

雪糕中合成色素的测定

黄建蓉¹, 杨洋²

(1. 广东药学院食品科学学院, 中山 528458;

2. 广东药学院公共卫生学院, 广州 510310)

摘要: 分别采用碱性硫酸铜和乙酸锌-亚铁氰化钾作为沉淀剂对雪糕样品进行预处理, 并按照 GB/T5009.35-2003 第一法中的聚酰胺吸附法对样液中的色素进行提取, 用高效液相色谱法进行合成色素含量的测定。结果表明, 采用沉淀剂对样品进行预处理, 可降低雪糕浆料的粘稠度, 有利于色素的提取。对于四种常用合成色素柠檬黄、胭脂红、日落黄、亮蓝, 以碱性硫酸铜作为沉淀剂, 加标回收率为 72.04% ~ 82.64%, 相对标准偏差为 1.48% ~ 3.50%; 以乙酸锌-亚铁氰化钾作为沉淀剂, 加标回收率为 81.62% ~ 95.73%, 相对标准偏差为 1.46% ~ 3.19%。采用乙酸锌-亚铁氰化钾进行样品预处理的方法准确度和精密度良好, 可作为高效液相色谱法测定雪糕中合成色素的样品预处理方法。

关键词: 雪糕; 合成色素; 高效液相色谱; 预处理; 沉淀剂

中图分类号: TS202.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-2513(2010)03-0228-04

Determination of synthetic colorants in ice cream bar

HUANG Jian-rong, YANG Yang

(1. School of Food Science, Guangdong Pharmaceutical University, Zhongshan 528458;

2. School of Public Health, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310)

Abstract: In order to detect the synthetic colorants content in ice cream bar with HPLC, samples were pretreated with precipitator alkali cupric sulfate or zincic acetate-potassium ferrocyanide firstly. Then synthetic colorants were separated according to the method of polyamide absorption, which is illustrated in the first method of GB/T5009.35-2003. Results showed that the ropiness degree of a sample was reduced by precipitation pretreatment, which results in effective separation of the colorants. The recovery rates of four commonly used synthetic colorants, tartrazine, ponceau, sunset yellow and brilliant blue were between 72.04% ~ 82.64% and RSD between 1.48% ~ 3.50% when alkali cupric sulfate was used. As to zincic acetate-potassium ferrocyanide, the values were between 81.62% ~ 95.73% and 1.46% ~ 3.19% correspondingly, which means better accuracy and precision. So the latter precipitator can be recommended for sample pretreatment in determination of synthetic colorants in ice cream bar with HPLC.

Key words: ice cream bar; synthetic colorant; HPLC; pretreatment; precipitator

高效液相色谱法为国标中测定人工合成色素的第一法, 分析步骤主要包括试样处理、色素提

取和高效液相色谱仪检测^[1]。试样处理的目的在于消除 CO₂、乙醇等干扰因素, 将样品中的色素

收稿日期: 2009-06-27

基金项目: 广东药学院科研启动基金项目 (2007GGW05)。

作者简介: 黄建蓉 (1975-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为食品质量与安全。

分离出来,以便色素提取步骤可以顺利进行。该法规定了汽水、酒类、蜜饯、糖果的试样预处理方法,而对于雪糕的试样处理方法未作规定。雪糕(ice cream bar)是以饮用水、乳品、食糖、食用油脂等为主要原料,添加适量增稠剂、香料,经混合、灭菌、均质或轻度凝冻、注模、冻结等工艺制成的冷冻饮品^[2]。由于生产工艺和口感的需要,雪糕往往具有一定的黏稠度。若直接采用国标中推荐的试样处理方法,往往会造成吸附和过滤困难、色素提取不完全等问题。本文采用碱性硫酸铜和乙酸锌-亚铁氰化钾这两种常用的沉淀剂对雪糕样品进行预处理,对蛋白质、增稠剂等大分子物质进行沉淀,破坏雪糕的乳化体系,以降低料液的黏稠度,再进行色素提取、色谱检测,旨在建立一种可行的HPLC法测定雪糕中合成色素的试样处理方法。

