

食品中合成着色剂的分析方法

AF10215

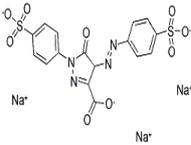
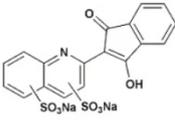
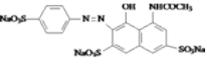
应用及技术服务部

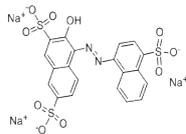
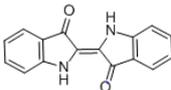
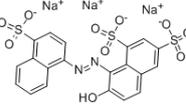
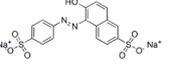
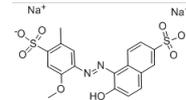
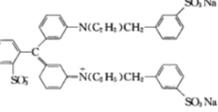
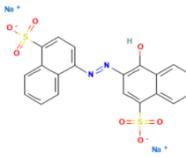
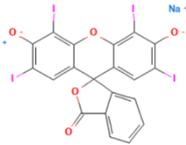
摘要：本实验重现了 GB 23200.121-XXXX 食品安全国家标准 食品中合成着色剂的测定，使用 Cleanert PWAX 固相萃取柱净化结合液相色谱的检测方法对红酒、红茶、腊肉等样品进行了测试。样品经乙醇氨水溶液提取后，Cleanert PWAX 固相萃取柱净化，HyperClone BDS C18 液相色谱柱进行检测，采用外标法定量。结果表明，添加水平的相对回收率在 80%~110%之间，能够满足检测要求。

关键词：GB 23200.121-XXXX；Cleanert PWAX；HyperClone BDS C18

样品信息

表 1 11 种着色剂相关信息

样品名称	英文名	结构式	分子式	分子量	CAS 号
柠檬黄	Tartrazine		$C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$	534.36	1934-21-0
喹啉黄	Quinoline Yellow		$C_{18}H_9NNa_2O_8S_2$	477.38	8004-92-0
新红	New red		$C_{18}H_{12}O_{11}N_3Na_3S_3$	611.45	220658-76-4

样品名称	英文名	结构式	分子式	分子量	CAS 号
苋菜红	Amaranth		$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$	604.47	915-67-3
靛蓝	Indigo		$C_{16}H_{10}N_2O_2$	262.26	482-89-3
胭脂红	Ponceau 4RC		$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$	604.47	2611-82-7
日落黄	Sunset yellow FCF		$C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$	452.37	2783-94-0
诱惑红	Allura Red AC		$C_{18}H_{14}N_2Na_2O_8S_2$	496.42	25956-17-6
亮蓝	Brilliant Blue FCF		$C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$	792.84	3844-45-9
酸性红	Carmosine		$C_{20}H_{12}N_2Na_2O_7S_2$	502.44	3567-69-9
赤藓红	Erythrosin B disodium salt		$C_{20}H_6I_4Na_2O_5$	879.86	16423-68-0

实验部分

仪器、试剂与材料

主要仪器设备

超高效液相色谱仪（Thermo Ultimate 3000）；

Agela MULTI-SPE M08（SPE 正压型固相萃取仪）

试剂材料

Cleanert PWAX 固相萃取柱：150 mg/6 mL；

实验用水、甲醇、乙醇为质谱级，乙酸铵、氨水、甲酸均为分析纯；

微孔滤膜（水相）：PVDF 13 mm×0.45 μm；

样品基质

实验采用的基质分别为红酒、红茶、腊肉，均质后于 4℃ 条件下保存。

溶液配制

乙醇氨水溶液：量取无水乙醇 350mL，加入 2 mL 氨水，用水稀释并定容至 500mL 混匀。

5%甲醇水溶液：移取甲醇 5 mL，用水稀释并定容至 100 mL，混匀。

2%氨水甲醇溶液：移取 2 mL 氨水置于 100 mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度。

