

ICS 67.050

CCS G 53

T/WSJD

中国卫生监督协会团体标准

T/WSJD 86—2025

食品中嘌呤的测定

高效液相色谱法

Determination of purine in food-

High performance liquid chromatography method

2025 - 06 - 09 发布

2025 - 06 - 10 实施

中国卫生监督协会 发布

目 次

前言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 原理.....	1
5 试剂和材料.....	1
6 仪器和设备.....	3
7 试样制备与保存.....	3
8 测定.....	3
9 分析结果的表述.....	4
10 精密度.....	5
11 检出限和定量限.....	5
附录 A（资料性）色谱图和光谱图.....	6

前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》给出的格式和规则编写。

请注意本文件中的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国卫生监督协会提出并归口。

本标准主要起草单位：北京市疾病预防控制中心、天津市疾病预防控制中心、华谱科仪（北京）科技有限公司。

本标准主要起草人：柳静、戚燕、赵海燕、李兵、赵榕、范赛、李建平、张明月、高兴。

食品中嘌呤的测定

高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了食品中嘌呤的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于植物源性食品、动物源性食品、乳与乳制品以及成品菜肴中黄嘌呤、次黄嘌呤、鸟嘌呤、腺嘌呤含量的测定。

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。凡是注日期的引用文件，仅所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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

食品中的嘌呤化合物经高氯酸 100℃ 水解成游离态的黄嘌呤、次黄嘌呤、鸟嘌呤、腺嘌呤，经氢氧化钾中和后，高效液相色谱（配二极管阵列检测器或紫外检测器）测定，保留时间和特征光谱（二极管阵列检测器）定性，外标法定量。

5 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。

5.1 试剂

5.1.1 甲醇（ CH_3OH ）：色谱纯。

5.1.2 乙酸铵（ $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ）：色谱纯。

5.1.3 氨水（ $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ ）：色谱纯。

5.1.4 高氯酸（ HClO_4 ）：分析纯。

5.1.5 氢氧化钾 (KOH)：分析纯。

5.1.6 氢氧化钠 (NaOH)：分析纯。

5.2 试剂配制

5.2.1 1.0 mol/L 氢氧化钠溶液：称取 0.4 g 氢氧化钠，用水溶解并稀释至 10 mL，混匀。

5.2.2 4.0 mol/L 氢氧化钾溶液：称取 22.4 g 氢氧化钾，用水溶解并稀释至 100 mL，混匀。

5.2.3 0.4 mol/L 氢氧化钾溶液：量取 10 mL 4.0 mol/L 氢氧化钾溶液 (5.2.2)，用水稀释至 100 mL，混匀。

5.2.4 4% (v/v) 高氯酸溶液：量取 40 mL 高氯酸，用水稀释至 1 L，混匀。

5.2.5 8% (v/v) 高氯酸溶液：量取 80 mL 高氯酸，用水稀释至 1 L，混匀。

5.2.6 10.0 mmol/L 乙酸铵溶液 (pH 8.4)：称取 0.77 g 乙酸铵于容量瓶中，用水溶解并定容至 1 L，混匀，用氨水调节 pH 至 8.4。

5.3 材料

5.3.1 微孔滤膜：0.45 μm 滤膜。

5.4 标准品

5.4.1 黄嘌呤 (C₅H₄N₄O₂, CAS 号：69-89-6)：纯度 ≥99%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.4.2 次黄嘌呤 (C₅H₄N₄O, CAS 号：68-94-0)：纯度 ≥99%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.4.3 鸟嘌呤 (C₅H₅N₅O, CAS 号：73-40-5)：纯度 ≥99%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.4.4 腺嘌呤 (C₅H₅N₅, CAS 号：73-24-5)：纯度 ≥99%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.5 标准溶液配制

5.5.1 标准储备溶液 (1.0 mg/mL)：精密称取黄嘌呤、次黄嘌呤、鸟嘌呤、腺嘌呤标准品各 0.0100 g (精确至 0.0001 g)，置于 10.0 mL 容量瓶中，用少量氢氧化钠溶液 (5.2.1) 超声溶解后，用水定容至刻度，配制成 1.0 mg/mL 的标准储备液，2-8℃ 保存。有效期 6 个月。

