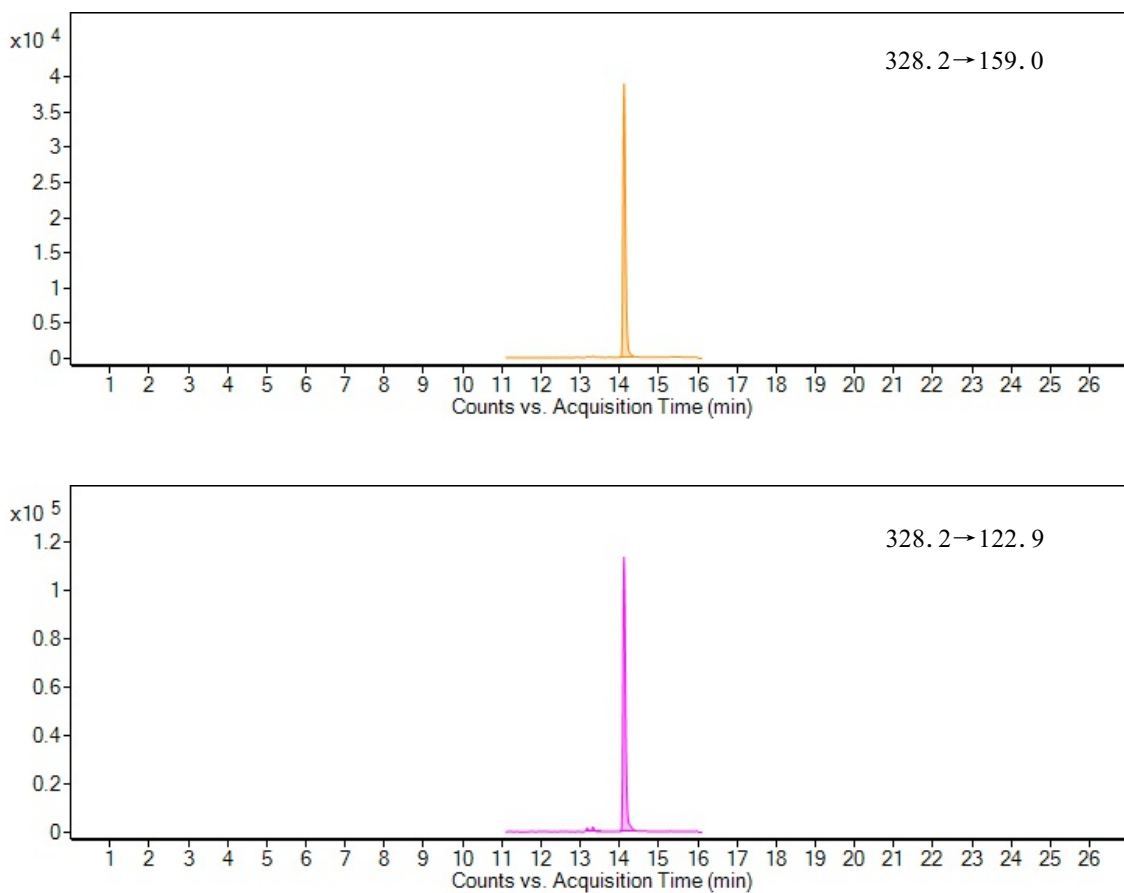
中文名称	英文名称	CAS 号	化学结构式	分子式	相对分子质量
西布曲明二氯代异戊基替代物	Chlorosipentramine	3058304—40—5		C ₁₈ H ₂₇ Cl ₂ N	328.32

附录B

(资料性)

西布曲明二氯代异戊基替代物标准溶液的液相色谱—质谱多反应监测色谱图

西布曲明二氯代异戊基替代物标准溶液(50 $\mu\text{g/L}$)的液相色谱—质谱多反应监测色谱图见图B.1。



图B.1 西布曲明二氯代异戊基替代物标准溶液(50 $\mu\text{g/L}$)的液相色谱—质谱多反应监测色谱图

本方法起草单位:上海市药品检验研究院

本方法验证单位:中国计量科学研究院、四川省食品检验研究院、广东省食品检验所(广东省酒类检测中心)、重庆市食品药品检验检测研究院、南京海关动植物与食品检测中心

主要起草人:孙健、于泓、黄帆、胡青、张静娴、冉莹瑛