

中华人民共和国国家标准

GB 5009.284—2021

食品安全国家标准

食品中香兰素、甲基香兰素、 乙基香兰素和香豆素的测定

2021-09-07 发布

2022-03-07 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局 发布

食品安全国家标准

食品中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素的测定

1 范围

本标准规定了食品中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素的测定方法。

本标准适用于婴幼儿配方食品、婴幼儿辅助食品、糕点、糖果、乳及乳制品、饮料、小麦粉中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素的测定。

第一法 液相色谱法

2 原理

试样加水混匀后,加入乙腈超声提取,经液相色谱分离,紫外检测器或二极管阵列检测器检测,外标法定量。

3 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。

3.1 试剂与材料

- 3.1.1 乙腈(CH_3CN):色谱纯。
- 3.1.2 甲酸(HCOOH):色谱纯。
- 3.1.3 甲醇(CH_3OH):色谱纯。
- 3.1.4 氯化钠(NaCl)。
- 3.1.5 浓盐酸(HCl):12 mol/L。
- 3.1.6 微孔滤膜:0.45 μm ,有机相型。

3.2 试剂配制

- 3.2.1 0.1%甲酸甲醇溶液:吸取 1 mL 甲酸溶于甲醇并稀释至 1 000 mL,临用现配。
- 3.2.2 盐酸溶液(1 mol/L):吸取 8.33 mL 浓盐酸,溶于水并稀释至 100 mL,临用现配。
- 3.2.3 甲醇-水溶液(4+1):将甲醇和水按 4:1(体积比)混合均匀。
- 3.2.4 0.5%甲酸溶液:吸取 5 mL 甲酸,溶于水并稀释至 1 000 mL,临用现配。

3.3 标准品

- 3.3.1 香兰素标准品($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$,CAS 号:121-33-5):纯度 $\geq 98\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

3.3.2 甲基香兰素标准品($C_9H_{10}O_3$, CAS号:120-14-9):纯度 $\geq 98\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

3.3.3 乙基香兰素标准品($C_9H_{10}O_3$, CAS号:121-32-4):纯度 $\geq 98\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

3.3.4 香豆素标准品($C_9H_6O_2$, CAS号:91-64-5):纯度 $\geq 97\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 标准储备液(1 000 mg/L):准确称取香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素、香豆素各 10 mg(精确至 0.1 mg),分别置于 10 mL 容量瓶中,用 0.1%甲酸甲醇溶液溶解并定容至刻度,混匀。将溶液转移至棕色玻璃容器内, $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 下避光保存,保存期 8 个月。

3.4.2 标准混合中间液(10 mg/L):吸取香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素、香豆素的标准储备液(1 000 mg/L)各 1.00 mL,置于 100 mL 容量瓶中,加 0.1%甲酸甲醇定容至刻度,混匀。将溶液转移至棕色玻璃容器中, $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 下避光保存,保存期 3 个月。

3.4.3 标准混合系列工作液:分别吸取标准混合中间液(10 mg/L)0.2 mL、1.0 mL、5.0 mL,置于 10 mL 容量瓶中,另分别吸取香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素、香豆素的标准储备液(1 000 mg/L)0.2 mL、0.5 mL和 1 mL,置于 10 mL 容量瓶中,加甲醇-水溶液定容至刻度,混匀。标准混合系列工作液的浓度分别为 0.2 mg/L、1.0 mg/L、5.0 mg/L、20.0 mg/L、50.0 mg/L、100.0 mg/L,临用现配。

4 仪器和设备

4.1 液相色谱仪:配有二极管阵列或紫外检测器。

4.2 天平:感量分别为 0.1 mg 和 0.01 g。

4.3 涡旋混合器。

4.4 离心机。

4.5 氮气浓缩装置。

4.6 超声波发生器。

5 分析步骤

5.1 样品前处理

5.1.1 试样制备

液态试样摇匀;基质均匀的半固态试样和粉状试样直接用于 5.1.2 试样提取;其他试样需匀浆或粉碎均匀。

5.1.2 试样提取

5.1.2.1 婴幼儿配方食品、婴幼儿辅助食品

称取 1.00 g 试样,加入 10 mL 水和 480 μL 盐酸溶液,涡旋振荡 1 min,加入 20 mL 乙腈,涡旋振荡 1 min,超声提取 30 min 后,加入 5 g 氯化钠,涡旋振荡 2 min,8 000 r/min 离心 5 min,取上清液至玻璃试管,40 $^\circ\text{C}$ 氮吹至近干,准确加入 1.0 mL 甲醇-水溶液溶解残渣,过 0.45 μm 微孔滤膜后,待测。

5.1.2.2 糕点、糖果、乳及乳制品、饮料

称取 1.00 g 试样,加入 5 mL 水(胶基糖果加入 10 mL 水,50 °C 水浴溶解),涡旋振荡 1 min,加入 20 mL 乙腈,涡旋振荡 1 min,超声提取 30 min 后,加入 5 g 氯化钠,涡旋振荡 2 min,8 000 r/min 离心 5 min(对于含油脂高的糕点样品,采取冷冻离心,8 000 r/min),取上清液至玻璃试管,40 °C 氮吹至近干,准确加入 1.0 mL 甲醇-水溶液溶解残渣,过 0.45 μm 微孔滤膜后,待测。

