

# 食品中合成着色剂的测定（完全执行国标 GB/T 21916-2008 和 2014 年国家食品污染和有害因素风险监测工作手册）

## 1、适用范围

适用于食品中柠檬黄、苋菜红、靛蓝、胭脂红、日落黄、诱惑红、亮蓝等 7 种着色剂的测定。

## 2、提取步骤（以水果罐头为例）

### 试剂的配置：

- 1) 乙酸铵溶液（0.02 mol/L）：称取 1.54 g 乙酸铵，加水至 1000 mL，溶解，经 0.45 $\mu$ m 滤膜过滤。
- 2) 甲醇-甲酸（6+4）溶液：量取甲醇 60 mL，甲酸 40 mL，混匀。
- 3) 柠檬酸溶液：称取 20 g 柠檬酸（ $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ ），加水至 100 mL，溶解混匀。
- 4) 无水乙醇-氨水-水（7+2+1）溶液：量取无水乙醇 70 mL，氨水 20 mL，水 10 mL，混匀。
- 5) pH=6 的水：水加柠檬酸溶液调节至 pH 到 6。

## 3 SPE 柱净化过程

SPE 柱：月旭 Welchrom<sup>®</sup> 聚酰胺固相萃取柱，1 g/6 mL

试样提取：取 2 g 罐头果肉，加 10 mL 乙醇-水（1:1），超声 10 min，4000 转离心 10 min 后取上清液。重复三次，合并上清液，待净化；

- 1) 活化: 5 mL 甲醇、5 mL 水, 5 mL pH=6 的水;
- 2) 上样: 加入 30 mL 提取好的样品溶液, 控制流速, 不宜过快;
- 3) 淋洗: 10 mL pH = 4 的水, 20 mL 甲醇-甲酸 (6+4) 洗去天然色素, 10 mL pH=7 的水洗至中性;
- 4) 洗脱: 15 mL 氨水-乙醇-水 (2+7+1) 洗脱, 收集洗脱液, 将洗脱液置于 80 °C 水浴挥干, 用水定容至 5 mL, 上机测定。

**注意:** 1) 实验过程中发现: 水果罐头的提取用乙醇-水 (1:1) 作为提取剂的效果更好, 并且也省去了用乙醇-氨水提取后, 后面还需要浓缩挥发氨水才能过 SPE 柱这个步骤, 方便简单;

2) 水果罐头提取后, 离心取上清液, 要注意不要把残渣中的颗粒物混进溶液, 因为这可能造成过 SPE 柱时流速慢的问题。再者, 样品过 SPE 柱时要注意, 需要抽取一定的真空, 以保证样品过柱时流速不至于较慢;

3) 进行加标回收率实验时, 往 2.0 g 罐头果肉样品溶液中加入 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标液 500  $\mu\text{L}$ ;

4) 过柱速率不能太快, 否则回收率不理想;

5) 用甲醇-甲酸 (6/4) 洗去天然色素, 要保证尽可能去除黄色的天然色素, 因而甲醇-加酸溶液的洗脱体积一定要足够;

6) 移取 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  的标液 500  $\mu\text{L}$ , 定容至 5 mL, 上机分析, 作为回收率实验的标准溶液。

#### 4、色谱条件

色谱柱：月旭 Ultimate<sup>®</sup>XB-C18, 4.6×250 mm, 5 μm;

流动相：甲醇：0.02 mM 乙酸铵溶液，梯度洗脱；

流速：1.0 mL/min

柱温：30 °C

检测波长：254 nm

进样量：20 μL

表 1：液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	0.02 mM 乙酸铵溶液/%	甲醇/%
0	80	20
5	65	35
10	20	80
16	20	80
17	80	20
25	80	20

