

# 聚酰胺吸附离心- 高效液相色谱法测定饮料中诱惑红、靛蓝等八种色素的色谱分离研究

王园园, 王文亮, 李海萍

(浙江省海盐县产品质量监督检验所, 浙江 海盐 314300)

**摘要:** 本文对高效液相色谱法测定饮料中的诱惑红、靛蓝、亮蓝、胭脂红、苋菜红、赤藓红、柠檬黄、日落黄八种色素方法进行了改进, 采用聚酰胺吸附离心方法处理样品, 对测定的分离条件进行了优化, 以甲醇-水溶液作为流动相, 采用梯度洗脱方法, 利用紫外检测器, 检测波长254、625nm。该方法具有较好的重现性和分离效果, 线性关系也很好, 相关系数均达到0.999以上, 加标回收率均在85%以上, 检出限分别为0.2mg/kg, 2mg/kg, 1mg/kg, 0.32 mg/kg, 0.24 mg/kg, 0.72 mg/kg, 0.16 mg/kg, 0.28 mg/kg。该方法简便、准确、灵敏度较高, 可以同时测定多种色素。

**关键词:** 聚酰胺吸附, 高效液相色谱法, 色谱分离, 测定

中图分类号: O657.72 文献标识码: A 文章编号: 1009-8143(2010)04-0042-04

## Study on the Determination of Temptation Red, Indigo Pigments such as Chromatographic Separation of Eight by Polyamide Adsorption Centrifugal and HPLC

Wang Yuan-yuan, Wang Wen-liang, Li Hai-ping

(Haiyan Product Quality Inspection Institute, Haiyan, Zhejiang 314300, China)

**Abstract:** In this paper, high-performance liquid chromatography in the Temptation red, blue, bright blue, carmine, amaranth red, erythrosine, tartrazine, sunset yellow 8 kinds of pigment methods were improved, Using of Polyamide adsorption centrifugal and enrichment approaches to deal with the sample, On the determination of the separation conditions were optimized, With methanol - water solution as mobile phase, Using gradient elution method, The use of UV detector, The detection wavelength was 254, 625nm. This method had good reproducibility, separation effects and a linear relationship, The correlation coefficient reached more than 0.999, Recoveries were more than 85%, The limit of detection were 0.2, 2, 1, 0.32, 0.24, 0.72, 0.16, 0.28 mg/kg respectively. The method was simple, accurate, high sensitivity, and could simultaneous determinate multiple pigment.

**Keywords:** polyamide adsorption; HPLC; chromatography; determination

随着人们生活水平的提高, 饮料在日常生活中越来越重要。现在市面上的饮料品种繁多, 颜色也各种各样<sup>[1]</sup>。但是在饮料中大多添加了人工合成色素, 对人体有一定的毒害作用<sup>[2]</sup>, 由于长期食用会对人体健康产生一定的危害, 我国《食品添加剂使用卫生标准》<sup>[3]</sup>对它的使用范围和使用限量做出了严格规定, 但个别企业没有认真执行, 违规添加合成色素的现象屡见不鲜。因此, 建立一种快速、准确、灵敏的测定食品中合成着色剂的方法势在必行。目

前, 合成着色剂的检测方法有很多, 如国家标准<sup>[4]</sup>中样品前处理多采用色素的吸附与解吸附方法, 步骤繁琐, 易造成损失, 而高效液相色谱法是比较常用方法之一, 具有简便、准确度高、灵敏性好等特点。本文采用聚酰胺吸附离心-高效液相色谱紫外检测器(VWD)多波长检测法, 不仅缩短了检测时间, 提高了灵敏度, 扩大了检测范围, 而且大大简化了前处理方法, 优化了分离条件, 使得色素之间达到了很好的分离效果。

收稿日期 2010-4-13

作者简介: 王园园(1983-), 女, 助理工程师, 从事食品检测及研究。Email:yyua\_w@sina.com.cn

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与试剂

高效液相色谱(HPLC)系统:Agilent 1200,内附VWD检测器;色谱柱: $C_{18}$ 反相色谱柱(4.6mm×150 mm×5 $\mu$ m);离心机:YXJ-A最高转速16000转。