5.5.2 标准使用溶液 (100.0 μg/mL)：准确吸取各标准储备液 (5.5.1) 1.0 mL 置于 10.0 mL 容量瓶中，用水定容，配制成 100.0 μg/mL 的混合标准使用液，2-8℃ 保存。有效期 1 个月。

5.5.3 标准系列工作溶液 1: 准确吸取标准使用溶液 (5.5.2) 0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL, 用乙酸铵溶液 (5.2.6) 定容至 10.0 mL, 制成浓度分别为 1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准系列溶液, 现用现配。

5.5.4 标准系列工作溶液 2: 准确吸取标准系列 1 中 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准溶液 0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL, 用乙酸铵溶液 (5.2.6) 定容至 10.0 mL, 制成浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准系列溶液, 现用现配。

根据样品上机溶液中待测物的含量选择合适的标准曲线。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱: 配二极管阵列检测器或紫外检测器。

6.2 电子天平: 感量 0.001 g 和 0.0001 g。

6.3 离心机: 转速不低于 10000 r/min。

6.4 匀浆机。

6.5 恒温水浴锅。

6.6 pH 计。

6.7 涡旋混合器。

7 试样制备与保存

取有代表性的样品可食部分 250 g, 用匀浆机粉碎均匀后, 储存于样品瓶中备用, 于 -18°C 以下冷冻保存。

8 测定

8.1 试样提取

称取 1.0 g~2.0 g 均质后的食品样品 (除肉与肉制品外) 于 50 mL 塑料离心管中, 加入 20 mL 高氯酸溶液 (5.2.4), 涡旋混匀后 100°C 水浴 60 min, 取出后立即冰浴冷却至室温。加入氢氧化钾溶液 (5.2.2) 2.5 mL, 用氢氧化钾溶液 (5.2.3) 调节 pH 至 7.5 (± 0.5), 转移至 50.0 mL 容量瓶, 用乙酸铵溶液 (5.2.6) 定容至刻度混匀, 冰箱 $2-8^{\circ}\text{C}$ 冷藏 2 h 后, 取 1 mL 上清液于 1.5 mL 离心管 10000 r/min 离心 10 min, 经 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤待测。

肉与肉制品: 称取 1.0 g~2.0 g 均质后的食品样品于 50 mL 塑料离心管中, 加入 10 mL 水, 涡旋震

荡 5 min，再加入 10 mL 高氯酸溶液（5.2.5），涡旋混匀后 100℃ 水浴 60 min，取出后立即冰浴冷却至室温。加入氢氧化钾溶液（5.2.2）2.5 mL，用氢氧化钾溶液（5.2.3）调节 pH 至 7.5（±0.5），转移至 50.0 mL 容量瓶，用乙酸铵溶液（5.2.6）定容至刻度混匀，冰箱 2-8℃ 冷藏 2 h 后，取 1 mL 上清液于 1.5 mL 离心管 10000 r/min 离心 10 min，经 0.45 μm 滤膜过滤待测。

8.2 高效液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：亲水性 C₁₈（AQ）色谱柱（柱长 250 mm，内径 4.6 mm，粒径 5 μm）或性能相当者；
- b) 流动相：甲醇（5.1.1）:乙酸铵溶液（5.2.6）=2:98，等度洗脱；
- c) 流速：1.0 mL/min；
- d) 柱温：35℃；
- e) 进样量：10.0 μL；
- f) 测定波长：254 nm。

8.3 标准曲线的制作

将标准系列工作液分别注入高效液相色谱中，测定相应的峰面积，以各嘌呤标准系列工作液的浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。混合标准溶液的液相色谱图和光谱图见附录 A。

