

中华人民共和国国家标准

GB ××××—××××

食品安全国家标准
植物源性食品中喹啉铜残留量的测定
高效液相色谱法

National food safety standards

Determination of oxine-copper residue in foods of plant origin

— High performance liquid chromatography

(征求意见稿)

中华人民共和国国家
卫生健康委员会
中华人民共和国农业农村部
国家市场监督管理总局

发布

前 言

本标准系国内首次发布。

食品安全国家标准

植物源性食品中喹啉铜残留量的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了植物源性食品中喹啉铜残留量的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于植物源性食品中喹啉铜残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的应用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 2763 食品中农药最大残留限量

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试样中残留的喹啉铜，用1%草酸溶液提取，亲水亲脂平衡的水可浸润性的反相固相萃取柱净化，1%草酸水溶液复溶，用带有紫外检测器的高效液相色谱测定，外标法定量。

4 试剂与材料

除非另有说明，在分析中仅使用确认为色谱纯的试剂和符合 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1 草酸 ($C_2H_2O_4$ ，CAS 号：144-62-7) 分析纯。

4.1.2 甲醇 (CH_3OH ，CAS 号：67-56-1)。

4.2 溶液配制

4.2.1 草酸溶液（1%，体积分数）：称取 10 g 草酸加水溶解，用水定容至 1 L。

4.2.2 氢氧化钠溶液（1 mol/L）：称取 4 g 氢氧化钠，用水溶解并稀释至 100 mL。

4.2.3 淋洗液：甲醇-水溶液（1+9）：量取 100 mL 甲醇，加入到 900 mL 水中，混匀。

4.2.4 洗脱液：草酸溶液（10 g/L），称取 1g 草酸，用 100 mL 甲醇溶解，混匀。

4.2.5 流动相 A：称取 1.26 g 草酸，用水溶解并定容至 1 L，过 0.22 μm 有机滤膜，现用现配。

4.3 标准品

喹啉铜标准品 ($C_{18}H_{12}N_2O_2Cu$ ，CAS 号 10380-28-6)，纯度 $\geq 98\%$ 。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 喹啉铜标准储备溶液（100 mg/L）：称取 10 mg 喹啉铜标准品，用甲醇溶解后定容于 100 mL 聚丙烯容量瓶中，配制的标准储备溶液，-18℃ 以下保存，有效期 6 个月。

4.4.2 喹啉铜标准工作溶液（10 mg/L）：吸取 10 mL 喹啉铜标准储备溶液于 100 mL 聚丙烯容量瓶中，用甲醇定容，配制成的标准工作溶液，0℃~5℃ 保存，有效期 1 个月。

4.5 材料

4.5.1 有机滤膜：0.22 μm。

4.5.2 聚乙烯筛板：20 μm，13 mm，或者相当规格的滤膜。

4.5.3 亲水亲脂平衡的水可浸润性的反相固相萃取柱（HLB 固相萃取柱）：200 mg，6 mL，或相当者。

4.5.4 精密 pH 试纸：pH 2.7-4.7

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器或者二极管阵列检测器。

5.2 分析天平：感量 0.1 mg 和感量 0.01 g。

5.3 容量瓶：1 L。

5.4 聚丙烯广口瓶：250 mL。

5.5 聚丙烯容量瓶：100 mL。

5.6 聚丙烯试管：10 mL。

5.7 振荡仪。

5.8 离心机：5 000 r/min。

5.9 氮吹仪。

5.10 涡旋混合器。

6 试样制备

蔬菜、水果和食用菌样品按相关标准取一定量，取样部位按 GB 2763 规定执行。对于个体较小的样品，取样后全部处理；对于个体较大的基本均匀样品，可在对称轴或对称面上分割或切成小块后处理；对于细长、扁平或组分含量在各部分有差异的样品，可在不同部位切取小片或截成小段或处理；取后的样品将其切碎，充分混匀，用四分法取样或直接放入组织捣碎机中捣碎成匀浆。匀浆放入聚乙烯容器中。

取谷类样品 500 g，粉碎后使其全部可通过 425 μm 的标准网筛，放入聚乙烯瓶或袋中。取油料作物、茶叶、坚果和香辛料样品各 500 g，粉碎后充分混匀，放入聚乙烯瓶或袋中。

植物油类样品搅拌均匀。

试样于-16℃~-20℃条件下保存。

7 分析步骤

7.1 提取

7.1.1 蔬菜、水果、植物油和食用菌

称取10 g（精确至0.01 g）试样于250 mL聚丙烯广口瓶中，加入90 mL草酸溶液（4.2.1），振荡提取1 h，4 000 r/min离心5 min，上清液转移至100 mL聚丙烯容量瓶，用草酸溶液（4.2.1）定容至100 mL，准确移取10 mL提取液过聚乙烯筛板（4.5.2），然后用氢氧化钠溶液（4.2.2）调节pH值至3，待净化。

7.1.2 谷物、油料、坚果

称取5 g试样（精确至0.01 g）于250 mL聚丙烯广口瓶中，加入100 mL草酸溶液（4.2.1），振荡提取1 h，4 000 r/min离心5 min，取10 mL上清液用氢氧化钠溶液（4.2.2）调节pH值至3，4 000 r/min离心5 min，取上清液过聚乙烯筛板（4.5.2），待净化。

7.1.3 茶叶和香辛料

称取5 g试样（精确至0.01 g）于250 mL聚丙烯广口瓶中，加入100 mL草酸溶液（4.2.1），振荡提取1 h，4 000 r/min离心5 min，取10 mL上清液过聚乙烯筛板（4.5.2），用氢氧化钠溶液（4.2.2）调节pH值至3，待净化。

