

紫外分光光度法同时测定柠檬黄和日落黄

刘冷^{a,b} 李建晴^b 郭芬^a 董川^{①a}

^a山西大学化学化工学院 太原市坞城路 92 号 030006)

^b(山西晋中学院化学化工学院 山西省晋中市榆次区文苑街 1 号 030600)

摘要 采用紫外分光光度法同时对饮料中柠檬黄、日落黄两种食用合成色素进行测定, 确定了各色素的最大吸收波长 λ_{\max} , 及其最大吸收波长处的吸收系数 a 和摩尔吸收系数 ϵ 。结果表明: 柠檬黄在 $\lambda_{\max} = 426\text{nm}$ 处的吸收系数为 $a = 33.45 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 摩尔吸收系数为 $\epsilon = 1.79 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 日落黄在 $\lambda_{\max} = 481\text{nm}$ 处的吸收系数为 $a = 34.00 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 摩尔吸收系数为 $\epsilon = 1.54 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。测定饮料中柠檬黄、日落黄含量分别为 0.0067mg/mL 和 0.0033mg/mL , 相对标准偏差(RSD) 分别为 0.148% 、 1.026% , 测定了两种色素在奥地利饮料中的回收率分别为: 92.35% 、 96.77% 。该方法操作简便, 同时准确度高, 精密度好。

关键词 紫外分光光度法, 柠檬黄, 日落黄。

中图分类号: 0657.32

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2007)03-0423-05

1 引言

食用合成色素多为含有 R—N=N—RC 键、苯环或氧杂蒽结构的化合物, 它们对人体存在一定的不安全性或者产生有害作用^[1,2]。其中柠檬黄和日落黄作为我国允许使用的食用合成色素, 其最大量规定为 0.1g/kg 。传统的测定方法有比值导数波谱法^[3]、薄层色谱扫描分析^[4]、主成分回归-光度法^[5]、薄层法或液相色谱法^[6]、多元线性回归分光光度法^[7], 此外还有示波极谱测定^[6], 还原法与高效液相色谱法结合^[8], 导数吸附伏安法^[9], 高效液相色谱法^[10], 双波长 K 系数分光光度法^[11], 多元线性回归 K 系数法^[12], 双波长标准加入法^[13]等, 这些方法都各有其特点。传统的方法通常是先将色素进行分离, 然后再进行分别测定, 其分析过程繁琐, 费时且仪器设备要求较高, 不易推广。本文依据光吸收定律, 采用紫外分光光度法对饮料中的柠檬黄和日落黄两种合成色素进行同时测定。它具有不分离而直接测定和所需仪器设备简单的优点, 为此类样品的测定提供了一种简便、可靠、实用的分析方法。

2 实验部分

2.1 主要仪器与试剂

TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司);

奥地利果味饮料(漯河市昌达实业有限公司);

柠檬黄(天津多福源实业有限公司);

① 联系人, 电话: (0351) 7011322(办), (0354) 3021920(宅); 手机(0) 13934152695, (0) 13703543813; E-mail: ycll66@126.com

作者简介: 董川(1963—), 男, 山西省文城县人, 山西大学化学化工学院教授, 博士生导师, 主要从事药物分析的研究。

刘冷(1972—), 男, 山西省晋中市, 晋中学院化学化工学院实验师, 从事有机分析的教学和实验研究。

收稿日期: 2007-02-07; 接受日期: 2007-03-02

日落黄(天津多福源实业有限公司);

柠檬黄、日落黄标准溶液的配制:准确称取柠檬黄、日落黄 0.1000g,二次蒸馏水溶解,配置成 0.1mg/mL 的储备液,用时适当稀释。

2.2 实验原理

本实验室所测定的两种色素其吸收峰互相干扰,重叠严重,故只能根据吸光度的加和性原则,通过适当的数字处理来进行测定^[14]。采用 TU-1901 双光束紫外分光光度计,波长扫描范围为 350—600nm,绘制光谱曲线,由光谱曲线可以看出饮料中含有哪几种色素,设试样中有 A、B 两种组分,首先用纯组分 A、B 分别测定它们的吸收光谱,确定最大吸收波长 λ_1 和 λ_2 ,然后分别测定两种组分在 λ_1 和 λ_2 吸收系数,再分别用波长为 λ_1 和 λ_2 的单色光测定试样的吸光度值,设为 A_{λ_1} 和 A_{λ_2} 。

