

文章编号:2095-6002(2013)02-0058-04

引用格式:宗万里,刘新才. 高效液相色谱法测定葡萄酒中人工合成色素. 食品科学技术学报,2013,31(2):58-61.

ZONG Wan-li, LIU Xin-cai. Determination of Synthetic Food Pigments in Port Wine by HPLC. Journal of Food Science and Technology, 2013,31(2):58-61.

高效液相色谱法测定葡萄酒中人工合成色素

宗万里, 刘新才

(威海市产品质量监督检验所, 山东 威海 264209)

摘要:建立了葡萄酒中柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄含量的高效液相色谱法测定方法. 采用 ODS-C₁₈ 色谱柱, 甲醇和 0.02 mol/L 乙酸铵的水溶液为流动相进行梯度洗脱, 流速为 0.8 mL/min, 采用紫外检测器, 检测波长为 470 nm. 该方法测定结果的相对标准偏差小于 3% ($n=6$), 平均回收率大于 95%.

关键词: 高效液相色谱法; 葡萄酒; 柠檬黄; 苋菜红; 胭脂红; 日落黄

中图分类号: TS261.7

文献标志码: A

由于葡萄酒生产工艺决定,葡萄酒的生产需要一个较长的酿制过程. 一些生产厂商为了快速谋取暴利, 往往会通过使用一些人工合成着色剂和一些其他的原料勾兑出假冒的葡萄酒. 人工合成着色剂柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄是 4 种较常使用在葡萄酒中的人工合成色素, 虽然为可食用的人工合成色素, 但使用过量会对人体产生有害作用. 所以对合成着色剂的添加必须加以控制. 我国在国标 GB 2760—2011《食品添加剂使用卫生标准》中严格规定柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄这 4 种人工合成色素均不可添加在葡萄酒中^[1]. 测定食品中的合成色素常用的检测方法主要为高效液相色谱法^[2-4], 常用于测定水果罐头^[5]、软糖^[6]、果冻^[7]和肉制品^[8-10]中的合成色素. 在用高效液相色谱法测定食品中柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄时, 其前处理方法大多需要一系列的吸附与解析过程, 操作比较繁琐, 并且回收率、灵敏度、精密性、准确度难以保证. 为此本实验研究建立一种较为快速的测定葡萄酒中的柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄含量的高效液相色谱法, 并取得良好效果.

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

甲醇, 色谱纯, TEDIA 公司; 乙酸铵, 分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 柠檬黄标准溶液, 苋菜红标准溶液, 胭脂红标准溶液, 日落黄标准溶液, 均为 500 $\mu\text{g/mL}$, 国家标准物质中心; 实验用水为超纯水.

Shimadzu 10Avp 型高效液相色谱仪, 日本岛津公司; ODS-C₁₈ 型液相色谱柱 (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), GL Sciences 公司; 0.45 μm 水相针管滤膜, Agilent 公司.

1.2 色谱条件

ODS-C₁₈ 型液相色谱柱 (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$; 流动相的流速为 0.8 mL/min, A 相为 0.02 mol/L 乙酸铵水溶液, B 相为甲醇. 梯度洗脱程序当 0 ~ 5.00 min, $V(\text{B 相})$ 为 15% ~ 35%; 当 5.00 ~ 12.00 min, $V(\text{B 相})$ 为 35% ~ 98%; 当 12.00 ~ 18.00 min, $V(\text{B 相})$ 为 98%; 紫外检测器检测波长 470 nm.

1.3 溶液配制

1.3.1 标准溶液的制备

分别准确吸取 10 mL 的柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄标准溶液至 50 mL 容量瓶中,用水定容,得 100 μg/mL 的标准溶液. 再从 100 μg/mL 的标准溶液中分别吸取 2, 5, 10, 25 mL 加入到 50 mL 容量瓶中,加水定容,得 4, 10, 20, 50 μg/mL 的标准溶液. 每个质量浓度取 10 μL 注入高效液相色谱仪进行分析.

1.3.2 样品前处理

葡萄酒待测样品经 0.45 μm 水相滤膜过滤后,取 10 μL 注入高效液相色谱仪进行分析.

2 结果与讨论

2.1 样品前处理

样品溶液制备过程的国标方法采用了一系列净化操作过程,操作较为繁琐并且浪费时间,在固相萃取时会使回收率下降且使分析结果重复性差,本文采用直接进样法测定葡萄酒中 4 种人工合成色素的含量,葡萄酒样品仅经过 0.45 μm 的水性滤膜过滤后,就注入高效液相色谱仪中进行检测. 由于葡萄酒本身含有天然色素等一些有机成分,这些成分在 254 nm 波长处会有较大的吸收值,从而对色素的测定会产生一定的干扰,如图 1.

