

BJS

食品补充检验方法

BJS 202204

豆制品中碱性嫩黄等 11 种工业染料的测定

2022-02-07 发布

国家市场监督管理总局 发布

豆制品中碱性嫩黄等 11 种工业染料的测定

1 范围

本方法规定了豆制品中分散橙 11、分散橙 1、分散橙 3、分散橙 37、分散黄 3、二甲基黄、二乙基黄、碱性橙 22、碱性橙 21、碱性嫩黄、苏丹橙 G 的高效液相色谱-串联质谱测定方法。

本方法适用于豆腐、豆皮、腐竹、油豆皮、油豆腐中分散橙 11、分散橙 1、分散橙 3、分散橙 37、分散黄 3、二甲基黄、二乙基黄、碱性橙 22、碱性橙 21、碱性嫩黄、苏丹橙 G 的定性确证和定量测定。

2 原理

样品中的碱性嫩黄等 11 种染料,经过乙腈提取、离心,上清液经分散固相萃取净化,高效液相色谱-串联质谱仪检测,外标法定量。

3 试剂和材料

除另有说明,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 乙腈(CH_3CN):色谱纯。

3.1.2 乙酸铵($\text{CH}_3\text{COONH}_4$):色谱纯。

3.1.3 甲酸(HCOOH):优级纯。

3.1.4 无水硫酸钠(Na_2SO_4)。

3.2 试剂配制

0.1%甲酸水溶液(含 5 mmol/L 乙酸铵):称取 0.385 g 乙酸铵(3.1.2),加入适量水溶解,再加入 1 mL 甲酸(3.1.3),用水定容至 1 000 mL。

3.3 标准品

分散橙 11、分散橙 1、分散橙 3、分散橙 37、分散黄 3、二甲基黄、二乙基黄、碱性橙 22、碱性橙 21、碱性嫩黄、苏丹橙 G 标准品的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量详见附录 A 中表 A.1,纯度均 $\geq 90\%$ 。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 标准品储备液(1 mg/mL):准确称取标准品(3.3)10 mg(精确至 0.01 mg),用乙腈(3.1.1)溶解定容至 10 mL,配制成质量浓度为 1 mg/mL 的标准品储备液,0 °C~4 °C 保存,有效期 3 个月。

注:在配制标准品储备液时,要注意将标准品纯度折算进储备液浓度中。

3.4.2 混合标准中间溶液(50 ng/mL):分别准确移取各组分的标准品储备液(3.4.1)0.05 mL,置于同一 100 mL 容量瓶中,用乙腈(3.1.1)溶解,摇匀并定容。精密吸取上述混合标准溶液 1.0 mL 置于 10 mL 量瓶中,乙腈(3.1.1)定容至刻度,摇匀,配制成质量浓度为 50 ng/mL 的混合标准中间溶液。

0℃~4℃ 避光保存,可保存1周。

3.4.3 混合标准工作溶液:取5 mL容量瓶6个,分别依次加入混合标准中间溶液(50 ng/mL)(3.4.2) 0 mL、0.02 mL、0.05 mL、0.10 mL、0.5 mL、1.0 mL,用空白样品提取液(5.3)稀释并定容至刻度,余下操作同5.2.2,制备成系列标准工作溶液,溶液中各组分质量浓度分别为0 ng/mL、0.2 ng/mL、0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL。临用现配。

