

食品中 11 种合成着色剂的测定（GB5009.35-2023）

1、适用范围

本方法适用食品中 11 种合成着色剂的测定于食品中 11 种合成着色剂(柠檬黄、新红、苋菜红、靛蓝、胭脂红、日落黄、诱惑红、亮蓝、酸性红、喹啉黄和赤藓红)

参考标准：《GB5009.35-2023 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) 提取剂：量取无水乙醇 700mL，加入 4mL 氨水，用水稀释并定容至 1L，混匀。
- 2) 5%甲醇水溶液：移取甲醇 5mL，用水稀释并定容至 100mL，混匀。
- 3) 2%氨水甲醇溶液：移取 2mL 氨水置于 100mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度。
- 4) 乙酸铵溶液（20 mmol/L）：称取 1.54g 乙酸铵（精确至 0.001g），加水溶解并定容至 1000mL。
- 5) 乙酸铵缓冲溶液，pH=9.0：乙酸铵溶液（2-4）加氨水调 pH=9.0。
- 6) 2%甲酸水溶液：移取甲酸 2mL，用水稀释定容至 100mL。
- 7) 标准储备液（500mg/L）：各称取 11 种标准品 5mg，加水定容至 10mL，靛蓝现配现用，为标准储备液。
- 8) 标准工作液（10mg/L）：各吸取 10 种标准储备液（靛蓝除外）0.2mL，加水定容至 10mL 为标准工作液。



3、提取步骤

草莓酱、雪菜、葡萄干：准确称取 2g 样品，加提取剂 25mL，超声 20min，8000r/min 离心 5min，吸取上清液，残渣中加入 15mL 提取液，重复提取一遍，合并提取液，定容至 50mL，吸取 10mL 上清液 50℃氮吹至约 2mL，加入 10mL 甲醇水溶液，涡旋混匀 30s，待净化。

硬糖：准确称取 2g 样品，加入 5mL 水，涡旋混匀，等待 5min，使其溶胀，加提取剂 25mL，超声 20min，8000r/min 离心 5min，吸取上清液，残渣中加入 15mL 提取液，重复提取一遍，合并提取液，定容至 50mL，吸取 10mL 上清液 50℃氮吹至约 2mL，加入 10mL 5%甲醇水溶液，涡旋混匀 30s，待净化。

红酒：准确称取 2g 样品，用提取剂定容 50mL，吸取 10mL 上清液 50℃氮吹至约 2mL，加入 10mL 5%甲醇水溶液，涡旋混匀 30s，待净化。

4、净化步骤

SPE 柱：PWAX 规格：150mg/6mL

活化：6mL 甲醇，6mL 水，弃去；

上样：将待净化液加入柱中；

淋洗：用 6mL 2%甲酸水，6mL 甲醇弃去；抽干

洗脱：6mL 2%氨化甲醇洗脱，收集于 15mL 离心管中；

浓缩：将净化液在氮气吹干，准确吸取 1mL pH=9.0 乙酸铵缓冲溶液复溶，HPLC 检测

5、注意事项

- 1) 加标水平：0.3mL 10ppm 混标加到 2g 样品里 50mL 提取，取 10mL 浓缩，因此加标水平为 1.5 mg/kg，最终机度数为 0.6mg/L。



6、色谱条件

6.1 高效液相色谱条件

色谱柱：月旭 Xtimate® C18, 4.6*250mm , 5 μ m

流动相：乙酸铵溶液（2-5）-甲醇=详见梯度

流速：1.0mL/min

柱温：30℃

检测波长：415、520、610nm

进样量：10 μ L

梯度表：

时间 (min)	流速 (mL/min)	A 乙酸铵 (2-5) (%)	B 甲醇 (%)
0	1.0	90	10
12	1.0	60	40
19	1.0	50	50
22.5	1.0	45	55
24	1.0	5	95
33	1.0	5	95
34	1.0	90	10
42	1.0	90	10



