ICS 67.040
C 53

DB52

贵 州 省 地 方 标 准

DBS52/ 023—2017

食品安全地方标准
食品中13种水溶性合成着色剂的测定

Local food safety standards-Determination of 13 water-soluble synthetic colorants in food

2017－12－29发布　　2018－06－28实施

贵州省卫生和计划生育委员会　　发布

目　　次

前言 II
1　范围 1
2　原理 1
3　试剂和材料 1
4　仪器和设备 2
5　分析步骤 2
6　分析结果的表述 4
7　精密度 4
8　其他 4
附录 A（资料性附录）　13 种合成着色剂的参考保留时间 5

前　　言

本标准按照GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则起草。

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

本标准由贵州省食品药品检验所提出。

本标准由贵州省卫生和计划生育委员会归口。

本标准起草单位：贵州省食品药品检验所、贵州省产品质量监督检验院、贵州省分析测试研究院、贵州省流通环节食品安全检测中心。

本标准主要起草人：许乾丽、杨园园、田莉、张仁正、黎殊、黄旭玮、高源、张炯怡、王勇、孙棣、李占冰、杨昌彪、吴新文。

食品安全地方标准 食品中13种水溶性合成着色剂的测定

1 范围

本标准规定了食品（馒头、面条）中喹啉黄、食用绿S、亮绿、柠檬黄、苋菜红、胭脂红、诱惑红、酸性红 2G、赤藓红、日落黄、亮蓝、靛蓝和专利蓝 V的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于食品（馒头、面条）中喹啉黄、食用绿S、亮绿、柠檬黄、苋菜红、胭脂红、诱惑红、酸性红 2G、赤藓红、日落黄、亮蓝、靛蓝和专利蓝V的测定。

2 原理

食品中的人工合成着色剂用乙醇-氨水提取，经适当净化处理后制成水溶液，注入高效液相色谱仪，经反相色谱分离，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

3.1.1 甲醇（CH_3OH）：色谱纯。

3.1.2 柠檬酸（$C_6H_8O_7 \cdot H_2O$）。

3.1.3 乙酸铵（CH_3COONH_4）。

3.1.4 氨水（$NH_3 \cdot H_2O$）：含量 20%～25% 。

3.1.5 95%乙醇(CH_3CH_2OH)。

3.2 试剂配制

3.2.1 柠檬酸溶液：称取 20 g 柠檬酸（$C_6H_8O_7 \cdot H_2O$），加水至 100 mL，溶解混匀。

3.2.2 乙酸铵溶液（20 mmol/L）：称取 1.54 g 乙酸铵加水超声溶解定容至 1000 mL。

3.2.3 氨水：量取氨水 2 mL，加水至 100 mL，混匀。

3.2.4 提取液：95%乙醇-氨水-水（184+1+66，体积比）溶液，量取 95%乙醇 736 mL，氨水 4 mL，水 264 mL，混匀。

3.3 标准品

3.3.1 喹啉黄（CAS：8004-92-0）。

3.3.2 食用绿 S（CAS：860-22-0）。

3.3.3 亮绿（CAS：633-03-4）。

3.3.4 柠檬黄（CAS：1934-21-0）。

3.3.5 苋菜红（CAS：915-67-3）。

3.3.6 胭脂红（CAS：15876-47-8）。

3.3.7 诱惑红（CAS：25956-17-6）。

3.3.8 酸性红 2G（E128）（CAS：3734-67-6）。

3.3.9 赤藓红（CAS：568-63-8）。

3.3.10 日落黄（CAS：2783-94-0）。
3.3.11 亮蓝（CAS：6104-58-1）。
3.3.12 靛蓝（CAS：482-89-3）。
3.3.13 专利蓝 V（CAS：3536-49-0）。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 水溶性合成着色剂标准储备液

准确称取按其纯度折算为100%质量的喹啉黄、食用绿S、亮绿、柠檬黄、苋菜红、胭脂红、诱惑红、酸性红 2G、赤藓红、日落黄、亮蓝、靛蓝和专利蓝V各0.1 g（精确至0.0001 g），置100 mL容量瓶，加水至刻度，配成水溶液（1.00 mg/mL）。

3.4.2 水溶性合成着色剂标准使用液

临用时将标准储备液加水稀释100倍，配成每毫升相当于10 μg的水溶性合成着色剂。

注：除另有说明外，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

4 仪器和设备

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：感量为 0.01 g 和 0.0001 g。
4.3 匀浆机。
4.4 快速混匀器。
4.5 离心机：5000 r/min。
4.6 恒温水浴锅。
4.7 食物粉碎机。