甲醇(色谱纯) 0.02mol/L 乙酸铵溶液:经0.45 $\mu$ m滤膜过滤;乙醇:氨水:水(7:2:1)溶液 20%柠檬酸溶液 pH=6 水:水加20%柠檬酸调pH6;聚酰胺粉(过200目筛);色素标准溶液 柠檬黄、日落黄、苋菜红、胭脂红、靛蓝、赤藓红、诱惑红、亮蓝 配成1.00mg/mL水溶液,临用加水稀释成0.1mg/mL(靛蓝水中溶解性较差,可先用浓硫酸溶解后加适量水稀释,再加入适量甲醇促其溶解)。

### 1.2 色谱条件

流动相:甲醇:0.02mol/L 乙酸铵溶液;梯度洗脱:甲醇 0~5min:10%~35% 5~12min:35%~74% 12~15min:74%~98%;波长 0~8min:254nm 8~15min:625nm;柱温 30 $^{\circ}$ C;进样量:20 $\mu$ L;流速 1.0ml/min。

### 1.3 实验方法

称取样品20g于小烧杯中,除去二氧化碳,加柠檬酸调pH到6。加入1g聚酰胺粉用少许水调成

粥状,搅拌混匀后离心(每次5min,6000r/min),弃去上清液,加入甲醇-甲酸混合溶液5mL,搅拌混匀,离心,弃去上清液,加入水搅拌混匀,离心后弃去上清液(加水重复洗至中性),加入乙醇-氨水-水混合溶液5mL,搅拌混匀离心,收集上清液(重复3~5次),蒸发后用水定容至10mL,经0.45 $\mu$ m滤膜过滤后进液相色谱仪测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 样品前处理

2.1.1 聚酰胺粉吸附要求预先活化,并要求在一定的温度、时间、pH下进行,操作时要注意。聚酰胺在酸性条件下吸附色素牢固<sup>[5]</sup>,用水洗涤聚酰胺粉以除去可溶性物质,要求水偏酸性(pH=4),防止聚酰胺上色素在洗涤过程中脱落下来。

2.1.2 样品的前处理和提纯过程很重要,要充分去除杂质(油脂、蛋白质、淀粉、糖)以免影响吸附及层析效果。一般能溶解在水中的物质,如食盐、糖、味精、香精等,在用酸性水洗涤聚酰胺粉时都能除去。

### 2.2 标准曲线及线性范围、方法检出限

在上述测定条件下,得到的峰面积Y与标准溶液浓度X之间的标准曲线,线性关系良好,线性范围为10~100 $\mu$ g/mL,相关系数均>0.999,回归方程数据见表1,各色素的标准曲线见图1。

表1 8种色素的保留时间、回归方程、相关系数和检出限

添加剂名称	保留时间(min)	回归方程 r	相关系数	检出限(mg/kg)
柠檬黄	2.589	$y = 41.853x - 9.494$	0.99998	0.16
胭脂红	2.891	$y = 37.889x - 9.382$	0.99905	0.32
苋菜红	4.582	$y = 31.880x - 1.759$	0.99997	0.24
日落黄	6.068	$y = 31.941x - 3.811$	0.99998	0.28
诱惑红	7.915	$y = 29.359x - 5.222$	0.99976	0.20
亮蓝	8.937	$y = 48.830x - 2.795$	0.99998	1
靛蓝	9.640	$y = 5.188x - 7.554$	0.99974	2
赤藓红	11.393	$y = 20.322x - 0.364$	0.99983	0.72

### 2.3 色谱分离条件及色谱图

本方法改进并简化了样品前处理,优化了色谱分离条件,分离效果良好。色谱图见图2、图3,图中各组分分离效果较好,柠檬黄、胭脂红、苋菜红、日

落黄出峰较快,基线较平稳,甲醇含量不可高于20%,否则峰会难以分离,5min后分离很好,甲醇含量不可过低,否则会造成拖尾现象。亮蓝的响应相对较小,分组测定效果更好。

