

TB

广东省食品药品审评认证技术协会团体标准

T/GDFDTAEC 07—2024

食品中禁用水溶性合成色素的测定
液相色谱-串联质谱法

Determination of prohibited water-soluble synthetic colour in foods
by liquid chromatography-tandem mass spectrometric method

2024 - 03 - 29 发布

2024 - 03 - 29 实施

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原理	1
5 试剂和材料	1
6 仪器和设备	2
7 分析步骤	2
8 结果计算和表述	4
9 精密度	4
10 其他	4
附录 A （资料性） 禁用水溶性合成色素的母离子、子离子、去簇电压、碰撞电压和保留时间	5
附录 B （资料性） 禁用水溶性合成色素的中英文名称、CAS 号和化学分子式	6
附录 C （资料性） 禁用水溶性合成色素特征离子质量色谱图	7

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由广州市食品检验所、广州汇标检测技术中心提出。

本文件由广东省食品药品评审认证技术协会归口。

本文件起草单位：广州市食品检验所、广州汇标检测技术中心、华测检测认证集团股份有限公司、通标标准技术服务有限公司。

本文件主要起草人：毛新武、周庆琼、陈晓强、梁友、温恒、戚平、林子豪、梁淑珍、邱险辉、潘敏尧，秦坤良、叶丹、许汇成、徐政慧、张竞雯。

食品中禁用水溶性合成色素的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了食品中32种禁用水溶性合成色素（见附录A）的液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于饮料、葡萄酒、糖果、调味酱、豆制品、熟肉等食品中32种禁用水溶性合成色素的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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

GB/T 33087 仪器分析用高纯水规格及试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样经甲醇溶解定容或5%氨水-甲醇溶液提取，提取液经氮吹置换溶剂后，经C₁₈萃取小管净化，液相色谱-串联质谱仪测定，外标法定量。

5 试剂和材料

除另有说明，本实验使用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682中规定的一级水或GB/T 33087中规定的高纯水。

5.1 试剂

5.1.1 甲醇（CH₃OH）：色谱纯。

5.1.2 乙酸铵（CH₃COONH₄）：色谱纯。

5.1.3 氨水（NH₃·H₂O）：含量20%~25%

5.1.4 5%氨水甲醇溶液：移取5 mL氨水于100 mL容量瓶中，用甲醇定容至刻度。

5.1.5 10%甲醇水溶液：移取10 mL甲醇于100 mL容量瓶中，用水定容至刻度。

5.2 标准品

32种禁用水溶性合成色素标准品：参见附录B，纯度≥95%。

5.3 标准溶液配制

5.3.1 标准储备溶液（1000 mg/L）：分别准确称取经折算相当于50 mg（精确到0.1 mg）的色素标准品，置50 mL容量瓶中，用甲醇定容到刻度。在-18℃下避光保存，保存期6个月。

5.3.2 混合标准储备液A组（10 mg/L）：根据附录A化合物的浓度分组，准确移取1 mL的A组色素单标储备溶液于100 mL容量瓶中，用甲醇定容到刻度。在-18℃下保存，保存期3个月。

5.3.3 混合标准储备液B组（100 mg/L）：根据附录A化合物的浓度分组，准确移取1 mL的B组色

素单标储备溶液于 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容到刻度。在-18℃下避光保存，保存期 6 个月。

5.3.4 混合标准中间液 A 组（1 mg/L）：准确移取 1 mL 混合标准储备液 A 组于 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容到刻度。临用现配。

5.3.5 混合标准中间液 B 组（10 mg/L）：准确移取 1 mL 混合标准储备液 B 组于 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容到刻度。临用现配。

5.3.6 混合标准工作溶液：根据需要，用 10% 甲醇水溶液将混合标准中间液稀释成所需的标准工作溶液。

5.4 材料

5.4.1 十八烷基硅烷键合硅胶（C₁₈ 材料）：粒径 40 μm~60 μm。

5.4.2 亲水聚四氟乙烯微孔滤膜：0.22 μm。

6 仪器和设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪（LC-MS/MS）：配有电喷雾电离源（ESI）。

6.2 分析天平：感量为 0.1 mg、0.01 g。

6.3 离心机：转速不低于 8000 r/min。

6.4 超声波清洗器。

6.5 氮吹仪。

7 分析步骤

7.1 试样制备

饮料、葡萄酒、调味酱试样应混合均匀，含气饮料及葡萄酒试样应先加热或超声去除二氧化碳后混合均匀，糖果、豆制品、熟肉试样经食品粉碎机搅碎混匀，制备好的试样密封冷藏避光保存，备用。

7.2 试样提取

7.2.1 饮料、葡萄酒试样

称取试样 1 g（准确至 0.01 g）于 10 mL 比色管，用甲醇定容至刻度。准确移取 2 mL 至含有 50 mg C₁₈ 材料的净化管中，涡旋 1 min，在 8000 r/min 下离心 5 min。取 1 mL 上清液用水定容至 10 mL，过 0.22 μm PTFE 滤膜，待测。

7.2.2 糖果试样

糖果：称取试样 2 g（准确至 0.01 g）于小烧杯中，加入 5 mL 甲醇，微热溶解后，溶液转移至 10 mL 比色管，用甲醇多次洗涤烧杯，洗液合并至比色管，然后定容至刻度。准确移取 2 mL 至含有 50 mg C₁₈ 材料的净化管中，涡旋 1 min，在 8000 r/min 下离心 5 min。取 1 mL 上清液用水定容至 10 mL，过 0.22 μm PTFE 滤膜，待测。

