ICS
CCS 点击此处添加 CCS 号

# T/

# 团 体 标 准

T/GDFDTAEC XXXX—XXXX

# 食品中禁用脂溶性合成色素的测定

Determination of prohibited fat-soluble synthetic colour in food

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX－XX－XX 发布　　XXXX－XX－XX 实施

广东省食品药品评审认证技术协会　　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　方法原理 ..... 1
5　试剂和材料 ..... 1
6　仪器和设备 ..... 2
7　分析步骤 ..... 2
7.1　试样制备 ..... 2
7.2　试样提取 ..... 2
7.3　仪器参考条件 ..... 2
7.4　测定法 ..... 3
7.5　空白试验 ..... 3
8　结果计算和表述 ..... 3
8.1　外标法 ..... 3
8.2　内标法 ..... 3
9　精密度 ..... 4
10　其他 ..... 4
附录A（资料性）　禁用脂溶性合成色素的定量离子、定性离子、去簇电压、碰撞电压和保留时间 ..5
附录B（资料性）　禁用脂溶性合成色素的英文中文名称对照索引 ..... 7
附录C（资料性）　禁用脂溶性合成色素定量离子提取流图 ..... 9

# 前　　言

本文件按照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》的规定起草。

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专利的责任。

本文件由广州市食品检验所、广州汇标检测技术中心提出。
本文件由广东省食品药品评审认证技术协会归口。
本文件起草单位：
本文件主要起草人：

# 食品中禁用脂溶性合成色素的测定

## 1 范围

本标准规定了食品中禁用脂溶性合成色素（见附录A）的测定液相色谱-串联质谱法。

本标准适用于辣椒粉、调味酱、豆制品、熟肉制品、蛋等食品中32种禁用脂溶性合成色素的测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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

GB/T 33087 仪器分析用高纯水规格及试验方法

## 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 方法原理

试样经1%乙酸-乙腈提取，C18分散萃取小管净化后，利用液相色谱-串联质谱仪测定，内标法或外标法定量。

## 5 试剂和材料

除另有说明，本实验使用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682中规定的一级水或GB/T 33087中规定的高纯水。

5.1 甲醇（$CH_4O$）：色谱纯。

5.2 乙腈（$C_2H_3N$）：色谱纯。

5.3 乙酸（$CH_3COOH$）：质谱纯。

5.4 三氯甲烷（$CHCl_3$）。

5.5 十八烷基硅烷键合硅胶（C18 材料）：粒径 40~60 μm。

5.6 1%乙酸-乙腈：1mL 乙酸用乙腈定容到 100mL。

5.7 标准品：脂溶性合成色素标准品见附录 B，纯度≥95%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.8 标准溶液配制

5.8.1 标准储备溶液（1000mg/L）：分别准确称取经折算相当于 50mg（精确到 0.1mg）的色素标准品，用合适的溶剂（三氯甲烷、乙腈或甲醇）溶解后，转移至 50mL 容量瓶中，用甲醇定容到刻度。

5.8.2 混合标准储备溶液 A 组（1mg/L）：根据附录 A 化合物的浓度分组，准确移取 0.10mL 的 A 组色素标准储备溶液于 100mL 容量瓶中，用甲醇定容到刻度。

5.8.3 混合标准储备溶液 B 组（10mg/L）：根据附录 A 化合物的浓度分组，准确移取 1.00mL 的 B 组色素单标储备溶液于 100mL 容量瓶中，用甲醇定容到刻度。

5.8.4 内标储备液（1000mg/L）：分别准确称取经折算相当于 50mg（精确到 0.1mg）的内标标准品，置 50mL 容量瓶中，用合适的溶剂（三氯甲烷、乙腈或甲醇）溶解后，甲醇定容到刻度。

5.8.5 混合内标储备液（10mg/L）：分别准确移取 1mL 的内标储备溶液于 100mL 容量瓶中，用甲醇定

容到刻度。

5.8.6 混合标准中间液 A 组（0.1mg/L）：准确吸取 1.00 mL 的混合标准储备溶液 A 组于 10mL 容量瓶中，用甲醇定容到刻度。

5.8.7 混合标准中间液 B 组（1.0mg/L）：准确吸取 1.00 mL 的混合标准储备溶液 B 组于 10mL 容量瓶中，用甲醇定容到刻度。

5.8.8 混合内标中间液（0.01mg/L）：准确吸取一定量的混合内标储备溶液，用甲醇稀释、定容至刻度。

5.8.9 混合标准工作液：根据需要，用甲醇将混合标准中间液和混合内标中间稀释成所需的标准工作溶液。

## 6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱联用仪（LC-MS/MS）：配有电喷雾电离源（ESI）。

6.2 分析天平：感量为 0.1mg、0.01mg。

6.3 离心机：转速不低于 8000r/min。

6.4 超声波清洗器。

6.5 匀浆机。

6.6 食物粉碎机。

## 7 分析步骤

### 7.1 试样制备

豆制品、熟肉制品用食物粉碎机搅碎混匀；蛋煮熟后取蛋黄用食物粉碎机搅碎混匀。

### 7.2 试样提取

称取2.00g（准确至0.01g）试样于50mL离心管中，加入混合内标储备液0.05mL，加入10mL的1%乙酸-乙腈，超声5min，在8000r/min下离心5min，重复提取一遍，合并上清液。取1mL上清液，用甲醇定容至5mL。准确移取2.00mL提取液至含有50mgC18材料的净化管中，涡旋1min，在8000r/min下离心5min，上清液过0.22μm膜，待测。每个样品做2个平行测试，同时做空白测试。

### 7.3 仪器参考条件

#### 7.3.1 液相色谱参考条件

a) 色谱柱：C18 柱，100mm×2.1mm，1.7μm，或同等性能的色谱柱；
b) 流动相：A 为 0.1%乙酸水，B 为 0.1%乙酸-甲醇；梯度洗脱条件见表 1；
c) 柱温：40℃；
d) 进样量：2μL；
e) 流速：0.3mL/min。

**表 1 液相色谱梯度洗脱条件**

| 时间（min） | 流动相 A（%） | 流动相 B（%） |
|---|---|---|
| 0.00 | 80 | 20 |
| 0.50 | 80 | 20 |
| 5.00 | 20 | 85 |
| 6.00 | 5 | 95 |
| 10.00 | 5 | 95 |
| 10.10 | 80 | 20 |
| 15.00 | 80 | 20 |

#### 7.3.2 质谱参考条件

a) 离子源类型：电喷雾电离源（ESI）；
b) 扫描方式：正离子电离模式；
c) 电喷雾电压：2.5kV；
d) 离子源温度：150℃；
e) 脱溶剂气温度：500℃
f) 脱溶剂气流速：1000L/h；
g) 锥孔气流速：150L/h；
h) 定性离子对、定量离子对、去簇电压和碰撞能量参见附录 A。

### 7.4 测定法

#### 7.4.1 定性测定

在同样测试条件下，试样溶液中脂溶性合成色素的保留时间与标准溶液相应峰的保留时间相对偏差在±25%以内，且检测到的相对离子丰度，应当与浓度相当的标准溶液相对丰度一致。其允许偏差应符合表2的要求。

**表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差**

| 相对离子丰度/% | ＞50 | 20～50 | 10～20 | ≤10 |
|---|---|---|---|---|
| 允许相对偏差/% | ±20 | ±25 | ±30 | ±50 |

#### 7.4.2 定量测定

取试样溶液和相应的标准溶液，作单点或多点校准，以目标化合物特征离子质量色谱峰面积外标法定量，或以目标化合物与内标物特征离子峰面积比值内标法定量。标准工作液及试样溶液中的脂溶性合成色素响应值均应在仪器检测的线性范围内。在上述色谱-质谱条件下，标准溶液特征离子质量色谱图见附录B。

**注：**苏丹红I、苏丹红II、苏丹红III、苏丹红IV以内标法定量，其余化合物以外标法定量。

### 7.5 空白试验

取空白试样，除不加标准溶液外，采用相同的测定步骤进行平行操作。

## 8 结果计算和表述

### 8.1 外标法

试样中各色素含量按式（1）计算：

$$X = \frac{C_s \times A \times V}{m \times A_s \times 1000} \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：
X—样品中相应的色素含量的数值，单位为毫克每千克（mg/kg）；
$C_s$—标准溶液中相应色素浓度的数值，单位为纳克每毫升（ng/mL）；
A—样品溶液中相应的色素峰面积；
$A_s$—标准溶液中相应的色素峰面积；
V—样品定容体积，单位为毫升（mL）；
m—样品质量的数值，单位为克（g）。
计算结果保留2位有效数字。

