



中华人民共和国国家标准

GB 31614.4—2026

食品安全国家标准

食品中吡咯并喹啉醌二钠盐的测定

2026-08-18 发布

2027-02-18 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局 发布

食品安全国家标准

食品中吡咯并喹啉醌二钠盐的测定

1 范围

本标准规定了食品中吡咯并喹啉醌二钠盐含量的液相色谱测定方法。

本标准第一篇适用于食品中吡咯并喹啉醌二钠盐含量的测定。

本标准第二篇适用于吡咯并喹啉醌二钠盐原料中吡咯并喹啉醌二钠盐含量的测定。

第一篇 食品中吡咯并喹啉醌二钠盐的测定 液相色谱法

2 原理

试样中的吡咯并喹啉醌二钠盐经提取液提取,超滤离心管离心净化,采用反相 C_{18} 液相色谱柱分离,紫外检测器检测,保留时间定性,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 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

3.1.1 乙腈(CH_3CN):色谱纯。

3.1.2 十二水合磷酸氢二钠($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$)。

3.1.3 二水合磷酸二氢钠($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$)。

3.1.4 四丁基溴化铵($C_{16}H_{36}BrN$):色谱纯。

3.1.5 磷酸二氢钾(KH_2PO_4):色谱纯。

3.1.6 氢氧化钠($NaOH$):色谱纯。

3.1.7 二水合乙二胺四乙酸二钠($C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$)。

3.2 试剂配制

3.2.1 提取液:称取 2.26 g 十二水合磷酸氢二钠和 1.98 g 二水合磷酸二氢钠用水溶解,并稀释至 1 000 mL,混匀。

3.2.2 氢氧化钠溶液(1.0 mol/L):称取 4.0 g 氢氧化钠用水溶解,并稀释至 100 mL,混匀。

3.2.3 四丁基溴化铵-磷酸二氢钾混合溶液(pH 7.4):称取 6.45 g 四丁基溴化铵和 2.72 g 磷酸二氢钾,加入 800 mL 水超声溶解,用氢氧化钠溶液(1.0 mol/L)调 pH 至 7.4,用水稀释至 1 000 mL,混匀。

3.2.4 乙二胺四乙酸二钠溶液(10 g/L):称取 10 g 二水合乙二胺四乙酸二钠用提取液溶解,并稀释至 1 000 mL,混匀。

3.3 标准品

吡咯并喹啉醌二钠盐($C_{14}H_4N_2Na_2O_8$, CAS 号:122628-50-6):纯度 $\geq 99\%$ 的标准品或其溶液。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 吡咯并喹啉醌二钠盐标准储备液(1 000 mg/L):准确称取吡咯并喹啉醌二钠盐标准品 50 mg(精确至 0.1 mg),加乙二胺四乙酸二钠溶液(10 g/L)2 mL,用提取液溶解,转移至 50 mL 棕色容量瓶,用提取液稀释并定容,配制得质量浓度为 1 000 mg/L 的标准储备液。0℃~4℃保存,有效期 3 个月。

3.4.2 吡咯并喹啉醌二钠盐标准中间液(100 mg/L):准确吸取吡咯并喹啉醌二钠盐标准储备液 10.0 mL 于 100 mL 棕色容量瓶中,加乙二胺四乙酸二钠溶液(10 g/L)4 mL,用提取液稀释并定容,混匀,配制成质量浓度为 100 mg/L 的标准中间液。0℃~4℃保存,有效期 2 个月。

