

TB

广东省食品药品审评认证技术协会团体标准

T/GDFDTAEC 08—2024

食品中禁用脂溶性合成色素的测定
液相色谱-串联质谱法

Determination of prohibited fat-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 方法原理	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） 禁用脂溶性合成色素的定量离子、定性离子、去簇电压、碰撞电压和保留时间	5
附录 B （资料性） 禁用脂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） 禁用脂溶性合成色素定量离子提取流程图	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、广州检验检测认证集团有限公司。

本文件主要起草人：毛新武、周庆琼、杨群华、梁友、陈若璇、戚平、林子豪、何婉琪、邱险辉、吴滋灵、叶丹、许汇成、徐政慧、张竞雯。

食品中禁用脂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禁用脂溶性合成色素（见附录A）的液相色谱-串联质谱测定方法。
本文件适用于辣椒粉、调味酱、豆制品、熟肉制品、鲜蛋等食品中32种禁用脂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1%乙酸乙腈溶液提取，C₁₈分散萃取小管净化后，利用液相色谱-串联质谱仪测定，内标法或外标法定量。

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 乙腈（C₂H₃N）：色谱纯。

5.1.3 乙酸（CH₃COOH）：质谱纯。

5.1.4 三氯甲烷（CHCl₃）。

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

5.1.6 1%乙酸乙腈溶液：移取1 mL乙酸于100 mL容量瓶中，用乙腈定容到刻度。

5.2 标准品

32种脂溶性合成色素及4种苏丹红内标标准品：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，用三氯甲烷或乙腈溶解后，转移至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 混合标准储备溶液A组（1 mg/L）：根据附录A化合物的浓度分组，准确移取0.1 mL的A组色素标准储备溶液于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 混合标准储备溶液B组（10 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 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。

5.3.4 内标储备液 (1000 mg/L)：分别准确称取经折算相当于 50 mg (精确到 0.1 mg) 的内标标准品，置 50 mL 容量瓶中，用三氯甲烷或乙腈溶解后，甲醇定容到刻度。在-18℃下避光保存，保存期 6 个月。

5.3.5 混合内标储备液 (10 mg/L)：分别准确移取 1 mL 的内标储备溶液于 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。

5.3.6 混合标准中间液 A 组 (0.1 mg/L)：准确吸取 1 mL 的混合标准储备溶液 A 组于 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容到刻度。临用现配。

5.3.7 混合标准中间液 B 组 (1.0 mg/L)：准确吸取 1 mL 的混合标准储备溶液 B 组于 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容到刻度。临用现配。

5.3.8 混合内标中间液 (0.01 mg/L)：准确吸取一定量的混合内标储备溶液，用甲醇稀释、定容至刻度。临用现配。

5.3.9 混合标准工作液：根据需要，用甲醇将混合标准中间液和混合内标中间液稀释成所需的标准工作液。

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 疏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-串联质谱联用仪 (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 匀浆机。

6.6 食物粉碎机。

7 分析步骤

7.1 试样制备

辣椒粉、调味酱混合均匀，豆制品、熟肉制品用食物粉碎机搅碎混匀，鲜蛋煮熟后取蛋黄用食物粉碎机搅碎混匀，制备好的试样密封冷藏避光保存，备用。

7.2 试样提取

称取 2 g (准确至 0.01 g) 试样于 50 mL 离心管中，加入混合内标储备液 0.05 mL，加入 10 mL 的 1% 乙酸乙腈溶液，超声 5 min，在 8000 r/min 下离心 5 min，重复提取一遍，合并上清液。取 1 mL 上清液，用甲醇定容至 5 mL。准确移取 2 mL 提取液至含有 50 mg C₁₈ 材料的净化管中，涡旋 1 min，在 8000 r/min 下离心 5 min，上清液过 0.22 μm 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

- 色谱柱：C₁₈ 柱，100 mm×2.1 mm，1.7 μm，或同等性能的色谱柱；
- 流动相：A 为 0.1% 乙酸水溶液，B 为 0.1% 乙酸甲醇溶液；梯度洗脱条件见表 1；
- 柱温：40℃；
- 进样量：2 μL；
- 流速：0.3 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	80	20
0.50	80	20
5.00	20	85
6.00	5	95
10.00	5	95
10.10	80	20
15.00	80	20

7.3.2 质谱参考条件

- 离子源类型：电喷雾电离源（ESI）；
- 扫描方式：正离子电离模式；
- 电喷雾电压：2.5 kV；
- 离子源温度：150 °C；
- 脱溶剂气温度：500 °C；
- 脱溶剂气流速：1000 L/h；
- 锥孔气流速：150 L/h；
- 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，试样溶液中脂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，以目标化合物特征离子质量色谱峰面积外标法定量，或以目标化合物与内标物特征离子峰面积比值内标法定量。标准工作液及试样溶液中的脂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。

注：苏丹红I、苏丹红II、苏丹红III、苏丹红IV分别以其对应内标物采用内标法定量，其余化合物以外标法定量。

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

8.1 外标法

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 —— 样品中被测组分含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；
- C_s —— 标准溶液中被测组分质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；
- A —— 样品溶液中被测组分峰面积；
- 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 —— 标准溶液中被测组分峰面积；
- 1 000 —— 换算系数。

8.2 内标法

试样中各色素含量按式（2）计算：

$$X = \frac{C_s \times R \times V}{m \times R_s \times 1000} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

- X —— 样品中被测组分含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；
- C_s —— 标准溶液中被测组分质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；
- R —— 样品溶液中被测组分与相应内标物峰面积比值；
- V —— 样品定容体积，单位为毫升（mL）；
- m —— 样品质量，单位为克（g）；
- R_s —— 标准溶液中被测组分与相应内标物峰面积比值；
- 1 000 —— 换算系数。

计算结果保留2位有效数字。

注：苏丹红I、苏丹红II、苏丹红III、苏丹红IV分别以其对应内标物采用内标法定量，其余化合物以外标法定量。

9 精密度

其他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5 mL时，32种禁用脂溶性合成色素的检出限为0.05 mg/kg（A组化合物）、0.50 mg/kg（B组化合物）。

附录 A

(资料性)

