



中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.149—2003
代替 GB/T 17335—1998

食品中栀子黄的测定

Determination of crocin in foods

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准代替 GB/T 17335—1998《食品中梔子黄的测定》。

本标准按照 GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第4部分：化学分析方法》对原标准的结构进行了修改。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准负责起草单位：中国预防医学科学院劳动卫生与职业病研究所；参加起草单位：卫生部食品卫生监督检验所。

本标准主要起草人：李严巍、王梅、杨祖英。

原标准于 1998 年首次发布，本次为第一次修订。

引 言

梔子黄作为食品着色剂已经列入 GB 2760—1996 食品添加剂使用卫生标准,最大使用量0.3 g/kg。

食品中栀子黄的测定

1 范围

本标准规定了食品中栀子黄色素的高效液相测定方法和薄层色谱法。

本标准适用于饮料、酒、糕点中栀子黄的测定。

第一法检出限为 $3.2 \mu\text{g/mL}$; 标准曲线线性范围为 $0 \text{ ng/mL} \sim 200 \text{ ng/mL}$ 。

第一法 高效液相色谱法

2 原理

试样中栀子黄经提取净化后,用高效液相色谱法测定,以保留时间定性、峰高定量,栀子甙是栀子黄的主要成分,为对照品。

3 试剂

试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

3.1 甲醇。

3.2 石油醚: $60^\circ\text{C} \sim 90^\circ\text{C}$ 。

3.3 乙酸乙酯。

3.4 三氯甲烷。

3.5 姜黄色素。

3.6 栀子甙。

3.7 栀子甙标准溶液:称取 2.75 mg 栀子甙标准品,用甲醇溶解,并用甲醇稀释至 100 mL 混匀。即得 $27.5 \mu\text{g/mL}$ 栀子甙。

3.8 栀子甙标准使用液:分别吸取栀子甙标准溶液 $0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 \text{ mL}$ 于 10 mL 容量瓶中,加甲醇定容至 10 mL ,即得 $0, 5.5, 11.0, 16.5, 22.0 \mu\text{g/mL}$ 的栀子甙标准系列溶液。

4 仪器

4.1 小型粉碎机。

4.2 恒温水浴。

4.3 高效液相色谱系统:Water's M510 泵,U6K 进样器,岛津 RF-535。

荧光检测器,Blue chip/PC 计算机和 Baseline 810 色谱控制程序。

5 分析步骤

5.1 试样处理

5.1.1 饮料:将试样温热,搅拌除去二氧化碳或超声脱气,摇匀后,通过微孔滤膜 $0.4 \mu\text{m}$ 过滤,滤液备作 HPLC 分析用。

5.1.2 酒:试样通过微孔滤膜过滤,滤液备作 HPLC 分析用。

5.1.3 糕点:称取 10 g 试样放入 100 mL 的圆底烧瓶中,用 50 mL 石油醚加热回流 30 min ,置室温。砂芯漏斗过滤,用石油醚洗涤残渣 5 次,洗液并入滤液中,减压浓缩石油醚提取液,残渣放入通风橱至无石油醚味。用甲醇提取 3 次 ~ 5 次,每次 30 mL ,直至提取液无栀子黄颜色,用砂芯漏斗过滤,滤液通过

微孔滤膜过滤,滤液贮于冰箱备用。

5.2 测定

5.2.1 HPLC 参考条件

色谱柱:粒度 5 μm ODS C_{18} 150 mm $\times$ 4.6 mm;

流动相:甲醇+水(35+65);

流速:0.8 mL/min;

波长:240 nm。

5.2.2 标准曲线

在本实验条件下,分别注入梔子甙标准使用液 0,2,4,6,8 μL ,进行 HPLC 分析,然后以峰高对梔子甙浓度作标准曲线。

5.2.3 试样测定

在实验条件下,注入 5 μL 5.1 试样处理液,进行 HPLC 分析,取其峰与标准比较,测得试样中梔子甙含量。

6 结果计算

按下式计算:

$$X = \frac{A \times V}{m \times 1\,000}$$

式中:

X——试样中梔子黄色素的含量,单位为克每千克(g/kg);

A——进样液中梔子甙的含量,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V——试样制备液体积,单位为毫升(mL);

m——试样质量,单位为克(g)。

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 5%。

第二法 薄层色谱法

8 原理

试样中梔子黄色素用有机溶剂提取,并经过纯化处理,去除干扰物质,浓缩点样展开后,在 UV254 nm 灯下呈黑色斑点,与标准比较进行定性,及概略定量。

9 试剂

所用试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

9.1 甲醇。

9.2 乙醇。

9.3 乙酸乙酯。

9.4 丙酮。

9.5 甲酸。

9.6 三氯甲烷。

9.7 硅胶 GF254:薄层色谱用。

9.8 展开剂:乙酸乙酯+丙酮+甲醇+水(5+5+1+1)。

9.9 展开剂:三氯甲烷+甲醇(6+3)。

10 仪器

10.1 全玻璃浓缩器。

10.2 薄层板涂布器。

10.3 玻璃板,4 cm×20 cm,20 cm×20 cm。

10.4 层析缸。

10.5 UV254 nm 荧光灯。

10.6 微量注射器。

11 操作方法

11.1 试样处理

将酒、饮料、蛋糕样品处理后,进行 TLC 检识。见 11.2.2 展开结果。

11.1.1 酒:取试样 100 mL,减压浓缩至无酒味,然后用乙酸乙酯萃取,每次 30 mL,萃取 3 次~5 次,至无梔子黄颜色为止,合并萃取液,减压浓缩至无乙酸乙酯味。约剩 20 mL 为止,此液留作薄层分析用。

11.1.2 饮料:取试样 100 mL,用乙酸乙酯萃取,每次 50 mL,萃取 3 次~5 次,至无梔子黄颜色为止。合并萃取液,减压浓缩至无乙酸乙酯味,约剩 20 mL,此液留作薄层分析用。

11.1.3 蛋糕:称取 10.0 g 已粉碎均匀的试样,加海砂少许,混匀,用热风吹干试样(用手摸已干燥即可),加入 50 mL 石油醚搅拌,放置片刻,弃去石油醚,如此反复处理三次,以除去脂肪,吹干后研细,放入索式提取器,用甲醇提取色素,直到无梔子黄色素为止,直至色素全部提完,置水浴浓缩至约 5 mL,此液留作薄层层析用。

11.2 测定

11.2.1 点样:取市售硅胶 GF254 荧光板,离板底边 2 cm 处点试样提取液 0.5 μ L,板的右边点 2 μ L 梔子黄色素标准溶液。

11.2.2 展开:将 11.2.1 已点好样和标准板,用 9.8,9.9 展开剂展开,待梔子黄色素明显分开后取出,晾干,与标准斑点比较,梔子黄 R_f 值为 0.64 和 0.50。而姜黄色素为 0.11 和 0.15。试样与标品的斑点的 R_f 值一致,则证明试样中的色素为梔子黄色素。