

附件

食品中 5 种 α -受体阻断类药物的测定

BJS 201808

1 范围

本方法规定了食品（含保健食品）中酚妥拉明、哌唑嗪、特拉唑嗪、育亨宾、妥拉唑林的高效液相色谱-串联质谱测定方法。

本方法适用于糖果（硬质糖果、凝胶糖果）、酒、茶饮料等食品及片剂、口服液、胶囊剂等保健食品中酚妥拉明、哌唑嗪、特拉唑嗪、育亨宾、妥拉唑林的测定和确证。其他类似基质可参照本方法检测。

2 原理

试样经甲醇超声提取，过滤后，滤液供高效液相色谱-串联质谱测定，外标法定量。

3 试剂和材料

除另有规定外，本方法中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（ CH_2O_2 ）：色谱纯。

3.1.3 甲醇（ CH_3OH ）：色谱纯。

3.1.4 0.1%甲酸水溶液：精密量取甲酸（3.1.2）1 mL，用水稀释至 1000 mL。

3.1.5 0.1%甲酸乙腈溶液：精密量取甲酸（3.1.2）1 mL，用乙腈（3.1.1）稀释至 1000 mL。

3.2 标准品

甲磺酸酚妥拉明、盐酸哌唑嗪、盐酸特拉唑嗪、盐酸育亨宾、盐酸妥拉唑林标准品的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子质量和折算系数详见附录 A，甲磺酸酚妥拉明、盐酸哌唑嗪、盐酸育亨宾、盐酸妥拉唑林纯度均 $\geq 99\%$ ，盐酸特拉唑嗪纯度 $\geq 92\%$ 。

3.3 标准溶液配制

3.3.1 标准储备液（500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：精密称取标准品（3.2），分别折算成酚妥拉明、哌唑嗪、特拉唑嗪、育亨宾、妥拉唑林（3.2）各 10 mg，用甲醇（3.1.3）溶解，并转移至 20 mL 容量瓶中，定容至刻度，制成浓度为 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备液， $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 保存，有效期 6 个月。

3.3.2 标准中间液（10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：准确吸取酚妥拉明、哌唑嗪、特拉唑嗪、育亨宾、妥拉唑林标准储备液（3.3.1）各 1 mL，置于 50 mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀，制成浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准中间液， $4\text{ }^\circ\text{C}$ 避光保存，有效期 3 个月。

3.3.3 混合标准中间液：准确吸取酚妥拉明标准中间液（3.3.2）2 mL、哌唑嗪标准中间液（3.3.2）2 mL、特拉唑嗪标准中间液（3.3.2）1 mL、育亨宾标准标准中间液（3.3.2）1 mL、妥拉唑林标准中间液（3.3.2）8 mL，置于同一 100 mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀，制成混合标准中间液，临用新制。其中酚妥拉明、哌唑嗪浓度为 200 ng/mL，特拉唑嗪、育亨宾浓度为 100 ng/mL，妥拉唑林浓度为 800 ng/mL。

3.3.4 混合标准工作溶液：分别准确吸取混合标准中间液（3.3.3）0.1 mL、0.2 mL、1.0 mL、2.0 mL、5.0 mL，置于 20 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度，摇匀，作为系列混合标准工作溶液 S1~S5，酚妥拉明、哌唑嗪浓度均依次为 1 ng/mL、2 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL，特拉唑嗪、育亨宾浓度均依次为 0.5 ng/mL、1 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、25 ng/mL，妥拉唑林浓度依次为 4 ng/mL、8 ng/mL、40 ng/mL、80 ng/mL、200 ng/mL。临用新制或依仪器响应情况配制适当浓度的混合标准工作溶液。

4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源。

4.2 分析天平：感量分别为 0.00001g 和 0.0001g。

4.3 超声波清洗器。

5 分析步骤

5.1 试样制备

5.1.1 固体试样：取适量混匀，研细，称取粉末 1 g（精确至 0.001 g），置具塞试管中，精密加入甲醇 10 mL，密塞，超声提取 30 min，冷却至室温，摇匀，过滤膜（0.22 μm，有机相），取滤液，根据实际浓度适当稀释至线性范围内，备用。

5.1.2 液态试样：取适量摇匀，称取液体 1 g（精确至 0.0001 g）于 10 mL 容量瓶中，加入甲醇 8 mL，超声提取 30 min，冷却至室温，用甲醇定容至 10 mL，过滤膜（0.22 μm，有机相），取滤液，根据实际浓度适当稀释至线性范围内，备用。