禁用脂溶性合成色素的定量离子、定性离子、去簇电压、碰撞电压和保留时间

禁用脂溶性合成色素的定量离子、定性离子、去簇电压、碰撞电压和保留时间，见表A.1。

表 A.1 禁用脂溶性合成色素的定量离子、定性离子、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	碱性嫩黄 O	A 组	268.2	147.2	122.2	30	28	25	4.24
2	碱性蓝 1	A 组	363.4	347.3	311.1	30	36	43	4.68
3	碱性蓝 41	A 组	371.1	164.1	133.1	30	19	35	4.22
4	碱性蓝 7	A 组	478.3	434.5	390.4	30	46	60	5.91
5	碱性绿 1	A 组	385.4	341.2	297.3	30	36	48	5.36
6	碱性绿 4	A 组	329.3	313.3	208.2	30	36	36	4.68
7	碱性橙 21	A 组	315.3	300.2	285.2	30	23	30	4.35
8	碱性橙 22	A 组	391.3	376.2	361.4	30	28	36	4.88
9	碱性红 46	A 组	321.2	224.1	196.0	30	11	16	3.98
10	碱性红 5	B 组	253.3	237.7	209.2	30	35	35	3.8
11	碱性红 9	A 组	288.1	195.2	151.2	30	33	53	3.32
12	碱性紫 2	A 组	330.4	223.1	208.1	30	31	41	4.2
13	碱性黄 24	A 组	322.4	160.1	136.1	30	20	25	4.35
14	碱性黄 51	A 组	292.2	160.1	106.1	30	20	25	4.20
15	结晶紫	A 组	372.3	356.2	340.3	30	38	50	5.13
16	二乙基黄	A 组	254.3	134.2	77.0	30	25	25	7.08
17	分散蓝 124	A 组	378.3	220.3	86.9	30	18	32	6.44
18	分散橙 11	A 组	238.1	77.1	165.1	30	57	32	6.13
19	分散红 11	A 组	269.2	254.2	226.1	30	25	32	5.18
20	分散红 9	A 组	238.3	223.3	220.3	30	25	19	6.62
21	碱性紫 4	A 组	456.4	412.6	368.3	30	32	60	5.97
22	对位红	A 组	294.1	156.0	128.0	30	18	28	6.99
23	罗丹明 6G	A 组	443.2	415.3	341.3	30	33	45	5.11
24	罗丹明 B	A 组	443.3	399.2	355.0	30	41	56	5.27
25	溶剂红 169	A 组	266.3	224.0	167.2	30	17	41	7.09
26	苏丹橙 G	A 组	215.1	122.1	93.1	30	15	25	6.2
27	苏丹红 I	A 组	249.3	156.2	93.1	30	15	23	7.31
28	苏丹红 II	A 组	277.2	121.1	155.9	30	18	16	8.2
29	苏丹红 III	A 组	353.1	196.1	156.2	30	24	23	8.91
30	苏丹红 IV	A 组	381.1	90.9	224.2	30	39	21	10.91
31	苏丹黄	A 组	226.0	77.1	121.1	30	22	20	6.78
32	硫黄素 T	B 组	283.1	267.1	252.1	30	27	43	3.74
内标	苏丹红 I-d5	A 组	254.2	156.1	98.1	30	15	23	7.30
内标	苏丹红 II-d6	A 组	283.2	121.2	162.1	30	18	15	8.15
内标	苏丹红 III-d6	A 组	359.3	77.1	196.0	30	42	25	8.85
内标	苏丹红 IV-d6	A 组	387.2	91.1	224.1	30	35	24	10.86

附录 B

(资料性)

禁用脂溶性合成色素的中英文名称、CAS 号和化学分子式

禁用脂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 禁用脂溶性合成色素的中英文名称、CAS 号和化学分子式

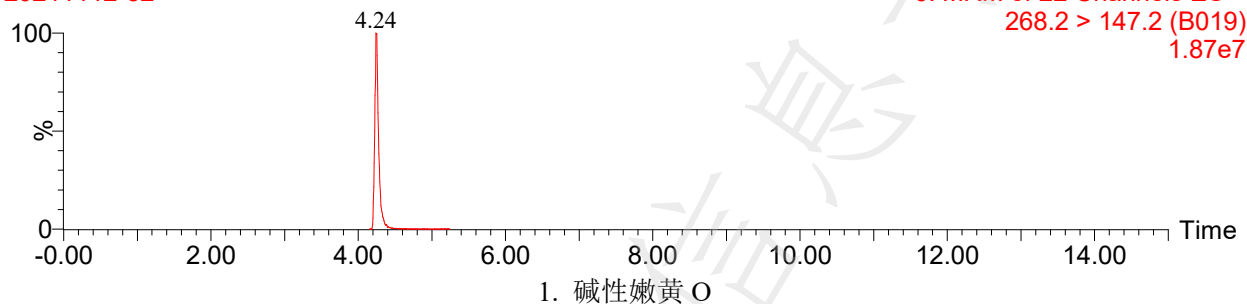
序号	中文名称	英文名称	CAS 号	化学分子式
1	碱性嫩黄 O	auramine O	2465-27-2	C ₁₇ H ₂₂ ClN ₃
2	碱性蓝 1	basic blue 1	3521-06-0	C ₂₃ H ₂₄ Cl ₂ N ₂
3	碱性蓝 41	basic blue 41	12270-13-2	C ₂₀ H ₂₆ N ₄ O ₆ S ₂
4	碱性蓝 7	basic blue 7	2390-60-5	C ₃₃ H ₄₀ N ₃ Cl
5	碱性绿 1	basic green 1	633-03-4	C ₂₇ H ₃₄ N ₂ O ₄ S
6	碱性绿 4	basic green 4	2437-29-8	C ₅₂ H ₅₄ N ₄ O ₁₂
7	碱性橙 21	basic orange 21	3056-93-7	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₂
8	碱性橙 22	basic orange 22	4657-00-5	C ₂₈ H ₂₇ ClN ₂
9	碱性红 46	basic red 46	12221-69-1	C ₁₈ H ₂₃ BrN ₆
10	碱性红 5	basic red 5	553-24-2	C ₁₅ H ₁₇ ClN ₄
11	碱性红 9	basic red 9	569-61-9	C ₁₉ H ₁₇ N ₃ ·HCl
12	碱性紫 2	basic violet 2	3248-91-7	C ₂₂ H ₂₄ ClN ₃
13	碱性黄 24	basic yellow 24	52435-14-0	C ₁₉ H ₂₁ N ₃ O ₄ S ₂
14	碱性黄 51	basic yellow 51	83949-75-1	C ₂₀ H ₂₅ N ₃ O ₄ S
15	结晶紫	crystal violet	548-62-9	C ₂₅ H ₃₀ ClN ₃
16	二乙基黄	diethyl yellow	2481-94-9	C ₁₆ H ₁₉ N ₃
17	分散蓝 124	disperse blue 124	61951-51-7	C ₁₆ H ₁₉ N ₅ O ₄ S
18	分散橙 11	disperse orange 11	82-28-0	C ₁₅ H ₁₁ NO ₂
19	分散红 11	disperse red 11	2872-48-2	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₃
20	分散红 9	disperse red 9	82-38-2	C ₁₅ H ₁₁ NO ₂
21	碱性紫 4	ethyl violet 4	2390-59-2	C ₃₁ H ₄₂ ClN ₃
22	对位红	para red	6410-10-2	C ₁₆ H ₁₁ N ₃ O ₃
23	罗丹明 6G	rhodamine 6G	989-38-8	C ₂₈ H ₃₁ ClN ₂ O ₃
24	罗丹明 B	rhodamine B	81-88-9	C ₂₈ H ₃₁ ClN ₂ O ₃
25	溶剂红 169	solvent red 169	27354-18-3	C ₁₇ H ₁₅ NO ₂
26	苏丹橙 G	sudan orange G	2051-85-6	C ₁₂ H ₁₀ N ₂ O ₂
27	苏丹红 I	sudan red I	842-07-9	C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O
28	苏丹红 II	sudan red II	3118-97-6	C ₁₈ H ₁₆ N ₂ O
29	苏丹红 III	sudan red III	85-86-9	C ₂₂ H ₁₆ N ₄ O
30	苏丹红 IV	sudan red IV	85-83-6	C ₂₄ H ₂₀ N ₄ O
31	苏丹黄	sudan yellow	60-11-7	C ₁₄ H ₁₅ N ₃
32	硫黄素 T	thioflavine T	2390-54-7	C ₁₇ H ₁₉ ClN ₂ S
34	苏丹红 I-d5	sudan I-d5	752211-63-5	C ₁₆ H ₇ N ₂ OD ₅
35	苏丹红 II-d6	sudan II-d6	1014689-15-6	C ₁₈ H ₁₀ D ₆ N ₂ O
36	苏丹红 III-d6	sudan III-d6	1014689-17-8	C ₂₂ H ₁₀ D ₆ N ₄ O
37	苏丹红 IV-d6	sudan IV-d6	1014689-18-9	C ₂₄ H ₁₄ D ₆ N ₄ O

