

# BJS

## 食品补充检验方法

BJS 202202

---

### 柑橘和苹果中顺丁烯二酸松香酯等 5种化合物的测定

2022-02-07 发布

---

国家市场监督管理总局 发布

# 柑橘和苹果中顺丁烯二酸松香酯等 5种化合物的测定

## 1 范围

本方法规定了柑橘类水果、苹果中顺丁烯二酸松香酯、油酰一乙醇胺、油酰二乙醇胺、三乙醇胺油酸皂、癸氧喹酯的液相色谱-串联质谱测定方法。

本方法适用于柑橘类水果、苹果中顺丁烯二酸松香酯、油酰一乙醇胺、油酰二乙醇胺、三乙醇胺油酸皂、癸氧喹酯的测定。

## 2 原理

试样经乙酸乙酯提取。一部分提取液用于油酰一乙醇胺、油酰二乙醇胺、三乙醇胺油酸皂、癸氧喹酯的检测；另一部分提取液经稀硝酸水解后，用于顺丁烯二酸松香酯水解产物的检测。采用液相色谱-串联质谱仪检测，外标法(基质匹配标准曲线法)定量。

## 3 试剂和材料

除另有规定，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 甲醇( $\text{CH}_3\text{OH}$ ): 色谱纯。
- 3.1.2 甲酸( $\text{HCOOH}$ ): 色谱纯。
- 3.1.3 乙酸乙酯( $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ ): 色谱纯。
- 3.1.4 硝酸( $\text{HNO}_3$ )。
- 3.1.5 二甲基亚砷( $\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$ )。

### 3.2 试剂配制

- 3.2.1 硝酸溶液(10+90): 量取 100 mL 硝酸(3.1.4), 缓慢加入 900 mL 水中, 同时搅拌均匀。
- 3.2.2 0.1% 甲酸溶液: 移取甲酸(3.1.2) 1 mL, 加水稀释至 1 000 mL, 混匀。
- 3.2.3 0.1% 甲酸甲醇溶液: 移取甲酸(3.1.2) 1 mL, 加甲醇(3.1.1) 稀释至 1 000 mL, 混匀。

### 3.3 标准品

顺丁烯二酸松香酯、油酰一乙醇胺、油酰二乙醇胺、三乙醇胺油酸皂、癸氧喹酯的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、纯度要求、相对分子质量、结构式见附录 A 中表 A.1。

### 3.4 标准溶液配制

- 3.4.1 顺丁烯二酸松香酯、油酰一乙醇胺、油酰二乙醇胺和三乙醇胺油酸皂标准储备液(1 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ): 分别准确称取顺丁烯二酸松香酯、油酰一乙醇胺、油酰二乙醇胺和三乙醇胺油酸皂标准品各 10 mg(精确至 0.01 mg), 置于不同的 10 mL 容量瓶中, 加适量甲醇(3.1.1) 超声溶解, 冷却至室温后用甲醇定容至刻

度,摇匀,制成质量浓度各为 1 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准储备液。转移至不同的标液存储瓶后,  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  以下避光保存,有效期 6 个月。

3.4.2 癸氧喹酯标准储备液(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ):准确称取癸氧喹酯标准品 10 mg(精确至 0.01 mg),置于 100 mL 容量瓶中,加入 200  $\mu\text{L}$  二甲基亚砜(3.1.5)及 80 mL 甲醇(3.1.1),  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  水浴超声直至完全溶解,冷却至室温后用甲醇定容至刻度,摇匀,制成癸氧喹酯质量浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准储备液。转移至标液存储瓶,  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  以下避光保存,有效期 6 个月。

3.4.3 混合标准中间溶液:分别准确移取顺丁烯二酸松香酯、油酰一乙醇胺、油酰二乙醇胺、三乙醇胺油酸皂(3.4.1)和癸氧喹酯标准储备液(3.4.2)500  $\mu\text{L}$ 、1 000  $\mu\text{L}$ 、100  $\mu\text{L}$ 、100  $\mu\text{L}$  和 100  $\mu\text{L}$  置于同一 10 mL 容量瓶中,用甲醇(3.1.1)定容至刻度,摇匀,制成顺丁烯二酸松香酯质量浓度为 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、油酰一乙醇胺质量浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、油酰二乙醇胺质量浓度为 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、三乙醇胺油酸皂质量浓度为 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、癸氧喹酯质量浓度为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的混合标准中间液。转移至标液存储瓶,  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  以下避光保存,有效期 1 个月。

