团体标准《八角及其制品中莽草毒素含量的测定 液相色谱-串联质谱》（征求意见稿）

编制说明

一、任务来源、起草单位、主要起草人

根据《广西标准化协会关于下达2025年第十五批团体标准制修订项目计划的通知》（桂标协〔2025〕115号）文件精神，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）〕、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等单位共同起草的团体标准《八角及其制品中莽草毒素含量的测定 液相色谱-串联质谱法》（项目编号2025-1510），已获立项。

为高质量编制团体标准《八角及其制品中莽草毒素含量的测定 液相色谱-串联质谱法》，由起草单位成立标准编制工作组并进行如下分工：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **姓 名** | **职称/职位** | **工作单位** | **主要负责工作** |
| 杨黎 | 副主任药师/副部长 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 统筹主持标准编制工作 |
| 韦环 | 副主任技师/业务主管 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 参与标准编制工作，组织人员进行标准发布后的宣贯培训。 |
| 兰斌 | 实验师 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 参与标准编制工作，组织人员进行标准发布后的宣贯培训。 |
| 黄高武 | 仪器工程师 | 岛津企业管理（中国）有限公司 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 冯广福 | 检验员 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 吕晨艳 | 教授 | 中国农业大学食品科学与营养工程学院 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 胡王艳 | 高级工程师/食品检验所所长 | 贺州市检验检测中心 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 何善廉 | 高级工程师/副所长 | 广西壮族自治区产品质量检验研究院 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 王海波 | 主任药师/部长 | 广西壮族自治区产品质量检验研究院 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 农毅清 | 主任药师/部长 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 王先锋 | 工程师/质量管理员 | 深圳市格物正源质量标准系统有限公司 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 王警 | 高级工程师 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 蒋湘 | 副主任药师 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 廖夏云 | 副教授/教研室主任 | 广西药食同源资源开发重点实验室 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 赵就彬 | 工程师 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 苏俞友 | 助理工程师 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 陈明媚 | 检验员 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 韦尚升 | 检验员 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 卢恩 | 检验员 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 黄玲 | 工程师/科长 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 张言 | 副主任药师/科长 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 黄钰婷 | 主管中药师 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 黄玲 | 工程师/科长 | 广西—东盟食品检验检测中心 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 李华冰 | 中级工程师 | 崇左市食品药品检验所 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 韦福广 | 高级工程师/中心副主任 | 贺州市检验检测中心 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 陈佳丽 | 主管药师 | 广西壮族自治区产品质量检验研究院 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 李枝文 | 工程师 | 广西壮族自治区产品质量检验研究院 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 赵莉莉 | 初级工程师 | 崇左市食品药品检验所 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 黄春媛 | 技师 | 崇左市食品药品检验所 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 刘双斌 | 工程师 | 广西壮族自治区产品质量检验研究院 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |
| 蒙韦玲 | 工程师 | 广西壮族自治区产品质量检验研究院 | 对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。 |

二、制定标准的必要性和意义

八角（Illicium verum Hook. f.），又称大茴香，为木兰科八角属植物的干燥成熟果实，是我国重要的香辛料和传统中药材，广泛应用于食品调味、中成药配伍及功能性食品开发。其主要活性成分包括挥发油（如反式-茴香脑、柠檬烯）、木脂素类、黄酮类等，具有温阳散寒、理气止痛、抗菌抗炎等药理作用，长期作为调味品和药用原料深受消费者青睐。

然而，与药用价值并存的是八角中潜在的安全风险——莽草毒素（Anisatin）及其衍生物的存在。莽草毒素是一类结构复杂的倍半萜内酯类神经毒素，主要存在于有毒八角（如莽草，Illicium lanceolatum）中，但因形态相似，常在采收、加工或流通环节中与可食八角混杂，导致市售八角及其制品中出现有毒成分污染。研究表明，莽草毒素具有强烈的神经毒性，可作用于中枢神经系统，引起头晕、呕吐、抽搐、呼吸困难，严重时可致呼吸衰竭，甚至危及生命。世界卫生组织（WHO）及多个国家食品安全机构已将莽草毒素列为高风险天然毒素，要求在香辛料及植物源性食品中严格控制其含量。

近年来，国内外多次发生因误食含莽草毒素的八角制品引发的食物中毒事件，引起监管部门和学术界的高度重视。我国《食品安全国家标准 食品中可能存在的有害成分限量》及《中国药典》相关指导原则已明确提出，需对八角类原料及产品中莽草毒素进行严格监控。然而，由于莽草毒素在八角中含量极低（通常为μg/kg级），且基质复杂、干扰物质多，传统检测方法如气相色谱法（GC）或高效液相色谱-紫外法（HPLC-UV）存在灵敏度不足、选择性差、易受干扰等问题，难以满足痕量毒素的准确定量需求。