附录 C
(资料性)
禁用脂溶性合成色素特征离子质量色谱图

禁用脂溶性合成色素特征离子质量色谱图 (A组: 10 ng/mL; B组: 100 ng/mL), 见图C.1。

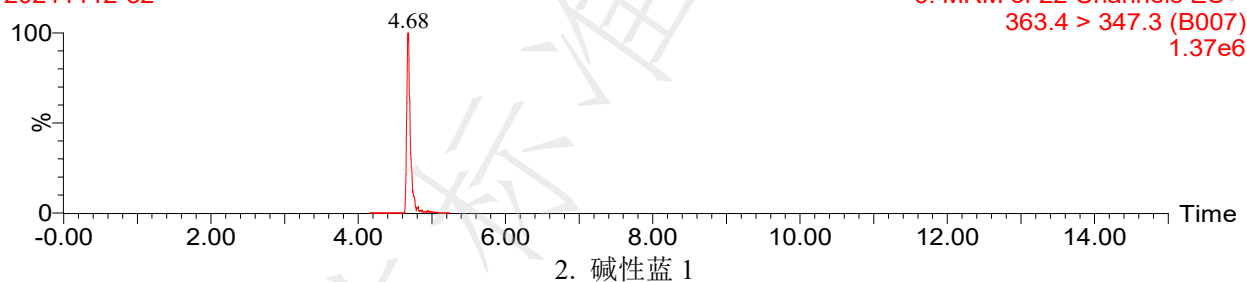
std10ppb

20211112-32



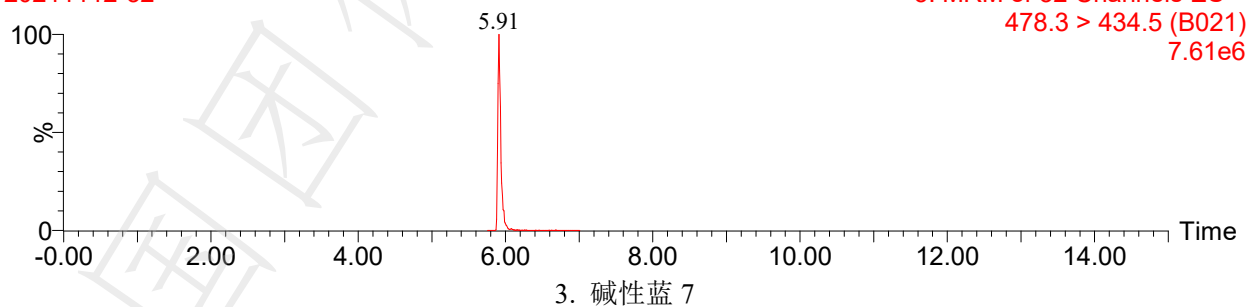
std10ppb

20211112-32



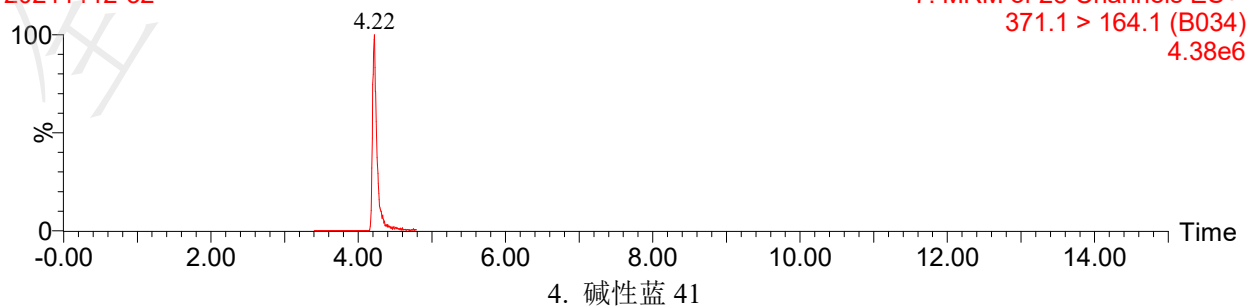
std10ppb

20211112-32



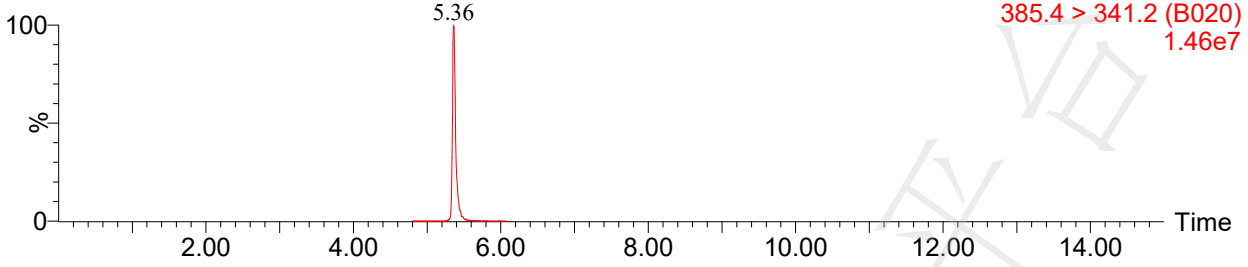
std10ppb

20211112-32



std10ppb

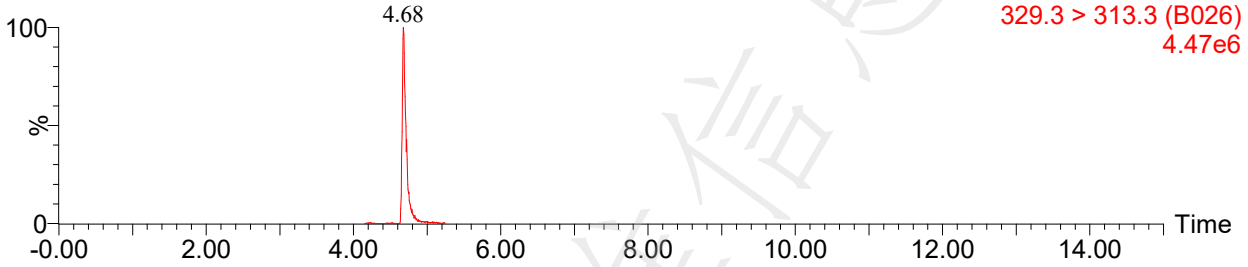
20211112-32



5. 碱性绿 1

