

饮品中着色剂 HPLC检测解决方案

目录

1	前言.....	1
2	仪器设备与试剂.....	2
3	实验方法.....	3
4	实验结果.....	4
5	结论.....	7
6	附录.....	8

1 前言

1.1. 什么是着色剂

着色剂又称食品色素，是以食品着色为主要目的，使食品赋予色泽和改善食品色泽的物质。

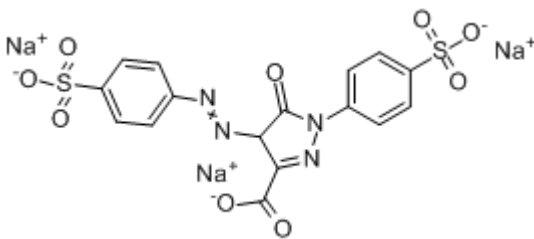
目前世界上常用的食品着色剂有 60 余种，我国允许使用的有 46 种，按其来源和性质分为食品合成着色剂和食品天然着色剂两类。

天然着色剂主要是指由动、植物组织中提取的色素，常用的天然着色剂有辣椒红、甜菜红、红曲红、胭脂虫红、高粱红、叶绿素铜钠、姜黄、栀子黄、胡萝卜素、藻蓝素、可可色素、焦糖色素等等。

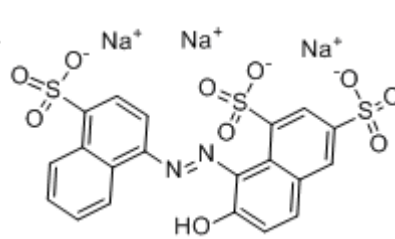
合成着色剂主要以苯、甲苯等化工产品为原料，经过一系列反应制成的。中国食品添加剂使用卫生标准列入的合成色素主要有胭脂红、苋菜红、日落黄、赤藓红、柠檬黄、新红、靛蓝、亮蓝等等。与天然色素相比，合成色素颜色更加鲜艳，不易褪色，且价格较低，但是长期大量使用将会对身体造成伤害，因此需要对合成着色剂的添加量进行检测。

1.2. 合成着色剂的性质

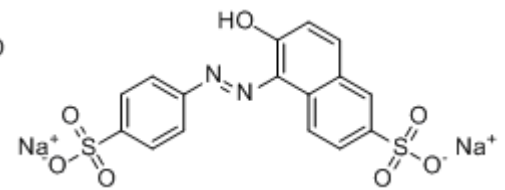
合成着色剂可分为偶氮类和非偶氮类两种结构。在酸碱条件下，两种结构的合成着色剂均稳定。按着色剂的溶解性可分为脂溶性着色剂和水溶性着色剂，脂溶性着色剂由于不溶于水，在体内不易排出，毒性较大等原因，在食品行业已经不允许添加，现在世界各国使用的合成着色剂大部分为水溶性偶氮类着色剂。



柠檬黄



胭脂红



日落黄

1.3. 合成着色剂的毒性

合成着色剂少量食用可经肝肾代谢排出体外,但是若长期或一次性大量食用素含量超标的食品,可能会引起过敏、腹泻等症状。当摄入量过大,超过人体器官负荷时,会在体内蓄积,对肾脏、肝脏产生一定伤害。胭脂红等染色剂还会使人体的免疫力下降,并且增加癌症的发病率,因此饮品中的着色剂的使用必须控制在合适的范围,而对着色剂含量的检测也具有十分重要的意义。

本实验参考 GBT 21916-2008 《水果罐头中合成着色剂的测定 高效液相色谱法》以及 GBT 5009.35-2003《食品中合成着色剂的测定》,采用大连依利特公司生产的高效液相色谱仪,对着色剂标准品,线性以及加标回收率等进行检测方法验证,并且检测实际饮品中柠檬黄、胭脂红、日落黄的添加情况。

2 仪器设备与试剂

表1 饮品中着色剂的检测HPLC系统标准配置

序号	名称	数量	订货号
1	D5101紫外-可见检测器	1台	31020022
2	P5103四元低压恒流泵	1台	31010046
3	S5101自动进样器(选配)	1台	31090004
4	O5101色谱柱恒温箱	1台	31040009
5	M5103溶剂管理器	1台	31080011
6	W5100色谱数据处理工作站	1套	31030029
7	SinoChrom ODS-BP 5 μ m 4.6 \times 250mm	1支	31110006