5.1.2.3 小麦粉

称取 1.00 g 试样,加入 10 mL 水和 240 μL 盐酸溶液,涡旋振荡 1 min,加入 20 mL 乙腈,涡旋振荡 1 min,超声提取 30 min 后,加入 5 g 氯化钠,涡旋振荡 2 min,8 000 r/min 离心 5 min,取上清液至玻璃试管,40 °C 氮吹至近干,准确加入 1.0 mL 甲醇-水溶液溶解残渣,过 0.45 μm 微孔滤膜后,待测。

5.2 仪器参考条件

5.2.1 色谱柱: C₁₈ 柱, 250 mm×4.6 mm(内径), 5 μm(填料粒径)或相当者。

5.2.2 柱温: 30 °C。

5.2.3 进样量: 10 μL。

5.2.4 检测波长: 279 nm。

5.2.5 流速: 1.0 mL/min。

5.2.6 流动相

A 相: 0.5% 甲酸溶液;

B 相: 乙腈。

梯度洗脱见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0.0	55	45
5.0	40	60
5.1	10	90
8.0	10	90
9.1	55	45
14.0	55	45

5.3 标准曲线的制作

将标准混合系列工作液分别注入液相色谱仪中,测定相应的峰面积,以标准系列工作液中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素的浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素、香豆素标准溶液的色谱图参见附录 A 中图 A.1。

5.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱仪中,得到峰面积,根据标准曲线得到试样溶液中被测化合物的浓度。

6 分析结果的表述

试样中被测化合物的含量按式(1)计算。

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

式中:

- X_i —— 试样中被测化合物的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- ρ —— 由标准曲线得到的试样溶液中被测化合物的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);
- V —— 试样最终定容体积,单位为毫升(mL);
- m —— 试样的取样量,单位为克(g)。
- 1 000 —— 换算系数。

注: 计算结果需扣除空白值,保留小数点后两位数字。

7 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%。

8 其他

本方法的检出限均为 0.07 mg/kg,定量限均为 0.20 mg/kg。

第二法 液相色谱-质谱/质谱法

9 原理

试样加水混匀后,经乙腈超声提取,提取液经固相萃取柱净化后,液相色谱-质谱/质谱仪测定,内标法定量。

10 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。

10.1 试剂及材料

- 10.1.1 乙腈(CH_3CN):色谱纯。
- 10.1.2 甲酸(HCOOH):色谱纯。
- 10.1.3 甲醇(CH_3OH):色谱纯。
- 10.1.4 氯化钠(NaCl)。
- 10.1.5 浓盐酸(HCl):12 mol/L。
- 10.1.6 含极性基团的反相聚合物固相萃取柱:60 mg、3 mL,或相当者。含极性基团的反相聚合物固相萃取柱吸附剂是由亲脂性二乙烯苯和亲水性 *N*-乙烯基吡咯烷酮两种单体按照一定比例聚合而成的大孔聚合物。使用前用 3 mL 甲醇、3 mL 水活化。

10.1.7 微孔滤膜:0.22 μm ,有机相型。

10.2 试剂配制

10.2.1 0.1%甲酸甲醇溶液:吸取1 mL甲酸溶于甲醇并稀释至1 000 mL,临用现配。

10.2.2 盐酸溶液(1 mol/L):吸取8.33 mL浓盐酸,溶于水并稀释至100 mL,临用现配。

10.2.3 甲醇-水溶液(4+1):将甲醇和水按4:1(体积比)混合均匀。

10.2.4 0.5%甲酸溶液:吸取5 mL甲酸,溶于水并稀释至1 000 mL,临用现配。

10.3 标准品

10.3.1 香兰素标准品($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$,CAS号:121-33-5):纯度 $\geq 98\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

10.3.2 甲基香兰素标准品($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$,CAS号:120-14-9):纯度 $\geq 98\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

10.3.3 乙基香兰素标准品($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$,CAS号:121-32-4):纯度 $\geq 98\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

10.3.4 香豆素标准品($\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_2$,CAS号:91-64-5):纯度 $\geq 97\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

10.3.5 D_3 -香兰素标准品($\text{C}_8\text{H}_5\text{D}_3\text{O}_3$,CAS号:74495-74-2):纯度 $\geq 98\%$ 。

10.3.6 D_3 -甲基香兰素标准品($\text{C}_9\text{H}_7\text{D}_3\text{O}_3$,CAS号:143318-06-3):纯度 $\geq 98\%$ 。

10.3.7 D_5 -乙基香兰素标准品($\text{C}_9\text{H}_5\text{D}_5\text{O}_3$,CAS号:1335401-74-5):纯度 $\geq 98\%$ 。

10.3.8 D_4 -香豆素标准品($\text{C}_9\text{H}_2\text{D}_4\text{O}_2$,CAS号:185056-83-1):纯度 $\geq 98\%$ 。

10.4 标准溶液配制

10.4.1 标准储备液(1 000 mg/L):同3.4.1。

10.4.2 标准混合中间液(10 mg/L):同3.4.2。

10.4.3 内标储备液(1 000 mg/L):准确称取 D_3 -香兰素、 D_3 -甲基香兰素、 D_5 -乙基香兰素、 D_4 -香豆素各10 mg(精确至0.1 mg),分别置于10 mL容量瓶中,用0.1%甲酸甲醇溶液溶解并定容至刻度,混匀将溶液转移至棕色玻璃容器内, -18°C 下避光保存,保存期8个月。

