

BJS

食品补充检验方法

BJS 202107

食品中酸性大红 GR 的测定

2021-07-28 发布

国家市场监督管理总局 发布

食品中酸性大红 GR 的测定

1 范围

本方法规定了食品中酸性大红 GR 含量的高效液相色谱测定方法。

本方法适用于水产干制品、辣椒制品和饮料中酸性大红 GR 含量的测定。

2 原理

用乙醇氨水溶液提取样品中的酸性大红 GR,利用聚酰胺吸附法进行净化,用反相液相色谱仪进行分析。根据保留时间定性,以峰面积外标法定量。

3 试剂和材料

注: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 无水乙醇(C_2H_5OH)。

3.1.2 石油醚:沸程 $30\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

3.1.3 乙酸铵(CH_3COONH_4):色谱纯。

3.1.4 氨水($NH_3\cdot H_2O$):含量(质量分数) $20\%\sim 25\%$ 。

3.1.5 甲醇(CH_3OH):色谱纯。

3.1.6 甲酸($HCOOH$)。

3.1.7 柠檬酸($C_6H_8O_7\cdot H_2O$)。

3.1.8 乙酸(CH_3COOH)。

3.2 试剂配制

3.2.1 10 mmol/L 乙酸铵溶液:称取 0.77 g 乙酸铵加水溶解至 1 L,经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤。

3.2.2 无水乙醇-氨水-水溶液(7:2:1,体积比):量取无水乙醇 70 mL,氨水 20 mL,水 10 mL,混匀。

3.2.3 甲醇-甲酸溶液(6:4,体积比):量取甲醇 60 mL,甲酸 40 mL,混匀。

3.2.4 200 g/L 柠檬酸溶液:称取 20 g 柠檬酸,加水至 100 mL,溶解混匀。

3.2.5 甲醇-氨水溶液(9:1,体积比):量取甲醇 90 mL,氨水 10 mL,混匀。

3.2.6 甲醇-水溶液(6:4,体积比):量取甲醇 60 mL,水 40 mL,混匀。

3.2.7 pH4 的水:水加柠檬酸溶液调 pH 到 4。

3.3 标准品

酸性大红 GR($C_{22}H_{14}N_4Na_2O_7S_2$,CAS 号:5413-75-2,相对分子质量 556.48),纯度 $\geq 98.0\%$,或采用经过国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 酸性大红 GR 标准储备液(1.0 mg/mL):准确称取按其纯度折算后为 100%的酸性大红 GR 标准

品 0.1 g(精确至 0.1 mg),置 100 mL 容量瓶中,用水溶解并定容,配成 1.0 mg/mL 的标准储备液。贮存于 4 °C 冰箱中,有效期 6 个月。

3.4.2 酸性大红 GR 标准工作液:吸取 1 mL 标准储备液于 10 mL 容量瓶中,用水稀释成质量浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准工作液。用甲醇-水溶液(3.2.6)将标准工作液配制成 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准系列工作溶液。临用时配制。

3.5 材料

3.5.1 聚酰胺吸附型固相萃取柱(500 mg/6 mL)。

3.5.2 聚酰胺粉(尼龙 6):粒径 74 μm ~149 μm (100 目~200 目)。

3.5.3 pH 试纸:测量范围 1~14。

3.5.4 微孔滤膜:0.22 μm ,聚四氟乙烯(PTFE)型。

4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱仪:配有二极管阵列或紫外检测器。

4.2 分析天平:感量分别为 0.001 g 和 0.000 1 g。

4.3 离心机:转速 \geq 8 000 r/min。

4.4 氮吹仪。

4.5 固相萃取装置。

4.6 漏斗:G3 垂融漏斗。

5 分析步骤

5.1 试样制备和保存

取 500 g 试样或所有试样(试样低于 500 g 时)充分均质、混匀后粉碎,含二氧化碳的饮料类样品通过加热或超声去除二氧化碳。制备好的试样于 4 °C 冰箱保存。

5.2 试样前处理

5.2.1 辣椒制品和水产干制品:准确称取制备好的试样 2.0 g(精确至 0.001 g)于 50 mL 离心管中,向离心管中加入 10 mL 石油醚,涡漩振荡 2 min 后,8 000 r/min 离心 5 min,弃去石油醚。重复上述步骤 2 次,将试样中的石油醚吹干。

5.2.2 饮料:准确称取制备好的试样 2.0 g(精确至 0.001 g)于 50 mL 离心管中。

5.3 提取

于 5.2 试样中加入无水乙醇-氨水-水(3.2.2)溶液 10 mL,超声提取 5 min,8 000 r/min 离心 5 min,取上清液。重复上述步骤 2 次,合并提取液,于 60 °C 水浴下用氮气吹至 5 mL 以下。用柠檬酸溶液(3.2.4)调节 pH 至 3.0~4.0。