std10ppb

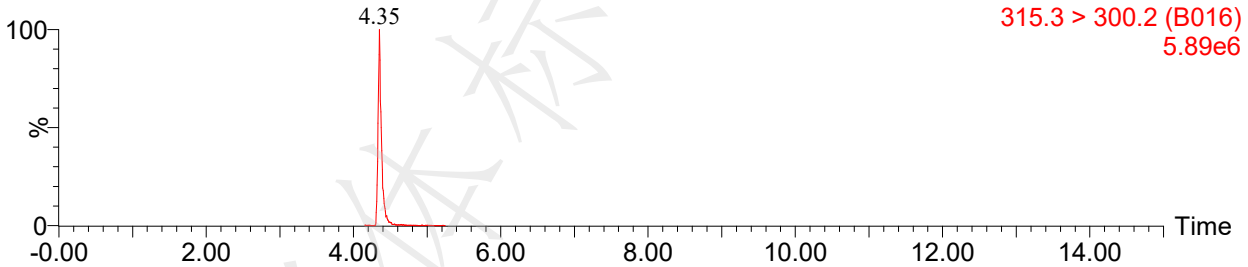
20211112-32



6. 碱性绿 4

std10ppb

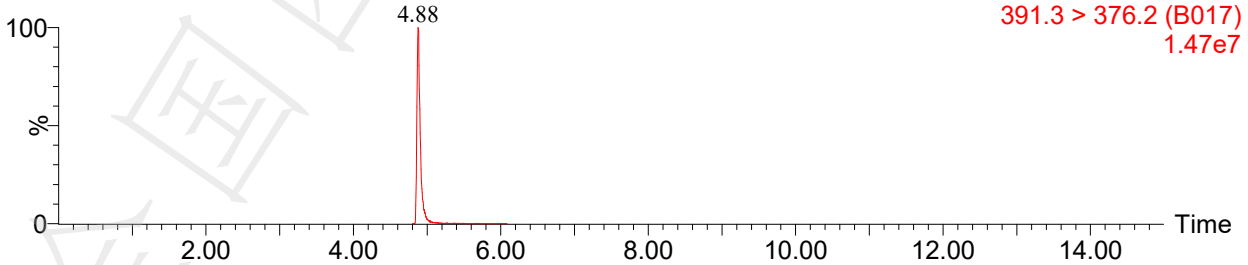
20211112-32



7. 碱性橙 21

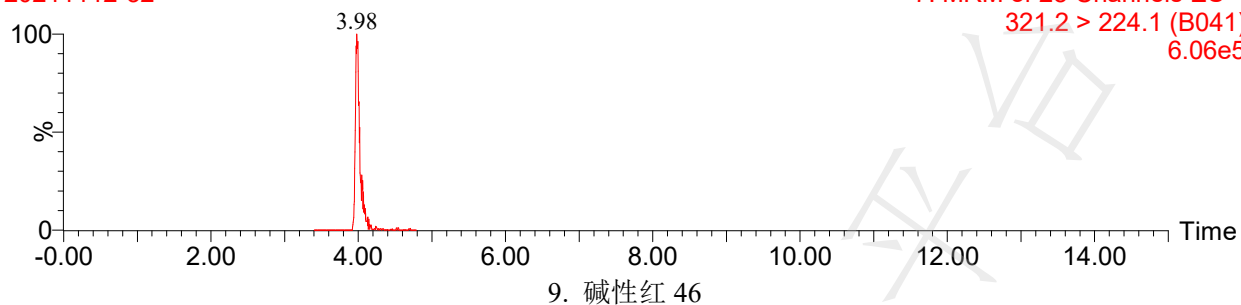
std10ppb

20211112-32

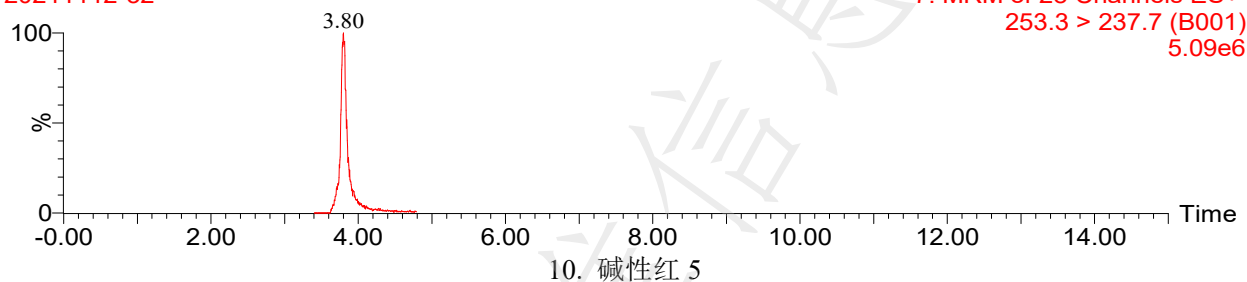


8. 碱性橙 22

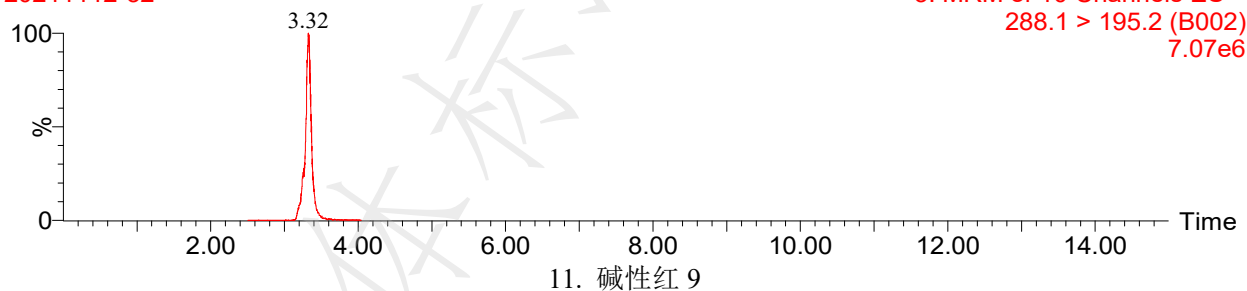
std10ppb
20211112-32



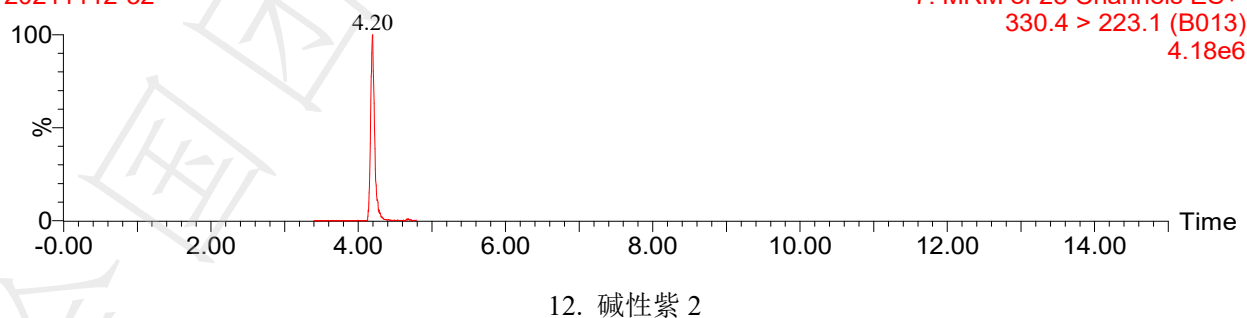
std10ppb
20211112-32



std10ppb
20211112-32