3.5 材料

3.5.1 *N*-丙基乙二胺(PSA):40 μm~100 μm。

3.5.2 十八烷基硅烷键合硅胶(C₁₈):40 μm~100 μm。

3.5.3 QuEChERS净化粉末:每份含PSA(3.5.1)50 mg、C₁₈(3.5.2)50 mg、MgSO₄ 100 mg。

3.5.4 微孔滤膜(PVDF):0.22 μm,水相。

4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪:配有电喷雾离子源(ESI)。

4.2 分析天平:感量为0.01 mg和0.001 g。

4.3 涡漩振荡器。

4.4 超声波提取器。

4.5 离心机:≥8 000 r/min。

5 分析步骤

5.1 试样制备与保存

取有代表性样品约500 g,粉碎均匀后装入洁净容器内密封并做好标识,于0℃~4℃下保存。

注:豆腐基质试样需在3天内进行检验。

5.2 样品前处理

5.2.1 提取

准确称取样品1 g(精确至0.001 g)置于15 mL具塞离心管中,加无水硫酸钠(3.1.4)2 g,准确加入5 mL乙腈(3.1.1),涡漩混匀1 min,超声20 min(超声10 min时取出涡漩混匀1 min),冷却至室温后,8 000 r/min离心10 min,取上清液净化。

5.2.2 净化

取上述上清液1.5 mL,置于内含1份QuEChERS净化粉末(3.5.3)的离心管中,涡漩振荡1 min,8 000 r/min离心5 min,取上清液过0.22 μm微孔滤膜(3.5.4),供高效液相色谱-串联质谱仪测定。

5.3 空白样品提取液的制备

分别准确称取与试样基质相同或相近的阴性样品1 g(精确至0.001 g)共6份,按试样同法(5.2.1)制备,上清液作为空白样品提取液,用于混合标准工作溶液(3.4.3)制备。

5.4 仪器参考条件

5.4.1 高效液相色谱参考条件

高效液相色谱参考条件如下：

- a) 色谱柱：Kinetex XB-C₁₈ 2.1 mm×100 mm 1.7 μm,或性能相当者；
- b) 流动相：A相为0.1%甲酸水溶液(含5 mmol/L 乙酸铵)(3.2.1),B相为乙腈(3.1.1),梯度洗脱程序见表1；
- c) 流速：0.2 mL/min；

表1 梯度洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0.00	80	20
4	50	50
5	30	70
8	5	95
15	5	95
16	80	20
20	80	20

- d) 柱温：30 ℃；
- e) 进样体积：5 μL。

5.4.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

- a) 离子源：电喷雾离子源(ESI)；
- b) 扫描方式：正离子扫描；
- c) 检测方式：多反应监测(MRM)。

其他质谱参考条件见附录B中表B.1。

5.5 标准曲线的制作

将混合标准工作溶液分别注入高效液相色谱-串联质谱仪中,测定相应的峰面积,以混合标准工作溶液中各组分的浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标绘制标准曲线,得到线性方程。

5.6 试样溶液的测定

5.6.1 定性测定

将混合标准工作溶液(3.4.3)和试样溶液(5.2.2)注入高效液相色谱-串联质谱仪中,记录混合标准工作溶液和试样溶液中各化合物的保留时间,在相同条件下,试样溶液与标准溶液中待测组分的质量色谱峰相对保留时间偏差在±2.5%以内,且其定性离子与浓度相当的标准溶液中相应的定性离子相对丰度相比,偏差不超过表2规定的范围,则可判定试样中检出对应的被测化合物。标准溶液典型图谱见附

录 C 中图 C.1。

表 2 相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 $k/\%$	$k > 50$	$50 \geq k > 20$	$20 \geq k > 10$	$k \leq 10$
允许的相对偏差/ $\%$	± 20	± 25	± 30	± 50

5.6.2 定量测定

将混合标准工作溶液(3.4.3)和试样溶液(5.2.2)注入高效液相色谱-串联质谱仪中,用标准曲线计算试样溶液中各待测组分浓度。试样溶液中各待测组分的响应值应在线性范围内,若超出线性范围,应减少试样称样量重新检测。

6 结果计算

试样中各目标化合物含量按式(1)计算:

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

式中:

- X —— 试样中目标化合物含量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);
- ρ —— 由标准工作曲线得到的试样溶液中目标化合物的质量浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
- V —— 试样定容体积,单位为毫升(mL);
- m —— 试样的称样量,单位为克(g)。

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,计算结果保留 2 位有效数字。

7 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%。

8 其他

当样品称样量为 1 g,定容体积为 5 mL 时,本方法检出限和定量限如下:

碱性橙 21、分散黄 3、碱性嫩黄、二乙基黄、分散橙 3、分散橙 37、碱性橙 22、分散橙 1、苏丹橙 G、二甲基黄和分散橙 11 检出限为 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

附录 A

(资料性)

标准品的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式和相对分子质量

标准品的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式和相对分子质量见表 A.1。

表 A.1 标准品的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量

序号	化合物名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量
1	苏丹橙 G	Sudan Orange G	2051-85-6	$C_{12}H_{10}N_2O_2$	214.22
2	二甲基黄	Methyl yellow	60-11-7	$C_{14}H_{15}N_3$	225.29
3	分散橙 11	Disperse Orange 11	82-28-0	$C_{15}H_{11}NO_2$	237.25
4	分散橙 3	Disperse Orange 3	730-40-5	$C_{12}H_{10}N_4O_2$	242.23
5	二乙基黄	Ethyl yellow	2481-94-9	$C_{16}H_{19}N_3$	253.34
6	碱性嫩黄	Auramine O	2465-27-2	$C_{17}H_{22}N_3Cl$	303.84
7	分散黄 3	Disperse yellow 3	2832-40-8	$C_{15}H_{15}N_3O_2$	269.30
8	碱性橙 21	Basic Orange 21	3056-93-7	$C_{22}H_{23}ClN_2$	350.88
9	分散橙 1	Disperse Orange 1	2581-69-3	$C_{18}H_{14}N_4O_2$	318.33
10	碱性橙 22	Basic Orange 22	4657-00-5	$C_{28}H_{27}ClN_2$	426.98
11	分散橙 37	Disperse Orange 37	13301-61-6	$C_{17}H_{15}C_{12}N_5O_2$	392.24

附 录 B
(资料性)
质谱参考条件

质谱参考条件如下：

- a) 毛细管电压:3 kV;
- b) 脱溶剂气温度:500 °C;
- c) 鞘气流速:800 L/h;
- d) 辅助气流速:150 L/h;
- e) 定量离子对、定性离子对、碰撞能量和锥孔电压见表 B.1。

表 B.1 多反应监测(MRM)条件

化合物	扫描方式	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能量/eV	锥孔电压/V
苏丹橙 G	+	215.0	93.2 ^a	31	30
			198.1	15	30
二甲基黄	+	226.0	77.2 ^a	21	30
			120.1	30	30
分散橙 11	+	238.0	164.7 ^a	35	30
			181.4	30	30
分散橙 3	+	243.0	122.1 ^a	17	30
			75.3	15	30
二乙基黄	+	254.2	77.1 ^a	20	30
			134.1	22	30
碱性嫩黄	+	268.0	147.1 ^a	28	30
			107.2	32	30
分散黄 3	+	270.0	107.0 ^a	26	30
			150.0	16	30
碱性橙 21	+	315.2	270.0 ^a	23	30
			300.0	39	30
分散橙 1	+	319.2	169.1 ^a	22	30
			122.0	20	30
碱性橙 22	+	391.0	376.0 ^a	27	30
			220.0	29	30
分散橙 37	+	392.0	351.0 ^a	22	30
			133.0	34	30
注：对不同质谱仪器，仪器参数可能存在差异，测定前需将质谱条件优化至最佳。					
^a 定量离子。					

附录 C

(资料性)