其他：

7.2.3 调味酱、豆制品、熟肉试样

称取试样 2 g（准确至 0.01 g）试样于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 5% 氨水甲醇溶液，超声 5 min，在 8000 r/min 下离心 5 min，重复提取一遍，合并上清液。准确移取 2 mL 上清液于氮吹仪上氮吹至干，用 2 mL 甲醇复溶，转移至含有 50 mg C₁₈ 材料的净化管中，涡旋 1 min，在 8000 r/min 下离心 5 min。取 1 mL 上清液用水定容至 10 mL，过 0.22 μm PTFE 滤膜，待测。

每个样品做 2 个平行测试，同时做空白测试。

7.3 仪器参考条件

7.3.1 液相色谱参考条件

a) 色谱柱：C₁₈ 柱，100 mm×2.1 mm，1.8 μm，或同等性能的色谱柱；

- b) 流动相：A 为 5 mmol/L 乙酸铵水溶液，B 为甲醇；梯度洗脱条件见表 1；
 c) 柱温：40℃；
 d) 进样量：2 μL；
 e) 流速：0.4 mL/min。

表 1 液相色谱梯度洗脱条件

时间, min	流动相A, %	流动相B, %
0.00	98	2
1.00	98	2
15.00	5	95
18.00	5	95
21.00	98	2

7.3.2 质谱参考条件

- a) 离子源类型：电喷雾电离源（ESI）；
 b) 扫描方式：负离子电离模式；
 c) 检测方式：多反应监测 MRM；
 d) 毛细管电压：-2.5 kV；
 e) 离子源温度：150 °C；
 f) 脱溶剂气温度：500 °C；
 g) 脱溶剂气流速：1000 L/h；
 h) 锥孔气流速：150 L/h；
 i) 定性离子对、定量离子对、去簇电压和碰撞电压参见附录 A。

7.4 试样溶液的测定

7.4.1 定性分析

在同样测试条件下，试样溶液中禁用水溶性合成色素的保留时间与标准溶液相应峰的保留时间相对偏差在±25%以内，且检测到的相对离子丰度，应当与浓度相当的标准溶液相对离子丰度一致。其允许偏差应符合表2的要求。

表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

单位为百分号

相对离子丰度	允许偏差
>50	±20
20~50	±25
10~20	±30
≤10	±50

7.4.2 定量测定

取试样溶液和相应的标准溶液，作单点或多点校准，以特征离子质量色谱峰面积定量，按外标法计算。标准工作液及试样溶液中的禁用水溶性合成色素响应值应在仪器检测的线性范围内。在上述色谱-质谱条件下，标准溶液特征离子质量色谱图见附录B。

7.5 空白试验

除不加试样外，采用完全相同的测定步骤进行测定。

8 结果计算和表述

试样中各色素含量按式（1）计算：

$$X = \frac{C_s \times A \times V}{m \times A_s \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X ——样品中相应的色素含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；
- C_s ——标准溶液中相应色素质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；
- A ——样品溶液中相应的色素峰面积；
- V ——样品定容体积，单位为毫升（mL）；
- m ——样品质量，单位为克（g）
- A_s ——标准溶液中相应的色素峰面积；
- 1 000 ——换算系数。

计算结果保留2位有效数字。

9 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20%。

10 其他

本方法中，当样品取样量为2 g，定容体积为10 mL时，32种禁用水溶性合成色素的检出限为0.3 mg/kg（A组化合物）、3.0 mg/kg（B组化合物）。

附录 A

(资料性)

禁用水溶性合成色素的母离子、子离子、去簇电压、碰撞电压和保留时间

禁用水溶性合成色素的母离子、子离子、去簇电压、碰撞电压和保留时间见表A.1。

表 A.1 禁用水溶性合成色素的母离子、子离子、去簇电压、碰撞电压和保留时间

序号	中文名称	标准溶液浓度分组	母离子 (m/z)	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)	去簇电压 (V)	定量离子碰撞电压(V)	定性离子碰撞电压(V)	保留时间 (min)
1	酸性蓝 27	B 组	421.1	80.0	341.1	30	35	25	11.03
2	酸性蓝 3	A 组	559.1	479	435.0	20	30	45	9.53
3	酸性蓝 41	B 组	464.1	370.1	400.0	50	45	35	10.85
4	酸性蓝 62	B 组	399.1	316.1	225.1	50	35	45	11.47
5	酸性蓝 7	B 组	667.3	560.9	481	10	40	40	10.25
6	酸性橙 10	A 组	202.9	150.6	145.1	10	10	30	5.10
7	酸性橙 20	A 组	326.9	171.2	247.2	40	25	20	8.28
8	酸性橙 8	A 组	341.0	185.2	169.8	40	20	35	10.18
9	酸性橙 II	A 组	327.0	171.2	156.2	30	30	30	9.53
10	橙黄 IV	A 组	352.0	156.2	79.9	20	30	45	9.96
11	酸性红 1	A 组	231.4	179.2	158.1	30	10	15	6.1
12	酸性红 26	A 组	216.8	150.5	143.1	20	15	15	7.61
13	酸性红 265	A 组	294.6	157.2	235.2	10	15	10	8.97
14	酸性红 52	A 组	557.1	433.0	80.0	20	45	40	9.56
15	酸性红 71	A 组	269.1	136.7	209.8	20	25	15	10.49
16	酸性红 73	A 组	255.0	150.7	241.3	10	10	10	9.02
17	酸性红 87	A 组	642.7	518.6	440.9	10	25	30	9.34
18	酸性紫 34	B 组	577.1	496.9	417.1	40	25	40	10.97
19	酸性紫 7	A 组	259.9	178.9	158.2	30	13	15	5.72
20	酸性紫 9	A 组	589.2	185.2	544.1	50	40	40	10.80
21	酸性黄 11	A 组	357.0	237.2	207.8	20	20	35	10.19
22	酸性黄 36	A 组	352.0	156.2	79.7	40	25	45	10.25
23	铬变素 2B	A 组	233.3	158.6	126.7	20	20	15	6.09
24	铬变素 2R	A 组	211.2	158.6	80.0	10	15	25	5.91
25	坚牢绿	A 组	381.3	170.2	340.9	10	40	15	7.95
26	甲基橙	A 组	303.9	156.2	288.2	30	30	30	8.75
27	丽春红 3R	A 组	224.0	136.7	150.2	30	20	15	8.31
28	胭脂红 SX	A 组	217.1	170.2	80.0	30	15	20	8.16
29	溴酰洋红 2B	A 组	246.4	179.1	158.1	10	15	20	6.85
30	溴酰紫 6R	A 组	235.7	158.6	126.7	40	10	20	8.28
31	荧光素钠	A 组	331.1	286.4	285.2	40	20	35	8.23
32	二甲苯青 FF	A 组	515.1	435.1	406.1	50	30	35	8.38