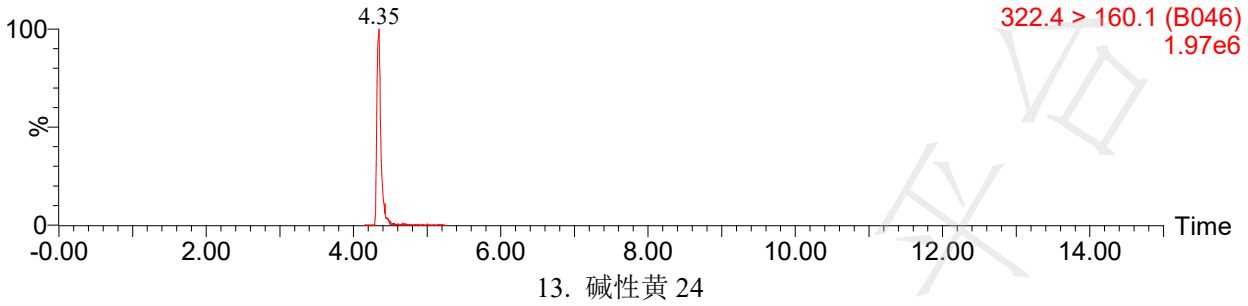


std10ppb
20211112-32



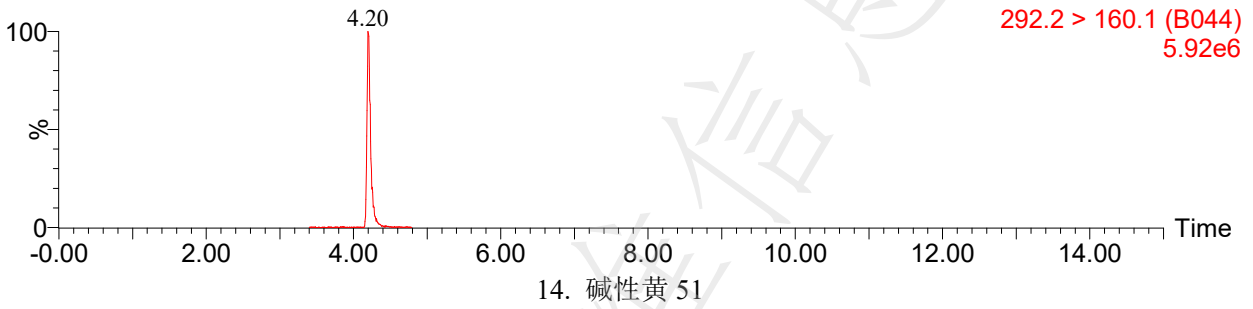
std10ppb

20211112-32



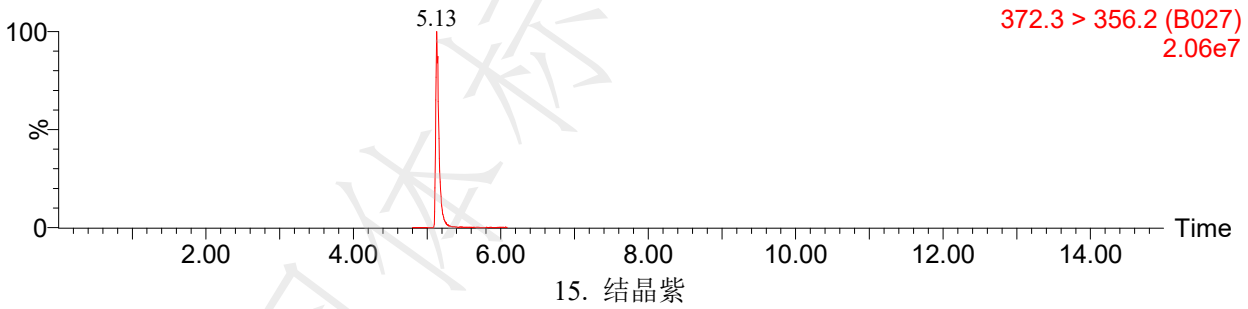
std10ppb

20211112-32



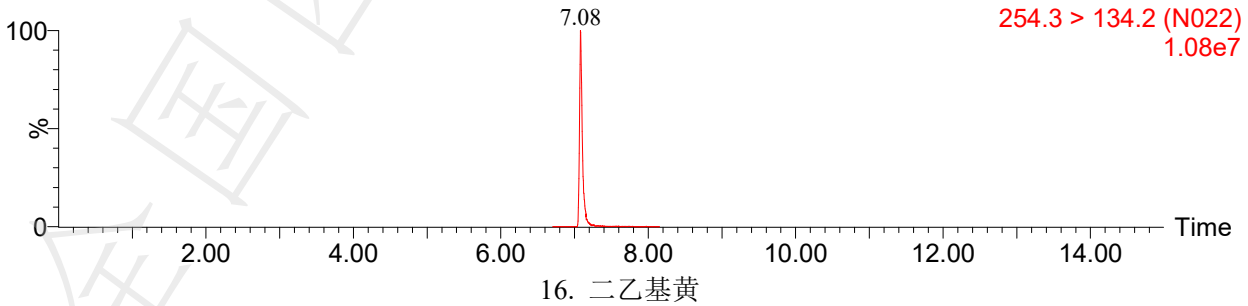
std10ppb

20211112-32



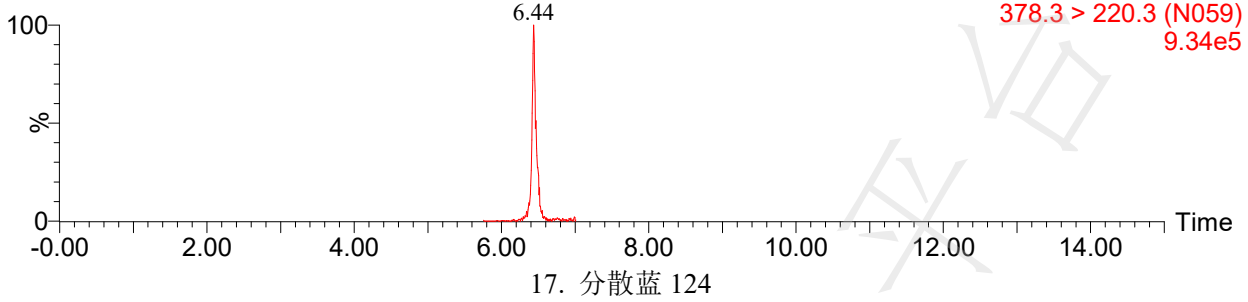
std10ppb

20211112-32



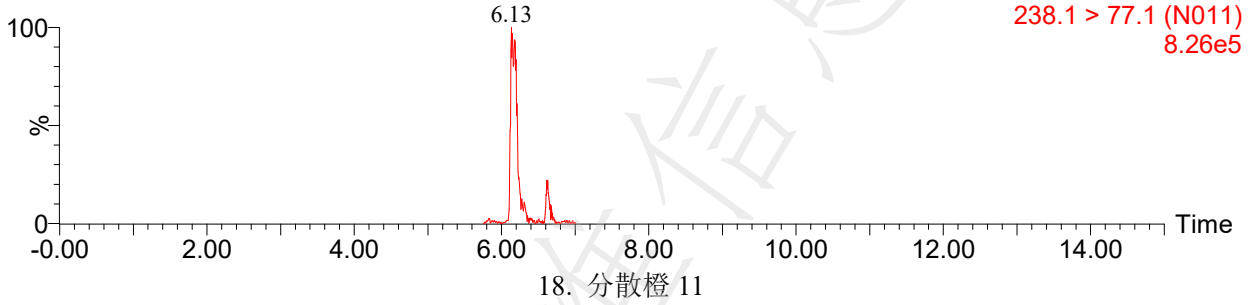
std10ppb

20211112-32



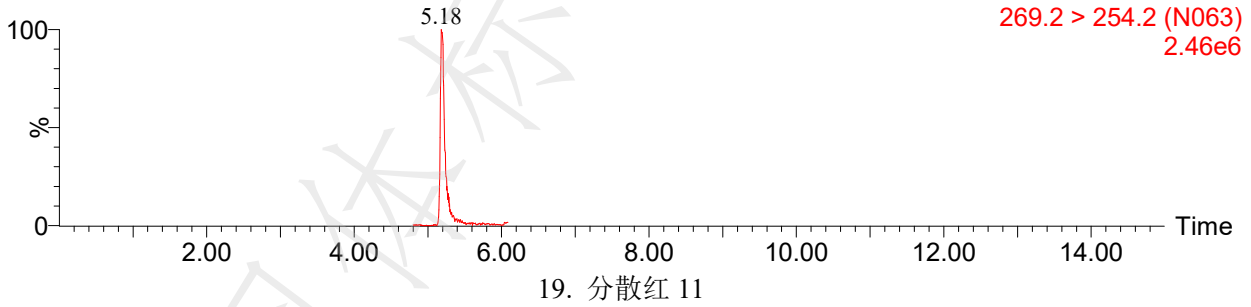