液相色谱-串联质谱法（LC-MS/MS）因其高灵敏度、高选择性、强抗基质干扰能力以及多反应监测（MRM）模式下的优异定性定量性能，已成为复杂基质中痕量有毒有害成分检测的“金标准”。该方法可在无需复杂衍生化处理的条件下，实现对莽草毒素的特异性识别与超低限检测，尤其适用于八角及其提取物、调味品、中成药等复杂基质样品。目前，已有研究利用LC-MS/MS技术成功实现对莽草毒素、新莽草毒素等成分的同时测定，为建立标准化检测流程提供了技术可行性。

因此，建立一种准确、灵敏、稳定、适用于八角及其制品中莽草毒素含量测定的液相色谱-串联质谱方法，不仅是加强原料质量控制、保障食品安全的迫切需要，更是防范中毒风险、规范市场秩序、推动八角产业高质量发展的关键支撑。本研究旨在优化样品前处理工艺（如提取溶剂、净化方式）、色谱分离条件（色谱柱、流动相）及质谱参数（离子源、碰撞能量），建立标准化检测流程，为监管部门、生产企业及科研机构提供可靠的技术手段，全面提升八角类产品的安全监管水平。

综上所述，开展八角及其制品中莽草毒素的LC-MS/MS检测方法研究，具有重要的科学价值、应用意义和公共卫生意义，是构建从产地到餐桌全链条质量安全防控体系的重要一环。

三、主要起草过程

**（一）成立标准编制工作组**

团体标准《八角及其制品中莽草毒素含量的测定 液相色谱-串联质谱》项目任务下达后，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）〕成立了标准编制工作组，起草单位制定了起草编写方案与进度安排，明确任务职责，确定工作技术路线，开展标准研制工作。具体标准编制工作由广西—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）〕、中国农业大学食品科学与营养工程学院、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、广西壮瑶药技术创新中心、贺州市检验检测中心、崇左市食品药品检验所等单位负责人组成的标准编制工作组完成。

编制工作组下设三个组，分别是资料收集组、草案编写组、标准实施组。

资料收集组负责国内外有关八角及其制品中莽草毒素含量的测定的文献资料的查询、收集和整理工作，查阅前人对八角及其制品中莽草毒素含量的测定的研究情况。

草案编写组负责起草标准草案、征求意见稿和标准编制说明、送审稿及编制说明的编写工作，包括后期召开征求意见会、网上征求意见，以及标准的不断修改和完善。

标准实施组负责团体标准《八角及其制品中莽草毒素含量的测定 液相色谱-串联质谱》发布后，组织相关企事业单位开展标准宣贯培训会，对标准进行详细解读，让相关人员了解标准，并根据标准对液相色谱-串联质谱法测定八角及其制品中莽草毒素含量进行规范化操作，并对标准实施情况进行总结分析，不断对团体标准提出修正意见。

**（二）收集整理文献资料**

标准编制工作组收集了国内有关“八角及其制品中莽草毒素含量的测定”相关文献资料。主要有：

[1] GB/T 7652-2016 《八角》；

[2] GAT 2313-2024《法庭科学 食品中黄曲霾毒素B1等14种真菌毒素检验 液相色谱-质谱法》；

[3] 钟玉心，王宇，钱振杰，等. 基于QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法检测八角中莽草毒素的研究[J].分析测试学报，2022，41(11) ， 22042705.

[4] 沈遥，Teris A.van Beek，Frank W.Claassen，等.实时直接分析高分辨质谱快速检测中药八角制剂中的神经毒素-莽草素[C]//中国毒理学会分析毒理专业委员会.第七次全国分析毒理学大会暨第四届分析毒理专业委员会第二次会议论文摘要集.湖南师范大学"化学生物学及中药分析"教育部重点实验室;Laboratory of Organic Chemistry，Wageningen University，Dreijenplein 8，6703 HB Wageningen，The Netherlands;，2012:51-52..

[5] Mathon C， Bongard B， Duret M， et al. Analysis of the neurotoxin anisatin in star anise by LC-MS/MS[J]. Food Additives & Contaminants: Part A， 2013， 30(9): 1598-1605..