注: 或同等配置的其他型号高效液相色谱仪。



图1 iChrom 5100高效液相色谱仪

表2 饮品中着色剂检测所需试剂

序号	试剂	纯度
1	甲醇	色谱纯
2	乙酸铵	分析纯
3	纯化水	自制
4	氨水	分析纯
5	甲酸	分析纯
6	无水乙醇	分析纯
7	聚酰胺粉或相应SPE柱	过200目筛
8	柠檬黄、胭脂红、日落黄	标准品

表3 饮品前处理所需配置

序号	名称
1	涡旋混合器
2	天平
3	氮吹仪
4	固相萃取仪
5	固相萃取小柱

实验过程中其它玻璃器皿还包括棕色容量瓶(50mL、100mL)、移液枪(0~1000 μ L)、移液枪枪头(1mL、5mL)、一次性PVC手套、一次性口罩、50mL塑料离心管、10mL塑料离心管等若干。

3 实验方法

3.1 试剂及相关溶液配制

0.02mol/L 乙酸铵溶液: 称取 1.54g 乙酸铵样品于 1000mL 水中充分溶解后, 然后 0.45 μ m 滤膜过滤后备用。

混标储备液: 准确称取柠檬黄、胭脂红、日落黄标准品各 10mg, 至 50mL 容量瓶中, 用水溶解后定容即得 200 μ g/mL 的混标溶液。

标准混合工作液: 移取不同体积的混标溶液, 用流动相稀释, 得到的浓度分别为 100 μ g/mL、50 μ g/mL、40 μ g/mL、20 μ g/mL、10 μ g/mL、5 μ g/mL、1 μ g/mL。

3.2 样品前处理

SPE 小柱的活化：使用前分别用 5mL 甲醇、5mL 去离子水活化。

上样和洗脱：准确称取饮品 2g，加入 SPE 小柱，弃去流出液，然后用 2mL 水和 2mL 甲醇-甲酸（7:3，V/V）溶液淋洗，最后用 5mL 5%的氯化甲醇进行洗脱，收集洗脱液。

蒸干溶解：洗脱液在 65℃下，氮气吹干后，用 2mL 流动相溶解，混匀后，经 0.45μm 滤膜过滤后进样。

3.3 色谱条件

流动相：A：甲醇；B：0.02mol/L乙酸铵溶液

表 4 梯度条件

时间	A(%)	B(%)	流速
0.00	20	80	1.00
5.00	35	65	1.00
12.00	90	10	1.00
17.00	90	10	1.00
17.01	20	80	1.00
25.00	20	80	1.00

色谱柱：SinoChrom ODS-BP 5μm 4.6×250mm

流速：1.0mL/min

检测波长：254nm

进样体积：10μL

柱温：30℃

4 实验结果

4.1 典型分析谱图

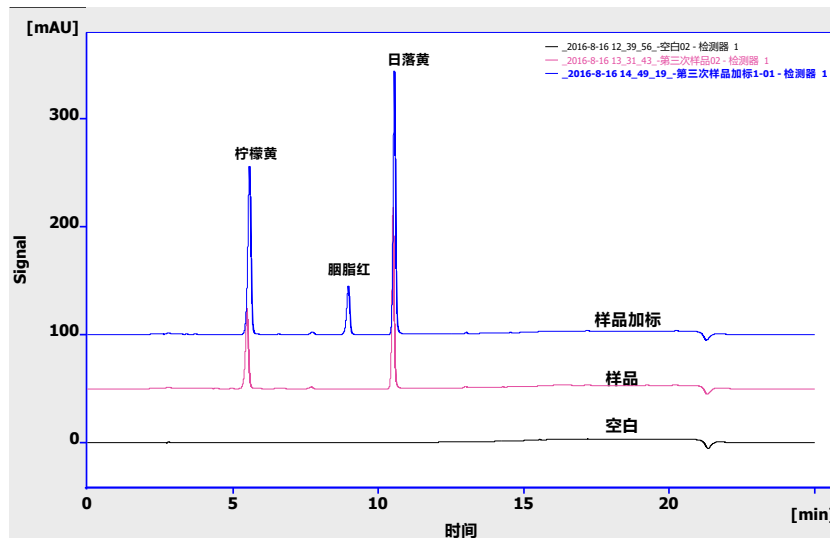


图2 空白，样品，样品加标叠加谱图

4.2 线性相关性

分别移取不同体积的标准储备液，配制浓度分别为 $1\mu\text{g/mL}$ 、 $5\mu\text{g/mL}$ 、 $10\mu\text{g/mL}$ 、 $20\mu\text{g/mL}$ 、 $40\mu\text{g/mL}$ 、 $50\mu\text{g/mL}$ 、 $100\mu\text{g/mL}$ 的标准混合工作液。按浓度由低至高进样分析，以标准溶液浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线，柠檬黄、胭脂红和日落黄的线性相关性结果如下。