3.4.4 基质匹配标准系列工作溶液的制备:称取 10 g(精确至 0.001 g)与试样基质相同或相近的空白试样共 5 份,分别准确加入 20  $\mu\text{L}$ 、40  $\mu\text{L}$ 、80  $\mu\text{L}$ 、160  $\mu\text{L}$ 、240  $\mu\text{L}$  混合标准中间溶液(3.4.3)。按试样同法(6.1 和 6.2)制备,得到顺丁烯二酸松香酯质量浓度相当于 100 ng/mL、200 ng/mL、400 ng/mL、800 ng/mL、1 200 ng/mL 的基质匹配标准系列工作溶液 A;按试样同法(6.1)制备,得到油酰一乙醇胺质量浓度相当于 200 ng/mL、400 ng/mL、800 ng/mL、1 600 ng/mL、2 400 ng/mL,油酰二乙醇胺质量浓度相当于 20 ng/mL、40 ng/mL、80 ng/mL、160 ng/mL、240 ng/mL,三乙醇胺油酸皂质量浓度相当于 20 ng/mL、40 ng/mL、80 ng/mL、160 ng/mL、240 ng/mL,癸氧喹酯质量浓度相当于 2 ng/mL、4 ng/mL、8 ng/mL、16 ng/mL、24 ng/mL 的基质匹配标准系列工作溶液 B。或依需要配制适当浓度的基质匹配标准系列工作溶液,临用现配。

3.4.5 空白基质溶液:称取 10 g(精确至 0.001 g)与试样基质相同或相近的空白试样,按试样同法(6.1 和 6.2)制备,得到对应的空白基质溶液。

### 3.5 材料

3.5.1 具螺纹盖离心管:50 mL、10 mL。

3.5.2 微孔滤膜:有机滤膜,孔径 0.22  $\mu\text{m}$ 。

3.5.3 氮吹管:10 mL。

## 4 仪器和设备

4.1 液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源(ESI)。

4.2 电子天平:感量分别为 0.01 mg 和 0.001 g。

4.3 超声波发生器。

4.4 涡漩混合器。

4.5 离心机:转速 $\geq 8\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 。

4.6 氮吹浓缩装置。

4.7 恒温水浴装置。

## 5 试样制备

取 500 g 代表性样品,全果去柄,采用匀浆方式混匀,装入洁净容器中,密封并标记,  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  避光保存。

## 6 分析步骤

### 6.1 提取

称取 10 g 试样(精确至 0.001 g)于 50 mL 具螺纹盖离心管中,准确加入 20 mL 乙酸乙酯(3.1.3),混匀后超声提取 10 min,涡漩 10 min,8 000 r/min 离心 5 min。准确移取 2.0 mL 上清液于氮吹管中,45 °C 氮气吹干后,准确加入 1.0 mL 甲醇(3.1.1),超声 2 min,涡漩 1 min 溶解残渣,过微孔滤膜,直接上机测定油酰一乙醇胺、油酰二乙醇胺、三乙醇胺油酸皂、癸氧喹酯;准确移取 4.0 mL 上清液于 10 mL 具螺纹盖离心管中,45 °C 氮气吹干后,待水解。

### 6.2 水解

在待水解残渣中加入 2.0 mL 硝酸溶液(3.2.1),超声 5 min、涡漩 1 min 溶解残渣,在 70 °C 水浴中水解 120 min(水解路线见图 1),取出具螺纹盖离心管冷水浴至室温,加入 4.0 mL 乙酸乙酯(3.1.3),涡漩 5 min,8 000 r/min 离心 5 min,准确移取 2.0 mL 上清液于氮吹管中,50 °C 氮气吹干后,准确加入 1.0 mL 甲醇(3.1.1),超声 2 min,涡漩 1 min 溶解残渣,过微孔滤膜,上机测定顺丁烯二酸松香酸(顺丁烯二酸松香酯水解产物)。

