



中华人民共和国国家标准

GB/T 18932 7—2002

蜂蜜中苯酚残留量的测定方法 液相色谱法

Method for the determination of phenol residues in honey—
Liquid chromatographic method

2002-12-30 发布

2003-06-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

GB/T 18932 7—2002

前 言

GB/T 18932—2002 分为 12 个部分,本部分为第 7 部分。

GB/T 18932 的本部分遵循 GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第 4 部分:化学分析方法》的编写规则。

本部分的附录 A、附录 B 为资料性附录。

本部分由中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局提出。

本部分由中华全国供销合作总社归口。

本部分起草单位:中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局。

本部分主要起草人:庞国芳、李学民、曹彦忠、范春林、张进杰、林忠。

本部分系首次发布的国家标准。

蜂蜜中苯酚残留量的测定方法

液相色谱法

1 范围

GB/T 18932 的本部分规定了蜂蜜中苯酚残留量液相色谱测定方法。

本部分适用于蜂蜜中苯酚残留量的测定。

本部分苯酚的方法检出限为 0.025 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 GB/T 18932 的本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本部分,然而,鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本部分。

GB/T 6379—1986 测试方法的精密度 通过实验室间试验确定标准测试方法的重复性和再现性 (neq ISO 5725:1981)

GB/T 6682—1992 分析实验室用水规格和试验方法 (neq ISO 3696:1987)

3 原理

试样中所含的苯酚使用磷酸蒸出,用苯和氢氧化钠溶液萃取后,经 C₁₈固相萃取柱净化。用配有紫外检测器高效液相色谱仪测定,外标法定量。

4 试剂和材料

除另有说明外,所用试剂均为优级纯,水为 GB/T 6682—1992 规定的一级水。

- 4.1 甲醇:一级色谱纯。
- 4.2 苯:一级色谱纯并经过提纯。取 200 mL 苯以 2×150 mL 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液提取两次。
- 4.3 乙腈:一级色谱纯。
- 4.4 磷酸。
- 4.5 氯化钠。
- 4.6 氢氧化钠。
- 4.7 碳酸氢钠。
- 4.8 磷酸溶液(1+9):取 10 mL 磷酸(4.4)加水稀释至 100 mL。
- 4.9 氢氧化钠溶液:0.1 mol/L。称取 2.0 g 氢氧化钠(4.6)加水溶解,稀释至 500 mL。
- 4.10 碳酸氢钠溶液:10 g/L。称取 1.0 g 碳酸氢钠(4.7)加水溶解,稀释至 100 mL。
- 4.11 碳酸氢钠溶液:50 g/L。称取 5.0 g 碳酸氢钠加水溶解,稀释至 100 mL。
- 4.12 甲醇+水(1+1)。
- 4.13 苯酚标准物质:纯度≥99%。
- 4.14 苯酚标准储备溶液:准确称取适量的苯酚标准物质(4.13),用甲醇(4.1)配制成浓度为

GB/T 18932 7—2002

0.10 mg/mL标准储备液。

4 15 苯酚标准工作溶液:根据需要用甲醇溶液(4.12)稀释成适当浓度的标准工作溶液。

4 16 C_{18} 固相萃取柱:使用前分别用3 mL 甲醇及6 mL 水洗涤,使之保持湿润。选用不同批次的 C_{18} 固相萃取柱时,需作洗脱条件试验。

5 仪器

5 1 高效液相色谱仪:配有紫外检测器。

5 2 振荡器。

5 3 空气泵。

5 4 玻璃蒸馏装置:配有500 mL 平底蒸馏烧瓶及加热装置。

5 5 微量注射器 100 μ L。

6 试样制备与保存

6 1 试样的制备

对无结晶的实验室样品,将其搅拌均匀。对有结晶的样品,在密闭情况下,置于不超过60℃的水浴中温热,振荡,待样品全部融化后搅匀,迅速冷却至室温。分出0.5 kg 作为试样。制备好的试样置于样品瓶中,密封,并标明标记。

6 2 试样的保存

将试样于常温下保存。

7 分析步骤

7 1 蒸馏

称取20 g 试样,精确到0.01 g,置于500 mL 平底烧瓶中,加入90 mL 水,使试样完全溶解。然后依次加入25 g 氯化钠(4.5),2 mL 磷酸溶液(4.8)和几个素瓷片。开始加热蒸馏,收集前30 mL 馏分。

7 2 净化

准确移取15 mL 馏分(7.1)于60 mL 分液漏斗中,加入5 mL 碳酸氢钠溶液(4.11),混匀后加入6 g 氯化钠,使之溶解。然后用2×5 mL 苯(4.2)提取两次,收集苯相。用3 mL 碳酸氢钠溶液(4.10)洗涤苯相,弃去水相。再分别用2×4 mL 氢氧化钠溶液(4.9)提取苯酚两次,收集氢氧化钠溶液,用磷酸(4.4)调节酸度至pH=3,加入2.5 g 氯化钠。