表5 柠檬黄、胭脂红、日落黄浓度峰面积参数

编号	浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	峰面积 (mAU·sec)		
		柠檬黄	胭脂红	日落黄
1	1.0	24.338	20.487	19.573
2	5.0	124.229	106.250	101.745
3	10.0	249.831	213.970	204.813
4	20.0	496.277	424.599	406.880
5	40.0	997.899	853.083	813.641
6	50.0	1241.128	1061.206	1013.757
7	100.0	2508.491	2142.918	2037.176

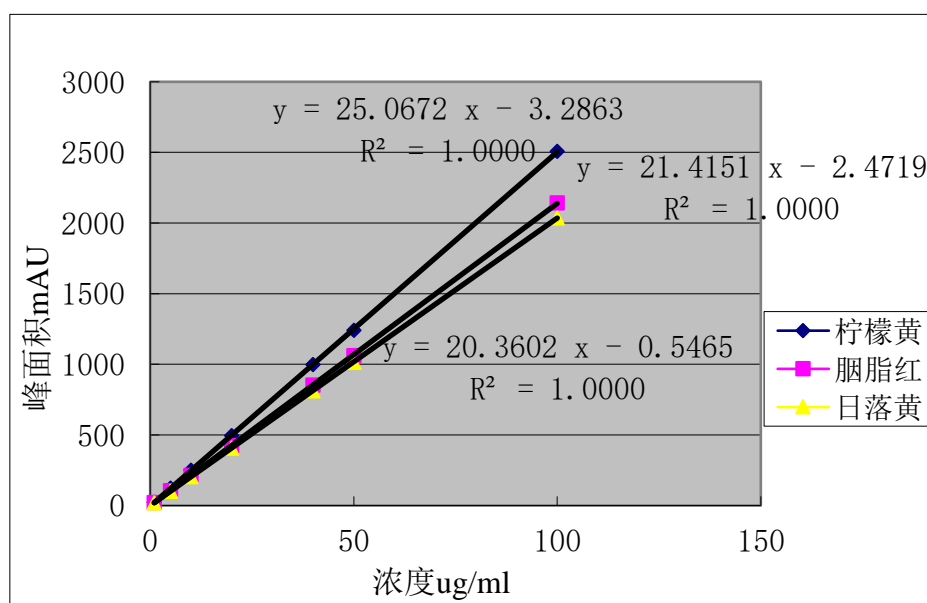


图3 着色剂浓度-峰面积线性曲

表6 各目标物的线性方程

目标物	线性方程	相关系数
柠檬黄	$y=25.0672x-3.2863$	$r=1.0000$
胭脂红	$y=21.4151x-2.4719$	$r=1.0000$
日落黄	$y=20.3602x-0.5465$	$r=1.0000$

4.3 最小检出限

本系统的基线噪声为 $25\mu\text{V}$ ，根据3倍信噪比，仪器的最小检出限分别为柠檬黄 20ng/mL ，胭脂红 25ng/mL ，日落黄 18ng/mL 。根据前处理方法计算，各目标物的方法检出限分别为柠檬黄 $20\mu\text{g/kg}$ ，胭脂红 $25\mu\text{g/kg}$ ，日落黄 $18\mu\text{g/kg}$ ，参见表7。

表7 各目标物的检出限

检出限	柠檬黄	胭脂红	日落黄
仪器检出限 (ng/mL)	20.0	25.0	18.0
方法检出限 (mg/kg)	0.02	0.025	0.018

4.4 实际样品分析

按照上述方法分析中国检验检疫科学研究院测试评价中心提供的饮品（样品编号16-U343），测试含量结果见表8。

表8 编号为16-U343饮品中含量测试结果

样品	含量 (mg/kg)		
	柠檬黄	胭脂红	日落黄
样品1	20.8	0.228	40.2
样品2	20.7	0.232	42.0
平均含量	20.7	0.230	41.1

