ICS 67.050
CCS X 04

T/GXAS

团　　体　　标　　准

T/GXAS XXXX—XXXX

南宁老友粉中罂粟碱、那可丁、蒂巴因、吗啡和可待因的测定　离子交换净化—液相色谱串联质谱法

Determination of papaverine, noscapine, thebaine, morphine and codeine in Nanning Laoyou rice noodle by ion exchange purification-liquid chromatography tandem mass spectrometry

（征求意见稿）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX－XX－XX 发布　　XXXX－XX－XX 实施

广西标准化协会　　发 布

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　试样处理 2
8　测定 2
9　试验数据处理 3
10　精密度 3
11　定量限 3
附录A（资料性）　液相色谱参考条件 4
附录B（资料性）　质谱参考条件 5
附录C（资料性）　5种生物碱标准物质多反应监测(MRM)色谱图 6

前　　言

本文件参照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。

本文件由南宁市食品药品检验所提出和宣贯。

本文件由广西标准化协会归口。

本文件起草单位：南宁市食品药品检验所、广西壮族自治区产品质量检验研究院、广西民生中检联检测有限公司、广西-东盟食品检验检测中心。

本文件主要起草人：刘国石、覃弘毅、朱春红、陶汝青、黄薇臻、何善廉、韦环、谢庆剑、黄昊、李婉婧、廖洁明。

南宁老友粉中罂粟碱、那可丁、蒂巴因、吗啡和可待因的测定　离子交换净化-液相色谱串联质谱法

1　范围

本文件描述了离子交换净化-液相色谱串联质谱法测定南宁老友粉中罂粟碱、那可丁、蒂巴因、吗啡和可待因等5种罂粟壳生物碱的方法。

本文件适用于南宁老友粉中罂粟碱、那可丁、蒂巴因、吗啡和可待因等5种罂粟壳生物碱的测定。

2　规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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

GB/T 27404　实验室质量控制规范　食品理化检测

3　术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4　原理

样品溶液经正己烷脱脂、强阳离子交换作用净化后，在液相色谱串联质谱正离子模式下测定。罂粟碱、那可丁、蒂巴因用外标法定量，吗啡、可待因用内标法定量。

5　试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，实验用水应符合GB/T 6682中一级水的要求。

5.1　乙腈（CH_3CN）：色谱纯。

5.2　氨水（$NH_3 \cdot H_2O$）：色谱纯。

5.3　甲醇（CH_3OH）：色谱纯。

5.4　甲酸（HCOOH）：色谱纯。

5.5　乙酸铵（CH_3COONH_4）：色谱纯。

5.6　正己烷（C_6H_{14}）：色谱纯。

5.7　80％乙腈水溶液（80+20，v/v）：量取 80 mL 乙腈（5.1），用水稀释至 100 mL，摇匀备用。

5.8　5％氨水甲醇溶液（5+95，v/v）：量取 5 mL 氨水（5.2），用甲醇（5.3）稀释至 100 mL，摇匀备用。

5.9　乙腈溶液（含 0.1％甲酸）：量取 1 mL 甲酸（5.4），用乙腈（5.1）稀释至 1000 mL，混匀，过滤备用。

5.10　2 mmol/L 乙酸铵溶液（含 0.1％甲酸）：准确称取 0.154 g 乙酸铵（5.5）溶解于适量水中，再加入 1 mL 甲酸（5.4），用水稀释至 1000 mL，混匀，过滤备用。

5.11　标准物质：罂粟碱（$C_{20}H_{21}NO_4$，CAS 号：58-74-2）、吗啡（$C_{17}H_{19}NO_3$，CAS 号：57-27-2）、那可丁（$C_{22}H_{23}NO_7$，CAS 号：128-62-1）、可待因（$C_{18}H_{21}NO_3$，CAS 号：76-57-3）、蒂巴因（$C_{19}H_{21}NO_3$，CAS 号：115-37-7）、吗啡 D3（$C_{17}H_{16}D_3NO$，CAS 号：67293-88-3）、可待因 D3（$C_{18}H_{18}D_3NO_3$，CAS 号：105843-36-5），纯度≥99％。