附录 B

(资料性)

禁用水溶性合成色素的中英文名称、CAS 号和化学分子式

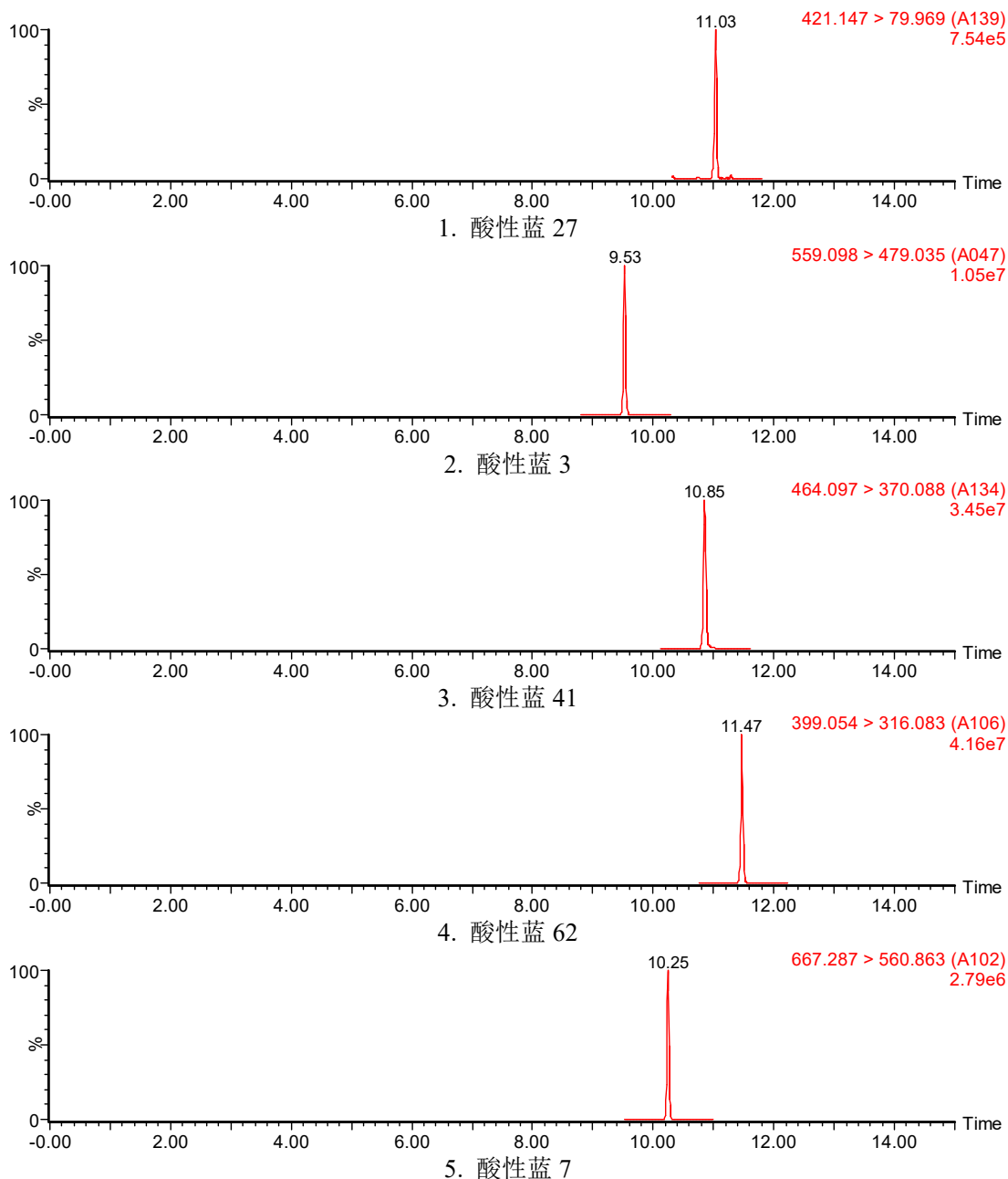
禁用水溶性合成色素的中英文名称、CAS 号和化学分子式，见表 B.1。

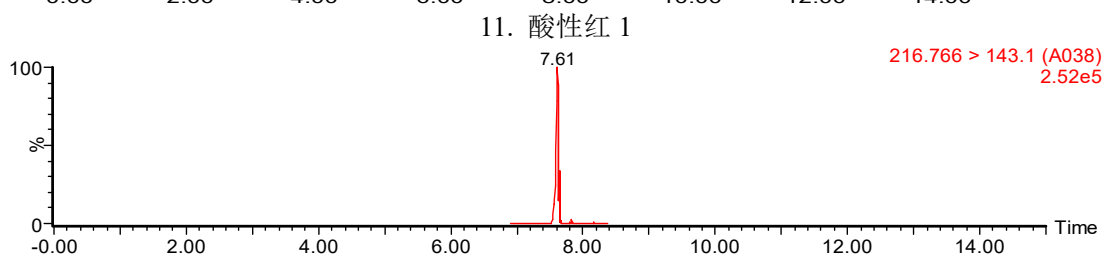
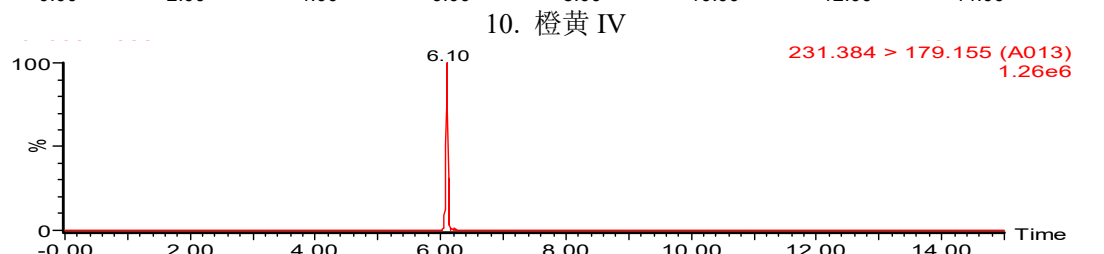
