



中华人民共和国国家标准

GB XXXX—XXXX

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

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 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

本标准规定了婴幼儿配方奶粉、婴幼儿谷类辅助食品、糕点、糖果、牛奶、面粉、饮料中香兰素、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奶粉、婴幼儿谷类辅助食品、糕点、糖果、牛奶、面粉、饮料中香兰素、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

样品经乙腈超声提取，采用液相色谱法测定，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规定的一级水或蒸馏水。

3.1 试剂

- 3.1.1 乙腈(CH₃CN)：色谱纯。
- 3.1.2 甲酸(HCOOH)：色谱纯。
- 3.1.3 甲醇(CH₃OH)：色谱纯。
- 3.1.4 乙酸(CH₃COOH)：色谱纯。
- 3.1.5 氯化钠(NaCl)：分析纯。
- 3.1.6 盐酸(HCl)：分析纯。
- 3.1.7 水：Mili-Q 纯净水。

3.2 试剂配制

- 3.2.1 0.5%甲酸水溶液：吸取5 mL甲酸至1 L容量瓶，用水定容至刻度。
- 3.2.2 0.1%甲酸甲醇溶液：吸取1 mL甲酸至1 L容量瓶，用甲醇定容至刻度。
- 3.2.3 甲醇/水溶液(8:2, V/V)：200 mL水与800 mL甲醇超声混匀。

3.3 标准品

- 3.3.1 香兰素(C₈H₈O₃, CAS号：121-33-5)，纯度≥97%。
- 3.3.2 甲基香兰素(C₉H₁₀O₃, CAS号：120-14-9)，纯度≥98%。
- 3.3.3 乙基香兰素(C₉H₁₀O₃, CAS号：121-32-4)，纯度≥97%。
- 3.3.4 香豆素(C₉H₆O₂, CAS号：91-64-5)，纯度≥98%。

3.4 标准溶液配制

- 3.4.1 标准储备液：分别称取适量的标准物质，用0.1%甲酸甲醇分别配制成浓度约为1.0 mg/mL的标准储备溶液。-18℃下避光保存，有效期为8个月。
- 3.4.2 混合标准中间溶液(10 mg/L)：各吸取0.5 mL标准储备液于50 mL容量瓶中，甲醇定容。-18℃下避光保存，有效期为3个月。
- 3.4.3 混合标准系列工作液：准确吸取适量混合标准工作溶液于10 mL容量瓶中，用甲醇/水溶液(3.2.3)定容至10 mL，使四种香兰素类化合物的浓度分别为0.20 mg/L、0.50 mg/L、1.00 mg/L、2.00 mg/L、5.00 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 涡旋混合器。
- 4.3 离心机：转速不低于7500 r/min。
- 4.4 超声清洗机。
- 4.5 固相萃取装置。
- 4.6 氮气浓缩装置。
- 4.7 分析天平：感量为0.1 mg和0.001 g。
- 4.8 微孔滤膜：0.22 μm，有机相型。

5 分析步骤

5.1 样品前处理

5.1.1 试样制备

液态样品摇匀；基质均匀的半固态样品和粉状样品直接用于下一步试样提取；其他样品需匀浆或粉碎均匀。制备好的试样于0℃~5℃避光保存，24小时内测定。

5.1.2 试样提取

5.1.2.1 糕点、糖果、饮料、牛奶

准确称取1.00 g（精确到0.01 g）试样，加入5 mL水，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2 g氯化钠，涡旋振荡2 min，7500 r/min离心5 min，取乙腈层溶液至试管，氮吹至近干，用甲醇定容至1 mL（对于含油脂高的糕点样品，采取冷冻离心）。

5.1.2.2 面粉

准确称取1.00 g（精确到0.01 g）试样，加入10 mL水和20 μL盐酸，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2 g氯化钠，涡旋振荡2 min，7500 r/min离心5 min，取乙腈层溶液至试管，氮吹至近干，用甲醇定容至1 mL。

5.1.2.3 谷粉、乳粉

准确称取1.00 g（精确到0.01 g）试样，加入10 mL水和40 μL盐酸，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2 g氯化钠，涡旋振荡2 min，7500 r/min离心5 min，取乙腈层溶液至试管，氮吹至近干，用甲醇定容至1 mL。

5.2 仪器参考条件

- 5.2.1 色谱柱：C18柱，5 μm，250 mm×4.6 mm（内径）或相当者。
- 5.2.2 柱温：30℃。
- 5.2.3 进样量：10 μL。
- 5.2.4 检测波长：279 nm。
- 5.2.5 流动相：A：0.5%甲酸水溶液；B：乙腈。梯度洗脱，见表1。