1 材料与方法

1.1 试剂

人工合成色素胭脂红、柠檬黄、日落黄、亮蓝配成1.00mg/mL的混合色素标准储备液;硫酸铜、氢氧化钠、乙酸锌、亚铁氰化钾、柠檬酸、甲酸、乙醇、氨水、乙酸、乙酸铵为分析纯;甲醇为色谱纯;聚酰胺粉(200目);雪糕样品(市售)。

1.2 碱性硫酸铜预处理

准确称取试样15.00g,加入蒸馏水30mL使样品融化稀释,再加入20mL硫酸铜溶液(100g/L)及4.4mL氢氧化钠溶液(40g/L)^[3],定容至100mL,混匀,沉淀,静置30min,过滤,收集滤液,备用。

1.3 乙酸锌-亚铁氰化钾预处理

准确称取试样15.00g,加入蒸馏水30mL使样品融化稀释,再加入乙酸锌溶液(称取21.9g乙酸锌,加入3mL冰乙酸,定容至100mL)和亚铁氰化钾溶液(10.9g/100mL)各5mL^[4],定容至100mL,混匀,沉淀,静置30min,过滤,收集滤液,备用。

1.4 色素提取

将滤液用柠檬酸溶液调节至pH=6,水浴加热至60。将3g聚酰胺粉倒入加热后的样液中,

充分搅拌,以G3垂融漏斗抽滤。用60、pH=4的水(将蒸馏水用柠檬酸溶液调节至pH=4)洗涤3~5次,再用甲醇-甲酸混合溶液洗涤3~5次,最后用蒸馏水洗涤至中性。用无水乙醇-氨水-水(7+2+1)混合溶液作为解吸液解吸3~5次,每次5mL,收集解吸液,加乙酸调节pH=7。70水浴加热挥发有机溶剂至近干,加水定容至10mL,经0.45μm滤膜过滤,待测。

1.5 加标样品的制备

准确称取合成色素本底值为零的雪糕样品(市售某品牌香草雪糕)15.00g,加入一定量的人工合成色素标准品,混合均匀即为加标样品。

1.6 仪器及色谱检测条件

Agilent1100高效液相色谱仪(附紫外检测器);AgilentC₁₈色谱柱(4.6mm×250mm)。

流动相:甲醇:乙酸铵溶液(pH=4,0.02mol/L);梯度洗脱:甲醇:20%~98%,12min;紫外检测:254nm波长;流速:1.0mL/min;柱温:30;进样量:20μL。

2 结果与分析

2.1 标准曲线及线性范围

混合色素标准储备液配制成1.0、5.0、10.0、20.0、50.0μg/mL的标准系列,HPLC法检测得到标准色谱图(图1)。

以峰面积为纵坐标y(mAu*s),浓度为横坐标x(μg/mL),得到四种人工合成色素标准曲线方程和R²值如下:柠檬黄y=62.266x-3.1549,R²=0.9993;胭脂红y=40.390x+2.4743,R²=0.9998;日落黄y=53.541x-3.7724,R²=0.9998;亮蓝y=185.520x+12.727,R²=0.9995。标准系列在1.0~50.0μg/mL范围内呈良好的线性关系。

2.2 加标回收率及精密度

对加标样品分别按碱性硫酸铜预处理法和乙酸锌-亚铁氰化钾预处理法进行操作,重复三次,结果如表2所示。由表1可以看出,用碱性硫酸铜法处理的样品各种人工合成色素的平均回收率为74.62%~79.56%;用乙酸锌-亚铁氰化钾法处理的雪糕样品各种人工合成色素的平均回收率为84.18%~92.75%。两种方法的平均回收