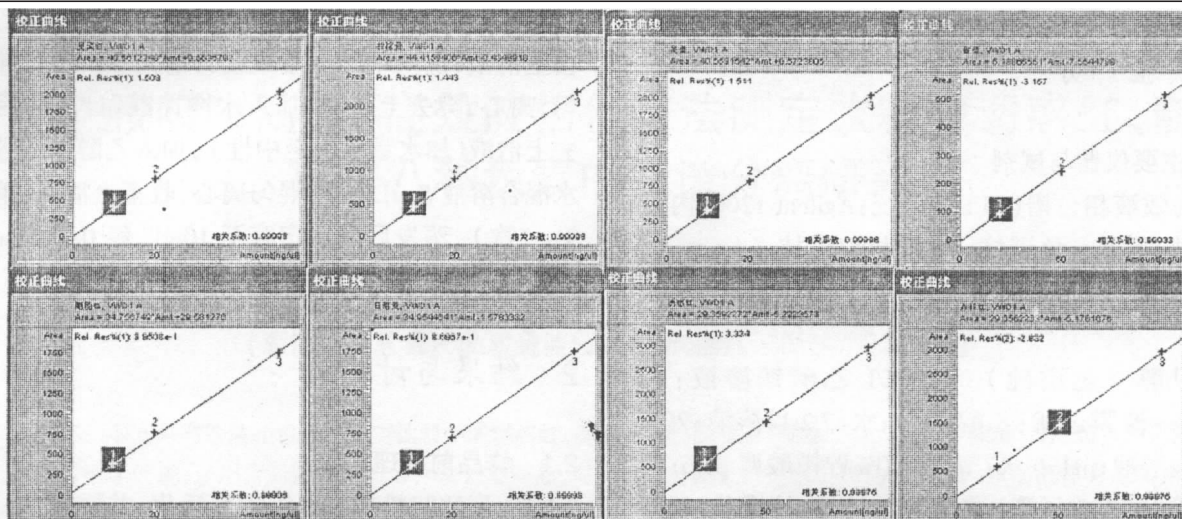


图1 8种色素的标准曲线图谱

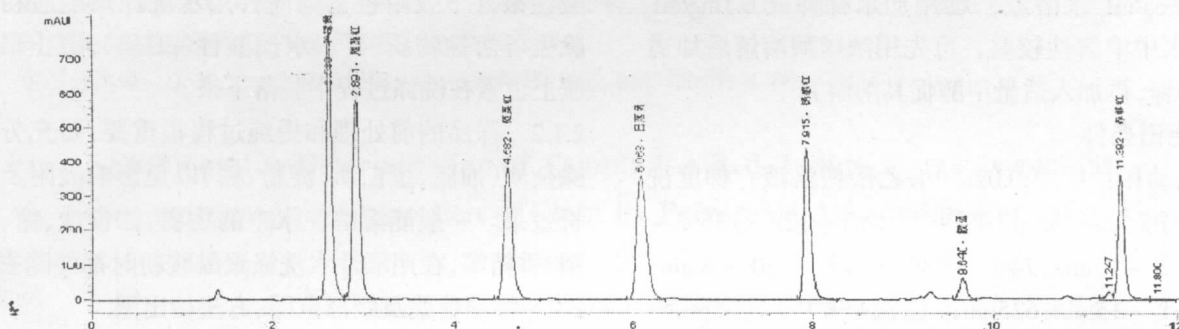


图2 柠檬黄等7种色素色谱图

实验条件:流动相:甲醇:0.02mol/L 乙酸铵溶液;梯度洗脱:甲醇:0~5min:10%~35%;5~12min:35%~74%;12~15min:74%~98%;波长:0~8min:254nm;8~15min:625nm;柱温:30℃;进样量:20µL;流速:1.0ml/min。