7.2 净化

HLB固相萃取柱（4.5.3）依次用5 mL甲醇和5 mL水活化，加入上述的待净化液，加入5 mL淋洗液，舍弃流出液，抽干固相萃取柱，再加3 mL洗脱液（4.2.4），收集洗脱液于10 mL聚丙烯试管中，置于50 °C水浴中氮气吹至近干，加1 mL草酸溶液（4.2.1），涡动1 min溶解残渣，过0.22 μm有机滤膜（4.5.1），供高效液相色谱测定。

注：整个前处理过程应避免接触玻璃器皿。

7.3 测定

7.3.1 仪器参考条件

色谱柱：C₁₈柱，250 mm×4.6 mm（i.d.），5 μm，或相当规格色谱柱；

色谱柱温度：40°C；

检测波长：252 nm；

进样体积：20 μL；

流动相：甲醇（4.1.2）和流动相 A（4.2.5），流速及梯度洗脱条件见表 1。

表1 流动相梯度洗脱条件

| 时间 min | 流速 mL/min | 甲醇 V_1 | 流动相 A V_2 |
|-----------|--------------|-------------|----------------|
| 0 | 1.0 | 5 | 95 |
| 10 | 1.0 | 5 | 95 |
| 13 | 1.0 | 90 | 10 |
| 14 | 1.0 | 90 | 10 |
| 16 | 1.0 | 5 | 95 |
| 20 | 1.0 | 5 | 95 |

7.3.2 标准曲线的绘制

用草酸溶液(4.2.1)将标准储备液逐级稀释得到质量浓度分别为0.05 mg/L、0.2 mg/L、1 mg/L、2 mg/L和5 mg/L的标准工作溶液，质量浓度由低至高依次进样测定，以峰面积和质量浓度计算，得到标准曲线回归方程。标准溶液色谱图参见附录A中的图A1。

7.3.3 测定

按照保留时间进行定性，样品与标准品保留时间的相对偏差不大于2%，单点或者多点校正外标法定量。待测样液中喹啉铜的响应值应在标准曲线范围内，超过线性范围则应稀释后再进样分析。

7.4 空白试验

不加试样或仅加空白试样的空白试验应采用与试样测定完全相同的试剂、设备和步骤等进行。

8 结果计算

试料中的喹啉铜含量以质量分数 ω 计，数值以毫克每千克 (mg/kg) 表示，按公式 (1) 计算：

$$\omega = \frac{A \times V_1 \times V_3}{A_s \times V_2 \times m} \times \rho \text{----- (1)}$$

式中：

A ——样品溶液中喹啉铜的峰面积；

A_s ——标准溶液中喹啉铜的峰面积；

ρ ——标准溶液中喹啉铜的质量浓度，单位为毫克每升 (mg/L)；

V_1 ——提取溶剂总体积，单位为毫升 (mL)；

V_2 ——吸取出用于检测用的提取溶液的体积，单位为毫升 (mL)；

V_3 ——样品溶液定容体积，单位为毫升 (mL)；

m ——试料的质量，单位为克 (g)。

计算结果保留两位有效数字，当结果大于 1 mg/kg 时保留三位有效数字。

9 精密度

9.1 在重复性条件下，两次独立测定结果的绝对差不大于重复性限（ r ），重复性限（ r ）的数据为：

含量为0.1 mg/kg时，重复性限（ r ）为0.0173；

含量为1 mg/kg时，重复性限（ r ）为0.1387；

含量为2 mg/kg时，重复性限（ r ）为0.3393；

含量为4 mg/kg时，重复性限（ r ）为0.684；

9.2 在再现性条件下，两次独立测定结果的绝对差不大于再现性限（ R ），再现性限（ R ）的数据为：

含量为0.1 mg/kg时，再现性限（ R ）为0.0397；

含量为1 mg/kg时，再现性限（ R ）为0.4383；

含量为2 mg/kg时，再现性限（ R ）为0.6078；

含量为4 mg/kg时，再现性限（ R ）为1.7469；

10 其他

本标准方法定量限为0.1 mg/kg。

附录 A
(资料性附录)
参考色谱图

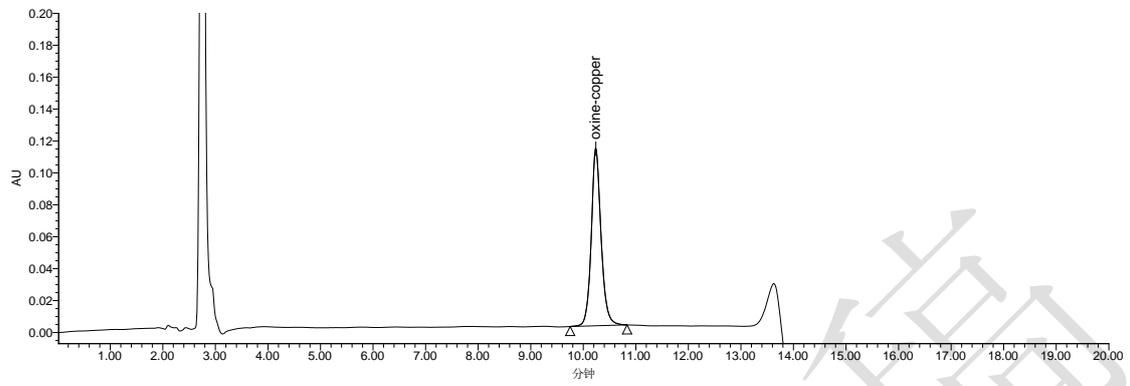


图 A1 1 mg/L 喹啉铜标准品色谱图