



中华人民共和国国家标准

GB/T 32121—2015

牙膏中 4-氨基甲基环己甲酸(凝血酸)的 测定 高效液相色谱串联质谱法

Determination of 4-(aminomethyl) cyclohexanecarboxylic acid
(tranexamic acid) in toothpaste—HPLC-MS/MS

2015-10-09 发布

2016-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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这些专利的责任。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国口腔护理用品标准化技术委员会牙膏分技术委员会(SAC/TC 492/SC 1)归口。

本标准起草单位:大连市产品质量监督检验所(国家日化产品质量监督检验中心)、大连标准检测技术研究中心。

本标准主要起草人:毛希琴、郑顺利、胡侠、任国杰、李春玲、董广斌。

牙膏中 4-氨基甲基环己甲酸(凝血酸)的
测定 高效液相色谱串联质谱法

1 范围

本标准规定了牙膏中 4-氨基甲基环己甲酸(凝血酸)的测定方法 高效液相色谱串联质谱法
本标准适用于牙膏中 4-氨基甲基环己甲酸(凝血酸)的测定。
本标准方法检出限:0.3 μg/g;定量下限:1.0 μg/g。

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 6379.1 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度) 第 1 部分:总则与定义

GB/T 6379.2 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度) 第 2 部分:确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 方法要点

牙膏先用水溶液分散,然后加入二氯甲烷,涡旋离心去除固形物及大部分的表面活性剂后,上清液与 3%甲酸水溶液混合后酸性条件下过强阳离子固相萃取小柱,1.5%甲酸水溶液淋洗柱床,20%甲醇水溶液(含 2%氨水)洗脱目标物,洗脱液经 3%甲酸水溶液中和并定容后,由液相色谱分离,串联质谱法测定,标准曲线外标法定量。因目标物在低浓度下不稳定,提取及固相萃取过程均需以乙二胺四乙酸(EDTA)二钠作为稳定剂进行保护。

4 标准物质与试剂

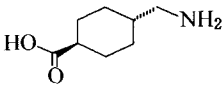
除另有规定外,所用试剂均为分析纯,水为符合 GB/T 6682 的实验室用一级水。

4.1 标准物质

表 1 标准物质信息

化合物名称	4-氨基甲基环己甲酸
英文名称	4-(aminomethyl)cyclohexanecarboxylic acid, tranexamic acid
别名	氨甲环酸,凝血酸,止血环酸
CAS 号	1197-18-8
分子式	C ₈ H ₁₅ NO ₂

表 1 (续)

化合物名称	4-氨基甲基环己甲酸
分子结构式	
分子量	157.21
纯度	≥99.0%

4.2 甲酸:色谱纯(配制色谱流动相使用)

4.3 甲醇:色谱纯(配制色谱流动相使用)

4.4 甲醇

4.5 甲酸

4.6 二氯甲烷

4.7 氨水(25%)

4.8 乙二胺四乙酸(EDTA)二钠

4.9 1.5%甲酸水溶液

7.5 mL 甲酸(4.4)+0.003 7 g EDTA 二钠(4.8),加水溶解并定容至 500 mL。

4.10 3%甲酸水溶液

15 mL 甲酸(4.4)+0.003 7 g EDTA 二钠(4.8),加水溶解并定容至 500 mL。

4.11 0.02 mmol/L EDTA 二钠水溶液

称取 0.003 7 g EDTA 二钠(4.8),加水溶解并定容至 500 mL。

4.12 20%甲醇水溶液(含 2%氨水)

10 mL 氨水(4.7)+ 100 mL 甲醇(4.4)+0.003 7 g EDTA 二钠(4.8),加水溶解并定容至 500 mL。

4.13 SCX(强阳离子)固相萃取小柱:200 mg,3 mL

预先分别用 3 mL 甲醇(4.4)和 3 mL 1.5%甲酸水溶液(4.9)处理后待用。

4.14 标准贮备液(1 mg/mL)

准确称取 4-氨基甲基环己甲酸标准物质各 10.0 mg ,用 0.02 mmol/L EDTA 二钠水溶液(4.11)溶解定容至 10.0 mL,配置浓度为 1 mg/mL 的标准储备溶液,于冰箱冷藏保存,保存期 1 个月。

4.15 标准工作溶液

临用时用 0.02 mmol/L EDTA 二钠水溶液(4.11)稀释成 10 μg/L,20 μg/L,50 μg/L,100 μg/L,200 μg/L 系列浓度的标准工作溶液。

