

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3536—2013

出口食品中酸性橙Ⅱ号的检测方法

Determination of Acid Orange Ⅱ in foods for export

2013-03-01 发布

2013-09-16 实施

**中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布**

前　　言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国广东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：魏国彬、蔡璇、李达。

出口食品中酸性橙Ⅱ号的检测方法

1 范围

本标准规定了出口食品中酸性橙Ⅱ号的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于饮料、红酒、辣椒酱、黄鱼和卤肉类食品中酸性橙Ⅱ号的检测。

2 原理

样品经乙醇-氨溶液提取,用氨基阴离子交换固相萃取柱净化,反相高效液相色谱-二极管阵列检测器进行色谱分析,采用外标法定量。

3 试剂和材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

3.1 甲醇:色谱纯。

3.2 2%甲酸水溶液:取2 mL甲酸,用水定容至100 mL。

3.3 10%氨水甲醇溶液:取10 mL氨水,用甲醇定容至100 mL。

3.4 乙醇-氨溶液:取20 mL氨水,加入70 mL乙醇,用水定容至100 mL,摇匀后备用。

3.5 0.02 mol/L乙酸铵溶液:准确称取1.54 g乙酸铵,加水至1 000 mL,溶解,经0.45 μm滤膜过滤。

3.6 氨基阴离子交换固相萃取柱:500 mg,3 mL,或相当者。使用前依次用3 mL甲醇、3 mL 2%甲酸水溶液活化。

3.7 酸性橙Ⅱ号标准贮备液:准确称取酸性橙Ⅱ号10.0 mg(纯度≥95%),用水溶解后定容至100 mL,配成100 μg/mL的标准贮备液。

3.8 酸性橙Ⅱ号标准工作液:分别吸取适量标准贮备液用水依次稀释成浓度为0.1 μg/mL、0.2 μg/mL、0.5 μg/mL、1.0 μg/mL、10.0 μg/mL的标准工作液,贮存于4 ℃冰箱中。

4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱仪:配有二极管阵列检测器(DAD)。

4.2 分析天平:感量0.000 1 g和0.01 g。

4.3 超声波清洗器。

4.4 离心机:转速不低于5 000 r/min。

4.5 旋转蒸发仪。

4.6 氮吹仪。

4.7 固相萃取装置。

4.8 涡旋混合器。

4.9 0.45 μm水相滤膜。

5 试样制备与保存

将液体、浆状样品混合均匀，固体样品需磨细。贮藏在冰箱中的试样，应在试验前预先取出，并恒温至室温。

6 样品处理

6.1 提取

6.1.1 液态试样

准确称取样品 10 g(精确至 0.01 g)(如含有乙醇需水浴加热除去乙醇后再用水定容至原体积)于 25 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，混匀，过 0.45 μm 滤膜后，待测。

6.1.2 固态试样

准确称取已粉碎样品 2 g(精确至 0.01 g)，加乙醇-氨溶液(3.4)20 mL，超声波提取 30 min，再振荡提取 10 min 后，以不低于 5 000 r/min 的转速离心 10 min，重复提取一次，合并上清液，浓缩约至 10 mL，混匀后待净化。

6.1.3 净化

将 6.1.2 中的待净化液转移至固相萃取柱(3.6)中。依次用 3 mL 甲酸水溶液、3 mL 甲醇溶液淋洗，用 6 mL 氨水甲醇溶液(3.3)洗脱。整个固相萃取过程流速控制在 5 mL/min 之内。收集洗脱液，氮吹至近干，加水定容至 2 mL，涡旋混合 1 min，过 0.45 μm 滤膜后，待测。

7 测定

7.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

- a) 色谱柱：C₁₈ 柱，250 mm×4.6 mm，粒径为 5 μm 或相当型号色谱柱；
- b) 流动相：甲醇：乙酸铵(0.02 mol/L)=65：35；
- c) 检测波长：484 nm；
- d) 流速：1 mL/min；
- e) 进样体积：10 μL；
- f) 柱温：室温。

7.2 液相色谱测定

在上述色谱条件下，准确吸取标准工作液(3.8)及试液，在 7.1 色谱条件下分别进样，得到标准工作液和试液中酸性橙Ⅱ号的峰面积，外标法定量，同时做空白。酸性橙Ⅱ号标准物质典型色谱图参见附录 A。

