

ICS 01.040.71  
CCS X40/49

# 团体标准

T/AHFS 005-2024

## 食品中胭脂红酸含量测定(超 高效液相-质谱/质谱法)

Determination of carminic acid in food by ultra  
high performance liquid chromatography-  
tandem triple quadruple mass spectrometry

2024-09-19 发布

2024-10-19 实施



安徽省食品科学技术学会 发布

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由马鞍山市食品药品检验和药品不良反应监测中心提出。

本文件由安徽省食品科学技术学会归口管理。

本文件起草单位：马鞍山市食品药品检验和药品不良反应监测中心、安徽工业大学、安徽省食品药品检验研究院、纳谱分析技术（苏州）有限公司、岛津企业管理（中国）有限公司、马鞍山市产品质量监督检验所、安徽国泰众信检测技术有限公司、安徽省金标检测研究院有限公司。

本文件主要起草人：汪强、刘燕、王双寿、程潇、张勇、陈建立、袁月兰、陈洪周、李琦、姚杰、张媛、曹品品、段佳丽、王忍、余宜武。



# 食品中胭脂红酸含量测定(超高效液相-质谱/质谱法)

## 1 范围

本文件规定了食品中胭脂红酸含量的液相色谱-质谱/质谱测定方法。包括原理、试剂与材料、主要仪器和设备、分析步骤、测定、结果计算、精密度、灵敏度。

本文件适用于烘烤食品、肉制品、果冻中胭脂红酸的测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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

试样通过盐酸水溶液提取,经HLB柱净化,使用超高效液相色谱进行反相分离后,再由三重四杆质谱仪测定,外标法定量。

## 4 试剂与材料

水为 GB/T 6682 规定的一级水。以下凡是无特殊注明的试剂均为分析纯。

4.1 盐酸(HCl)。

4.2 甲醇(CH<sub>3</sub>OH): 质谱纯。

4.3 石油醚(30~60 °C)。

4.4 胭脂红酸: 纯度≥99.5%。或市售有证标准物质。标准品信息参见附录 A。

4.5 盐酸水溶液(2 mol/L): 量取 168 mL 盐酸至 800 mL 水中,混匀后,移入 1000 mL 容量瓶中并用水定容至刻度线,摇匀。

4.6 标准储备溶液: 准确称取适量标准品(精确至 0.0001 g),用甲醇定容至刻度,并摇匀,配制成浓度为 1 mg/mL 的标准储备溶液, -18 °C 冷冻避光保存,有效期为 3 个月。

4.7 标准中间溶液: 准确移取 100 μL 标准储备溶液于 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,并摇匀,配制成浓度为 10 μg/mL 的标准中间溶液, 4 °C 冷藏避光保存,有效期为 1 个月。

4.8 标准工作溶液: 根据需要用初始流动相把中间标准溶液稀释成适合浓度的混合标准工作溶液,现用现配。

4.9 聚苯乙烯-二乙烯基苯-N-吡咯烷酮固相萃取柱(HLB 固相萃取柱): 200 mg、6 mL(60 μm), (使用前分别使用 6 mL 甲醇和 6 mL 水进行活化)。

## 5 主要仪器和设备

5.1 超高效液相色谱串联质谱仪: 配有电喷雾(ESI)离子源。

5.2 研磨机。

5.3 氮吹仪。

5.4 涡旋混合仪。

5.5 电子天平: 感量 0.001 g 和 0.0001 g。

- 5.6 离心机。
- 5.7 超声波提取仪。

## 6 分析步骤

### 6.1 试样的制备与贮藏

液体试样和粉状固体试样应分别混合均匀，半固体试样取固液共存物进行匀浆混合，固体试样经电动搅拌器粉碎等方式混合均匀，密封，制备好的试样在-18℃以下避光保存，备用。

### 6.2 试样处理

#### 6.2.1 提取

准确称取 2 g 均质后的样品(精确至 0.0001 g)于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 石油醚(4.3)，涡旋 3 min，11180 g 离心 10 min，弃去上清液，加入 20 mL 盐酸水溶液(4.6)涡旋混匀后，在沸水浴中加热 30 min，每隔 5 min 振摇一下。加热完成后取出冷却至室温，涡旋混匀 5 min，超声提取 10 min，11180 g 离心 10 min，将上清液移入 100 mL 容量瓶中。再加入 20 mL 盐酸水溶液(4.6)至上述离心后的固体试样中，涡旋混匀 5 min，超声提取 10 min，11180 g 离心 10 min，将上清液合并到上述 100 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀。