5.1.3 空白试验：不加试样按试样同法处理，制得空白溶液，备用。称取与试样等量的空白基质试样，按试样同法处理，制得空白基质试样溶液，备用。

5.2 仪器参考条件

5.2.1 色谱条件

a) 色谱柱：C₁₈ 柱（2.1×100 mm，2.6 μm），或性能相当者。

b) 流动相：A 为 0.1% 甲酸水溶液（3.1.4），B 为 0.1% 甲酸乙腈溶液（3.1.5），参考梯度洗脱程序见表 1。

c) 流速：300 μL/min。

d) 柱温：40 °C。

e) 进样量：5 μL。

表 1 参考梯度洗脱程序表

梯度时间/min	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0.00	90	10
1.00	90	10
7.00	10	90
11.00	10	90
11.50	90	10
15.00	90	10

注：在有共流出成分影响目标化合物检测时，可以适当调节流动相比比例，使尽可能与干扰成分分离，减少干扰。

5.2.2 质谱条件

- a) 电离方式：电喷雾正离子模式。
- b) 检测方式：多反应监测（MRM）。
- c) 电喷雾电压：5500 V。
- d) 离子源温度：550 °C。
- e) 雾化气压力：55 psi。
- f) 气帘气压力：35 psi。
- g) 辅助气体压力：55 psi。
- h) 定性离子对、定量离子对及其他质谱参数见表 2。

表 2 5 种 α -受体阻断类药物离子选择参数表

序号	化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)	去簇电压 (V)
1	酚妥拉明	282.1	91.0*	41	100
			212.0	12	
2	哌唑嗪	384.2	247.0*	38	70
			366.2	35	
3	特拉唑嗪	388.1	247.1*	41	120
			290.2	30	
4	育亨宾	355.2	144.2*	28	120
			212.0	31	
5	妥拉唑林	161.2	65.1*	44	120
			90.5	40	

* 为定量离子；方法提供的监测离子对等测定条件为推荐条件，各实验室可根据所配置仪器的具体情况作适当调整；在样品基质有测定干扰的情况下，可选用其他监测离子对。

5.3 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，试样中目标化合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，变化范围在±2.5%内，并且所选择的监测离子对的相对丰度比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 规定的范围，每个定性离子的信噪比应大于等于 3，可以确定试样中检出相应化合物。

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
允许的相对偏差 (%)	±20	±25	±30	±50

5.4 定量测定

5.4.1 标准曲线的制作

将混合标准工作溶液 (3.3.4) 分别按仪器参考条件 (5.2) 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。必要时可用空白基质试样溶液 (5.1.3) 配制基质混合标准工作溶液绘制标准曲线。

标准品多反应监测 (MRM) 色谱图参见附录 B。

5.4.2 试样溶液的测定

将试样溶液 (5.1) 按仪器参考条件 (5.2) 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。

6 结果计算

将液相色谱-质谱测得的浓度代入下式计算含量：

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

式中：

- X — 试样中各待测物的含量，单位为毫克每千克 (mg/kg)；
- c — 从标准曲线中读出的试样溶液中各待测物的浓度，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，结果保留三位有效数字。

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 10%。

8 准确度

本方法的添加浓度范围及回收率实验数据见表 4。

表 4 本方法添加浓度范围及回收率

目标化合物	添加浓度范围 (mg/kg)	回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
酚妥拉明	0.01~0.1	70~120	≤20
哌唑嗪	0.01~0.1	70~120	≤20
特拉唑嗪	0.005~0.05	70~120	≤20
育亨宾	0.005~0.05	70~120	≤20
妥拉唑林	0.04~0.4	70~120	≤15

9 其它

当取样量为 1.0 g, 定容体积为 10 mL 时, 本方法中酚妥拉明与哌唑嗪检出限均为 0.005 mg/kg, 定量限为 0.01 mg/kg; 特拉唑嗪与育亨宾的检出限均为 0.0025 mg/kg, 定量限为 0.005 mg/kg; 妥拉唑林的检出限为 0.02 mg/kg, 定量限为 0.04 mg/kg。