### 8.2 内标法

试样中各色素含量按式（2）计算：

$$X = \frac{C_s \times R \times V}{m \times R_s \times 1000} \cdots\cdots (1)$$

式中：

X—样品中相应的色素含量的数值，单位为毫克每千克（mg/kg）；

$C_S$—标准溶液中相应色素浓度的数值，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

R—样品溶液中相应的色素与内标物峰面积比值；

$R_S$—标准溶液中相应的色素与内标物峰面积比值；

V—样品定容体积，单位为毫升（mL）；

m—样品质量的数值，单位为克（g）。

计算结果保留2位有效数字。

## 9 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20%。

## 10 其他

本方法禁用脂溶性合成色素的检出限为0.05mg/kg（A组化合物）、0.50mg/kg（B组化合物）。

# 附 录 A
（资料性）
## 禁用脂溶性合成色素的定量离子、定性离子、去簇电压、碰撞电压和保留时间

禁用脂溶性合成色素的定量离子、定性离子、去簇电压、碰撞电压和保留时间，见表A.1。

**表 A.1 禁用脂溶性合成色素的定量离子、定性离子、去簇电压、碰撞电压和保留时间**

| 序号 | 中文名称 | 英文名称 | 标准溶液浓度分组 | 母离子(m/z) | 定量离子(m/z) | 定性离子(m/z) | 去簇电压(V) | 定量离子碰撞电压(V) | 定性离子碰撞电压(V) | 保留时间(min) | 检出限(mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 碱性红 5 | Basic Red 5 | B 组 | 253.3 | 237.7 | 209.2 | 30 | 35 | 35 | 3.80 | 0.50 |
| 2 | 碱性红 9 | Basic Red 9 | A 组 | 288.1 | 195.2 | 151.2 | 30 | 33 | 53 | 3.32 | 0.05 |
| 3 | 碱性蓝 1 | Basic Blue 1 | A 组 | 363.4 | 347.3 | 311.1 | 30 | 36 | 43 | 4.68 | 0.05 |
| 4 | 碱性紫 2 | Basic Violet 2 | A 组 | 330.4 | 223.1 | 208.1 | 30 | 31 | 41 | 4.20 | 0.05 |
| 5 | 碱性橙 21 | Basic Orange 21 | A 组 | 315.3 | 300.2 | 285.2 | 30 | 23 | 30 | 4.35 | 0.05 |
| 6 | 碱性橙 22 | Basic Orange 22 | A 组 | 391.3 | 376.2 | 361.4 | 30 | 28 | 36 | 4.88 | 0.05 |
| 7 | 碱性嫩黄 O | Auramine O | A 组 | 268.2 | 147.2 | 122.2 | 30 | 28 | 25 | 4.24 | 0.05 |
| 8 | 碱性绿 1 | Basic Green 1 | A 组 | 385.4 | 341.2 | 297.3 | 30 | 36 | 48 | 5.36 | 0.05 |
| 9 | 碱性蓝 7 | Basic Blue 7 | A 组 | 478.3 | 434.5 | 390.4 | 30 | 46 | 60 | 5.91 | 0.05 |
| 10 | 硫黄素 T | Thioflavine T | B 组 | 283.1 | 267.1 | 252.1 | 30 | 27 | 43 | 3.74 | 0.50 |
| 11 | 碱性紫 4 | Ethyl Violet 4 | A 组 | 456.4 | 412.6 | 368.3 | 30 | 32 | 60 | 5.97 | 0.05 |
| 12 | 罗丹明 6G | Rhodamine 6G | A 组 | 443.2 | 415.3 | 341.3 | 30 | 33 | 45 | 5.11 | 0.05 |
| 13 | 罗丹明 B | Rhodamine B | A 组 | 443.3 | 399.2 | 355.0 | 30 | 41 | 56 | 5.27 | 0.05 |
| 14 | 碱性绿 4 | Basic Green 4 | A 组 | 329.3 | 313.3 | 208.2 | 30 | 36 | 36 | 4.68 | 0.05 |
| 15 | 结晶紫 | Crystal violet | A 组 | 372.3 | 356.2 | 340.3 | 30 | 38 | 50 | 5.13 | 0.05 |
| 16 | 碱性蓝 41 | Basic Blue 41 | A 组 | 371.1 | 164.1 | 133.1 | 30 | 19 | 35 | 4.22 | 0.05 |
| 17 | 碱性红 46 | Basic Red 46 | A 组 | 321.2 | 224.1 | 196.0 | 30 | 11 | 16 | 3.98 | 0.05 |
| 18 | 碱性黄 51 | Basic Yellow 51 | A 组 | 292.2 | 160.1 | 106.1 | 30 | 20 | 25 | 4.20 | 0.05 |
| 19 | 碱性黄 24 | Basic Yellow 24 | A 组 | 322.4 | 160.1 | 136.1 | 30 | 20 | 25 | 4.35 | 0.05 |

| 序号 | 中文名称 | 英文名称 | 标准溶液浓度分组 | 母离子(m/z) | 定量离子(m/z) | 定性离子(m/z) | 去簇电压(V) | 定量离子碰撞电压(V) | 定性离子碰撞电压(V) | 保留时间(min) | 检出限(mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 20 | 苏丹橙 G | Sudan orange G | A 组 | 215.1 | 122.1 | 93.1 | 30 | 15 | 25 | 6.20 | 0.05 |
| 21 | 苏丹黄 | Sudan yellow | A 组 | 226.0 | 77.1 | 121.1 | 30 | 22 | 20 | 6.78 | 0.05 |
| 22 | 对位红 | Para red | A 组 | 294.1 | 156.0 | 128.0 | 30 | 18 | 28 | 6.99 | 0.05 |
| 23 | 分散橙 11 | Disperse orange 11 | A 组 | 238.1 | 77.1 | 165.1 | 30 | 57 | 32 | 6.13 | 0.05 |
| 24 | 苏丹红 I | Sudan red I | A 组 | 249.3 | 156.2 | 93.1 | 30 | 15 | 23 | 7.31 | 0.05 |
| 25 | 苏丹红 II | Sudan red II | A 组 | 277.2 | 121.1 | 155.9 | 30 | 18 | 16 | 8.20 | 0.05 |
| 26 | 苏丹红 III | Sudan red III | A 组 | 353.1 | 196.1 | 156.2 | 30 | 24 | 23 | 8.91 | 0.05 |
| 27 | 苏丹红 IV | Sudan red IV | A 组 | 381.1 | 90.9 | 224.2 | 30 | 39 | 21 | 10.91 | 0.05 |
| 28 | 二乙基黄 | Diethyl yellow | A 组 | 254.3 | 134.2 | 77.0 | 30 | 25 | 25 | 7.08 | 0.05 |
| 29 | 分散红 9 | Disperse Red 9 | A 组 | 238.3 | 223.3 | 220.3 | 30 | 25 | 19 | 6.62 | 0.05 |
| 30 | 分散蓝 124 | Disperse Blue 124 | A 组 | 378.3 | 220.3 | 86.9 | 30 | 18 | 32 | 6.44 | 0.05 |
| 31 | 分散红 11 | Disperse red 11 | A 组 | 269.2 | 254.2 | 226.1 | 30 | 25 | 32 | 5.18 | 0.05 |
| 32 | 溶剂红 169 | Solvent Red 169 | A 组 | 266.3 | 224.0 | 167.2 | 30 | 17 | 41 | 7.09 | 0.05 |
| 内标 | 苏丹红 I-d5 | Sudan I-d5 | A 组 | 254.2 | 156.1 | 98.1 | 30 | 15 | 23 | 7.30 | —— |
| 内标 | 苏丹红 II-d6 | SudanII-d6 | A 组 | 283.2 | 121.2 | 162.1 | 30 | 18 | 15 | 8.15 | —— |
| 内标 | 苏丹红 III-d6 | Sudan III-d6 | A 组 | 359.3 | 77.1 | 196.0 | 30 | 42 | 25 | 8.85 | —— |
| 内标 | 苏丹红 IV-d6 | Sudan IV-d6 | A 组 | 387.2 | 91.1 | 224.1 | 30 | 35 | 24 | 10.86 | —— |