率差别较大, 乙酸锌 - 亚铁氰化钾处理法优于碱性硫酸铜处理法。两种方法中, 柠檬黄与日落黄

两种合成色素的回收率相对较高; 回收率最低的是亮蓝, 这与亮蓝的稳定性有一定的关系。

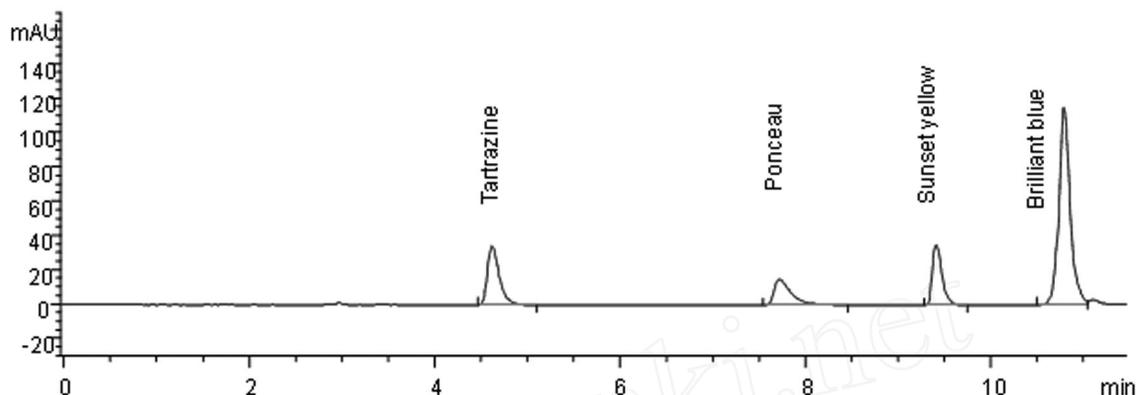


图 1 四种合成色素标准色谱图

表 1 加标回收率及精密度

预处理方法	合成色素	试样本底值 (μg)	加标量 (μg)	平均测定值 (μg)	相对标准偏差 (%)	回收率 (%)
碱性硫酸铜	柠檬黄	0	45.00	36.17	3.04	80.38
	胭脂红	0	45.00	34.35	3.23	76.33
	日落黄	0	45.00	37.19	1.48	82.64
	亮蓝	0	45.00	32.42	3.50	72.04
乙酸锌 - 亚铁氰化钾	柠檬黄	0	45.00	41.97	1.66	93.27
	胭脂红	0	45.00	39.52	2.63	87.82
	日落黄	0	45.00	43.08	1.46	95.73
	亮蓝	0	45.00	36.73	3.19	81.62

2.3 样品测定

精确称取某品牌菠萝味雪糕样品 15.00g, 按乙酸锌 - 亚铁氰化钾法处理雪糕样品, 并提取人

工合成色素, 按上述色谱条件测定, 平行试验 3 次。检测结果如图 2 所示, 表明样品中含有柠檬黄色素。

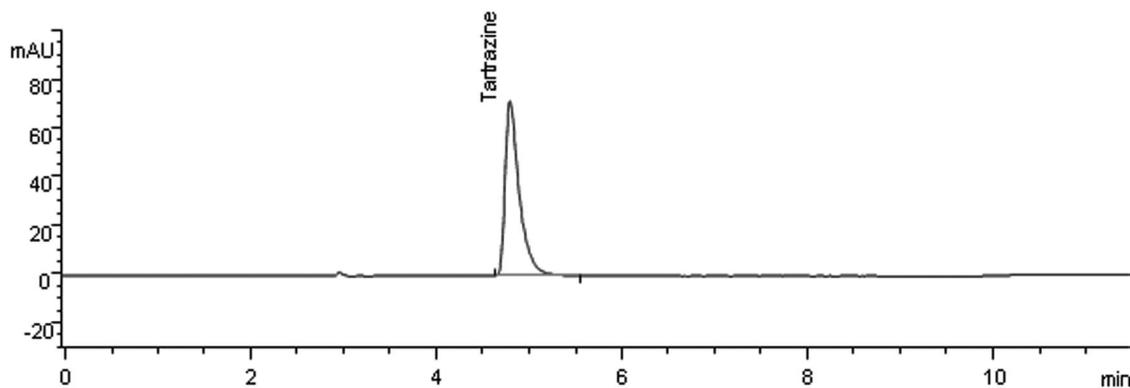


图 2 菠萝味雪糕合成色素色谱图

三次平行试验的测定值如表 3 所示。根据《食品添加剂使用卫生标准》中的规定,柠檬黄色素在冷冻饮品中最大使用量为 $0.05\text{g/kg}^{[5]}$,即 50mg/kg 可见,该样品中柠檬黄的含量远低于限量值。