3.4.3 吡咯并喹啉醌二钠盐标准系列工作液:分别吸取吡咯并喹啉醌二钠盐标准中间液 1.00 mL、5.00 mL 和 10.0 mL 于 100 mL 棕色容量瓶中,加入乙二胺四乙酸二钠溶液(10 g/L)4 mL,用提取液稀释并定容,混匀,配制成质量浓度分别为 1.00 mg/L、5.00 mg/L、10.0 mg/L 的吡咯并喹啉醌二钠盐标准工作液。分别吸取吡咯并喹啉醌二钠盐标准溶液(1.00 mg/L)1.00 mL、5.00 mL 于 10 mL 棕色容量瓶中,加入乙二胺四乙酸二钠溶液(10 g/L)0.4 mL,用提取液稀释并定容,混匀,配制成质量浓度分别为 0.100 mg/L、0.500 mg/L 的吡咯并喹啉醌二钠盐标准工作液。吸取吡咯并喹啉醌二钠盐标准溶液(0.100 mg/L)4.00 mL 于 10 mL 棕色容量瓶中,加入乙二胺四乙酸二钠溶液(10 g/L)0.4 mL,用提取液稀释并定容,混匀,配制成质量浓度为 0.040 0 mg/L 的吡咯并喹啉醌二钠盐标准工作液。吡咯并喹啉醌二钠盐标准系列工作液的质量浓度分别为 0.040 0 mg/L、0.100 mg/L、0.500 mg/L、1.00 mg/L、5.00 mg/L、10.0 mg/L。临用现配。

3.5 材料

3.5.1 离心管:50 mL。

3.5.2 超滤离心管:15 mL,截留分子量 10 ku,聚醚砜超滤膜,或相当者。

4 仪器和设备

4.1 液相色谱仪:配紫外检测器。

4.2 天平:感量为 0.1 mg 和 0.001 g。

4.3 高速离心机:转速不小于 12 000 r/min。

4.4 均质器。

4.5 高速粉碎机。

4.6 超声波清洗器。

4.7 涡旋混合器。

4.8 pH 计:精度 0.01。

5 分析步骤

5.1 试样的制备与保存

均匀性液体样品直接混匀,含气样品使用前超声除气。不均匀性液体样品、半固体样品用均质器均质后混匀。固体样品用高速粉碎机粉碎或研钵研磨成粉状后混匀。糖果等样品需经过-18℃冷冻处

理后经高速粉碎机粉碎或剪碎混匀。试样处理后装入洁净容器中,密封并做好标记,置于 0℃~4℃冷藏保存。

5.2 试样前处理

5.2.1 液体试样

称取 2 g(酱油试样称取 0.5 g,精确至 0.001 g)试样于 50 mL 离心管中,加入 30 mL 提取液和 2 mL 乙二胺四乙酸二钠溶液(10 g/L),涡旋混匀,置于超声波清洗器中超声提取 20 min,全部转移至 50 mL 容量瓶中,用提取液稀释并定容,混匀,取 2 mL 样液于超滤离心管中,4 500 r/min 离心 5 min,离心液供液相色谱测定。

5.2.2 半固体、固体试样

称取 0.5 g(精确至 0.001 g)试样于 50 mL 离心管中,加入 30 mL 提取液和 2 mL 乙二胺四乙酸二钠溶液(10 g/L),涡旋混匀,置于超声波清洗器中超声提取 20 min,全部转移至 50 mL 容量瓶中,用提取液稀释并定容,混匀,全部转移至 50 mL 离心管中,12 000 r/min 离心 3 min,取 2 mL 样液于超滤离心管中,4 500 r/min 离心 5 min,离心液供液相色谱测定。

注：糖果试样的提取应置于超声波清洗器中 50℃下超声提取 20 min。

5.2.3 空白试验

除不加试样外,采取完全相同的分析步骤、试剂和用量,进行同批次操作。

5.3 仪器参考条件

5.3.1 色谱柱:C₁₈柱,柱长 150 mm,内径 4.6 mm,粒径 5 μm,或相当者。

5.3.2 流动相:流动相 A:四丁基溴化铵-磷酸二氢钾混合溶液(pH 7.4),流动相 B:乙腈。梯度洗脱程序见表 1。

5.3.3 柱温:35℃。

5.3.4 流速:1.0 mL/min。

5.3.5 检测波长:250 nm。

5.3.6 进样量:20 μL。

表 1 梯度洗脱程序

时间 min	流动相 A %	流动相 B %
0.0	67	33
3.5	67	33
3.6	20	80
6.0	20	80
6.1	67	33
10.0	67	33

5.4 标准工作曲线的制作

将标准系列工作液分别注入液相色谱仪中,测定相应的峰面积,以标准系列工作液中吡咯并喹啉醌二钠盐的质量浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准工作曲线。吡咯并喹啉醌二钠盐标准溶液的液相色谱图参见附录 A 中图 A.1。

