

ICS 67.040
X 04



中华人民共和国国家标准

GB/T 9695.6—2008
代替 GB/T 9695.6—1988

肉制品 胭脂红着色剂测定

Meat products—Determination of artificial colour ponceau 4R

2008-06-25 发布

2009-01-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

GB/T 9695 由以下部分组成：

- GB/T 9695.1《肉与肉制品 游离脂肪含量的测定》；
- GB/T 9695.2《肉与肉制品 脂肪酸测定》；
- GB/T 9695.3《肉与肉制品 铁含量测定》；
- GB/T 9695.4《肉与肉制品 总磷含量测定》；
- GB/T 9695.5《肉与肉制品 pH 测定》；
- GB/T 9695.6《肉制品 胭脂红着色剂测定》；
- GB/T 9695.7《肉与肉制品 总脂肪含量测定》；
- GB/T 9695.8《肉与肉制品 氯化物含量测定》；
- GB/T 9695.9《肉与肉制品 聚磷酸盐测定》；
- GB/T 9695.10《肉与肉制品 六六六、滴滴涕残留量测定》；
- GB/T 9695.11《肉与肉制品 氮含量测定》；
- GB/T 9695.13《肉与肉制品 钙含量测定》；
- GB/T 9695.14《肉制品 淀粉含量测定》；
- GB/T 9695.15《肉与肉制品 水分含量测定》；
- GB/T 9695.17《肉与肉制品 葡糖酸- δ -内酯含量的测定》；
- GB/T 9695.18《肉与肉制品 灰分测定》；
- GB/T 9695.19《肉与肉制品 取样方法》；
- GB/T 9695.20《肉与肉制品 锌的测定》；
- GB/T 9695.21《肉与肉制品 镁含量测定》；
- GB/T 9695.22《肉与肉制品 铜含量测定》；
- GB/T 9695.23《肉与肉制品 L(-)-羟脯氨酸含量测定》；
- GB/T 9695.24《肉与肉制品 胆固醇含量测定》；
- GB/T 9695.25《肉与肉制品 维生素 PP 含量测定》；
- GB/T 9695.26《肉与肉制品 维生素 A 含量测定》；
- GB/T 9695.27《肉与肉制品 维生素 B₁ 含量测定》；
- GB/T 9695.28《肉与肉制品 维生素 B₂ 含量测定》；
- GB/T 9695.29《肉制品 维生素 C 含量测定》；
- GB/T 9695.30《肉与肉制品 维生素 E 含量测定》；
- GB/T 9695.31《肉制品 总糖含量测定》。

本部分为 GB/T 9695 的第 6 部分。

本部分代替 GB/T 9695.6—1988《肉制品 胭脂红着色剂测定》。

本部分与 GB/T 9695.6—1988 相比主要变化如下：

- 按照 GB/T 1.1—2000《标准化工作导则 第 1 部分：标准的结构和编写规则》和 GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第 4 部分：化学分析方法》进行了结构调整和文字修改；
- 增加了规范性引用文件；
- 增加了方法的检出限；

GB/T 9695.6—2008

- 用高效液相色谱法作为第一法、比色法作为第二法测定肉制品中的胭脂红着色剂；试剂、仪器设备、分析步骤、结果计算作相应的改动；
- “纯化”步骤中用无水乙醇+氨水+水溶液代替氨溶液作为解吸液；
- 用第 10 章“精密度”及其内容代替 GB/T 9695.6—1988 的第 9 章“允许差”及其内容；
- 增加了“试验报告”一章；
- 增加了资料性附录 A。

本部分的附录 A 为资料性附录。

本部分由全国食品工业标准化技术委员会肉禽蛋制品分技术委员会提出并归口。

本部分起草单位：中国商业联合会商业标准中心、国家加工食品质量监督检验中心(广州)、广州市产品质量监督检验所。

本部分主要起草人：侯向昶、王强、郭新东、罗海英、陈晓珍、黄孟基、吴玉銮。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 9695.6—1988。

