

月旭科技食品中合成着色剂的测定

1、适用范围

适用于食品中柠檬黄、新红、苋菜红、胭脂红、日落黄、亮蓝、赤藓红等 7 种着色剂的测定（本实验用面包为基质）

参考标准：《GB 5009.35-2016 食品安全国家标准食品中合成着色剂的测定》

2、溶液的配制

- 1)标准储备液:分别精确称取 7 种色素 50mg,用 pH 为 6 的水溶解并定容到 50mL,浓度为 1000mg/L。
- 2)100mg/L 标准使用液:精确移取 7 种色素 1000mg/L 单标 5mL,用 pH 为 6 的水溶解并定容到 50mL,浓度为 100mg/L
- 3) 乙酸铵溶液 (0.02mol/L): 称取 1.54g 乙酸铵,加水至 1000mL,溶解,经 0.45 μ m 滤膜过滤。
- 4) 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。
- 5) 提取液: 先移取 100mL 乙醇和 50mL 乙腈,混匀。再移取 140mL 已混匀的乙醇-乙腈+60mL 水+2mL 氨水,混匀
- 6) 10%甲酸水溶液: 10mL 甲酸+90mL 水
- 7) 15%氨水甲醇: 15mL 氨水+85mL 甲醇

3、提取步骤

- 1) 取 2.0 g 样品,加入 20 mL 提取液,振荡 2 min,40 $^{\circ}$ C 水浴超声提取 10 min,6000 rpm 下离心 2 min,收集上清液;

2) 取下层残留物，加入 10 mL 提取液，振荡 2 min，40℃水浴超声提取 15 min，6000 rpm 下离心 2 min，收集上清液；

3) 将下层残留物用 10mL 提取液，按照步骤(2)重复提取一次，合并三次上清液；

4) 将上清液在 40℃水浴条件下，减压蒸至约 15 mL，再加入 3 mL 甲酸混匀，待净化。

4、SPE 净化步骤

SPE 柱：月旭 Welchrom®P-WAX 规格：150 mg/6mL。

活化：5mL 甲醇，5 mL10%甲酸水活化，弃去

上样：待净化液全部上样，弃去

淋洗：加入 5 mL 甲醇，弃去

洗脱：8mL15%氨水甲醇溶液，收集于蒸发皿中，抽干

将洗脱液置于 80 °C 水浴挥干，用水定容至 5 mL，过 0.45μm 水膜，上机测定。

5、注意事项

1)加标水平: 2g 样中, 分别加入 0.1mL100mg/L 混标, 最终定容到 5mL, 因此加标水平分别为 5mg/kg。

最终机读数为 2mg/L

2)GB5009.35-2016 中赤藓红没有采用 PA 吸附的方法, 因赤藓红在 PA 柱上的吸附性很小, 在淋洗过程就会被大部分洗下来, 通过方法优化, 选用 P-WAX, 可以同时处理包含赤藓红在内的 7 种着色剂

3)因为提取液是碱性的, 为了更好的保证小柱对合成着色剂的吸附, 加 3mL 甲酸, 使样液呈酸性

SPE 净化过程, 控制流速, 建议 1mL/min 左右

4)最后上机前, 选用水系滤膜进行过滤

6、色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate®XB-C18 4.6×250mm, 5μm

流动相：A-0.02mol/L 乙酸铵溶液，B-甲醇（梯度见下表 1）

流速：1.0mL/min

柱温：30℃

进样量：20μL

检测波长：245nm

表1：液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	0.02 mM 乙酸铵溶液/%	甲醇/%
0	95	5
10	80	20
18	20	80
25	20	80
25.1	95	5