# 附 录 B
（资料性）
禁用脂溶性合成色素的英文中文名称对照索引

禁用脂溶性合成色素的中英文名称对照索引（按英文字母顺序），见表B.1。

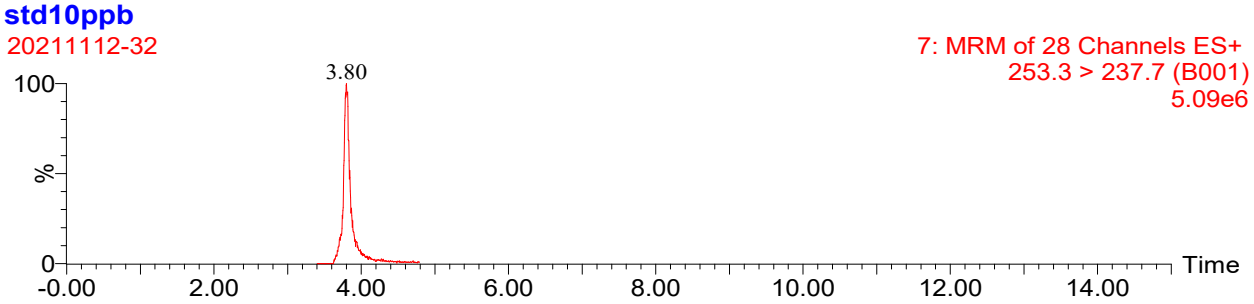
表 B.1 禁用脂溶性合成色素的中英文名称对照索引（按英文字母顺序）

| 序号 | 附录 A 中的序号 | 中文名称 | 英文名称 | CAS 号 | 分子式 |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 7 | 碱性嫩黄 O | Auramine O | 2465-27-2 | C17H22ClN3 |
| 2 | 3 | 碱性蓝 1 | Basic Blue 1 | 3521-06-0 | C23H24Cl2N2 |
| 3 | 16 | 碱性蓝 41 | Basic Blue 41 | 12270-13-2 | C20H26N4O6S2 |
| 4 | 9 | 碱性蓝 7 | Basic Blue 7 | 2390-60-5 | C33H40N3Cl |
| 5 | 8 | 碱性绿 1 | Basic Green 1 | 633-03-4 | C27H34N2O4S |
| 6 | 14 | 碱性绿 4 | Basic Green 4 | 2437-29-8 | C52H54N4O12 |
| 7 | 5 | 碱性橙 21 | Basic Orange 21 | 3056-93-7 | C22H23ClN2 |
| 8 | 6 | 碱性橙 22 | Basic Orange 22 | 4657-00-5 | C28H27ClN2 |
| 9 | 17 | 碱性红 46 | Basic Red 46 | 12221-69-1 | C18H23BrN6 |
| 10 | 1 | 碱性红 5 | Basic Red 5 | 553-24-2 | C15H17ClN4 |
| 11 | 2 | 碱性红 9 | Basic Red 9 | 569-61-9 | C19H17N3.HCl |
| 12 | 4 | 碱性紫 2 | Basic Violet 2 | 3248-91-7 | C22H24ClN3 |
| 13 | 19 | 碱性黄 24 | Basic Yellow 24 | 52435-14-0 | C19H21N5O4S2 |
| 14 | 18 | 碱性黄 51 | Basic Yellow 51 | 83949-75-1 | C20H25N3O4S |
| 15 | 15 | 结晶紫 | Crystal violet | 548-62-9 | C25H30ClN3 |
| 16 | 28 | 二乙基黄 | Diethyl yellow | 2481-94-9 | C16H19N3 |
| 17 | 30 | 分散蓝 124 | Disperse Blue 124 | 61951-51-7 | C16H19N5O4S |
| 18 | 23 | 分散橙 11 | Disperse orange 11 | 82-28-0 | C15H11NO2 |
| 19 | 31 | 分散红 11 | Disperse red 11 | 2872-48-2 | C15H12N2O3 |
| 20 | 29 | 分散红 9 | Disperse Red 9 | 82-38-2 | C15H11NO2 |

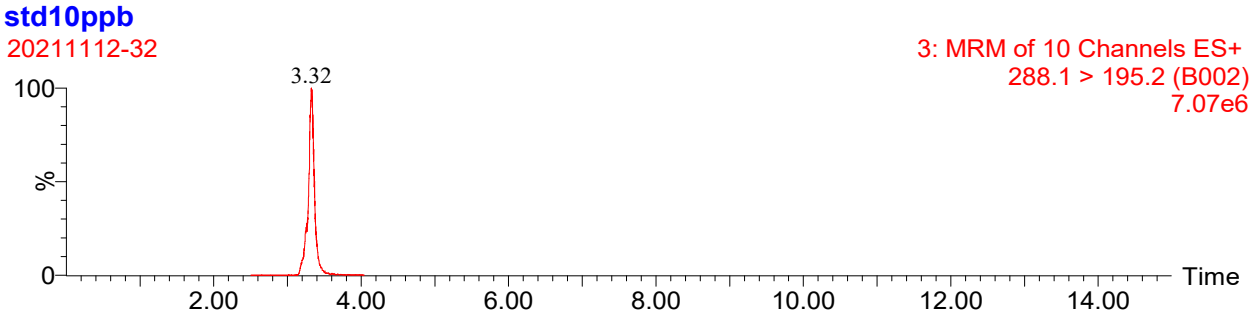
| 序号 | 附录 A 中的序号 | 中文名称 | 英文名称 | CAS 号 | 分子式 |
|---|---|---|---|---|---|
| 21 | 11 | 碱性紫 4 | Ethyl Violet 4 | 2390-59-2 | C31H42ClN3 |
| 22 | 22 | 对位红 | Para red | 6410-10-2 | C16H11N3O3 |
| 23 | 12 | 罗丹明 6G | Rhodamine 6G | 989-38-8 | C28H31ClN2O3 |
| 24 | 13 | 罗丹明 B | Rhodamine B | 81-88-9 | C28H31ClN2O3 |
| 25 | 32 | 溶剂红 169 | Solvent Red 169 | 27354-18-3 | C17H15NO2 |
| 26 | 20 | 苏丹橙 G | Sudan orange G | 2051-85-6 | C12H10N2O2 |
| 27 | 24 | 苏丹红 I | Sudan red I | 842-07-9 | C16H12N2O |
| 28 | 25 | 苏丹红 II | Sudan red II | 3118-97-6 | C18H16N2O |
| 29 | 26 | 苏丹红 III | Sudan red III | 85-86-9 | C22H16N4O |
| 30 | 27 | 苏丹红 IV | Sudan red IV | 85-83-6 | C24H20N4O |
| 31 | 21 | 苏丹黄 | Sudan yellow | 60-11-7 | C14H15N3 |
| 32 | 10 | 硫黄素 T | Thioflavine T | 2390-54-7 | C17H19ClN2S |
| 34 | 内标 | 苏丹红 I-d5 | Sudan I-d5 | 752211-63-5 | C16H7N2OD5 |
| 35 | 内标 | 苏丹红 II-d6 | SudanII-d6 | 1014689-15-6 | C18H10D6N2O |
| 36 | 内标 | 苏丹红 III-d6 | Sudan III-d6 | 1014689-17-8 | C22H10D6N4O |
| 37 | 内标 | 苏丹红 IV-d6 | Sudan IV-d6 | 1014689-18-9 | C24H14D6N4O |

# 附　录　C
（资料性）
禁用脂溶性合成色素定量离子提取流图

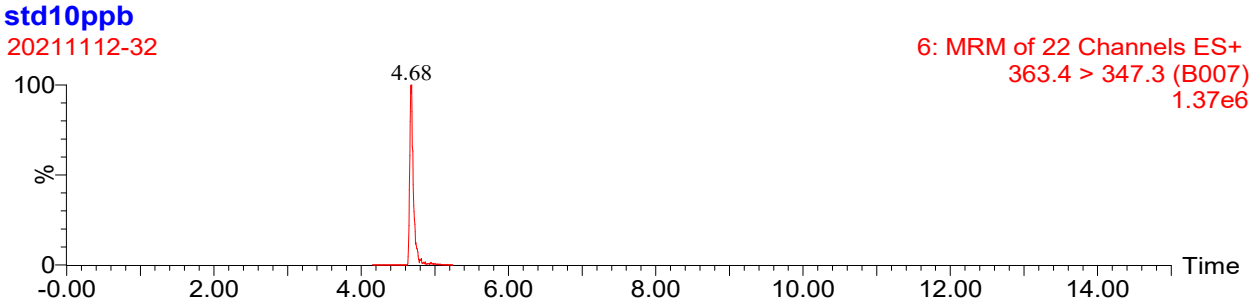
禁用脂溶性合成色素定量离子提取流图（A组：10ng/mL；B组：100ng/mL），见图C.1。