将上述溶液以约2.0 mL/min 的流速通过经预处理的 C_{18} 固相萃取柱(4.16),待溶液全部流出后,用0.5 mL 水洗涤小柱,抽干5 min,然后用0.5 mL 甲醇洗脱,收集洗脱液并用水定容至1 mL,摇匀后,供液相色谱仪测定。

7 3 测定

7 3 1 液相色谱条件

- 色谱柱: Hypersil 5 μ m C_{18} , 150 mm×4.6 mm(内径)或相当者;
- 流动相: 乙腈+水(18+82);
- 流速 1.0 mL/min;
- 检测波长: 195 nm;
- 进样量: 80 μ L。

7 3 2 液相色谱测定

根据试样测定液中苯酚含量情况,选定峰高相近的苯酚标准工作溶液。标准工作溶液和试样测定液中苯酚的响应值均应在仪器测定的线性范围内。对标准工作溶液和试样测定液等体积参插进样测定。在上述色谱条件下,苯酚的参考保留时间为10.96 min。

苯酚标准物质的色谱图见附录中的图 A. 1。

本方法的添加回收率数据参见附录 B。

7.4 平行试验

按上述步骤,对同一试样进行平行试验测定。

7.5 空白试验

除不称取试样外,均按上述分析步骤进行。

8 结果计算

蜂蜜中苯酚残留量按式(1)计算

$$X = \frac{h \cdot c_s \cdot V}{h_s \cdot m} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X——试样中苯酚的残留含量,单位为毫克每千克(mg/kg),
- h——试样测定液中苯酚的峰高,单位为毫米(mm);
- h_s——标准工作溶液中苯酚的峰高,单位为毫米(mm);
- c_s——标准工作溶液中苯酚的浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);
- V——试样测定液最终定容体积,单位为毫升(mL);
- m——最终试样测定液所代表的试样量,单位为克(g)。

注 计算结果需将空白值扣除。

9 精密度

GB/T 18932 的本部分精密度数据是按照 GB/T 6379—1986 的规定,通过 15 个实验室对四个添加水平的试样所做的试验中确定的。获得重复性和再现性的值是以 95%的可信度来计算。

9.1 重复性

在重复性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过重复性限(r),本部分的重复性限按方程式(2)计算:

蜂蜜中苯酚的含量在 0.025 mg/kg~0.20 mg/kg 范围:

$$\lg r = 0.9801 \lg m - 0.7532 \dots\dots\dots(2)$$

式中:

m——两次测定值的平均值,单位为毫克每千克(mg/kg)。

如果两次测定值的差值超过重复性限,应舍弃试验结果并重新完成两次单个试验的测定。

9.2 再现性

在再现性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不超过再现性限(R),本部分再现性限按方程式(3)计算:

蜂蜜中苯酚的含量在 0.025 mg/kg~0.20 mg/kg 范围:

$$\lg R = 0.9921 \lg m - 0.6143 \dots\dots\dots(3)$$

式中

m——两次测定值的平均值,单位为毫克每千克(mg/kg)。

GB/T 18932 7—2002

附录 A
(资料性附录)
标准物质的液相色谱图

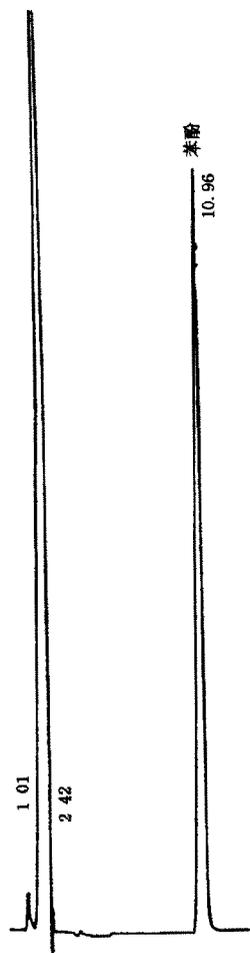


图 A 1 苯酚标准物质的液相色谱图

附录 B
(资料性附录)
回收率

本方法中苯酚添加浓度及回收率的试验数据：

在添加量为 0.025 mg/kg 时,平均回收率为 82.5%；

在添加量为 0.050 mg/kg 时,平均回收率为 82.3%；

在添加量为 0.10 mg/kg 时,平均回收率为 82.6%；

在添加量为 0.20 mg/kg 时,平均回收率为 83.0%。
