

高效液相色谱法同时测定酱腌菜中的 3 种色素

谭建兵, 周 亮(重庆市开县疾病预防控制中心 405499)

【摘要】 目的 寻找快速、准确地测定食品中柠檬黄、胭脂红、日落黄的方法。**方法** 采用色谱柱进行分离, 流动相为 0.02 mol/L 乙酸铵、甲醇, 流速 1.0 mL/min, 梯度洗脱, 检测波长 254 nm。**结果** 该方法可以同时测定酱腌菜中 3 种色素, 回归方程相关系数均在 0.999 以上。加标回收率在 86.7%~91.9% 之间。**结论** 该方法简单、快速、准确、灵敏度高、结果稳定, 适合测定酱腌菜中柠檬黄、日落黄、胭脂红。

【关键词】 高效液相色谱法; 柠檬黄; 胭脂红; 日落黄; 酱腌菜

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.17.022 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)17-2254-02

Application of high-performance liquid chromatography for the determination of three pigments in pickles TAN Jianbin, ZHOU Liang (Kaixian Center for Disease Control and Prevention, Chongqing 405499, China)

【Abstract】 Objective To detect lemon yellow, carmine and sunset yellow in food rapidly and precisely. **Methods** Samples were seprated by using chromatographic column. Mobile phase was 0.02 mol/L ammonium acetate and methanol and flow speed was 1.0 mL/min. After gradient elution, samples were detect at wavelength of 254 nm. **Results** Three pigments were detected simultaneously and the correlation coefficients of regression equations were all more than 0.999. The recovery rate was 86.7%~91.9%. **Conclusion** High-performance liquid chromatography could be an simple, rapid, precise and astute method for the detection of lemon yellow, carmine and sunset yellow in pickles.

【Key words】 high-performance liquid chromatography; lemon yellow; carmine; sunset yellow; pickles

色素是指能被人适量食用的可使食物在一定程度上改变原有颜色的食品添加剂。其分为天然和人工合成两种。天然色素一般无毒害作用, 而人工合成色素多以苯、甲苯、萘等化工产品为原料, 经过磺化、硝化、偶氮化等一系列有机反应化合而成, 可影响人体细胞代谢、酶的活力, 甚至能引起癌变, 但由于其成本低廉, 色泽鲜艳, 着色力强, 性质稳定, 使用方便等特点使其在食品生产加工行业中被广泛应用^[1-2]。目前我国允许使用的人工合成色素有苋菜红、胭脂红、柠檬黄、日落黄和靛蓝, 在食品添加剂国家标准 GB2760-2011^[3]中规定了各种色素的允许使用量。本文结合日常工作实际, 研究建立了一种简单、有效的样品纯水提取法, 采用高效液相色谱, 以 0.02 mol/L 乙酸铵、甲醇梯度洗脱的方式同时测定酱腌菜中柠檬黄、胭脂红、日落黄, 获得满意的实验结果。

1 材料与方法

1.1 主要仪器 高效液相色谱仪: 岛津 10AVP 型附二极管阵列检测器, 色谱柱: 4.6 mm×250 mm, 5 μm(依利特); IKA A11 basic 样品粉碎机(德国 IKA 公司)。

1.2 试剂与材料

1.2.1 材料 0.45 μm 水系微孔滤膜(津腾), 5 mL 注射器。

1.2.2 试剂 甲醇(色谱纯, Merck 公司), 乙酸铵、柠檬酸为优级纯, 实验室用水均为超纯水, 电阻率 18.25 MΩ·cm(优谱公司超纯水制备)。

1.2.3 标准储备液 柠檬黄: 中国计量科学研究院, 批号: 11001, 浓度: 0.50 mg/mL, 不确定度为 1%, 有效期至 2014 年 4 月, 等级标准号为 GBW(E)100001a。胭脂红: 中国计量科学研究院, 批号: 11001, 浓度: 0.50 mg/mL, 不确定度为 1%, 有效期至 2014 年 4 月, 等级标准号为 GBW(E)100004a。日落黄: 中国计量科学研究院, 批号: 10001, 浓度: 0.50 mg/mL, 不确定度为 1%, 有效期至 2013 年 7 月, 等级标准号为 GBW(E)