**（三）研讨确定标准特色、创新点和主体内容**

1、标准特色和创新点

采用高效液相色谱-串联质谱法，多反应监测模式扫描，利用高效液相色谱-串联质谱法，对八角及其制品中莽草毒素进行快速定性定量检测，避免了传统高效液相色谱法的假阳性干扰，通过优化离子源参数，提高检测灵敏度，可满足痕量莽草毒素的检测需求。方法验证覆盖干八角、八角粉等多种形态样品，建立适用于全品类八角制品的统一检测方法，填补了八角油等脂溶性产品中莽毒素检测的技术空白。该方法的建立为八角产品质量安全监管提供了关键技术支撑，其创新性主要体现在高特异性、高灵敏度等方面。

2、主体内容

标准编制工作组在对收集的资料进行整理研究之后，准编制工作组召开了标准编制会议，对标准的整体框架结构进行了研究，并对标准的关键性内容进行了初步探讨。经过研究，标准的主体内容确定为原理、试剂和材料、仪器和设备、样品、分析步骤、结果计算、检出限、定量限、精密度、试验报告。

**（四）调研及形成草案、征求意见稿**

2025年5月1日-5月30日，标准制定任务下达后，首先确定了工作组的主要组成人员及人员分工，主要由从事标准制修订、检测分析的专业研究人员组成；召开了标准起草会议，项目负责人对标准的立项情况做了详细介绍，制定了标准研制的总体思路和框架。

2025年5月30日-6月30日，工作组收集相关材料，查阅相关资料和文献，并制定了初步的标准编制工作计划。

2025年6月30日-2025年7月30日，工作组按照计划任务书的要求，结合制定标准的要求，调研实验方案，工作组赴广西香精香料协会、广西供应链服务集团南宁物资储运有限公司、广西庚源实业集团有限公司、广西天雨农业科技有限公司、广西中医药大学、中国农业大学、贺州市检验检测中心等行业协会、企业、检测机构、高校等地进行广泛调研。

2025年8月1日-12月30日，工作组查阅、收集和整理了国内外有关研究进展和专利、标准、法规等文献资料。方法起草工作组通过查阅相关资料和文献，确定了本技术规范的基本框架。包括：原理、试剂和材料、仪器和设备、样品、分析步骤、结果计算、检出限、定量限、精密度等内容。结合本实验室的条件和本方法的技术特点，摸索并优化了标准曲线配制方案、制样和前处理方法、仪器方法，并开展了定量限、精密度、准确度等技术指标的技术论证，建立了一种高选择性、高灵敏度，既定性又定量的八角及其制品中莽草毒素含量的测定方法。根据论证结果，工作组共同讨论起草形成了《八角及其制品中莽草毒素含量的测定 液相色谱-串联质谱》团体标准的技术框架和主要内容，初步形成了标准草案。经过多次讨论、研究、征求意见，对存在的问题进行了修订，初步确定了标准初稿并对初稿进行多次反复修改，形成《八角及其制品中莽草毒素含量的测定 液相色谱-串联质谱》征求意见稿及编制说明。

四、制定标准的原则和依据，与现行法律、法规的关系，与有关国家标准、行业标准的协调情况

**（一）编制原则**

**1、实用性原则**

本文件是在充分收集相关资料和文献，分析八角及其制品中莽草毒素含量的测定当前现状，在现有相关液相色谱-串联质谱法测定八角及其制品中莽草毒素含量要求的基础上，结合编制单位多年相关经验而总结起草的，符合当前八角及其制品中莽草毒素含量的测定发展的方向，具有较强的实用性和可操作性。

**2、协调性原则**

本文件编写过程中注意了与八角及其制品中莽草毒素含量的测定相关法律法规的协调问题，在内容上与现行法律法规、标准协调一致。

**3、规范性原则**

本文件严格参照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》编写本标准的内容，保证标准的编写质量。

**4、前瞻性原则**

本文件在兼顾当前区内八角及其制品中莽草毒素含量的测定现实情况的同时，还考虑到了液相色谱-串联质谱法测定八角及其制品中莽草毒素含量技术快速发展的趋势和需要，在标准中体现了个别特色性、前瞻性和先进性条款，作为对液相色谱-串联质谱法测定八角及其制品中莽草毒素含量工作发展的指导。

**（二）编制依据**

本标准严格按照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》的规则起草，标准主要内容参考相关标准文件并结合起草单位多年的相关经验和实践验证情况总结进行起草。

