

# T/WSJD

中国卫生监督协会团体标准

T/WSJD 99—2025

## 红曲类保健食品中米酵菌酸的测定 液相色谱-质谱/质谱法

Determination of bongkrekic acid in red yeast functional food  
Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method

2025-11-26 发布

2025-11-27 实施



## 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
6 仪器和设备 .....	2
7 试样制备与保存 .....	2
8 测定 .....	2
9 分析结果的表述 .....	4
10 精密度 .....	4
11 检出限和定量限 .....	4
附录 A（资料性）米酵菌酸标准溶液多反应监测质量色谱图 .....	5

## 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。

本文件由中国卫生监督协会提出并归口。

本文件起草单位：浙江省疾病预防控制中心、国家食品安全风险评估中心、北京市顺义区计量和食品药品检测中心。

本文件主要起草人：徐小民、郭垣、安雨馨、蒋定国、张晓梅、沈海涛、潘晓东、蔡增轩、徐美佳、许娇娇、韩见龙。

# 红曲类保健食品中米酵菌酸的测定 液相色谱-质谱/质谱法

## 1 范围

本文件规定了红曲类保健食品中米酵菌酸的液相色谱-质谱/质谱测定方法。  
本文件适用于红曲类保健食品、红曲酒、红曲米中米酵菌酸含量的测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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。

## 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 原理

试样中的米酵菌酸经氨化甲醇水溶液超声提取、混合型强阴离子交换固相萃取小柱净化，采用液相色谱-质谱/质谱仪检测，同位素内标法定量。

## 5 试剂和材料

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

### 5.1 试剂

5.1.1 甲醇（ $\text{CH}_3\text{OH}$ ）：色谱纯。

5.1.2 乙腈（ $\text{CH}_3\text{CN}$ ）：色谱纯。

5.1.3 甲酸（ $\text{HCOOH}$ ）：色谱纯。

5.1.4 甲酸铵（ $\text{HCOONH}_4$ ）：色谱纯。

5.1.5 氨水（ $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ ）： $\geq 25\%$ 。

### 5.2 试剂配制

5.2.1 1%氨水-80%甲醇水溶液：量取80 mL甲醇，加入1.0 mL氨水，加水稀释至100 mL，混匀。

5.2.2 1%甲酸-甲醇溶液：吸取1.0 mL甲酸，加甲醇稀释至100 mL，混匀。

5.2.3 1 mmol/L甲酸铵-0.1%甲酸水溶液：准确称取63.0 mg甲酸铵，用100 mL水溶解，加入1.0 mL甲酸，用水稀释至1000 mL，混匀。

5.2.4 乙腈-水溶液（1:1）：将乙腈和水等体积混匀。

### 5.3 材料

5.3.1 混合型强阴离子交换固相萃取小柱：60 mg/3 mL。

5.3.2 微孔滤膜：0.22  $\mu\text{m}$ 有机系滤膜。

### 5.4 标准品

5.4.1 米酵菌酸（ $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_7$ ，CAS号：11076-19-0）标准溶液：100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.4.2 米酵菌酸- $^{13}\text{C}_{28}$ 同位素（ $^{13}\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_7$ ）内标溶液：5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，或等效内标。

## 5.5 标准溶液配制

### 5.5.1 标准储备溶液（10.0 μg/mL）

准确吸取标准溶液（5.4.1）1.0 mL置于10.0 mL容量瓶中，用甲醇定容，配制成10.0 μg/mL的标准中间液，-18℃及以下保存。有效期12个月。

### 5.5.2 标准中间溶液（1.00 μg/mL）

准确吸取标准储备溶液（5.5.1）1.0 mL置于10.0 mL容量瓶中，用甲醇定容，配制成1.00 μg/mL的标准中间液，-18℃及以下保存。有效期3个月。

### 5.5.3 标准使用溶液 I（100 ng/mL）和标准使用溶液 II（10 ng/mL）

准确吸取标准中间溶液（5.5.2）1.0 mL置于10.0 mL容量瓶中，用乙腈-水溶液（1:1）（5.2.4）定容，配制成100 ng/mL的标准使用溶液I；准确吸取1.0 mL标准使用溶液I置于10.0 mL容量瓶中，用乙腈-水溶液（1:1）（5.2.4）定容，配制成10.0 ng/mL的标准使用溶液II。临用现配。