100003a。

1.2.4 标准溶液的配制 准确吸取 3 种标准溶液各 5.00 mL, 用纯水稀释至刻度, 混匀, 分别配制成浓度为 5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL、40 μg/mL、50 μg/mL 的标准工作曲线。

1.3 色谱条件 色谱柱: 4.6 mm×250 mm, 5 μm HYPersil ODS2 分析柱; 流动相: A, 甲醇, B, 0.02 mol/L 乙酸铵, 梯度洗脱(见表 1); 流速: 1.0 mL/min; 检测器: 二极管阵列; 检测波长: 254 nm, 标准样品图谱如图 1 所示。

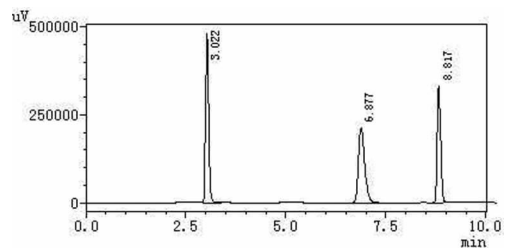


图 1 标准样品色谱图(50 μg/mL)

1.4 样品处理 称取 1.00 g 已粉碎样品于 10 mL 容量瓶中, 加水至刻度, 用柠檬酸溶液调 pH=6 左右, 振摇 3 min, 静置 3 h 后置离心管中, 2 000 r/min 离心 5 min, 取上清液经微孔滤膜过滤后进样分析。

2 结 果

2.1 线性范围与检出限 3 种色素的浓度与峰面积呈良好的线性关系, 相关系数均可达到 0.999 2 以上, 以 3 倍的噪音计算出最低检出量, 再根据进样量换算为检出限, 见表 1。

2.2 精密度 取阴性样品, 分别加入 3 种色素 10 μg/mL、20 μg/mL 标准溶液, 连续进行 6 次测定, 计算相对标准偏差 RSD 值。RSD 值在为 1.10%~2.43% 之间, 精密度较好。

2.3 回收率试验 在已知含量的样品中加入一定量的色素标准溶液, 进行加标回收测定, 计算加标回收率, 结果见表 2。由

表 2 可见样品加标回收率在 88.3%~91.9% 之间,回收率较理想。

表 1 线性范围、线性方程及相关系数

名称	线性范围 (μg/mL)	线性方程	相关 系数	检出限 (mg/kg)
柠檬黄	5~50	Y=0.000 055 96X-0.113 7	0.999 5	0.12
胭脂红	5~50	Y=0.000 038 98X+0.701 4	0.999 2	0.20
日落黄	5~50	Y=0.000 042 75X+0.521 8	0.999 6	0.20

表 2 方法回收率实验结果

名称	本底值 (μg/kg)	标准加入量 (μg/ kg)	测得总量 (μg/ kg)	回收率 (%)
柠檬黄	<0.00	15.00	13.25	88.3
	<0.00	30.00	27.13	90.4
胭脂红	<0.00	15.00	13.12	87.5
	<0.00	30.00	26.86	89.5
日落黄	7.08	15.00	20.11	86.7
	7.08	30.00	34.65	91.9

表 3 两种方法回收率比较

		直接提取法			聚酰胺吸附法		
		柠檬黄	胭脂红	日落黄	柠檬黄	胭脂红	日落黄
样品 1	本底值(μg/kg)	<0.00	<0.00	<0.00	<0.00	<0.00	<0.00
	加入量(μg/ kg)	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
	测定值(μg/ kg)	8.95	8.87	9.02	8.54	8.63	8.49
	回收率(%)	89.5	88.7	90.2	85.4	86.3	84.9
样品 2	本底值(μg/kg)	5.32	6.14	9.11	5.32	6.14	9.11
	加入量(μg/ kg)	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00
	测定值(μg/ kg)	27.83	28.44	31.76	26.65	27.37	30.54
	回收率(%)	90.0	89.2	90.6	85.3	84.9	85.7
平均回收率(%)		89.8	89.0	90.4	85.4	85.6	85.3