**（三）与现行法律、法规的关系，与有关国家标准、行业标准的协调情况**

本编制工作组承诺本标准内容与各项指标不违反相关法律法规要求，且不低于国家强制性标准、推荐性国家标准和行业标准要求。

经查阅，截至目前，暂无《八角及其制品中莽草毒素含量的测定 液相色谱-串联质谱》标准。关于八角的标准主要有《GB/T 7652-2016八角》、《DB45/T 226-2017地理标志产品 广西八角》《DB45/T 1350-2022地理标志产品 上林八角》《T/CFNA 6102-2020 八角》、《T/ZSGTS 091-2022 香山之品 八角》、《T/CAI 211-2023 地理标志证明商标 防城八角》、《T/CAI 197-2023地理标志证明商标 玉林八角》等，但均未涉及八角中莽草毒素的含量测定 液相色谱-串联质谱法的内容。

五、主要条款的说明

团体标准《八角及其制品中莽草毒素含量的测定 液相色谱-串联质谱》的主要内容包括：原理、试剂和材料、仪器和设备、样品、分析步骤、结果计算、检出限、定量限、精密度、试验报告。本文件主要内容及依据来源说明如下：

根据国家市场监督管理总局《食品安全国家标准 八角》（GB/T 7520-2016）以及《中国药典》中都严格规定了八角的感官要求（色泽、气味、滋味等）和理化指标、鉴别（如薄层色谱发TLC），旨在区分有毒的莽草和五毒的八角。《食品安全法》中规定严禁危害人体健康的物质添加或混入。因此检验检测八角中混入莽草并测定莽草毒素的含量十分重要。

本文件参考了GAT 2313-2024《法庭科学 食品中黄曲霾毒素B1等14种真菌毒素检验 液相色谱-质谱法》的液相色谱-串联质谱法，制定了以莽草及其饮片等为基质的食品中的莽草毒素的检测方法。本方法标准文本附录B中提供了莽草毒素标准品的提取离子流色谱图。

**(一）原理**

试样中的莽草毒素用甲醇超声提取，根据不同样品基质，提取液经离心、过滤后，采用液相色谱-串联质谱仪分析，根据保留时间、母离子/子离子对进行定性，基质标准曲线外标法定量。

**(二）试剂和材料**

所用试剂和材料按检测所需分别列出。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。

试剂主要包括甲醇、甲酸、乙腈、莽草毒素标准品及标准储备液（1.0 mg/mL）、中间标准工作液（10.0 μg/mL）、标准工作曲线溶液。

**(三）仪器和设备**

试验所需的仪器和设备如下：

1、高效液相色谱-串联质谱仪：配电喷雾离子源（ESI）。

2、天平：感量分别为0.01 g和0.0001 g。

3、涡旋混合器。

4、离心机，转速＞4 000 r/min。

5、超声波清洗器。

6、粉碎机。

7、微孔滤膜：有机系，0.22 μm。

8、固相萃取小柱（Oasis○R HLB 3cc 60 mg）。

**(四）样品**

在样品前处理方面，起草单位还进行了化合物性质及标准物质稳定的考察及前处理方法的研究，结果如下：

**1、化合物性质及标准物质稳定的考察**

莽草毒素结构如图1所示。化学式：C15H20O8，莽草毒素的结构中含有多个特殊的环系和官能团，这使得它具有很高的化学活性和毒性，其核心结构包含一个螺[环戊烷并环氧辛烷-6,3'-氧杂环丁烷]（Spiro[cyclopentadioxocin-oxetane]）的复杂骨架。这种螺环结构在天然产物中相对少见，增加了其结构的刚性和特殊性；结构中包含一个四元的氧杂环丁烷（Oxetane）环，这种环张力较大，容易发生开环反应；分子中含有多个羟基（-OH），使其具有一定的亲水性，但也容易与生物大分子结合。

**表1 肉桂中莽草毒素的中文名称、英文名称、CAS号、分子式、相对分子质量**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **中文名称** | **英文名称** | **CAS号** | **分子式** | **相对分子**  **质量** |
| 莽草毒素 | Anisatin | 5230-87-5 | C15H20O8 | 328.32 |

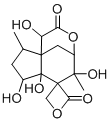


图1 莽草毒素的化学结构式

莽草毒素的标准储备液（1 mg/mL）、标准中间液（1 μg/mL）的配制和储存，将同一标准储备液（100 μg/mL）分别于3天、5天、15天测定其峰面积的变化。结果显示，莽草毒素15天内标准储备液峰面积RSD大于30%，说明莽草毒素的储备液在1个月内稳定性较差，因此建议标准草案文本3.4.1-3.4.2的储备液和中间液的为临用新配、存储条件为冷冻保存。

