

# BJS

## 食品补充检验方法

BJS 202208

---

### 食品中硝苯地平及其降解产物的测定

2022-09-10 发布

---

国家市场监督管理总局 发布

# 食品中硝苯地平及其降解产物的测定

## 1 范围

本方法规定了食品(含保健食品)中硝苯地平及其降解产物去氢硝苯地平、去氢亚硝基硝苯地平的液相色谱-串联质谱测定方法。

本方法适用于代用茶、特殊用途饮料、碳酸饮料、酒类等食品及胶囊、口服液、片剂等保健食品中硝苯地平及其降解产物去氢硝苯地平、去氢亚硝基硝苯地平的测定。

## 2 原理

试样以含5%甲酸的乙腈水溶液超声提取,离心过滤后,提取液经液相色谱分离,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( $C_2H_5N$ )。

3.1.2 甲酸( $CH_2O_2$ )。

3.1.3 甲酸铵( $CH_5NO_2$ )。

### 3.2 试剂配制

3.2.1 甲酸溶液(0.1%,体积分数):吸取甲酸(3.1.2)1 mL,用水稀释至1 000 mL,混匀备用。

3.2.2 甲酸铵-0.1%甲酸溶液(2 mmol/L):称取甲酸铵(3.1.3)0.126 g,用0.1%甲酸溶液(3.2.1)溶解并稀释至1 000 mL,滤膜过滤后备用。

3.2.3 5%甲酸的乙腈水混合提取溶液:量取乙腈(3.1.1)80 mL,加入甲酸(3.1.2)5 mL,用水稀释至100 mL,混匀备用。

### 3.3 标准品

3.3.1 硝苯地平标准品(Nifedipine, CAS 编号:21829-25-4):纯度 $\geq 98\%$ ,或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

3.3.2 去氢硝苯地平标准品(DehydroNifedipine, CAS 编号:67035-22-7):纯度 $\geq 98\%$ ,或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

3.3.3 去氢亚硝基硝苯地平标准品(DehydronitrosoNifedipine, CAS 编号:50428-14-3):纯度 $\geq 98\%$ ,或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

### 3.4 标准溶液配制

注意:硝苯地平对光不稳定,操作过程需全程避光。

3.4.1 标准储备液(100 mg/L):称取硝苯地平、去氢硝苯地平、去氢亚硝基硝苯地平标准品(3.3)各10 mg(精确至0.01 mg),分别用乙腈(3.1.1)溶解后,转移至100 mL棕色容量瓶中,用乙腈(3.1.1)定容至刻度,摇匀,制成标准储备液。-18℃避光冷冻保存,有效期为3个月。

3.4.2 标准中间液(10.0 mg/L):准确吸取上述3种标准储备液(3.4.1)各1.0 mL于10 mL棕色容量瓶中,用乙腈(3.1.1)稀释至刻度,摇匀,制成标准中间液,-18℃避光冷冻保存,有效期为1个月。

3.4.3 标准系列工作液:准确吸取标准中间液(3.4.2)1.0 mL于10 mL棕色容量瓶中,用提取溶液(3.2.3)稀释至刻度,摇匀。分别准确吸取该溶液适量于10 mL容量瓶中,用提取溶液(3.2.3)逐级稀释,摇匀,作为标准系列工作液,各化合物质量浓度依次为2.00 μg/L、4.00 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L、40.0 μg/L、100 μg/L,或依仪器响应情况配制适当浓度的标准系列工作液。标准系列工作液临用现制。

### 3.5 材料

微孔滤膜:0.22 μm,有机系。

## 4 仪器和设备

4.1 液相色谱-串联质谱仪,带电喷雾离子源(ESI)。

4.2 天平:感量分别为0.01 mg和1 mg。

4.3 研磨器。

4.4 涡旋混合器。

4.5 离心机。

4.6 超声波发生器。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样制备和保存

5.1.1 液体试样:取液体试样适量,充分混匀,用棕色容器避光保存备用,碳酸饮料取样前需先脱气。

5.1.2 胶囊试样:取胶囊试样适量,整体进行粉碎,使胶囊壳与内容物充分混匀,用棕色容器避光保存备用。

5.1.3 固体试样:取固体试样适量,粉碎研磨,充分混匀,用棕色容器避光保存备用。

### 5.2 样品前处理

称取试样1.0 g(精确至0.01 g),置于50 mL具塞塑料离心管中,加入提取溶液(3.2.3)30 mL,涡旋1 min,超声提取10 min后,于8 000 r/min离心5 min。上清液转移至50 mL棕色容量瓶中,用提取溶液(3.2.3)定容至刻度,摇匀,过0.22 μm微孔滤膜后待测。