std10ppb

20211112-32



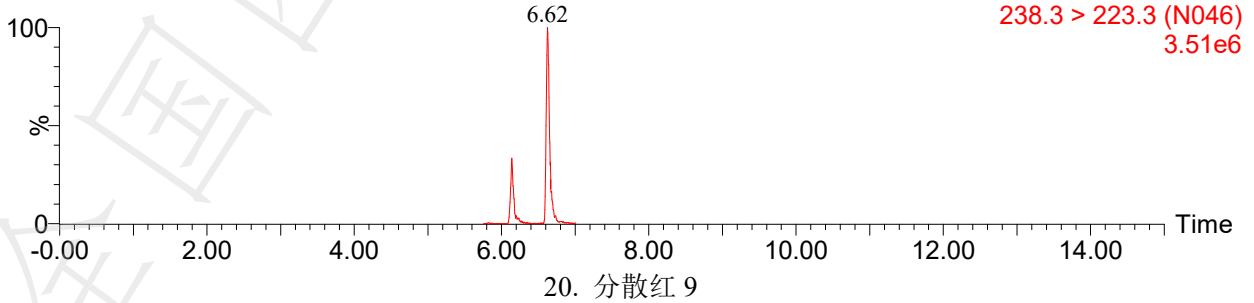
std10ppb

20211112-32



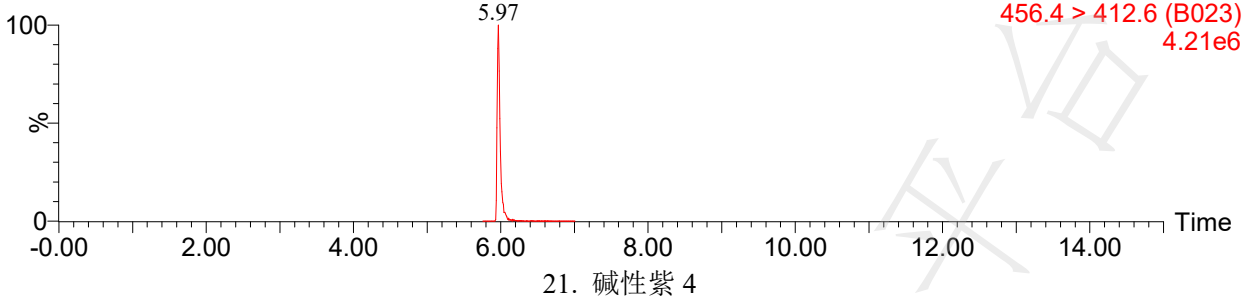
std10ppb

20211112-32



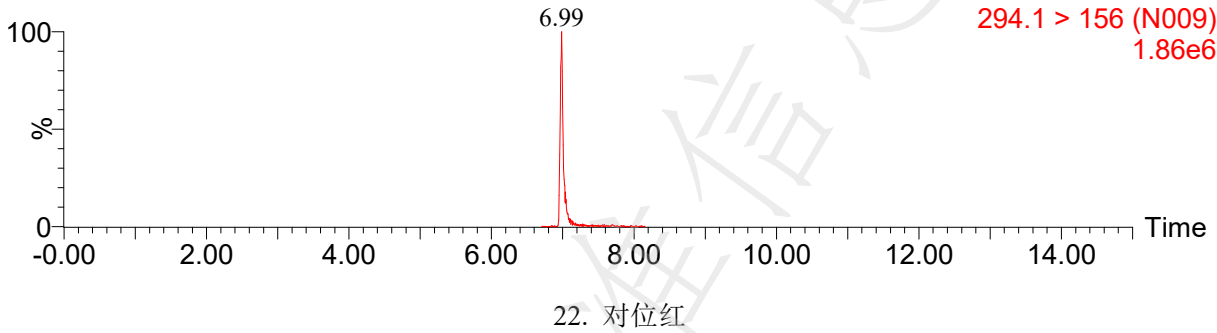
std10ppb

20211112-32



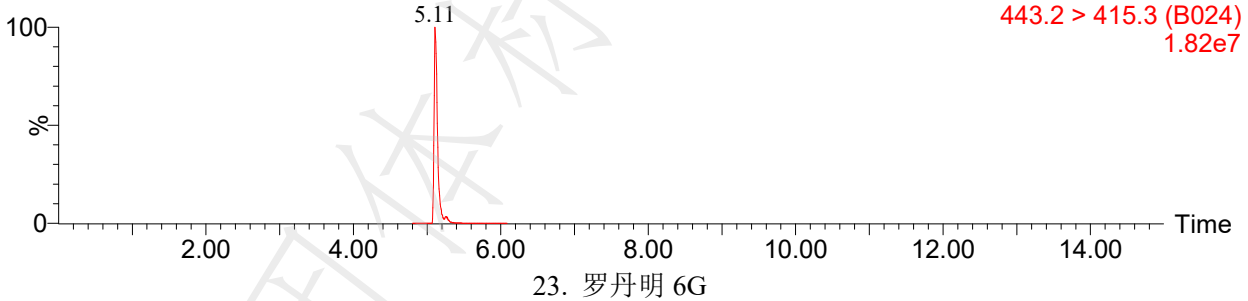
std10ppb

20211112-32



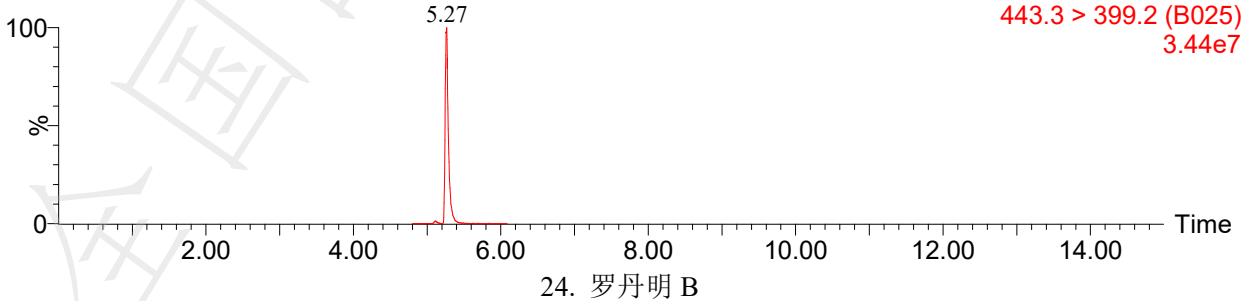
std10ppb

20211112-32

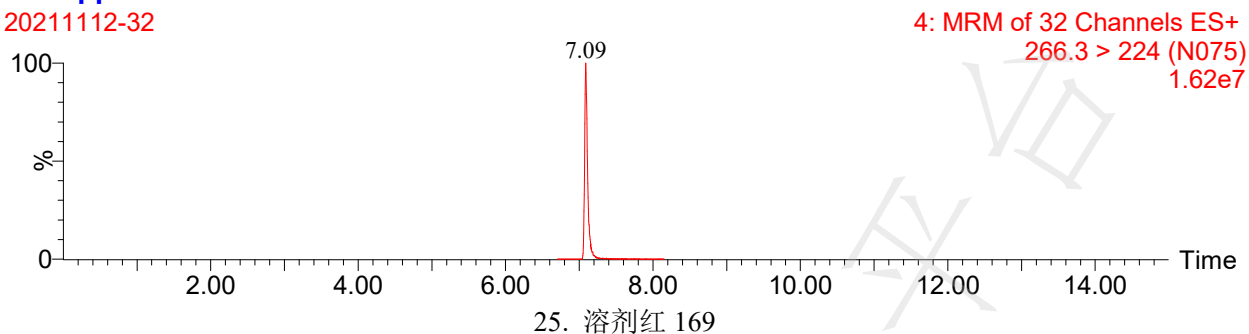


std10ppb

