

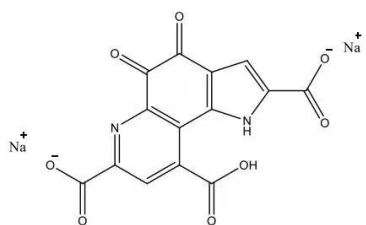
附件 1

关山樱花等 2 种新食品原料

一、关山樱花

中文名称	关山樱花
英文名称	Kanzan flower
基本信息	来源：蔷薇科李亚科樱属关山樱（ <i>Cerasus serrulate</i> ‘Sekiyama’）的花。采集花期为花蕾开放 3/4 以上至全开。
其他需要说明的情况	1. 婴幼儿、孕妇和哺乳期妇女不宜食用，标签及说明书应当标注不适宜人群。 2. 食品安全指标按照其他蔬菜制品的规定执行。

二、吡咯并喹啉醌二钠盐

中文名称	吡咯并喹啉醌二钠盐
英文名称	Pyrroloquinoline quinone disodium (PQQ) salt
基本信息	<p>CAS: 122628-50-6 分子式: C₁₄H₄N₂Na₂O₈ 分子量: 374.17 结构式:</p> 
生产工艺简述	以 6-氨基-5-甲氧基-1 <i>H</i> -吡啶-2-羧酸乙酯和 2-氧代戊烯二酸二甲酯为原料，经偶联成环反应、喹啉环的形成、氧化反应、酯水解反应以及精制等工艺制成。

推荐食用量		≤20 毫克/天	
质量要求	性状	红棕色粉末	
	吡咯并喹啉醌二钠盐含量 (以干基计), g/100 g ≥	98.0	
	水分, g/100 g ≤	12.0	
其他需要说明的情况		1.使用范围和最大使用量: 饮料 (40 mg/kg, 固体饮料按照冲调后液体质量折算)。 2.婴幼儿、孕妇和哺乳期妇女不宜食用, 标签、说明书应当标注不适宜人群。 3.吡咯并喹啉醌二钠盐的含量检测方法见附录 A, 两种杂质(3-氯-4,5-二氧-4,5-二氢-1 <i>H</i> -吡咯[2,3- <i>f</i>]喹啉-2,7,9-三羧酸和 4-硝基-5-甲氧基-1 <i>H</i> -吡咯[2,3- <i>f</i>]喹啉-2,7,9-三羧酸) 的检测方法见附录 B。 4.食品安全指标须符合以下规定:	
		铅 (Pb), mg/kg ≤	0.5
		砷 (As), mg/kg ≤	1.0
		镉 (Cd), mg/kg ≤	0.1
		汞 (Hg), mg/kg ≤	0.1
		3-氯-4,5-二氧-4,5-二氢-1 <i>H</i> -吡咯[2,3- <i>f</i>]喹啉-2,7,9-三羧酸, g/100 g ≤	0.8
		4-硝基-5-甲氧基-1 <i>H</i> -吡咯[2,3- <i>f</i>]喹啉-2,7,9-三羧酸, g/100 g ≤	0.5

附录 A

吡咯并喹啉醌二钠盐的检测方法

A.1 原理

吡咯并喹啉醌二钠盐经溶解，采用反相高效液相色谱分离，紫外检测器检测，标准曲线法定量。

A.2 试剂和材料

除非另有说明，本方法使用的所有试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

A.2.1 三水合磷酸氢二钾。

A.2.2 四丁基溴化铵。

A.2.3 磷酸。

A.2.4 乙腈：色谱纯。

A.2.5 吡咯并喹啉醌二钠盐标准品：纯度 $\geq 97.0\%$ 。

A.2.6 水相微孔滤膜：0.22 μm 。

A.2.7 10 mmol/L 磷酸氢二钾-15 mmol/L 四丁基溴化铵混合溶液 (pH 7.4)：称取三水合磷酸氢二钾 2.28 g、四丁基溴化铵 4.84 g 至烧杯中，加入 800 mL 水超声溶解，用磷酸调 pH 至 7.4，转移至 1000 mL 容量瓶中，用水定容，摇匀。用 0.22 μm 水相微孔滤膜真空抽滤，然后超声至无气泡。