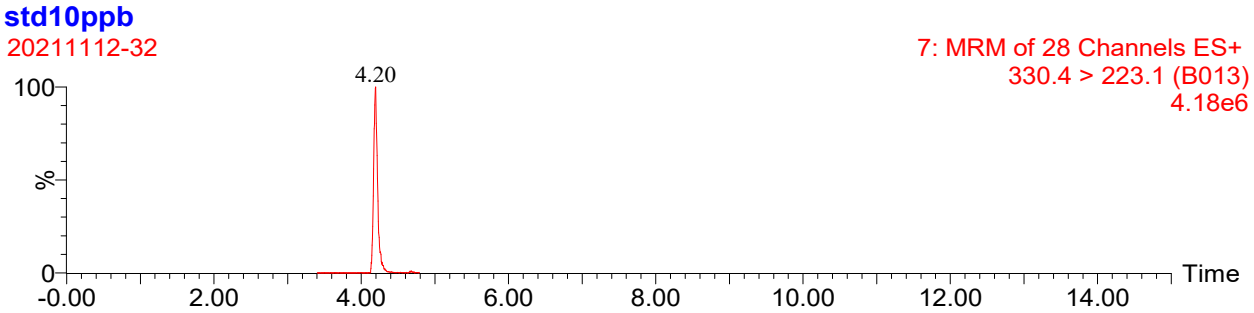

1. 碱性红 5



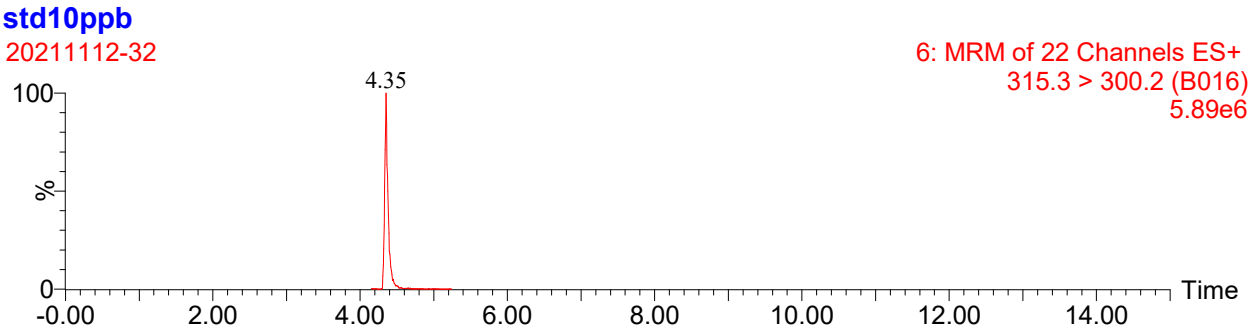

2. 碱性红 9



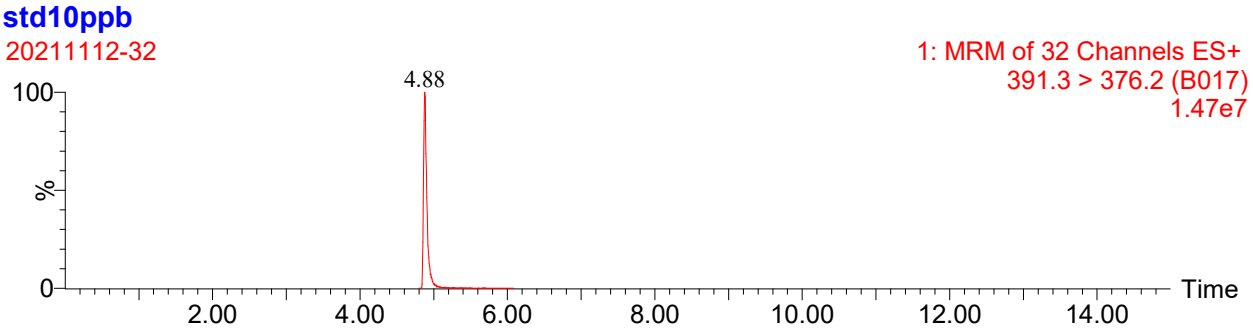

3. 碱性蓝 1



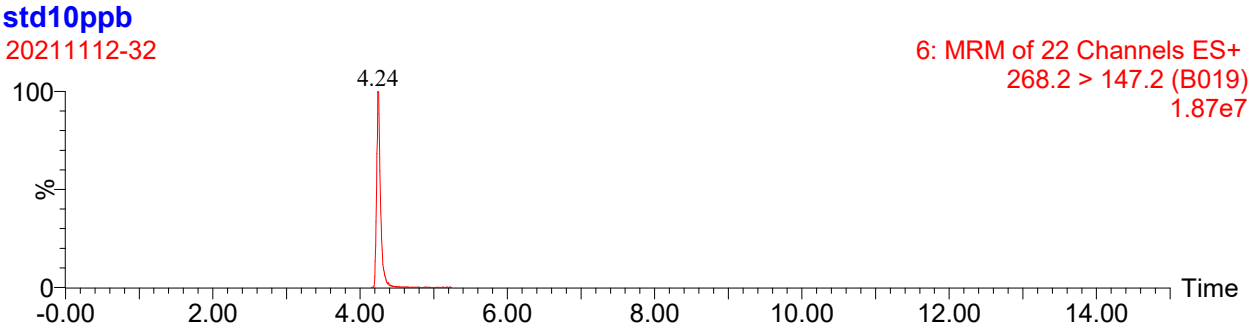

4. 碱性紫 2



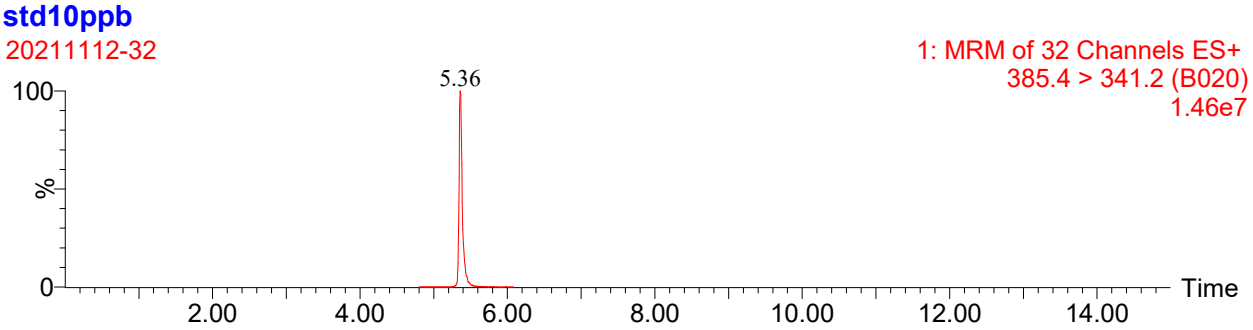

5. 碱性橙 21



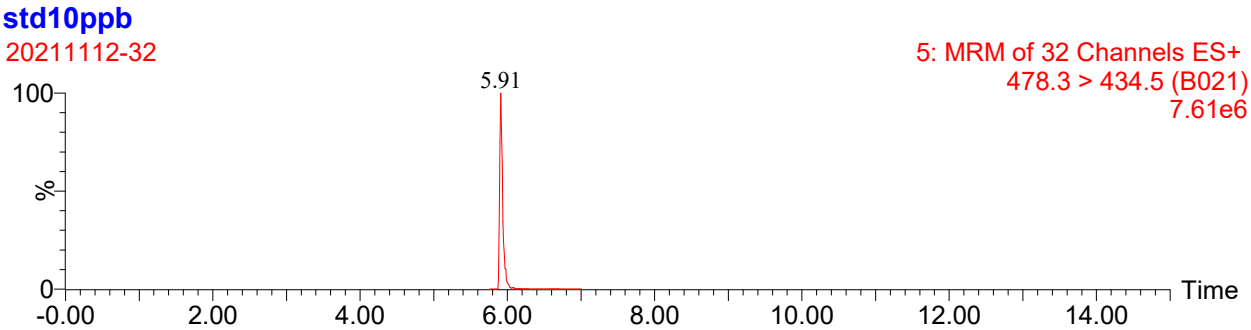

6. 碱性橙 22



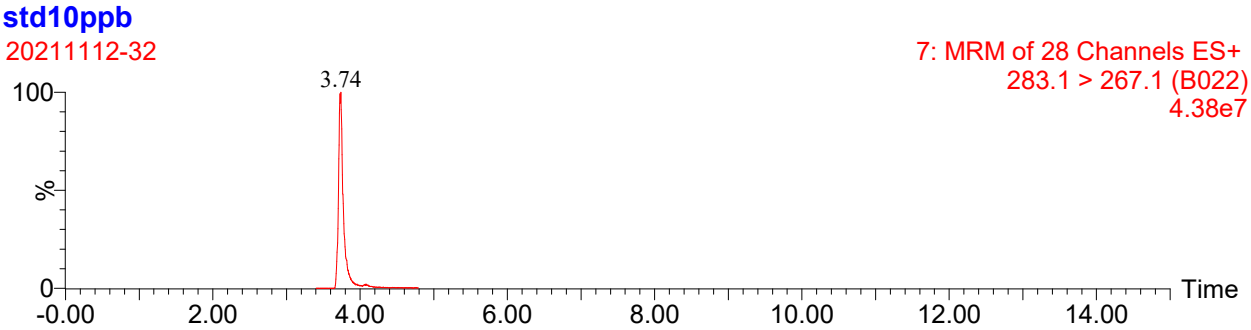

7. 碱性嫩黄 O