#### 5、色谱图或者加标回收率结果

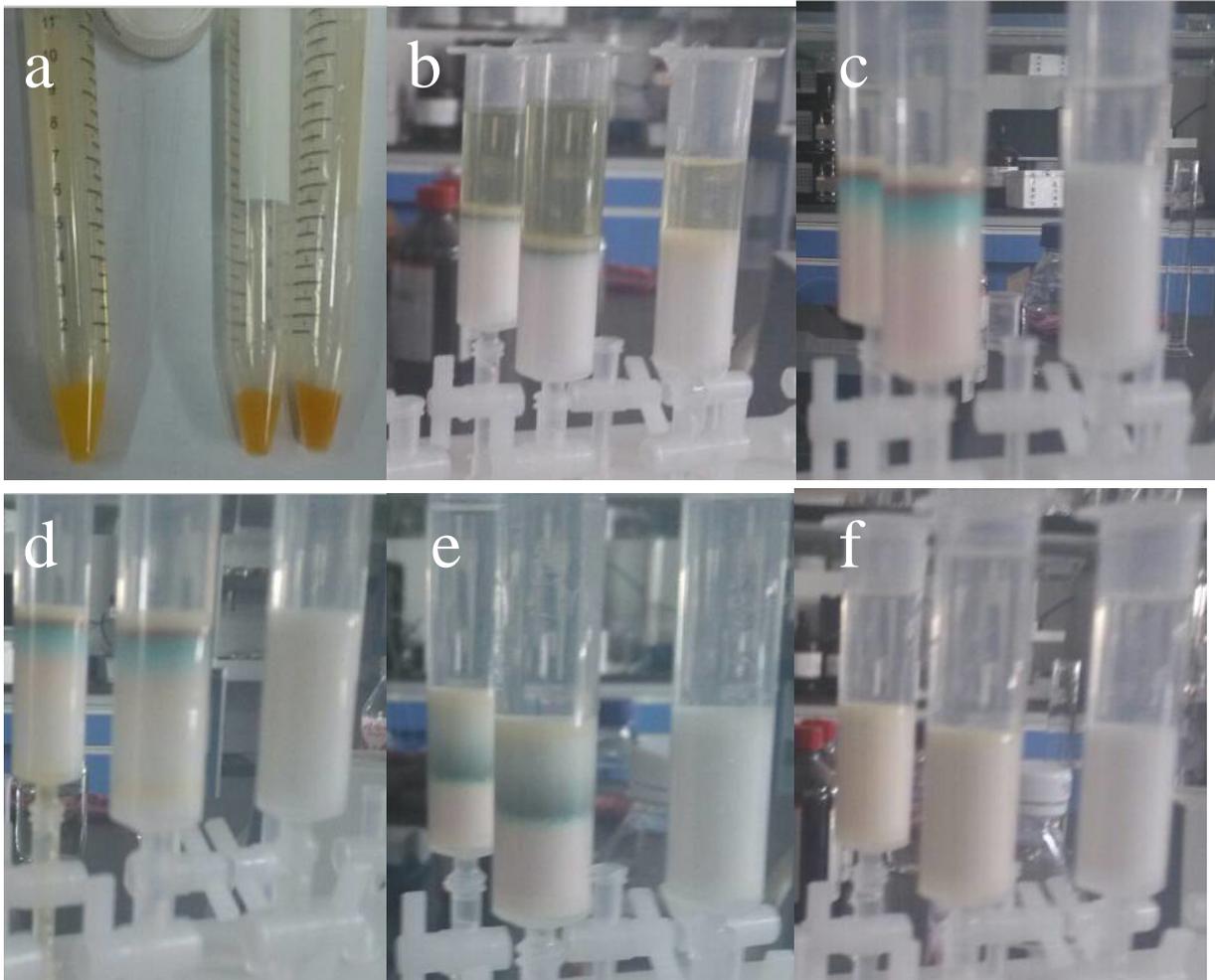


图 1：水果罐头中色素净化过程图（各张图左边的 2 两支 SPE 柱管是实际样品加标 SPE 过程图，右边的一支 SPE 柱管是实际样品的 SPE 过程图）

说明：图 1a 是水果罐头提取的过程图；图 1b 是样品上样的过程图；图 1c, 1d 是样品的淋洗去除杂质的过程图（柱管里面的天然色素，随淋洗溶剂逐渐流出柱外，柱管上部的棕色是人工合成色素的吸附过程；由图可以明显看出天然色素的去除和人工合成色素的保留效果非常明显）；图 1e, 1f 是样品的洗脱过程图（表示将天然色素去除后，再将人工合成色素从柱管上洗脱出来）。