### 5.5.4 同位素内标使用溶液（500 ng/mL）

准确吸取米酵菌酸同位素内标溶液（5.4.2）1.0 mL置于10.0 mL容量瓶中，用乙腈-水溶液（1:1）（5.2.4）定容，配制成500 ng/mL的标准使用溶液。有效期3个月。

### 5.5.5 标准系列工作溶液

准确吸取标准使用溶液II（5.5.3）20.0 μL、50.0 μL、200 μL，及标准使用溶液I（5.5.3）100 μL、200 μL，每个浓度点均加入20.0 μL内标使用液（5.5.4），用乙腈-水溶液（1:1）（5.2.4）定容至1.0 mL，制成浓度分别为0.20、0.50、2.0、10.0、20.0 ng/mL的标准系列工作溶液，其中内标浓度为10.0 ng/mL。临用现配。

## 6 仪器和设备

- 6.1 液相色谱-质谱/质谱联用仪：配有电喷雾离子源。
- 6.2 电子天平：感量0.001 g和0.0001 g。
- 6.3 离心机：转速不低于8000 r/min。
- 6.4 高速粉碎机。
- 6.5 固相萃取装置。
- 6.6 超声波清洗器：30 kHz ~50 kHz。
- 6.7 涡旋混合器。

## 7 试样制备与保存

红曲米等干试样缩分后不少于500 g，红曲类保健食品（胶囊需要去掉胶囊壳）不少于100 g，经高速粉碎机粉碎均匀；红曲酒等液体样品适当排气后混合均匀。储存于样品瓶中备用，于-18℃及以下冷冻保存。

## 8 测定

### 8.1 试样处理

#### 8.1.1 试样提取

红曲类保健食品、红曲米等固体试样：准确称取约1 g试样（精确至0.001 g）于10 mL离心管中，加入1%氨水-80%甲醇水溶液5 mL，涡流振荡提取20 min，再超声提取30 min，于8000 rpm离心5 min，准确移取400 μL上清液，加入1%氨水-80%甲醇水溶液2 mL、内标使用液40.0 μL，涡流混匀后待净化。

红曲酒等液体试样：准确称取约1 g试样（精确至0.001 g）于10 mL离心管中，加入1%氨水-80%甲醇水溶液2 mL、内标使用液40.0 μL，充分涡流混匀，于8000 rpm离心5 min，提取液待净化。

### 8.1.2 试样净化

固相萃取小柱临用前依次用3.0 mL甲醇和3.0 mL水活化，保持柱体湿润。

将待净化液转移到经活化平衡的固相萃取小柱中，以约1滴/s的流速，依次用3 mL水和3 mL甲醇淋洗，弃去流出液，再用2.00 mL 1%甲酸-甲醇溶液洗脱，收集洗脱液，经0.22 μm微孔滤膜过滤后待测。

## 8.2 仪器参考条件

### 8.2.1 液相色谱参考条件

- 色谱柱：C18 色谱柱（柱长150 mm，柱内径3.0 mm，填料粒径2.5 μm）或性能相当者；
- 流动相：A为1 mmol/L甲酸铵-0.1 %甲酸水溶液，B为乙腈，梯度洗脱程序见表1；
- 流速：0.4 mL/min；
- 柱温：35℃；
- 进样量：5.0 μL。

表 1 梯度洗脱程序

时间 (min)	乙腈
0.0	20
0.5	20
7.0	90
8.0	90
8.5	20
11.0	20

### 8.2.2 质谱参考条件

电离方式：电喷雾离子源负离子模式 (ESI<sup>-</sup>)；辅助加热气：空气，10 L/min；雾化气：氮气，3 L/min；干燥气：氮气，10 L/min；碰撞气：氩气；接口温度：230 ℃；加热块温度：400 ℃；脱溶剂温度：526 ℃；多反应监测模式 (MRM)，参数见表2。

表 2 米酵菌酸及其内标的质谱参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)
米酵菌酸	485.2	441.2*	14
		397.2	18
米酵菌酸- <sup>13</sup> C <sub>28</sub> 内标	513.2	468.2*	14

注：\*为定量离子。

### 8.3 定性判定

按照仪器参考条件测定试样溶液和标准工作溶液，试样中的米酵菌酸色谱峰与标准工作溶液保留时间相比，变化范围在±2.5 %之内。米酵菌酸的质谱定性离子必须出现 (S/N≥3)，且同一检测批次，试样中米酵菌酸的两个子离子的相对丰度比 (k) 与浓度相近的标准工作溶液相比，其允许偏差不超过表3规定的范围，则可判定为试样中存在米酵菌酸。