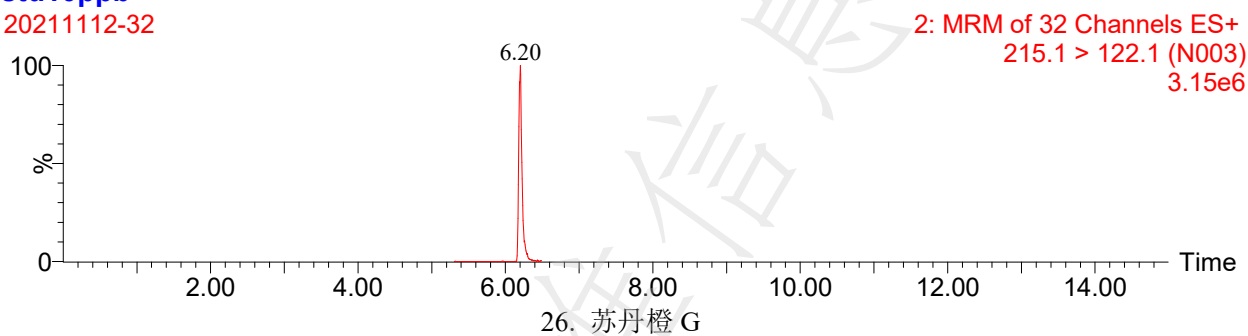
20211112-32



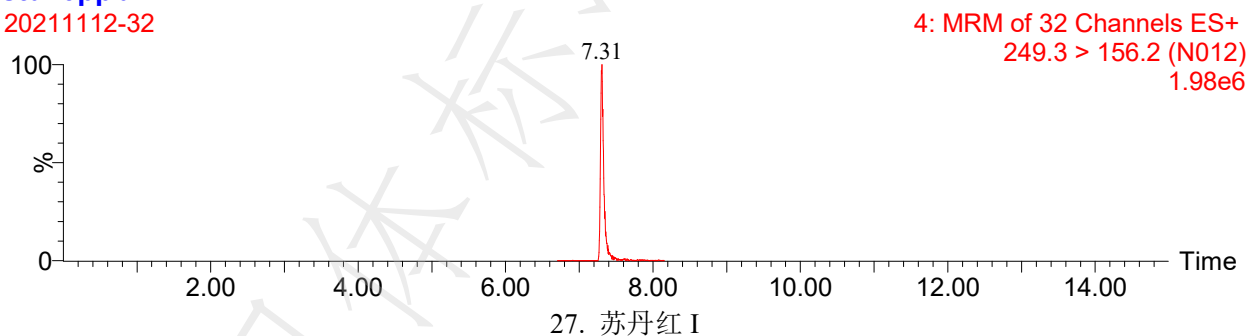
std10ppb
20211112-32



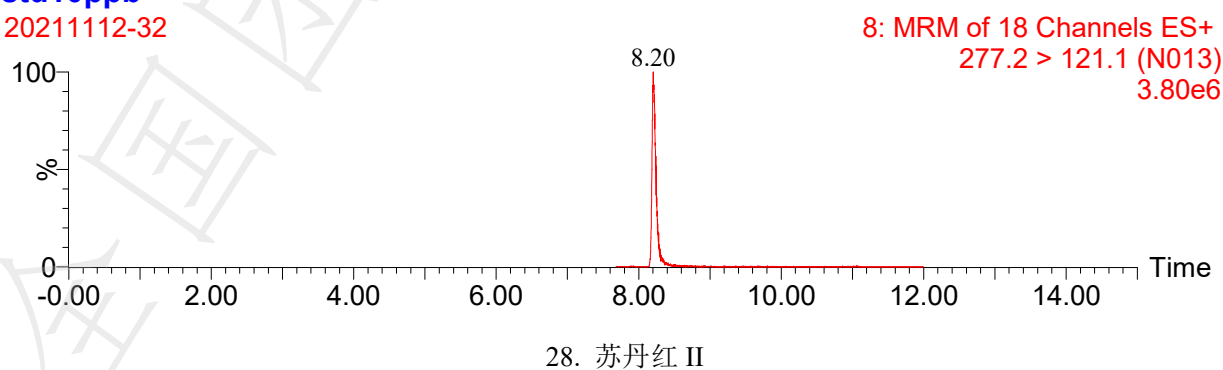
std10ppb
20211112-32



std10ppb
20211112-32

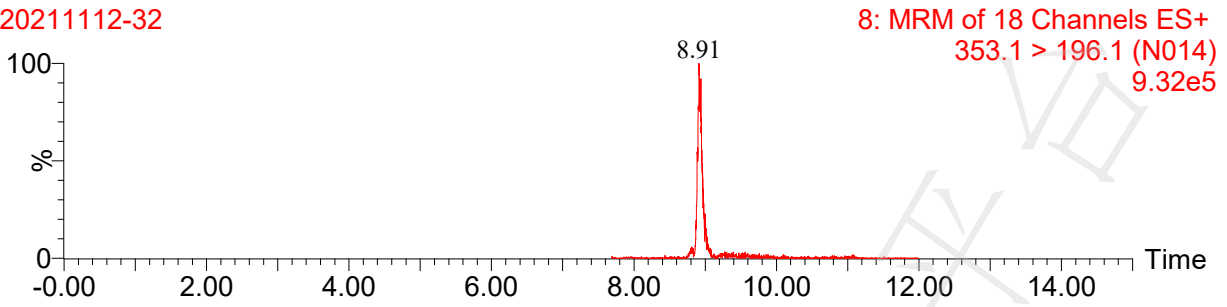


std10ppb
20211112-32



std10ppb

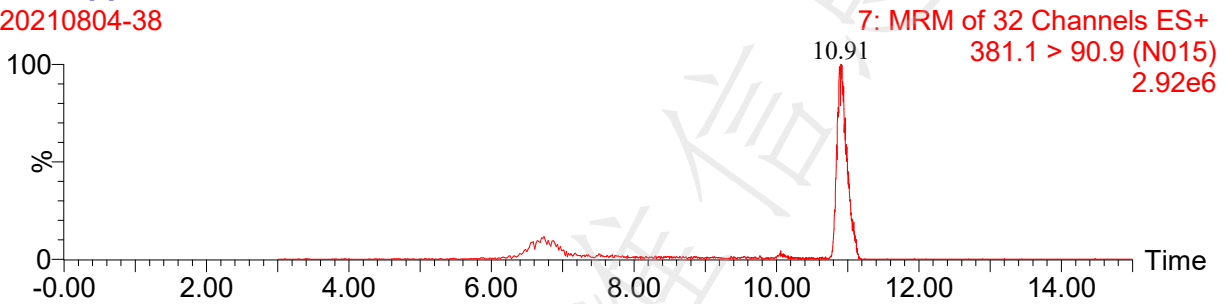
20211112-32



29. 苏丹红 III

std 10ppb

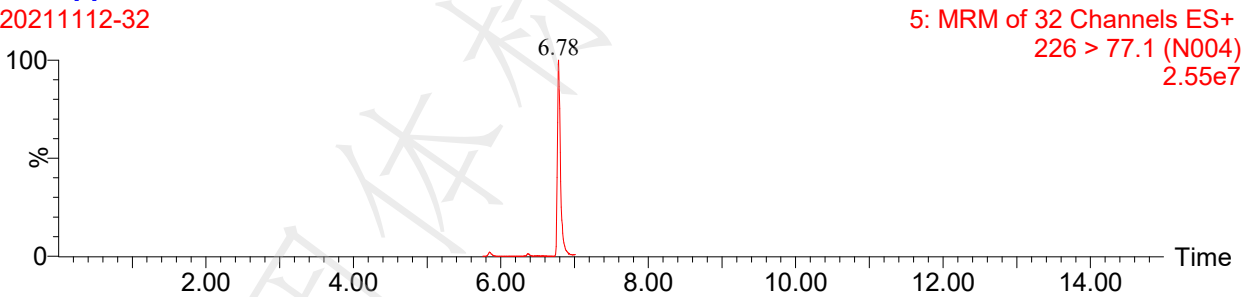
20210804-38



30. 苏丹红 IV

std10ppb