A.2.8 乙腈水溶液 (体积比为 1:3)：分别量取 250 mL 乙腈、

750 mL 水，加入试剂瓶中，混合均匀。

A.3 仪器和设备

A.3.1 高效液相色谱仪，配紫外检测器及自动进样器。

A.3.2 电子天平：感量为 0.01 mg。

A.4 分析步骤

A.4.1 标准溶液配制

称取吡咯并喹啉醌二钠盐标准品 40 mg（精确至 0.01 mg），置于 100 mL 容量瓶中，加入乙腈水溶液溶解并定容至刻度，摇匀，即得浓度为 0.4 mg/mL 的吡咯并喹啉醌二钠盐标准品贮备溶液。将该溶液配制成一系列浓度为 0.04 mg/mL、0.08 mg/mL、0.12 mg/mL、0.16 mg/mL、0.20 mg/mL 和 0.24 mg/mL 的吡咯并喹啉醌二钠盐标准溶液。

A.4.2 试样处理

称取吡咯并喹啉醌二钠盐样品 20 mg（精确至 0.01 mg），置于 50 mL 容量瓶中，加入乙腈水溶液溶解并定容至刻度，摇匀；然后精确移取上述溶液 5.0 mL 于 10 mL 容量瓶中，用乙腈水溶液稀释至刻度，摇匀，滤液用 0.22 μm 水相微孔滤膜真空抽滤后用于测定。

A.4.3 液相色谱参考条件

A.4.3.1 色谱柱：TCI Kaseisorb LC ODS 2000（4.6 mm \times 150 mm，5 μm ）或性能相当色谱柱。

A.4.3.2 柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ 。

A.4.3.3 流速：1.0 mL/min。

A.4.3.4 波长：250 nm。

A.4.3.5 进样量：20 μ L。

A.4.3.6 流动相：流动相 A: 10 mmol/L 磷酸氢二钾-15 mmol/L 四丁基溴化铵混合溶液 (pH 7.4); 流动相 B: 乙腈。采用梯度洗脱，见表 A.1。

表 A.1 梯度洗脱程序

时间 (min)	A%	B%
0	75	25
25	75	25
48	79	21
50	75	25
55	75	25

A.4.4 测定

在规定色谱条件下，取各标准溶液和样品溶液各 20 μ L，分别注入液相色谱仪，进行色谱分析，记录所得各标准溶液和样品溶液色谱图中吡咯并喹啉醌二钠盐的峰面积。以标准溶液中的吡咯并喹啉醌二钠盐峰面积为 Y 轴，以对应标准溶液浓度为 X 轴，绘制标准曲线，得到吡咯并喹啉醌二钠盐标准曲线。根据样品溶液色谱图中的吡咯并喹啉醌二钠盐的峰面积，从标准曲线中求出样品溶液中的吡咯并喹啉醌二钠盐

