

BJS

食品补充检验方法

BJS 202009

小麦粉中间苯二酚的测定 高效液相色谱法

2020-11-19 发布

国家市场监督管理总局 发布

小麦粉中间苯二酚的测定

高效液相色谱法

1 范围

本方法规定了小麦粉中间苯二酚含量的液相色谱测定方法。

本方法适用于小麦粉中间苯二酚的测定。

2 原理

试样中的间苯二酚经甲醇提取,蛋白沉淀剂沉淀,采用液相色谱 C₁₈-Amide 柱分离,荧光检测器检测,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,水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

3.1.1 甲醇(CH₃OH):色谱纯。

3.1.2 亚铁氰化钾[K₄Fe(CN)₆·3H₂O]。

3.1.3 乙酸锌 [Zn(CH₃COO)₂·2H₂O]。

3.1.4 冰醋酸(CH₃COOH)。

3.2 试剂配制

3.2.1 亚铁氰化钾溶液(92 g/L):称取 106 g 亚铁氰化钾,加入适量水溶解,用水定容至 1 000 mL。

3.2.2 乙酸锌溶液(183 g/L):称取 220 g 乙酸锌溶于少量水中,加入 30 mL 冰醋酸,用水定容至 1 000 mL。

3.3 标准品

3.3.1 间苯二酚标准品(C₆H₆O₂, CAS 号:108-46-3,相对分子质量 110.00)或经认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.4 标准溶液的配制

3.4.1 间苯二酚标准储备液(1.00 mg/mL):准确称取间苯二酚标准品(3.3.1)10 mg(精确至 0.1 mg),用甲醇(3.1.1)溶解,配制质量浓度为 1.00 mg/mL 标准储备液,-18 °C 避光保存,不超过 2 周。

3.4.2 标准中间液:准确移取 1.00 mL 间苯二酚标准储备液(3.4.1)于 10 mL 和 100 mL 容量瓶中,用甲醇(3.1.1)稀释至刻度,摇匀,制备质量浓度为 100 μg/mL 和 10.0 μg/mL 的标准中间液。临用现配。

3.4.3 标准工作溶液:吸取间苯二酚标准中间液(3.4.2),用甲醇(3.1.1)稀释成质量浓度分别为 0.010 0 μg/mL、0.020 0 μg/mL、0.100 μg/mL、0.500 μg/mL、1.00 μg/mL、5.00 μg/mL、10.0 μg/mL 标准工作溶液。临用现配。

3.5 材料

3.5.1 微孔滤膜:有机相,孔径 0.22 μm 。

3.5.2 比色管:25 mL。

4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱仪,配荧光检测器。

4.2 电子天平:感量分别为 0.1 mg 和 0.001 g。

4.3 涡漩振荡器。

4.4 超声波清洗器。

4.5 高速离心机。

4.6 样品粉碎机。

5 试样制备与保存

取代表性的试样不少于 200 g,装入洁净容器内密封并做好标识,置于阴凉干燥处保存。

6 测定步骤

6.1 试样处理

称取 5 g 试样(精确至 0.001 g)于 25 mL 比色管中,加入 15 mL 甲醇(3.1.1)涡漩混匀,超声 15 min,放置至室温后加入 1 mL 亚铁氰化钾溶液(3.2.1)和 1 mL 乙酸锌溶液(3.2.2),用甲醇定容至刻度,混匀 1 min。于 7 000 r/min 离心 3 min,取适量上清液过 0.22 μm 有机相滤膜,待液相色谱测定。

6.2 仪器参考条件

仪器参考条件如下:

- a) 色谱柱: C_{18} -Amide (150 mm \times 4.6 mm, 3 μm)或性能相当者;
- b) 流动相:A 为水,B 为甲醇,梯度洗脱条件见表 1;
- c) 柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;
- d) 进样体积:10 μL ;
- e) 荧光检测器,激发波长 273 nm,发射波长 304 nm;增益值:无增益。