肉制品 胭脂红着色剂测定

1 范围

GB/T 9695 的本部分规定了肉制品中胭脂红着色剂的测定方法。

本部分的第一法适用于肉制品中胭脂红着色剂的测定,第二法适用于仅含胭脂红着色剂的肉制品中胭脂红的测定。

本方法的检出限:高效液相色谱法:0.05 mg/kg;比色法:0.4 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 GB/T 9695 的本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本部分,然而,鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用引用文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本部分。

GB/T 6682—1992 分析实验室用水规格和试验方法(neq ISO 3696:1987)

第一法 高效液相色谱法

3 原理

试样中的胭脂红经试样脱脂、碱性溶液提取、沉淀蛋白质、聚酰胺粉吸附、无水乙醇+氨水+水解吸后,制成水溶液,过滤后用高效液相色谱仪测定。根据保留时间定性,外标法定量。

4 试剂和材料

如无特别说明,所用试剂均为分析纯。

- 4.1 水:符合 GB/T 6682—1992 规定的二级水。
- 4.2 甲醇:色谱纯。
- 4.3 甲酸。
- 4.4 石油醚:沸程为 30 ℃~60 ℃。
- 4.5 无水乙醇。
- 4.6 钨酸钠。
- 4.7 柠檬酸。
- 4.8 乙酸铵。
- 4.9 海砂:化学纯。先用盐酸溶液(1+10)煮沸 15 min,用水(4.1)洗至中性,再用 50 g/L 氢氧化钠溶液煮 15 min,用水(4.1)洗至中性,于 105 ℃干燥,贮于具塞瓶中。
- 4.10 硫酸溶液[1+9(体积比)]:量取 10 mL 浓硫酸,在搅拌的同时缓慢加入到 90 mL 水中。
- 4.11 钨酸钠溶液($c=100$ g/L):称取 10 g 钨酸钠,加水溶解,稀释至 100 mL。
- 4.12 乙酸铵溶液($c=0.02$ mol/L):称取 1.54 g 乙酸铵,加水溶解,稀释至 1 000 mL。经 0.45 μm 滤膜过滤。
- 4.13 柠檬酸溶液($c=200$ g/L):称取 20 g 柠檬酸($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$),加水溶解,稀释至 100 mL。
- 4.14 甲醇+甲酸[3+2(体积比)]:量取 60 mL 甲醇、40 mL 甲酸,混匀。
- 4.15 无水乙醇+氨水+水[7+2+1(体积比)]:量取 70 mL 无水乙醇、20 mL 氨水、10 mL 水,混匀。

- 4.16 pH=5的水:取100 mL水,用柠檬酸溶液(4.13)调pH到5。
- 4.17 聚酰胺粉(尼龙6):过200目筛。
- 4.18 胭脂红标准品:含量 $\geq 95\%$ 。
- 4.19 胭脂红标准储备液($c=1\text{ mg/mL}$):称取按其纯度折算为100%质量的胭脂红标准品0.100 g,置于100 mL容量瓶中,用pH=5的水(4.16)溶解,并稀释至刻度。或使用有证标准溶液用水稀释而成。
- 4.20 胭脂红标准工作液:临用时将胭脂红标准储备液(4.19)用水稀释至所需浓度,经 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤。

5 仪器和设备

实验室常规仪器及下列仪器。

- 5.1 机械设备:用于试样的均质化。包括高速旋转的切割机,或多孔板的孔径不超过4 mm的绞肉机。
- 5.2 高效液相色谱仪(配有紫外检测器或二极管阵列检测器)。
- 5.3 G3砂芯漏斗。
- 5.4 恒温水浴锅。
- 5.5 分析天平:可准确称重至0.001 g。

6 取样

本部分不规定取样方法。取样方法参见GB/T 9695.19。

实验室所收到的样品应具有代表性且在运输和储藏过程中没受损或发生变化。

至少取有代表性的样品200 g。

7 试样制备

使用适当的机械设备(5.1)将试样均质。注意避免试样的温度超过 $25\ ^\circ\text{C}$ 。若使用绞肉机,试样至少通过该仪器两次。

将试样装入密封的容器里,防止变质和成分变化。试样应尽快进行分析,均质化后最迟不超过24 h。

8 分析步骤

8.1 提取

称取试样5.0 g~10.0 g,置于研钵中,加海砂(4.9)少许,研磨混匀,吹冷风使试样略为干燥,加入石油醚(4.4)50 mL,搅拌,放置片刻,弃去石油醚,如此重复处理3次,除去脂肪,吹干。加入无水乙醇+氨水+水(4.15)溶液提取胭脂红,通过砂芯漏斗(5.3)抽滤提取液,反复多次,至提取液无色为止。收集全部提取液于250 mL锥形瓶中。