### 5.3 仪器参考条件

5.3.1 液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:C<sub>18</sub>柱,内径2.1 mm,柱长50 mm,粒径1.8 μm,或性能相当色谱柱;
- b) 流动相:A为甲酸铵-0.1%甲酸溶液(2 mmol/L)(3.2.2),B为乙腈(3.1.1),梯度洗脱程序见表1;
- c) 流速:0.4 mL/min;
- d) 柱温:35℃;
- e) 进样量:2 μL。

表 1 梯度洗脱程序表

梯度时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	72	28
7.0	72	28
8.0	2	98
9.0	2	98
9.2	72	28
10.0	72	28

5.3.2 质谱参考条件如下：

- 离子源:ESI;
- 扫描方式:正离子模式;
- 检测方式:多反应监测(MRM);
- 干燥气、雾化气、碰撞气均为高纯氮气;使用前应调节各气体流量使质谱灵敏度达到检测要求,参考条件参见附录 A;
- 毛细管电压、源内碎裂电压和碰撞能量等参数应优化至最优灵敏度,参考条件参见附录 A。

#### 5.4 定性测定

按照 5.3.1 和 5.3.2 的条件测定标准工作液和试样溶液,试样溶液与标准工作液比较,目标化合物的色谱峰保留时间变化范围在 $\pm 2.5\%$ 之内。

目标化合物的质谱定量和定性离子均出现,且试样溶液与质量浓度相当的标准工作液比较,目标化合物的定性离子和定量离子相对丰度的允许偏差不超过表 2 规定的范围。

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/%	$k > 50$	$20 < k \leq 50$	$10 < k \leq 20$	$k \leq 10$
最大允许偏差/%	$\pm 20$	$\pm 25$	$\pm 30$	$\pm 50$

#### 5.5 标准曲线的制作

将标准系列工作液分别注入液相色谱-串联质谱仪中,测定目标化合物的色谱峰面积,以标准系列工作液相应的浓度为横坐标,以定量离子色谱峰面积的响应值为纵坐标,绘制标准曲线。目标化合物标准溶液的总离子流图(TIC)和 MRM 色谱图分别参见附录 B 中图 B.1 及图 B.2。

#### 5.6 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱-串联质谱仪中,得到目标化合物的色谱峰面积,根据标准曲线得到待测液中目标化合物的浓度。

注:若个别样品受基质效应影响,需考虑将试样溶液稀释后定量。

### 6 结果计算

试样中各目标化合物的含量按公式(1)计算:

$$X_i = \frac{\rho \times V}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- $X_i$  ——试样中各目标化合物的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- $\rho$  ——由标准曲线得到的试样溶液中各目标化合物的质量浓度,单位为微克每升( $\mu\text{g/L}$ );
- $V$  ——试样溶液稀释体积,单位为毫升(mL);
- $m$  ——试样质量,单位为克(g);
- 1 000 ——换算系数。

计算结果按照硝苯地平及其两种降解产物之和来表示,以硝苯地平计。

试样中硝苯地平的含量按公式(2)计算:

$$X = X_1 + X_2 \times 1.006 + X_3 \times 1.055 \dots\dots\dots(2)$$

式中:

- $X$  ——试样中硝苯地平及其降解产物(以硝苯地平计)的总含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- $X_1$  ——试样中硝苯地平的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- $X_2$  ——试样中去氢硝苯地平的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- $X_3$  ——试样中去氢亚硝基硝苯地平的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- 1.006 ——去氢硝苯地平的含量换算成硝苯地平的系数;
- 1.055 ——去氢亚硝基硝苯地平的含量换算成硝苯地平的系数。

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。

目标化合物含量大于或等于 1 mg/kg 时,计算结果保留三位有效数字;目标化合物含量小于 1 mg/kg 时计算结果保留两位有效数字。

## 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

当称样量为 1.0 g、定容体积为 50 mL 时,硝苯地平、去氢硝苯地平、去氢亚硝基硝苯地平检出限为 0.03 mg/kg,定量限为 0.10 mg/kg。

## 附录 A

(资料性)

## 液相色谱-质谱/质谱参数参考条件

液相色谱-质谱/质谱参数参考条件如下：

- a) 离子源:ESI;
- b) 扫描方式:正离子模式;
- c) 检测方式:MRM;
- d) 干燥气、雾化气、碰撞气均为高纯氮气;
- e) 离子源喷雾电压:3 500 V;
- f) 干燥气温度:200 ℃;干燥气流量:7.0 L/min;
- g) 雾化气压力:207 kPa(30 psi);
- h) 鞘气温度:325 ℃ ;鞘气流量:11.0 L/min;
- i) 定性离子对、定量离子对、碰撞能量、源内碎裂电压见表 A.1。