10.4.4 内标混合中间液(10 mg/L):吸取 D_3 -香兰素、 D_3 -甲基香兰素、 D_5 -乙基香兰素、 D_4 -香豆素的标准储备液(1 000 mg/L)各1.00 mL,置于100 mL容量瓶中,加0.1%甲酸甲醇溶液定容至刻度,混匀。将溶液转移至棕色玻璃容器内, -18°C 下避光保存,保存期3个月。

10.4.5 标准及内标混合系列工作液:分别吸取标准混合中间液(10 mg/L)0.05 mL、0.2 mL、0.5 mL、1 mL、2 mL和内标混合中间液(10 mg/L)0.1 mL,置于10 mL容量瓶中,加甲醇-水溶液定容至刻度,混匀。标准及内标混合系列工作液的浓度分别为0.05 mg/L、0.2 mg/L、0.5 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L,内标的浓度均为0.1 mg/L。临用现配。

11 仪器和设备

11.1 液相色谱串联四极杆质谱仪:带电喷雾离子源。

11.2 天平:感量为0.1 mg和0.01 g。

11.3 涡旋混合器。

11.4 离心机。

11.5 高速冷冻离心机。

- 11.6 氮气浓缩装置。
- 11.7 超声波发生器。
- 11.8 固相萃取装置。

12 分析步骤

12.1 样品前处理

12.1.1 试样制备

液态试样摇匀;基质均匀的半固态试样和粉状试样直接用于 12.1.2 试样提取;胶基质糖果粉碎,搅匀;其他试样需匀浆或粉碎均匀。

12.1.2 试样提取

12.1.2.1 婴幼儿配方食品、婴幼儿辅助食品

称取 1.00 g 试样,加入 10 μ L 内标混合中间液,加入 10 mL 水和 480 μ L 盐酸溶液,涡旋振荡 1 min,加入 20 mL 乙腈,涡旋振荡 1 min,超声提取 30 min 后,加入 5 g 氯化钠,涡旋振荡 2 min,8 000 r/min 离心 5 min,取上清液至玻璃试管,待净化。

12.1.2.2 糕点、糖果、乳及乳制品、饮料

称取 1.00 g 试样,加入 10 μ L 内标混合中间液,加入 5 mL 水(胶基糖果加入 10 mL 水,50 $^{\circ}$ C 水浴溶解),涡旋振荡 1 min,加入 20 mL 乙腈,涡旋振荡 1 min,超声提取 30 min 后,加入 5 g 氯化钠,涡旋振荡 2 min,8 000 r/min 离心 5 min(对于含油脂高的糕点样品,采取冷冻离心,8 000 r/min),取上清液至玻璃试管,待净化。

12.1.2.3 小麦粉

称取 1.00 g 试样,加入 10 μ L 内标混合中间液,加入 10 mL 水和 240 μ L 盐酸溶液,涡旋振荡 1 min,加入 20 mL 乙腈,涡旋振荡 1 min,超声提取 30 min 后,加入 5 g 氯化钠,涡旋振荡 2 min,8 000 r/min 离心 5 min,取上清液至玻璃试管,待净化。

12.1.3 试样净化

将 12.1.2 中得到的上清液于 40 $^{\circ}$ C 氮吹至近干,加入 1 mL 甲醇溶解残渣,用水定容至 10 mL,使该样液以小于 1 mL/min 的流速通过固相萃取柱。样液全部流出后,用 5 mL 水淋洗,负压抽干,10 mL 甲醇-水溶液洗脱,负压抽干,收集洗脱液,40 $^{\circ}$ C 氮吹至近干,准确加入 1 mL 甲醇-水溶液溶解残渣,过 0.22 μ m 微孔滤膜后,待测。

12.2 仪器参考条件

12.2.1 液相色谱参考条件

- 12.2.1.1 色谱柱: C₁₈ 柱,100 mm \times 2.1 mm(内径),1.8 μ m(填料粒径),或相当者。
- 12.2.1.2 进样量:5 μ L。
- 12.2.1.3 柱温:30 $^{\circ}$ C。
- 12.2.1.4 流速:0.3 mL/min。
- 12.2.1.5 流动相

A相:0.5%甲酸溶液;

B相:乙腈。

梯度洗脱见表2。

表2 梯度洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0.0	55	45
5.00	40	60
5.01	10	90
8.00	10	90
8.01	55	45
12.00	55	45