3 讨 论

本研究的前处理方法为纯水直接提取法,而国标 GB/T5009.35-2003^[4]采用聚酰胺吸附法。国标方法所需器材及试剂多,成本高,操作过程繁琐,耗时长,损失大^[5-6]。本法提取过程简单,准确快速,且少了很多中间抽滤、洗涤、解析、蒸发以及吸附等环节,减少了操作误差及不必要的损失,成本低,适应于大批量样品的测定。两种方法通过回收率实验,纯水直接提取

法的柠檬黄、胭脂红、日落黄平均回收率分别为 89.8%、89.0%、90.4%,聚酰胺吸附法的柠檬黄、胭脂红、日落黄平均回收率分别为 85.4%、85.6%、85.3%(见表 3)。

流动相梯度变化的选择和仪器及色谱柱有很大关系,甲醇的比例如果从一开始就过大,柠檬黄出峰太快,与杂质峰有干扰^[7-8],而是应逐渐增大甲醇的比例,以便获得更好的分离效果。

回收率实验证明纯水直接提取法提取效果更好,回收率更高,平行性、精密度更好,满足实验要求,能够同时检测酱腌菜中 3 种色素,适宜推广应用,为酱腌菜中色素的检测分析提供了依据。

参考文献

[1] 朱海英,黄万琪.食品安全背景下合成色素的问题及对策[J].现代医药卫生,2011,27(8):1259-1262.

[2] 华永有,林坚,林宏琳. HPLC 法测定保健食品中的 8 种合成色素的研究[J].中国卫生检验杂志,2013,23(1):64-67.

[3] 蒲云霞,徐晓枫,李伟,等.高效液相色谱法检测药品与保健品囊壳中的合成色素[J].中国卫生检验杂志,2010,20(7):1664-1665.

[4] 陈文军.高效液相色谱法测定食品中的合成色素酸性红 26[J].光谱实验室,2012,10(5):2848-2851.

[5] 林仁权,郎燕玲,王雪君. HPLC 测定合成色素的干扰峰鉴别研究[J].中国卫生检验杂志,2011,21(6):1378-1381.

[6] 肖海龙,屠海云,王红青,等.反相高效液相色谱法快速测定食品中 18 种水溶性合成着色剂[J].中国卫生检验杂志,2011,21(2):264-266.

[7] 高文惠,耿静静,裴立.高效液相色谱法同时测定食品中多种添加剂[J].食品科学,2008,29(9):472-475.

[8] 黄海龙,庄莉,崔强,等.高效液相色谱法同时测定榨茶中的 10 种食品添加剂[J].化学分析计量,2011,20(5):20-22.

(收稿日期:2013-01-11 修回日期:2013-04-22)

(上接第 2253 页)

治疗过程中,仍要注意患者日常营养的摄入,在患者发生放疗的不良反应后要积极处理,为后期手术做充分的准备。综上所述,术前辅助放疗能够提高低位直肠癌患者的保肛率,不会增加术后并发症的发生率,且不会对患者的细胞免疫功能造成影响。

参考文献

[1] 杨平,彭翔,邓建中,等.直肠癌新辅助治疗后联合腹腔镜下全直肠系膜切除术 44 例[J].广东医学,2012,33(17):2586-2590.

[2] 董功航,兰平.新辅助放疗对直肠癌细胞生物学特性的影响[J].结直肠肛门外科,2012,18(1):16-19.

[3] 柴宇啸,曲兴龙,王奕静,等.同步新辅助放疗联合全直肠系膜切除术治疗中低位局部进展期直肠癌的临床研究

[J].肿瘤,2011,31(7):658-661.

[4] 郁宝铭,张敏,吴唯勤,等.新辅助放疗在局部进展期低位直肠癌中的疗效[J].医学信息:手术学分册,2007,45(4):300.

[5] 高显华.中低位直肠癌新辅助放疗后腹腔镜全直肠系膜切除术的短期疗效观察[J].中华胃肠外科杂志,2010,13(4):285.

[6] 李世拥.直肠癌术前新辅助放疗的相关问题[J].中华胃肠外科杂志,2010,13(4):242-244.

[7] 王林,顾晋.新辅助放疗对直肠癌降期的影响[J].中国普外基础与临床杂志,2011,18(11):1147-1150.

[8] 顾晋.直肠癌多学科综合治疗模式与实践[J].中华外科杂志,2010,48(21):1607-1609.

(收稿日期:2013-01-13 修回日期:2013-04-26)