表1 流动相条件

时间(min)	流速 (mL/min)	0.5% 甲酸水 (%)	乙腈 (%)
0.0	1.0	55	45
5.0	1.0	40	60
5.1	1.0	10	90
8.0	1.0	10	90
9.1	1.0	55	45
12.0	1.0	55	45

5.3 标准曲线的制作

将标准系列工作液按浓度由低到高的顺序，依次对标准工作液注入液相色谱仪中，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，以相应的峰面积的响应值，绘制标准曲线，用标准工作曲线对待测样品进行外标法定量。标准品液相色谱图参见附录A。

5.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱仪中，得到香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素的峰面积，根据标准曲线得到待测液中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素的浓度。

5.5 空白试验

除不加试样外，均按上述测定步骤进行。

6 分析结果的表述

试样中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素的含量按公式（1）计算：

$$X_i = \frac{(C_i - C) \times V}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X_i ——试样中待测化合物的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

C_i ——由标准曲线得到的试样溶液中待测化合物的浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

C ——由标准曲线得到的空白溶液中待测化合物的浓度，单位为毫克每升（mg/L）

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）。

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3位有效数字。

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

当称样量为1 g时，香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素检出限为0.09mg/kg，定量限为0.2mg/kg。

第二法 液相色谱-质谱/质谱法

9 原理

样品经乙腈超声提取，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

- 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 乙酸(CH_3COOH): 色谱纯。
- 10.1.5 氯化钠(NaCl): 分析纯。
- 10.1.6 盐酸(HCl): 分析纯。
- 10.1.7 水: Mili-Q 纯净水。

10.2 试剂配制

- 10.2.1 0.5%甲酸水溶液: 吸取5 mL甲酸至1 L容量瓶，用水定容至刻度。
- 10.2.2 0.1%甲酸甲醇溶液: 吸取1 mL甲酸至1 L容量瓶，用甲醇定容至刻度。
- 10.2.3 甲醇/水溶液 (8:2, V/V): 200mL水与800mL甲醇超声混匀。

10.3 标准品

- 10.3.1 香兰素 ($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$, CAS号: 121-33-5), 纯度 $\geq 97\%$ 。
- 10.3.2 甲基香兰素 ($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$, CAS号: 120-14-9), 纯度 $\geq 98\%$ 。
- 10.3.3 乙基香兰素 ($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$, CAS号: 121-32-4), 纯度 $\geq 97\%$ 。
- 10.3.4 香豆素 ($\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_2$, CAS号: 91-64-5), 纯度 $\geq 98\%$ 。
- 10.3.5 d3-香兰素 ($\text{C}_8\text{H}_5\text{D}_3\text{O}_3$, CAS号: 74495-74-2), 纯度 $\geq 98\%$ 。
- 10.3.6 d3-甲基香兰素 ($\text{C}_9\text{H}_7\text{D}_3\text{O}_3$, CAS号: 143318-06-3), 纯度 $\geq 98\%$ 。
- 10.3.7 d5-乙基香兰素 ($\text{C}_9\text{H}_7\text{D}_5\text{O}_3$, CAS号: 1335401-74-5), 纯度 $\geq 98\%$ 。
- 10.3.8 d4-香豆素 ($\text{C}_9\text{H}_2\text{D}_4\text{O}_2$, 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: 分别称取适量的标准物质，用0.1%甲酸甲醇分别配制成浓度约为 1.0 mg/mL的标准储备溶液。-18 °C下避光保存，有效期为8个月。
- 10.4.2 混合标准中间溶液 (10 mg/L): 各吸取0.5 mL标准储备液于50 mL容量瓶中，甲醇定容。-18°C下避光保存，有效期为3个月。

10.5 内标溶液配制

- 10.5.1 内标储备液: 分别称取适量内标物质，用甲醇分别配制成浓度约为1 mg/mL的标准储备液。-18 °C下避光保存，有效期为8个月。
- 10.5.2 混合内标中间溶液 (10 mg/L): 各取0.5 mL内标储备液于50 mL容量瓶中，甲醇定容。-18°C下保存6个月。

10.5.3 混合内标工作溶液（1 mg/L）：取5 mL混合内标中间溶液（10.5.2）于50 mL容量瓶中，甲醇定容，现用现配。

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 涡旋混合器。

11.3 离心机：转速不小于7500 r/min。

11.4 超声清洗机。

11.5 固相萃取装置。

11.6 氮气浓缩装置。

11.7 分析天平：感量为0.1 mg和0.001 g。

11.8 含极性集团的反相聚合物固相萃取柱：60mg，3mL，或相当者。含极性集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。使用前以5.0 mL甲醇，5.0 mL水活化。