浓度。吡咯并喹啉醌二钠盐标准溶液的反相液相色谱图见图 A.1。

A.5 结果计算

样品中吡咯并喹啉醌二钠盐的含量以其质量分数 W_1 计，数值以百分含量 (%) 表示，按公式 (1) 计算：

$$W_1 = \frac{C \times V \times f}{m \times (1 - W_2)} \times 100\% \quad (1)$$

式中：

C ——标准曲线中求出样品溶液中的吡咯并喹啉醌二钠盐浓度，单位为毫克每毫升 (mg/mL)；

V ——样品稀释体积，单位为毫升 (mL)；

f ——吡咯并喹啉醌二钠盐标准品的纯度；

m ——样品的质量，单位为毫克 (mg)；

W_2 ——样品中水分的质量分数，数值以百分数 (%) 表示。

取平行测定结果的算术平均值为测定结果，结果表示至小数点后两位。

A.6 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定的相对标准偏差不大于 2.0%。

附 录

吡咯并喹啉醌二钠盐标准溶液的反相液相色谱图

吡咯并喹啉醌二钠盐标准溶液的反相液相色谱图见图

A.1。

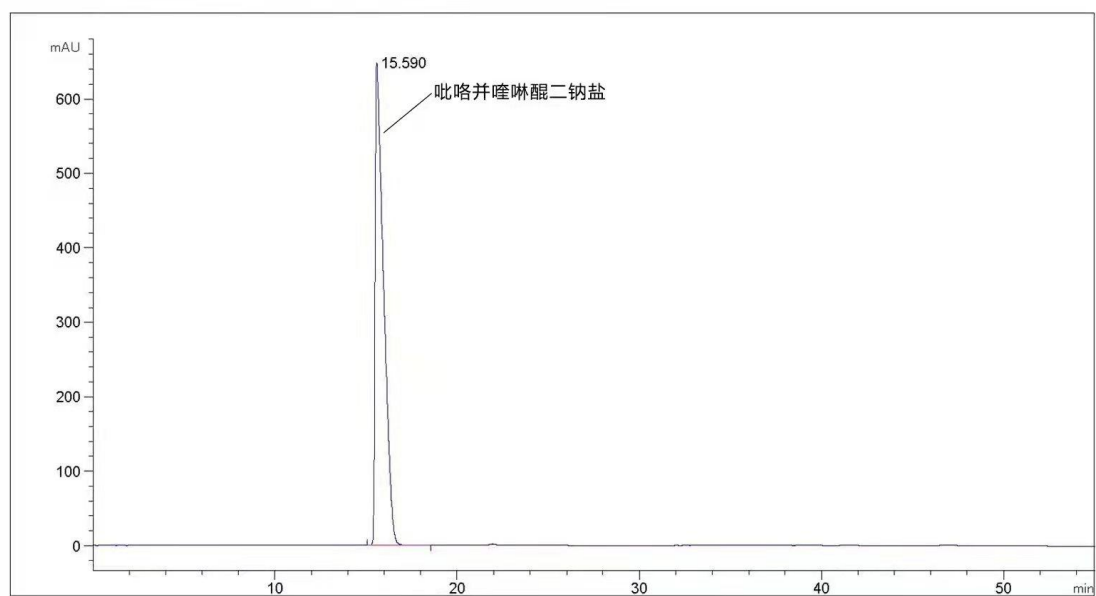


图 A.1 吡咯并喹啉醌二钠盐标准溶液的反相液相色谱图

附录 B

3-氯-4,5-二氧-4,5-二氢-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸和 4-硝基-5-甲氧基-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸的检测方法

B.1 原理

样品中的 3-氯-4,5-二氧-4,5-二氢-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸和 4-硝基-5-甲氧基-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸经反相高效液相色谱分离，紫外吸收检测器测定，采用主成分吡咯并喹啉醌二钠盐来计算待测成分的相对含量。

B.2 试剂和材料：同附录 A.2

B.3 仪器和设备：同附录 A.3

B.4 分析步骤

B.4.1 标准溶液配制

称取吡咯并喹啉醌二钠盐标准品 20 mg（精确至 0.01 mg），置于 100 mL 容量瓶中，加入乙腈水溶液溶解并定容至刻度，摇匀，然后精确移取 1 mL 至 100 mL 容量瓶，用乙腈水溶液稀释定容至刻度，摇匀，得到浓度为 0.002 mg/mL 标准溶液。