附录A

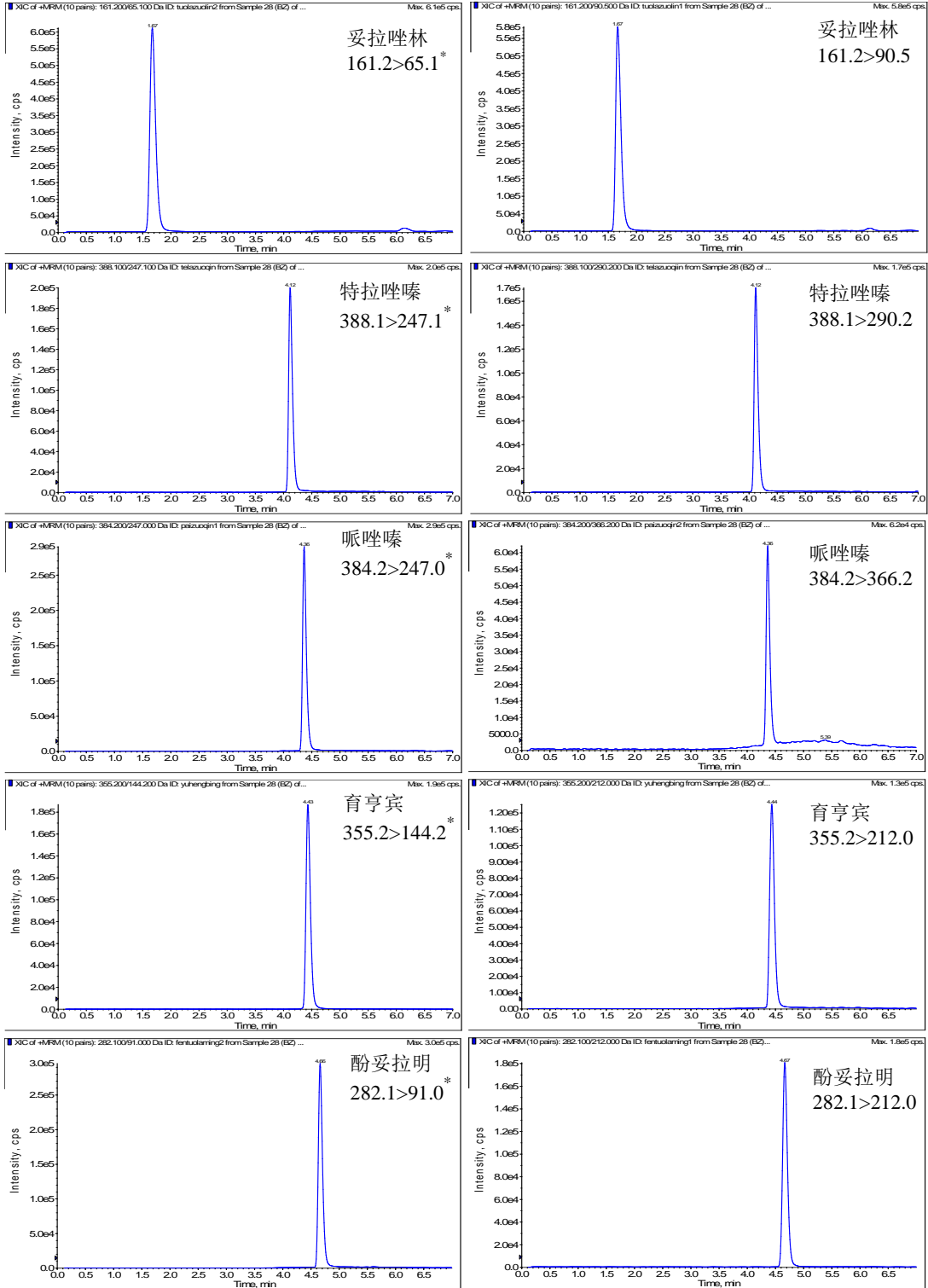
标准品信息

表 A 标准品的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子质量和折算系数

序号	中文名称	英文名称	CAS 登录号	分子式	相对分子质量	折算系数
1	甲磺酸酚妥拉明	Phentolamine Mesylate	65-28-1	$C_{17}H_{19}N_3O \cdot CH_3SO_3H$	377.46	0.745
2	盐酸哌唑嗪	Prazosin Hydrochloride	19237-84-4	$C_{19}H_{21}N_5O_4 \cdot HCl$	419.86	0.913
3	盐酸特拉唑嗪	Terazosin Hydrochloride	63074-08-8	$C_{19}H_{25}N_5O_4 \cdot HCl$	423.89	0.914
4	盐酸育亨宾	Yohimbine Hydrochloride	65-19-0	$C_{21}H_{26}N_2O_3 \cdot HCl$	390.91	0.907
5	盐酸妥拉唑林	Tolazoline Hydrochloride	59-97-2	$C_{10}H_{12}N_2 \cdot HCl$	196.68	0.815

附录B

标准品多反应监测 (MRM) 色谱图



* 为定量离子对。

图 B 标准品多反应监测 (MRM) 色谱图

本方法负责起草单位：陕西省食品药品监督检验研究院。

验证单位：浙江省食品药品检验所、吉林省食品检验所、上海市食品药品检验所、江南大学、汉中市食品药品检验检测中心。

主要起草人：李涛、林芳、王建山、刘海静、孙秀兰、张乾。