7、色谱图或者加标回收率结果

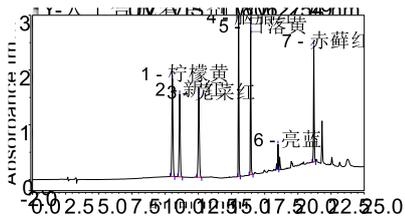


图 1.合成着色剂混标 2mg/L 图谱

序号	峰名称	保留时间	峰面积	峰高	相对峰面积	拖尾因子	分离度	不对称度	塔板数
		min	mAU*min	mAU	%		(EP)	(EP)	(EP)
1	柠檬黄	10.543	1.695	17.88	19.06	1.08	3.71	1.05	79489
2	新红	11.09	1.405	15.123	15.8	1.1	9.49	1.06	92104
3	苋菜红	12.532	1.477	14.67	16.61	1.09	25.58	1.06	99991
4	胭脂红	15.532	1.522	30.887	17.11	1.19	11.7	1.13	656679
5	日落黄	16.443	1.361	26.285	15.31	1.17	25.65	1.12	683332
6	亮蓝	18.502	0.234	4.575	2.63	1.19	32.05	1.12	827210
7	赤藓红	21.202	1.199	21.259	13.49	1.15	n. a.	1.1	938122

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编:321000E-mail:lingyuyu@welchmat.com

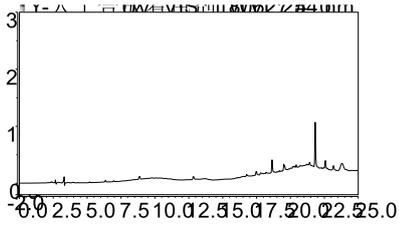


图 2 面包样品过 P-WAX 图谱

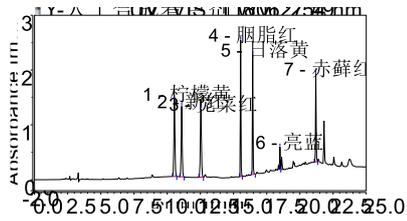


图 3 面包样品加标 5mg/kg 过 P-WAX 图谱

表 2.过 P-WAX 小柱加标回收表

P-WAX	名称	加标水平 mg/kg	平均回收率%	RSD% (n=4)
1	柠檬黄	5	80%	3.07%
2	新红	5	85%	2.37%
3	苋菜红	5	85%	3.58%
4	胭脂红	5	82%	2.60%
5	日落黄	5	83%	2.38%
6	亮蓝	5	86%	4.78%
7	赤藓红	5	85%	6.81%

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编: 321000E-mail:lingyuyu@welchmat.com

8、相关产品信息

货号	名称	规格
00525-20043	Welchrom®P-WAX	150mg/6ml, 30pk
00000-30016	50mL 螺口尖底离心管	50 支/包
00824-31001	Welch 固相萃取装置	12 位方缸
00821-32291	盖子+垫子	预切口红色色特氟龙/白色硅胶隔垫, 9mm 蓝色短 螺纹开口盖 中心孔 6mm 100pk
00821-40927	样品瓶	2ml 透明短螺纹广口样品瓶 (带手写处), 11.6*32mm, 一级水解玻璃 100pk
00201-31043	Ultimate® XB-C18	4.6×250mm, 5μm
00826-T446P25 0	柠檬黄	CAS:1934-21-0, 250mg
C15506000	新红	CAS:220658-76-4, 0.1g
00826-A386P25 0	苋菜红	CAS:915-67-3, 250mg
00826-P732P10 0	胭脂红	CAS:2611-82-7, 100mg
00826-S184P10 0	日落黄	CAS:2783-94-0, 100mg
00826-A632P2 50	亮蓝标准品	CAS No.:3844-45-9, 250mg
00826-E202P25 0	赤藓红标准品	CAS No.:16423-68-0, 250mg
00803-01102	圆片微孔滤膜	进口 MCE 50mm*0.45μm 200pk

声明:除非另有说明,此报告结果仅对该测试样品负责。本报告未经公司许可,不可复制。

Add:浙江省金华市婺城区双林南街 168 号 Tel:400-810-6969

邮编: 321000E-mail:lingyuyu@welchmat.com