7、色谱图或者加标回收率结果

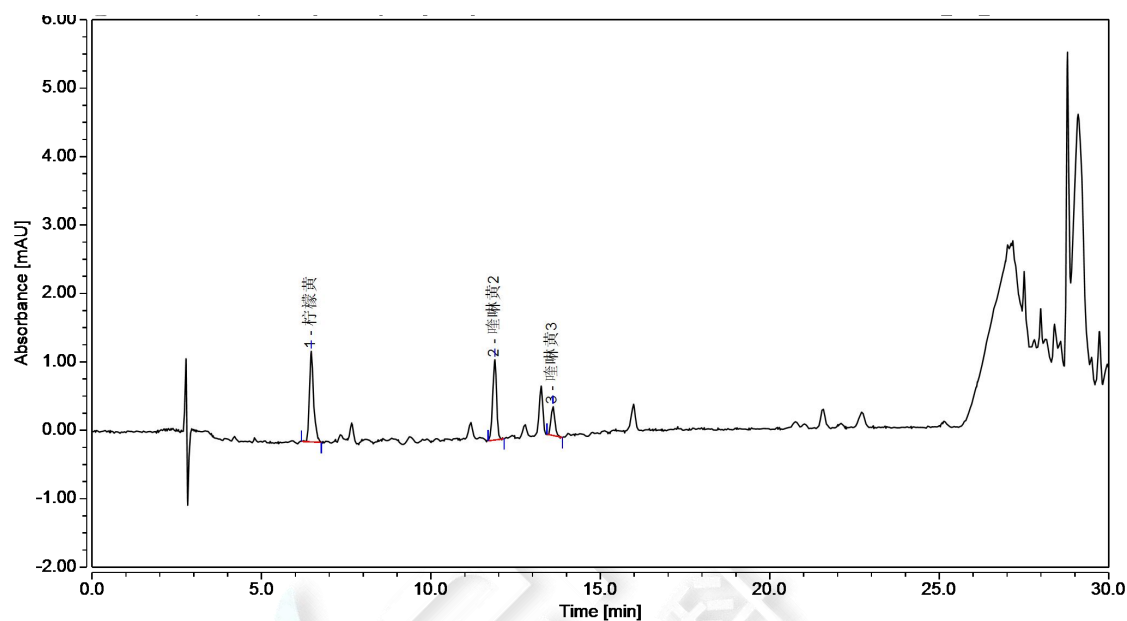


图1 合成着色剂标准品 0.6mg/L 415nm 图谱

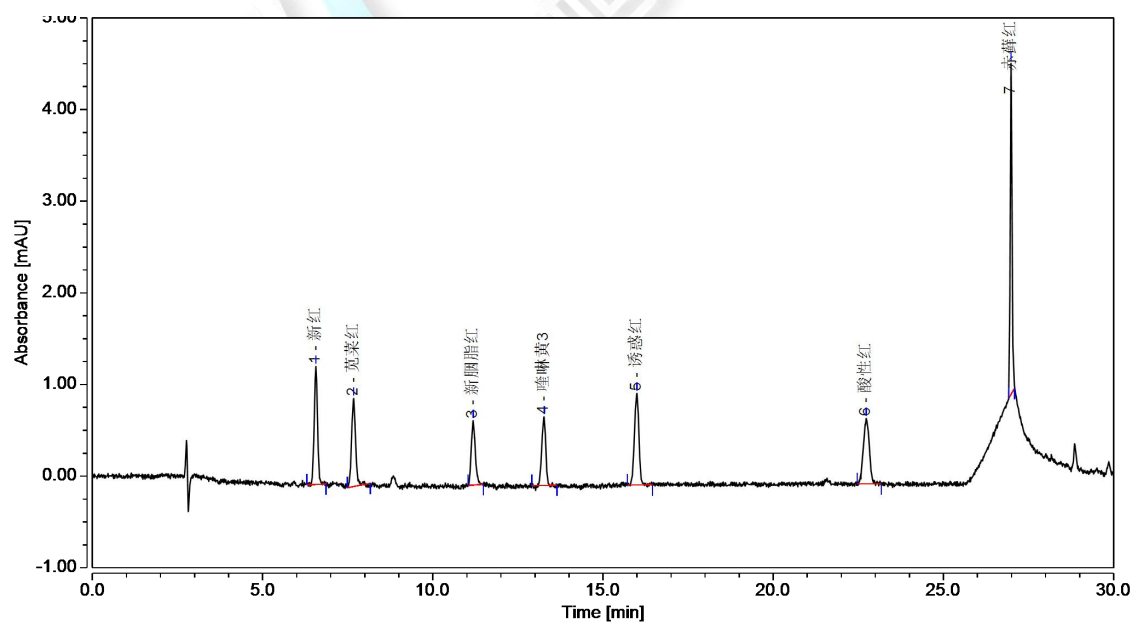


图2 合成着色剂标准品 0.6mg/L 520nm 图谱



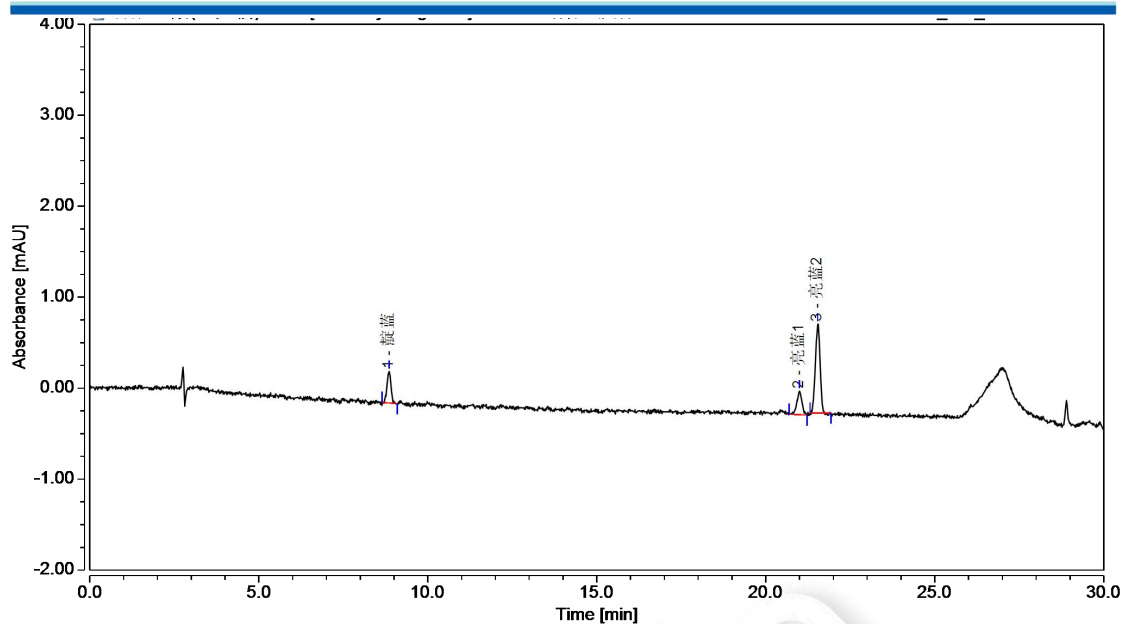


图3 合成着色剂标准品 0.6mg/L 610nm 图谱

峰名称	保留时间	峰面积	峰高	相对峰面积	拖尾因子	塔板数	检测波长
	min	mAU*min	mAU	%	EP	(USP)	nm
柠檬黄	6.436	0.1814	1.36	48.09	1.28	18183	415
喹啉黄 2	11.848	0.1427	1.12	37.83	0.95	54013	
喹啉黄 3	13.576	0.0531	0.42	14.08	1.05	77514	
新红	6.563	0.1449	1.29	14.76	0.99	22336	520
苋菜红	7.675	0.1295	0.96	13.2	0.96	21651	
新胭脂红	11.183	0.0961	0.7	9.79	1.19	45355	
喹啉黄 3	13.267	0.0973	0.75	9.91	0.87	61590	
诱惑红	15.997	0.1526	1	15.54	0.89	70845	
酸性红	22.73	0.1445	0.71	14.72	1	79918	
赤藓红	26.985	0.2168	3.61	22.09	1.3	1335146	
靛蓝	8.858	0.0475	0.35	19.06	0.9	24994	610
亮蓝 1	20.998	0.0457	0.26	18.32	0.94	104636	
亮蓝 2	21.536	0.1562	0.98	62.61	0.98	110494	



