

月旭科技 面粉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（本实验用面粉为基质）

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。
- 10) 提取液: 量取 100mL 乙醇, 50mL 乙腈, 混匀, 量取 140mL 乙醇-乙腈混合溶液, 再加入 60mL 水, 2mL 氨水。

3、提取步骤

- 1)称取 1.0 g 样品，加入 20 mL 提取液，一颗均质子，振荡 2 min，超声提取 10 min，6000 rpm 下离心 5 min，收集上清液；
- 2) 取下层残留物，加入 10 mL 提取液，振荡 2 min，超声提取 10 min，6000 rpm 下离心 5 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®PA 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: 1g 样中, 分别加入 0.1mL 100mg/L 混标, 最终定容到 5mL, 因此加标水平分别为 10mg/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)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

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

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)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

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

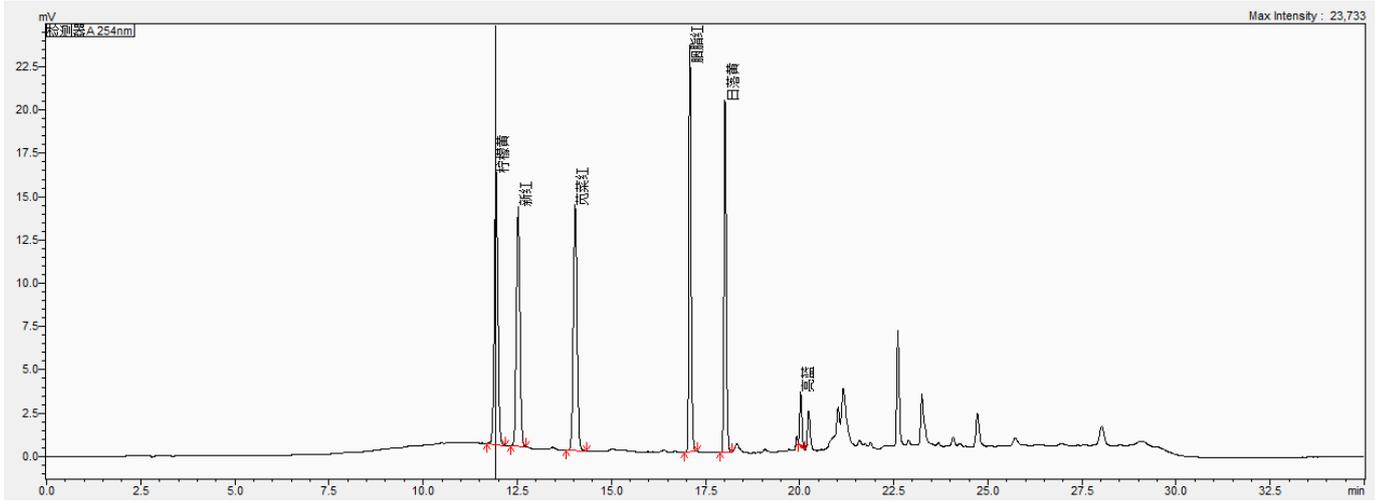


图 1.合成着色剂混标 2mg/L 图谱

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	塔板数
		min		Mv	%		(EP)	(EP)
1	柠檬黄	11.939	103616	15709	21.254	1.052	--	66571
2	新红	12.524	87974	13843	18.046	1.062	3.207	77205
3	苋菜红	14.040	98031	14176	20.109	1.062	8.108	84246
4	胭脂红	17.087	98961	23474	20.299	1.210	19.186	303074
5	日落黄	18.020	86644	20367	17.773	1.203	7.486	331541
6	亮蓝	20.030	12281	3067	2.519	1.213	16.085	412588