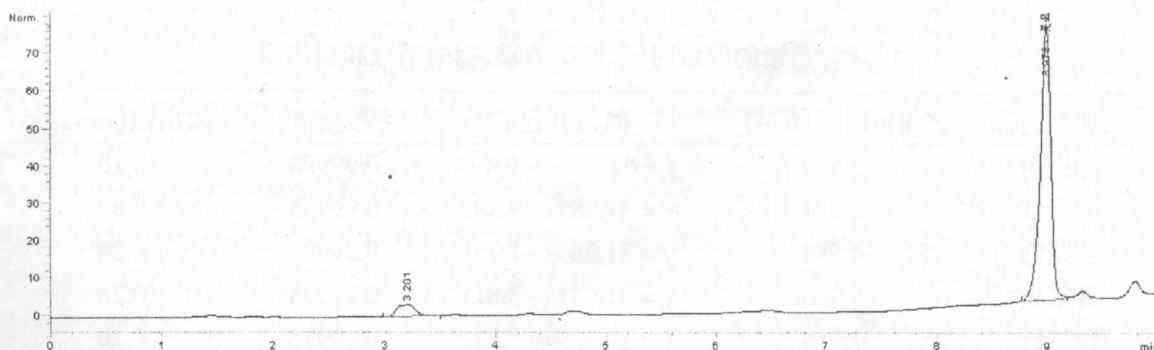


图3 亮蓝色谱图

实验条件:流动相:甲醇:0.02mol/L 乙酸铵溶液;梯度洗脱:甲醇:0~5min:10%~35%;5~10min:35%~98%;波长:625nm。其余同图2 实验条件。

### 2.4 方法加标回收率与精密度

将样品精密称取后,分别加入一定量的8种色素标样,混合制成10.0和50.0浓度的加标样品,进行分析。回收率结果见表2。可见此种方法处理样品的回收率令人满意。

### 3 结论

本方法建立了柠檬黄等八种色素同时快速测定的方法,采用聚酰胺吸附后多次离心的方式处理

表2 8种色素加标回收率试验

名称	本底值( $\mu\text{g/mL}$ )	加标量( $\mu\text{g/mL}$ )	测定值( $\mu\text{g/mL}$ )	回收率(%)	RSD(%)
柠檬黄	38.2	10.0	47.6	94.0	5.62
	38.2	50.0	82.7	89.0	3.16
胭脂红	0	10.0	9.2	92.0	2.86
	0	50.0	48.7	97.4	1.10
苋菜红	12.8	10.0	22.6	98.0	2.74
	12.8	50.0	61.7	97.8	2.26
日落黄	0	10.0	9.7	97.0	3.48
	0	50.0	48.6	97.2	2.56
诱惑红	0	10.0	9.1	91.0	3.22
	0	50.0	48.3	96.6	2.16
靛蓝	0	10.0	9.4	94.0	5.68
	0	50.0	49.0	98.0	4.76
赤藓红	0	10.0	9.0	90.0	3.28
	0	50.0	45.5	91.0	1.86
亮蓝	0	10.0	9.3	93.0	5.14
	0	50.0	47.2	94.4	3.26

样品,方法较国标更简便,而且节省了前处理时间,对分离条件进行了优化,使八种色素均能实现很好的分离,各种色素回收率较好,方法检出限均符合标准要求。

## 参考文献

[1]时振强,李莉,肖林,等.柱层析富集分离--分光光度法测定饮料中食用合成色素方法探讨[J].中国卫生检验杂志,

2002,12(1):76.

[2]黄敬,卢明.高效液相色谱法测定胶囊壳中合成着色剂的改进[J].中国卫生检验杂志,2007,17(12):2343.

[3]国家卫生部,国家标准委联合发布.GB 2760-2007 食品添加剂使用卫生标准[S].北京:中国标准出版社,2008.

[4]国家卫生部,国家标准委联合发布.GB/T 5009.35-2003 食品中合成着色剂的测定[S].北京:中国标准出版社,2004.

[5]梁可,倪巍巍.食品中色素的快速检测方法[J].科技创新导报,2009(13).

(上接第41页)

余氨水共同进入蒸氨系统,生成的废水水质稳定,可改善生化处理系统运行效果。

已动手优化上述污水管网后,系统运行正常,说明该试验具有一定的指导和推广作用。

## 3 结 论

焦化污水中的COD是影响生化A/O深度处理系统稳定运行的关键水质指标,COD在4500~6000 mg/L时,系统稳定性差,出水COD、氨氮、氰化物超过国家排放标准。因此优化源于煤气净化、产品深加工过程中的粗苯分离水和终冷置换水,控制系统进水COD<4500mg/L,是确保系统稳定运行和出水达标排放的有效途径之一,我公司依据试验自

## 参考文献

[1]许晓海.炼焦化工实用手册[M].北京:冶金工业出版社,1999:421.

[2]国家环保总局.水和废水监测分析方法[M].4.北京:中国环境出版社,2002.

[3]李跃进,詹技灵,孙巍,等.金城造纸厂综合污水处理工程调试运行[J].环境工,2009,27(1):8-10.

[4]国家环境保护局发布.GB8978-1996.污水综合排放标准[S].北京:中国环境出版,1997.