2.3 实验方法

本实验用到的公式如下:

$$A_{\lambda_1}^{a+b} = \epsilon_{1c}^a b + \epsilon_{1c}^b b \quad (1)$$

$$A_{\lambda_2}^{a+b} = \epsilon_{2c}^a b + \epsilon_{2c}^b b \quad (2)$$

吸收系数 a 为:

$$\frac{\frac{A_1}{c_1} + \frac{A_2}{c_2} + \frac{A_3}{c_3} + \frac{A_4}{c_4} + \frac{A_5}{c_5} + \frac{A_6}{c_6}}{6} = \frac{\sum \frac{A}{c}}{6} \quad (3)$$

摩尔吸收系数 ϵ 为:

$$\epsilon = a \times M \quad (4)$$

$$\text{回收量} = \text{加标量后的浓度} - \text{饮料的含量} \quad (5)$$

$$\text{回收率} = \frac{\text{回收量}}{\text{加标量}} \times 100\% \quad (6)$$

2.3.1 吸收光谱的测定

分别取各色素标准溶液 2mL 于 10mL 的比色管中,加水稀释至刻度,在 TU-1901 双光束分光光度计上用 1cm 比色皿,选择重叠扫描方式,波长范围 350—600nm,扫描其吸收光谱,确定其各自的最大吸收波长 λ_{\max} 。

2.3.2 吸收系数的测定

方法 1:分别准确吸取 0.0、0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0mL 柠檬黄、日落黄的标准溶液于 10mL 比色管定容,以 0 管为参比,在 TU-1901 双光束紫外可见分光光度计上用 1cm 的比色皿在最大吸收波长 λ_{\max} 处测吸光度,分别以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,得到柠檬黄和日落黄的校准曲线。曲线的斜率为两色素在 λ_{\max} 的吸收系数 a ,然后利用公式(4)计算出摩尔吸收系数 ϵ 。

方法 2:根据其在 λ_{\max} 的吸光度值,利用公式(3)计算柠檬黄、日落黄在最大吸收波长处的吸收系数 a ,然后利用公式(4)计算出摩尔吸收系数 ϵ 。

2.3.3 饮料中色素含量的测定

奥地利葡萄糖果味饮料加热煮沸除去 CO_2 ,取适量于 1cm 比色皿中在 TU-1901 双光束紫外可见分光光度计上,根据所测的饮料在 $\lambda_{\max 1}$ 、 $\lambda_{\max 2}$ 的吸光度和公式(1)、(2)计算柠檬黄和日落黄两种色素在饮料中的含量及其方法的精密度。

2.3.4 柠檬黄和日落黄回收率的测定

分别准确吸取 0.1mg/mL 的柠檬黄溶液 4、7、9mL 于 10mL 的比色管中用饮料稀释至刻度测其吸光度,计算柠檬黄的回收率。分别准确吸取 0.1mg/mL 的日落黄溶液 5、7、9mL 于 10mL 的比色管中用饮料稀释至刻度测其吸光度,计算日落黄的回收率。

3 结果与讨论

3.1 柠檬黄和日落黄的吸收光谱

按照实验方法 2.3.1, 测定其各自的最大吸收波长 λ_{max} , 结果如图 1 所示。

结果表明, 两种色素在 350—550nm 有明显吸收, 柠檬黄 $\lambda_{max} = 426\text{nm}$, 日落黄 $\lambda_{max} = 481\text{nm}$ 。与文献[15]给出的结果相符。