11.9 微孔滤膜：0.22 μm，有机相型。

12 分析步骤

12.1 样品前处理

12.1.1 样品制备

液态样品摇匀；基质均匀的半固态样品和粉状样品直接用于下一步试样提取；其他样品需匀浆或粉碎均匀。制备好的试样于0℃~5℃避光保存，24小时内测定。

12.1.2 试样提取

12.1.2.1 糕点、糖果、饮料、牛奶

准确称取1.00 g（精确到0.01 g）试样，加入100 μL混合内标工作溶液，加入5 mL水，涡旋振荡1 min，加入20 mL乙腈，涡旋震荡1 min，超声提取30 min后，加入2 g氯化钠，涡旋震荡2 min，7500 r/min离心5 min，取乙腈层溶液至试管，待净化（对于含油脂高的样品，采取冷冻离心）。

12.1.2.2 面粉

准确称取1.00 g（精确到0.01 g）试样，加入100 μL混合内标工作溶液，加入100 μL混合内标工作溶液，加入10 mL水和20 μL盐酸，涡旋振荡1 min，加入20 mL乙腈，涡旋震荡1 min，超声提取30 min后，加入2 g氯化钠，涡旋震荡2 min，7500 r/min离心5 min，取乙腈层溶液至试管，待净化。

12.1.2.3 谷粉、乳粉

准确称取1.00 g（精确到0.01 g）试样，加入100 μL混合内标工作溶液，加入10 mL水和40 μL盐酸，涡旋振荡1 min，加入20 mL乙腈，涡旋震荡1 min，超声提取30 min后，加入2 g氯化钠，涡旋震荡2 min，7500 r/min离心5 min，取乙腈层溶液至试管，待净化。

12.1.3 试样净化

将上层清液于35℃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（3.5.1）。样液全部流出后，先用5 mL水淋洗，负压抽干，再用10 mL甲醇洗脱，洗脱液在35℃下用氮气吹干，再用1 mL甲醇/水溶液（3.2.3）溶解残渣，过0.22 μm微孔滤膜（3.5.2）后，待测。

12.2 仪器参考条件

由于测试结果取决于所使用的仪器，因此不能给出色谱分析的普遍参数，用下列参数已被证明对测试是合适的。

12.2.1 液相色谱参考条件

12.2.1.1 色谱柱：C18 柱，2.1×100 mm，1.8 μm，或相当者。

12.2.1.2 流动相：0.5%的甲酸水；乙腈，梯度洗脱。见表2。

表2 流动相条件

时间(min)	流速 (μL/min)	0.5% 甲酸水 (%)	乙腈 (%)
0.0	150	55	45
5.00	150	40	60
5.01	150	10	90
8.00	150	10	90
8.01	150	55	45
12.00	150	55	45

12.2.1.3 进样量：10 μL。

12.2.1.4 柱温：30 °C。

12.2.2 质谱/质谱参考条件

12.2.2.1 电离方式：电喷雾电离，正模式；

12.2.2.2 扫描方式：多反应监测(MRM)。

12.2.2.3 其它仪器条件参见附录B。

12.3 标准曲线的制作

分别吸取一定量的混合标准工作液和混合内标工作液，用甲醇/水溶液（3.2.3）定容至10 mL，使四种化合物的浓度分别为0.050 mg/L、0.10 mg/L、0.50 mg/L、1.00 mg/L、2.00 mg/L和5.00 mg/L，四种化合物内标均为0.1mg/L，得到对应的标准工作溶液。在仪器最佳工作条件下，按浓度由低到高的顺序，依次对标准工作溶液进样。以香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素及其对应氘代同位素内标的峰面积比值为纵坐标，以系列标准溶液中各组分含量（mg/L）与对应氘代同位素内标含量（mg/L）比值为横坐标，绘制标准曲线。在上述色谱条件下标准溶液的多反应监测色谱图参见附录C中图C.1-C.8。

12.4 定性测定

按照液相色谱-质谱/质谱条件测定样品和标准工作溶液，如果待测物质保留时间与标准品保留时间相差不超过±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，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3规定的范围，则可判断样品中存在对应的被测物。见表3所示。

表3 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 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱-质谱仪中，由试样中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素及其内标峰面积比值进行定量计算，得出试样溶液中各组分含量（mg/L）与对应氘代同位素内标含量（mg/L）比值。再根据试样中加入的对应氘代同位素内标含量（mg/L）计算试样溶液中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素含量（mg/L）。