12.2.2 质谱/质谱参考条件

12.2.2.1 电离方式:电喷雾电离,正离子模式。

12.2.2.2 扫描方式:多反应监测(MRM)。

12.2.2.3 干燥气温度:300℃。

12.2.2.4 干燥气流速:8 L/min。

12.2.2.5 鞘气温度:350℃。

12.2.2.6 鞘气流速:10 L/min。

12.2.2.7 监测离子对参数情况见表3。

表3 监测离子对参考质谱条件

化合物	定性离子对及碰撞能量 eV	定量离子对及碰撞能量 eV	破碎电压 V
香兰素	153.0/93.2(13) 153.0/65.2(29)	153.0/65.2(29)	111
甲基香兰素	167.1/139.0(13) 167.1/124.1(21)	167.1/139.0(13)	123
乙基香兰素	167.1/110.9(5) 167.1/92.9(45)	167.1/110.9(5)	111
香豆素	147.0/91.1(30) 147.0/103.0(20)	147.0/91.1(30)	117
D ₃ -香兰素	156.2/65.0(55)	156.2/65.0(55)	106
D ₃ -甲基香兰素	170.2/142.1(13)	170.2/142.1(13)	106
D ₅ -乙基香兰素	172.0/93.1(21)	172.0/93.1(21)	101
D ₄ -香豆素	151.1/95.1(29)	151.1/95.1(29)	122

12.3 标准曲线的制作

将标准及内标混合系列工作液分别注入液相色谱-质谱/质谱仪中,测定相应的峰面积,以标准系列

工作液中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素、香豆素的浓度为横坐标,以香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素的峰面积与内标 D₃-香兰素、D₃-甲基香兰素、D₅-乙基香兰素和 D₄-香豆素的峰面积的比值为纵坐标,绘制标准曲线。香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素标准溶液的色谱图参见附录 B 中图 B.1~图 B.8。

12.4 定性测定

按照液相色谱-质谱/质谱条件测定试样溶液和标准工作溶液,如果被测化合物保留时间与标准品保留时间相差不超过±2.5%,并且在扣除背景后的样品质谱图中,所选择的离子均出现且信噪比≥3,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允许偏差不超过表 4 规定的范围,则可判断样品中存在对应的被测物。

表 4 定性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%
允许的最大偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

12.5 定量测定

将试样溶液注入液相色谱-质谱/质谱仪中,得到被测化合物的峰面积与对应同位素内标的峰面积的比值,根据标准曲线得到试样溶液中被测化合物的浓度。

13 分析结果的表述

试样中被测化合物的含量按式(2)计算。

$$X_i = \frac{\rho \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

X_i ——试样溶液中被测化合物的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

ρ ——由标准曲线得到的试样溶液中被测化合物的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V ——试样最终定容体积,单位为毫升(mL);

m ——试样的取样量,单位为克(g)。

1 000——换算系数。

注:计算结果需扣除空白值,保留小数点后两位数字。

14 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%。

15 其他

本方法的检出限均为 0.02 mg/kg,定量限均为 0.05 mg/kg。

第三法 气相色谱-质谱法

16 原理

试样加水混匀后,经乙腈超声提取,提取液经固相萃取柱净化后,气相色谱-质谱仪测定,内标法定量。

17 试剂和材料

17.1 试剂与材料

同 10.1。

17.2 试剂配制

同 10.2。

17.3 标准品

同 10.3。

17.4 标准溶液配制

17.4.1 标准储备液(1 000 mg/L):同 3.4.1。

17.4.2 标准混合中间液(10 mg/L):同 3.4.2。

17.4.3 内标储备液(1 000 mg/L):同 10.4.3。

17.4.4 内标混合中间液(10 mg/L):同 10.4.4。

17.4.5 标准及内标混合系列工作液:同 10.4.5。

18 仪器和设备

18.1 气相色谱-质谱仪:带电子轰击电离源。

18.2 天平:感量为 0.1 mg 和 0.01 g。

18.3 涡旋混合器。

18.4 离心机。

18.5 高速冷冻离心机。

18.6 氮气浓缩装置。

18.7 超声波发生器。

18.8 固相萃取装置。

19 分析步骤

19.1 样品前处理

19.1.1 试样制备

同 12.1.1。

19.1.2 试样提取

同 12.1.2。

19.1.3 试样净化

将 19.1.2 中得到的上清液 40 °C 下用氮气吹至近干,加入 1 mL 甲醇溶解残渣,用水定容至 10 mL,使该样液以小于 1 mL/min 的流速通过固相萃取柱。样液全部流出后,用 5 mL 水淋洗,负压抽干,用 10 mL 甲醇-水溶液洗脱,负压抽干,收集洗脱液,40 °C 下用氮气吹至近干,准确加入 1 mL 甲醇溶解残渣,过 0.22 μm 微孔滤膜后,待测。

19.2 仪器参考条件

19.2.1 气相色谱参考条件

19.2.1.1 色谱柱:极性石英毛细管柱[聚乙二醇,30 m×0.25 mm(内径),0.25 μm(膜厚)],或相当者。

19.2.1.2 柱温:初始炉温 100 °C,以 10 °C/min 程序升温至 220 °C,保持 8 min。

19.2.1.3 进样量:1.0 μL。

19.2.1.4 载气:氮气,流速 1.0 mL/min。

19.2.1.5 进样口温度:250 °C。

19.2.1.6 进样方式:不分流进样,1.5 min 后打开分流阀和隔垫吹扫阀。

19.2.2 质谱参考条件

19.2.2.1 电离方式:电子轰击电离源(EI)。

19.2.2.2 电离能量:70 eV。

19.2.2.3 离子源温度:230 °C

19.2.2.4 传输线温度:250 °C。

19.2.2.5 溶剂延迟:8 min。

19.2.2.6 离子监测方式:选择离子扫描。

19.2.2.7 监测离子:选择离子监测条件见表 5。

表 5 香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素及其氘代内标物质的监测离子

序号	化合物名称	定性离子 (<i>m/z</i>)	定量离子 (<i>m/z</i>)
1	香兰素	151, 152, 123	151
2	甲基香兰素	166, 165, 151	166
3	乙基香兰素	166, 137, 138	166