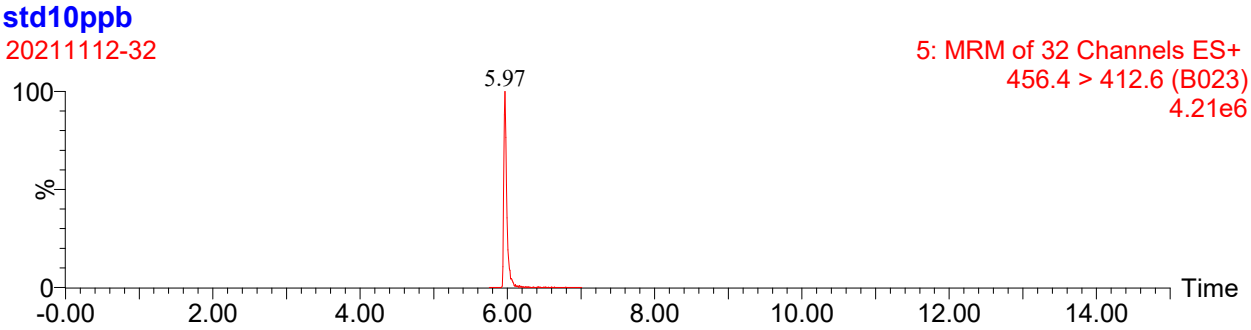

8. 碱性绿 1



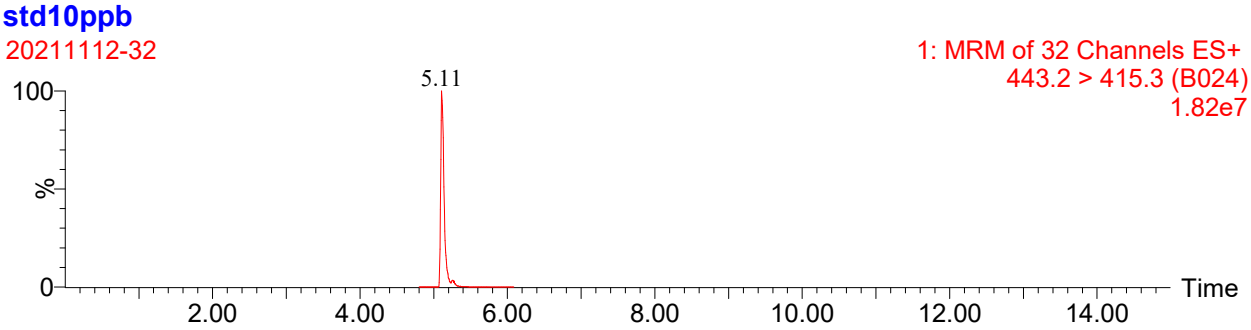

9. 碱性蓝 7



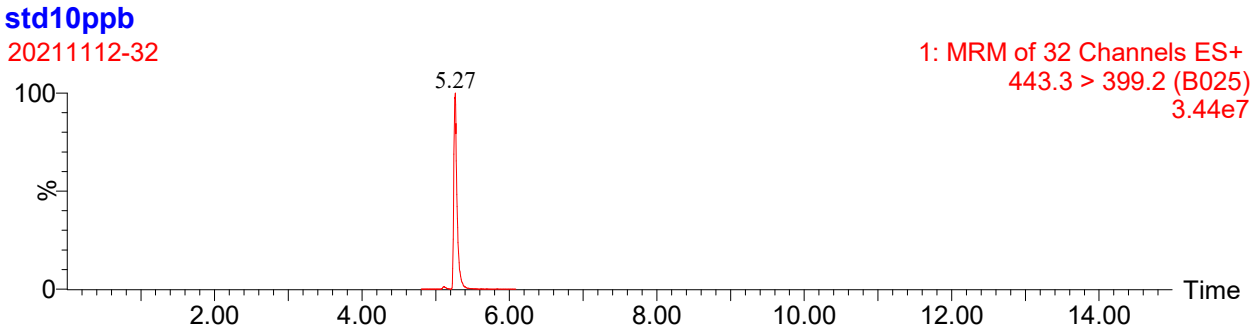

10. 硫黄素 T



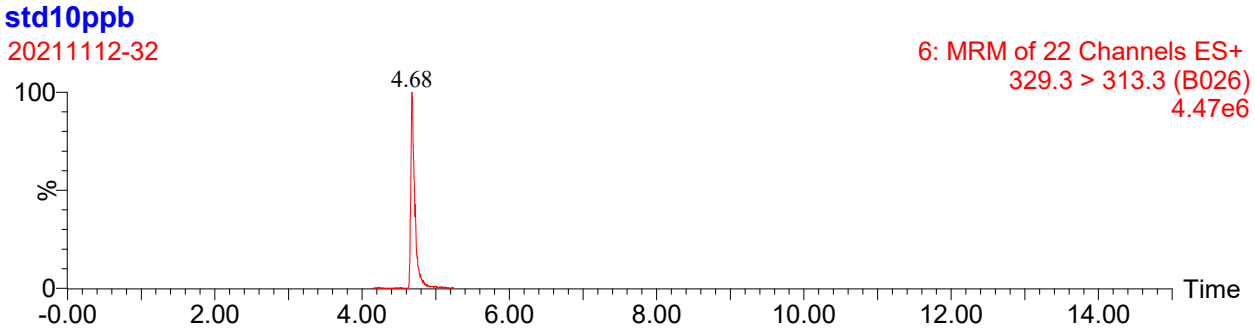

11. 碱性紫 4



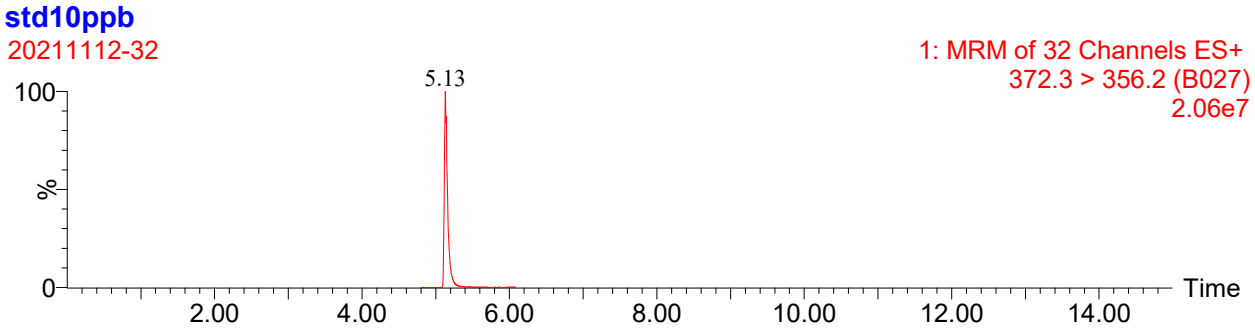

12. 罗丹明 6G



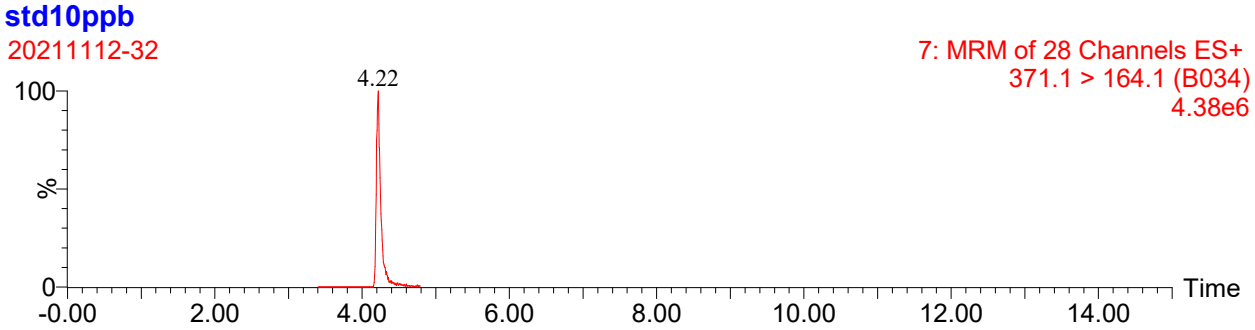

13. 罗丹明 B



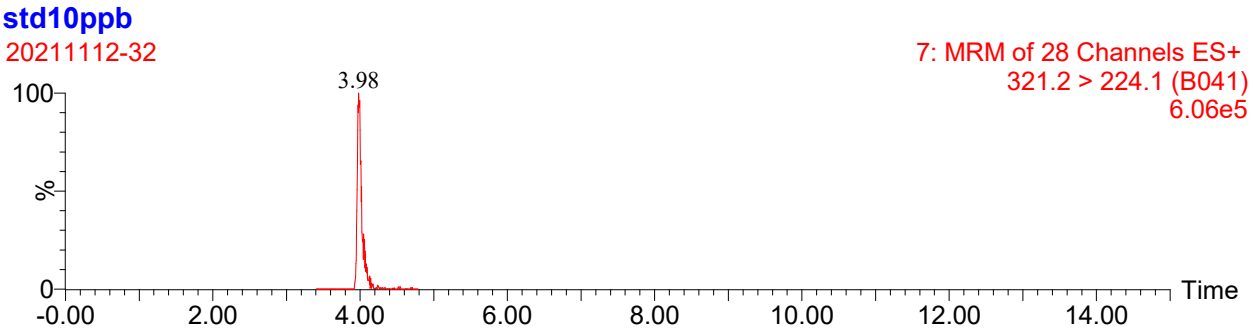

14. 碱性绿 4