12.6 空白试验

除不加试样外，均按上述测定步骤进行。

13 分析结果的表述

试样中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素的含量按公式（2）计算：

$$X_i = \frac{(C_i - C) \times V}{m} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

X_i ——试样中待测化合物的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

C_i ——由标准曲线得到的试样溶液中待测化合物的浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

C ——由标准曲线得到的空白溶液中待测化合物的浓度，单位为毫克每升（mg/L）

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）。

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3位有效数字。

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

当取样量为1.0 g时，香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素检出限均为0.015 mg/kg，定量限均为0.05 mg/kg。

第三法 气相色谱-质谱法

16 原理

样品经乙腈超声提取，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

同3.1。

17.2 标准品

同10.3。

17.3 标准溶液配制

同3.4.1~3.4.2。

17.4 内标溶液配制

同10.5。

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 涡旋混合器。

- 18.3 离心机：转速不低于7500 r/min。
- 18.4 超声清洗机。
- 18.5 固相萃取装置。
- 18.6 氮气浓缩装置。
- 18.7 分析天平：感量为0.1 mg和0.001 g。
- 18.8 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一定比例聚合成的大孔共聚物，60 mg，3 mL)，或相当者。使用前以5.0 mL甲醇，5.0 mL水活化。
- 18.9 微孔滤膜：0.22 μm，有机相型。

19 分析步骤

19.1 样品前处理

19.1.1 样品制备

液态样品摇匀；基质均匀的半固态样品和粉状样品直接用于下一步试样提取；其他样品需匀浆或粉碎均匀。制备好的试样于0℃~5℃避光保存，24小时内测定。

19.1.2 试样提取

19.1.2.1 糕点、糖果、饮料、牛奶

准确称取1.00 g（精确到0.01 g）试样，加入100 μL混合内标工作溶液，加入5 mL水，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2 g氯化钠，涡旋振荡2 min，7500 r/min离心5 min，取乙腈层溶液至试管，待净化（对于含油脂高的样品，采取冷冻离心）。

19.1.2.2 面粉

准确称取1.00 g（精确到0.01 g）试样，加入100 μL混合内标工作溶液，加入100 μL混合内标工作溶液，加入10 mL水和20 μL盐酸，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2 g氯化钠，涡旋振荡2 min，7500 r/min离心5 min，取乙腈层溶液至试管，待净化。

19.1.2.3 谷粉、乳粉

准确称取1.00 g（精确到0.01 g）试样，加入100 μL混合内标工作溶液，加入10 mL水和40 μL盐酸，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2 g氯化钠，涡旋振荡2 min，7500 r/min离心5 min，取乙腈层溶液至试管，待净化。

19.1.3 试样净化

将上层清液于35℃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（3.5.1）。样液全部流出后，先用5 mL水淋洗，负压抽干，再用10 mL甲醇洗脱，洗脱液在35℃下用氮气吹干，最终用1 mL甲醇溶解残渣定容，过0.22 μm微孔滤膜（3.5.2）后，待测。

19.2 仪器参考条件

由于测试结果取决于所使用的仪器，因此不能给出色谱分析的普遍参数，用下列参数已被证明对测试是合适的。

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，0.25 μm），或相当者。

19.2.1.2 柱温：初始炉温100℃，然后以10℃/min程序升温至220℃，保持8 min。

19.2.1.3 进样量：1.0 μL。

19.2.1.4 载气：氦气，流速1.0 mL/min。

19.2.1.5 进样口温度：250℃。

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℃

19.2.2.4 传输线温度：250℃。

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附录D表D.1。

19.3 标准曲线的制作

分别吸取一定量的混合标准工作液和混合内标工作液，用甲醇定容至10 mL，使四种化合物的浓度分别为 0.05 mg/L、0.10 mg/L、0.50 mg/L、1.00 mg/L、2.00 mg/L、5.00 mg/L，四种化合物内标均为0.1 mg/L，得到对应的标准工作溶液。在仪器最佳工作条件下，按浓度由小到大的顺序，依次对标准工作溶液进样。以香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素及其对应氘代同位素内标的峰面积比值为纵坐标，以系列标准溶液中各组分含量（mg/L）与对应氘代同位素内标含量（mg/L）比值为横坐标，绘制标准曲线。在上述仪器条件下标准品选择离子扫描（SIM）色谱图参见附录E中图E.1。