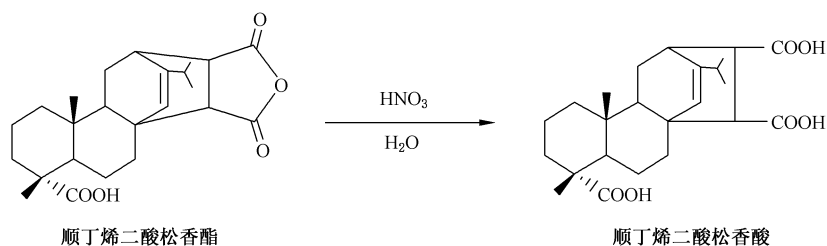


图 1 顺丁烯二酸松香酯水解路线图

### 6.3 液相色谱-串联质谱测定(顺丁烯二酸松香酸)

#### 6.3.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:  $\text{C}_{18}$  柱, 2.1 mm × 50 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ , 或性能相当的色谱柱;
- b) 流动相: A 为 0.1% 甲酸溶液(3.2.2), B 为 0.1% 甲酸甲醇溶液(3.2.3), 梯度洗脱程序见表 1;

表 1 梯度洗脱程序(一)

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	27	73
2.0	27	73
2.5	0	100
5.0	0	100
5.5	27	73
8.0	27	73

- c) 流速:0.3 mL/min;
- d) 柱温:40 °C;
- e) 进样量:2  $\mu$ L。

### 6.3.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下:

- 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:负离子模式扫描(ESI<sup>-</sup>);
- d) 毛细管电压:-2 000 V;
- e) 干燥气温度:350 °C;
- f) 干燥气流量:8 L/min;
- g) 雾化气压力:241 kPa(35 psi);
- h) 鞘气温度:350 °C;
- i) 鞘气流量:12 L/min;
- j) 定性离子对、定量离子对、碎裂电压、碰撞能量见表 2。

表 2 待测组分的定性离子对、定量离子对和质谱参数参考值(一)

化合物	离子对( $m/z$ )	碎裂电压/V	碰撞能量/eV
顺丁烯二酸松香酸	417.2/373.2 <sup>a</sup>	130	29
	417.2/301.2	130	38
<sup>a</sup> 定量离子对。			

6.3.2 的质谱条件仅供参考,当采用不同质谱仪时,质谱参数可能存在差异,测定前应将质谱参数优化到最佳。

## 6.4 液相色谱-串联质谱测定(油酰一乙醇胺、油酰二乙醇胺、三乙醇胺油酸皂、癸氧喹酯)

### 6.4.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:C<sub>18</sub>柱,2.1 mm×50 mm,1.8  $\mu$ m,或性能相当的色谱柱;
- b) 流动相:A 为 0.1%甲酸溶液(3.2.2),B 为 0.1%甲酸甲醇溶液(3.2.3),梯度洗脱程序见表 3;

表 3 梯度洗脱程序(二)

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	25	75
3.0	0	100
5.0	0	100
5.5	25	75
8.0	25	75

- c) 流速:0.3 mL/min;
- d) 柱温:40 °C;
- e) 进样量:2  $\mu$ L。

#### 6.4.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下:

- 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:正离子模式扫描(ESI+);
- d) 电喷雾电压:3 000 V;
- e) 干燥气温度:350 °C;
- f) 干燥气流量:8 L/min;
- g) 雾化气压力:241 kPa(35 psi);
- h) 鞘气温度:350 °C;
- i) 鞘气流量:12 L/min;
- j) 定性离子对、定量离子对、碎裂电压、碰撞能量见表 4。

表 4 待测组分的定性离子对、定量离子对和质谱参数参考值(二)

化合物	离子对( $m/z$ )	碎裂电压/V	碰撞能量/eV
油酰一乙醇胺	326.3/62.1 <sup>a</sup>	110	17
	326.3/44.1	110	37
油酰二乙醇胺	370.3/106.1 <sup>a</sup>	110	17
	370.3/88.1	110	23
三乙醇胺油酸皂	414.4/132.1 <sup>a</sup>	110	24
	414.4/309.3	110	24
癸氧喹酯	418.3/176.1 <sup>a</sup>	110	56
	418.3/344.1	110	36
<sup>a</sup> 定量离子对。			