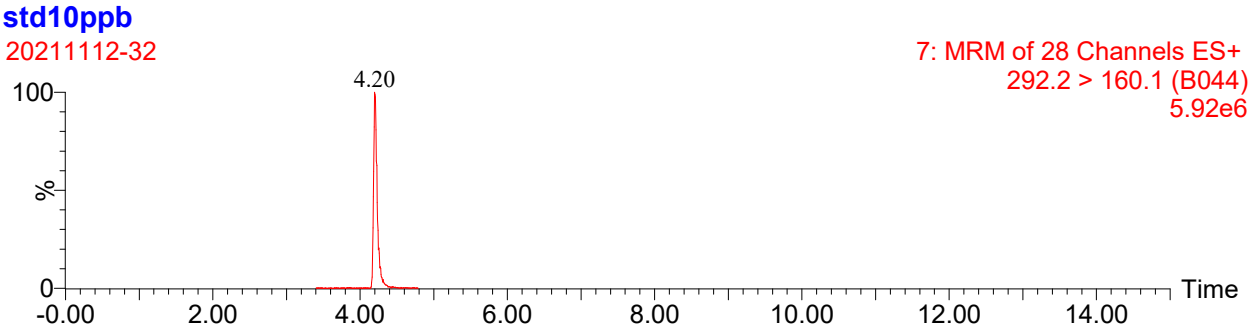

15. 结晶紫



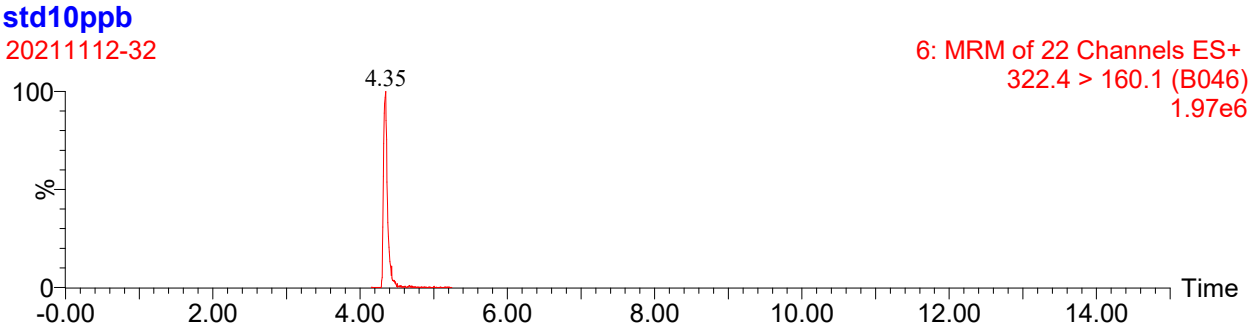

16. 碱性蓝 41



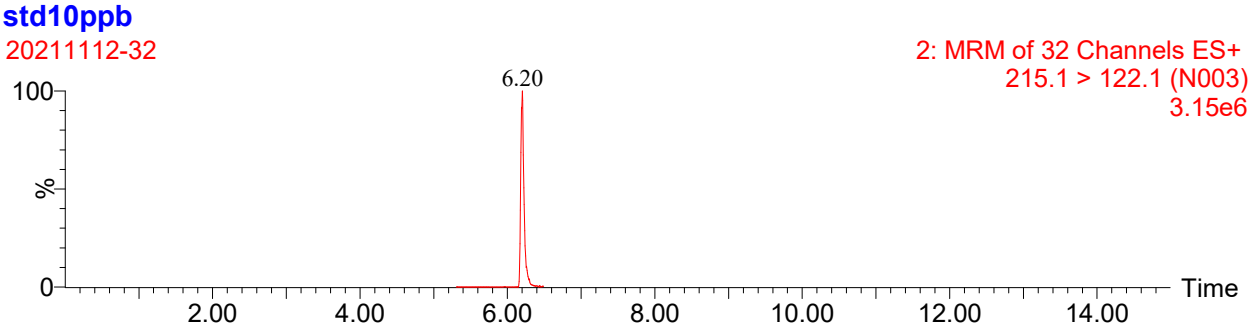

17. 碱性红 46



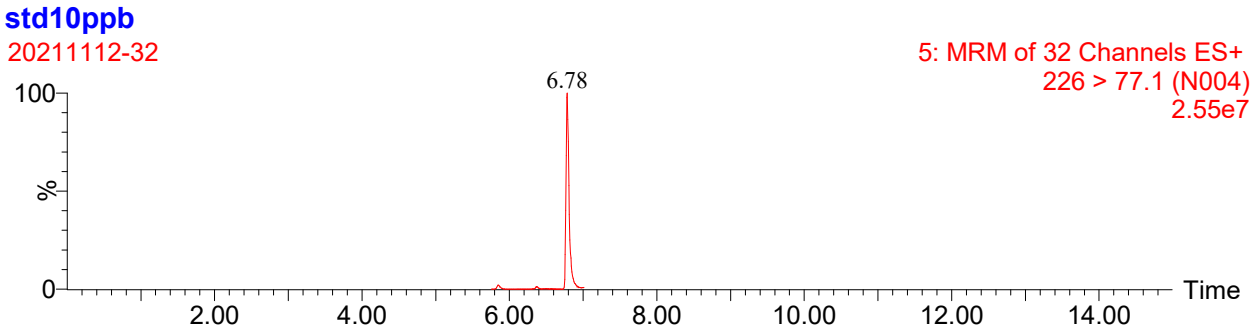

18. 碱性黄 51



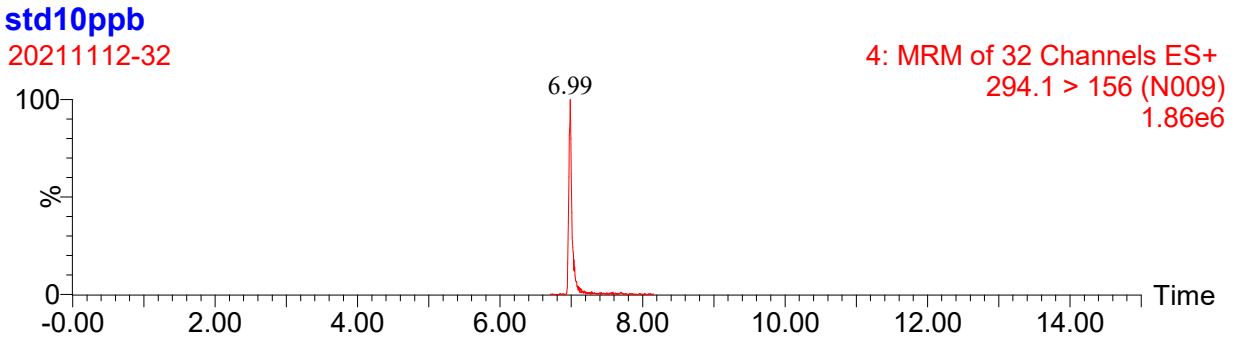

19. 碱性黄 24



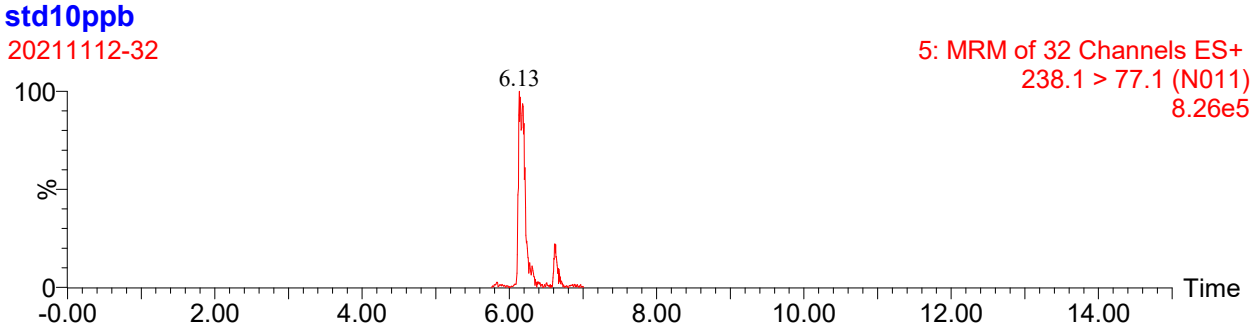

20. 苏丹橙 G



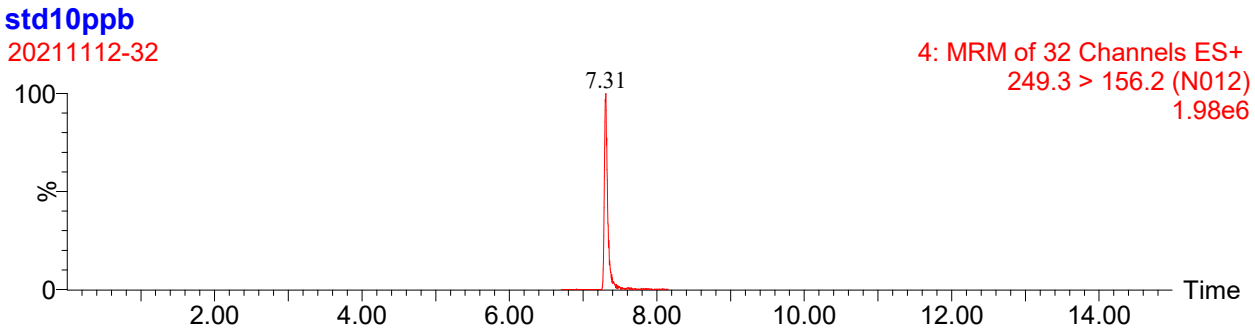

21. 苏丹黄