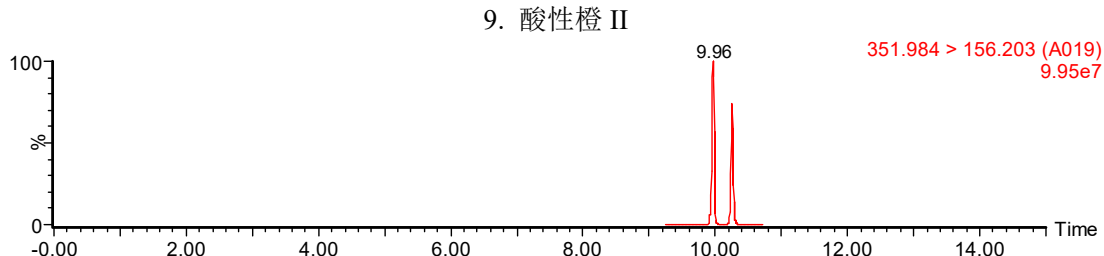
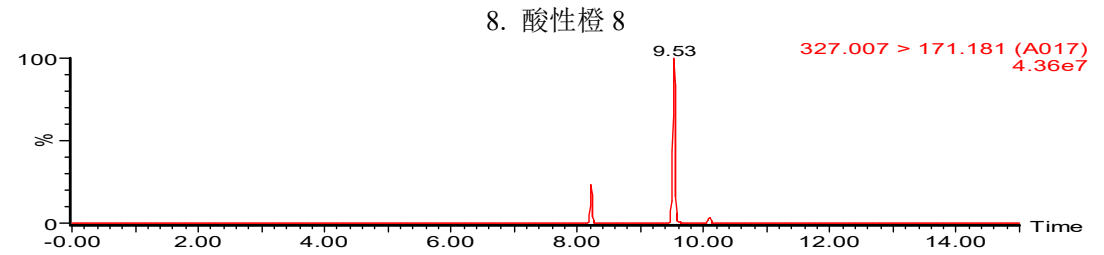
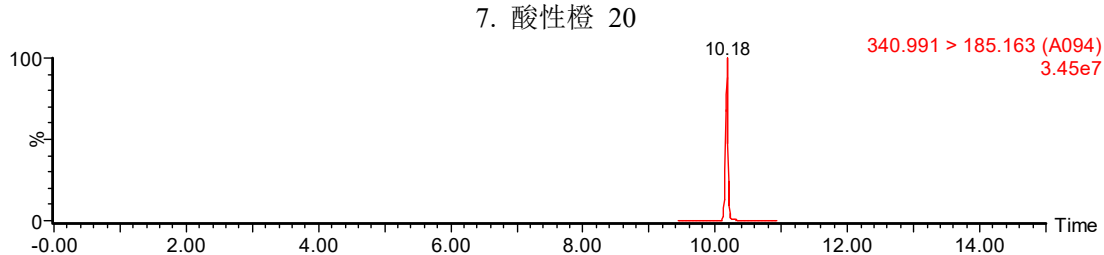
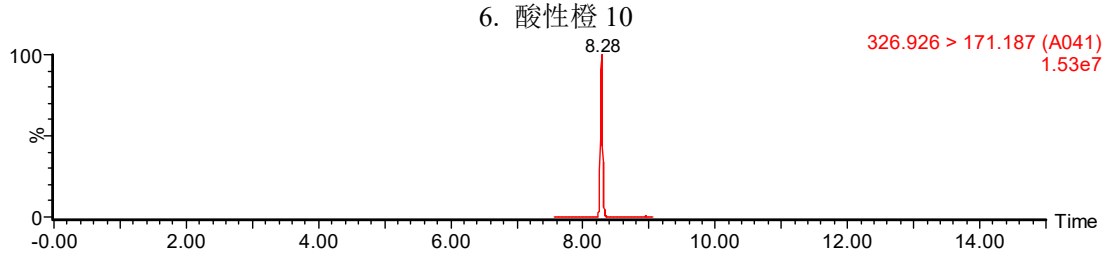
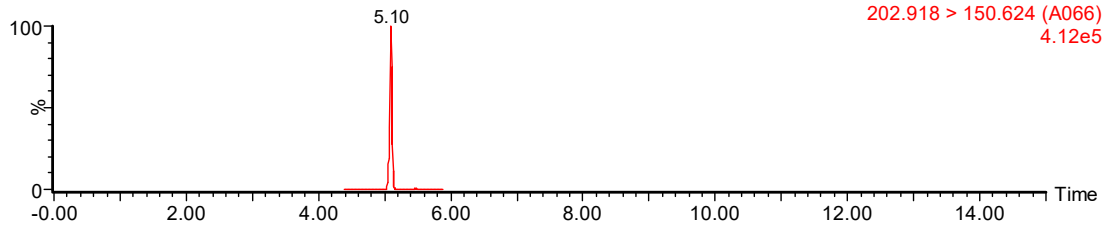
表 B.1 禁用水溶性合成色素的中英文名称、CAS 号和化学分子式

