

编者按:食品安全的基本要求规定:食品应当无毒、无害,符合人体必需的营养要求,具有相应的色、香、味、形等感官特性。当前我国食品安全问题主要体现在:一是在种植、养殖等生产环节污染问题严重。二是加工领域安全状况不容乐观。原因是我国食品生产企业多、规模偏小。当务之急是提高检测能力,为食品安全管理提供科学的、严谨的技术支撑。要提高食品安全领域的科技水平,重点在关键检测技术、危险性评估技术、关键控制技术和食品安全标准等方面的研究。本期就此方面选登了3篇文章,以飨读者。

(专栏主持人:宋焕禄教授)

文章编号:1671-1513(2011)01-0006-04

粮食及其制品中合成着色剂检测方法的改进

刘昱麟¹, 尚艳娥²

(1. 北京市工商行政管理局 海淀分局, 北京 100080; 2. 国家粮油质量监督检验中心, 北京 100076)

摘 要:以甲醇-氨水-水作为提取液,对绿豆、小米、紫米等有色粮食及方便面、挂面等粮食制品中的色素进行提取,提取液经过浓缩、定容和过滤后进行高效液相色谱测定,以甲醇和 $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸铵溶液进行梯度洗脱,采用多波长(428, 482, 254, 510, 600 nm)同时测定提取液中的柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红、亮蓝。结果表明,该法对柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红和亮蓝的检出限分别为 1.01, 1.70, 4.38, 1.14, 5.32 ng, 平均回收率达到 82% ~ 102%, 相对标准偏差为 0.6% ~ 5.3%。该方法操作简单,节省时间,同时采用多波长测定方法减少了其他组分的干扰,提高了测定的灵敏度。

关键词:合成着色剂; 高效液相色谱; 粮食

中图分类号: TS210.7

文献标志码: A

近年来,市场上出现了一些经过合成色素染色的成品粮,如竹香米、染色小米、紫米等。大多合成色素是以苯、甲苯、萘等化工产品为原料,经过磺化、硝化、卤化、偶氮化等一系列有机反应制成的,有的还含有 β -萘胺和 α -氨基萘酚等致癌物,过多食用会危害人体健康^[1]。因此,我国卫生部规定严禁对成品粮及其制品添加合成着色剂。2008年6月1日开始实施的 GB 2760—2007《食品添加剂使用卫生标准》,对各种合成色素的使用范围和最大使用量进行了严格的规定,而不法商贩使用合成着色剂将粮食着色,欺骗消费者,对消费者身心健康构成了很大威胁。

国家标准 GB/T 5009.35—2003^[2]采用聚酰胺吸附法和液液分配法测定合成着色剂,操作较为繁

琐,且主要适用于酒类、汽水类、糖类、蜜饯类和着色糖衣制品等食品。而成品粮与上述这些食品有所不同,它含有大量的淀粉等天然水溶性成分,这些成分由于容易吸附着色剂而干扰测定,因此该方法不适用于成品粮中合成色素的测定。本研究选择适当的提取液,采用多波长检测的方法,操作简单、省时,具有较高的灵敏度和准确度,对粮食及其制品中合成着色剂的测定具有较强的实用性。

1 材料及方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器

安捷伦 1100 型高效液相色谱仪(四元泵,柱温

收稿日期: 2010-12-16

作者简介: 刘昱麟,女,工程师,主要从事食品安全检测方面的工作;

尚艳娥,女,国家粮油质量监督检验中心总工程师,高级工程师,主要从事粮油安全检测方面的研究工作。

箱,自动进样器,二极管阵列检测器(DAD)),安捷伦化学工作站;超声波清洗器,昆山市超声波仪器有限公司;旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂;低速离心机,北京医用离心机厂.

1.1.2 试剂

甲醇(色谱纯);0.02 mol·L⁻¹ 乙酸铵溶液;甲醇:氨水:水(7:2:1).

1.1.3 标准溶液

将柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红、亮蓝标准溶液稀释至 0.4,0.8,1.6,4.0,8.0,12.0,20.0,40.0 mg·L⁻¹,经 0.45 μm 滤膜过滤备用.

