

食品中二甲基黄和二乙基黄的测定 高效液相色谱法

Determination of Dimethyl Yellow and Diethyl Yellow in Foods

by High performance liquid chromatography method

2018-08-21 发布

2018-09-01 实施

深圳市市场和质量监督管理委员会 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 原理	1
4 试剂和材料	1
4.1 试剂及试剂的配制	1
4.2 标准物质及标准溶液的配制	1
5 仪器和设备	2
6 分析步骤	2
6.1 提取	2
6.2 净化	2
6.3 空白试验	2
6.4 仪器条件	2
6.5 测定	3
7 结果计算	3
8 精密度	3
9 其他	3
附录 A（资料性附录）二甲基黄和二乙基黄的高效液相色谱图	4

前 言

本文件依据GB/T 1.1-2009规则编制。

本文件由深圳市食品药品监督管理局归口。

本文件起草单位：深圳市计量质量检测研究院。

本文件主要起草人：刘慧强、王伟达、杜业刚、李芸、肖泽恩、李超、邹幼成、吴琛。

本文件为首次发布。

食品中二甲基黄和二乙基黄的测定

高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了二甲基黄和二乙基黄的测定方法。

本文件适用于豆类及豆制品中二甲基黄和二乙基黄的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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。

3 原理

用酸化的甲醇水溶液提取样品中的二甲基黄和二乙基黄，提取液经固相萃取小柱净化，氮吹浓缩后用甲醇定容，最后用反相高效液相色谱-紫外可见光检测器进行色谱分析，采用外标法定量。

4 试剂和材料

4.1 试剂及试剂的配制

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

4.1.1 水，GB/T 6682 规定，一级。

4.1.2 甲醇：色谱纯。

4.1.3 乙腈：色谱纯。

4.1.4 甲醇。

4.1.5 盐酸。

4.1.6 氨水。

4.1.7 5 mol/L 盐酸溶液：在 50 mL 水中缓慢加入盐酸（4.1.5）42 mL，混匀，冷却后再加水定容至 100 mL。

4.1.8 提取液：在 600 mL 甲醇中缓慢加入 5 mol/L 盐酸溶液（4.1.7）50 mL，混匀，静置后再加水定容至 1000 mL。

4.1.9 洗脱液：吸取 10 mL 氨水（4.1.6）用甲醇定容到 100 mL。

4.2 标准物质及标准溶液的配制

4.2.1 标准物质：二甲基黄（CAS：110-16-7），二乙基黄（CAS：2481-94-9），纯度大于99.0%。

4.2.2 标准储备溶液：分别准确称取二甲基黄、二乙基黄标准物质各20 mg（按纯度折算）于100 mL容量瓶中，用甲醇（4.1.2）溶解，定容至刻度，配制成200 mg/L的标准储备液，4℃ 以下冷藏。

4.2.3 标准工作液：将标准储备液用甲醇（4.1.2）稀释，得到浓度分别为0.100 mg/L、0.500 mg/L、1.00 mg/L、2.00 mg/L、 5.00 mg/L 的标准系列。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪，配二极管阵列检测器（DAD）。

5.2 千分之一分析天平：感量0.001 g。

5.3 万分之一分析天平：感量0.0001 g。

5.4 漩涡混合器。

5.5 空气控温摇床。

5.6 离心机：转速不低于6500 r/min。

5.7 氮吹仪。

6 分析步骤

6.1 提取

准确称取 2 g（精确至 0.001 g）样品到 50 mL 离心管，加入 10 mL 提取液（4.1.8），漩涡混匀，于摇床 300 rpm 下，振摇 30 min，在 7500 rpm 下离心 3 min，取出 5 mL 上清液于另一离心管中，待备用。

6.2 净化

PXC 固相萃取小柱依次用 3 mL 甲醇、3 mL 水活化，备用上清液全部上样，3 mL 甲醇淋洗，用 5 mL 洗脱液（4.1.9）洗脱，收集洗脱液。洗脱液放入氮吹仪中 45℃氮吹至干，加入 1 mL 甲醇复溶，经 0.22 μm 滤膜过滤，待高效液相测定。

6.3 空白试验

除不加入样品外，其他步骤同 6.1 和 6.2。

6.4 仪器条件

- a) 色谱柱：C18 柱（100 mm×3 mm，1.7 μm）或相当者；
- b) 流动相：乙腈：水（v：v）=80：20；
- c) 流速：1.0 mL/min；
- d) 柱温：25℃±5℃；
- e) 进样量：5 μL；
- f) 检测波长：430 nm。

6.5 测定

将标准系列和样品分别注入高效液相色谱仪,根据保留时间和吸收光谱图定性,外标法峰面积定量。

7 结果计算

该方法中标准工作溶液和待测样液中二甲基黄和二乙基黄的响应值,均应在仪器的检测线性范围内。按下列公式计算出样品中二甲基黄和二乙基黄的含量:

$$X = \frac{c \times V \times f}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X —— 样品中二甲基黄和二乙基黄的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- c —— 用标准曲线计算出待测样液中二甲基黄和二乙基黄的浓度,单位为毫克每升(mg/L);
- V —— 定容体积,单位为毫升(mL);
- m —— 试样质量,单位为克(g);
- f —— 稀释倍数。

计算结果扣除空白值,结果保留两位有效数字。

8 精密度

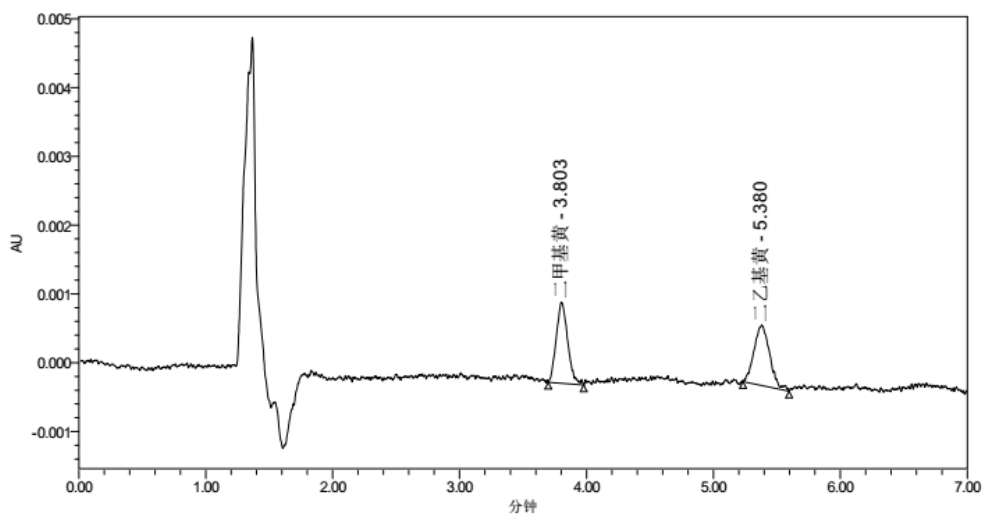
在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

9 其他

本文件检测方法的检出限:0.1 mg/kg。

附录 A
(资料性附录)

二甲基黄和二乙基黄的高效液相色谱图



图A.1 二甲基黄和二乙基黄的高效液相色谱图