6.4.2 的质谱条件仅供参考,当采用不同质谱仪时,仪器参数可能存在差异,测定前应将质谱参数优化到最佳。

#### 6.5 定性测定

将基质匹配标准系列工作溶液 A、B(3.4.4)和试样溶液分别注入液相色谱-串联质谱仪中测定,根据保留时间和相对离子对丰度比定性。试样中待测组分的色谱峰保留时间与基质匹配标准系列工作溶液保留时间相比较,变化范围应在 $\pm 2.5\%$ 之内;试样特征离子的相对丰度与浓度相当基质匹配标准工作溶液的相对丰度一致,最大允许偏差见表 5。

表 5 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
最大允许偏差/%	±20	±25	±30	±50

顺丁烯二酸松香酯的柑基质匹配标准溶液水解产物多反应监测(MRM)色谱图见附录 B 图 B.1;油酰一乙醇胺、油酰二乙醇胺、三乙醇胺油酸皂、癸氧喹酯的柑基质匹配标准溶液多反应监测(MRM)色谱图见附录 C 图 C.1。

## 6.6 定量测定

### 6.6.1 基质匹配标准曲线的制作

将基质匹配标准系列工作溶液 A、B(3.4.4)分别注入液相色谱-串联质谱仪中,以待测组分浓度为横坐标,待测组分色谱峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得到线性回归方程。

### 6.6.2 试样溶液的测定

将试样溶液与基质匹配标准系列工作溶液同时进样测定,根据基质匹配标准曲线得到试样溶液中待测组分的浓度,计算样品中待测组分的含量。试样溶液中待测组分响应若超出线性范围,可用空白基质溶液(3.4.5)稀释后再进样分析。

## 7 空白试验

除不加试样外,均按试样同法处理。应确认不含有干扰待测组分的物质。

## 8 结果计算

试样中待测组分的定量结果按式(1)计算:

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

式中:

- X ——待测组分的含量,单位为微克每千克(μg/kg);
- ρ ——由基质匹配标准曲线得到的试样溶液中待测组分的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- V ——试样定容体积,单位为毫升(mL);
- f ——试样制备过程中的稀释倍数;
- m ——试样的取样量,单位为克(g);
- 1 000 ——换算系数。

计算结果应扣除空白值,结果保留三位有效数字。

## 9 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 20%。

## 10 其他

本方法中顺丁烯二酸松香酯的检出限为 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 油酰一乙醇胺的检出限为 80  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 油酰二乙醇胺的检出限为 8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 三乙醇胺油酸皂的检出限为 8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 癸氧喹酯的检出限为 0.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

本方法中顺丁烯二酸松香酯的定量限为 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 油酰一乙醇胺的定量限为 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 油酰二乙醇胺的定量限为 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 三乙醇胺油酸皂的定量限为 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 癸氧喹酯的定量限为 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。



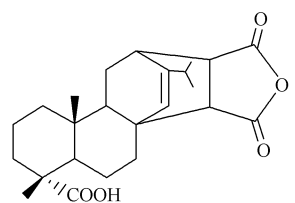
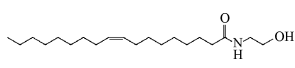
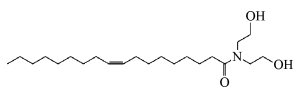
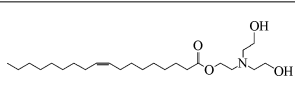
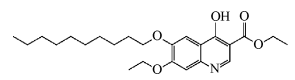
## 附录 A

(资料性)

标准物质的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、纯度要求、相对分子质量、结构式

标准物质的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、纯度要求、相对分子质量、结构式见表 A.1。