B.4.2 试样处理

称取吡咯并喹啉醌二钠盐样品 20 mg（精确至 0.01 mg），置于 50 mL 容量瓶中，加入乙腈水溶液溶解并定容至刻度，

摇匀，滤液用 0.22 μm 水相微孔滤膜真空抽滤后用于测定。

B.4.3 液相色谱参考条件

B.4.3.1 色谱柱：TCI Kaseisorb LC ODS 2000（4.6 mm \times 150 mm，5 μm ）或性能相当色谱柱。

B.4.3.2 柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ 。

B.4.3.3 流速：1.0 mL/min。

B.4.3.4 波长：250 nm。

B.4.3.5 进样量：20 μL 。

B.4.3.6 流动相：流动相 A：10 mmol/L 磷酸氢二钾-15 mmol/L 四丁基溴化铵混合溶液（pH 7.4）；流动相 B：乙腈。采用梯度洗脱，梯度洗脱程序同附录 A 表 A.1。

B.4.4 测定

在规定色谱条件下，取吡咯并喹啉醌二钠盐标准溶液和样品溶液各 20 μL ，分别注入液相色谱仪，进行色谱分析，以吡咯并喹啉醌二钠盐、3-氯-4,5-二氧-4,5-二氢-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸和 4-硝基-5-甲氧基-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸的相对保留时间（RRT，见表 B.1）定性，并记录所得色谱图中标准溶液的吡咯并喹啉醌二钠盐峰面积和样品溶液中的待测成分峰面积。3-氯-4,5-二氧-4,5-二氢-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸和 4-硝基-5-甲氧基-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸的反相液相色谱图分别见图 B.1 和图 B.2。

表 B.1 相对保留时间 (RRT)

名称	相对保留时间 (RRT)
吡咯并喹啉醌二钠盐	1.0
3-氯-4,5-二氧-4,5-二氢-1 <i>H</i> -吡咯[2,3- <i>f</i>]喹啉-2,7,9-三羧酸	1.4
4-硝基-5-甲氧基-1 <i>H</i> -吡咯[2,3- <i>f</i>]喹啉-2,7,9-三羧酸	3.0

B.5 结果计算

分别记录样品中 3-氯-4,5-二氧-4,5-二氢-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸和 4-硝基-5-甲氧基-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸的峰面积, 各化合物含量以其质量分数 W_{Rn} 计, 数值以百分含量 (%) 表示, 按公式 (2) 计算:

$$W_{Rn} = \frac{A_n \times c \times V \times f}{A \times m (1 - W_2)} \quad (2)$$

式中:

A_n —— 样品溶液中 3-氯-4,5-二氧-4,5-二氢-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸或 4-硝基-5-甲氧基-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸的峰面积;

c —— 标准溶液中吡咯并喹啉醌二钠盐的浓度, 单位为毫克每毫升 (mg/mL);

V —— 定容体积, 单位为毫升 (mL);

f —— 吡咯并喹啉醌二钠盐标准品的纯度;

A —— 标准溶液吡咯并喹啉醌二钠盐的峰面积;

m ——样品的质量，单位为毫克（mg）；

W_2 ——样品中水分的质量分数，数值以百分数（%）表示。

取平行测定结果的算术平均值为测定结果，结果表示至小数点后两位。

B.6 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定的相对标准偏差不大于 5.0%。

附 录

3-氯-4,5-二氧-4,5-二氢-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸和 4-硝基-5-甲氧基-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸的反相液相色谱图

3-氯-4,5-二氧-4,5-二氢-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸和4-硝基-5-甲氧基-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸的反相液相色谱图分别见图 B.1 和图 B.2。