19.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入气相色谱-质谱仪中，由试样中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素及其内标峰面积比值进行定量计算，得出试样溶液中各组分含量（mg/L）与对应氘代同位素内标含量（mg/L）比值。再根据试样中加入的对应氘代同位素内标含量（mg/L）计算试样溶液中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素含量（mg/L）。

19.5 定性确认

按照上述条件测定试样和标准工作溶液，如果试样中的保留时间与标准工作溶液一致(变化范围在±0.5%之内)；样品中目标化合物的定性离子的相对丰度与浓度相当的标准溶液一致，相对丰度偏差不超过表4规定的范围，则可判断样品中存在对应的待测物。

表 4 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%

19.6 空白试验

除不加试样外，均按上述测定步骤进行。

20 分析结果的表述

试样中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素的含量按公式（3）计算：

$$X_i = \frac{(C_i - C) \times V}{m} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

X_i ——试样中待测化合物的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

C_i ——由标准曲线得到的试样溶液中待测化合物的浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

C ——由标准曲线得到的空白溶液中待测化合物的浓度，单位为毫克每升（mg/L）

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）。

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3位有效数字。

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%。

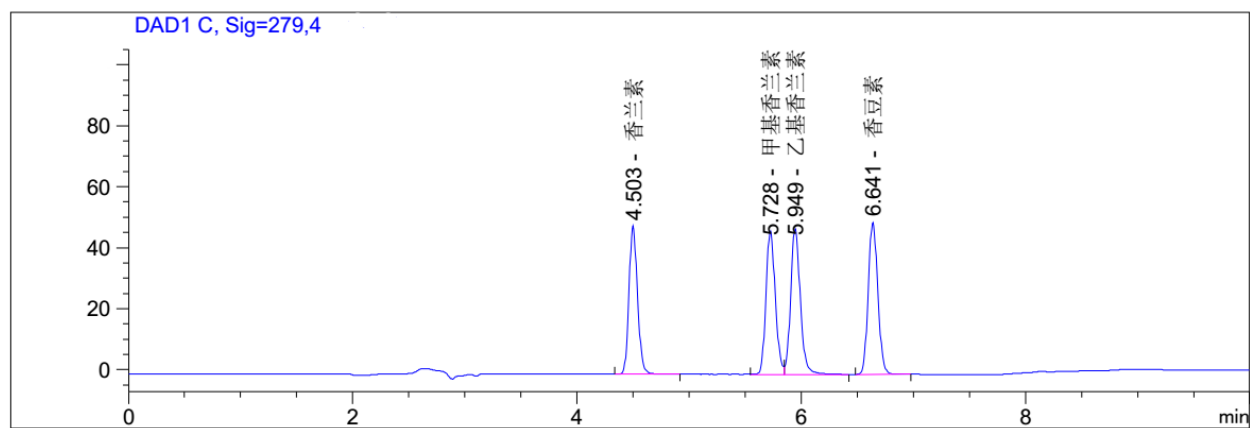
22 其他

当取样量为1.0 g时，香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素检出限均为0.015 mg/kg，定量限均为0.05 mg/kg。

附录 A

液相色谱参考图

第一法香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素标准品液相色谱图见图A.1。



图A.1 标准品液相色谱图

附录 B

参考质谱条件

(1) 质谱参数

离子源：电喷雾电离（ESI）源，正离子模式；干燥气温度 300 °；干燥气流流速 8 L/min，鞘气温度 350 °C；鞘气流速 10 L/min。

(2) 母离子、子离子参数

表 B.1 4 种目标化合物及内标的母离子、子离子

化合物	母离子	子离子	碰撞电压
香兰素	153.0	65.2*	29
		93.0	13
甲基香兰素	167.1	139.0*	13
		124.1	21
乙基香兰素	167.1	111.0*	5
		93.0	45
香豆素	147.0	91.1*	30
		103.2	20
d3-香兰素	156.2	65.0*	55
		93.0	40
d3-甲基香兰素	170.2	142.1*	13
		127.0	21
d5-乙基香兰素	172.0	93.1*	21
		112.0	13;
d4-香豆素	151.1	95.1*	29
		107.9	21

注：*号为定量离子。

附录C

标准品多反应监测 (MRM) 参考色谱图

第二法香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素及内标物标准品多反应监测 (MRM) 参考色谱图见图 C.1-C.8。