乙酸铵溶液（20 mmol/L）：称取 1.54 g 乙酸铵（精确至 0.001 g），加水溶解并定容至 1000 mL。

乙酸铵缓冲溶液（pH=9.0）：上述配制好的乙酸铵溶液加氨水调 pH 9.0。

2%甲酸水溶液：移取甲酸 2 mL，用水稀释定容至 100 mL。

混合标准溶液（1000mg/L）：外购。混合标准溶液避光 0℃~4℃ 保存，有效期 2 年。

混合标准溶液（10mg/L）：精确吸取 1000mg/L 混合标准溶液 50 μL，用水定容至 5mL。

标准工作曲线：单点定量。精确吸取 10mg/L 混合标准溶液 100 μL 的混合标准溶液，用空白溶液释成质量浓度为 1 mg/L 的标准工作溶液 1mL，供高效液相色谱测定。

分析步骤

试样提取

液体及部分固体试样（饮料类、酒类、乳制品、果冻、蜜饯凉果、食用明胶制品、预制水产品、调味料、腌渍的蔬菜等）

准确称取红酒试样 2g（精确至 0.001 g），置于 50 mL 具塞离心管中，加入 600 μ L 混合标准溶液，加入 25 mL 乙醇氨水溶液，涡旋 1 min，50℃ 超声提取 20 min，8000 转/分钟离心 5 min，取上清液置于 50 mL 容量瓶中，加入 15 mL 乙醇氨水溶液重复提取 1 次，离心后合并上清液，用乙醇氨水溶液定容至 50 mL，即得提取液。准确吸取提取液 10 mL，50℃ 下氮气浓缩至 2 mL 左右，分 2~3 次共加入 10 mL 5% 甲醇水溶液溶解，作为待净化液。

含油量较大的试样（巧克力制品、薯片、豆干、糕点、酱卤肉、沙拉酱和冰淇淋等）

准确称取腊肉试样 2 g（精确至 0.001 g），置于 50 mL 具塞离心管中，加入 600 μ L 混合标准溶液，加入 20 mL 石油醚，涡旋 1 min，振摇（速率 \geq 250 转/分钟）提取 10 min，8000 转/分钟离心 5 min，弃去上清液，除尽石油醚溶剂，加入 25 mL 乙醇氨水溶液至除油试样中，涡旋 1 min，50℃ 超声提取 20 min，8000 转/分钟离心 5 min，取上清液置于 50 mL 容量瓶中，加入 15 mL 乙醇氨水溶液重复提取 1 次，离心后合并上清液，用乙醇氨水溶液定容至 50 mL，即得提取液。准确吸取提取液 10 mL，50℃ 下氮气浓缩至 2 mL 左右，分 2~3 次共加入 10 mL 5% 甲醇水溶液溶解，作为待净化液。

干性固体试样（红糖、硬糖、玉米面粉、虾味片、茶叶和香辛料等）

准确称取试样 2 g（精确至 0.001 g），置于 50 mL 具塞离心管中，先加入 5 mL 水溶胀样品，加入 600 μ L 混合标准溶液，后加入 25 mL 乙醇氨水溶液，涡旋 1 min，50℃ 超声提取 20 min，8000 转/分钟离心 5 min，取上清液置于 50 mL 容量瓶中，加入 15 mL 乙醇氨水溶液重复提取 1 次，离心后合并上清液，用乙醇氨水溶液定容至 50 mL，即得提取液。准确吸取提取液 10 mL，50℃ 下氮气浓缩至 2 mL 左右，分 2~3 次共加入 10 mL 5% 甲醇水溶液溶解，作为待净化液。

试样净化

活化

分别用 6 mL 甲醇和 6 mL 水活化 Cleanert PWAX 固相萃取柱 (CAT#WA1506-P)，保持柱体湿润。

上样

活化后立即将提取步骤中的待净化液以 1.0 mL/min 的流速加载在 Cleanert PWAX 固相萃取柱 (CAT#WA1506-P) 上。

淋洗

依次用 6 mL 2% 甲酸水溶液和 6 mL 甲醇淋洗 Cleanert PWAX 固相萃取柱 (CAT#WA1506-P)，弃去淋洗液，真空抽 2 min 至柱体近干。

洗脱

用 6 mL 2% 氨化甲醇溶液洗脱，分两次加入，每次 3 mL，流速低于 1.0 mL/min，收集洗脱液，于 50℃ 氮气浓缩至近干，准确加入 2 mL pH=9 的乙酸铵溶液溶解，溶液用针筒过滤器，水系 PVDF (13 mm×0.45 μm)，弃去 2~5 滴初滤液，取续滤液作为待测液。