8.4 试样测定

将试样溶液注入高效液相色谱中，测定各嘌呤的峰面积。试液中待测物的响应值应在标准曲线线性范围内，根据待测物的响应值选择适当的标准曲线，超过线性范围则应稀释后重新测定。

9 分析结果的表述

试样中黄嘌呤、次黄嘌呤、鸟嘌呤、腺嘌呤含量以质量分数表示，按下式计算：

$$X = \frac{c \times V}{m \times 10}$$

式中：

X ——试样中黄嘌呤、次黄嘌呤、鸟嘌呤或腺嘌呤的含量，单位为毫克每 100 克（mg/100g）；

c ——根据标准曲线计算得到的试样中黄嘌呤、次黄嘌呤、鸟嘌呤或腺嘌呤的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

V ——定容体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样的质量，单位为克（g）；

10——单位转换系数。

试样中的嘌呤含量以四种嘌呤含量的算术加和计，计算结果保留至小数点后一位。

10 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%。

11 检出限和定量限

当取样量为 2.0 g、定容体积为 50 mL 时，黄嘌呤、次黄嘌呤、鸟嘌呤、腺嘌呤的检出限为 0.03 mg/100g，定量限为 0.1 mg/100g。

附录 A
(资料性)
色谱图和光谱图

A.1 标准溶液的液相色谱图见图 A.1。

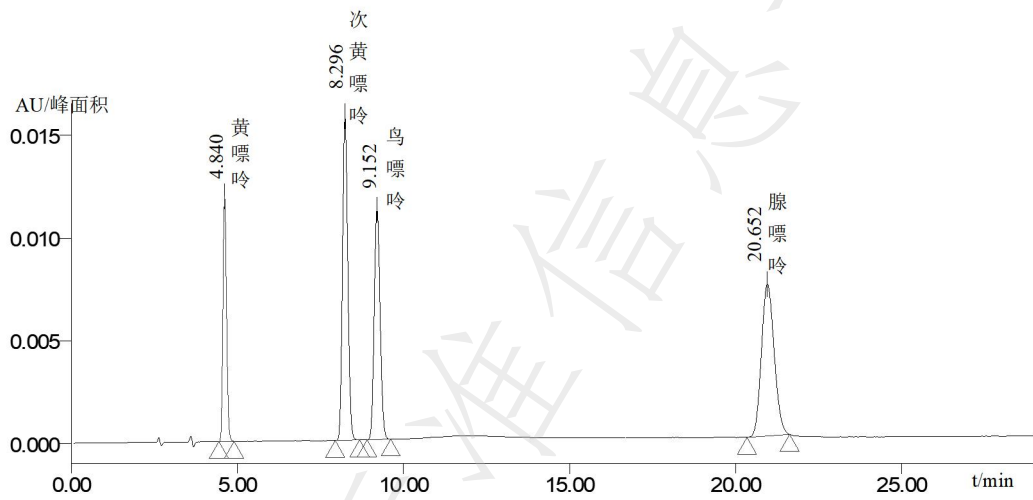


图 A.1 标准溶液的液相色谱图 (4 $\mu\text{g/mL}$)