8.2 沉淀蛋白质

在 $70\ ^\circ\text{C}$ 水浴上浓缩提取液至10 mL以下,依次加入1.0 mL硫酸溶液(4.10)和1.0 mL钨酸钠溶液(4.11),混匀,继续 $70\ ^\circ\text{C}$ 水浴加热5 min,沉淀蛋白质。取下锥形瓶,冷却至室温,用滤纸过滤,用少量水洗涤滤纸,滤液收集于100 mL烧杯中。

8.3 纯化

将上述滤液加热至 $70\ ^\circ\text{C}$,将1.0 g~1.5 g聚酰胺粉(4.17)加少许水调成粥状,倒入试样溶液中,使色素完全被吸附。将吸附色素的聚酰胺粉全部转移到漏斗(5.3)中,抽滤,用 $70\ ^\circ\text{C}$ 柠檬酸溶液(4.13)洗涤3次~5次,然后用甲醇+甲酸(4.14)洗涤3次~5次,至洗出液无色为止,再用水洗至流出液呈中性。以上洗涤过程要搅拌。用无水乙醇+氨水+水(4.15)解吸3次~5次,每次5 mL,收集解吸液,蒸发至近干,加水溶解并定容至10 mL。经 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤,滤液待测。

8.4 测定

8.4.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱: C₁₈柱, 150 mm×4.6 mm(内径), 5 μm;
- b) 流动相: 甲醇和 0.02 mol/L 乙酸铵溶液, 梯度洗脱参数见表 1;
- c) 流速: 1.0 mL/min;
- d) 柱温: 30 ℃;
- e) 检测波长: 508 nm;
- f) 进样量: 20 μL。

表 1 液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	甲醇/%	0.02 mol/L 乙酸铵溶液/%
0	22	78
5	35	65
20	85	15
21	22	78
25	22	78

8.4.2 液相色谱测定

根据试样溶液中胭脂红的含量情况, 选定峰面积相近的标准工作液。分别将待测试样溶液(8.3)和标准工作液用高效液相色谱仪测定。标准工作液和试样溶液中胭脂红的响应值均应在的检测线性范围内, 参见附录 A。根据保留时间定性, 外标法定量。

8.5 平行试验

按以上步骤, 对同一试样进行平行试验测定。

8.6 空白试验

除不称取试样外, 均按上述步骤进行。

9 计算

按式(1)计算试样中着色剂的含量。

$$w = \frac{c \times A \times V \times 1\,000}{A_s \times m \times 1\,000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- w ——试样中胭脂红的含量, 单位为毫克每千克(mg/kg);
- c ——标准工作液中胭脂红的浓度(8.4.2), 单位为毫克每升(mg/L);
- A ——试样溶液中胭脂红的峰面积;
- V ——试样溶液最终定容的体积(8.3), 单位为毫升(mL);
- A_s ——标准工作液中胭脂红的峰面积;
- m ——试样质量, 单位为克(g)。

结果扣除空白值。

结果保留两位有效数字。

10 精密度

同一分析者在同一实验室、采用相同的方法和相同的仪器、在短时间间隔内对同一样品独立测定两次。两次测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

11 试验报告

试验报告应说明：

- 所有与识别样品有关的必需信息；
- 取样方法；
- 依据本部分所采用的方法；
- 本部分未规定或未列为可选的所有操作，以及可能影响测试结果的其他因素；
- 测试结果；
- 如果检验了重复性，列出最终结果。