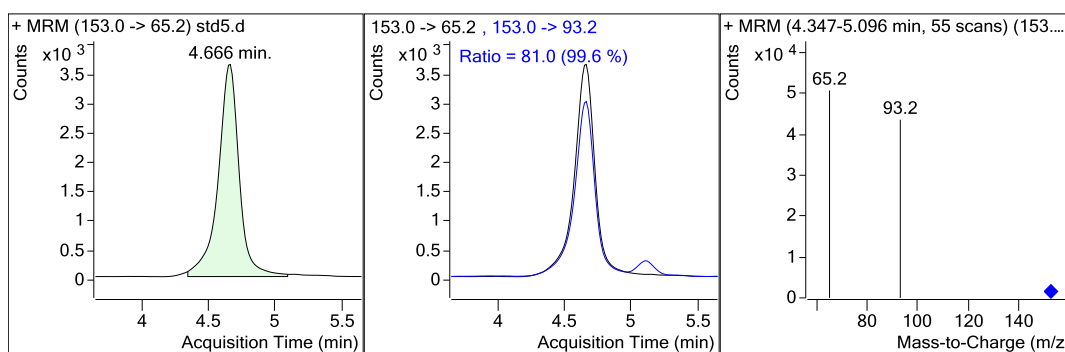


图 C.1 香兰素 MRM 图

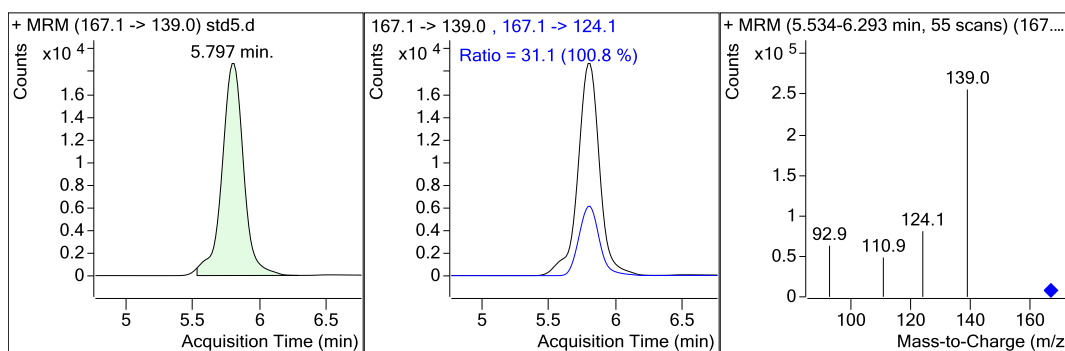


图 C.2 甲基香兰素 MRM 图

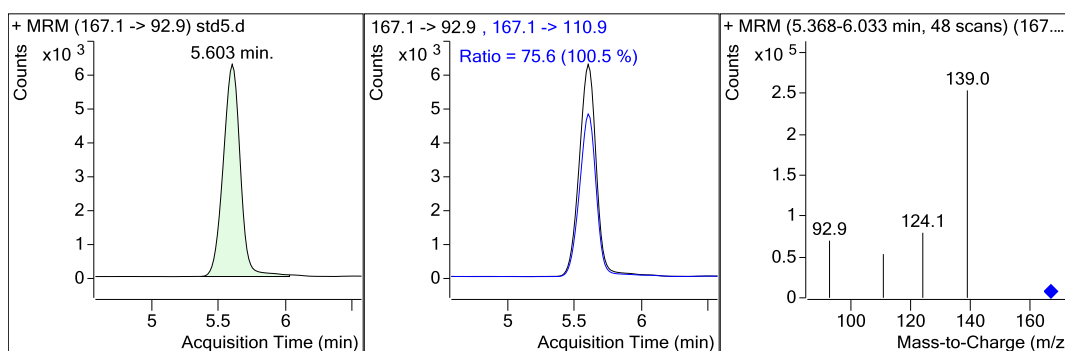


图 C.3 乙基香兰素 MRM 图

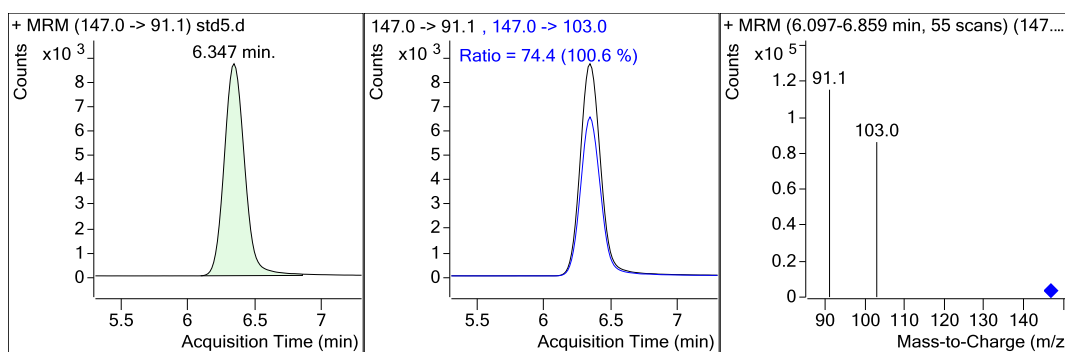


图 C.4 香豆素 MRM 图

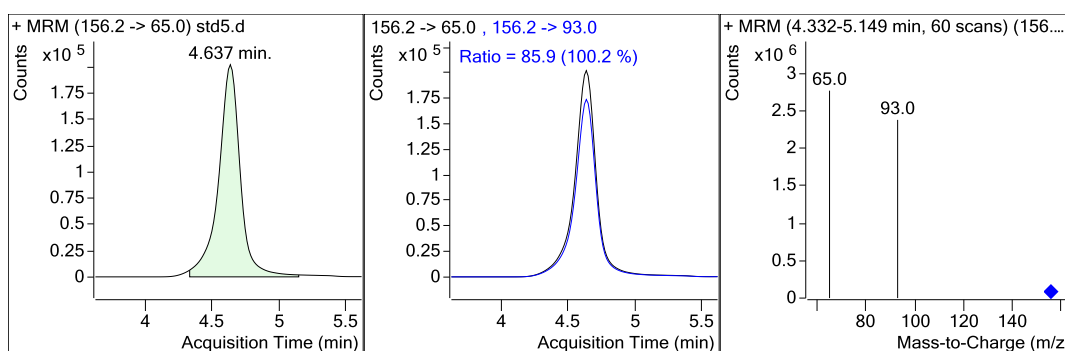


图 C.5 d3-香兰素 MRM 图

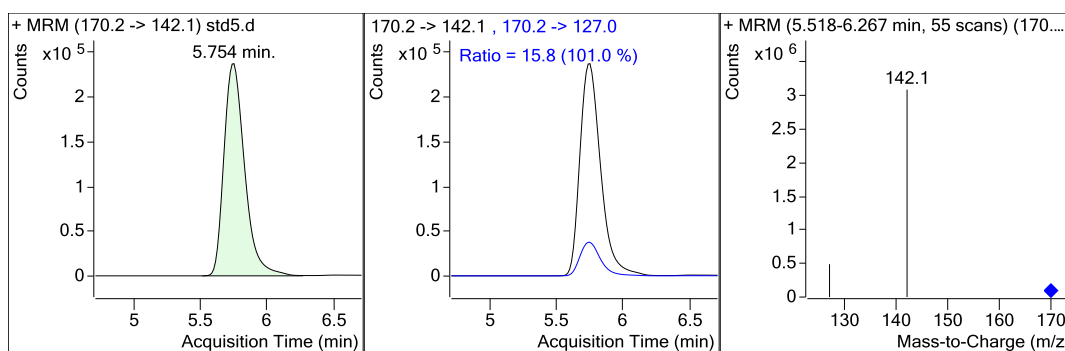