5.12　标准储备液（100 μg/mL）：精密称取适量罂粟碱、那可丁、蒂巴因、吗啡、可待因、吗啡D3和可待因D3标准品（5.11），用甲醇（5.3）配制成罂粟碱、那可丁、蒂巴因、吗啡、可待因、吗啡D3和可待因D3浓度均为100 μg/mL的标准储备液。-18 ℃避光保存，有效期六个月。
5.13　混合外标工作溶液：精密吸取罂粟碱、那可丁、蒂巴因标准储备液（5.12）各0.1 mL和吗啡、可待因储备液（5.12）各1 mL于20 mL容量瓶中，用甲醇（5.3）定容至刻度，摇匀，即得含有罂粟碱、那可丁、蒂巴因浓度为0.5 μg/mL和吗啡、可待因浓度为5 μg/mL的混合外标工作溶液。4 ℃避光保存，有效期1个月。
5.14　同位素内标工作溶液：精密吸取吗啡D3、可待因D3标准储备液（5.12）各0.1 mL于20 mL容量瓶中，用甲醇（5.3）定容至刻度，摇匀，得到含有吗啡D3、可待因D3浓度为0.5 μg/mL的同位素内标工作溶液。4 ℃避光保存，有效期一个月。
5.15　标准工作溶液：分别精密吸取适量混合外标工作溶液（5.13）和同位素内标工作溶液（5.14），用80%乙腈水溶液（5.7）稀释成罂粟碱、那可丁、蒂巴因浓度为0.5 ng/mL、1 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL，吗啡、可待因浓度分别为5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL，吗啡D3、可待因D3浓度均为100 ng/mL的系列标准工作溶液，临用新配。
5.16　固相萃取柱：混合型强阳离子交换柱（60 mg，3 mL）或相当者。使用前依次用3 mL甲醇和3 mL水活化。
5.17　微孔滤膜：孔径为0.22 μm的疏水性PTFE微孔滤膜。

6　仪器和设备

6.1　液相色谱串联质谱仪：三重四极杆质谱，配有电喷雾离子源（ESI）。
6.2　分析天平：感量为0.001 g和0.01 mg。
6.3　离心机：转速不小于4 000 r/min。
6.4　固相萃取装置。
6.5　氮吹仪。
6.6　涡旋混合器。
6.7　粉碎机。
6.8　匀浆机。

7　试样处理

7.1　样品制备

取所有待测样品（＞50 g），粉碎混匀。混匀好的样品分成两份，分别作为试样（＞20 g）和留样（＞20 g），装于洁净的瓶或袋中，密封并标记，于-18 ℃保存。

7.2　样品处理

称取1 g（精确至 0.001 g）试样于15 mL离心管中，加入200 μL同位素内标工作溶液（5.14），混匀后加入2 mL水分散，再加2 mL正己烷（5.6），涡旋振荡30 s，于6 000 r/min下离心5 min，弃去正己烷层。将剩余清液全部移入固相萃取柱（5.16）中，控制流速在3 mL/min以下，依次用3 mL水、3 mL甲醇（5.3）淋洗，弃去淋洗液，抽干，用2 mL 5%氨水甲醇溶液（5.8）洗脱，洗脱液于50 ℃下氮吹至干，加入1 mL 80%乙腈水溶液（5.7），涡旋混匀，经0.22 μm微孔滤膜（5.17）过滤后，上机测定。

8　测定

8.1　液相色谱参考条件

参照附录A进行。

8.2　质谱参考条件

参照附录B进行。

8.3 定性测定

按照8.1和8.2中液相色谱-质谱/质谱条件测定样品（7.2）和标准工作溶液（5.15），若检测的质量色谱峰保留时间与标准品保留时间相差不超过±2.5%，定性离子对的相对丰度(是用相对于最强离子丰度的强度百分比表示)与浓度相当的标准工作溶液的相对丰度一致，相对丰度（k）允许偏差不超过表1规定的范围，则可判断样品中存在对应的被测物。

表1 定性确定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

8.4 定量测定

取标准工作溶液（5.15）进样，以罂粟碱、那可丁和蒂巴因的色谱峰面积为纵坐标，罂粟碱、那可丁和蒂巴因的浓度为横坐标绘制标准工作曲线，外标法定量；以吗啡和可待因的峰面积与相应内标物峰面积的比值为纵坐标，吗啡和可待因的浓度为横坐标绘制标准工作曲线，内标法定量。在8.1和8.2的色谱和质谱条件下，5种罂粟壳生物碱标准物质提取离子色谱图参见附录C。

8.5 空白试验

除不加试样外，按样品测定步骤进行。

9 试验数据处理

试样中待测物的含量按公式（1）计算获得，计算结果需扣除空白值。

$$X = \frac{c \times V}{m} \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：

X——试样中被测物残留量，单位为微克每千克（μg/kg）；

c——从标准工作曲线得到的被测组分溶液浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V——试样稀释倍数，单位为毫升（mL）；

m——试样质量，单位为克（g）。

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，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15%。

11 定量限

本方法罂粟碱、那可丁和蒂巴因的定量限均为0.5 μg/kg；吗啡和可待因的定量限均为5 μg/kg。

附 录 A
（资料性）
液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

a) 色谱柱：Agilent HILIC plus（粒径 1.8 μm，内径 2.1 mm，长度 100 mm），或性能相当者；
b) 流速：0.4 mL/min；
c) 进样体积：5.0 μL；
d) 柱温：35 ℃±1 ℃；
e) 梯度洗脱程序见表 A.1。

表A.1 梯度洗脱程序

时间 /min	2 mmol/L乙酸铵溶液（含0.1%甲酸） /%	乙腈溶液（含0.1%甲酸） /%
0.0	5	95
0.3	5	95
0.8	15	85
1.5	15	85
2.0	25	75
2.7	25	75
2.8	5	95
5.0	5	95