5 仪器

5.1 高效液相色谱串联四级杆质谱联用仪(ESI 源)

5.2 分析天平:感量 0.1 mg,0.01 mg

5.3 旋涡混合器

5.4 超声波清洗器

5.5 离心机:转速不低于 5 000 r/min,容量 10 mL

5.6 移液枪或移液器

6 试样制备

6.1 提取

牙膏样品挤出约 2 cm,弃去,称取 0.2 g(精确至 0.1 mg)牙膏样品于 10 mL 刻度试管中,加入 4 mL EDTA 二钠水溶液(4.11)涡旋或超声至样品完全分散,然后加入 3 mL 二氯甲烷(4.6),涡旋 1 min~2 min,5 000 r/min 离心 10 min,准确移取 1 mL 上清液于 5 mL 离心管中,向离心管中加入 1 mL 3% 甲酸水溶液(4.10),超声混匀后(勿振荡,避免溶液产生泡沫)待进一步净化。

6.2 净化

将待净化溶液小心加入预先处理好的 SCX 固相萃取小柱,用 1 mL 1.5% 甲酸水溶液(4.9)润洗离心管(勿剧烈震荡或涡旋,可适当超声,否则会因溶液泡沫而无法完全转移),润洗溶液也加入固相萃取小柱,待所有溶液通过固相萃取小柱后,用 3 mL 1.5% 甲酸水溶液(4.9)淋洗柱床,弃去所有流出溶液,然后在柱出口处放置 5 mL 具塞刻度试管。继续向柱床加入 3 mL 20% 甲醇水溶液(含 2% 氨水)(4.12)洗脱目标物,收集所有洗脱溶液,用 3% 甲酸水溶液(4.10)中和并定容至 4 mL,涡旋混匀后待测。

注:若待测液中目标物浓度高于 500 $\mu\text{g/mL}$,需稀释至适当浓度后再进行测试。

7 测定

7.1 色谱条件

色谱条件为:

- a) 色谱柱:SB-AQ 色谱柱 2.7 μm ,3.0 mm $\times$ 100 mm 或相当者;
- b) 流动相:15% 甲醇水溶液(含 0.1% 甲酸);
- c) 流速:0.3 mL/min;
- d) 柱温:25 $^{\circ}\text{C}$;
- e) 进样量:2 μL 。

7.2 质谱条件

质谱条件为:

- a) 电离方式:电喷雾电离,正离子模式,ESI(+);
- b) 雾化气:氮气,241.3 kPa(35 psi);

- c) 干燥气:氮气,流速 9 L/min;
- d) 温度:350 ℃;
- e) 碰撞气:氮气;
- f) 毛细管电压:4 000 V;
- g) 检测方式:多反应监测(MRM);
- h) 其他条件见表 2。

表 2 其他条件

质谱条件	参数
4-氨基甲基环己甲酸母离子	158.1
定量离子(碰撞电压 eV)	95.1 (12)
定性离子(碰撞电压 eV)	122.9 (4)
碎裂电压/eV	100

7.3 定性结果

在同一色谱/质谱条件下进行标准溶液和样品溶液的测定,如果样品溶液中检出的色谱峰的保留时间与某标准物质色谱峰的保留时间一致(变化范围在±2.5%之内),所选择的 2 对检测离子对的质荷比也一致,而且监测离子对的相对丰度比与相当浓度标准溶液的监测离子对的相对丰度比的偏差不超过表 3 规定范围,则可判定样品中存在相应的目标成分。标准物质总离子流质谱图和提取离子(定量)质谱图参见附录 A。

表 3 定性确定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

7.4 定量结果

样品溶液中目标物的含量,用标准曲线外标法确定。牙膏样品中目标物的含量 X ,按式(1)进行计算,结果以 $\mu\text{g/g}$ 表示。

$$X = \frac{c \times V}{m} \times 10^{-3} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

c ——从标准曲线中计算出的样品溶液中目标物的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

V ——按稀释倍数折算的被测样液总体积,单位为毫升(mL);

m ——称取样品的质量,单位为克(g)。

计算结果至少保留 3 位有效数字。

8 平行试验

按照所建立的方法操作,对同一样品独立进行测定,获得的两次独立测试结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