图 C.6 d3-甲基香兰素 MRM 图

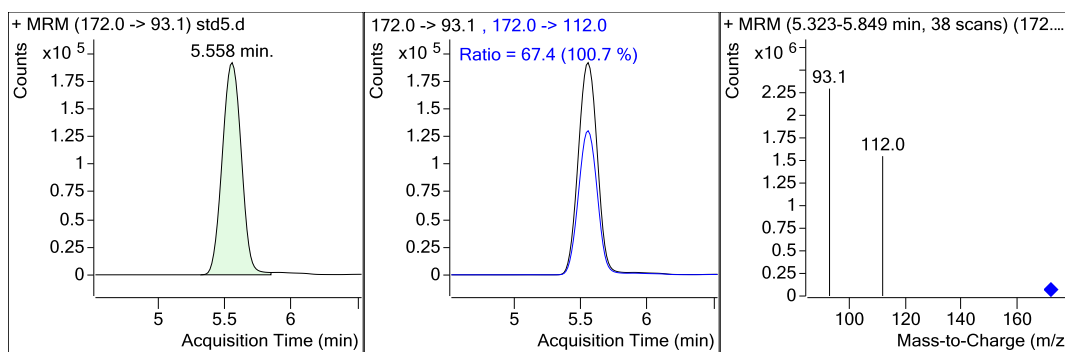


图 C.7 d5-乙基香兰素 MRM 图

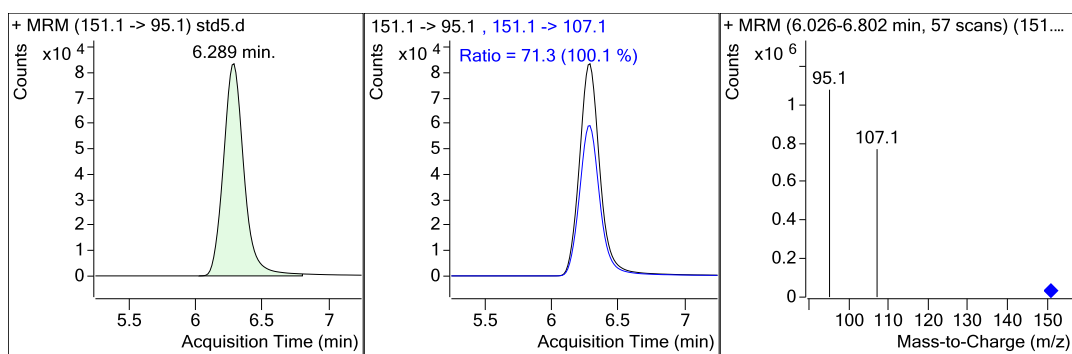


图 C. 8 d4-香豆素 MRM 图

附录D

标准品气相色谱-质谱法监测离子参数

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气相色谱-质谱法监测离子见表 D.1。

表 D.1 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