5.5 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱仪中,得到峰面积,根据标准工作曲线得到待测液中吡咯并喹啉醌二钠盐的质量浓度。如果待测物质含量超过标准工作曲线范围,需对试样溶液稀释后进行检测。

6 分析结果的表述

试样中吡咯并喹啉醌二钠盐的含量按式(1)计算:

$$X = \frac{(\rho - \rho_0) \times V \times f \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X ——试样中吡咯并喹啉醌二钠盐的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
 - ρ ——试样溶液中吡咯并喹啉醌二钠盐的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);
 - ρ_0 ——试样空白溶液中吡咯并喹啉醌二钠盐的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);
 - V ——试样的定容体积,单位为毫升(mL);
 - f ——稀释倍数;
 - 1 000 ——单位换算系数;
 - m ——试样的取样量,单位为克(g)。
- 计算结果保留三位有效数字。

7 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%。

8 其他

液体试样:取样量为 2 g,定容至 50 mL,吡咯并喹啉醌二钠盐方法检出限为 0.30 mg/kg,方法定量限为 1.0 mg/kg;

酱油、半固体、固体试样:取样量为 0.5 g,定容至 50 mL,吡咯并喹啉醌二钠盐方法检出限为 1.2 mg/kg,方法定量限为 4.0 mg/kg。

第二篇 吡咯并喹啉醌二钠盐原料中吡咯并喹啉醌二钠盐的测定 液相色谱法

9 原理

试样中的吡咯并喹啉醌二钠盐干燥至恒重后,经乙腈水溶液溶解,采用反相 C_{18} 液相色谱柱分离,紫外检测器检测,保留时间定性,外标法定量。

10 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。

10.1 试剂

10.1.1 三水合磷酸氢二钾($\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)。

10.1.2 四丁基溴化铵($\text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{BrN}$)。

10.1.3 磷酸(H_3PO_4)。

10.1.4 乙腈(CH_3CN):色谱纯。

10.2 试剂配制

10.2.1 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,用水稀释至 1 000 mL,混匀。

10.2.2 乙腈水溶液(25+75):分别量取 250 mL 乙腈、750 mL 水,混匀。

10.3 标准品

同 3.3。

10.4 标准溶液配制

10.4.1 吡咯并喹啉醌二钠盐标准储备液(400 mg/L):准确称取吡咯并喹啉醌二钠盐标准品 40 mg(精确至 0.1 mg),加入乙腈水溶液溶解,转移至 100 mL 棕色容量瓶,用乙腈水溶液稀释并定容,混匀,配制得浓度为 400 mg/L 的标准储备液。0℃~4℃保存,有效期 3 个月。

10.4.2 吡咯并喹啉醌二钠盐标准系列工作液:分别吸取吡咯并喹啉醌二钠盐标准储备液 1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL、5.00 mL 和 6.00 mL 于 10 mL 棕色容量瓶中,用乙腈水溶液定容,混匀。吡咯并喹啉醌二钠盐标准系列工作液的质量浓度为 40.0 mg/L、80.0 mg/L、120 mg/L、160 mg/L、200 mg/L 和 240 mg/L。临用现配。

10.5 材料

微孔滤膜:0.45 μm,有机相。

11 仪器和设备

11.1 液相色谱仪:配紫外检测器。

11.2 分析天平:感量为 0.1 mg。

11.3 电热恒温干燥箱。

11.4 pH 计:精度 0.01。

11.5 干燥器。

12 分析步骤

12.1 试样前处理

将取得的代表性试样 10 g 经 101 ℃~105 ℃烘干至恒重(两次质量差不超过 2 mg),在干燥器内冷却至室温,混匀。称取试样 0.1 g(精确至 0.1 mg),置于 50 mL 容量瓶中,加入乙腈水溶液溶解并定容,混匀,准确移取上述溶液 5.00 mL 于 50 mL 容量瓶中,用乙腈水溶液稀释并定容,摇匀,有机相微孔滤膜过滤后用于测定。