标准溶液多反应监测(MRM)色谱图

11 种工业染料标准溶液多反应监测(MRM)色谱图见图 C.1。

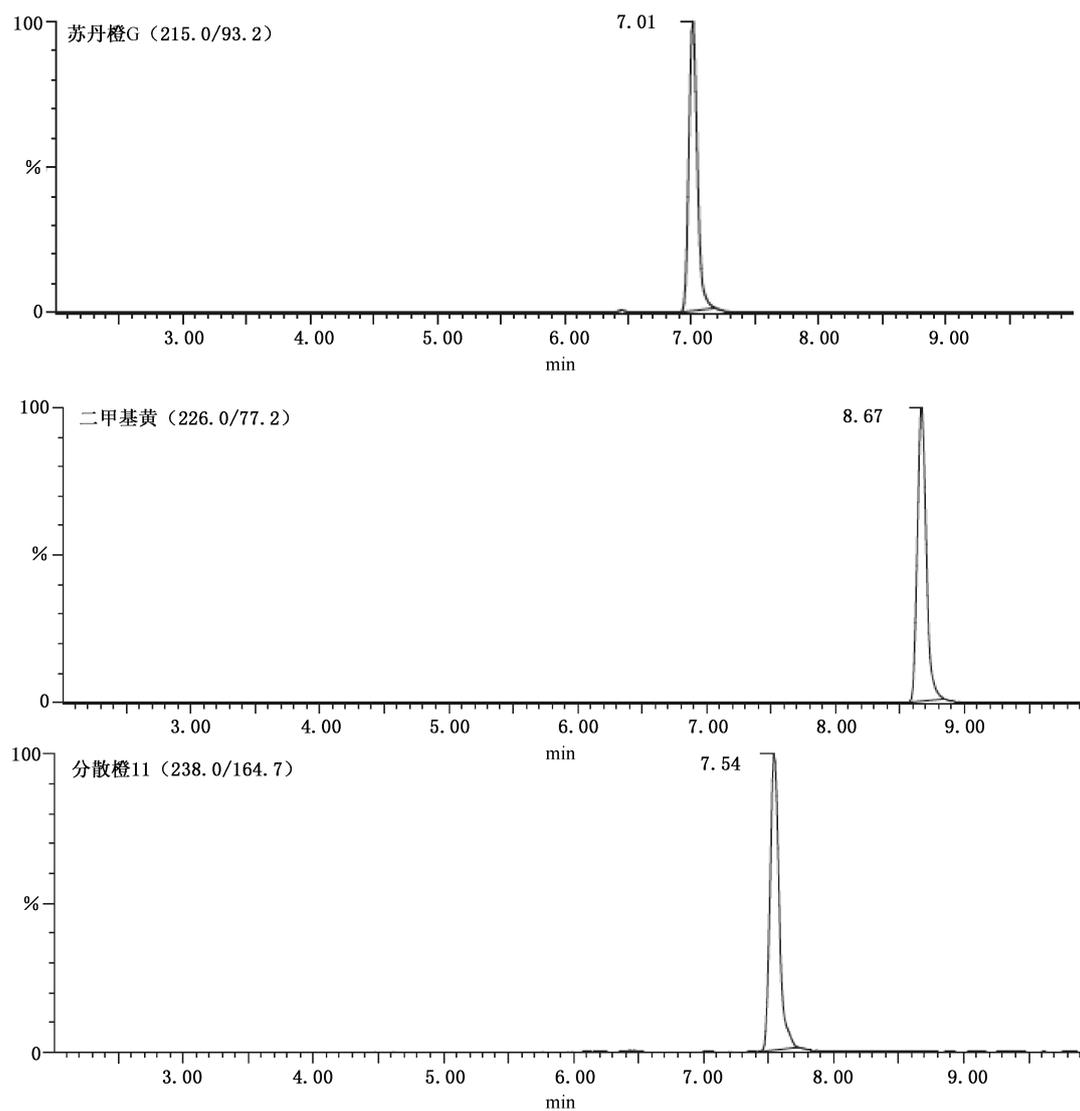


图 C.1 11 种工业染料标准溶液(100 