**2、样品前处理方法的研究**

取试样0.5g粉碎或匀浆或混匀处理，以增加样品取样的代表性均匀性。经测试，该物质在甲醇、乙腈中的溶解性良好，但其他溶剂溶解性未知。分别考察了目标物在甲醇、乙腈两种溶剂中的提取效果，结果显示，二者对莽草毒素的提取能力相当，由于绝大部分内脂类化合物在甲醇中溶解性较好，因此本方法使用甲醇作为溶剂。超声辅助提取利用空化作用使分子运动加快，同时超声波提供样品能量，有助于组分脱附和溶解加快，具有提取时间短、速度快、效率高等优点，按标准文本方法分别考察了超声提取10 min、15 min、30min和45 min四种提取时间对五香粉、八角茴香2种基质的提取效果，见图2。由图可见，采用超声提取30min后提取率基本稳定，之后随着 超声时间延长提取率基本无变化，因此采用超声提取样品30 min。通过上述考察确定了试样制备方案。

**图2 莽草毒素提取率超声随时间的变化**

**(五）分析步骤**

**1、液相色谱条件的优化**

本方法参考了BJS202203和GB 5009.284-2021的液相色谱-质谱条件，采用高选择性高灵敏度的MRM作为扫描模式。根据化合物在正负不同电离模式下的响应值、峰形和稳定性确定了正离子电离方式。实验考察了液质联用常用的有机流动相甲醇和乙腈。结果显示，相同条件下乙腈作为有机相为的出锋时间为2.608min，甲醇作为有机相的出锋时间为5.800min，二者均能实现有效分离，但甲醇作为有机相的分离度更高，本方法选择价格便宜的甲醇作为有机相。并采用挥发性的甲酸来调节水相流动相酸度以提高离子化效率，甲酸浓度选择较低的0.1%。由此确定了流动相组成为0.1%甲酸溶液-甲醇。

为了提高待测物的分离效果和检测灵敏度，分别考察3种色谱柱Shim-pack GISTC18-AQ（2.1×150 mm，2.7 μm）、ACQUITY UPLC HSS T3（2.1×100 mm，1.8 μm）和CORTECS® C18（2.1×100mm，2.7μm）的分离效果。结果表明，莽草毒素均能在三种色谱柱的梯度洗脱条件下获得较好的峰形和分离度，但Shim-pack GISTC18-AQ色谱柱柱效更高，谱柱柱压更低。故最终选用Shim-pack GISTC18-AQ色谱柱作为分析柱。为提高分离效率，方法采用梯度洗脱模式。

**2、质谱条件的优化**

实验配制1 μg/mL的莽草毒素标准溶液，在岛津三重四极杆—液质联用仪LCMS-8050上，接双通流路，基于目标化合物的相对分子质量，确定质荷比（m/z）的扫描范围，设定母离子质谱扫描范围为m/z 200～400，直接进样分析。结果表明，在正负离子模式下进行质谱全扫描获取母离子质谱图负模式的响应更佳。负模式中存在的m/z 326.95 [M-H] 和 m/z 373.15 [M+HCOO-] 前体离子。因此，选择响应和稳定更佳的负模式下m/z 373.15 [M+HCOO-]和m/z 326.95[M+H]离子作为后续优化前体离子（相关质谱图下图3、图4所示）。



**图3 莽草毒素Scan正模式扫描质谱图**



**图4莽草毒素Scan负模式扫描质谱图**

实验配制0.5 μg/mL的莽草毒素标准溶液，在岛津三重四极杆—液质联用仪LCMS-8050上，接双通流路，基于负模式下对m/z 326.95 [M-H]和m/z 373.15 [M+HCOO-]进行前体离子、产物离子、碰撞能CE（V）、Q1 Pre偏差电压（V）和Q3 Pre偏差电压（V）的自动优化。基于目标化合物的相对分子质量的[M-H]和[M+HCOO-]进行前体离子优化，结果显示最佳响应前体离子分别为m/z 327.2和m/z 372.95（前体离子优化结果如图5所示）。基于对碰撞能CE=10~60 V范围内进行产物离子优化，结果显示，前体离子为m/z 327.2和m/z 372.95下产物离子m/z 165.0和m/z 150.0均有最佳响应，考虑到后续实验的灵敏度要求和其它产物离子响应情况，选取372.95<165.0、372.95<150.0、327.2<165.0和327.2<150.0作为后续分析离子对（产物离子质谱分析结果如图6所示）。分别对四组离子对进行Q1 Pre偏差电压（V）和Q3 Pre偏差电压（V）优化，仪器根据离子对最佳响应进行自动选取最优偏差电压（优化结果如图7、图8所示）。