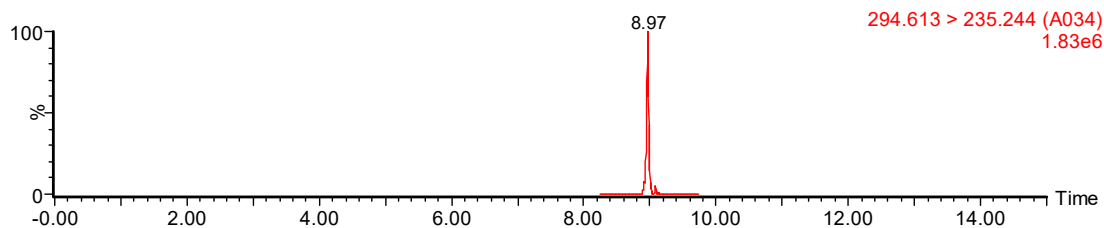
序号	中文名	英文名	CAS 号	化学分子式
1	酸性蓝 27	acid blue 27	6408-51-1	C ₂₂ H ₁₇ N ₂ NaO ₅ S
2	酸性蓝 3	acid blue 3	20262-76-4	C ₂₇ H ₃₁ N ₂ NaO ₇ S ₂
3	酸性蓝 41	acid blue 41	2666-17-3	C ₂₃ H ₁₈ N ₃ NaO ₆ S
4	酸性蓝 62	acid blue 62	4368-56-3	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O ₅ S
5	酸性蓝 7	acid blue 7	3486-30-4	C ₃₇ H ₃₅ N ₂ NaO ₆ S ₂
6	酸性橙 10	acid orange 10	1936-15-8	C ₁₆ H ₁₀ N ₂ Na ₂ O ₇ S ₂
7	酸性橙 20	acid orange 20	523-44-4	C ₁₆ H ₁₁ N ₂ NaO ₄ S
8	酸性橙 8	acid orange 8	5850-86-2	C ₁₇ H ₁₃ N ₂ NaO ₄ S
9	酸性橙 II	acid orange II	633-96-5	C ₁₆ H ₁₁ N ₂ NaO ₄ S
10	橙黄 IV	acid orange IV	554-73-4	C ₁₈ H ₁₄ N ₃ NaO ₃ S
11	酸性红 1	acid red 1	3734-67-6	C ₁₈ H ₁₃ N ₃ Na ₂ O ₈ S ₂
12	酸性红 26	acid red 26	3761-53-3	C ₁₈ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₇ S ₂
13	酸性红 265	acid red 265	6358-43-6	C ₂₄ H ₁₉ N ₃ Na ₂ O ₉ S ₃
14	酸性红 52	acid red 52	3520-42-1	C ₂₇ H ₂₉ N ₂ NaO ₇ S ₂
15	酸性红 71	acid red 71	6226-76-2	C ₂₄ H ₁₈ N ₄ Na ₂ O ₇ S ₂
16	酸性红 73	acid red 73	5413-75-2	C ₂₂ H ₁₄ N ₄ Na ₂ O ₇ S ₂
17	酸性红 87	acid red 87	17372-87-1	C ₂₀ H ₆ Br ₄ Na ₂ O ₅
18	酸性紫 34	acid violet 34	6408-63-5	C ₂₈ H ₂₀ N ₂ Na ₂ O ₈ S ₂
19	酸性紫 7	acid violet 7	4321-69-1	C ₂₀ H ₁₆ N ₄ Na ₂ O ₉ S ₂
20	酸性紫 9	acid violet 9	6252-76-2	C ₃₄ H ₂₅ N ₂ NaO ₆ S
21	酸性黄 11	acid yellow 11	6359-82-6	C ₁₆ H ₁₃ N ₄ NaO ₄ S
22	酸性黄 36	acid yellow 36	587-98-4	C ₁₈ H ₁₄ N ₃ NaO ₃ S
23	铬变素 2B	chromotrope 2B	548-80-1	C ₁₆ H ₉ N ₃ Na ₂ O ₁₀ S ₂
24	铬变素 2R	chromotrope 2R	4197-07-3	C ₁₆ H ₁₀ N ₂ Na ₂ O ₈ S ₂
25	坚牢绿	food green 3	2353-45-9	C ₃₇ H ₃₄ N ₂ O ₁₀ S ₃ Na ₂
26	甲基橙	methyl orange	547-58-0	C ₁₄ H ₁₄ N ₃ NaO ₃ S
27	丽春红 3R	ponceau 3R	3564-09-8	C ₁₉ H ₁₆ N ₂ Na ₂ O ₇ S ₂
28	胭脂红 SX	ponceau SX	4548-53-2	C ₁₈ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₇ S ₂
29	滂酰洋红 2B	pontacyl carmine 2B	6625-46-3	C ₁₉ H ₁₅ N ₃ Na ₂ O ₉ S ₂
30	滂酰紫 6R	pontacyl violet 6R	5850-63-5	C ₂₀ H ₁₂ N ₂ Na ₂ O ₈ S ₂
31	荧光素钠	uranine	518-47-8	C ₂₀ H ₁₀ Na ₂ O ₅
32	二甲苯青 FF	xylene cyanol FF	2650-17-1	C ₂₅ H ₂₇ N ₂ NaO ₆ S ₂