表 5 (续)

序号	化合物名称	定性离子 (<i>m/z</i>)	定量离子 (<i>m/z</i>)
4	香豆素	118, 146, 89	118
5	D ₃ -香兰素	154, 155, 126	154
6	D ₃ -甲基香兰素	169, 168, 170	169
7	D ₅ -乙基香兰素	171, 138, 139	171
8	D ₄ -香豆素	122, 150, 94	122

19.3 标准曲线的绘制

将标准及内标混合系列工作液分别注入气相色谱-质谱仪中,测定相应的峰面积,以标准系列工作液中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素、香豆素的浓度为横坐标,以香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素的峰面积与内标 D₃-香兰素、D₃-甲基香兰素、D₅-乙基香兰素和 D₄-香豆素的峰面积的比值为纵坐标,绘制标准曲线。香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素标准溶液的色谱图参见附录 C 中图 C.1。

19.4 定性测定

在上述气相色谱-质谱测定条件下,香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素、香豆素标准品的选择离子监测 GC-MS 图参见附录 C 中图 C.2。

样品溶液按照气相色谱-质谱测定条件进行分析时,如果检出的色谱峰保留时间与标准溶液中的某目标化合物保留时间相差不超过±0.5%,并且在扣除背景后的样品质谱图中,所选择的离子均出现且信噪比≥3,而且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允许偏差不超过表 6 规定的范围,则可判断样品中存在对应的被测物。

表 6 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%
允许的相对偏差	±10%	±15%	±20%	±50%

19.5 定量测定

将试样溶液注入气相色谱-质谱仪中,得到被测化合物的峰面积与对应同位素内标的峰面积的比值,根据标准曲线得到试样溶液中被测化合物的浓度。

20 分析结果的表述

试样中被测化合物的含量按式(3)计算。

$$X_i = \frac{\rho \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

X_i —— 试样溶液中被测化合物的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

ρ —— 由标准曲线得到的试样溶液中被测化合物的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V ——试样最终定容体积,单位为毫升(mL);

m ——试样的取样量,单位为克(g)。

1 000 ——换算系数。

注:计算结果需扣除空白值,保留小数点后两位数字。

21 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%。

22 其他

本方法的检出限均为 0.02 mg/kg,定量限均为 0.05 mg/kg。

附录 A

香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素、香豆素液相色谱图

香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素、香豆素标准溶液(0.2 mg/L)典型液相色谱图见图 A.1。

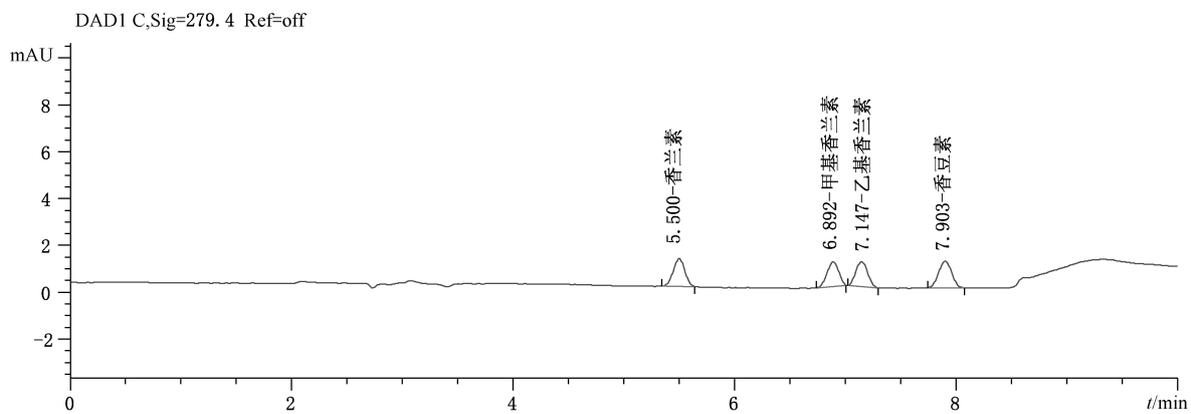


图 A.1 香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素、香豆素标准溶液(0.2 mg/L)液相色谱图

附录 B

4 种化合物与对应氘代同位素内标液相色谱-质谱/质谱特征离子色谱图

香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素、香豆素标准溶液(0.05 mg/L)与对应氘代同位素内标标准溶液(0.1 mg/L)液相色谱-质谱/质谱特征离子色谱图见图 B.1~图 B.8。