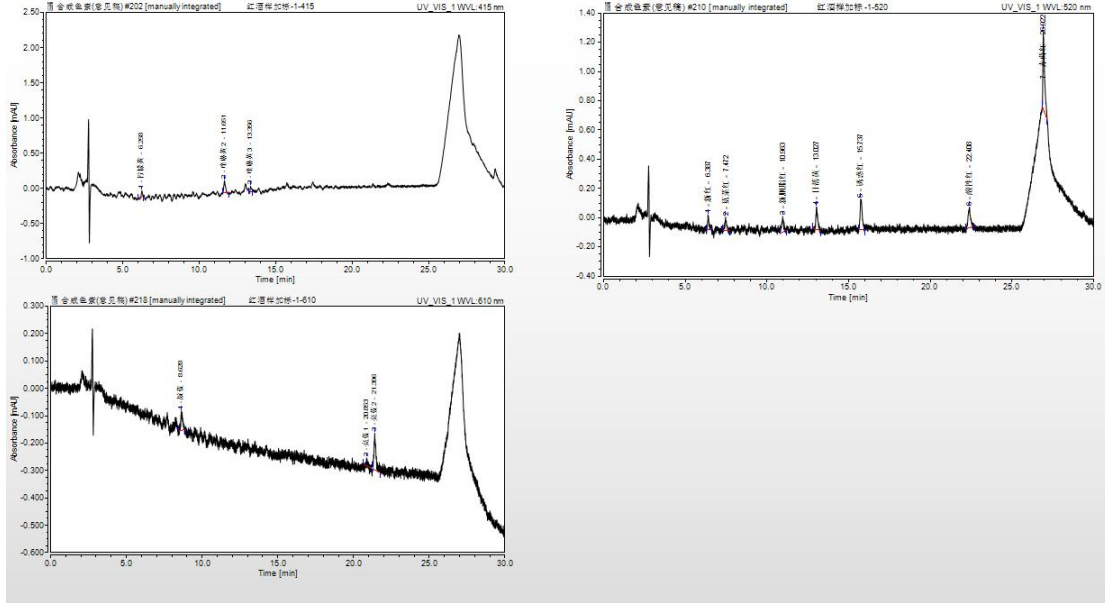


图 4 红酒样加标 图谱

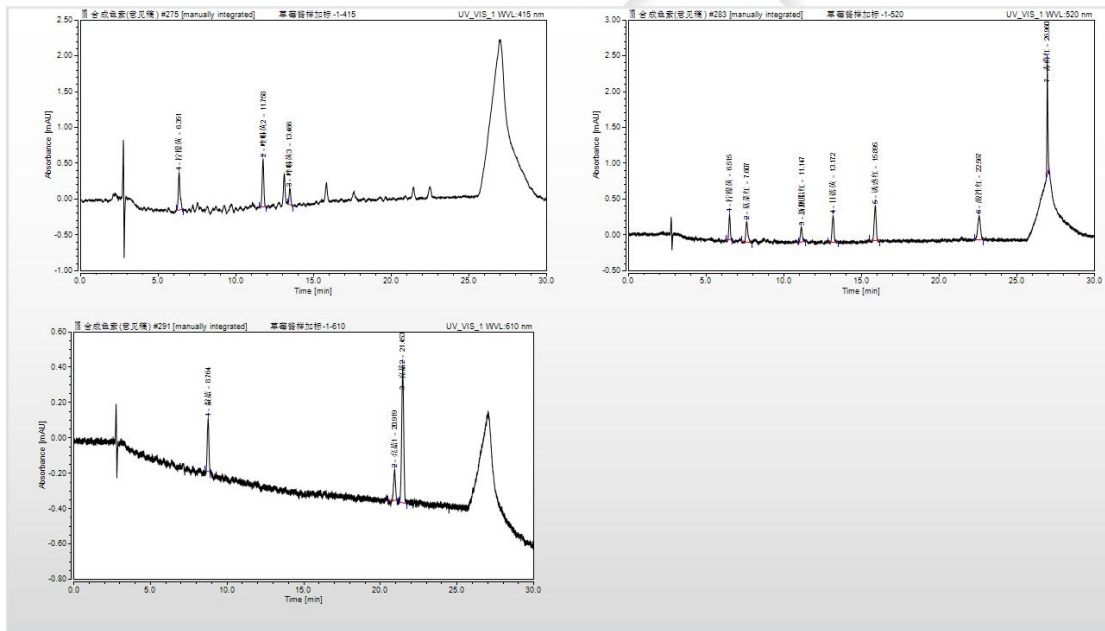


图 5 草莓酱样加标 图谱



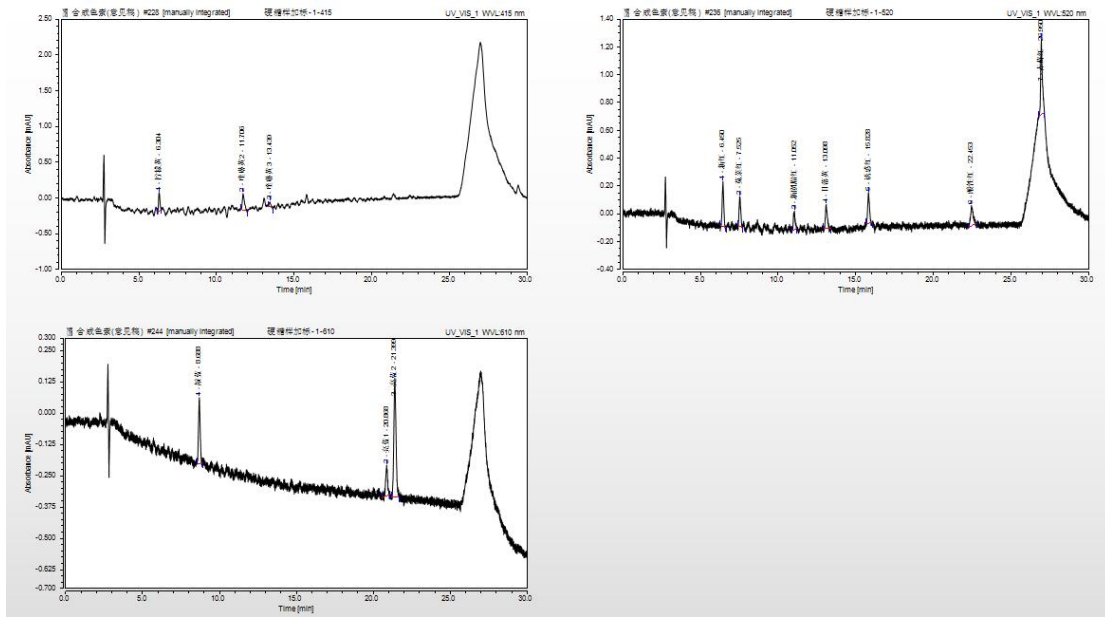


图 6 硬糖样加标 图谱

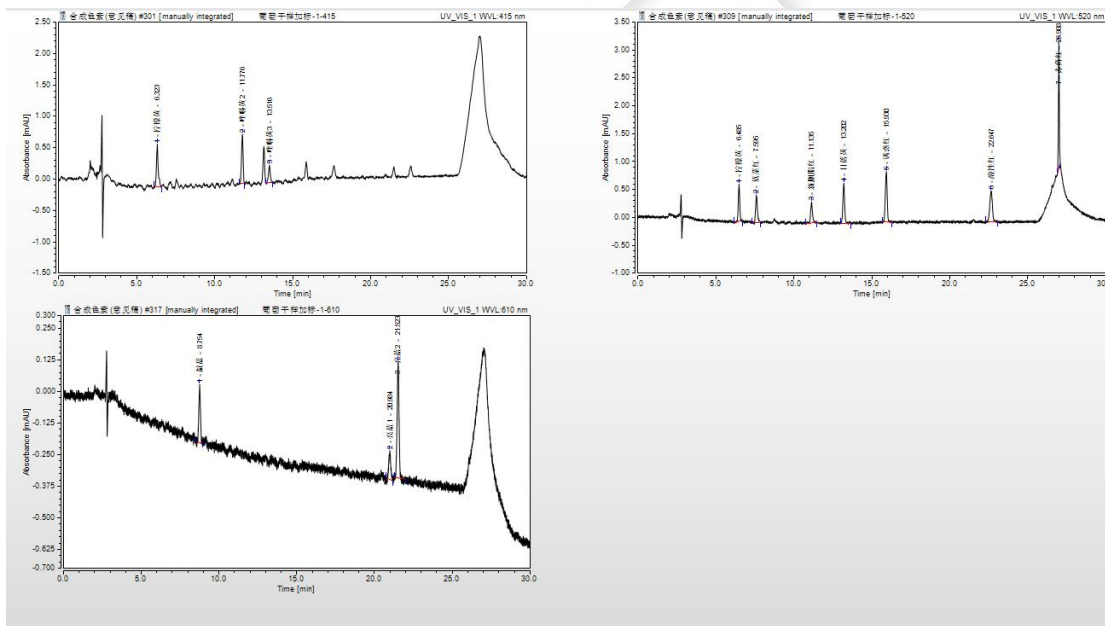


图 7 葡萄干样加标 图谱



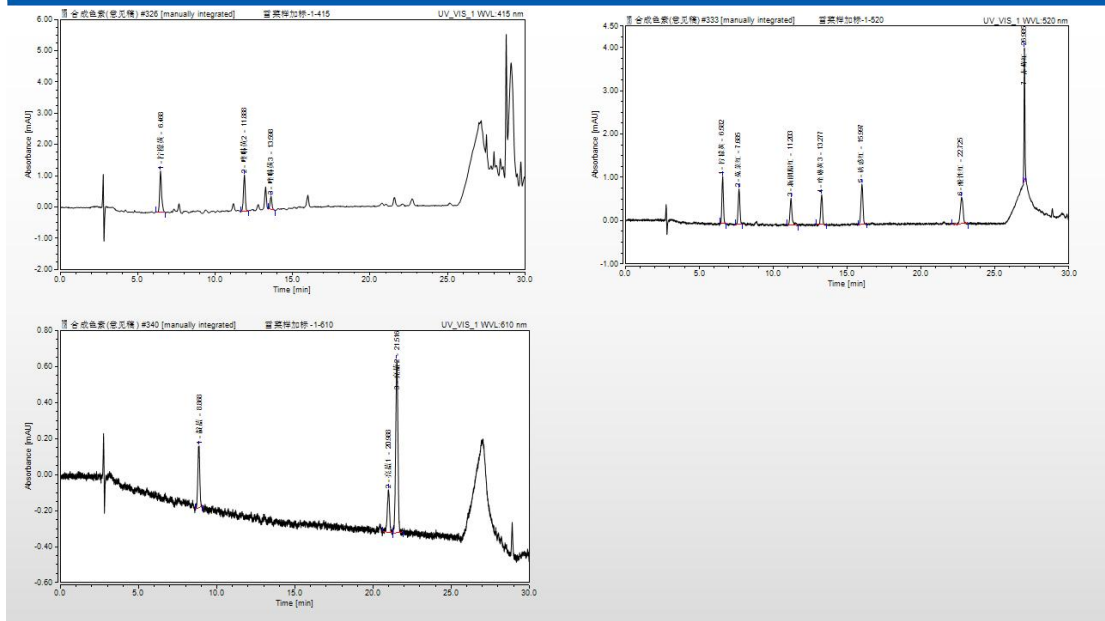


图 8 雪菜样加标 图谱

表 1. 加标回收率表

物质	加标水平	雪菜回收率	葡萄干回收率	硬糖回收率	红酒回收率	草莓酱回收率
柠檬黄	1.5 mg/kg	87%	92%	103%	75%	66%