附录 C
(资料性)
禁用水溶性合成色素特征离子质量色谱图

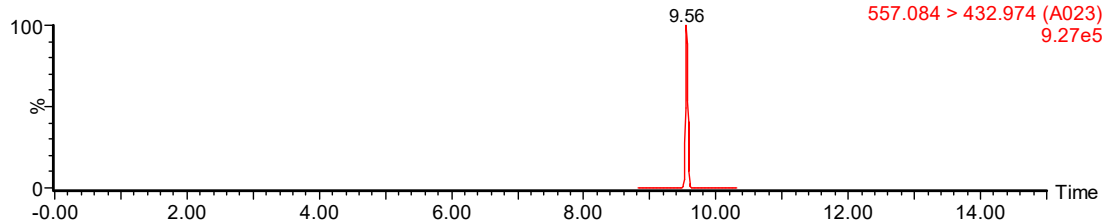
禁用水溶性合成色素特征离子质量色谱图 (A组: 100 ng/mL; B组: 1000 ng/mL), 见图C.1。



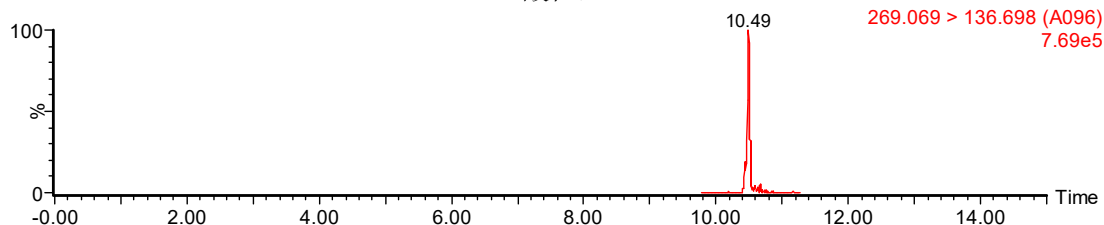




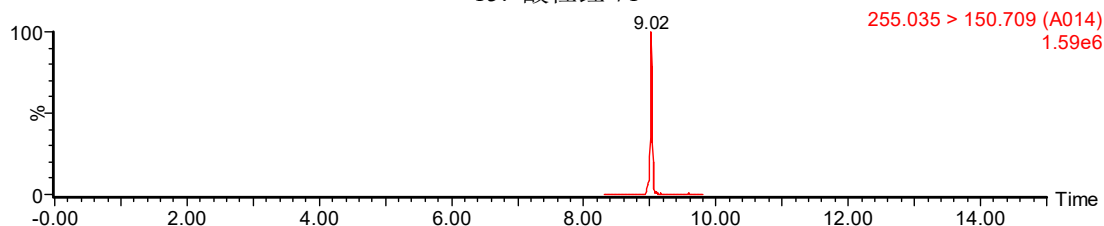
13. 酸性红 265



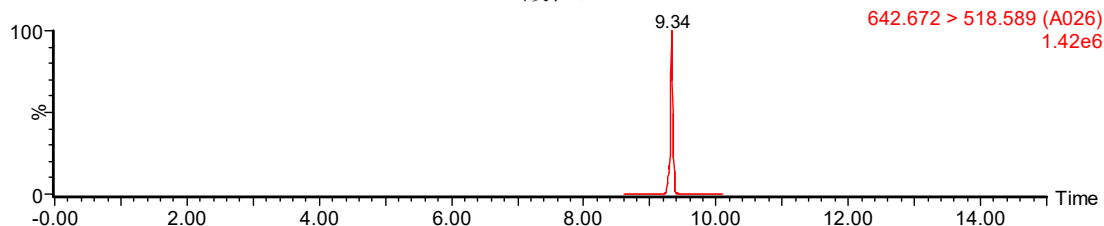
14. 酸性红 52