5.4 净化

5.4.1 聚酰胺固相萃取柱法

先分别用 5 mL 甲醇和 5 mL 水活化固相萃取小柱(3.5.1),将 5.3 所述提取液全部转移至小柱上,分别用 10 mL 甲醇-甲酸溶液(3.2.3)和 10 mL 水淋洗小柱,再用 10 mL 60 °C 水冲洗柱体,负压抽干

5 min。最后用 10 mL 甲醇-氨水(3.2.5)溶液进行洗脱。收集洗脱液,于 60 °C 水浴下用氮气吹近干,用甲醇-水溶液(3.2.6)定容至 5 mL。

注:上样和洗脱流速不大于 3 mL/min。

5.4.2 聚酰胺粉吸附法

将 1 g 聚酰胺粉加少许水调成糊状,倒入 5.3 所述提取液中,搅拌片刻,以 G3 垂融漏斗抽滤,用 60 °C pH 为 4 的水(3.2.7)洗涤 3~5 次,然后用甲醇-甲酸溶液(3.2.3)洗涤 3~5 次,再用水洗至中性,用无水乙醇-氨水-水溶液(3.2.2)解吸 3~5 次,直至色素完全解吸,收集解吸液,加乙酸调成中性,蒸发至近干,加甲醇-水溶液(3.2.6)溶解,定容至 5 mL。

5.5 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:C₁₈柱(内径 4.6 mm×柱长 250 mm, 粒径 5 μm),或性能相当者;
- b) 流动相:甲醇:乙酸铵溶液(10 mmol/L)=6:4,体积比;
- c) 流速:1.0 mL/min;
- d) 柱温:35 °C;
- e) 进样量:20 μL;
- f) 检测波长:512 nm。

5.6 测定

将处理好的试液和标准溶液,分别按仪器参考条件进行测定。根据保留时间定性,外标峰面积法定量。以标准工作液的浓度为横坐标,以色谱峰的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。根据标准曲线得到试液中组分的浓度,平行测定次数不少于两次。标准品液相色谱图参见附录 A。

6 结果计算

结果按式(1)计算:

$$X = \frac{\rho \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X ——试样中酸性大红 GR 的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- ρ ——由标准曲线得出的样液中酸性大红 GR 的质量浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);
- V ——试样溶液定容体积,单位为毫升(mL);
- m ——试样称取的质量,单位为克(g)。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留两位有效数字。

7 精密度

在重复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 15%。

8 其他

当称样量为 2.0 g、定容体积为 5 mL 时,本方法检出限为 0.5 mg/kg,定量限为 1.5 mg/kg。

附录 A

(资料性)

酸性大红 GR 标准溶液液相色谱图

酸性大红 GR 标准溶液色谱图见图 A.1。

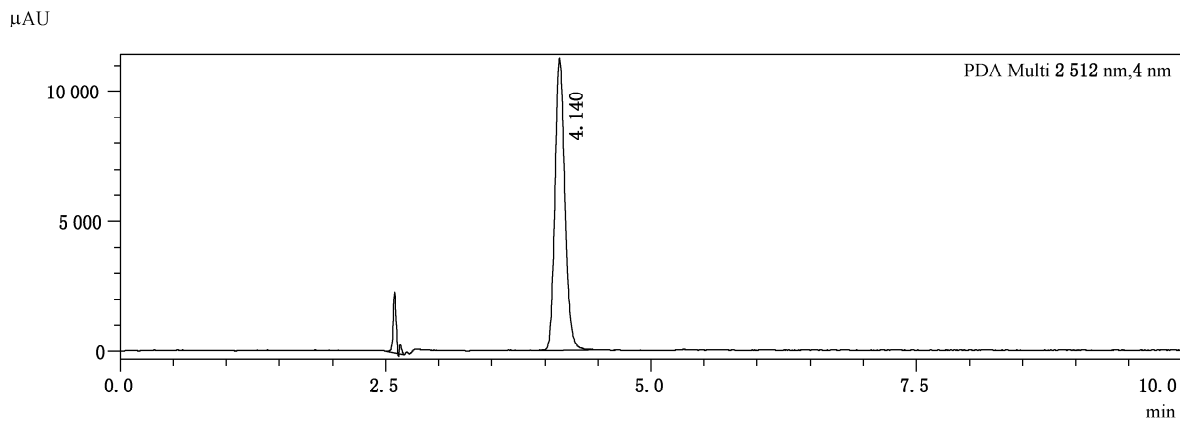


图 A.1 酸性大红 GR 标准溶液色谱图(保留时间 4.14 min)

本方法负责起草单位:江苏省食品药品监督检验研究院。

本方法验证单位:南京市食品药品监督检验院、江苏省疾病预防控制中心、徐州市质量技术监督综合检验检测中心、河北省食品检验研究院、山东省食品药品检验研究院。

本方法主要起草人:高惠敏、颜春荣、徐春祥、张征、孙小杰、孙晨、王波、曹梅荣、武传香。