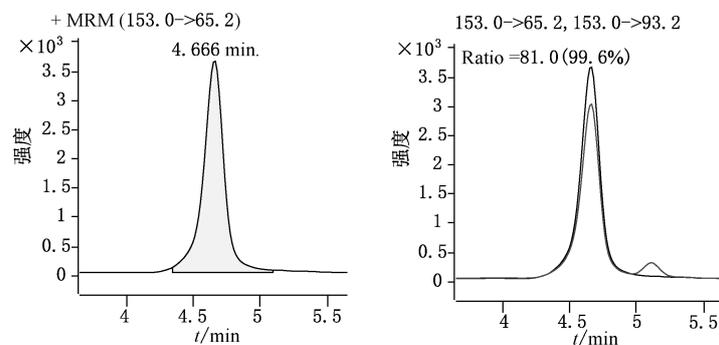


图 B.1 香兰素标准溶液液相色谱-质谱/质谱图

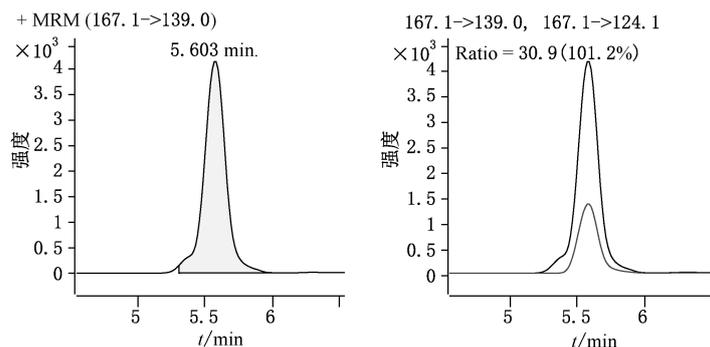


图 B.2 甲基香兰素标准溶液液相色谱-质谱/质谱图

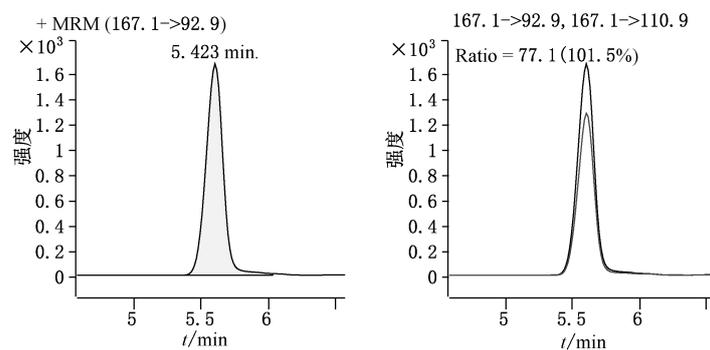


图 B.3 乙基香兰素标准溶液液相色谱-质谱/质谱图

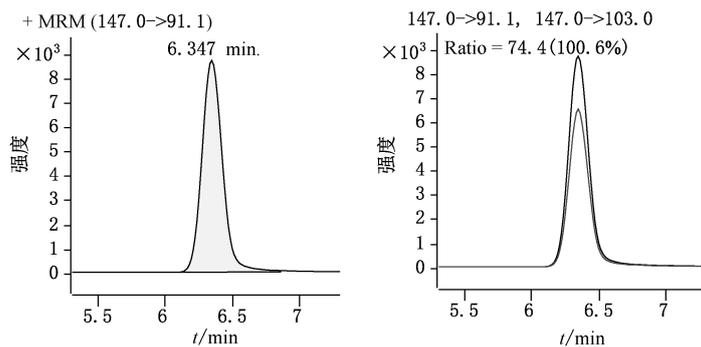


图 B.4 香豆素标准溶液液相色谱-质谱/质谱图

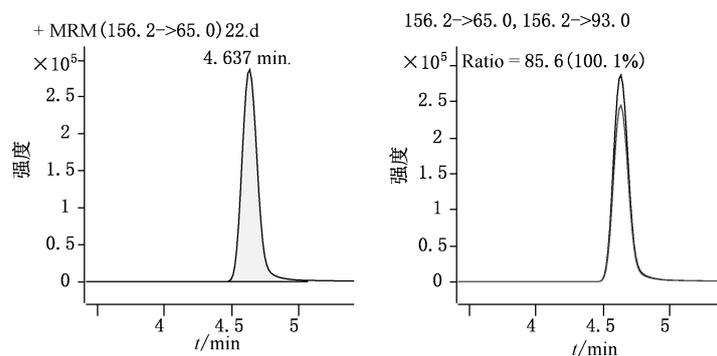


图 B.5 D₃-香兰素标准溶液液相色谱-质谱/质谱图

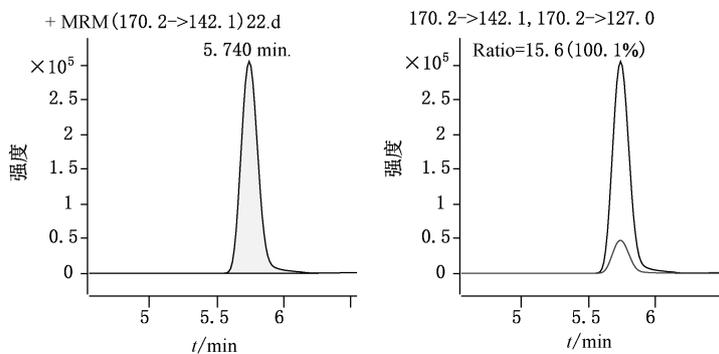


图 B.6 D₃-甲基香兰素标准溶液液相色谱-质谱/质谱图

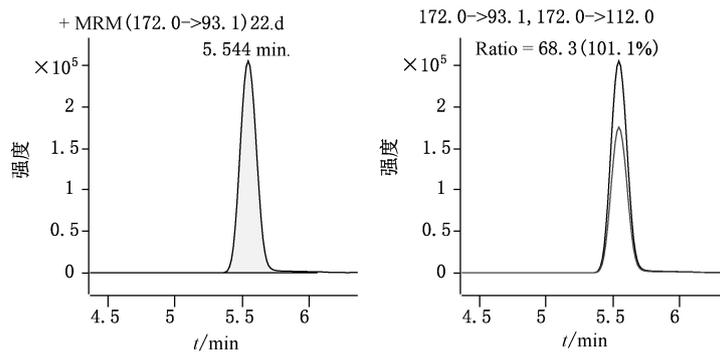


图 B.7 D₅-乙基香兰素标准溶液液相色谱-质谱/质谱图

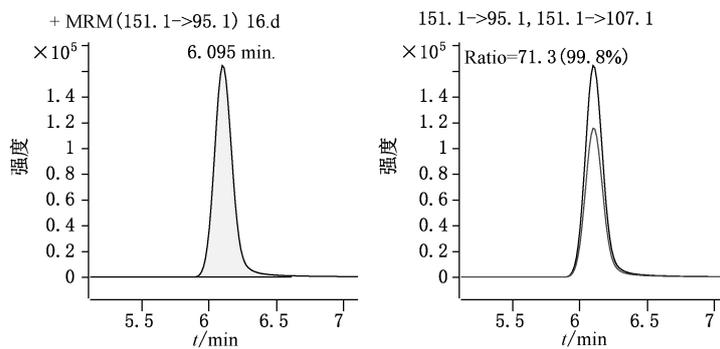


图 B.8 D₄-香豆素标准溶液液相色谱-质谱/质谱图

附录 C

4 种化合物与对应氘代同位素内标气相色谱-质谱特征离子扫描色谱图及质谱图

香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素、香豆素标准溶液(0.1 mg/L)与对应氘代同位素内标标准溶液(0.1 mg/L)气相色谱-质谱特征离子扫描色谱图及质谱图见图 C.1 和图 C.2。