测定

色谱条件

色谱柱: HyperClone BDS C18 (4.6 × 250 mm, 5 μm, 130 Å) ;

流动相 A 相: 20 mmol/L 乙酸铵溶液;

流动相 B 相: 甲醇;

流 速: 1.0 mL/min;

柱 温: 40 °C;

进样量: 10 μL;

梯度程序见表 2:

表2 梯度条件

时间 (min)	流速 (mL/min)	A (%)	B (%)
0.010	1.0	90	10
12.00	1.0	60	40
17.50	1.0	60	40
19.00	1.0	50	50
22.50	1.0	45	55
33.00	1.0	0	100
36.00	1.0	0	100
37.00	1.0	90	10
42.00	1.0	90	10

结果与讨论

由表 3~5 可知，采用 Cleanert PWAX 固相萃取结合 LC 的检测方法对红酒、腊肉、红茶等基质中的 11 种合成着色剂添加回收进行测试，扣除红茶基质喹啉黄本底，11 种合成着色剂添加回收率均在 80%~110%之间，RSD 均小于 10%；红酒基质与腊肉基质中合成着色剂的添加回收率均在 80%~110%之间，RSD 均小于 10%。方法中 11 种合成着色剂的检出限为 1.0 mg/kg，定量限为 3.0mg/kg，能够满足检测要求。

表 3 红酒添加回收实验结果(添加水平 3 mg/kg)

物质名称	回收率%	RSD%
柠檬黄	94.35	3.15
喹啉黄	82.71	2.70
新红	89.43	1.77
苋菜红	98.13	3.44
胭脂红	81.43	2.10
日落黄	91.82	7.92
诱惑红	93.99	2.75
酸性红	87.56	2.84
赤藓红	80.44	5.96
靛蓝	100.79	1.07
亮蓝	85.32	2.82

表 4 红茶添加回收实验结果(添加水平 3 mg/kg)

物质名称	回收率%	RSD%
柠檬黄	82.50	1.29
喹啉黄	96.88	2.23
新红	88.75	5.05
苋菜红	80.81	3.70
胭脂红	88.81	7.92
日落黄	84.01	8.23
诱惑红	90.14	0.55
酸性红	83.97	4.08
赤藓红	85.76	3.45
靛蓝	102.11	5.78
亮蓝	82.19	0.76

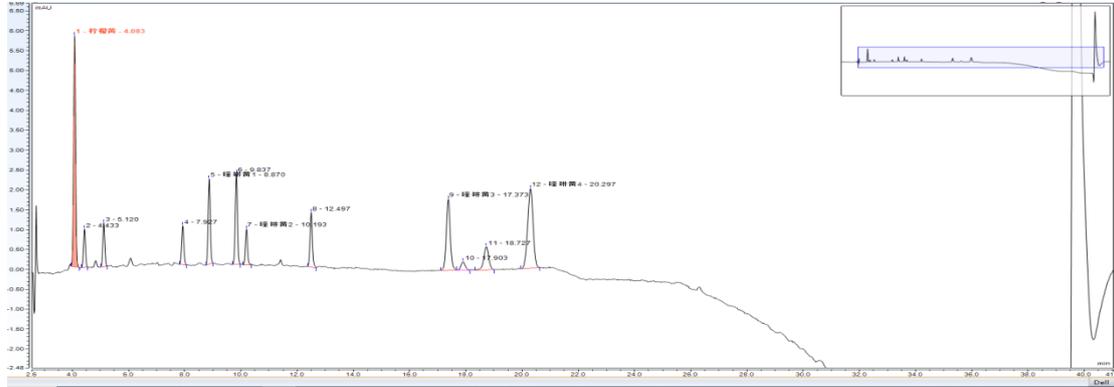
(除去本底喹啉黄 0.975 mg/kg 后的结果)

表 5 腊肉添加回收实验结果(添加水平 3 mg/kg)

