

T/GXAS

团 体 标 准

T/GXAS XXXX—XXXX

肉桂及其制品中香豆素含量的测定 液相
色谱-串联质谱法

Determination of coumarin content in cinnamon and its products by
LC-MS/MS

(征求意见稿)

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

 5.1 试剂 1

 5.2 试剂配制 1

 5.3 标准品 1

 5.4 标准溶液的配制 1

 5.5 材料 2

6 仪器和设备 2

7 样品 2

 7.1 试样制备 2

 7.2 试样前处理 2

8 分析步骤 2

 8.1 仪器调试 2

 8.2 定性测定 3

 8.3 定量测定 3

 8.4 空白试验 4

9 结果计算 4

10 检出限、定量限、精密度和准确度 4

 10.1 检出限及定量限 4

 10.2 精密度 4

 10.3 准确度 4

 10.4 专属性 4

11 试验报告 4

附录 A（资料性） 香豆素的标准物质提取离子色谱图（50 ng/mL） 5

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。

本文件由广西—东盟食品检验检测中心[国家市场监督管理总局技术创新中心(天然香料香精)]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：广西—东盟食品检验检测中心〔国家市场监督管理总局技术创新中心（天然香料香精）〕、中国农业大学食品科学与营养工程学院、岛津企业管理（中国）有限公司、广西药食同源资源开发重点实验室、广西壮族自治区产品质量检验研究院、贺州市检验检测中心、广西壮瑶药技术创新中心、崇左市食品药品检验所。

本文件主要起草人：杨黎、覃文霞、韦升坚、陈麒宇、陆石英、张言、黄高武、吕晨艳、刘珈伶、黄玲、何善廉、农毅清、冯广福、兰斌、杨方方、刘星、李华冰、王先锋、陈宁周、冯婷、廖夏云、陈清、胡王艳、韦福广、苏俞友、黄钰婷、万涛、覃思、陈佳丽、李枝文、赵莉莉、黄春媛。

肉桂及其制品中香豆素含量的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件描述了液相色谱-串联质谱法测定肉桂及其制品中香豆素含量的方法。

本文件适用肉桂及其制品（含肉桂香油、奶茶、调味料）中香豆素的测定，其他食品及原料中香豆素测定可参照本方法定性定量检测。

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和定义。

4 原理

试样经乙腈超声提取，经分散固相萃取净化，过滤后，滤液供高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪测定，外标法定量。

5 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。

5.1 试剂

5.1.1 甲酸（HCOOH）：色谱纯。

5.1.2 乙腈（CH₃CN）：色谱纯。

5.1.3 盐酸（HCl）：12 mol/L。

5.1.4 无水氯化钠。

5.2 试剂配制

5.2.1 0.5%甲酸水溶液：准确量取甲酸（5.1.1）5 mL，用水稀释至1 000 mL。

5.2.2 盐酸溶液（1 mol/L）：吸取8.33 mL盐酸（5.1.3），溶于水并稀释至100 mL。

5.3 标准品

香豆素（C₉H₆O₂，CAS号：91-64-5）：纯度≥97%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

5.4 标准溶液的配制

5.4.1 标准储备液（1 mg/mL）

准确称取10 mg（精确至0.001 g）香豆素标准品，用乙腈（5.1.2）溶解并定容于10 mL容量瓶中，配制成质量浓度为1 mg/mL的标准储备液，-18℃避光储存，保存期1个月。

5.4.2 标准中间液 (1 $\mu\text{g/mL}$)

准确吸取0.1 mL标准储备液 (5.4.1)，置于100 mL容量瓶中，用乙腈 (5.1.2) 稀释至刻度，配制成质量浓度为1 $\mu\text{g/mL}$ 的标准中间液，临用新制。

5.4.3 标准系列工作溶液

分别准确吸取标准中间液 (5.4.2) 0.02 mL、0.05 mL、0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL于7个10 mL容量瓶中，以乙腈定容，梯度稀释，配制成质量浓度为2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL的系列标准工作溶液。临用新配。标准物质的提取离子色谱图见附录A。

5.5 材料

5.5.1 微孔滤膜：0.22 μm ，有机相。

5.5.2 QuEChERS 净化粉末：每份含 MgSO_4 100 mg、PSA 50 mg、C18 50 mg。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源 (ESI 源)。

6.2 电子天平：感量分别为 1 mg 和 0.01 mg。

6.3 超声波清洗仪。

6.4 涡旋振荡器。

6.5 离心机：转速 ≥ 8000 r/min。

7 样品

7.1 试样制备

将液态试样摇匀：

——基质均匀的半固态试样和粉状试样直接按 7.2 试样前处理；

——其他试样应进行匀浆或粉碎均匀，粉碎均匀后于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存。

7.2 试样前处理

7.2.1 提取

准确称取样品1.0 g (精确至0.001 g) 于50 mL具塞离心管中，加2.5 mL水，震荡摇匀后加入10 mL乙腈和0.25 mL的盐酸溶液 (5.2.2)，涡旋震荡5 min，超声提取15 min，8000 r/min离心5 min，将上清液转移至另一干净离心管，重复提取一次，离心后合并上清液，加入5 g无水氯化钠，振摇1 min，8000 r/min离心5 min，取上层有机层净化。

7.2.2 净化

取7.2.1有机层1.5 mL，加入QuEChERS净化粉末 (5.5.2)，涡旋震荡1 min，8000 r/min离心5 min，上清液用微孔滤膜 (5.5.1) 过滤，取续滤液，根据实际浓度适当用乙腈稀释至标准曲线线性范围内，供液相色谱-串联质谱仪测定。