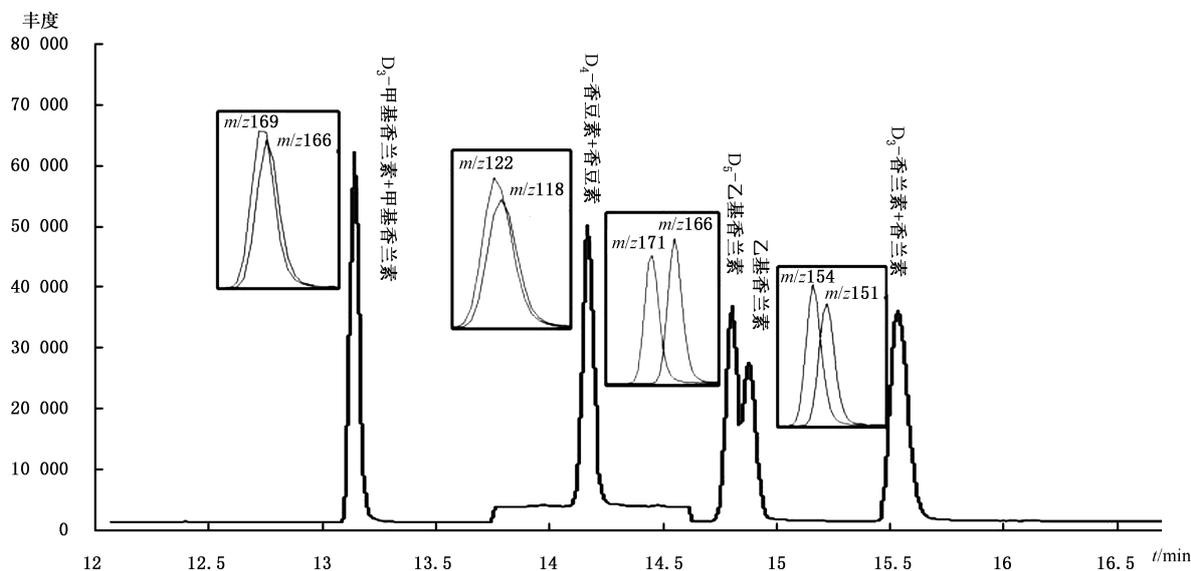


图 C.1 标准溶液(0.1 mg/L)气相色谱-质谱特征离子扫描色谱图

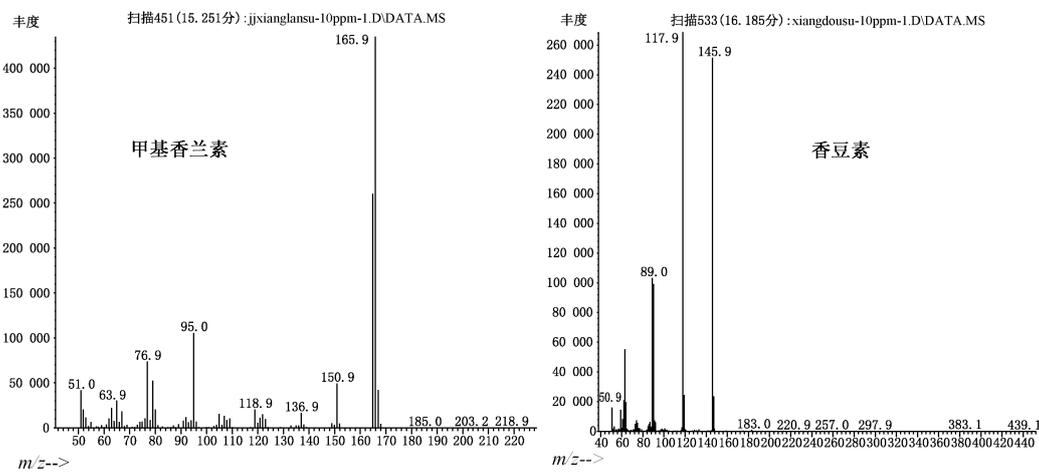


