

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（本实验用饮料为基质）

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) 甲醇-甲酸 (6+4) 溶液: 量取甲醇 60 mL,甲酸 40 mL,混匀。

5) 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。

6) 氨水溶液: 量取 2mL 氨水,加水至 100mL

7) 无水乙醇-氨水-水 (7+2+1) 溶液: 量取无水乙醇 70mL,氨水溶液 (6) 水 10mL,混匀。

8) pH=6 的水: 水加柠檬酸溶液调节至 pH 到 6。

9) pH=4 的水: 水加柠檬酸溶液调节至 pH 到 4。

3、提取步骤

1) 可乐: 加热超声半个小时,驱除二氧化碳后称取 20g 样品;加入 3mL 甲酸,混匀后,待净化。

2) 果粒橙: 称取 20g 过滤后的样品;加入 3mL 甲酸,混匀后,带净化。

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

4、SPE 净化步骤

SPE 柱：月旭 Welchrom®PA（聚酰胺小柱）规格：1000 mg/6mL。

活化：5 mL 甲醇、5 mL 水，5 mL pH=6 的水，弃去；

上样：待净化液全部上样，控制流速，不宜过快，弃去；

淋洗：10 mL pH = 4 的水，20 mL 甲醇-甲酸（6+4）洗去天然色素，10 mL pH=7 的水洗至中性，
弃去

洗脱：15mL 无水乙醇-氨水-水（7+2+1）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：20g 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 0.5mg/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
- 3)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（PA 小柱可适当抽真空）
- 4)因果粒橙含有果肉，称取前需要进行过滤
- 5)可乐含糖量较高，蒸发时间可能会加长
- 6)最后上机前，选用水系滤膜进行过滤