表 A.1 5 种标准物质名称、CAS 号、分子式、纯度要求、相对分子质量、结构式

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	纯度要求	相对分子质量	结构式
顺丁烯二酸松香酯	methyl maleopimarate	510-39-4	$C_{24}H_{32}O_5$	$\geq 98\%$	400.5	
油酰一乙醇胺	<i>N</i> -oleoylethanolamine	111-58-0	$C_{20}H_{39}NO_2$	$\geq 97\%$	325.5	
油酰二乙醇胺	<i>N,N</i> -diethanololeamide	93-83-4	$C_{22}H_{43}NO_3$	$\geq 97\%$	369.6	
三乙醇胺油酸皂	triethanolamine oleate soap	10277-04-0	$C_{24}H_{47}NO_4$	$\geq 97\%$	413.6	
癸氧喹酯	decoquinatate	18507-89-6	$C_{24}H_{35}NO_5$	$\geq 97\%$	417.5	

附录 B  
(资料性)

顺丁烯二酸松香酯的柑基质匹配标准溶液水解产物多反应监测(MRM)色谱图

顺丁烯二酸松香酯的柑基质匹配标准溶液水解产物多反应监测(MRM)色谱图见图 B.1。

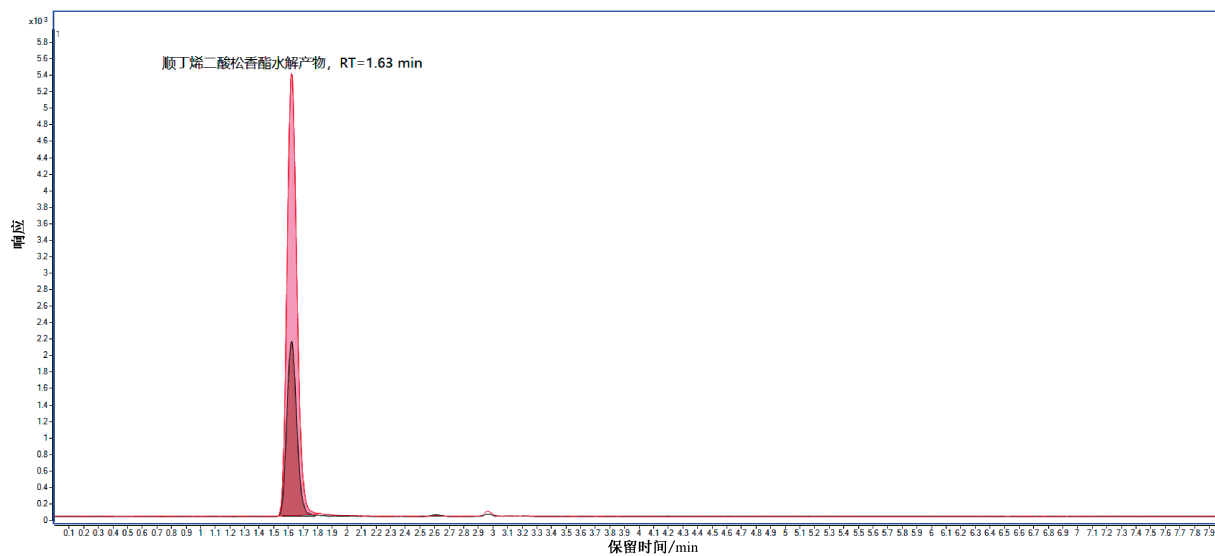


图 B.1 顺丁烯二酸松香酯的柑基质匹配标准溶液水解产物多反应监测(MRM)色谱图

附录 C

(资料性)

