

DBS22

吉 林 省 地 方 标 准

DBS22/017—2013

食品安全地方标准
柑橘类水果及其饮料中橘红 2 号的测定
高效液相色谱法

2013-10 - 08 发布

2013 - 10 - 08 实施

吉林省卫生厅 发布

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准起草单位：吉林省产品质量监督检验院。

本标准主要起草人：郎乐、华蕾、王岩、王庆峰、刘静秋、张庆波、李宁、史艳宇、刘斌、石金娥、李滢倩、刘桂华。

食品安全地方标准

柑橘类水果及其饮料中

橘红 2 号的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了柑橘类水果及其饮料中橘红2号染料含量的高效液相色谱测定方法。
本标准适用于柑橘类水果及其饮料中橘红 2 号染料的测定。
方法检出限为 0.1 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试样经丙酮-正己烷（1+3）混合溶剂提取并蒸发至近干，以甲酸-乙腈（0.5+99.5）溶液（经正己烷饱和）溶解，正己烷脱脂。在液相色谱 C_{18} 反相柱上进行分离，紫外检测器检测，以色谱峰的保留时间定性，外标法定量。

4 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规定的实验室一级水。

4.1 乙腈：色谱纯。

4.2 甲酸：色谱纯。

4.3 正己烷。

4.4 丙酮。

4.5 橘红 2 号标准品：化学式： $C_{18}H_{16}N_2O_3$ ；CAS：6358-53-8；纯度 $\geq 90\%$ 。

4.6 提取液：取 300 mL 正己烷（4.3），加入 100 mL 丙酮（4.4），混匀。

4.7 甲酸-乙腈正己烷饱和溶液：取 0.5 mL 甲酸（4.2）以乙腈定容至 100 mL，加入正己烷并振荡直至出现分层，吸取下层溶液备用。

4.8 橘红 2 号标准储备液（100 mg/L）：准确称取适量橘红 2 号标准品置于棕色容量瓶中，加入乙腈超声溶解并定容，配制成 100 mg/L 的标准储备液，置于 4℃冰箱避光保存，有效期为 6 个月。

4.9 橘红 2 号标准工作液：将橘红 2 号标准储备液用流动相逐级稀释为 0.25 mg/L、0.50 mg/L、1.00 mg/L、2.00 mg/L、5.00 mg/L 的标准工作溶液系列。置于 4℃冰箱避光保存，有效期为 1 个月。

4.10 微孔滤膜：有机相，0.45 μm 。

5 仪器和设备

- 5.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器或二极管阵列检测器。
- 5.2 分析天平：感量 0.1 mg 和 0.01 g。
- 5.3 组织捣碎机。
- 5.4 超声波清洗器，功率 ≥ 250 W。
- 5.5 旋涡混匀器。
- 5.6 旋转蒸发仪。
- 5.7 水平往复振荡器。
- 5.8 离心机：转速 ≥ 4000 r/min。

6 分析步骤

6.1 试样制备

- 6.1.1 橙、桔、柑类水果：取有代表性样品 500 g，去果柄，带皮切碎后，用组织捣碎机将样品加工成浆状。混匀，装入洁净的盛样容器内，密封并标明标记。
- 6.1.2 液体饮料：将饮料充分混合均匀待用。

6.2 提取

称取试样 5.00 g 置于 50 mL 锥形瓶中，加入提取液（4.6）20 mL（固体饮料需先加入少量水溶解），置于水平往复振荡器振荡提取 15 min，吸取上层正己烷层至 50 mL 浓缩瓶中。锥形瓶中再加入正己烷（4.3）10 mL，重复提取一次，合并提取液于浓缩瓶中，在旋转蒸发仪上浓缩至近干。

6.3 净化

以少量甲酸-乙腈正己烷饱和溶液（4.7）溶解残渣，转移到具塞离心管中并定容至 1 mL，超声 1 min，加入正己烷 0.5 mL，涡旋混合 1 min，离心分离并弃去正己烷层，下层清液经 0.45 μm 滤膜过滤后待测定。

6.4 仪器参考条件

- 6.4.1 色谱柱：Zorbax SB-C18, 3.5 μm , 4.6 mm \times 150 mm 或等效色谱柱；
- 6.4.2 流动相：乙腈+水（90+10，体积比）；
- 6.4.3 柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ ；
- 6.4.4 流速：1.0 mL/min；
- 6.4.5 检测波长：510 nm；
- 6.4.6 进样量：10 μL 。

6.5 测定

将橘红 2 号标准系列工作液分别在上述色谱条件下测定相应的峰面积，以标准工作液的浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。在相同的液相色谱条件下，将试样溶液注入液相色谱仪中，以保留时间定性，以试样峰面积与标准比较定量。

6.6 空白实验

除不加试样外，均按上述测定步骤进行。

7 结果计算

按标准曲线外标法计算试样中橘红2号的含量。

计算公式见式 (1)：

$$X = \frac{c \times V \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——试样中橘红2号的含量，单位为毫克每千克 (mg/kg)；

c ——由标准曲线计算出进样液中橘红2号的浓度，单位为微克每毫升 (μg/mL)；

V ——试样的最后定容体积，单位为毫升 (mL)；

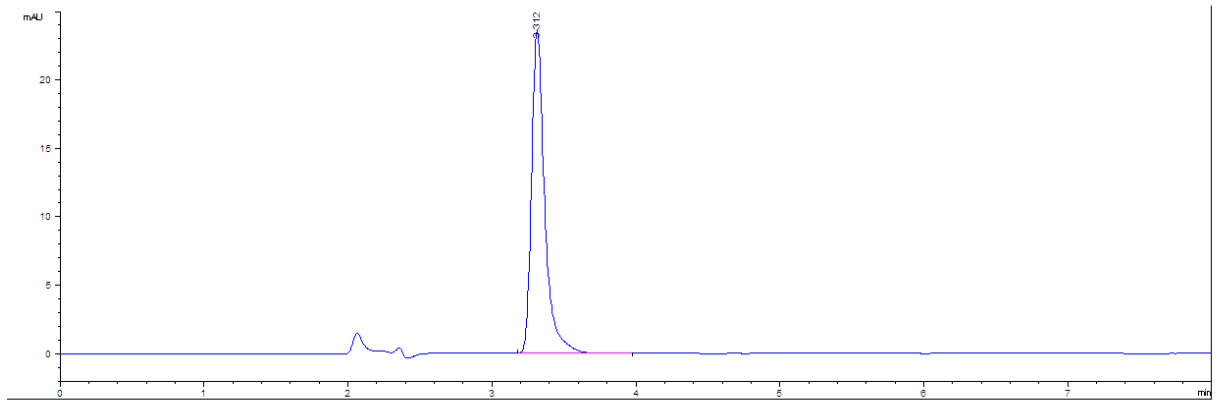
m ——试样质量，单位为克 (g)；

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，结果保留三位有效数字。

8 8 精密度

在重复性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10%。

附录 A
(资料性附录)
橘红 2 号标准色谱图



(10 mg/L)