12.2 空白试验

除不加试样外,采取完全相同的分析步骤、试剂和用量,进行同批次操作。

12.3 仪器参考条件

12.3.1 色谱柱: C₁₈ 柱,柱长 150 mm,内径 4.6 mm,粒径 5 μm,或相当者。

12.3.2 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。梯度洗脱程序见表 2。

12.3.3 柱温: 35 ℃。

12.3.4 流速: 1.0 mL/min。

12.3.5 波长: 250 nm。

12.3.6 进样量: 20 μL。

表 2 梯度洗脱程序

时间 min	流动相 A %	流动相 B %
0.0	70	30
8.0	70	30
8.1	20	80
14.0	20	80
14.1	70	30
20.0	70	30

12.4 标准工作曲线的制作

将标准系列工作液分别注入液相色谱仪中,测定相应的峰面积,以标准系列工作液中吡咯并喹啉酮二钠盐的质量浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准工作曲线。吡咯并喹啉酮二钠盐标准溶液的液相色谱图参见附录 A 中图 A.2。

12.5 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱仪中,得到峰面积,根据标准工作曲线得到待测液中吡咯并喹啉酮二钠盐的质量浓度。

13 分析结果的表述

试样中吡咯并喹啉酮二钠盐以干物质计,含量按式(2)计算:

$$X = \frac{(\rho - \rho_0) \times V \times f \times 100}{m \times 1\,000 \times 1\,000} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- X —— 试样中吡咯并喹啉酮二钠盐的含量,单位为克每百克(g/100 g);
 ρ —— 试样溶液中吡咯并喹啉酮二钠盐的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);
 ρ_0 —— 试样空白溶液中吡咯并喹啉酮二钠盐的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);
 V —— 试样的定容体积,单位为毫升(mL);
 f —— 稀释倍数;
100,1 000 —— 单位换算系数;
 m —— 试样的质量,单位为克(g)。

计算结果保留三位有效数字。

14 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 2%。

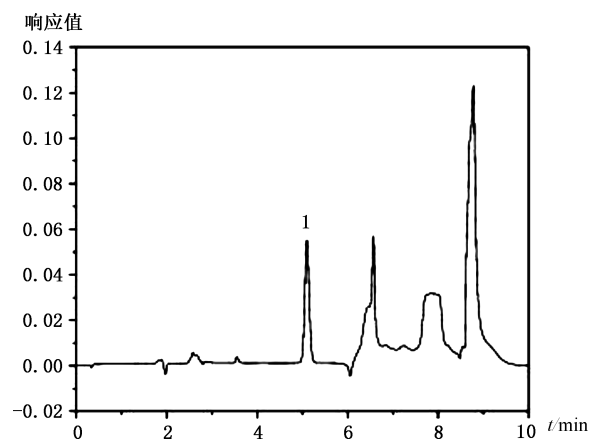
15 其他

取样量为 0.1 g,定容至 50 mL,稀释倍数为 10,吡咯并喹啉酮二钠盐方法检出限为 0.015 g/100 g,法定定量限为 0.050 g/100 g。

附录 A

吡咯并喹啉酮二钠盐标准溶液的液相色谱图

吡咯并喹啉酮二钠盐标准溶液(第一篇)液相色谱图见图 A.1。

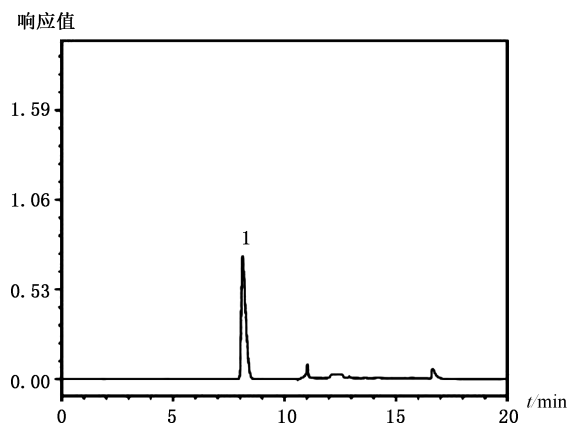


标引序号说明：

1——吡咯并喹啉酮阴离子。

图 A.1 吡咯并喹啉酮二钠盐标准溶液(5.00 mg/L)液相色谱图

吡咯并喹啉酮二钠盐标准溶液(第二篇)液相色谱图见图 A.2。



标引序号说明：

1——吡咯并喹啉酮阴离子。

图 A.2 吡咯并喹啉酮二钠盐标准溶液(160 mg/L)液相色谱图