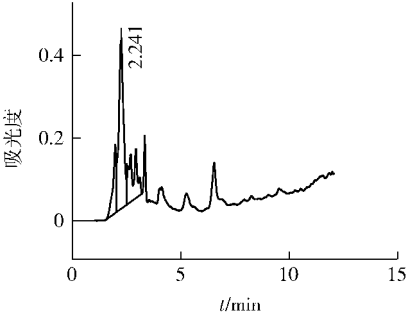


图1 空白葡萄酒样品在 254 nm 的液相色谱
Fig.1 HPLC Chromatograms of blank port wine sample in 254 nm

通过对柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄 4 种组分的紫外吸收光谱图的分析,4 种物质在 470 nm 波长处均有较大的紫外吸收,而且在 470 nm 波长处葡萄酒本身含有天然色素等一些有机成分的紫外吸收值较小,不会对 4 种合成色素的测定产生干扰,如图 2.

所以本文采用 470 nm 波长对葡萄酒样品进行检测. 本法避免使用有机试剂,环保且无需固相萃

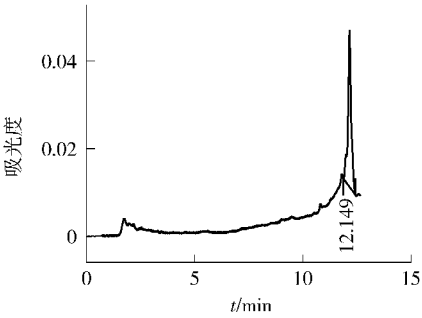


图2 空白葡萄酒样品在 470 nm 的液相色谱
Fig.2 HPLC chromatograms of blank port wine sample in 470 nm

取柱,简化了样品的前处理,节省检测成本.

2.2 色谱图

在 1.2 节色谱条件下,得到柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄标准样品的色谱图,如图 3. 由图 3 可知,4 种组分在 12 min 前出峰. 出峰顺序分别为柠檬黄 (5.033 min)、苋菜红 (7.155 min)、胭脂红 (9.005 min)、日落黄 (10.804 min),并且能够实现完全分离,峰型尖锐,在该色谱条件下,实验结果良好. 空白加标样品的色谱图,如图 4.

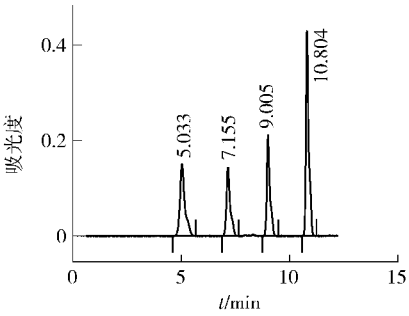


图3 50 μg/mL 色素标准样品的液相色谱
Fig.3 HPLC chromatograms of 50 μg/mL pigment stand sample

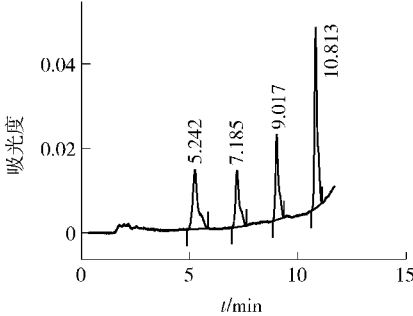


图4 空白葡萄酒加标样品的液相色谱
Fig.4 HPLC chromatograms of blank port wine added with pigment

2.3 标准曲线和最低检出限

在实验条件下,以峰面积 y 为纵坐标,质量浓度 $x(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ 为横坐标绘制标准曲线,得线性方

程,以基线噪声 3 倍峰面积对应的质量浓度为检出限($S/N=3$)^[11],回归方程、相关系数及检出限见表 1.

表 1 回归曲线的基本参数
Tab.1 Basic parameter of regression equation

分析物	测定质量浓度范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	线性回归方程	相关系数	检出限/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
柠檬黄	4 ~ 50	$y=45\,833x+4\,417.1$	0.999 8	0.42
苋菜红	4 ~ 50	$y=34\,986x-6\,090.7$	0.999 1	0.57
胭脂红	4 ~ 50	$y=42\,315x+12\,486$	0.999 3	0.47
日落黄	4 ~ 50	$y=77\,394x-6\,920.2$	0.999 7	0.26

2.4 精密度和加标回收实验

取不含柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄的葡萄酒样品进行加标回收实验,向 100 mL 容量瓶中分别添加 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄的混合标准溶液 4,10,50 mL,之后用空白葡萄酒定容至刻度,即样品中柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄含量为分别为 4,10,50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. 按上述 1.3.2 样品处理方法进行样品处理,重复 6 次. 按 1.2 节色谱条件进行测定,精密度和回收率计算结果见表 2. 由表 2 可知,采用本方法所得数据满足检测要求.