油酰一乙醇胺、油酰二乙醇胺、三乙醇胺油酸皂、癸氧喹酯的柑基质匹配标准溶液  
多反应监测(MRM)色谱图

油酰一乙醇胺、油酰二乙醇胺、三乙醇胺油酸皂、癸氧喹酯的柑基质匹配标准溶液多反应监测(MRM)色谱图见图 C.1。

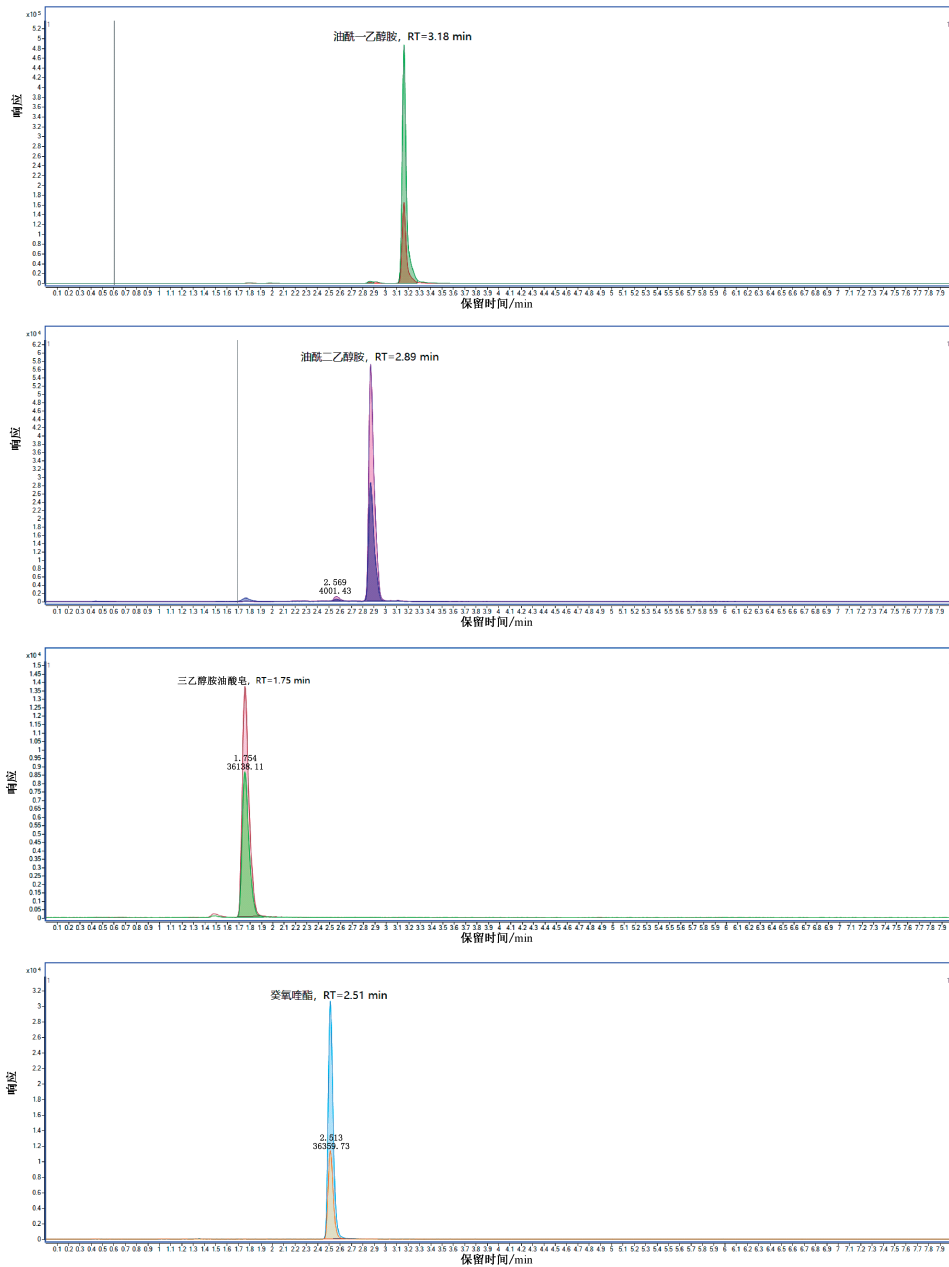


图 C.1 油酰一乙醇胺、油酰二乙醇胺、三乙醇胺油酸皂、癸氧喹酯的柑基质匹配标准溶液多反应监测(MRM)色谱图

本方法负责起草单位:成都市食品检验研究院、秦皇岛海关技术中心。

本方法验证单位:中国肉类食品综合研究中心、湖北省食品质量安全监督检验研究院、上海市质量监督检验技术研究院、山东省食品药品检验研究院、南京市食品药品监督检验院。

本方法主要起草人:李绍波、李佳佳、郭靓、万渝平、叶梅、李响、赵文涛、江丰、郑国建、刘艳明、孙小杰。