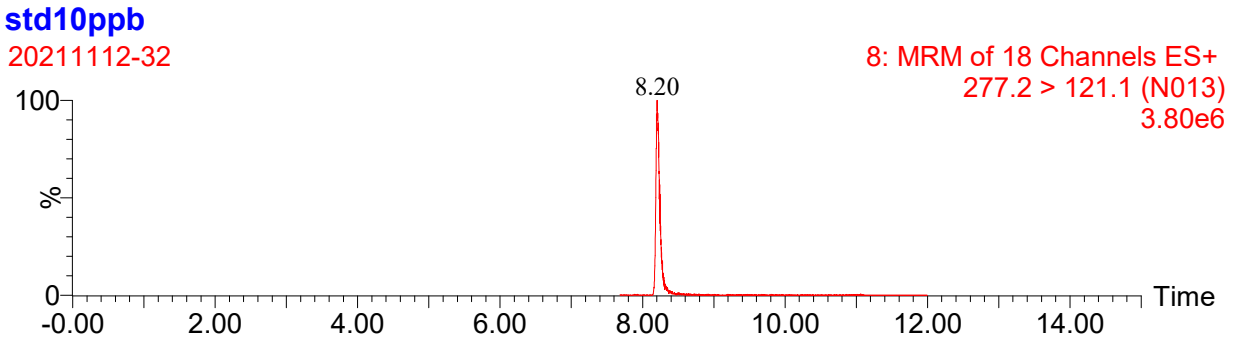

22. 对位红



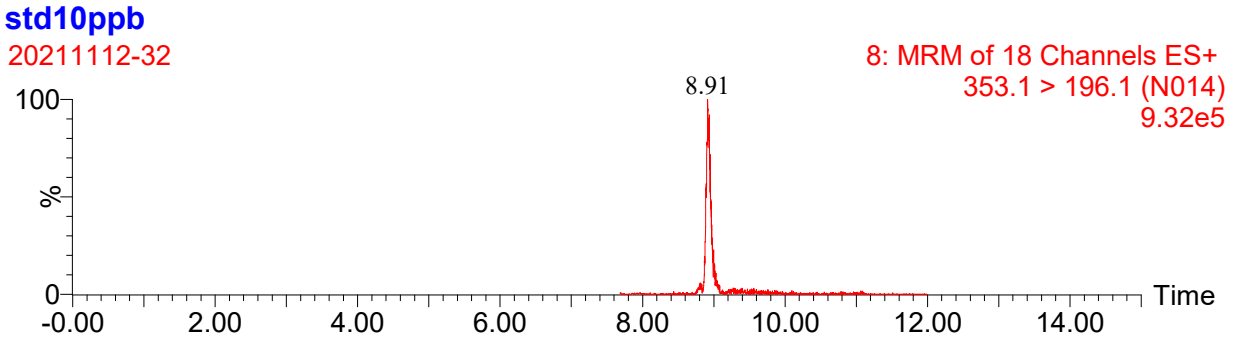

23. 分散橙 11



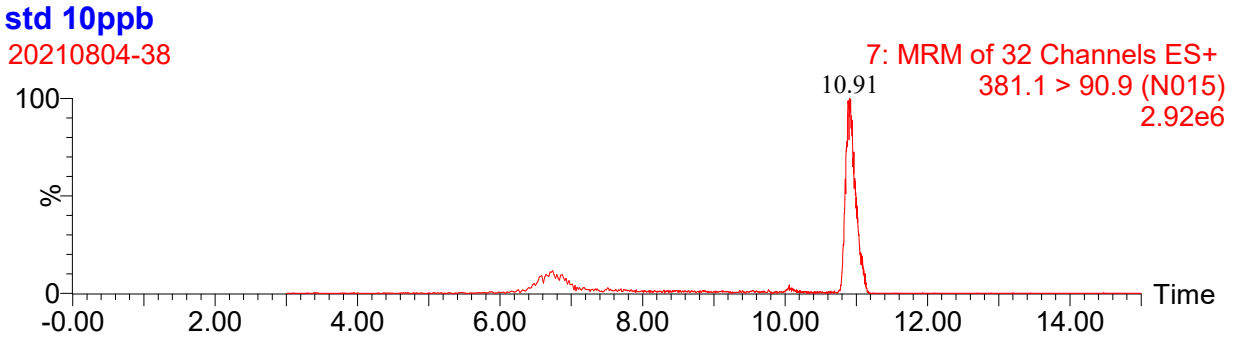

24. 苏丹红 I



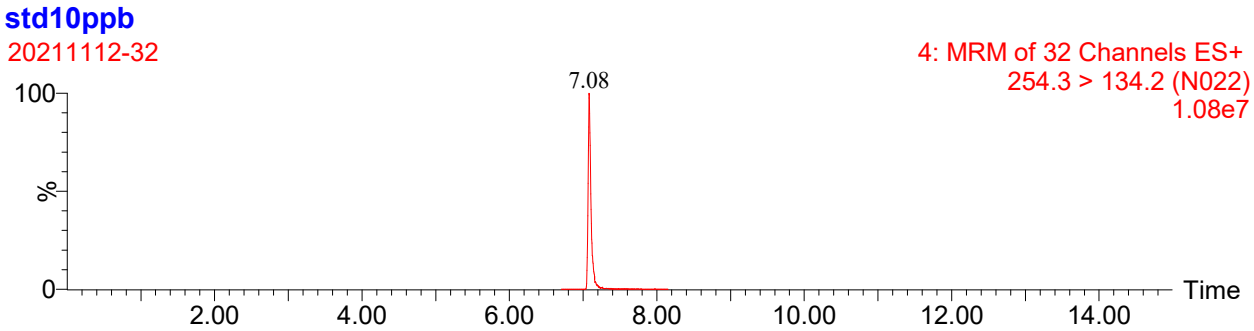

25. 苏丹红 II



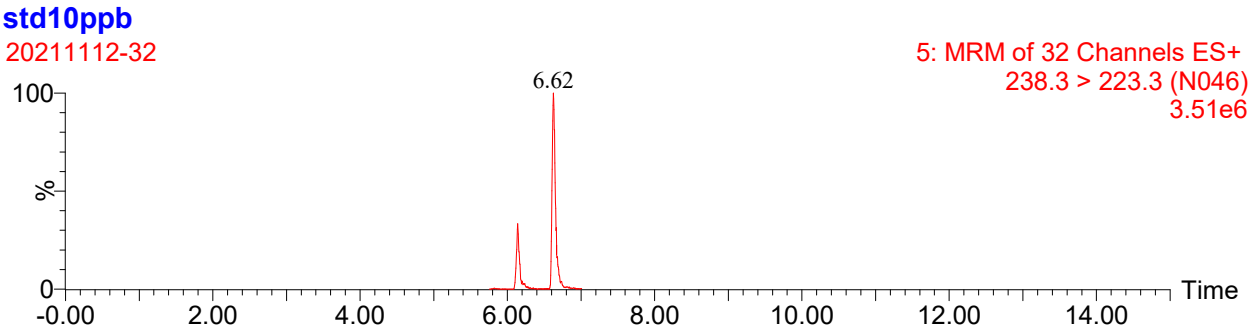

26. 苏丹红 III



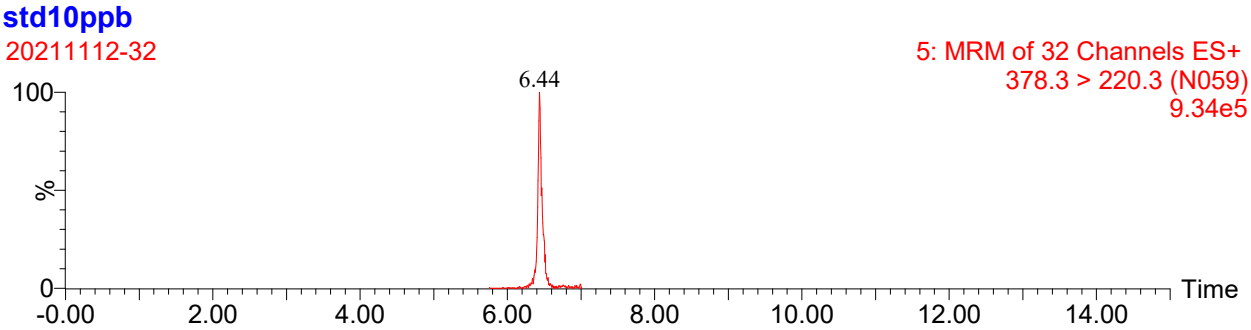

27. 苏丹红 IV



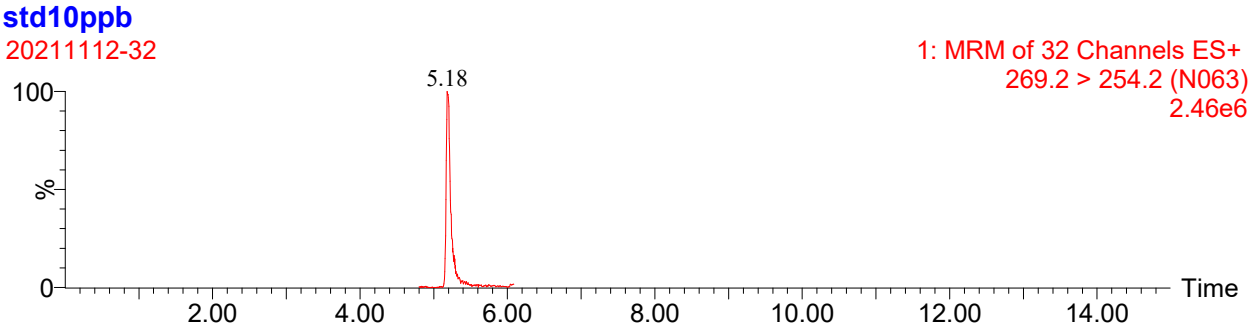

28. 二乙基黄