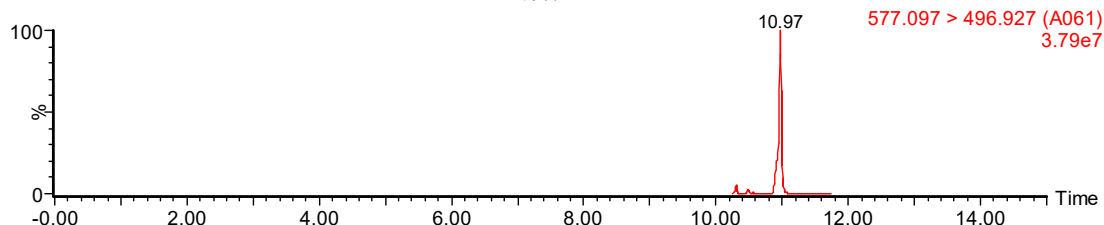
15. 酸性红 71



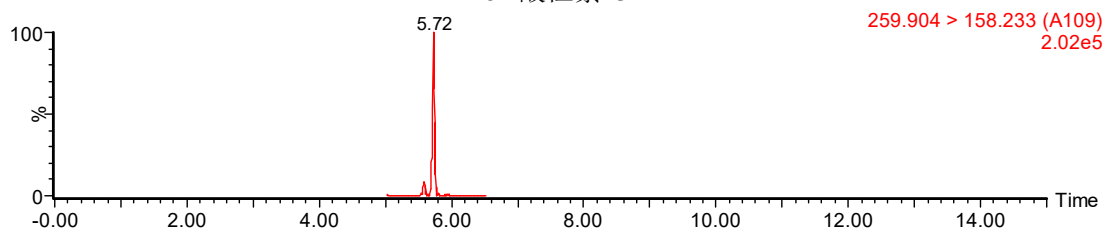
16. 酸性红 73



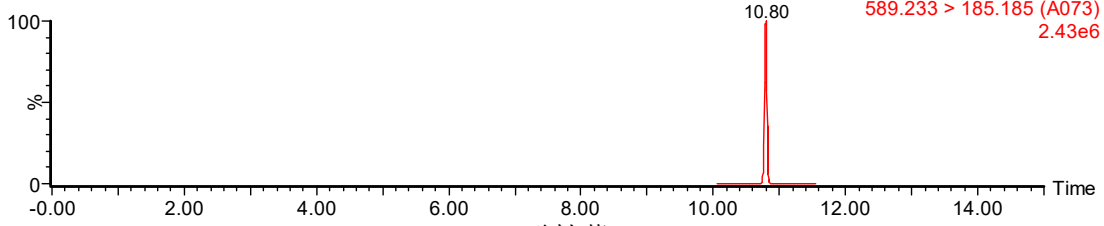
17. 酸性红 87



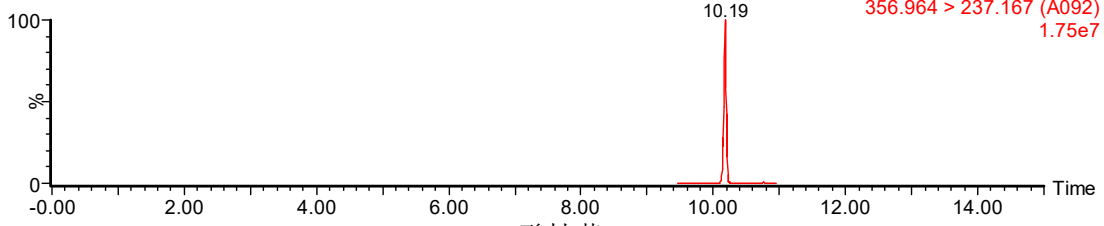
18. 酸性紫 34



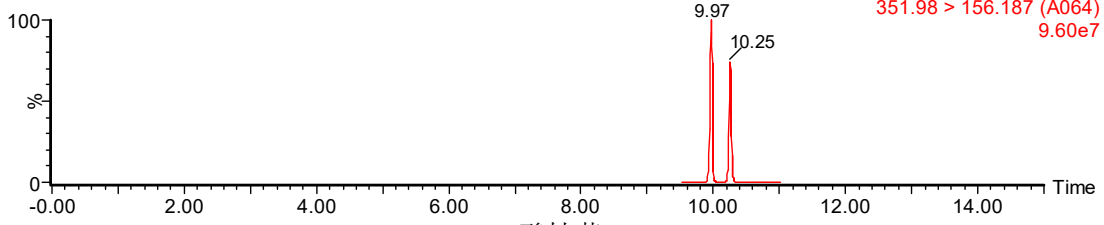
19. 酸性紫 7



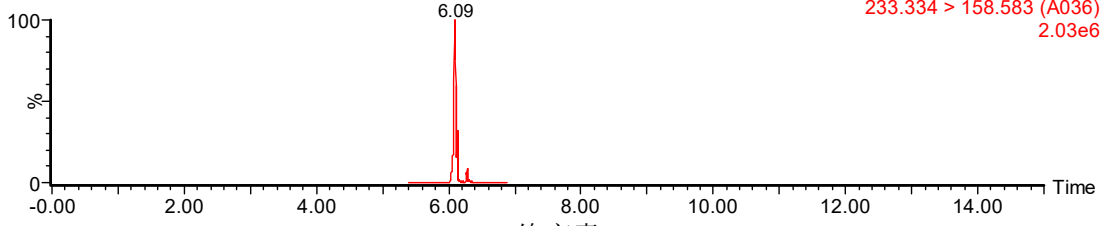