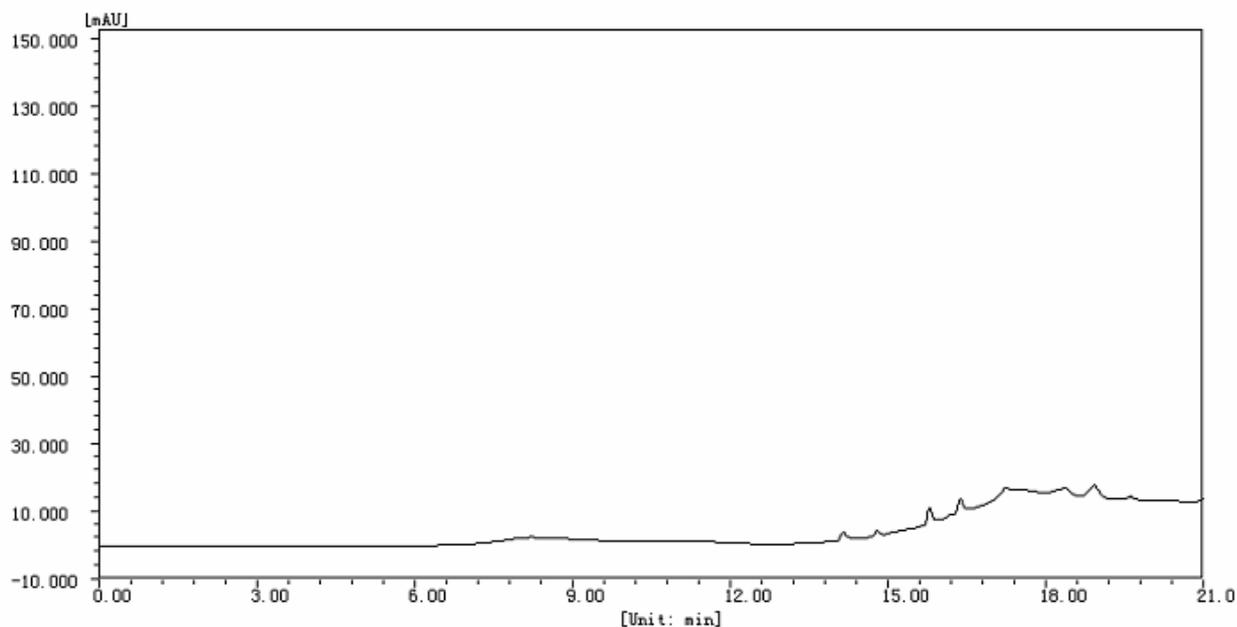


图 2：溶剂空白色谱图（用纯水作溶剂）

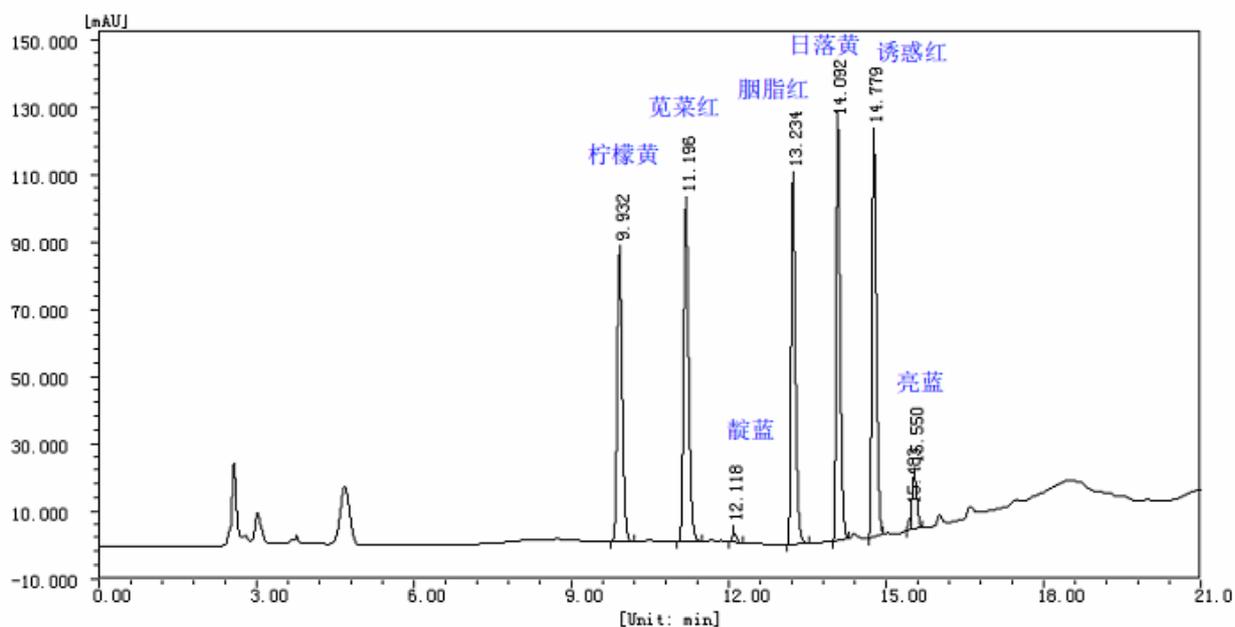


图 3：色素标准溶液色谱图（进样浓度：10 ppm）

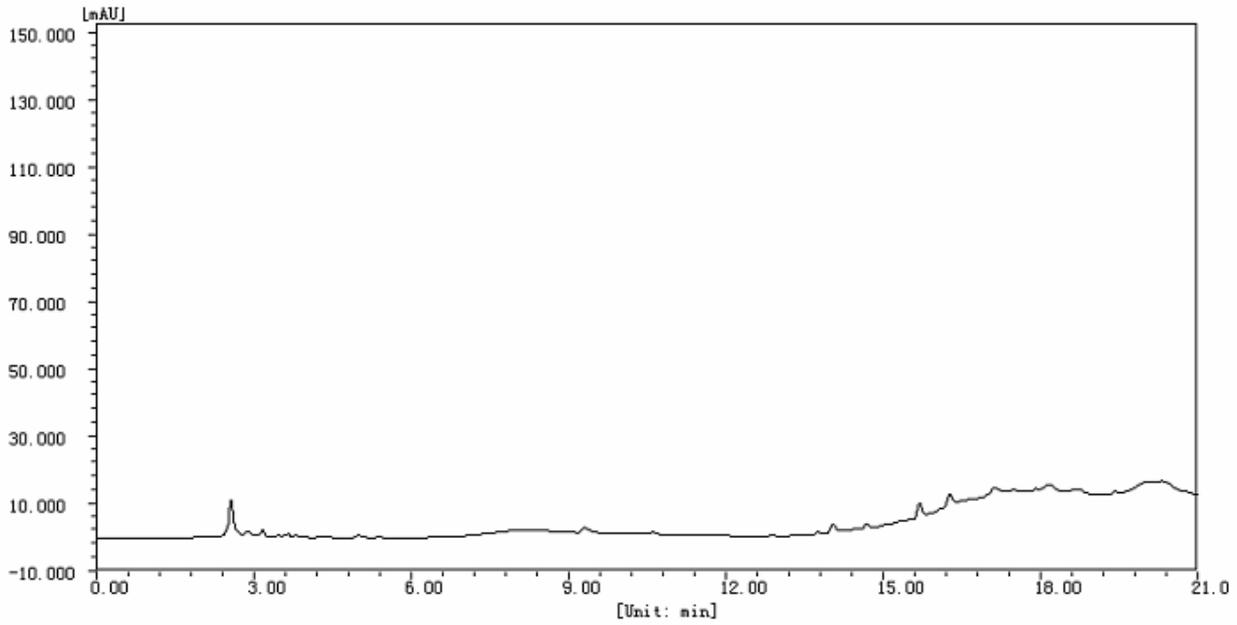