图 C.2 标准溶液(0.1 mg/L)气相色谱-质谱图

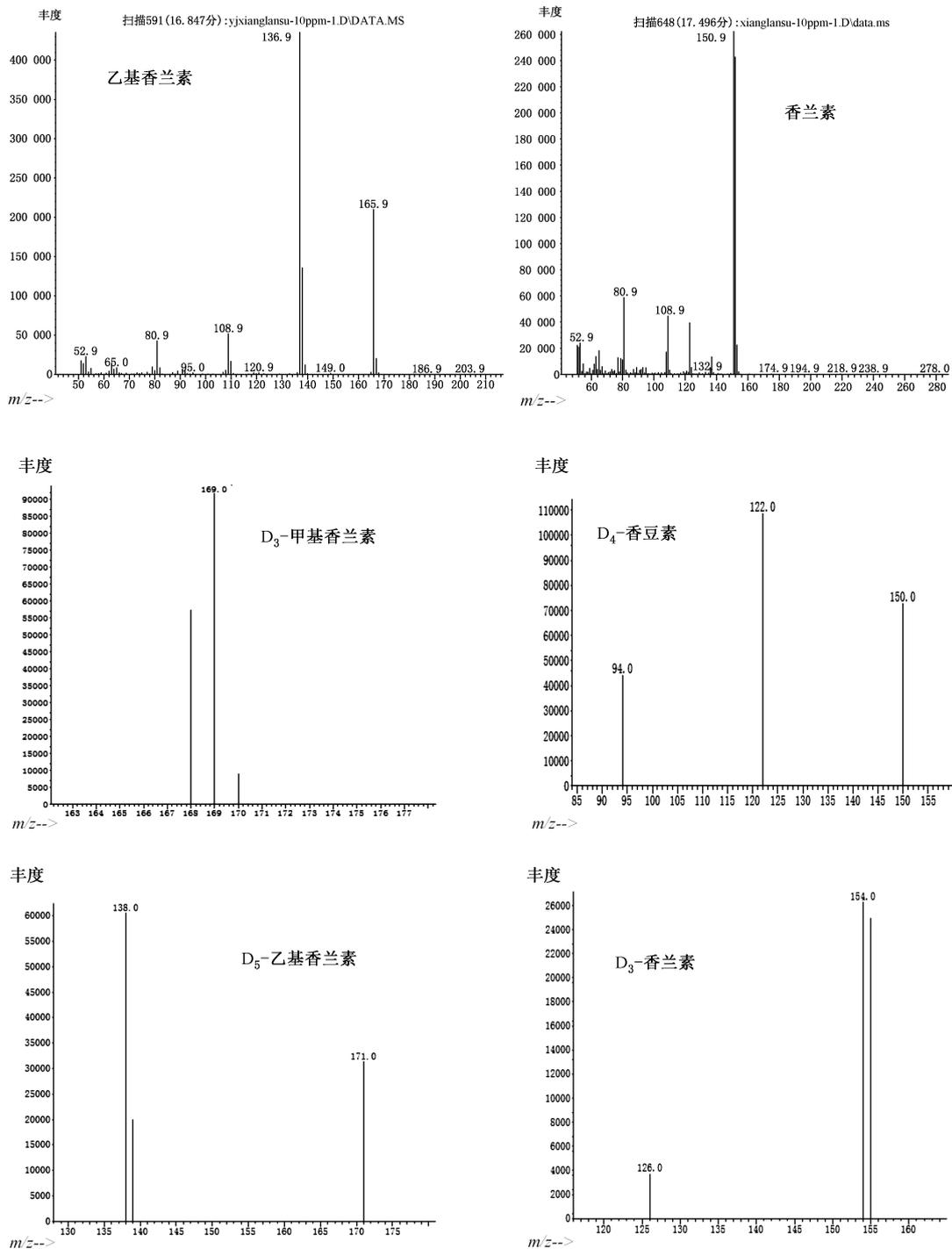


图 C.2 (续)