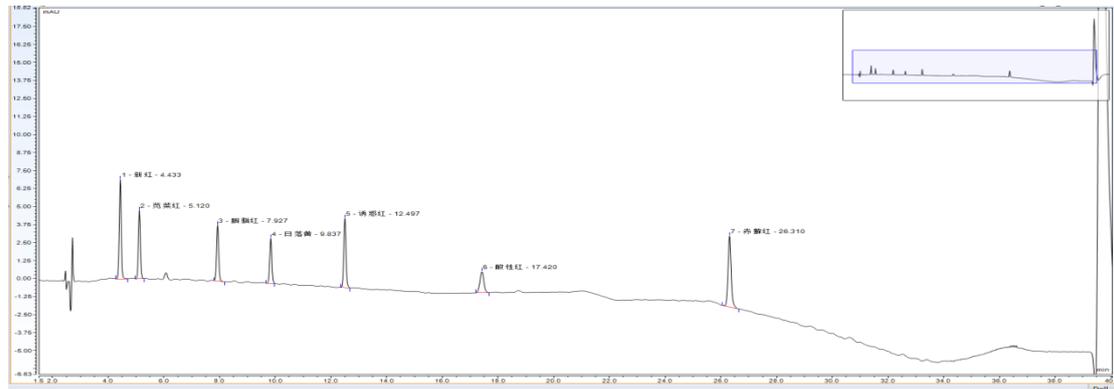
物质名称	回收率%	RSD%
柠檬黄	90.39	1.29
喹啉黄	80.97	1.78
新红	90.57	2.72
苋菜红	82.18	1.83
胭脂红	80.42	1.02
日落黄	98.63	4.92
诱惑红	94.69	4.50
酸性红	87.20	1.03
赤藓红	86.63	4.04
靛蓝	100.59	2.58
亮蓝	93.64	1.39