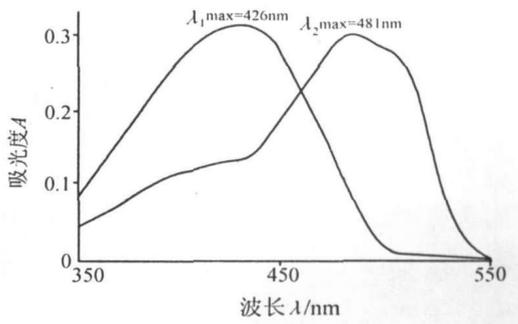


图 1 日落黄、柠檬黄的紫外可见吸收光谱
1——柠檬黄的吸收光谱;
2——日落黄的吸收光谱。

3.2 柠檬黄、日落黄的校准曲线

按照实验方法 2.3.2, 在 TU-1901 双光束紫外可见分光光度计上用 1cm 比色皿, 以试剂空白为参比, 在波长 $\lambda_{max} = 426\text{nm}$ 和 $\lambda_{max} = 481\text{nm}$ 处测其吸光度值, 用吸光度值(A)对浓度分别作柠檬黄和日落黄的校准曲线, 结果见图 2, 3;

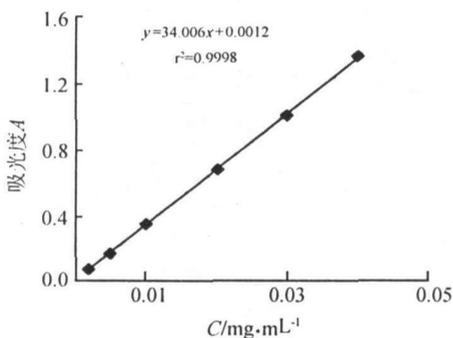


图 2 柠檬黄的校准曲线

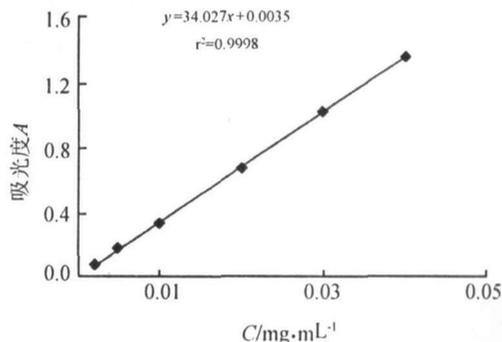


图 3 日落黄的校准曲线

由校准曲线得到回归线方程, 方程的斜率即为吸收系数 a , 由公式(4)计算出摩尔吸收系数 ϵ , 结果如表 1 所示。

表 1 校准曲线得出数据

色素	回归线方程	斜率	a	ϵ
柠檬黄	$y = 34.006 + 0.0012$	34.006	34.006	1.82×10^4
日落黄	$y = 34.027x + 0.0035$	34.027	34.027	1.54×10^4

3.3 柠檬黄、日落黄两种色素在不同波长下的吸光系数

根据实验方法 2.3.2, 在 426nm 和 481nm 处测这组溶液的吸光度, 然后由式(3)和式(4)计算吸光系数 a 和摩尔吸收系数 ϵ , 结果见表 2。

表 2 两种色素在不同波长处的 ϵ

样品	浓 度 (nm)	浓 度 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)						a ($\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)	$\epsilon \times 10^4$ ($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)
		0.002	0.005	0.01	0.02	0.03	0.04		
柠檬黄	426	0.064	0.168	0.340	0.671	1.002	1.364	34.006	1.82
	481	0.021	0.054	0.110	0.211	0.315	0.429	0.429	0.57
日落黄	481	0.037	0.174	0.327	0.67	1.02	1.361	34.027	1.54
	426	0.030	0.074	0.140	0.287	0.438	0.586	0.586	0.66

由表 1 可知柠檬黄在其最大吸收波长 $\lambda_{max} = 426\text{nm}$ 处的百分浓度吸光系数 a 为 $34.006\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 摩尔吸收系数 ϵ 为 $1.82 \times 10^4 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。日落黄在其最大吸收波长 $\lambda_{max} = 481\text{nm}$ 处的百分浓度吸光系数 a 为 $34.027\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 摩尔吸收系数 ϵ 为 $1.54 \times 10^4 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。两

种方法测得的数据相近。

3.4 样品含量的测定

根据实验方法 2.3.3, 测量奥地利饮料在 $\lambda_{\max 1}$ 、 $\lambda_{\max 2}$ 的吸光度, 由 7 次测定的平均值和公式 (1)、(2) 计算两种色素在饮料中的含量, 结果见表 3。