ng/mL)多反应监测(MRM)色谱图

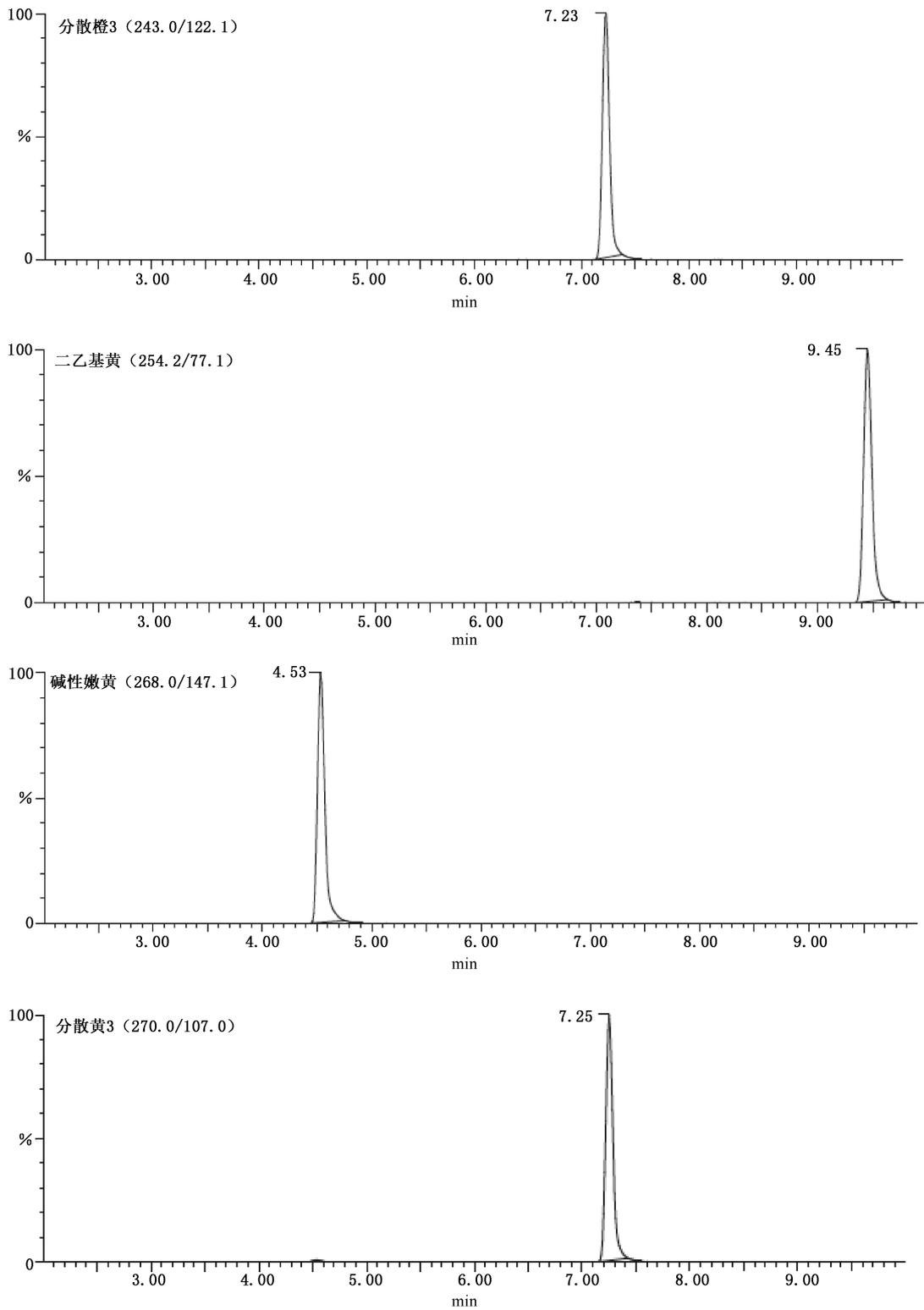


图 C.1 11 种工业染料标准溶液(100 ng/mL)多反应监测(MRM)色谱图(续)