表 3 菠萝味雪糕合成色素含量测定结果

试验号	峰面积 (mAu * s)	柠檬黄 含量 (mg/Kg)	柠檬黄含量 平均值 (mg/Kg)	相对标准 偏差 (%)
1	715.57324	7.70		
2	769.32812	8.27	8.09	4.18
3	772.55420	8.30		

3 结论

(1) 用碱性硫酸铜法处理的样品各种人工合

成色素的平均回收率为 $72.04\% \sim 82.64\%$,相对标准偏差为 $1.48\% \sim 3.50\%$ 。此法精密度高,但准确度较差。

(2) 用乙酸锌 - 亚铁氰化钾法处理的雪糕样品各种人工合成色素的平均回收率为 $81.62\% \sim 95.73\%$,相对标准偏差为 $1.46\% \sim 3.19\%$ 。此法加标回收率较高,准确度和精密度高。

(3) 用乙酸锌 - 亚铁氰化钾预处理法进行样品测定,柠檬黄含量为 8.09mg/kg ,未超出《食品添加剂使用卫生标准》中规定的最大使用量 0.05g/kg (50mg/kg)^[5]。

参考文献:

- [1] GB/T5009.35-2003, 食品中合成着色剂的测定 [S].
- [2] SB/T10007-1999, 冷冻饮品分类 [S].
- [3] GB/T5009.28-2003, 食品中糖精钠的测定 [S].
- [4] GB/T5009.7-2003, 食品中还原糖的测定 [S].
- [5] GB2760-2007, 食品添加剂使用卫生标准 [S].

(上接第 239 页)

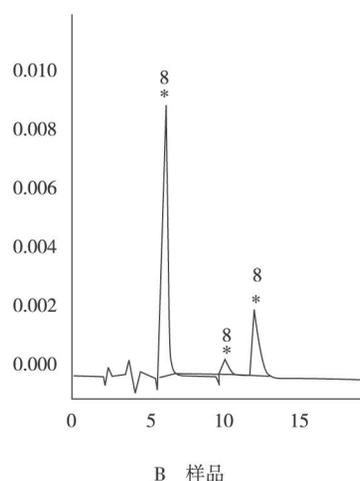


图 2

表 3 样品含量测定结果

样品	平均含量 (%)	RSD (%)
1 [#]	37.5	0.52
2 [#]	25.2	0.85
3 [#]	31.5	1.02

4 结论

(1) 采用 Spherrigel C₆ H₅ 色谱柱,比例为

95 的水和甲醇为流动相,在 $1.0\text{mL}/\text{min}$ 的流速下测定 - 环糊精,具有分离时间短,分离效果好,灵敏度高,而且成本低,安全性高等优点;

(2) 本法平均回收率达到 98.5% ,在 $0.1\text{mg/mL} \sim 10\text{mg/mL}$ 的范围内线性关系良好。

因此,本文建立的高效液相色谱测定 - 环糊精的方法具有普遍的适用性,可以为其产品的研究和质量控制提供参考。

参考文献:

- [1] 童林荃. 环糊精化学 - 基础与应用 [M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [2] 曹新志, 明红梅. 高效液相色谱法测定麦芽糖基 - 环糊精的含量 [J]. 四川理工学院学报 (自然科学版), 2007, 20 (2): 89 - 91.
- [3] Yukio T. Nomura H, Okabe M. A new reactor system for selective production of - cyclodextrin with specific adsorbent [J]. Fermentation and Bioengineering, 1991, 71 (6): 413 - 417.
- [4] 刘虹, 顾正彪, 洪雁, 等. 甲基橙褪色分光光度法定量测定 - 环糊精 [J]. 中国粮油学报, 2008, 23 (5): 186 - 189.
- [5] 陈国亮, 柴华丽, 杨琦. - CD 测定方法的研究 [J]. 化学试剂, 1990, 12 (5): 308 - 310.
- [6] 刘燕华. 分光光度法测定 - CD [J]. 日用化学工业, 1990, 35 (6): 35 - 37.
- [7] 胡锦涛. 分光光度法测定微量环糊精 [J]. 淀粉与淀粉糖, 1992, (4): 51 - 53.