

T/JSIE

团 体 标 准

T/JSIE 0013—2025

银杏叶保健食品中 4'-O-甲基吡哆醇的测定 高效液相色谱-串联质谱法

Determination of 4'-O-methylpyridoxine in Ginkgo Biloba health food products-High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

(征求意见稿)

2025 - XX - XX 发布

2025 - XX - XX 实施

江苏省工程师学会 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 测定步骤	2
8 结果计算与表述	3
9 精密度	3
10 检出限与定量限	3
附录 A (资料性) 4'-O-甲基吡哆醇的特征离子色谱图	4

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。

本文件由江苏省工程师学会提出并归口。

本文件起草单位：南京市产品质量监督检验院（南京市质量发展与先进技术应用研究院）、南京林业大学、江南大学、江苏省工程师学会。

本文件主要起草人：蒋迪尧、张驰、吴肖肖、梅秀明、褚兰玲、叶永丽、余恒琳、朱晓蓉、叶春兰。

本文件为首次发布。

银杏叶保健食品中 4'-O-甲基吡哆醇的测定 高效液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件描述了银杏叶保健食品中4'-O-甲基吡哆醇的高效液相色谱-串联质谱测定方法。
本文件适用于银杏叶加工得到的保健食品中4'-O-甲基吡哆醇含量的测定。

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。

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语与定义。

4 原理

试样中4'-O-甲基吡哆醇经水超声辅助提取、过滤，反相液相色谱柱分离，四极杆质谱检测，外标法定量。

5 试剂和材料

除非另有说明，在分析中仅使用分析纯试剂，以及符合GB/T 6682规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 甲醇 (CH₃OH)：色谱纯。

5.2 标准品

5.2.1 4'-O-甲基吡哆醇 (C₉H₁₃NO₃, CAS号：1464-33-1)：纯度≥98%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.3 标准溶液配制

5.3.1 标准储备液 (1.00 mg/mL)：准确称取 10.0 mg 的 4'-O-甲基吡哆醇标准品，用甲醇溶解并转移至 10 mL 容量瓶中，稀释至刻度，再转移至玻璃试剂瓶中，密封后-20℃下保存，有效期 3 个月。

5.3.2 标准工作液 (1.0 μg/mL)：准确吸取 0.10 mL 的 4'-O-甲基吡哆醇标准储备液至 100 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度，临用现配。

5.4 标准系列工作液配置

分别准确移取标准工作液0.01 mL, 0.02 mL, 0.05 mL, 0.10 mL, 0.20 mL, 0.50 mL, 1.00 mL, 2.00 mL, 5.00 mL至10 mL容量瓶中，用甲醇定容，摇匀，得到质量浓度为1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL、50.0 ng/mL、100.0 ng/mL、200.0 ng/mL和500.0 ng/mL的标准系列工作液。临用现配。

5.5 材料

5.5.1 微孔滤膜：0.22 μm有机系。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱串联质谱仪：带电喷雾离子源。

6.2 天平：感量分别为 0.01 g 和 0.1 mg。

6.3 超声波仪：频率 40 kHz。

6.4 高速粉碎机。

7 测定步骤

7.1 试样制备

粉状样品经混匀后，直接取样；片状、颗粒状样品，经高速粉碎机磨成粉状，封存备用。

7.2 提取

称取 0.50 g（精确至 0.01 g）样品于 50 mL 离心管中，加入 45 mL 水，涡旋 2 min，超声提取 10 min，转移液体并用水定容至 50 mL，取 1 mL 溶液经 0.22 μm 有机滤膜过滤，供仪器分析。

7.3 仪器参考条件

7.3.1 高效液相色谱参考条件

高效液相色谱参考条件如下：

- a) 色谱柱：C₁₈柱，柱长 100 mm，内径 2.1 mm，粒径 1.7 μm，或相当色谱柱；
- b) 进样量：2 μL；
- c) 柱温：40 °C；
- d) 流速：0.25 mL/min；
- e) 流动相A：水；流动相B：甲醇；
- f) 梯度洗脱程序：0~5分钟保持15%B。

7.3.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

- a) 离子源：电喷雾离子源；
- b) 扫描方式：正离子扫描模式；
- c) 干燥气温度：250 °C；
- d) 干燥气流速：10 L/min；
- e) 鞘气温度：300 °C；
- f) 鞘气流速：11 L/min；
- g) 雾化气压力：45 psi；
- h) 毛细管电压：4000 V；
- i) 检测方式：多反应检测模式；
- j) 监测离子对、碰撞能等参数见表1。

