



中华人民共和国国家标准

GB/T 21916—2008

水果罐头中合成着色剂的测定 高效液相色谱法

Determination of synthetic colour in fruit tins—
High performance liquid chromatography

2008-05-16 发布

2008-11-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准由全国食品安全应急标准化工作组提出并归口。

本标准起草单位：沈阳产品质量监督检验院（国家加工食品及添加剂质量监督检验中心）。

本标准主要起草人：于立强、王冬妍、苏锡辉、赵丽秀、吕成学、张凤清、赵检、张丽君、黄土军、明立艳、杨晓丽。

水果罐头中合成着色剂的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了水果罐头中柠檬黄、苋菜红、靛蓝、胭脂红、日落黄、诱惑红、亮蓝、赤藓红人工合成着色剂的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于水果罐头中柠檬黄、苋菜红、靛蓝、胭脂红、日落黄、诱惑红、亮蓝、赤藓红人工合成着色剂的测定。

本标准检出限为柠檬黄 0.300 mg/kg、苋菜红 0.300 mg/kg、靛蓝 0.300 mg/kg、胭脂红 0.300 mg/kg、日落黄 0.150 mg/kg、诱惑红 0.150 mg/kg、亮蓝 0.100 mg/kg、赤藓红 0.150 mg/kg。

2 原理

水果罐头中的人工合成着色剂用乙醇-氨水提取,利用固相萃取柱净化,采用高效液相色谱-二极管阵列检测器测定,外标法定量。

3 试剂和材料

3.1 水:去离子水或相当纯度的水。

3.2 甲醇:色谱纯。

3.3 无水乙醇:分析纯。

3.4 氨水:分析纯。

3.5 盐酸:分析纯。

3.6 乙酸铵溶液(0.02 mol/L):称取 1.54 g 乙酸铵,加水溶解,定容至 1 000 mL,经 0.45 μm 过滤器过滤。

3.7 无水乙醇-氨水溶液:量取无水乙醇 80 mL,氨水 1 mL,加水定容至 100 mL,混匀。

3.8 pH8 的 50%甲醇溶液:量取甲醇 50 mL,加水定容至 100 mL,混匀,加氨水调 pH 值到 8。

3.9 pH8 的水:水加氨水调 pH 值到 8。

3.10 2%氨水:量取氨水 2 mL,加水定容至 100 mL,混匀。

3.11 盐酸-乙醇溶液(1+9):量取 10 mL 盐酸、90 mL 乙醇,混匀。

3.12 50%甲醇溶液:量取甲醇 50 mL,加水定容至 100 mL,混匀。

3.13 固相萃取柱或相当者:Sep-Pak Plus QMA 360 mg,颗粒度 37 μm ~55 μm ,临用前依次加 5 mL 甲醇(3.2)和 5 mL 水预处理,保持柱体湿润。

3.14 合成着色剂标准储备液:准确称取按其纯度折算为 100%质量的柠檬黄、苋菜红、靛蓝、胭脂红、日落黄、诱惑红、亮蓝、赤藓红各 0.050 0 g,置 100 mL 容量瓶中,加水至刻度,配制成 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准储备液。

3.15 合成着色剂标准使用液:临用时将标准储备液加水稀释成 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准中间液,再将该中间液稀释成 0.100,0.200,0.400,1.00,3.00,5.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准系列溶液,经 0.45 μm 过滤器过滤。

4 仪器

4.1 高效液相色谱仪,配有二极管阵列检测器。

- 4.2 分析天平:感量 0.1 mg。
- 4.3 匀浆机。
- 4.4 快速混匀器。
- 4.5 离心机:3 000 r/min。
- 4.6 恒温水浴。
- 4.7 0.45 μm 水性样品过滤器。
- 4.8 固相萃取装置。

5 样品制备

5.1 提取

将整份试样用匀浆机打碎,再搅拌均匀,准确称取 2.00 g 左右样品(精确至 0.01 g),装入离心管中。加 10 mL 无水乙醇-氨水溶液,涡旋 0.5 min,再 3 000 r/min 离心 10 min,将上清液倒入塞有脱脂棉的玻璃漏斗中过滤,将剩余残渣再重复操作三次,将收集的滤液(约 40 mL)置于 80℃ 水浴中浓缩至约 2 mL,为试样溶液。

5.2 净化

将浓缩后的试样溶液用 2% 的氨水调成 pH8 后,转移到预处理过的固相萃取柱中,依次用 3 mL pH8 的水和 3 mL pH8 的 50% 甲醇以小于 2 mL/min 的流速清洗,弃去全部流出液。再用 10 mL 盐酸-乙醇溶液(1+9)将着色剂洗脱出固相萃取柱,收集洗脱液,用氨水中和,80℃ 水浴浓缩至尽干,冷却后用 50% 的甲醇溶液溶解并定容至 10 mL,经 0.45 μm 滤膜过滤后,进行高效液相色谱测定。

6 测定

6.1 液相色谱条件

6.1.1 色谱柱:Diamonsil C₁₈, 5 μm, 4.6 mm×250 mm。

6.1.2 流动相:甲醇-乙酸铵溶液(0.02 mol/L)。

6.1.3 梯度洗脱:梯度洗脱条件见表 1。

表 1 液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	流速/(mL/min)	甲醇/%	乙酸铵溶液/%
0	1.0	20	80
5	1.0	35	65
10	1.0	80	20
16	1.0	80	20
17	1.0	20	80
25	1.0	20	80

