附件3

小麦粉中曲酸的测定

BJS 202003

1 范围

本标准规定了小麦粉中曲酸的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于小麦粉中曲酸的测定。

2 原理

用纯水提取试样中曲酸，采用配有二极管阵列检测器或紫外检测器的高效液相色谱仪检测，外标法定量。

3 试剂和材料

除另有规定，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甲醇（CH3OH）：色谱纯。

3.1.2 磷酸二氢钾（KH2PO4）。

3.1.3 磷酸（H3PO4）。

3.2 试剂配制

磷酸二氢钾溶液（0.02 mol/L，pH 3.7）：称取2.722 g磷酸二氢钾（3.1.2），加水溶解并定容至1000 mL，加入磷酸（3.1.3）调节pH在3.7 ± 0.1之间，经水相微孔滤膜（0.45 μm）过滤后备用。

3.3 标准品

曲酸标准品英文名称、CAS号、分子式、相对分子质量、结构式见附录A，纯度≥99%。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 标准储备液（1000 mg/L）：准确称取曲酸标准品100 mg（精确至0.0001 g），加水溶解并转移至100 mL容量瓶中，定容至刻度，摇匀，制成浓度为1000 mg/L标准储备液，4℃避光保存，有效期3个月。

3.4.2 标准使用液（10.0 mg/L）：准确吸取标准储备液（3.4.1）1.0 mL于100 mL容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，制成浓度为10.0 mg/L的标准使用液，4℃避光保存，有效期3个月。

3.4.3 标准系列工作溶液：准确吸取标准使用液（3.4.2）适量，用水配制成质量浓度为0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.5 mg/L、1.0 mg/L、5.0 mg/L，或依仪器响应和实际情况配制适当浓度的标准系列工作溶液。

4 仪器与设备

4.1 液相色谱仪：配有二极管阵列检测器或紫外检测器。

4.2 分析天平：感量分别为0.01 g和0.0001 g。

4.3 pH计：精度0.01。

4.4 超声波水浴。

4.5 离心机：转速≥8000 r/min。

5 分析步骤

5.1 试样提取

称取1 g（精确至0.01 g）试样于50 mL离心管中，加入20 mL水，超声提取20 min， 8000 r/min离心10 min。上清液转移至25 mL容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，过水相微孔滤膜（0.45 μm），取续滤液，待测。

5.2 仪器参考条件

5.2.1色谱柱：C18柱，4.6 mm×250 mm，5 μm，或同等性能的色谱柱。

5.2.2 流动相：甲醇∶磷酸二氢钾溶液（0.02 mol/L，pH 3.7）= 8:92

5.2.3 流速：1.0 mL/min

5.2.4 检测波长：273 nm

5.2.5 柱温：30 °C

5.2.6进样量：10 μL

5.3 标准曲线的制作

将曲酸标准系列工作液注入高效液相色谱仪中，测定组分的峰面积。以相应标准工作液的浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

5.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入高效液相色谱仪中，得到相应的峰面积。试样中目标化合物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，变化范围应在±2.5%之内。根据标准曲线得到待测试样溶液中组分的浓度。

6 空白试验

除不加试样外，均按试样同法处理。应确认不含有干扰待测组分的物质。

7 结果计算

试样中曲酸的含量按式（1）计算：

………………………………………………（1）

式中：

*X*—试样中曲酸的含量，mg/kg；

*c*—试样溶液中曲酸的浓度，mg/L；

*V*—试样定容体积，mL；

*m*—试样质量，g；

1000—单位换算。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示。曲酸含量≥1 mg/kg时，计算结果保留三位有效数字；曲酸含量＜1 mg/kg时计算结果保留两位有效数字。

8 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%。

9 检出限和定量限

取样量为1 g，定容体积为25mL时，定量限为2.5 mg/kg，检出限为1.0 mg/kg。

附录A

曲酸相关信息

表A.1 曲酸名称、CAS号、分子式、分子量、结构式

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 名称 | CAS号 | 分子式 | 分子量 | 结构式 |
| 曲酸Kojic acid | 501-30-4 | C6H6O4 | 142.11 |  |

附录B

标准色谱图



图B.1 曲酸标准溶液色谱图（浓度：1.0 mg/L）

本方法负责起草单位：中国食品药品检定研究院

验证单位：中国检验检疫科学研究院综合检测中心、山东省食品药品检验研究院、四川省食品药品检验检测院、国家食品质量安全监督检验中心、河北省食品检验研究院

主要起草人：金绍明、宁霄、曹进、赵梅、刘彬丽、李道霞