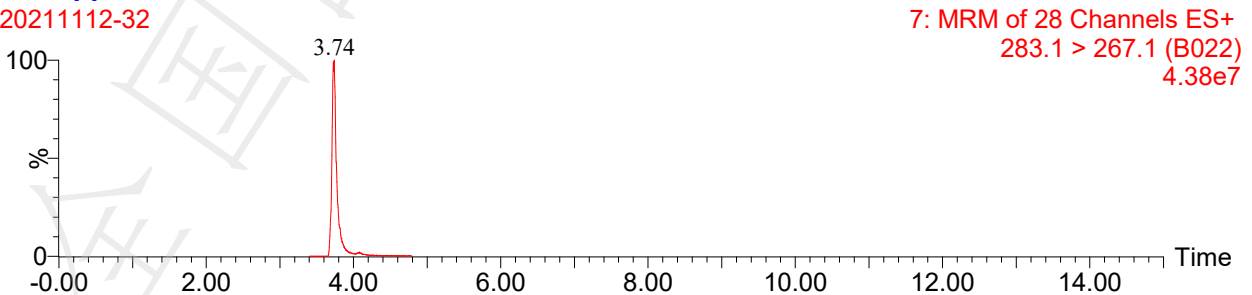
20211112-32



31. 苏丹黄

std10ppb

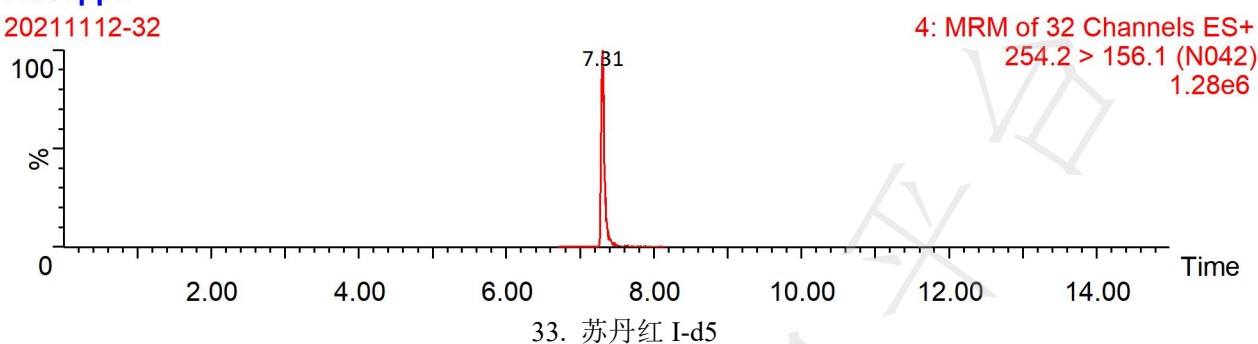
20211112-32



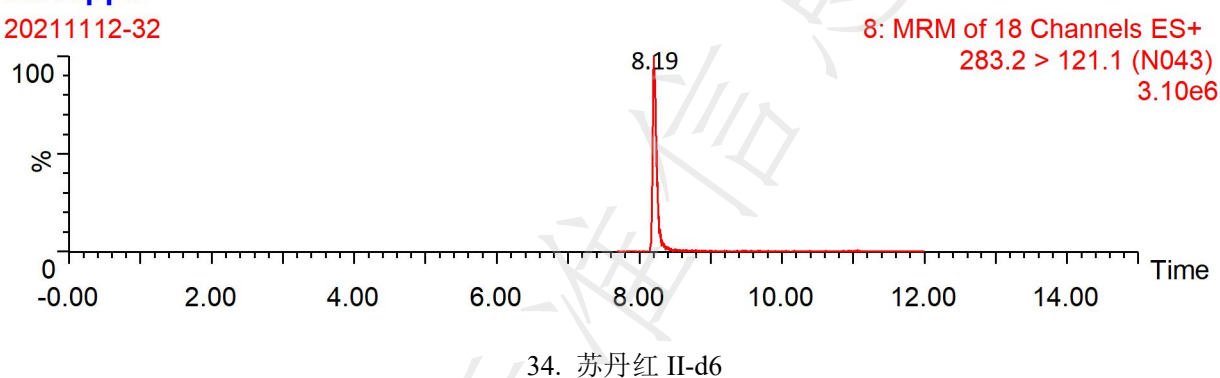
32. 硫黄素 T

std10ppb

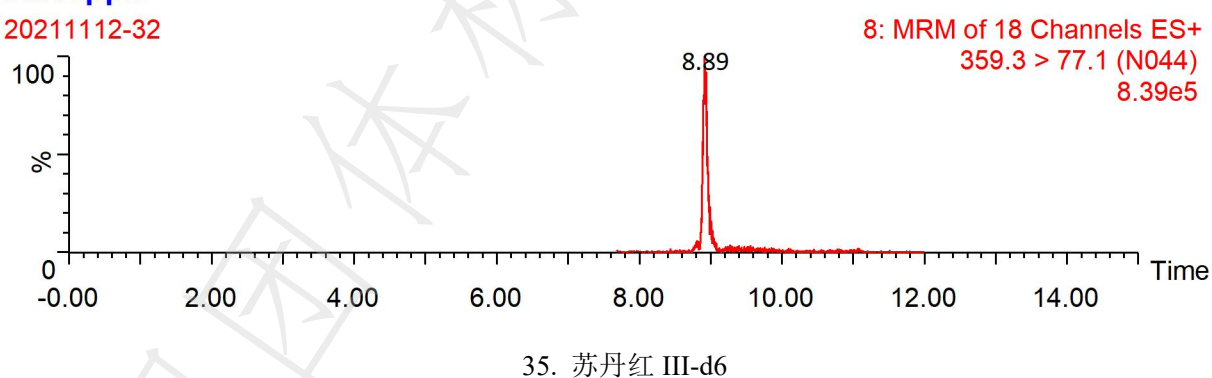
20211112-32

**std10ppb**

20211112-32

**std10ppb**

20211112-32

**std 10ppb**

20210804-38

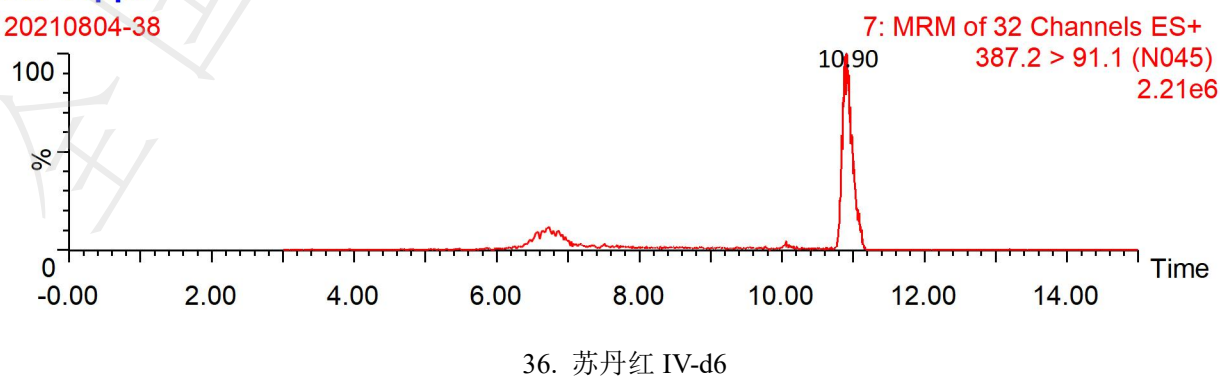


图 C.1 禁用脂溶性合成色素特征离子质量色谱图 (A 组: 10 ng/mL; B 组: 100 ng/mL)