附 录 B
（资料性）
质谱参考条件

质谱参考条件如下：

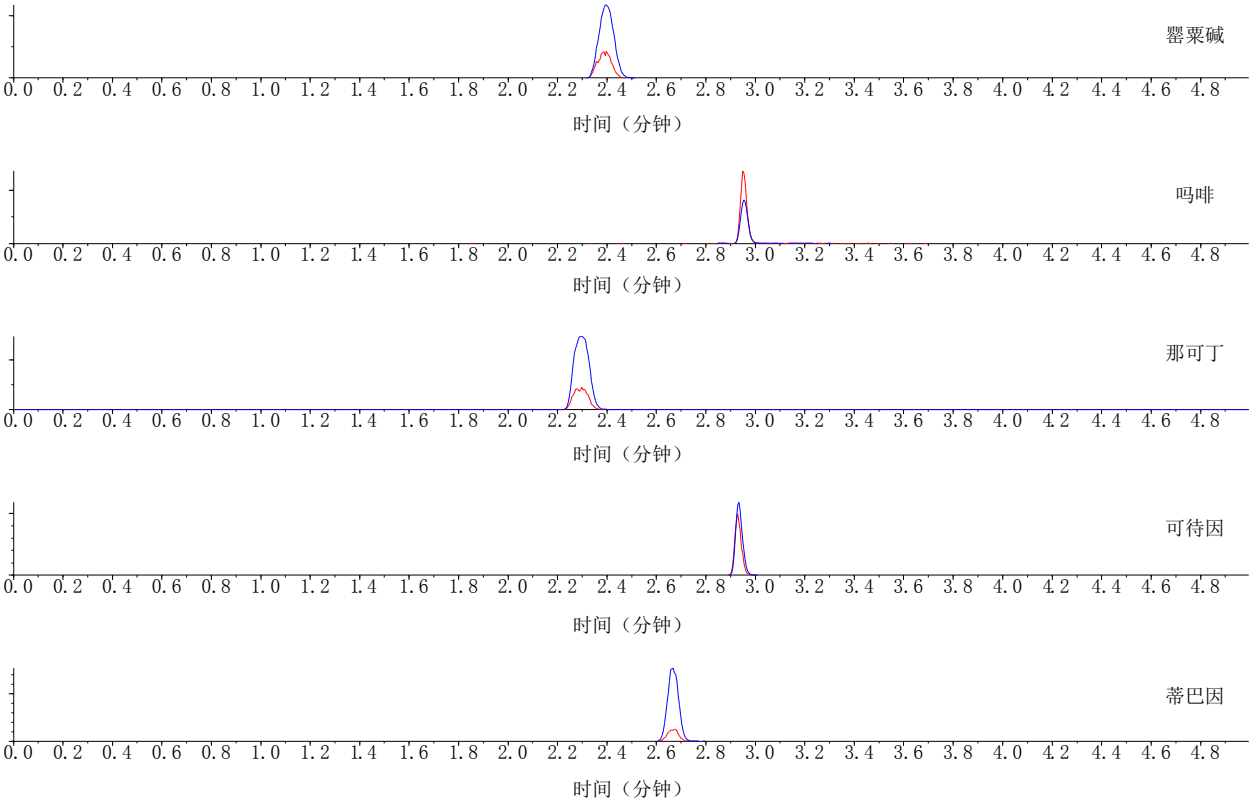
a) 电离方式：电喷雾正离子模式（ESI^+）；
b) 检测方式：多反应离子监测（MRM）；
c) 离子源温度：550 ℃；
d) 电喷雾电压：5 500 V；
e) 气帘气压力：30 psi；
f) 雾化器压力：55 psi；
g) 辅助加热器压力：55 psi；
h) 定性离子对、定量离子对、去簇电压和碰撞电压参见表 B.1。

表B.1 5种罂粟壳生物碱及内标化合物的定量离子对、定性离子对、去簇电压和碰撞电压

组分名称	定性离子对 /m/z	定量离子对 /m/z	去簇电压 /V	碰撞电压 /V
罂粟碱	340.1/202.1	340.1/202.1	60	35
	340.1/171.1		60	45
吗啡	286.1/201.1	286.1/201.1	90	34
	286.1/165.1		90	50
那可丁	414.1/220.1	414.1/220.1	90	30
	414.1/353.1		90	32
可待因	300.1/215.1	300.1/215.1	90	33
	300.1/165.1		90	50
蒂巴因	312.1/58.1	312.1/58.1	60	35
	312.1/251.1		60	35
吗啡D3	289.1/185.1	289.1/185.1	110	40
可待因D3	303.2/215.1	303.2/215.1	110	35

附　录　C
（资料性）
5 种生物碱标准物质多反应监测(MRM)色谱图

图C.1给出了5种生物碱标准物质多反应监测(MRM)色谱图。



图C.1 5 种生物碱标准物质多反应监测(MRM)色谱图