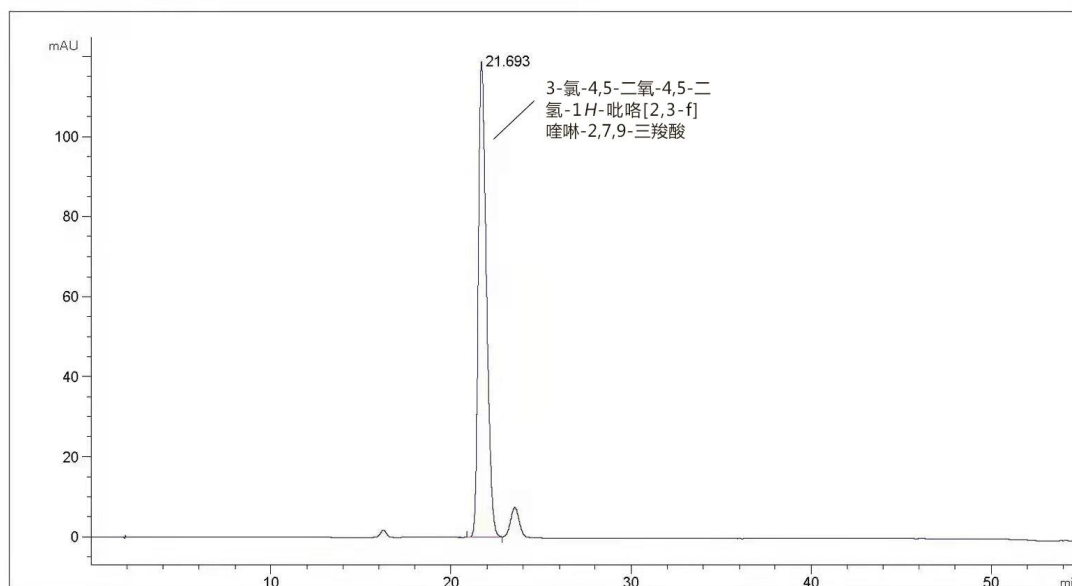


图 B.1 3-氯-4,5-二氧-4,5-二氢-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸的反相液相色谱图

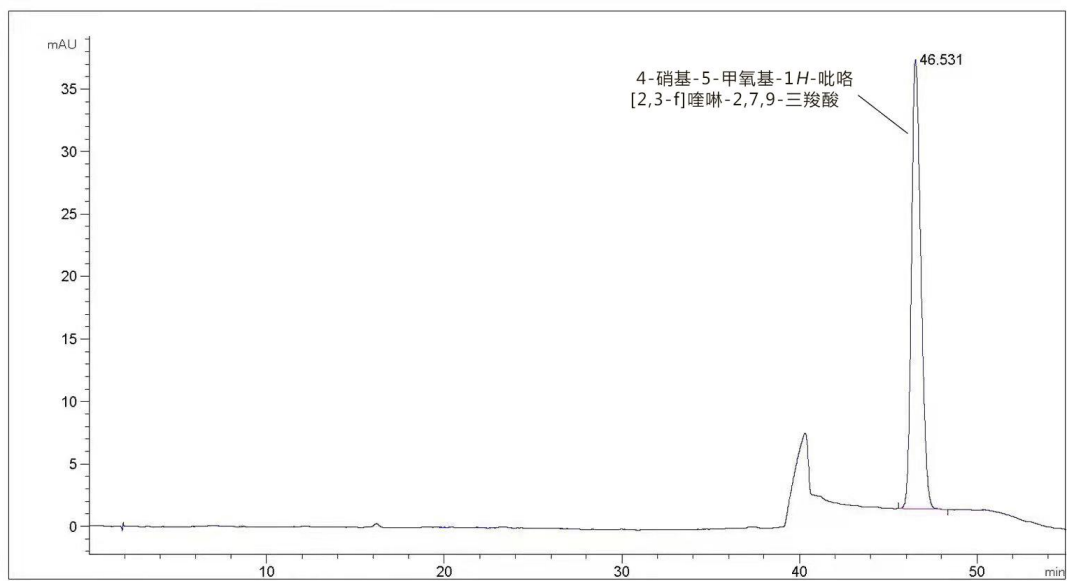


图 B.2 4-硝基-5-甲氧基-1*H*-吡咯[2,3-*f*]喹啉-2,7,9-三羧酸的
反相液相色谱图