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 (%)	k>50	50≥k>20	20≥k>10	k≤10
允许的最大偏差 (%)	± 20	± 25	± 30	± 50

米酵菌酸的质量色谱图参见附录A。

### 8.4 标准曲线的制作

将米酵菌酸标准系列工作溶液分别注入液相色谱-质谱/质谱仪中，测定相应的质量色谱峰面积，以标准系列工作溶液的浓度为横坐标，以米酵菌酸/内标的色谱峰峰面积比为纵坐标，绘制标准曲线。

## 8.5 试样测定

将试样溶液按仪器参考条件进行测定，得到相应的试样溶液中米酵菌酸/内标的质量色谱峰面积比。根据工作曲线得到试样溶液中米酵菌酸的浓度。试样溶液中米酵菌酸/内标的质量色谱峰面积比在工作曲线线性范围内，超过线性范围则应减少净化前提取液用量后重新净化测定。

## 9 分析结果的表述

试样中米酵菌酸含量以质量分数表示，按下式计算：

$$X = \frac{\rho \times V_1 \times V_3 \times f \times 1000}{m \times V_2 \times 1000}$$

式中：

$X$ —试样中米酵菌酸的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；

$\rho$ —由工作曲线得出的试样溶液中米酵菌酸的浓度，单位为纳克每毫升（ $\text{ng}/\text{mL}$ ）；

$V_1$ —试样提取液体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；

$V_2$ —用于净化移取的试样溶液体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；

$V_3$ —样品经净化后的最终定容体积，单位为毫升（ $\text{mL}$ ）；

$m$ —试样的称样量，单位为克（ $\text{g}$ ）；

$f$ —内标稀释因子；

1000—单位换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

## 10 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%。

## 11 检出限和定量限

当取样量为 1.0 g、净化后定容体积为 2.0 mL 时，红曲米、红曲保健食品中检出限和定量限分别为 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；红曲酒中分别为 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

附录 A  
(资料性)

## 米醇菌酸标准溶液多反应监测质量色谱图

米醇菌酸标准溶液的多反应监测质量色谱图见图A.1。

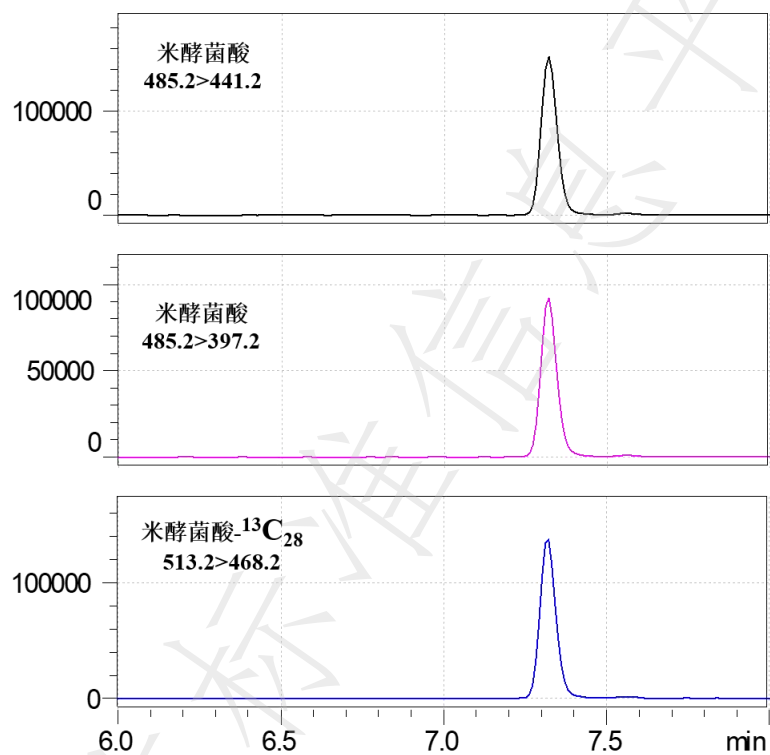


图 A.1 米醇菌酸及内标 (10.0 ng/mL) MRM 质量色谱图