表 1 4'-O-甲基吡哆醇的监测离子对、裂解电压、碰撞能

化合物	母离子/ (m/z)	子离子/ (m/z)	裂解电压/V	碰撞能/eV
4'-O-甲基吡哆醇	184.1	152.1*	90	11
	184.1	134.1	90	22

注：*表示定量离子。

7.3.3 标准曲线的制作

将标准系列工作溶液按浓度由低到高注入高效液相色谱-串联质谱仪中，以标准系列工作溶液中4'-O-甲基吡哆醇的浓度为横坐标，以4'-O-甲基吡哆醇的定量离子色谱峰的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

7.3.4 定性测定

在相同实验条件下，试样中4'-O-甲基吡哆醇色谱峰的保留时间与标准色谱峰的保留时间相比较，变化范围应在±2.5%之内。质谱定性离子必须出现，而且同一检测批次对同一化合物试样溶液中的离子相对丰度与标准溶液的离子相对丰度比符合表2的要求。

表2 试样溶液中离子相对丰度的允许偏差范围

相对离子丰度	>50%	>20%~50%	>10%~20%	≤10%
允许相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

7.3.5 定量测定

用高效液相色谱串联质谱仪测定样品和标准溶液，以色谱峰面积按外标法定量，根据标准曲线得到化合物浓度，平行测定不少于两次。当样品中化合物浓度超过标准溶液浓度范围时，适当稀释。在上述色谱和质谱条件下，4'-O-甲基吡哆醇的特征离子色谱图见附录A。

8 结果计算与表述

试样中4'-O-甲基吡哆醇的含量按式（1）计算：

$$X = \frac{\rho \times V}{m \times 1000} \times f \dots \dots \dots (1)$$

式中：

- X ——试样中4'-O-甲基吡哆醇的含量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；
 ρ ——由标准曲线得到试样溶液中4'-O-甲基吡哆醇的质量浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g}/\text{L}$ ）；
 V ——样品溶液定容体积，单位为毫升（ mL ）；
 m ——样品质量，单位为克（ g ）；
 f ——稀释倍数；
 1000 ——单位换算系数。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果算术平均值表示，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 检出限与定量限

4'-O-甲基吡哆醇的参考检出限和定量限见表3。

表3 4'-O-甲基吡哆醇的参考检出限与定量限（以称样量 0.50g 计）

化合物	检出限/（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）	定量限/（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）
4'-O-甲基吡哆醇	0.2	0.7

附录 A
(资料性)

4'-O-甲基吡哆醇的特征离子色谱图

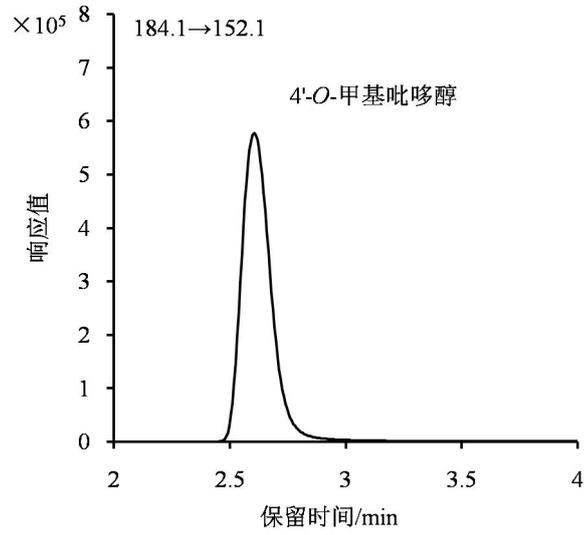


图 A.1 4'-O-甲基吡哆醇定量离子色谱图

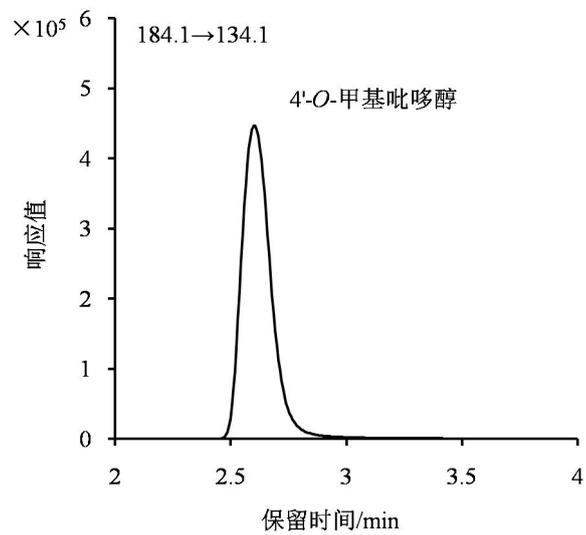


图 A.2 4'-O-甲基吡哆醇定性离子色谱图