6.1.4 进样量:10 μL。

6.1.5 检测器:二极管阵列检测器选择柠檬黄 428 nm、苋菜红 521 nm、靛蓝 608 nm、胭脂红 509 nm、日落黄 483 nm、诱惑红 507 nm、亮蓝 625 nm、赤藓红 529 nm 波长测定。

6.2 测定

根据保留时间定性,外标峰面积法定量。

八种合成着色剂标准品的液相色谱图参见附录 A。

7 结果计算

结果按式(1)计算:

$$X = \frac{c \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X ——试样中被测组分的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c ——由标准曲线得到的试样溶液中被测组分的含量,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V ——试样溶液定容体积,单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g)。

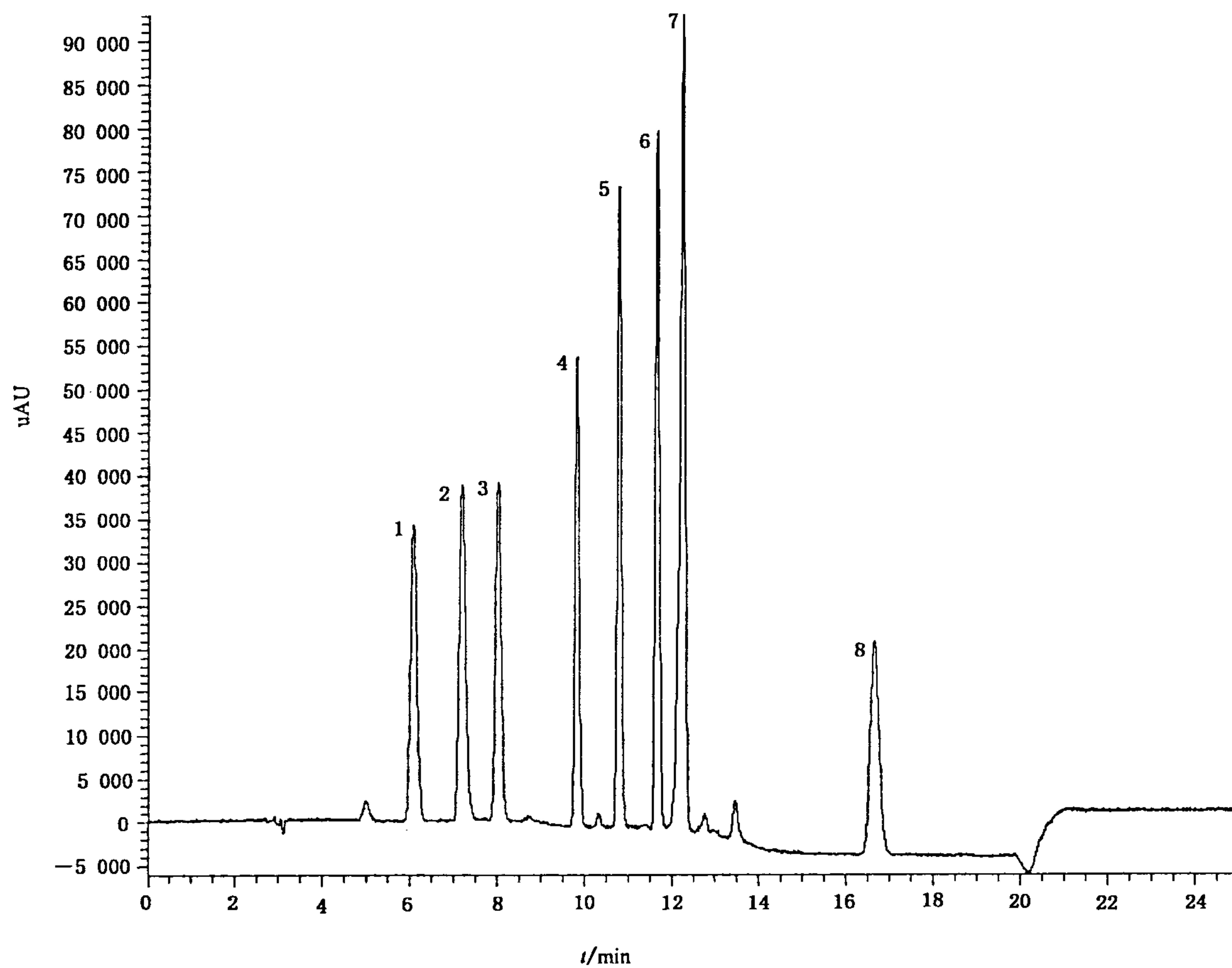
计算结果保留三位有效数字。

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%。

附录 A
(资料性附录)

八种合成着色剂标准品的液相色谱图



- 1——柠檬黄;
- 2——苋菜红;
- 3——靛蓝;
- 4——胭脂红;
- 5——日落黄;
- 6——诱惑红;
- 7——亮蓝;
- 8——赤藓红。

图 A.1 八种合成着色剂标准品的液相色谱图