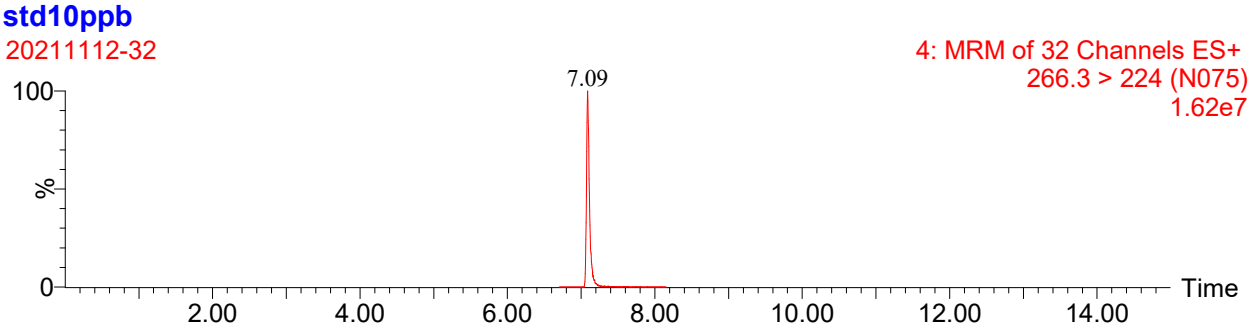

29. 分散红 9



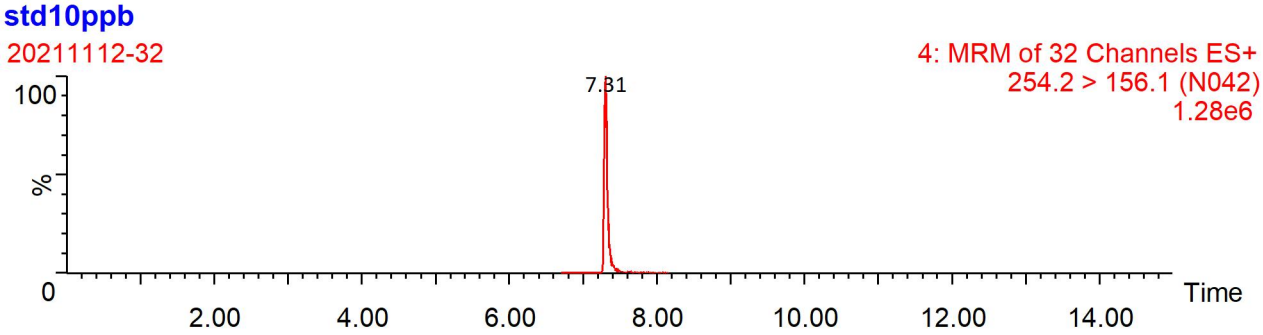

30. 分散蓝 124



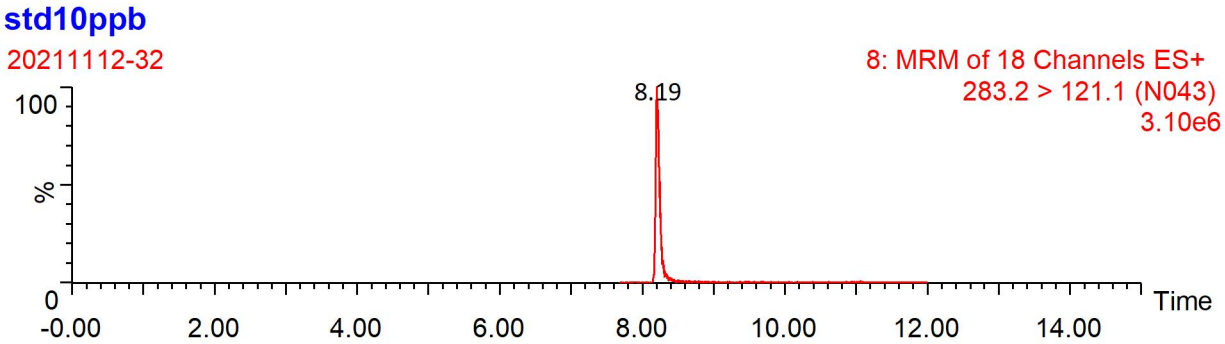

31. 分散红 11



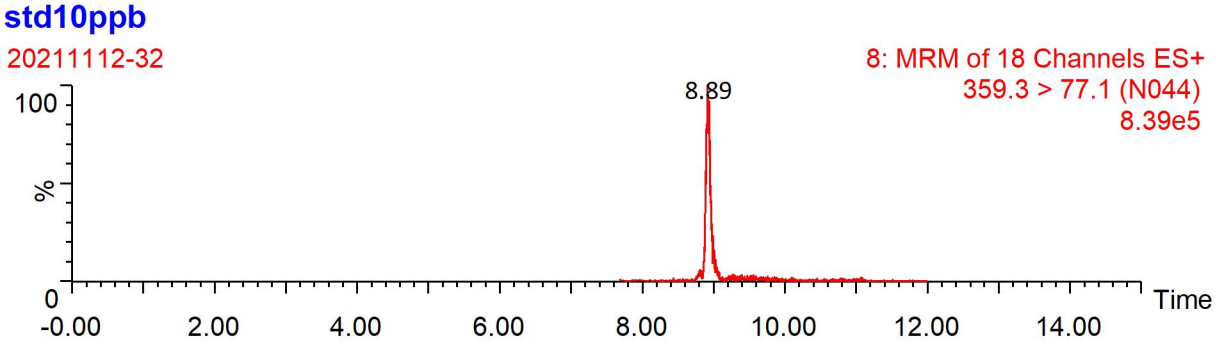

32. 溶剂红 169



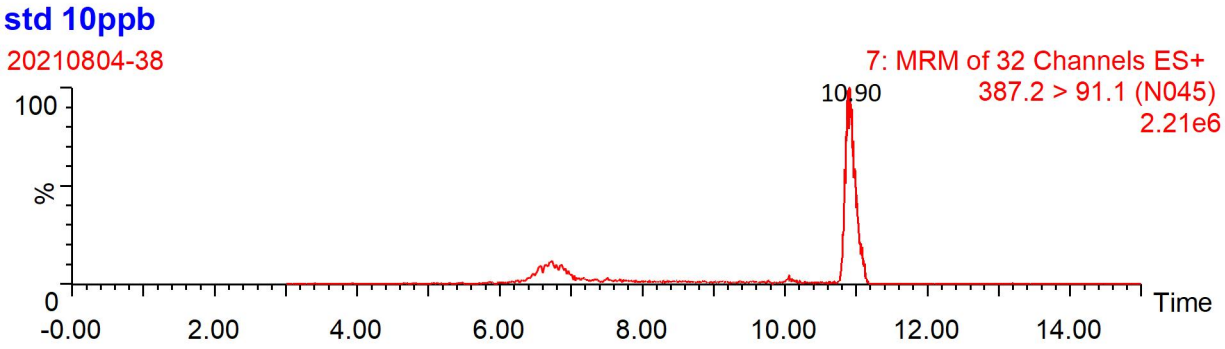

33. 苏丹红 I-d5




34. 苏丹红 II-d6




35. 苏丹红 III-d6




36. 苏丹红 IV-d6

图 C.1 水溶性合成色素定量离子提取流图（A 组：10ng/mL；B 组：100ng/mL）