1.2 色谱条件

色谱柱为 YWG-C18(10 μm 不锈钢柱,250 mm × 4.6 mm,i. d.);DAD 检测器,检测波长为 482,428,254,510,600 nm;流动相(超声脱气后使用)为甲醇和 0.02 mol·L⁻¹ 乙酸铵溶液梯度洗脱;流速:1.0 mL·min⁻¹;柱温 20 ℃;进样量 20 μL.

1.3 样品预处理

1.3.1 小米、紫米等有色原粮的处理

称取 5 g 样品于 50 mL 烧杯中,用 100 mL 甲醇-氨水-水溶液反复洗涤样品,合并洗涤液至 50 mL 烧杯中,同时用微火加热样品溶液使其蒸发近干.以纯水溶解残渣,定容至 10 mL 后离心(3 500 r·min⁻¹,10 min)分离,将上层清液经 0.45 μm 滤膜过滤后,取 20 μL 滤液进行高效液相色谱分析.

1.3.2 方便面、挂面等粮食复制品的处理

称取 5 g 样品粉末于 150 mL 三角瓶中,加甲醇-氨水-水溶液 50 mL 振荡 30 min,过滤上清液至三角瓶中,重复以上操作一次,合并滤液于同一个三角瓶中,用高压旋转蒸发器将滤液浓缩至近干.以纯水溶解残渣,定容至 10 mL 后离心(3 500 r·min⁻¹,10 min)分离,将上层清液经 0.45 μm 滤膜过滤后,取 20 μL 滤液进行高效液相色谱分析.

1.4 样品的测定

取相同体积(20 μL)的标准溶液和样品提取液进样.通过保留时间定性,外标法峰面积比较定量.

2 结果与讨论

2.1 波长的选择

国标方法采用 254 nm 下单波长进行测定,尽管在 254 nm 下 5 种合成着色剂都存在着吸收峰,但很多天然组分也存在着吸收峰,对合成着色剂的判定

会产生一定的干扰,容易误判.

本研究根据不同组分具有不同的最大吸收波长的原理,取 25.0 μg·mL⁻¹ 的合成着色剂标准溶液,用紫外分光光度计进行全光谱扫描,设定波长范围 200 ~ 700 nm,结合文献[3-4]与扫描结果将柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红、亮蓝波长通道的设定结果列于表 1.

表 1 5 种合成着色剂的检测波长
Tab.1 Test wavelengths of five synthetic colours

合成着色剂名称	λ/nm	合成着色剂名称	λ/nm
柠檬黄	428	胭脂红	510
日落黄	482	亮蓝	600
苋菜红	254		

图 1 为 5 种合成着色剂标准溶液在 5 个波长通道(从上到下分别为 428,482,254,510,600 nm)下的色谱图.由于每种合成着色剂的最大吸收波长不同,而从图 1 又可以看出,在不同波长通道下,不同的合成着色剂具有不同的特征谱图.因此,判断组分中是否含有目标物,除了根据最大吸收波长下的保留时间判断,还可以通过其他几个通道的出峰特征进行辅助判定,从而增加定性的准确性.