4.5 加标回收率

样品中加入浓度为 $50\mu\text{g/mL}$ 的混标溶液 1mL ，经过处理后分析，得到的各样品的加标回收率见表9。

表9 各样品的加标回收率表

样品	回收率 (%)		
	柠檬黄	胭脂红	日落黄
加标回收率	100.1	87.4	87.9

5 结论

采用大连依利特公司 iChrom 5100 高效液相色谱仪，参考 GBT 21916-2008《水果罐头中合成着色剂的测定 高效液相色谱法》以及 GBT 5009.35-2003《食品中合成着色剂的测定》并对实验条件做进一步优化后，对中国能力验证中心提供的样品进行检测，检出限分别为柠檬黄 20.0ng/kg、胭脂红 25.0ng/kg、日落黄 18.0ng/k。实验中，目标物的浓度-峰面积曲线线性关系优良，线性相关系数均为 1.0000。最终测得中国检科院的饮品中柠檬黄、胭脂红、日落黄的含量分别为 20.7mg/kg、0.23m0g/kg、41.1mg/kg，并且该结果得到了中国检科院能力验证中心的认可。

因此采用大连依利特公司的 iChrom5100 高效液相色谱仪，利用该方法测试饮品中的着色剂含量时，仪器灵敏度高、定性和定量准确，良好的仪器精密度，能满足饮品中着色剂的含量测定。

6 附录



中国检验检疫科学研究院测试评价中心

能力验证计划结果通知单

计划编号及名称: ACAS-PT248 饮品中着色剂含量测定能力验证

实验室名称: 大连依利特分析测试中心

实验室代码: ACAS-PT248-073

检测结果及评价

检测项目	样品		贵实验室结果 (mg/kg)	贵实验室检测方法	Z 值
	编号	组别			
胭脂红	16-U343	I*	0.230 (检出限为 0.025)	GB/T 5009.35-2003	满意
柠檬黄			20.7		1.01
日落黄			41.1		1.52

注: $|Z| \leq 2.0$ 为满意结果; $2.0 < |Z| < 3.0$ 为可疑结果; $|Z| \geq 3.0$ 为不满意(离群)结果;

* I 组别样品制备时未添加胭脂红, 参加者反馈结果为“未检出”或小于自身检出限, 结果评价为满意, 否则为不满意;

本结果通知单与能力验证计划技术报告结合使用。

统计量

检测项目	样品组别	中位值 (mg/kg)	标准偏差	变异系数 CV(%)
柠檬黄	I	18.75	1.93	10.3
日落黄		36.00	3.36	9.3

※更多信息请登录中国检科院测试评价中心能力验证平台 www.acas.com.cn 查看, 或拨打 400-800-1061 咨询。

拟稿人: 潘裕红

审核人:

签发人:

日期: 2016.09.09

日期: 2016.09.09

日期: 2016.09.09

本报告具有紫外荧光防伪功能。

第 1 页 共 1 页

ACAS-TR713-04-03/00



大连依利特分析仪器有限公司

www.eliteHPLC.com

公司地址：高新园区七贤岭学子街 2-2 号
公司电话：0411-84753333(总机)-转销售部
公司传真：0411-84732323
公司邮箱：info@eliteHPLC.com

济南办事处

地址：山东省济南市历下区奥体西路 1222 号力高国际 10 楼 1816 室
电话：18842689337 传真：0531-88908426

上海办事处

地址：徐汇区梅陇路 130 号华东理工大学实验四楼 204 室
电话：18842685175 传真：021-64233161

武汉办事处

地址：武汉市洪山区珞狮南路 425 号南国大家装 R1 栋 2904 号
电话：18842683216

南京办事处

地址：江苏省南京市建邺区集庆门大街 218 号万达西地 8 幢三单元 408 室
电话：18842688135 传真：025-52335896

厦门办事处

地址：福建省厦门市思明区东坪山路东坪三里 83 号 903 室
电话：18842685196 传真：0592-2573242

西安办事处

地址：陕西省西安市西稍门十字西南角柠檬宫舍 11505 室
电话：18842681836 传真：029-84357542

北京办事处

地址：北京市朝阳区汤立路 201 号东亚奥北中心南区 4 号楼 2 单元 2307 室
电话：18842689516 传真：010-64127970

广州办事处

地址：广州市白云区东兴二街 3 号擎山苑 C2 栋 1404 房
电话：18842683616 传真：020-37411509

成都办事处

地址：成都青羊区灯笼街中铁瑞城锦隆时代二单元 2304
电话：18842681865