6、色谱条件

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

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℃

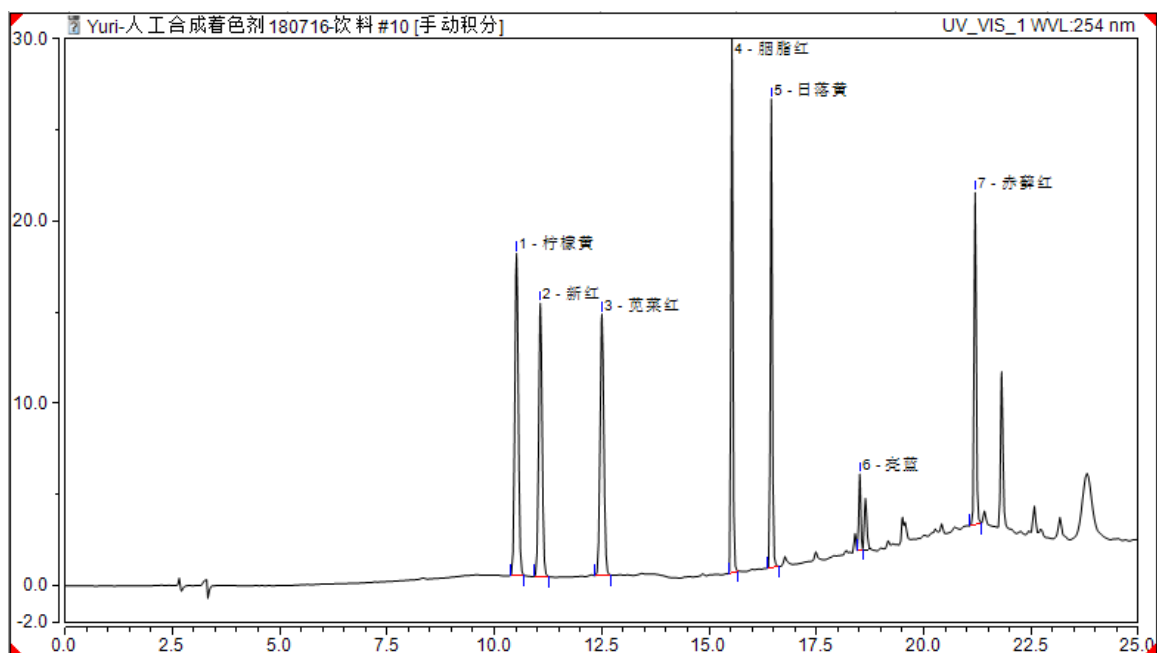
进样量: 20μL

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



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 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	10.515	1.674	17.678	19.58	1.11	3.77	1.06	79206
2	新红	11.070	1.385	14.988	16.20	1.12	9.47	1.07	92514
3	苋菜红	12.505	1.440	14.342	16.84	1.09	25.76	1.05	99675
4	胭脂红	15.532	1.482	29.811	17.34	1.19	11.72	1.13	647561
5	日落黄	16.448	1.322	25.718	15.46	1.21	25.72	1.14	683245
6	亮蓝	18.508	0.213	4.191	2.49	1.17	32.00	1.11	834408
7	赤藓红	21.197	1.033	18.221	12.09	1.14	n.a.	1.09	940061