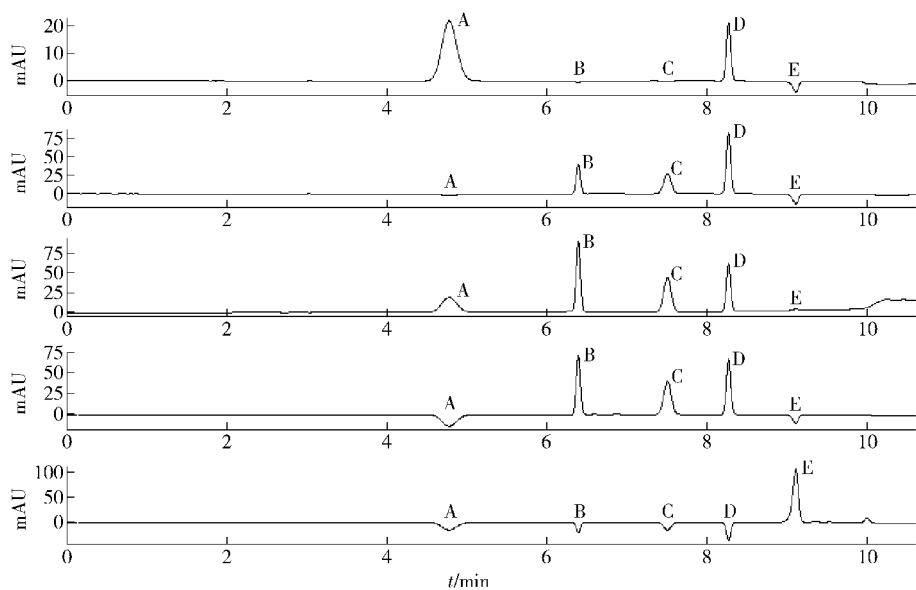
2.2 最低检出限的确定

将标准溶液进到高效液相色谱中,以浓度为横坐标,面积响应值为纵坐标做标准曲线,并按 3 倍信噪比计算检出限.采用本方法处理,取 20 μL 进样(相当于进样量为 0.01 g),5 种合成着色剂在单波长与多波长测定的最低检出限见表 2.

表 2 5 种合成着色剂的最低检出限
Tab.2 Detection limit of five synthetic colours

着色剂名称	254 nm 单波长测定		多波长测定	
	最小检出量/ng	最小检出质量比/(mg·kg ⁻¹)	最小检出量/ng	最小检出质量比/(mg·kg ⁻¹)
柠檬黄	2.56	0.26	1.01	0.10
日落黄	2.44	0.24	1.70	0.17
胭脂红	2.14	0.21	2.14	0.21
苋菜红	1.89	0.19	1.14	0.11
亮蓝	32.06	3.20	0.80	0.08

由表 2 可以看出,两种方法胭脂红的判定波长均为 254 nm,因此其检出限相同.除了胭脂红以外的其他 4 种合成着色剂,在多波长下测定的检出限均较单波长下要低得多,尤其是亮蓝,其检出限提高



色谱峰: A-柠檬黄; B-苋菜红; C-胭脂红; D-日落黄; E-亮蓝

图 1 5 种着色剂标准色谱图

Fig. 1 Standard chromatography charts of five synthetic colours

了 40 倍. 因此,选取每种色素的最大吸收波长对该种色素进行定量将大大提高检测灵敏度.

2.3 标准曲线的绘制

将标准溶液稀释为 0.4, 0.8, 1.6, 4.0, 8.0, 12.0, 20.0, 40.0 mg·L⁻¹, 进样于高效液相色谱仪进行分析,测定的标准图谱见图 1. 以浓度为横坐标,面积响应值为纵坐标做标准曲线,标准曲线及相关系数见表 3.

表 3 合成着色剂标准曲线方程及相关系数

Tab. 3 Standard curve equations and their correlation coefficients of the synthetic colours

着色剂名称	检测波长 λ/nm	标准曲线	相关系数
柠檬黄	428	$Y = 35.3081232X - 0.0393561$	1.00000
日落黄	482	$Y = 40.0486012X + 2.4767863$	0.99999
胭脂红	254	$Y = 36.4467842X - 4.7515026$	0.99998
苋菜红	510	$Y = 93.6924678X + 0.8919503$	1.00000
亮蓝	600	$Y = 61.6530386X - 14.189075$	0.99992

由表 3 可以看出,在 0.4 ~ 40.0 mg·L⁻¹ 的线性范围内,5 种合成着色剂具有较好的线性关系.

2.4 方法精密度与回收率的测定

为了考察方法的准确度,配制质量浓度为 10.0 mg·L⁻¹ 的合成着色剂混合标准溶液,针对小米、紫米、黑芝麻、方便面等样品中可能添加的合成着色剂,进行加标回收实验,并连续 6 次进行精密度测

定. 结果见表 4.