8 分析步骤

8.1 仪器调试

8.1.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

a) 色谱柱：C18 柱 (1.7 μm , 2.1 \times 100 mm)，或性能相当者；

b) 流动相：A 为 0.5% 甲酸水溶液 (5.2.1)，B 为乙腈 (5.1.3)，梯度洗脱程序见表 1；

c) 流速：0.3 mL/min；

- d) 柱温：40 °C；
e) 进样量：5 μL。

表1 液相色谱梯度洗脱条件

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0	70.0	30.0
4.00	40.0	60.0
5.00	2.0	98.0
6.00	2.0	98.0
6.10	70.0	30.0
8.00	70.0	30.0

8.1.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI 源）；
b) 扫描方式：多反应监测（MRM）；
c) 接口温度：300 °C；
d) DL 温度：250 °C；
e) 加热块温度：400 °C；
f) 雾化气流量：3.00 L/min；
g) 加热气流量：10.00 L/min；
h) 干燥气流量：10.00 L/min；
i) 定性、定量离子对和质谱分析参数见表 2。

表2 化合物的定性、定量离子对和质谱分析参数

化合物名称	扫描方式	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	Q1 pre (V)	碰撞能量 (eV)	Q3 pre (V)
香豆素	ESI+	2.17	147.10	91.20*	-6.0	-27	-36.0
				103.00	-6.0	-18	-10.0

注1：*为定量离子。
注2：方法提供的监测离子对等测定条件为推荐条件，各实验室应根据所配置仪器的具体情况作适当调整；在样品基质有测定干扰的情况下，可以选用其他监测离子对。

8.2 定性测定

在相同试验条件下，试样中被测组分的保留时间与标准溶液中对应的保留时间偏差在±2.5%之内；且试样中被测组分定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液中对应的定性离子的相对丰度进行比较，偏差不超过表3规定的范围，则可判定为试样中存在对应的化合物。

表3 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
允许相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

8.3 定量测定

8.3.1 将试样溶液注入液相色谱-串联质谱仪中，得到相应的峰面积，根据标准曲线得到试样溶液中被测组分的浓度。

8.3.2 用标准工作曲线对试样进行定量，应使试样溶液被测组分的响应值在仪器测定的线性范围内。

8.3.3 若被测组分含量超出标准曲线的测定范围，应根据测定浓度进行适当倍数稀释，同时用同等稀释倍数的空白基质配制标准曲线溶液后测定。

8.4 空白试验

除不加试样外，均按7.2步骤操作进行，制得空白溶液。

9 结果计算

结果按式（1）计算：

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

式中：

X ——试样中待测组分的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

ρ ——从标准曲线得到的香豆素的质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V ——试样溶液定容体积，单位为毫升（mL）；

m ——样品称样量，单位为克或毫升（g）；

1 000 ——换算系数。

注：计算结果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，结果保留3位有效数字。

10 检出限、定量限、精密度和准确度

10.1 检出限及定量限

当称样量为1g，定容体积为20mL时，本方法中香豆素的检出限为0.02mg/kg，定量限为0.05mg/kg。

10.2 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允许超过算术平均值的20%。

10.3 准确度

本方法香豆素在0.05 mg/kg～700 mg/kg添加浓度范围内，回收率为80%～120%。

10.4 专属性

空白试验应无干扰。

11 试验报告

试验报告的内容包括但不限于：

——试验对象；

——所使用的标准(包括发布或出版年号)；

——所使用的方法(如果标准中包括几个方法)；

——结果；

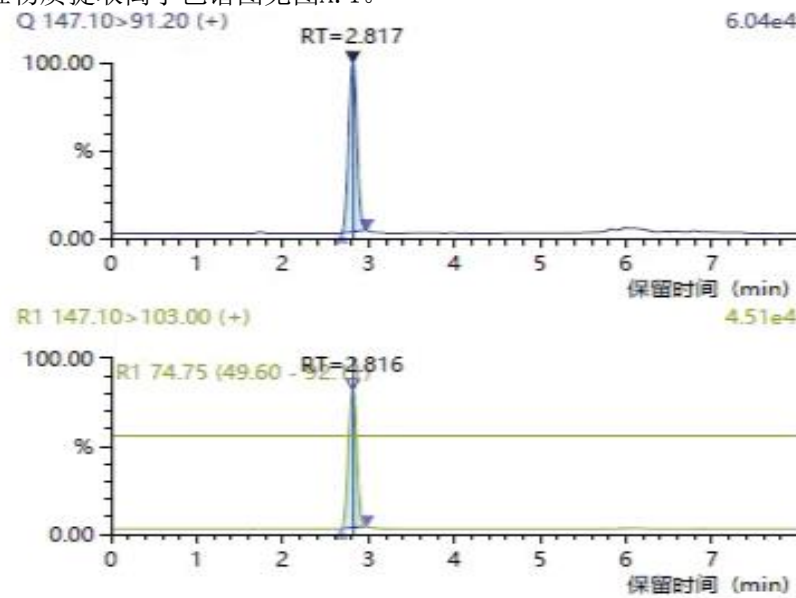
——观察到的异常现象；

——试验日期。

附 录 A
(资料性)

香豆素的标准物质提取离子色谱图（50 ng/mL）

香豆素的标准物质提取离子色谱图见图A. 1。



图A. 1 香豆素的标准物质提取离子色谱图（50 ng/mL）