第二法 比色法

12 原理

试样中的胭脂红经试样脱脂、碱性溶液提取、沉淀蛋白质、聚酰胺粉吸附、无水乙醇+氨水+水解吸后，制成水溶液，过滤后用分光光度计测定吸光度，外标法定量。

13 试剂和材料

13.1 胭脂红标准工作液($c = 100 \text{ mg/L}$)：吸取胭脂红标准储备液(4.19)10.00 mL，用水定容至100 mL。

13.2 其他试剂和材料：同 4.1~4.19。

14 仪器和设备

实验室常规仪器及下列仪器。

14.1 分光光度计。

14.2 其他仪器和设备：同 5.2~5.5。

15 取样

同第 6 章。

16 试样制备

同第 7 章。

17 分析步骤

17.1 提取

同 8.1。

17.2 沉淀蛋白质

同 8.2。

17.3 纯化

同 8.3。

18 测定

吸取 0 mL、2.00 mL、4.00 mL、6.00 mL、8.00 mL、10.00 mL 胭脂红标准工作液(13.1)，分别置于 50 mL 容量瓶中，用水定容，配制成浓度分别为 0 mg/L、4 mg/L、8 mg/L、12 mg/L、16 mg/L、20 mg/L

的胭脂红标准工作液。用 1 cm 比色杯,以标准空白调节零点,于波长 510 nm 处测定标准工作液的吸光度。以胭脂红标准工作液的浓度为横坐标、相应的吸光度为纵坐标绘制标准曲线。用 1 cm 比色杯,以试剂空白调节零点,于波长 510 nm 处测定试样溶液的吸光度。根据试样溶液的吸光度,从标准曲线上查出胭脂红的相应浓度。

19 分析结果的计算

试样中胭脂红的含量按式(2)计算:

$$w = \frac{c \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots(2)$$

式中:

w ——试样中胭脂红的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c ——从标准曲线上查得的试样溶液中胭脂红的浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——试样溶液最终定容的体积(8.3),单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g)。

结果保留两位有效数字。

20 精密度

同第 10 章。

21 试验报告

同第 11 章。

附录 A
(资料性附录)

胭脂红标准溶液的液相色谱图

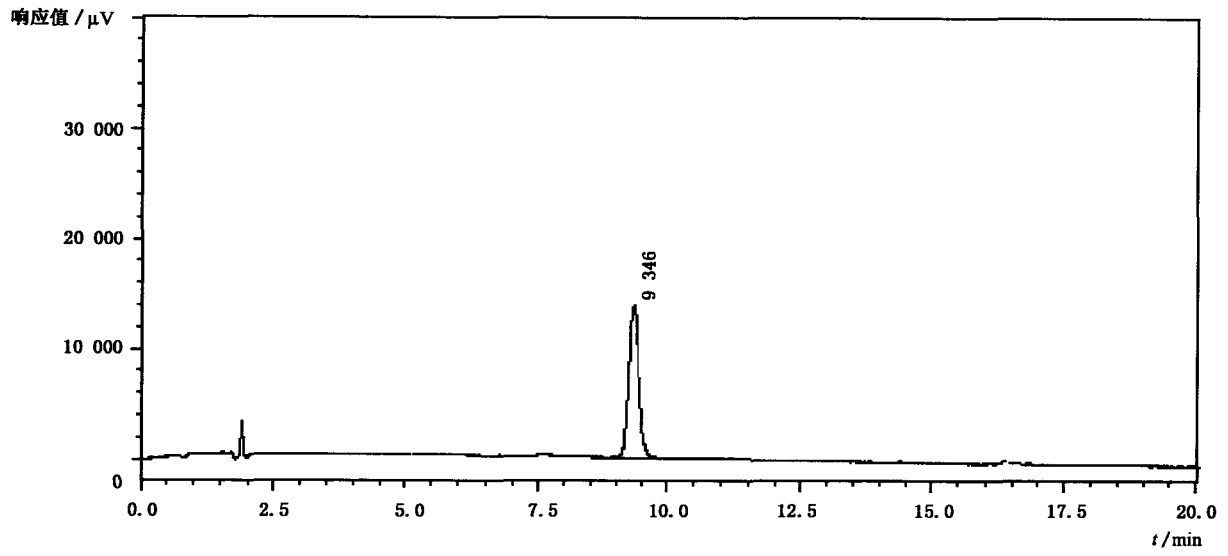


图 A.1 胭脂红标准溶液的液相色谱图

参 考 文 献

- [1] GB/T 9695.19 肉与肉制品 取样方法
-