表 4 样品加标回收及精密度试验

Tab. 4 Recovery and precision of the samples

样品名称	所需颜色		柠檬黄	日落黄	胭脂红	苋菜红	亮蓝
绿豆	黄、蓝	回收率/%	98.75	98.00			98.25
		RSD/(n=6)	0.63	0.86			2.26
紫米	黄、红、蓝	回收率/%	94.25	92.25	82.50	87.25	90.75
		RSD/(n=6)	2.88	4.36	5.26	3.86	2.60
小米	黄、红	回收率/%	95.25	102.00			
		RSD/(n=6)	3.26	3.68			
黑芝麻	黄、红、蓝	回收率/%	91.25	90.25	84.00	88.00	89.50
		RSD/(n=6)	1.68	3.56	6.47	2.60	2.28
方便面	黄	回收率/%	95.00	92.75			
		RSD/(n=6)	3.54	3.68			
香芋馒头	黄、红、蓝	回收率/%	92.50	91.30	82.30	88.60	90.30
		RSD/(n=6)	3.65	3.86	5.28	3.55	3.24

由表 4 可以看出,本方法平均回收率能达到 82% ~ 102%,相对标准偏差为 0.6% ~ 5.3%,由于

采用多波长测定,避免在 254 nm 下天然组分的干扰,以上测定样品的柠檬黄和日落黄回收率都能达到 92% 以上,由于胭脂红在 254 nm 下进行测定,回收率较之其他 4 种合成着色剂略低,但也能达到 82% 以上. 该方法具有较高的准确度和重现性.

3 小 结

本研究对粮食及其制品中合成着色剂的检测方法进行了改进. 以甲醇-氨水-水作为提取液,提取粮食及其制品中的色素,并对提取液进行高效液相色谱测定. 用甲醇和 0.02 mol·L⁻¹ 乙酸铵溶液进行梯度洗脱,采用多波长同时测定提取液中的柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红、亮蓝. 该法对柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红和亮蓝的检出限分别为 1.01, 1.70, 4.38, 1.14, 5.32 ng, 平均回收率达到 82% ~

102%, 相对标准偏差为 0.6% ~ 5.3%, 该方法操作简单、省时,具有较高的灵敏度、准确度和精密度,对粮食及其制品中合成着色剂的测定具有较强的实用性.

参考文献：

[1] 陆晓红. 饮料中合成着色剂高效液相测定预处理方法的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(8): 1516 - 1517.

[2] GB/T 5009.35—2003. 食品中合成着色剂的测定[S].

[3] 刘奋, 林奕芝, 裁京晶, 等. 高效液相色谱多波长测定人工合成着色剂[J]. 现代预防医学, 2001, 28(1): 81 - 82, 94.

[4] 冯慧, 梅利华, 谢继安. 高效液相色谱检测蜜饯中合成色素的最佳测定波长研究[J]. 中国食物与营养, 2007, 3(9): 39 - 41.

Improvement of Testing Method of Synthetic Colors
in Cereals and Their Products

LIU Yu-lin¹, SHANG Yan-e²

(1. Beijing Administration for Industry and Commerce Haidian Branch, Beijing 100080, China;
2. National Center for Supervision and Inspection of Grain and Oil, Beijing 100076, China)

Abstract: Pigments in cereal products including mung bean, millet, purple rice, fine dried noodles and instant noodles were extracted using methanol-ammonia-water as the solvent. High performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine the concentration of tartrazine, sunset yellow, carmine, amaranth, and brilliant blue in the extracts simultaneously by the multi-wavelength (428, 482, 254, 510 nm, and 600 nm) method, using methanol and 0.02 mol·L⁻¹ ammonium acetate as the gradient elution. The results showed that the detection limits of tartrazine, sunset yellow, carmine, amaranth, and brilliant blue were 1.01, 1.70, 4.38, 1.14 ng, and 5.32 ng, respectively, the average recovery was around 82% ~ 102%, and the relative standard deviation (RSD) was 0.6% ~ 5.3%. This method is simple, time-saving, and the sensitivity is improved for the multi-wavelength treatment reduces the disturbance of other components.

Key words: synthetic colors; high performance liquid chromatography; cereals

(责任编辑:叶红波)