#### 6.2.2 净化

准确移取 10 mL 提取液，至 HLB 固相萃取柱中，再用 12 mL 水淋洗，最后用 9 mL 甲醇(4.2)洗脱，收集洗脱液。洗脱液在 40℃水浴中氮气吹干，使用 1.0 mL，2%甲酸水溶液-甲醇(1+1, v/v)进行复溶，复溶液经过 11180 g 离心 5 min 后，取上清液，供 UPLC-MS/MS 上机测定。

### 6.3 混合基质标准溶液的制备

称取 5 份 2 g 试样(精确至 0.001 g)于 50 mL 离心管中，分别加入 5 ng、10 ng、50 ng、100 ng 和 200 ng 中间标准溶液或标准工作溶液，余下操作同 6.2。

### 6.4 测定

#### 6.4.1 液相色谱条件

色谱柱：C<sub>18</sub> 柱，150 mm×3.0 mm(内径)，粒度 3 μm，或性能相当；  
柱箱温度：35℃；  
流动相：A-0.3%甲酸水溶液，B-甲醇溶液；  
流速：0.5 mL/min；  
进样体积：10 μL；  
流动相梯度洗脱程序见表 1

表 1 梯度洗脱程序

梯度时间/min	流动相比例/(%)	
	流动相 A	流动相 B
0.0	90	10
8.00	5	95
13.00	5	95
13.01	90	10
16.00	90	10

#### 6.4.2 质谱参考条件

离子源：电喷雾离子源(ESI)，

离子源温度：550 °C；

离子源接口电压：-4500 V；

扫描方式：负离子模式；

检测方式：多反应监测 MRM；

气帘气(psi)：30，喷雾气(psi)：55，辅助加热气(psi)：55，碰撞气(psi)：9

定性离子对、定量离子对及其参考条件见附录 B，对同一化合物，样品中目标化合物的两个子离子的相对丰度比与浓度相当的标准溶液相比，其允许偏差不超过表 2 规定的范围

表 2 使用液相色谱-质谱/质谱定性时相对离子丰度最大容许误差

相对离子丰度比	>50%	>20%至 50%	>10%至 20%	≤10%
允许相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

#### 6.4.3 测定

胭脂红酸基质标准工作溶液及试样溶液各 10 μL，注入超高效液相色谱串联质谱仪进行分析，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，建立标准曲线，进行定量，标准物质 MRM 图和 TIC 图见附录 C。

#### 6.5 平行试验

按以上步骤，对同一试样进行平行测定。

#### 6.6 空白实验

除不加试样外，均按上述步骤测定。

### 7 结果计算

试样中胭脂红酸含量按公式(1)计算：

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

式中：

X —— 试样中胭脂红酸的含量 (μg/kg) ；

C—— 由标准曲线得出的试样液中待测物的质量浓度 (ng/mL)；

V—— 样液最终定容体积 (mL)；

f—— 稀释倍数；

m—— 称取的试样量 (g)。

注：计算结果应扣除空白值。

## 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20%，保留三位有效数字。

## 9 灵敏度

本方法的检出限为1.10 μg/kg，定量限为3.85 μg/kg。

附录 A  
(资料性)  
标准物质信息

表 A.1 胭脂红酸的基本信息

中文名称	英文名称	分子式	相对分子量	CAS 号
胭脂红酸	Carminic Acid	$C_{22}H_{20}O_{13}$	492.3864	1260-17-9

## 附录 B

(资料性)

## 负离子监测条件

名称	电离方式(ESI)	母离子 m/z	子离子 m/z	去簇电压(V)	碰撞电压(V)
胭脂红酸	负离子模式	491.1	447.1*	-98	-29.91
			357.1		-38.21
*为定量离子对					



附录 C

(资料性)

胭脂红酸MRM图和TIC图

