中华人民共和国国家标准

GB ××××—××××

食品安全国家标准
食品中胭脂虫红的测定

（征求意见稿）

××××-××-××发布　　××××-××-××实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局　发布

食品安全国家标准
食品中胭脂虫红的测定

1 范围

本标准规定了食品中胭脂虫红的液相色谱测定方法。

本标准适用于食品中胭脂虫红的测定。

2 原理

试样中的胭脂虫红，经盐酸溶液提取，固相萃取柱净化后，反相C_{18}液相色谱柱分离，紫外检测器检测，外标法定量。

3 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。

3.1 试剂

3.1.1 甲醇（CH_3OH）：色谱纯。

3.1.2 乙腈（CH_3CN）：色谱纯。

3.1.3 盐酸（HCl）。

3.1.4 磷酸（H_3PO_4）。

3.2 试剂配制

3.2.1 盐酸溶液（2.0 mol/L）：量取 168 mL 盐酸至盛有 800 mL 水的 1 000 mL 容量瓶中，充分混匀后，冷却至室温，用水定容至刻度。

3.2.2 磷酸甲醇溶液（2%）：量取 20 mL 磷酸至盛有 800 mL 甲醇的 1 000 mL 容量瓶中，充分混匀后，冷却至室温，用甲醇定容至刻度。

3.2.3 磷酸水溶液（0.1%）：吸取 1.0 mL 磷酸至盛有 800 mL 水的 1 000 mL 容量瓶中，充分混匀后，冷却至室温，用水定容至刻度。

3.2.4 磷酸乙腈溶液（0.1%）：吸取 1.0 mL 磷酸至盛有 800 mL 乙腈的 1 000 mL 容量瓶中，充分混匀后，冷却至室温，用乙腈定容至刻度。

3.3 标准品

3.3.1 胭脂红酸标准品（$C_{22}H_{20}O_{13}$，CAS 号：1260-17-9）：纯度≥95.5%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 胭脂红酸标准储备液（1.00 mg/mL）：准确称取 100.0 mg（精确至 0.1 mg）标准品，用水溶解，并定容至 100 mL 容量瓶中，摇匀，于 4 ℃下避光保存，有效期 3 个月。

3.4.2 胭脂红酸标准系列工作液：用移液管（精确至 0.01 mL）准确吸取标准储备液（1.00 mg/mL）0.5 mL 于 100 mL 容量瓶中；分别准确吸取标准储备液（1.00 mg/mL）0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL 和 1.0 mL 于 10.0 mL 容量瓶中，用磷酸水溶液（0.1%）定容至刻度，摇匀，配制成浓度分别为 5.00 mg/L、10.0 mg/L、20.0 mg/L、50.0 mg/L 和 100 mg/L 胭脂红酸标准系列工作液。临用现配。

3.5 材料

固相萃取柱（150 mg/6 mL，混合型强阴离子交换反相柱，填料为含亲水基团的聚苯乙烯/二乙烯基苯共聚物上键合季铵基团，或相当者）。

4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱仪：带紫外检测器。

4.2 天平：感量分别为 0.1 mg 和 1 mg。

4.3 恒温水浴锅。

4.4 涡旋混合器。

4.5 超声波发生器。

4.6 高速离心机。

4.7 固相萃取装置。

4.8 氮吹仪。

4.9 粉碎机。

5 分析步骤

5.1 试样制备

液态样品摇匀待提取；基质均匀的半固态样品和粉状样品直接待提取；其他样品需匀浆或粉碎均匀待提取。制备好的试样于0 ℃～5 ℃保存，尽快测定。

5.2 试样提取

5.2.1 液体、半固体试样（含乳半固体除外）

称取2 g（精确至0.001 g）试样于50 mL离心管中，加入盐酸溶液（2.0 mol/L）40 mL，旋紧盖子，摇匀，置于沸水浴中加热30 min，取出冷却至室温后，震荡5 min，超声5min，5 000 r/min离心5 min，上清液转移至50.0 mL容量瓶中，用水定容至刻度，经适量脱脂棉过滤，待净化。

5.2.2 固体、含乳半固体试样（调制乳粉除外）

称取2 g（精确至0.001 g）试样于50 mL离心管中，加入盐酸溶液（2.0 mol/L）40 mL，旋紧盖子，摇匀，置于沸水浴中加热30 min，取出冷却至室温后，震荡5 min，超声5min，5 000 r/min离心5 min，上清液转移至100 mL容量瓶中，残渣加入盐酸溶液（2.0 mol/L）40 mL，常温条件下，重复提取一次，合并两次提取液，用水定容至刻度，经适量脱脂棉过滤，待净化。

