



中华人民共和国国家标准

GB 5009.288—2023

食品安全国家标准

食品中胭脂虫红的测定

2023-09-06 发布

2024-03-06 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 C₁₈ 液相色谱柱分离,紫外-可见光检测器检测,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(CH₃OH):色谱纯。

3.1.2 乙腈(CH₃CN):色谱纯。

3.1.3 盐酸(HCl)。

3.1.4 磷酸(H₃PO₄)。

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

胭脂红酸标准品(C₂₂H₂₀O₁₃, 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, 摆匀, 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, 摆匀, 配制成质量浓度分别为 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-可见光检测器。

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, 摆匀, 置于沸水浴中加热 30 min, 取出冷却至室温后, 振荡 5 min, 超声 5 min, 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, 摆匀, 置于沸水浴中加热 30 min, 取出冷却至室温后, 振荡 5 min, 超声 5 min, 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 1 次, 合并 2 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, 摆匀, 置于沸水浴中加热 30 min, 取出冷却至室温后, 振荡 5 min, 超声 5 min, 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 1 次, 合并 2 次提取液, 用水定容至刻度, 经适量脱脂棉过滤, 待净化。

匀,置于沸水浴中加热 30 min,取出冷却至室温后,振荡 5 min,超声 5 min,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 2 次,合并 3 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:C₁₈(4.6 mm × 150 mm,5.0 μm)或性能相当者;

5.5.2 流动相:A 为磷酸水溶液(0.1%),B 为磷酸乙腈溶液(0.1%),洗脱梯度程序见表 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 中图 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)含量按公式(1)计算。

式中：

X ——试样中胭脂虫红(以胭脂红酸计)的含量,单位为克每千克(g/kg)

c ——待测试样中胭脂虫红(以胭脂红酸计)的浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——试样提取液的定容体积,单位为毫升(mL);

2.00 ——分取提取液净化后的定容体积,单位为毫升(mL);

1 000 ——换算系数；

m ——试样的取样量,单位为克(g);

25.0 ——分取提取液的体积,单位为毫升(mL);

计算结果保留 3 位有效数字。

7 精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15 %。

8 其他

本方法的检出限为：当称样量为 2 g 时，液体及半固体试样（含乳半固体除外）中胭脂虫红（以胭脂红酸计）检出限为 0.006 g/kg，固体及含乳半固体试样（调制乳粉除外）中胭脂虫红（以胭脂红酸计）检出限为 0.01 g/kg，调制乳粉中胭脂虫红（以胭脂红酸计）检出限为 0.03 g/kg。

本方法的定量限为：当称样量为 2 g 时，液体及半固体试样(含乳半固体除外)中胭脂虫红(以胭脂红酸计)定量限为 0.02 g/kg，固体及含乳半固体试样(调制乳粉除外)中胭脂虫红(以胭脂红酸计)定量限为 0.04 g/kg，调制乳粉中胭脂虫红(以胭脂红酸计)定量限为 0.1 g/kg。

附录 A
标准物质液相色谱图

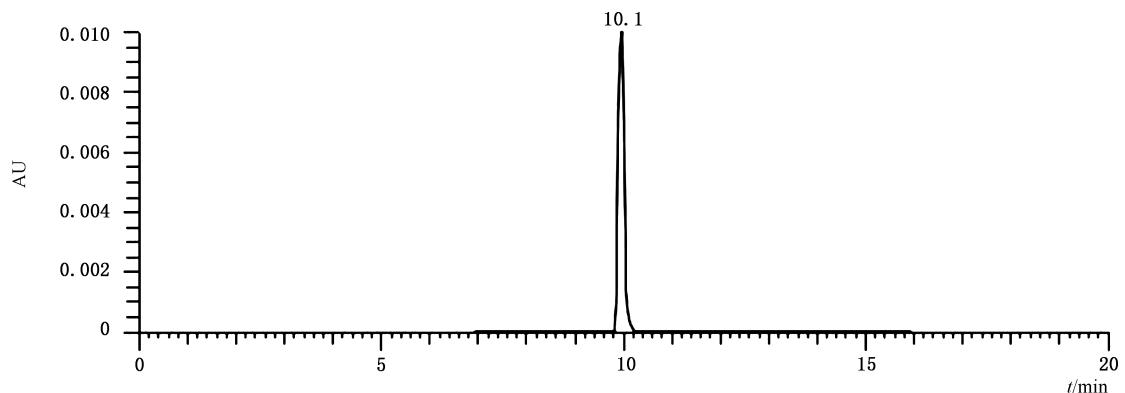


图 A.1 胭脂红酸(10.0 mg/L)在 494 nm 下的液相色谱图