5 分析步骤

5.1 试样制备

取50 g样品，用刀切成碎末，置食物粉碎机中，打碎，混匀，作为试样。

5.2 色素提取

称取试样4 g（准确至0.01 g）置100 mL容量瓶中，加提取液（3.2.4）约80 mL，至超声波中超声30 min，取出放至室温，用提取液定容（V_1），摇匀，转移至离心管中。以5000 r/min离心5 min，取上清液滤过，弃去初滤液约10 mL，取续滤液50 mL（V_2）至蒸发皿中，置水浴蒸至近干，残渣加50%乙醇溶解，转移至10 mL（V_3）量瓶，并用50%乙醇定容，摇匀转移至离心管中，5000 r/min离心5 min，上清液，进高效液相色谱测定。

5.3 空白试验

除不称取试样外，均按5.2步骤同时完成空白试验。

5.4 仪器参考条件

5.4.1 色谱柱：C_{18}色谱柱，4.6 mm×250 mm，5 μm，或分离性能相应的色谱柱。

5.4.2　进样量：10 μL。

5.4.3　流速：1.0 mL/min。

5.4.4　柱温：30 ℃。

5.4.5　二级管阵列检测器波长：425 nm（柠檬黄、喹啉黄）、483 nm（日落黄）、520 nm（酸性红 2G、苋菜红、胭脂红、诱惑红、赤藓红）、620 nm（亮蓝、靛蓝、专利蓝 V、食用绿 S、亮绿）。

5.4.6　流动相：A 相为 20 mmol/L 乙酸铵溶液，B 相为甲醇。

5.4.7　柠檬黄、日落黄、酸性红 2G、专利蓝 V、苋菜红、胭脂红、诱惑红、赤藓红、亮蓝和靛蓝的梯度洗脱条件见表 1。喹啉黄、食用绿 S 和亮绿的梯度洗脱条件见表 2。

表1　柠檬黄、日落黄、酸性红 2G、专利蓝 V、苋菜红、胭脂红、诱惑红、赤藓红、亮蓝和靛蓝的梯度洗脱条件

时间 min	流速 mL/min	20 mmol/L 乙酸铵溶液 %	甲醇 %
0.0	1.0	86	14
5.0	1.0	78	22
10.0	1.0	68	32
15.0	1.0	60	40
22.0	1.0	44	56
26.0	1.0	32	68
27.0	1.0	10	90
30.0	1.0	14	86
35.0	1.0	14	86

表2　喹啉黄、食用绿 S 和亮绿的梯度洗脱条件

时间 min	流速 mL/min	20 mmol/L 乙酸铵溶液 %	甲醇 %
0.0	1.0	86	14
5.0	1.0	78	22
18.0	1.0	50	50
26.0	1.0	10	90
30.0	1.0	86	14
35.0	1.0	86	14

5.5　测定

5.5.1　将样品提取液和柠檬黄、日落黄、酸性红 2G、专利蓝 V、苋菜红、胭脂红、诱惑红、赤藓红、亮蓝和靛蓝混合标准使用溶液分别注入高效液相色谱仪，按表 1 的梯度洗脱条件，根据附录 A 的参考保留时间定性，外标法定量。

5.5.2　将样品提取液和喹啉黄、食用绿 S 和亮绿混合标准使用溶液分别注入高效液相色谱仪，按表 2 的梯度洗脱条件，根据附录 A 的参考保留时间定性，外标峰面积法定量。

6 分析结果的表述

试样中着色剂含量结果按式（1）计算。

$$X = \frac{C \times 1000}{\frac{m}{V_1} \times \frac{V_2}{V_3} \times 1000} \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：

X——试样中着色剂的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

C——进样液中着色剂的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

V_1——试样提取体积，单位为毫升（mL）；

V_2——试样分取提取体积，单位为毫升（mL）；

V_3——试样定容提取体积，单位为毫升（mL）；

m——试样的质量，单位为克（g）；

1000——换算系数。

注：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，结果保留两位有效数字。

7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立的测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10% 。

8 其他

方法检出限：喹啉黄为0.60 mg/kg，食用绿S为0.60 mg/kg，亮绿为0.25 mg/kg，柠檬黄为0.20 mg/kg，苋菜红为0.20 mg/kg，胭脂红为0.25 mg/kg，诱惑红为0.25 mg/kg，酸性红 2G为0.35 mg/kg，赤藓红为55 μg/kg，日落黄为0.16 mg/kg，亮蓝为0.10 mg/kg，靛蓝为0.25 mg/kg，专利蓝V为0.15 mg/kg。

附　录　A
（资料性附录）
13 种合成着色剂的参考保留时间

13种合成着色剂的参考保留时间见表A.1。

表A.1　13 种合成着色剂的参考保留时间（按波长排序）

合成着色剂名称	保留时间 min
柠檬黄	3.96
日落黄	11.727
喹啉黄	10.210
	12.397
	20.860
	22.343
酸性红 2G	22.023
诱惑红	15.300
胭脂红	9.813
苋菜红	5.190
赤藓红	28.400
食用绿 S	15.220
亮蓝	21.377
	21.760
亮绿	27.470
靛蓝	6.240
专利蓝 V	26.253

DBS52 贵州省地方标准