5.2.3 调制乳粉

称取2 g（精确至0.001 g）试样于50 mL离心管中，加入盐酸溶液（2.0 mol/L）40 mL，旋紧盖子，摇匀，置于沸水浴中加热30 min，取出冷却至室温后，震荡5 min，超声5min，5 000 r/min离心5 min，上清液转移至250 mL容量瓶中，残渣加入盐酸溶液（2.0 mol/L）40 mL，常温条件下，重复提取两次，合并三次提取液，用水定容至刻度，经适量脱脂棉过滤，待净化。

5.3 试样净化

固相萃取柱使用前依次用 6 mL 甲醇、6 mL 水进行活化，保持柱体湿润，取过滤液 25.0 mL 通过活化后的固相萃取柱（150 mg/6 mL），依次用 12 mL 水和 6 mL 甲醇淋洗，弃去淋洗液，真空抽至柱体近干，用磷酸甲醇溶液（2%）6 mL 进行洗脱，收集洗脱液，于 40 ℃水浴下氮吹浓缩至近干，加入 2.00 mL 磷酸水溶液（0.1%）复溶，涡旋混匀，12 000 r/min 离心 5 min，取上清液待进样。

5.4 空白试验

除不加试样外，按 5.2 和 5.3 与试样同时处理。

5.5 仪器参考条件

5.5.1 色谱柱：C_{18} （4.6 mm × 150 mm，5.0 μm）或性能相当者。

5.5.2 流动相：A：磷酸水溶液（0.1%）；B：磷酸乙腈溶液（0.1%），洗脱梯度见表 1。

5.5.3 柱温： 40 ℃。

5.5.4 流速：1.2 mL/min。

5.5.5 检测波长：494 nm。

5.5.6 进样量：10 μL。

表 1 梯度洗脱程序

时间 min	流动相 A %	流动相 B %
0	90	10
3.0	90	10
15.0	70	30
15.1	0	100
18.0	0	100
18.1	90	10
25.0	90	10

5.6 标准曲线的制作

将标准系列工作液分别注入液相色谱仪中，测定相应的峰面积，以标准工作液的浓度为横坐标，以峰面积响应值为纵坐标，绘制标准曲线。胭脂红酸标准溶液的色谱图参见附录A.1。

5.7 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱仪中，根据保留时间定性，变化范围应在±2.5 %之内，峰面积定量，根据标准曲线得到待测液中胭脂红酸的浓度。

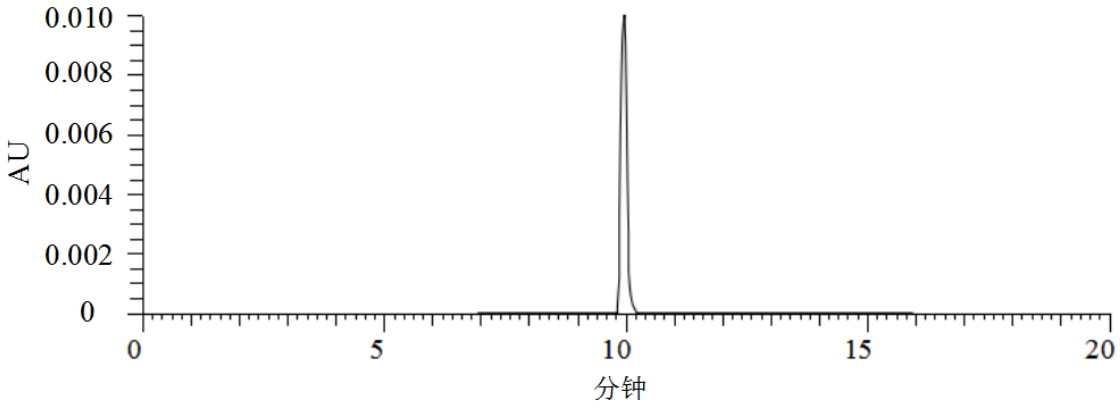
6 分析结果的表述

试样中胭脂虫红（以胭脂红酸计）含量按式（1）计算：

$$X = \frac{c \times V \times 2.00 \times 1000}{m \times 25.0 \times 1000 \times 1000} \quad \cdots\cdots\cdots\

附录 A

标准物质色谱图



图A.1 胭脂红酸（10.0 mg/L）在494 nm下的色谱图