**图5 莽草毒素前体离子优化结果**



















**图6 莽草毒素产物离子优化结果**





**图7 莽草毒素Q1 Pre偏差电压优化结果**





**图8 莽草毒素Q3 Pre偏差电压优化结果**

以八仙饮液体体饮料基质加标溶液（0.1 mg/kg）为实验对象在Waters Xevo TQXS和岛津 LCMS-8050上考察了莽草毒素373.1<165.0、373.1<150.0、327.2<165.0和327.2<150.0离子对的响应，如图5所示。结果显示，莽草毒素为373.1<165.0和373.1<150.0两组离子响应良好，峰形好，无分叉，干扰少；固体饮料基质加标溶液在Waters Xevo TQXS上327.2<165.0和327.2<150.0响应较差且信噪比较小。为保障定性的准确性，选择其中响应更佳且无干扰的373.1<165.0离子对作为定量离子对，373.1<150.0离子对作为定性离子对。

分别以100 ng/mL的莽草毒素标准溶液，在岛津LCMS-8050上接双通流路直接进样。在MRM多反应监测模式下，分别对接口电压、接口温度、雾化气流量、加热气流量、脱溶剂温度和加热块温度等质谱参数进行了优化。质谱参考条件详见标准草案5.3.2。考虑到不同型号仪器之间的差异，标准文本中明确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。

**3、分析方法评价**

**（1）线性回归方程和检出限实验**

首先，配制系列标准溶液在岛津8050进样，以各组分峰面积与浓度作线性回归。在本实验条件下，将基质标曲浓度最低点溶液以对应空白基质溶液连续稀释，以信噪比（S/N）为100时的浓度作为该化合物的检出限，以信噪比（S/N）为300时的浓度作为定量限。莽草毒素的线性回归方程、相关系数、检出限和定量限如表2和表3所示。

**表2 莽草毒素线性回归方程、相关系数**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **溶剂** | **线性回归方程** | **相关系数*r*** | **线性范围/** |
| **(ng/mL)** |
| 甲醇 | y = 2788.755 x + -488.4040 | 0.9998911 | 1-100 |

**表3 莽草毒素检出限和定量限**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **溶剂** | **检出限/** | **定量限/** |
| **(**m**g/kg)** | **(**m**g/kg)** |
| 液体饮料 | 0.01 | 0.05 |
| 八角茴油 | 0.01 | 0.05 |
| 五香粉 | 0.05 | 0.2 |
| 八角 | 0.2 | 0.5 |

由表2可见，在溶剂匹配曲线中莽草毒素在1-100 ng/mL质量浓度范围内线性关系良好，相关系数*r*＞0.999。

由表3可见。1.液体饮料和八角茴油以基质加标试验至0.01 mg/kg浓度时，所有基质的信噪比S/N均大于100。基质加标试验至0.1mg/kg浓度时，所有基质的信噪比S/N均大于300。考虑到不同仪器和实验条件的影响，将本文件中液体饮料和八角茴油的检出限和定量限确定为：当称样量为1.0 g，定容体积为10 mL时，本方法中莽草毒素的检出限为0.01 mg/kg，定量限为0.05mg/kg。2.五香粉以阳性样品的信噪比计算，其检出限和定量限分别为0.03 mg/kg和0.08mg/kg。考虑到不同仪器和实验条件的影响，将本文件中五香粉的检出限和定量限确定为：当称样量为1.0 g，定容体积为50mL时，本方法中莽草毒素的检出限为0.05mg/kg，定量限为0.20 mg/kg。3. 八角以阳性样品的信噪比计算，其检出限和定量限分别为0.1 mg/kg和0.4mg/kg。考虑到不同仪器和实验条件的影响，将本文件中八角的检出限和定量限确定为：当称样量为1.0 g，定容体积为250mL时，本方法中莽草毒素的检出限为0.2mg/kg，定量限为0.5 mg/kg。

**（2）回收率实验**

实验考察了在液体饮料（八仙饮）、八角茴油等阴性样品两种基质中莽草毒素检出限、两倍检出限和十倍检出限水平加标的回收率。准确吸取0.1 μg/mL标准溶液液0.1、0.2、1.0 mL，加入到阴性样品中，按样品8.1.3同法提取，各水平平行测定6次，结果如表4所示。