实验谱图

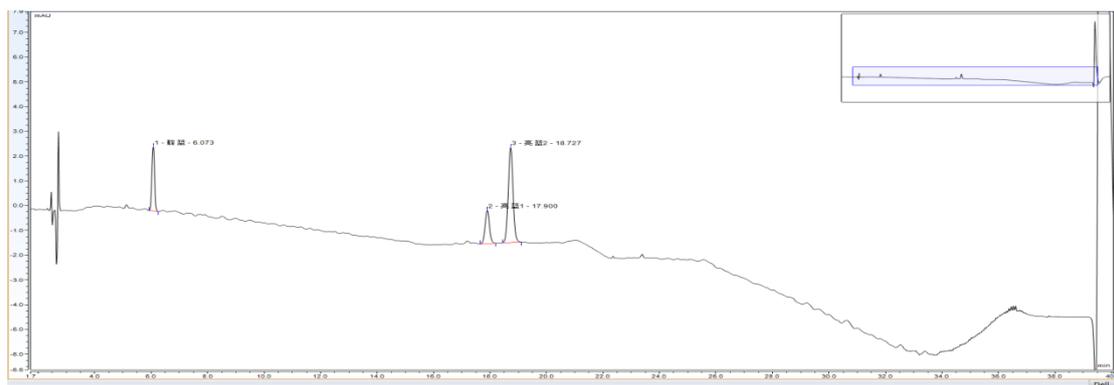
11种合成着色剂标准溶液（1 mg/kg）液相色谱图



检测波长 415nm



检测波长 520nm



检测波长 610nm

图 1. 11种合成着色剂标准溶液色谱图

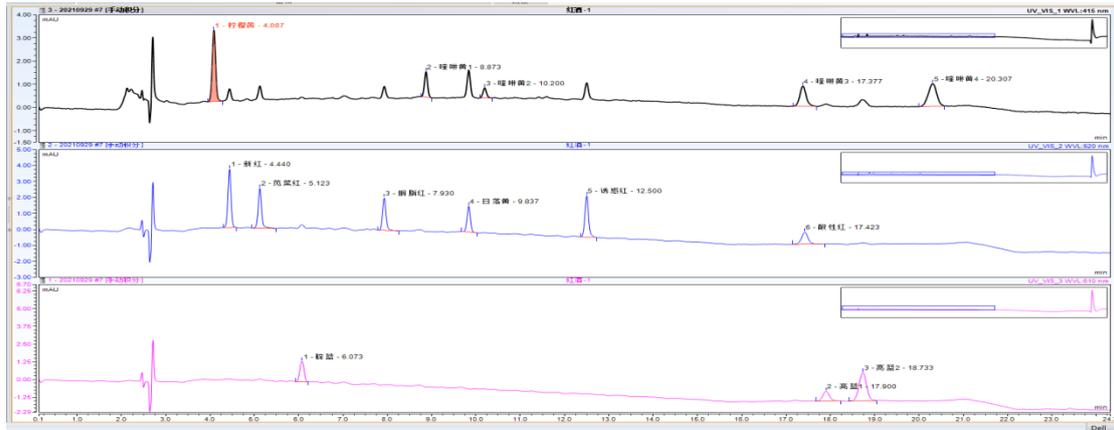


图 2. 3 mg/kg 红酒基质加标色谱图

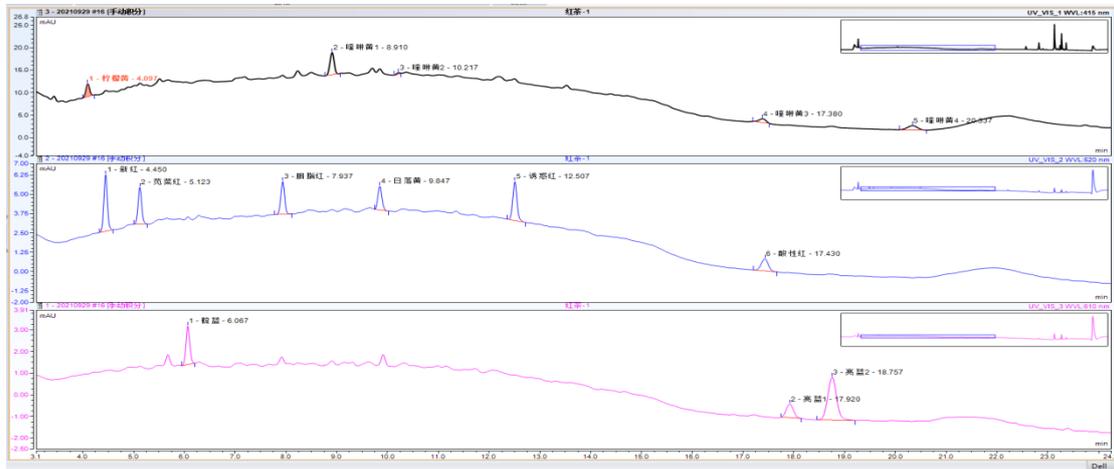


图 3. 3 mg/kg 红茶基质加标色谱图



图 4. 3 mg/kg 腊肉基质加标色谱图

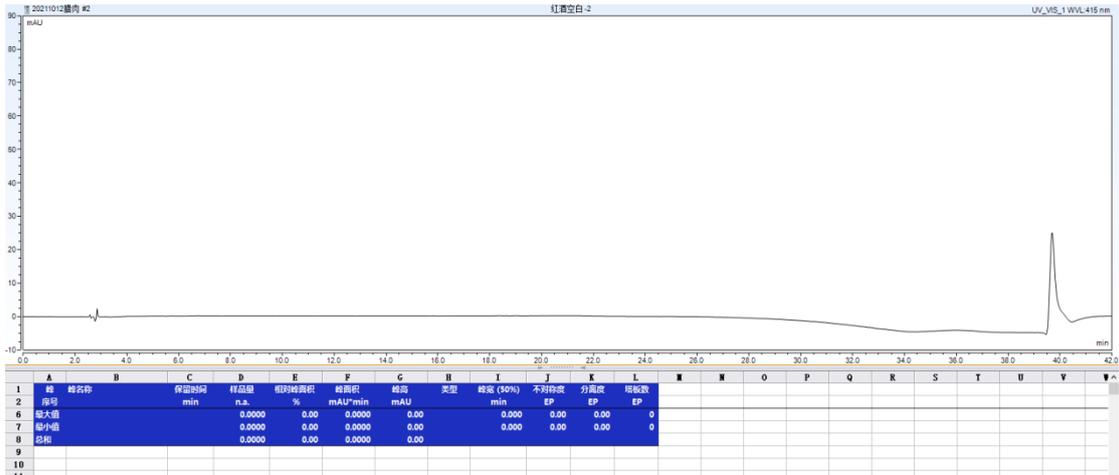


图 5. 红酒空白