喹啉黄 2		84%	106%	99%	103%	90%
喹啉黄 3		87%	106%	83%	87%	77%
新红		101%	94%	89%	75%	47%
苋菜红		99%	98%	120%	74%	80%
新胭脂红		114%	89%	118%	103%	76%
日落黄		108%	81%	98%	82%	85%
诱惑红		107%	97%	104%	97%	79%
酸性红		102%	100%	109%	90%	79%
赤藓红		98%	102%	105%	102%	85%



靛蓝	98%	104%	82%	94%	86%
亮蓝 1	106%	109%	100%	87%	86%
亮蓝 2	90%	93%	115%	107%	107%

8. 相关产品信息

货号	名称	规格
00577-20043	SPE 小柱	WeLchrom® PWAX, 150mg/6mL, 30pk
DP1618-1	离心管	50mL 尖底离心管, 配橙色实心盖, 未灭菌, 25个/包
DP1639-1	离心管	15mL 尖底离心管, 配橙色实心盖, 未灭菌, 25个/包
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
	柠檬黄	CAS 号: 1934-21-0
	新红	CAS 号: 220658-76-4
	苋菜红	CAS 号: 915-67-3
	靛蓝	CAS 号: 860-22-0
	胭脂红	CAS 号: 2611-82-7



	日落黄	CAS 号：2783-94-0
	诱惑红	CAS 号：25956-17-6
	亮蓝	CAS 号：3844-45-9
	赤藓红	CAS 号：16423-68-0
	酸性红	CAS 号：3567-69-9
	喹啉黄	CAS 号：8004-92-0