表 2 样品添加回收和精密度实验
Tab.2 Spiked recovery and precision

项目	加标水平/ $(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	平均值/ $(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	平均回 收率/%	RSD/ %
柠檬黄	4	3.91	97.75	0.88
	10	9.80	98.00	1.06
	50	48.77	97.54	1.51
苋菜红	4	3.85	96.25	2.27
	10	9.81	98.10	0.83
	50	48.31	96.62	2.21
胭脂红	4	3.81	95.25	2.08
	10	9.90	99.00	0.53
	50	48.40	96.80	1.87
日落黄	4	3.86	96.50	2.23
	10	9.92	99.20	0.53
	50	48.17	96.34	2.49

2.5 未知样品测定

对 2 份色素阳性葡萄酒样品进行了测定. 样品 1 分别检出了柠檬黄 55.1 mg/kg ,苋菜红 35.2 mg/kg ,胭脂红 40.5 mg/kg ,日落黄 53.9 mg/kg ,如

图 5;样品 2 色素含量超出线性范围,称取一定量样品加水定容后上机测定,如图 6. 最终计算结果表明,检出未知样品中含有柠檬黄 208.6 mg/kg ,苋菜红 260.9 mg/kg ,胭脂红 230.5 mg/kg ,日落黄 261.7 mg/kg .

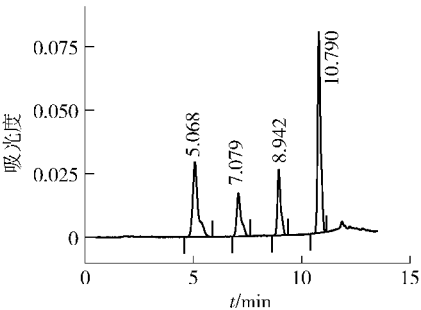


图 5 未知葡萄酒样品 1 的液相色谱
Fig.5 HPLC chromatograms of unknown port wine sample 1

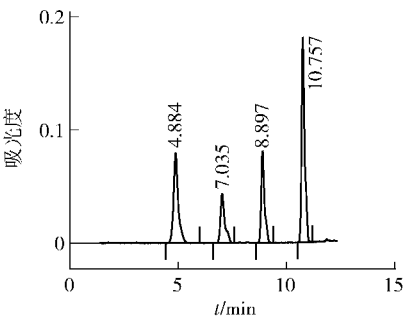


图 6 未知葡萄酒样品 1 的液相色谱
Fig.6 HPLC chromatograms of unknown port wine sample 2

3 结 论

通过实验建立了直接进样法测定葡萄酒中柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄 4 种人工合成色素的高效液相色谱法,前处理简单,无需吸附与解吸等一系列净化过程. 测试结果稳定且准确度较高,能够满

足检测要求。该方法节省了检测时间,避免使用有机溶剂,既环保又节约检测成本,在实际的检测工作中具有一定的参考价值。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部. GB 2760—2011 食品添加剂使用卫生标准[S]. 北京:中国标准出版社,2011.
- [2] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009. 35—2003 食品中合成着色剂的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
- [3] 刘丽珍,徐晓枫,杨剑业,等. 高效液相色谱等梯度测定食品中柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄[J]. 医学动物防制,2007,23(2):101-102.
- [4] 王春荣,张济,刘岚铮. 食品中多种合成色素的反相高效液相色谱法测定[J]. 中国公共卫生,2005,31(3):359-360.
- [5] 国家质量监督检验检疫总局. GB/T 21916—2008 水果罐头中合成着色剂的测定 高效液相色谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
- [6] 黄桂颖,陈悦娇,苏燕妃,等. RP—HPLC 测定软糖中的食用合成色素[J]. 农产品加工·学刊,2009,172(5):70-71,75.
- [7] 唐岩,张卫平,张廷雨. 高效液相色谱法测定果冻中人工合成色素[J]. 卫生研究,2002,31(1):69-70.
- [8] 牛晋阳,郭文萍,赵榕. 高效液相色谱法测定肉制品中的着色剂[J]. 肉类工业,2007(4):23-26.
- [9] 林小葵. 高效液相色谱法测定熟肉制品中的4种色素[J]. 现代预防医学,2005,32(7):781-782.
- [10] 沈坚,潘旭,王全林,等. 鱼子酱中的合成色素反相高效液相色谱法同时测定[J]. 分析测试学报,2010,29(6):584-588.
- [11] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009. 1—2003 食品卫生检验方法 理化部分 总则[S]. 北京:中国标准出版社,2003.

Determination of Synthetic Food Pigments in Port Wine by HPLC

ZONG Wan-li, LIU Xin-cai

(Weihai Supervision and Inspection Institute of Product Quality, Weihai 264209, China)

Abstract: A method for the determination of tartrazine, amaranth, ponceau, and sunset yellow in wines by high performance liquid chromatography (HPLC) was established. The separation was achieved on a ODS-C₁₈ column by a gradient elution with methanol and 0.02 mol/L aqueous ammonium acetate as mobile phase. The flow speed of the mobile phase was 0.8 mL/min and the determination was conducted at 470 nm through a UV detector. The average recovery of the method of real samples was more than 95%, and the RSD was less than 3%. Therefore, the method is suitable for the experiment.

Key words: HPLC; wine; tartrazine; amaranth; ponceau; sunset yellow

(责任编辑:李 宁)