表 3 样品测定结果

序号	柠檬黄		日落黄	
	吸光度 A	浓度 $\times 10^{-3}$	吸光度 A	浓度 $\times 10^{-3}$
	$\lambda_{\max}(426\text{nm})$	(mg/mL)	$\lambda_{\max}(481\text{nm})$	(mg/mL)
平均值 ($n=7$)	0.272	6.70	0.184	3.30
RSD(%)		0.148		1.026

结果表明: 饮料中人工合成食用色素的含量为柠檬黄 0.0067mg/mL、日落黄的含量为 0.0033mg/mL。相对标准偏差(RSD) 分别 0.148% 和 1.026%; 可见测定方法精密度较好。与国家规定的量相比未超标^[6], 可安全食用。

3.5 饮料中柠檬黄、日落黄回收率的测定

在饮料中分别加上适量(见实验方法 2.3.4)的柠檬黄和日落黄, 使饮料中色素的含量增加一定的值, 在 $\lambda_{\max} = 426\text{nm}$ 和 $\lambda_{\max} = 481\text{nm}$ 处测吸光度值, 由式(1)、(2)和(5)使计算出回收量, 回收量与加标量的比即为回收率, 结果见表 4, 表 5。

表 4 柠檬黄回收率试验结果

序号	初始值 $\times 10^{-3}$ (mg/mL)	加标量 (mg/mL)			回收量 $\times 10^{-3}$ (mg/mL)			回收率 (%)		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
		1	6.7	0.04	0.07	0.09	34.95	63.95	88.25	87.37
2	6.7	0.04	0.07	0.09	35.01	64.01	88.28	87.52	91.44	98.09
3	6.7	0.04	0.07	0.09	35.01	64.01	88.25	87.52	91.44	98.06
4	6.7	0.04	0.07	0.09	35.01	63.95	88.28	87.52	91.35	98.09
5	6.7	0.04	0.07	0.09	35.01	63.98	88.10	87.52	91.39	97.89
6	6.7	0.04	0.07	0.09	35.01	63.98	88.22	87.52	91.39	98.02
7	6.7	0.04	0.07	0.09	35.07	64.01	88.25	87.67	91.44	98.06
8	6.7	0.04	0.07	0.09	35.07	63.98	88.28	87.67	91.39	98.09
9	6.7	0.04	0.07	0.09	35.04	63.98	88.25	87.59	91.39	98.06
10	6.7	0.04	0.07	0.09	35.07	64.01	88.28	87.67	91.44	98.09
平均										92.35

表 5 日落黄回收率试验结果

序号	初始值 $\times 10^{-3}$ (mg/mL)	加标量 (mg/mL)			回收量 $\times 10^{-3}$ (mg/mL)			回收率 (%)		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
		2	3.3	0.05	0.07	0.09	44.94	63.20	98.91	89.88
3	3.3	0.05	0.07	0.09	44.94	63.28	99.23	89.88	90.41	110.3
4	3.3	0.05	0.07	0.09	44.94	63.22	99.23	89.88	90.32	110.3
5	3.3	0.05	0.07	0.09	44.94	63.20	99.20	89.88	90.28	110.2
6	3.3	0.05	0.07	0.09	44.94	63.25	99.02	89.88	90.36	110.0
7	3.3	0.05	0.07	0.09	44.97	63.22	98.91	89.94	90.32	109.9
8	3.3	0.05	0.07	0.09	44.94	63.28	99.20	89.88	90.41	110.2
9	3.3	0.05	0.07	0.09	44.97	63.20	99.23	89.94	90.28	110.3
10	3.3	0.05	0.07	0.09	44.94	63.22	98.91	89.88	90.32	109.9
平均										96.77

由表 4、5 可知, 饮料中柠檬黄的平均回收率 92.35%, 日落黄为 96.77%, 能定量回收。

4 结论

由实验可知, 饮料中合成色素柠檬黄的最大吸收波长 $\lambda_{\max} = 426\text{nm}$ 处的吸收系数为 $a = 53.45\text{L}$