表 A.1 化合物监测离子对、源内碎裂电压、碰撞能量和保留时间

序号	化合物名称	定量离子对 ( $m/z$ )	定性离子对 ( $m/z$ )	源内碎裂电压/V	碰撞能量/V	保留时间/min
1	硝苯地平	347.2/315.2	347.2/254.1	80	2/18	6.70
2	去氢硝苯地平	345.2/284.1	345.2/268.1	110	30/30	5.24
3	去氢亚硝基硝苯地平	329.1/284.2	329.1/268.2	120	20/22	5.99

## 附录 B

(资料性)

## 硝苯地平及其降解产物液相色谱-质谱/质谱图

质量浓度为 10 ng/mL 的标准溶液 TIC 见图 B.1。

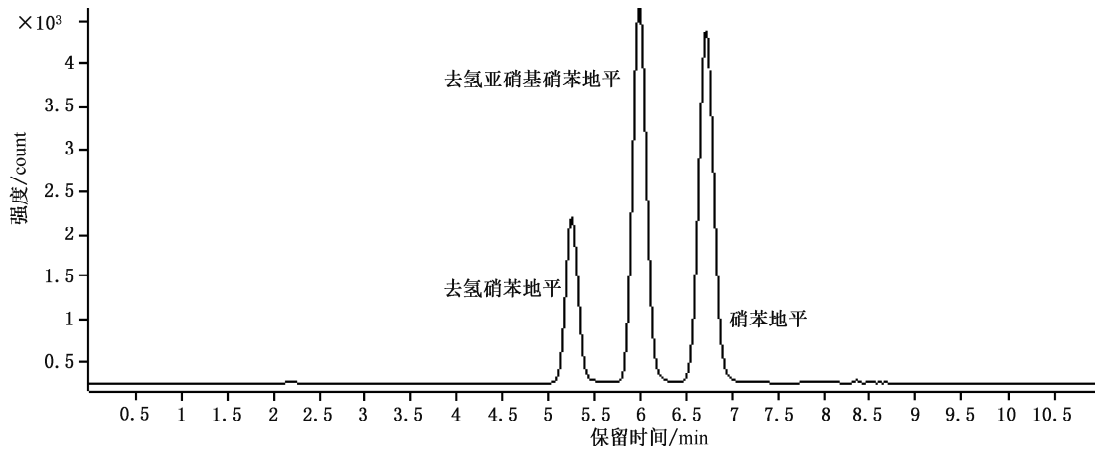


图 B.1 质量浓度为 10 ng/mL 的标准溶液 TIC

质量浓度为 10 ng/mL 的标准溶液 MRM 质量色谱图见图 B.2。

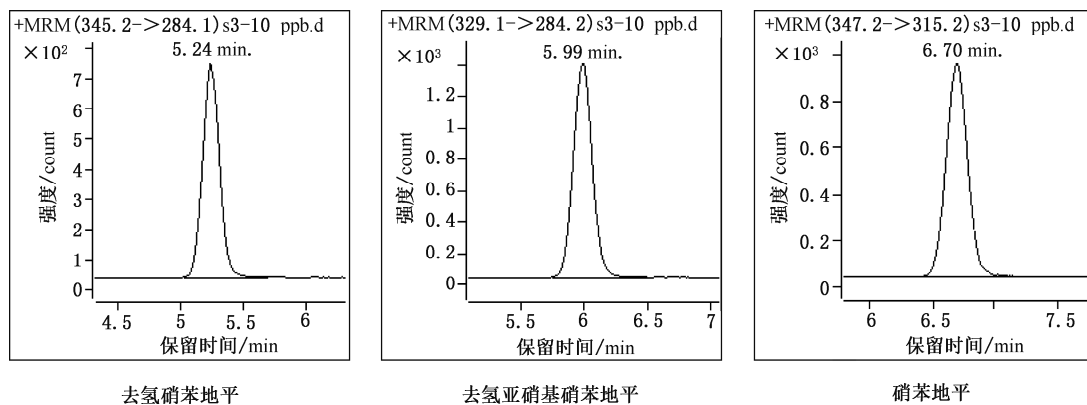


图 B.2 质量浓度为 10 ng/mL 的标准溶液 MRM 质量色谱图

本方法负责起草单位：中国食品药品检定研究院、广东省药品检验所。

本方法验证单位：浙江省疾病预防控制中心、山东省食品药品检验研究院、四川省食品药品检验检测院、陕西省食品药品监督检验研究院、河北省药品医疗器械检验研究院。

本方法主要起草人：宁霄、金绍明、曹进、齐春艳、林洁纯、刘少颖、李启艳、谢强胜、李道霞、李涛、林芳、马春艳。