图 4：实际水果罐头样品色谱图

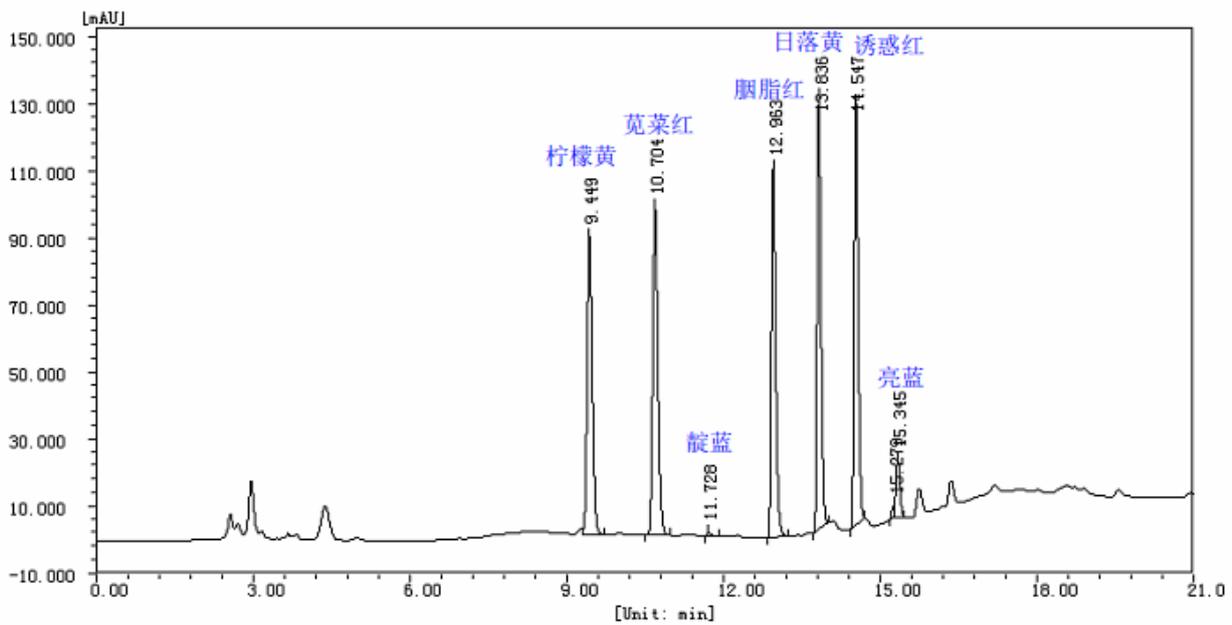


图 5：实际水果罐头样品加标色谱图（加标浓度：2.5 mg/kg）

表 2, 人工合成色素加标回收率结果

色素名称	原始含量(mg/kg)	加标含量(mg/kg)	回收率(%)
柠檬黄	-	25	102.1, 98.1
苋菜红	-	25	97.6, 96.4
靛蓝	-	25	58.0, 51.0
胭脂红	-	25	98.6, 97.8
日落黄	-	25	99.6, 99.4
诱惑红	-	25	97.9, 97.1
亮蓝	-	25	98.2, 101.1

注：靛蓝的回收率较低，这可能跟它在碱性条件下不稳定、易还原有关系。