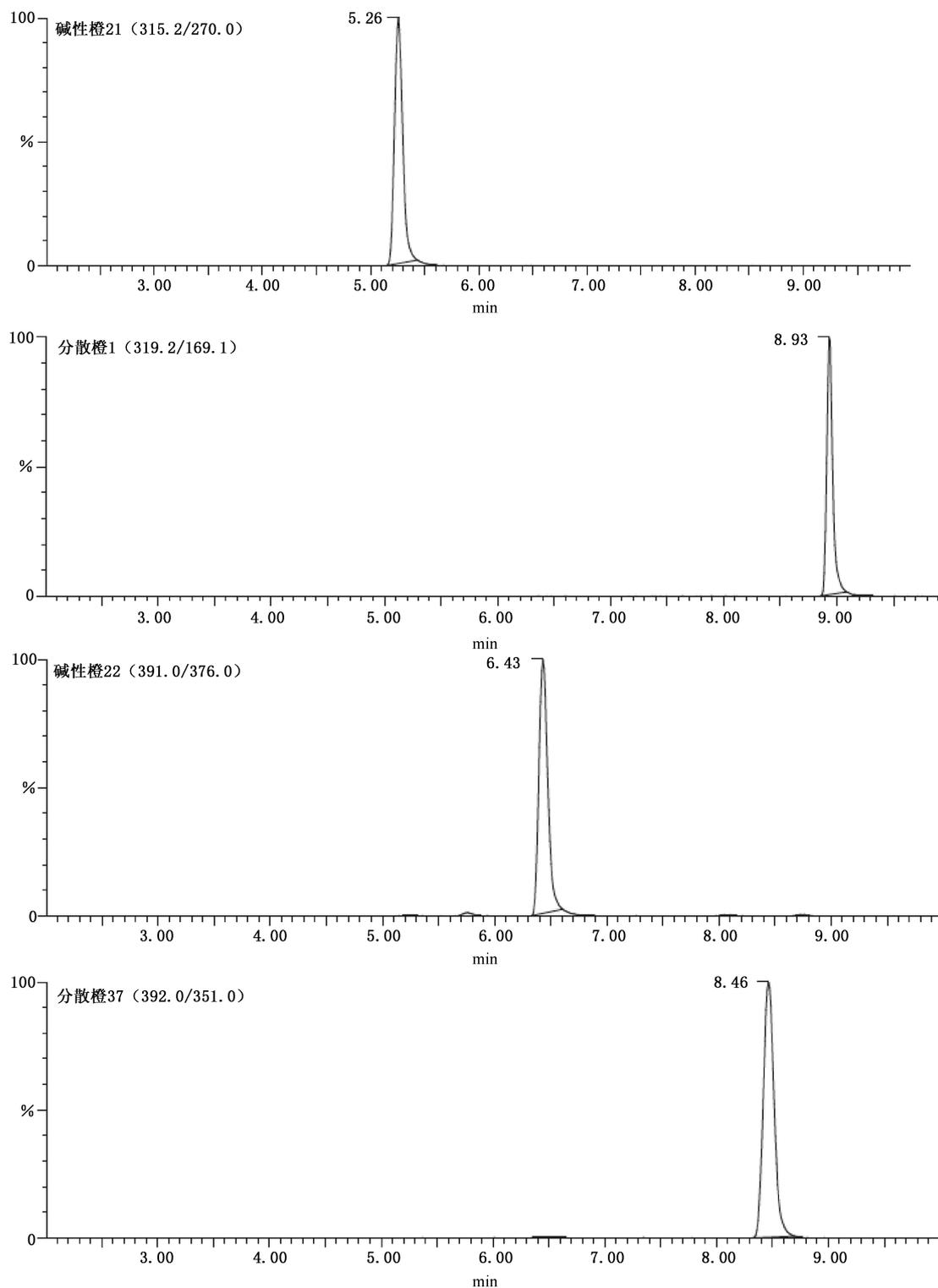


图 C.1 11 种工业染料标准溶液 (100 ng/mL) 多反应监测 (MRM) 色谱图 (续)

BJS 202204

本方法负责起草单位：山西省食品药品检验所。

本方法验证单位：江西省食品药品检验研究院、四川省食品药品检验检测院、重庆市食品药品检验检测研究院、秦皇岛海关技术中心、山西省分析科学研究院。

本方法主要起草人：陈煜、杨国伟、张烨、刘玮、阎安婷、易路遥、张昂、康乐、赵瑛瑛。