9 回收率和精密度

参照 GB/T 6379.1 和 GB/T 6379.2 的方法要求,本标准在 $1\ \mu\text{g/g}\sim 100\ \mu\text{g/g}$ 添加水平范围内的平均提取回收率为 $90\%\sim 105\%$, 相对标准偏差均小于 10% 。

附录 A
(资料性附录)
4-氨基甲基环己甲酸谱图

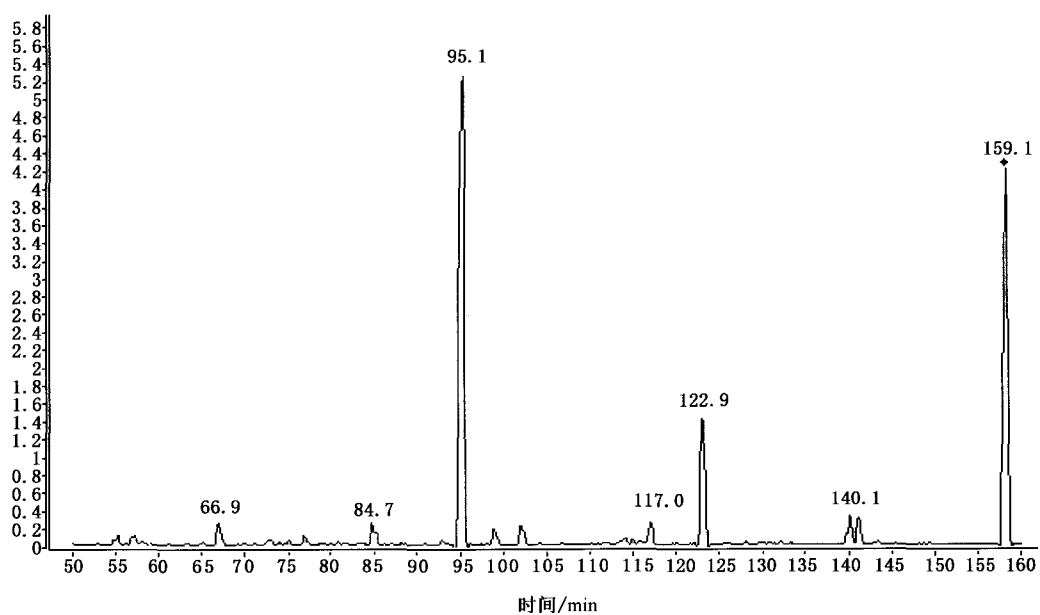


图 A.1 4-氨基甲基环己甲酸的离子扫描质谱图

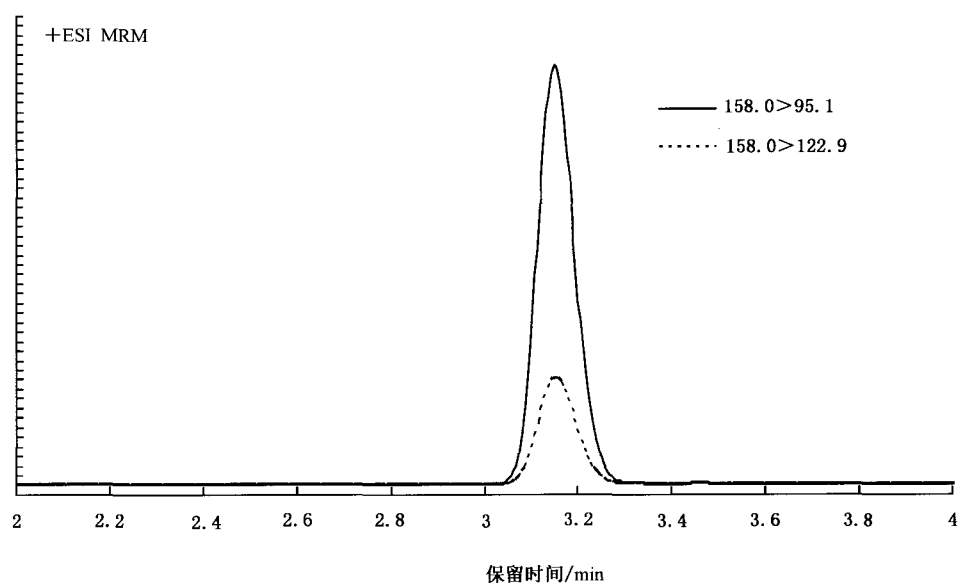


图 A.2 4-氨基甲基环己甲酸的 MRM 模式质谱图