$\cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 摩尔吸收系数 $\epsilon = 1.79 \times 10^4 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; 日落黄的最大吸收波长 $\lambda_{\text{max}} = 481 \text{nm}$ 的吸收系数为 $a = 34.00 \text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, 摩尔吸收系数 $\epsilon = 1.54 \times 10^4 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。测得饮料中柠檬黄和日落黄的含量分别为 0.0067mg/ml 和 0.0033mg/ml 。柠檬黄和日落黄的相对标准偏差 (RSD) 分别为 0.148% 和 1.026% , 色素在奥地利葡萄糖果味饮料中的平均回收率为 92.35% 和 96.77% 。此方法不需要进行色素分离, 所需的仪器设备简单, 从而大大简化了操作过程, 提高了分析效率。

参考文献

- [1] Collier S W, Storm J E, Bronaugh R L. Reduction of Azodycs During in Vitro Percutaneous Absorption[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1995, (118): 73—79.
- [2] Marmion D M. Handbook of U.S. Colorants for Foods, Drugs, and Cosmetics[M]. 1984.
- [3] 倪永年, 彭伏德. 比值倒数波谱法分析混合色素[J]. 分析化学, 1996, **24**(3): 249—253.
- [4] 严浩英. 五种人工和成食用色素的薄层色谱扫描分析[J]. 现代预防医学, 1997, **24**(2): 192—194.
- [5] 皇甫立霞, 陈文杰. 主成分回归-光度法研究食用色素混合体系的同时测定[J]. 合肥工业大学学报, 1999, **22**(5): 122—125.
- [6] 刘玉莹. 示波极谱法测定饮料及糖果中合成色素日落黄[J]. 中国卫生检验杂志, 1998, **8**(6): 351.
- [7] 陈海春, 王宓娜. 多元线性回归分光光度法同时测定柠檬黄和日落黄[J]. 仪器仪表与分析监测, 2001, (4): 29—30.
- [8] 吴方迪. 苋菜红、胭脂红、柠檬黄、亮蓝、日落黄五种食用合成色素标准物质[J]. 现代计量测试, 1994, (2): 26—28.
- [9] 白洁玲. 导数吸伏安法同时测定柠檬黄及日落黄[J]. 分析测试学报, 1996, **15**(4): 56—59.
- [10] 唐岩. 高效液相色谱法测定果冻中人工合成色素[J]. 卫生研究, 2002, **31**(1): 69—70.
- [11] 陈海春. 双波长 K 系数分光光度法同时测定日落黄及柠檬黄[J]. 化学试剂, 2003, **25**(2): 98—99.
- [12] 陈海春. 多元线性回归分光光度法同时测定食品添加剂[J]. 化学工程师, 2003, **94**(1): 30—31.
- [13] 刘瑛, 陈海春. 双波长标准加入法同时测定食品添加剂[J]. 仪器仪表及分析监测, 2004, (1): 35—38.
- [14] 武汉大学化学系. 仪器分析[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- [15] 周家华. 食品添加剂[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001.
- [16] 高倩. 紫外分光同时测定四种食用合成色素[J]. 分析检验, 1999, **56**(3): 56—58.

Ultraviolet Spectrophotometry for Simultaneous Measurements of Tartrazine and Sunset Yellow

LIU Leng^{a,b} LI Jian-Qing^b GUO Fen^a DONG Chuan^a

^a(Institute of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, P. R. China)

^b(Institute of Chemistry and Chemical Engineering, Jinzhong College, Jinzhong, Shanxi 030600, P. R. China)

Abstract A method for simultaneous determination of tartrazine and sunset yellow in drinks was developed by Ultraviolet spectrophotometry. The results showed the maximum absorption wavelength are 426nm and 481nm for tartrazine and sunset yellow, respectively, with the dye percentage density of 33.45 and $34.00 \text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, the molar absorptivity (ϵ) of 1.79×10^4 and $1.54 \times 10^4 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. The contents of tartrazine and sunset yellow in drinks are 0.0067 and 0.0033mg/mL , respectively, with relative standard deviations (RSD) of 0.148% and 1.026% , and recovery rates of 92.35% and 96.77% . The method is simple, efficient, and accurate.

Keywords Ultraviolet Spectrophotometry, Tartrazine, Sunset Yellow.