20. 酸性紫 9



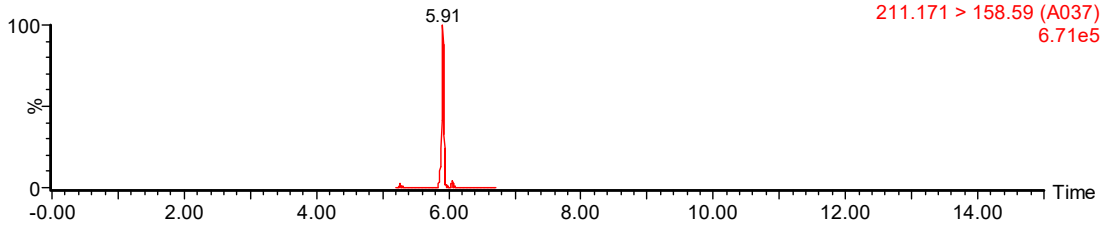
21. 酸性黄 11



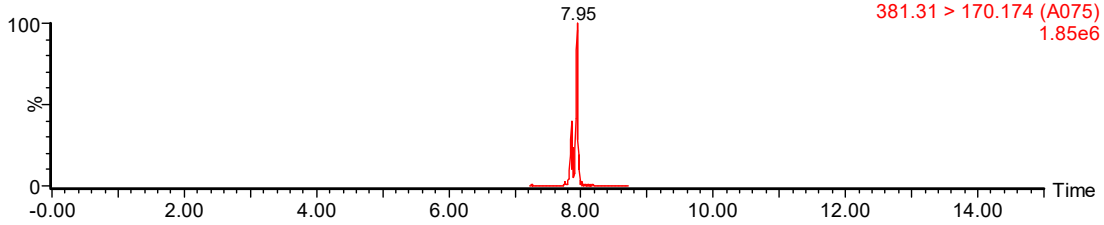
22. 酸性黄 36



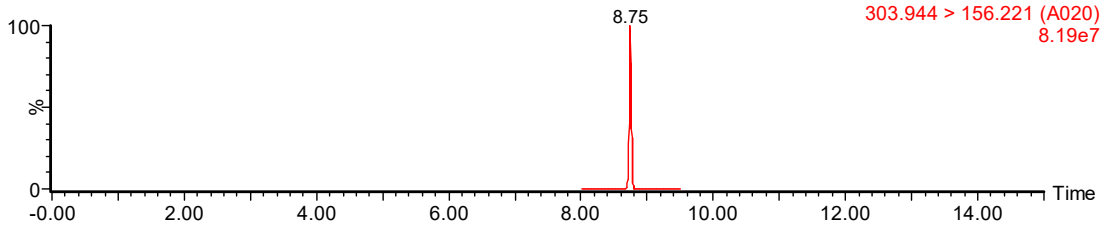
23. 铬变素 2B

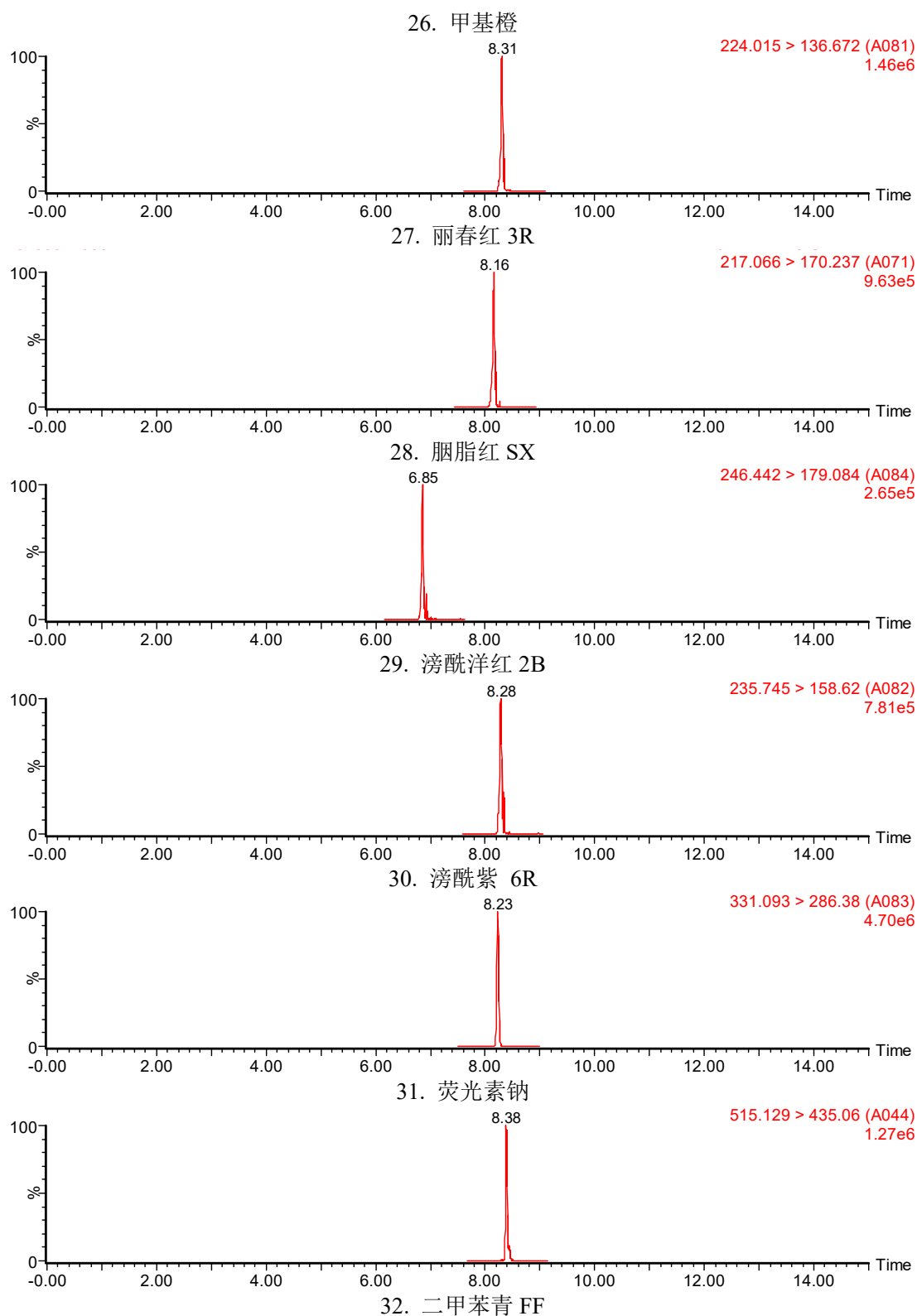


24. 铬变素 2R



25. 坚牢绿





图C.1 禁用水溶性合成色素特征离子质量色谱图 (A组: 100 ng/mL; B组: 1000 ng/mL)