7.3 平行试验

按照以上步骤对同一试样进行平行试验测定。

7.4 空白试验

除不加试样外，均按上述测定步骤进行。

8 结果计算

按式(1)计算样品中酸性橙Ⅱ号的含量。计算结果需扣除空白值。

$$X = \frac{A_s \times c_{\text{std}} \times V \times f}{A_{\text{std}} \times m} \quad \dots \dots \dots \quad (1)$$

式中：

X ——样品中酸性橙Ⅱ号的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

A_s ——试样溶液中酸性橙Ⅱ号的峰面积;

c_{std} ——标准工作液中酸性橙Ⅱ号的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)。

V ——溶解试样或浓缩后所定容的体积,单位为毫升(mL);

f ——稀释因子；

A_{std} —— 标准工作液中酸性橙 II 号的峰面积；

m ——试样的称样量, 单位为克(g)。

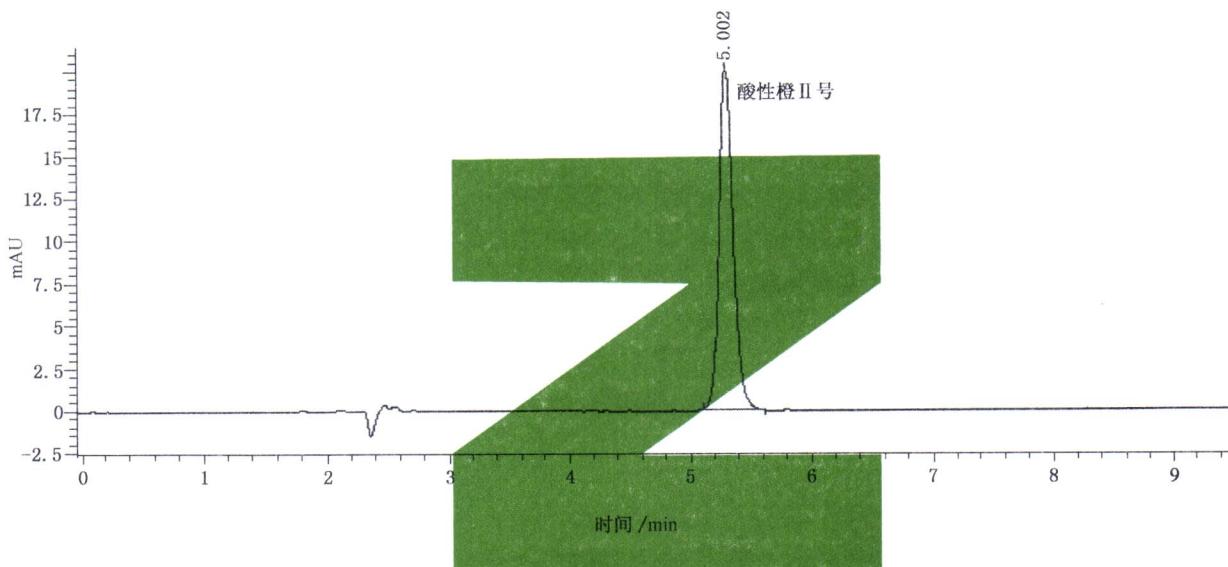
9 测定低限(LOD)

本方法酸性橙Ⅱ号的测定低限(LOD)为0.1 mg/kg。

10 回收率和精密度

参见附录 B 的表 B.1。

附录 A
(资料性附录)
标准物高效液相色谱图



附录 B
(资料性附录)
添加回收率

表 B.1 5种食品中酸性橙Ⅱ号的添加回收率($n=10$)

食品名称	添加浓度 mg/kg	平均测定值 mg/kg	回收率范围 %	相对标准偏差 %
饮 料	0.1	0.095	84.3~104.7	7.38
	0.2	0.185	88.0~101.5	4.19
	1.0	0.994	96.0~104.2	3.05
红 酒	0.1	0.097	84.1~103.1	7.96
	0.2	0.195	90.5~102.8	3.54
	1.0	1.012	96.2~106.8	3.35
辣 椒 酱	0.1	0.086	80.1~90.3	4.20
	0.2	0.164	79.2~85.3	2.27
	1.0	0.871	82.2~96.5	4.35
黄 鱼	0.1	0.084	79.8~89.6	3.54
	0.2	0.163	79.9~84.1	1.87
	1.0	0.850	80.3~87.5	3.03
卤 肉	0.1	0.087	81.5~91.4	3.83
	0.2	0.172	82.0~90.3	3.17
	1.0	0.896	85.1~94.5	3.67