A.2 样品溶液的液相色谱图见图 A.2、A.3。

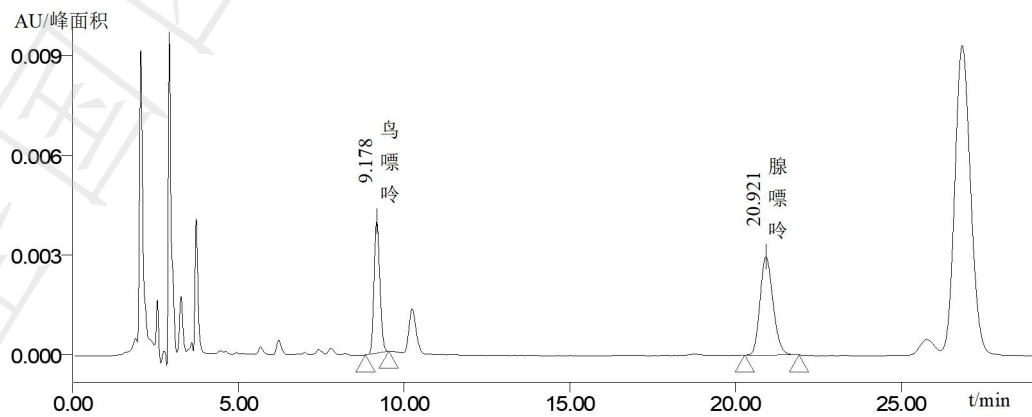


图 A.2 样品溶液 (黄瓜) 的液相色谱图

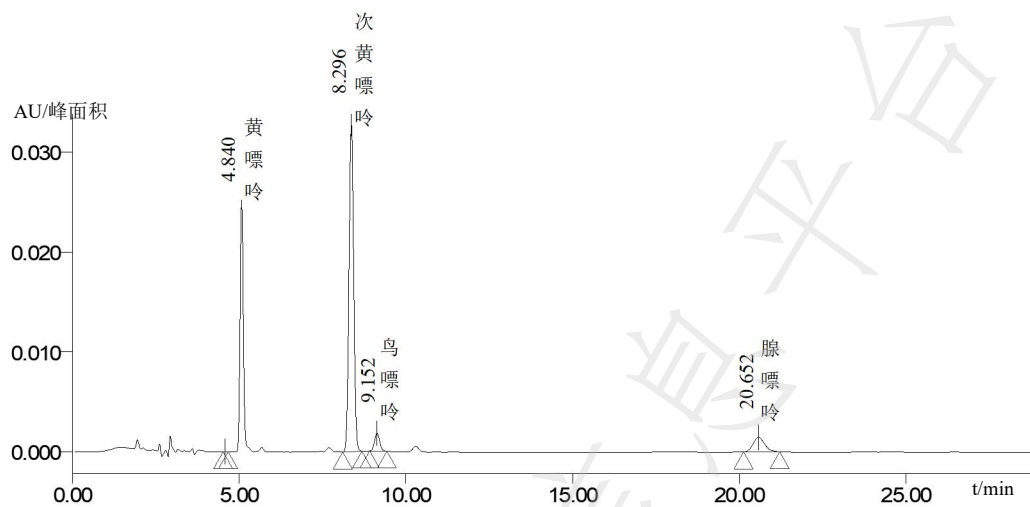


图 A.3 样品溶液（鱼）的液相色谱图

A.3 4 种嘌呤的光谱图见图 A.4。

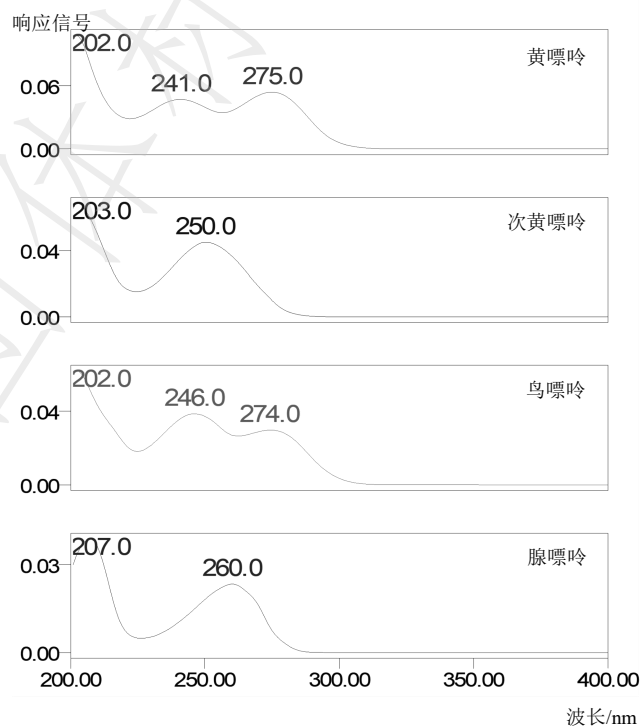


图 A.4 光谱图