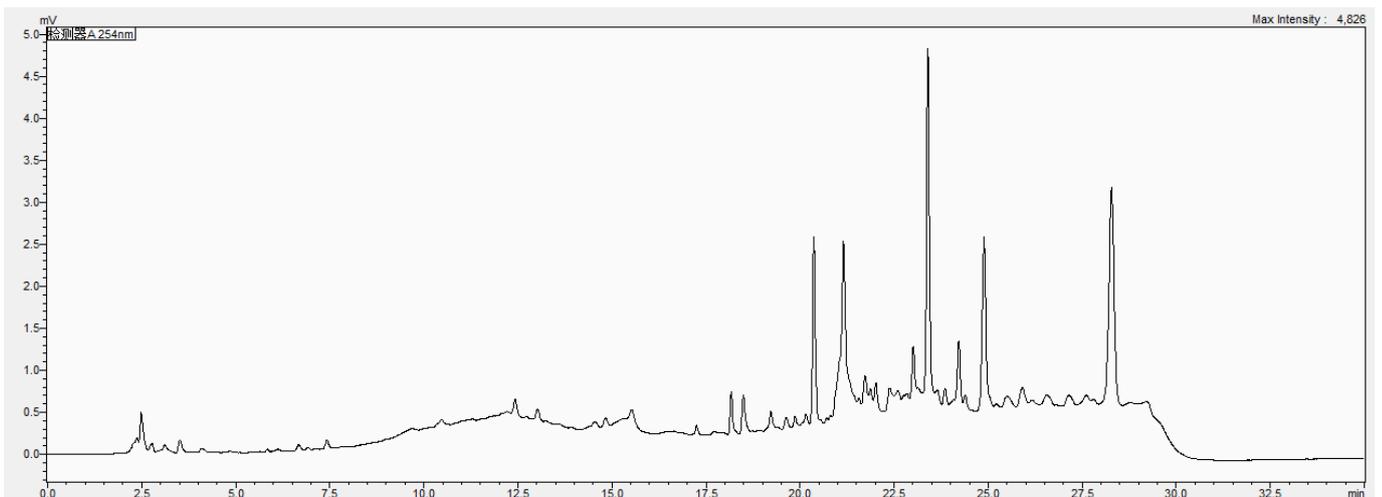


图 2 面粉样品图谱

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

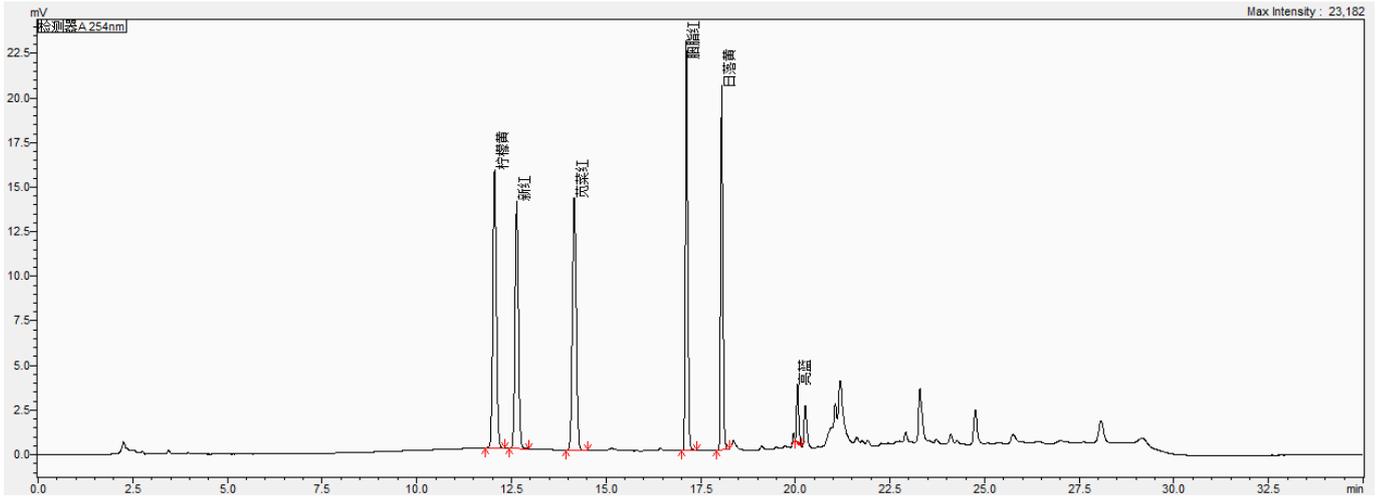


图 3 面粉样品加标 10mg/kg 图谱

表 2 加标回收表

PA	名称	加标水平 mg/kg	回收率%		平均回收率%	RSD% (n=2)
1	柠檬黄	10	99%	98%	99%	0.16%
2	新红	10	101%	101%	101%	0.20%
3	苋菜红	10	100%	99%	100%	0.14%
4	胭脂红	10	97%	98%	98%	0.90%
5	日落黄	10	100%	100%	100%	0.34%
6	亮蓝	10	97%	97%	97%	0.05%

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
00522-20009	SPE 小柱	Welchrom® PA, 1000mg/6ml
00000-30016	离心管	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+垫片	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 带书写处 11.6*32mm 一级水解玻璃 100pk
00201-31043	液相色谱柱	Ultimate® XB-C18, 4.6×250mm,5µm
00826-T446P250	柠檬黄标准品	CAS No.:1934-21-0, 250mg
C15506000	新红标准品	CAS:220658-76-4
00826-A386P250	苋菜红标准品	CAS:915-67-3, 250mg
00826-P732P100	胭脂红标准品	CAS:2611-82-7, 100mg
00826-S184P100	日落黄标准品	CAS:2783-94-0, 100mg
00826-A632P250	亮蓝标准品	CAS:3844-45-9, 250mg
00826-E202P250	赤藓红标准品	CAS:16423-68-0, 250mg
00802-04202	针头式过滤器	进口 PES, 13mm*0.45µm, 100pk

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