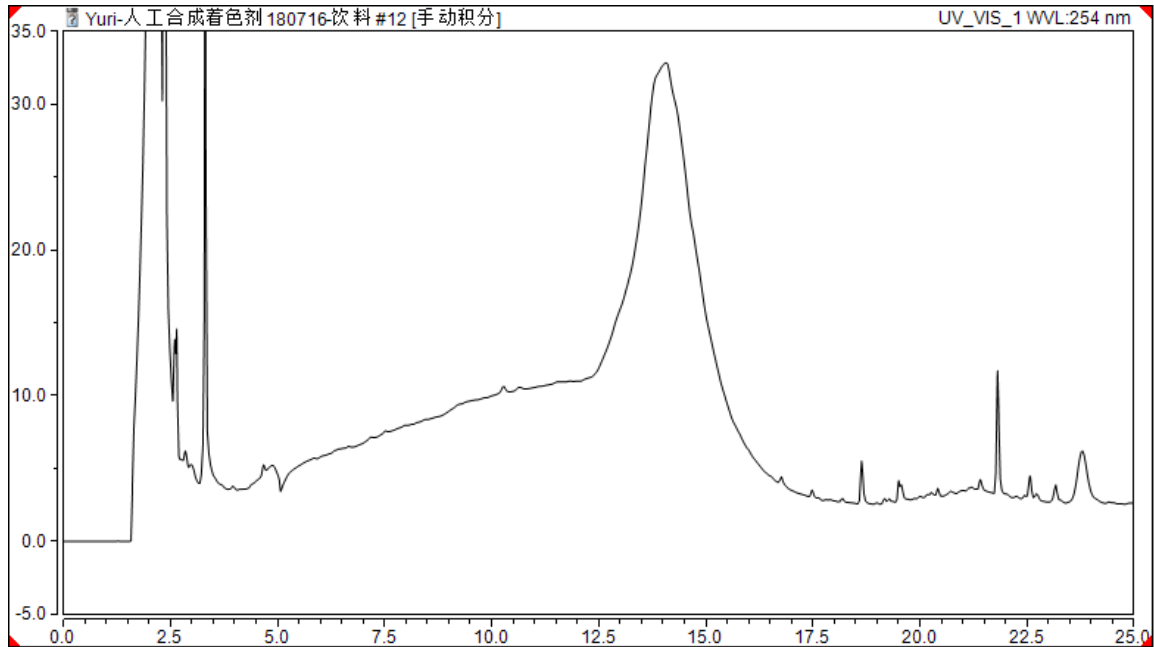


图 2 可乐样品过 PA 图谱

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

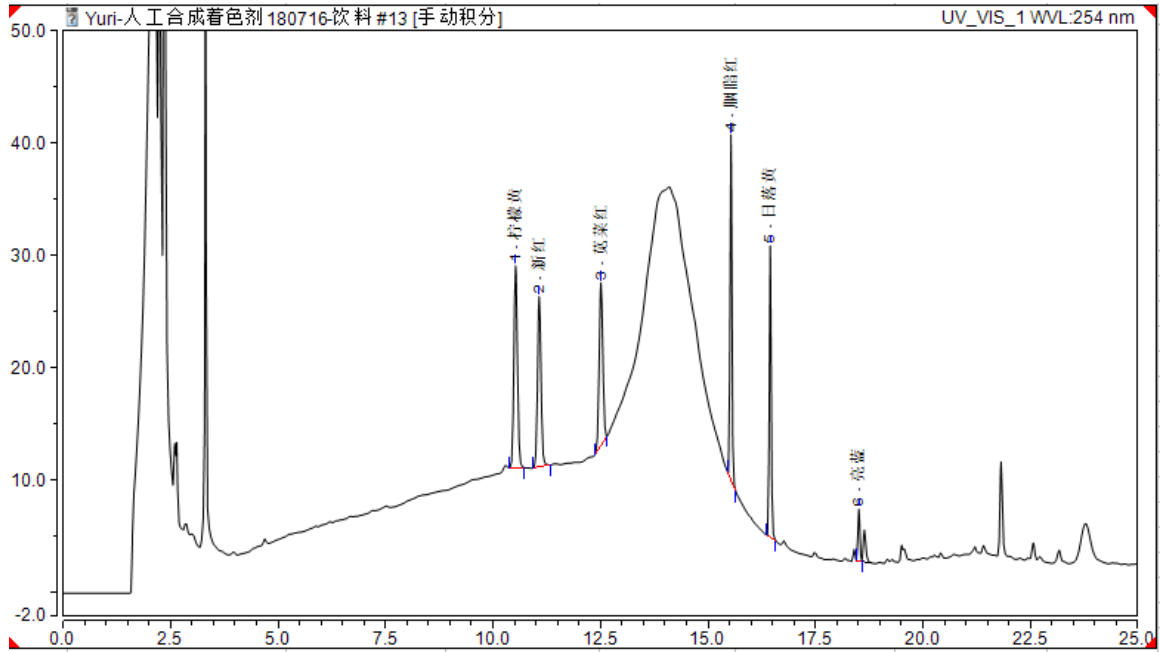


图 3 可乐样品加标 0.5mg/kg 过 PA 图谱

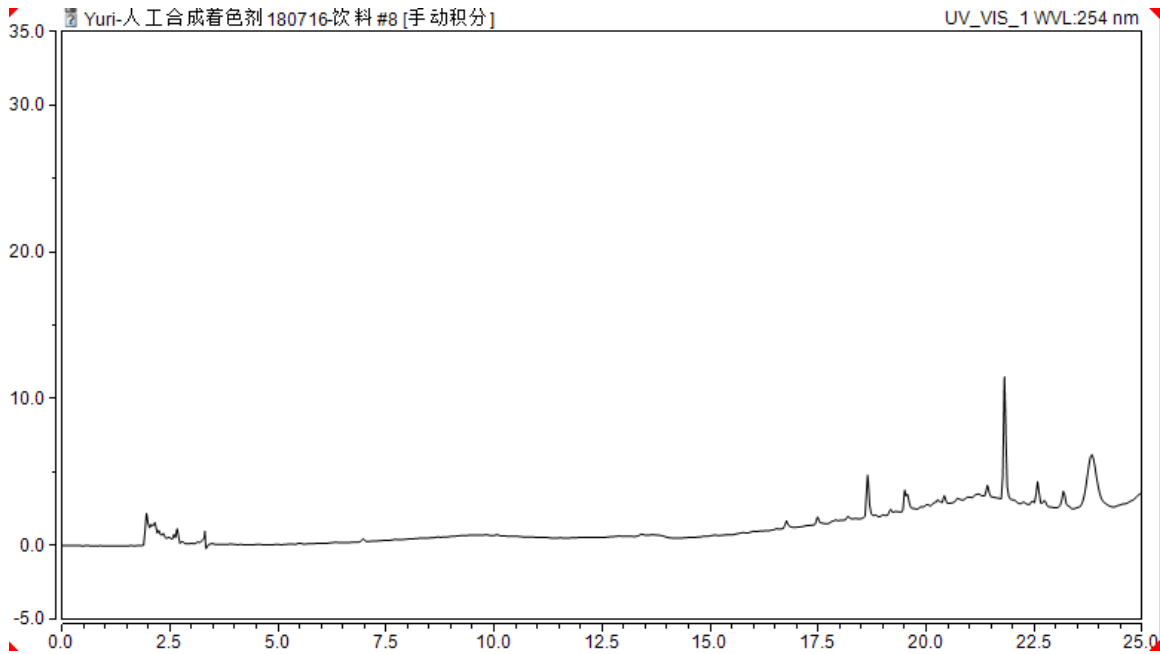


图 4 果粒橙样品过 PA 图谱

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

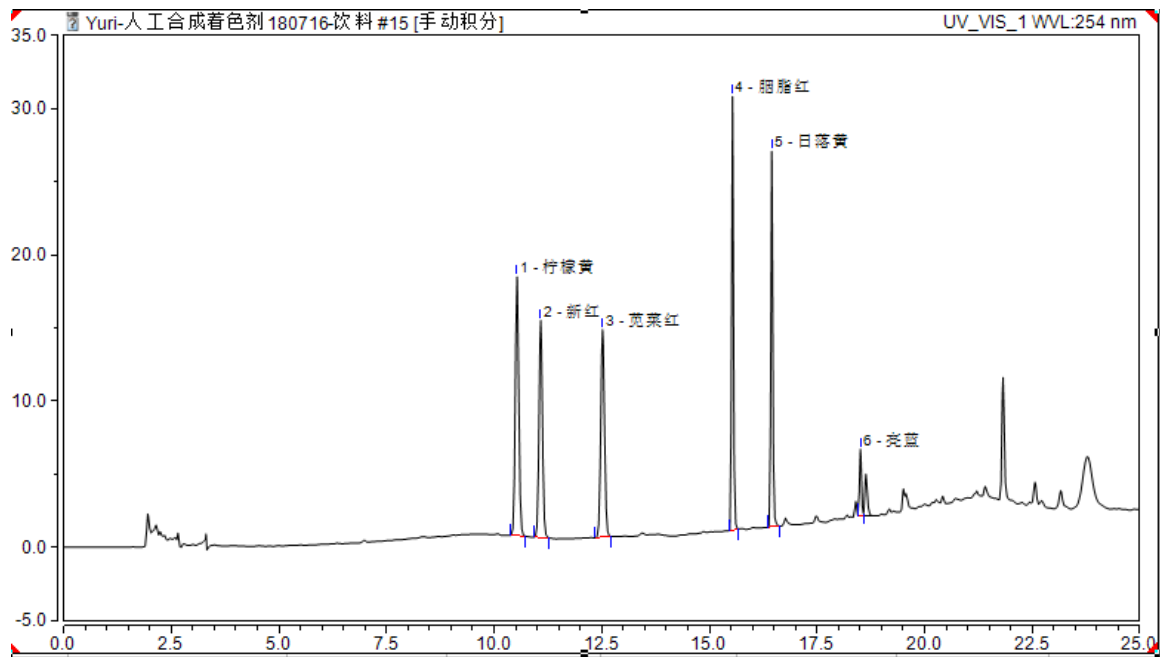


图 5 果粒橙样品加标 0.5mg/kg 过 PA 图谱

表 2. 可乐过 PA 小柱加标回收表

PA	名称	加标水平 mg/kg	平均回收率%	RSD% (n=4)
1	柠檬黄	0.5	101%	0.02%
2	新红	0.5	101%	0.68%
3	苋菜红	0.5	98%	0.03%
4	胭脂红	0.5	100%	0.18%
5	日落黄	0.5	101%	0.34%
6	亮蓝	0.5	112%	0.13%

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

表 3.果粒橙过 PA 小柱加标回收表

PA	名称	加标水平 mg/kg	平均回收率%	RSD% (n=4)
1	柠檬黄	0.5	94%	7.33%
2	新红	0.5	94%	8.22%
3	苋菜红	0.5	93%	8.66%
4	胭脂红	0.5	93%	10.00%
5	日落黄	0.5	95%	7.20%
6	亮蓝	0.5	103%	9.48%

8、相关产品信息

货号	名称	规格
00541-20007	Welchrom® PA	1000mg/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	日落黄	CAS:2783-94-0, 100mg

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

0		
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