**表4 回收率实验 (n=6)**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **添加水平** | | 检出限水平（0.01mg/kg） | 2倍检出限水平（0.02mg/kg） | 10倍检出限水平（0.1mg/kg） |
|  | |
| **基质类型** | | 莽草毒素回收率 | 莽草毒素回收率 | 莽草毒素回收率 |
|  | | （%） | （%） | （%） |
| 液体饮料 | 1 | 98.47 | 96.33 | 97.29 |
| 2 | 99.19 | 95.04 | 99.26 |
| 3 | 100.89 | 94.66 | 95.77 |
| 4 | 109.3 | 100.08 | 96.84 |
| 5 | 104.54 | 100.69 | 99.08 |
| 6 | 104.53 | 101.1 | 99.71 |
| 平均值 | 102.82 | 97.98 | 97.99 |
| RSD (%) | 3.63 | 2.76 | 1.47 |
| 八角茴油 | 1 | 106.95 | 102.45 | 104.14 |
| 2 | 101.84 | 106.81 | 101.59 |
| 3 | 113.02 | 99.91 | 104.48 |
| 4 | 113.06 | 99.44 | 103.54 |
| 5 | 106.56 | 98.36 | 99.75 |
| 6 | 109.91 | 108.56 | 102.55 |
| 平均值 | 108.56 | 102.59 | 102.68 |
| RSD (%) | 3.64 | 3.74 | 1.59 |

实验考察了在五香粉阳性样品基质中莽草毒素低中高三个水平的回收试验。准确吸取1.0 μg/mL标准溶液液0.15、0.2、0.25 mL，加入到样品中，按样品固体、半固体样品（含八角复合调味料、火锅料等）同法提取，各水平平行测定6次，结果如表5所示。

**表5 回收率实验 (*n*=6)**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **添加水平** | | 添加水平1（0.3mg/kg） | 添加水平2（0.4mg/kg） | 添加水平3（0.5mg/kg） |
|  | |
| **基质类型** | | 莽草毒素回收率 | 莽草毒素回收率 | 莽草毒素回收率 |
|  | | （%） | （%） | （%） |
| 五香粉 | 1 | 92.18 | 98.17 | 107.46 |
| 2 | 92.16 | 101.55 | 106.61 |
| 3 | 92.06 | 106.17 | 99.86 |
| 4 | 92.03 | 103.28 | 96.96 |
| 5 | 92.28 | 107.05 | 105.70 |
| 6 | 92.22 | 105.90 | 102.59 |
| 平均值 | 92.15 | 103.69 | 103.20 |
| RSD (%) | 0.10 | 3.00 | 1.40 |

实验考察了在八角阳性样品基质中莽草毒素低中高三个水平的回收试验。准确吸取10 μg/mL标准溶液液0.10、0.25、0.50 mL，加入到样品中，按样品八角同法提取，各水平平行测定6次，结果如表6所示。

**表6 回收率实验 (*n*=6)**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **添加水平** | | 添加水平1（2mg/kg） | 添加水平2（5mg/kg） | 添加水平3（10mg/kg） |
|  | |
| **基质类型** | | 莽草毒素回收率 | 莽草毒素回收率 | 莽草毒素回收率 |
|  | | （%） | （%） | （%） |
| 八角 | 1 | 104.63 | 109.89 | 106.03 |
| 2 | 98.93 | 109.75 | 102.20 |
| 3 | 97.33 | 108.81 | 100.03 |
| 4 | 96.57 | 106.55 | 100.48 |
| 5 | 94.72 | 100.72 | 103.70 |
| 6 | 98.10 | 106.09 | 101.49 |
| 平均值 | 98.38 | 106.97 | 102.32 |
| RSD (%) | 3.14 | 2.95 | 2.00 |

由表6可见，莽草毒素回收率范围在92.03%~113.06%内，相对标准偏差RSD为0.10%~3.74 %，结果符合GB/T 27404-2008的技术要求。

**（3）精密度实验**

将莽草毒素的3水平标准溶液（2 ng/mL、5 ng/mL、20 ng/mL）在相同条件下连续重复进样6次。莽草毒素3水平平均测得浓度分别为（单位：ng/mL）：1.9849,5.1741,20.2351，相对标准偏差RSD分别为1.7%、1.4%、1.6%，在相同条件下，重复进样3次，连续三天测定莽草毒素日间精密度，经检测，测定的平均值为18.8 ng/kg，RSD 3.5 %。以液体饮料基质1.0 ng/kg加标样品再相同条件下重复进样3次连续三天测定莽草毒素日间精密度，经检测，测定的平均值为0.845ng/kg，RSD 3.5 %，说明使用该方法所得检测结果准确可靠，精密度高。