4	香豆素	118, 146, 89	118
5	d3-香兰素	154, 155, 126	154
6	d3-甲基香兰素	169, 168, 170	169
7	d5-乙基香兰素	171, 138, 139	171
8	d4-香豆素	122, 150, 94	122

附录E

标准品气相色谱-质谱法选择离子扫描 (SIM) 色谱图

第三法香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素气相色谱-质谱法选择离子扫描 (SIM) 色谱图见图 E.1。

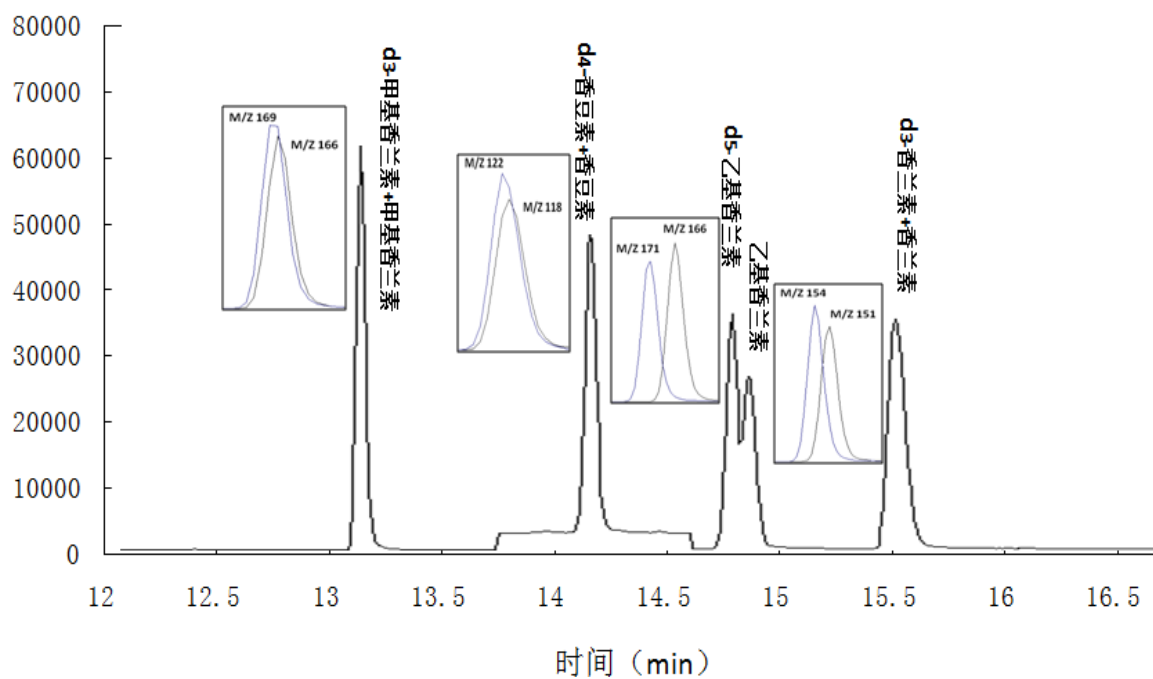


图 E.1 标准品气相色谱-质谱法选择离子扫描 (SIM) 色谱图