表 1 梯度洗脱程序

| 时间/min | 流速/(mL/min) | A/% | B/% |
|--------|-------------|------|------|
| 0.01 | 0.70 | 98.0 | 2.0 |
| 10.00 | 0.70 | 60.0 | 40.0 |
| 11.00 | 0.70 | 98.0 | 2.0 |
| 15.00 | 0.70 | 98.0 | 2.0 |

6.3 标准工作曲线制作

将间苯二酚标准工作溶液(3.4.3)按浓度从小到大依次注入液相色谱仪,测定相应的峰面积,以标准溶液浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准工作曲线。间苯二酚标准溶液色谱图参见附录 A。

6.4 试样溶液测定

将待测液(6.1)注入液相色谱仪,外标法定量。标准溶液及试样溶液中中间苯二酚的响应值均应在仪器检测的线性范围内。若试样中间苯二酚的测试浓度超出本方法的线性范围,应进行适当稀释后测定。

6.5 空白试验

除不加试样外,均按试样同法操作。

7 结果计算

试样中间苯二酚的含量按式(1)计算:

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

式中:

X ——试样中待测组分的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

ρ ——由标准工作曲线得到的被测组分溶液的质量浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);

V ——定容体积,单位为毫升(mL);

f ——稀释倍数;

m ——称样量,单位为克(g)。

测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留 3 位有效数字。

8 检测方法的灵敏度、准确度、精密度

8.1 灵敏度

按取样量 5 g,定容体积为 25 mL 时,小麦粉中间苯二酚的检出限为 0.02 mg/kg、定量限为 0.05 mg/kg。

8.2 准确度

本方法在 0.05 mg/kg~2 mg/kg 添加浓度范围内,回收率为 85.0%~101.7%。

8.3 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 10%。

附录 A
(资料性)
间苯二酚标准溶液色谱图

间苯二酚标准溶液色谱图见图 A.1。

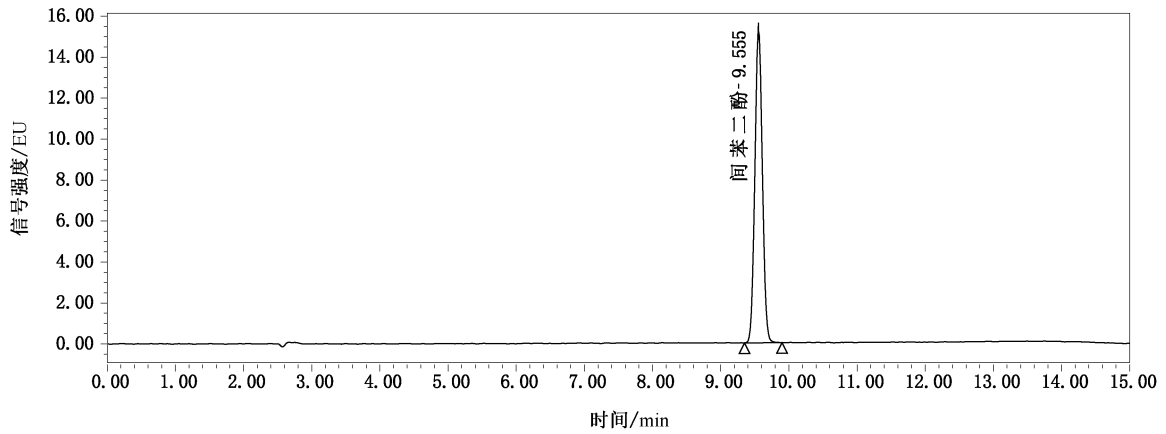


图 A.1 间苯二酚标准溶液色谱图(1.0 $\mu\text{g/mL}$)

本方法负责起草单位:山东省食品药品检验研究院。

本方法验证单位:北京市食品安全监控和风险评估中心、上海市质量监督检验技术研究院、四川省食品药品检验检测院、武汉食品化妆品检验所、上海市食品药品检验所。

本方法主要起草人:别梅、宿书芳、赵丽、王骏、刘艳明、薛霞。