**4、方法验证**

**（1）仪器比对**

为考察不同仪器间本方法的可行性，实验采用岛津三重四极杆—液质联用仪LCMS-8050和Waters三重四级杆液质联用仪两种不同品牌的三重四极杆串联质谱系统，按本文件方法对相同标准曲线溶液、阳性样品、阴性样品溶液进行检测，标准曲线及样品溶液测定结果如表7所示。

**表7 仪器比对结果汇总表**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **项目** | | 岛津三重四极杆—液质联用仪LCMS-8050 | Waters三重四级杆液质联用仪 |
| **色谱柱** | | ACQUITY UPLC HSS T3（2.1×150 mm，2.7 μm） | ACQUITY UPLC HSS T3（2.1×150 mm，2.7 μm） |
| **莽草毒素保留时间** | | 5.800 | 5.843 |
| **标准**  **曲线** | **莽草毒素方程** | y = 2029.312 x + 115.197 | y = 2763.94 x + -368.091 |
| ***r*** | 0.9996 | 0.99947 |
| **阴性样品** | **莽草毒素** | 未检出 | 未检出 |
| **阳性样品** | **八角中莽草毒素** | 4.658 mg/kg | 4.728mg/kg |

结果显示，两种品牌仪器对被测组分的检出均不存在干扰。两种仪器对同一阳性样品的莽草毒素检测平均值为4.693mg/kg，精密度为1.5%，精密度＜10 %，说明本方法在两种仪器间适用性良好，重现性高。

**（2）实验室间比对**

将仪器比对同一样品，在贺州市检验检测中心（A）、广西壮族自治区产品质量检验研究院（B）2家食品检验机构中进行结果比对。根据两个机构及本中心（C）的验证结果进行分析，结果如表8所示

**表8 实验室间验结果汇总表**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 机构  编号 | 仪器 | 阴性空白含量/mg/kg | 阳性样品检出结果/mg/kg | |
| 八角 | 五香粉 |
| A | 岛津LCMS-8040 | 未检出 | 4.7143 | 0.4057 |
| B | 岛津LCMS-8050 | 未检出 | 4.4475 | 0.4079 |
| C | Waters三重四级杆液质联用仪 | 未检出 | 4.693 | 0.4021 |
| 平均值( mg/kg) | | / | 4.618 | 0.4052 |
| RSD% | | / | 3 | 0.7 |

如表8结果显示，3家机构使用不同仪器所测结果莽草毒素的检出均不存在干扰。同一阳性样品检测结果相近，莽草毒素平均结果为八角4.618 mg/kg 和五香粉0.4052 mg/kg，3家机构实验内相对标准偏差均＜10 %，实验室间相对标准偏差均＜15 %，满足方法编制技术要求。说明该方法准确可靠，重现性高，可用于食品中莽草毒素的测定。

**5、实际样品测定**

在国内市场上采购的八角样品和含八角的复合调品中均检出莽草毒素，为依法治国，建立健全我国食品标准体系，迫切需要建立食品中莽草毒素的检验方法，为食品安全监管提供强有力的技术保障。

六、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准研制过程中无重大分歧意见。

七、实施标准的措施

**（一）标准报批发布后，成立标准宣贯工作组**

本标准发布后，成立以主要起草人为成员的标准宣贯工作组，主要负责标准的宣贯实施培训计划制定、标准实施交流会策划、标准实施信息反馈收集和标准实施效果评估等工作，并根据标准实施信息反馈和标准实施效果评估情况，及时组织标准复审修订。

**（二）组织开展标准宣贯培训**

标准发布实施后，标准宣贯工作小组制作标准解读宣贯培训PPT课件和标准核心技术明白书，并按标准宣贯培训计划深入各市县相关机构、单位开展标准宣贯培训，对标准进行逐条解读，让技术人员掌握标准核心内容，助力标准实施落地。

**（三）开展标准实施交流会，收集标准实施反馈信息**

标准起草小组深入各市县相关机构、单位组织技术人员召开标准实施交流会，听取标准实施过程中存在的问题并做好记录和解答，对存在的问题组织专家团队进行研讨，为标准的复审修订做准备。

**（四）开展标准实施效果评估**

标准实施满2年，每年标准宣贯工作组采取网络调查、问卷调查、实地调研、召开座谈会或论证会、专家咨询等方式开展标准实施效果评估，并形成标准实施效果评估报告，为标准的复审修订做准备。

八、其他应当说明的事项

无。

团体标准《八角及其制品中莽草毒素含量的测定 液相色谱-串联质谱法》标准编制工作组

2026年2月4日