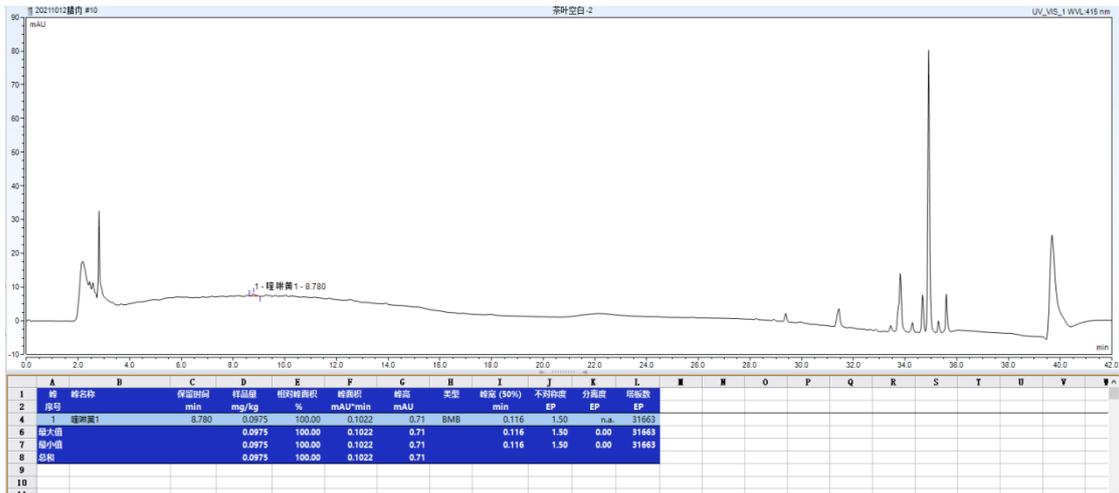


图 6. 红茶空白

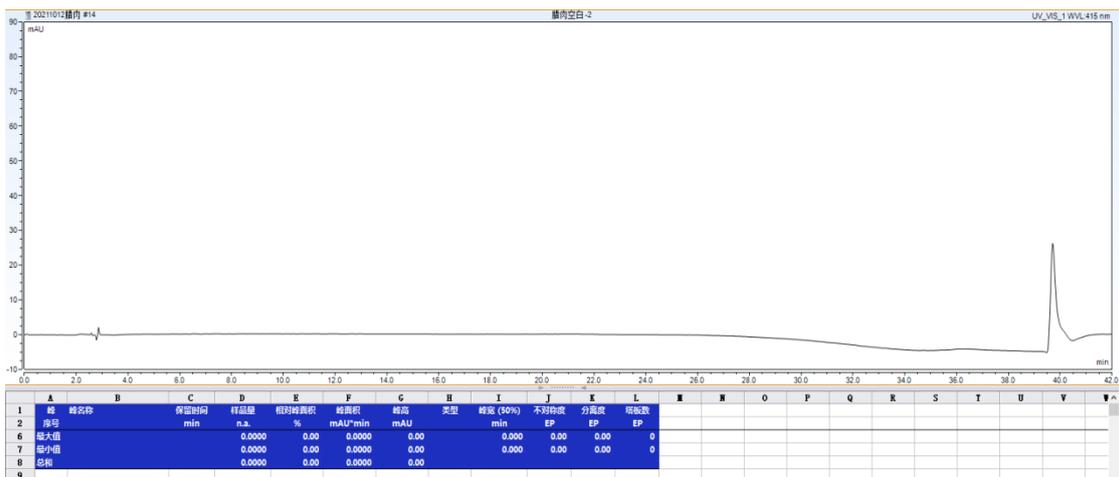


图 7. 腊肉空白

结论

本实验重现了 **GB 23200.121-XXXX** 食品安全国家标准 食品中合成着色剂的测定，使用 Cleanert PWAX 固相萃取柱净化结合液相色谱的检测方法对红酒、红茶、腊肉等样品进行了测试。实验表明，除红茶基质有喹啉黄本底外，11 种合成着色剂的添加回收率均在 80%~110% 之间，RSD 值均小于 10%，平行性良好，能够满足实验要求。说明 Cleanert PWAX 固相萃取柱可用于 **GB 23200.121-XXXX** 食品安全国家标准 食品中合成着色剂的检测。