

# 高效液相色谱法测定蛋卷中的苋菜红和日落黄

陈晓珍<sup>1</sup>, 郭新东<sup>1</sup>, 罗海英<sup>1</sup>, 黄金凤<sup>1</sup>, 吴玉奎<sup>1</sup>, 王永华<sup>2</sup>

(1. 广州市产品质量监督检验所, 国家加工食品质量监督检验中心(广州), 广州 510110)

(2. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510641)

**摘要:** 建立了测定蛋卷中合成色素日落黄和苋菜红的高效液相色谱分析方法。蛋卷中的合成色素经聚酰胺吸附提取, 制成水溶液, 过滤后用高效液相色谱仪测定。采用 ODS 柱分离, 甲醇和乙酸铵溶液 (0.02 mol/L) 为流动相, 测定蛋卷中苋菜红和日落黄, 结果的相对标准偏差为 1.5%~5.9%, 实际蛋卷样品的回收率为 71.5%~81.4%, 检出限均为 0.5 mg/kg。

**关键词:** 高效液相色谱法; 蛋卷; 合成色素

中图分类号: TS253.7; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)06-0078-04

## Determination of Artificial Synthetic Pigments (Sunset Yellow and Amaranth) in Egg Roll by HPLC

CHEN Xiao-zhen<sup>1</sup>, GUO Xin-dong<sup>1</sup>, LUO Hai-ying<sup>1</sup>, HUANG Jin-feng<sup>1</sup>, WU Yu-luan<sup>1</sup>, WANG Yong-hua<sup>2</sup>

(1. National Centre for Quality Supervision and Testing of Processed Food (Guangzhou), Guangzhou 510100, China)

(2. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** A method for determination of two artificial synthetic pigments in egg roll (Sunset Yellow and Amaranth) by HPLC was established. The pigments in egg roll after purified was extracted by polyamide, dissolved in water, filtrated and then analyzed by HPLC with a ODS C18 column and the elution of methanol and ammonium acetate (0.02 mol/L). The detection limits, recovery and precision were 0.5 mg/kg, 71.5%~81.4%, and 1.5%~5.9%, respectively.

**Key words:** HPLC; egg roll; artificial synthetic pigment; sunset yellow; amaranth

苋菜红和日落黄是我国批准使用的 21 种合成色素之一。食用合成色素大多为含有苯环或者氧杂蒽结构的化合物, 它们颜色鲜艳、稳定, 但对人体存在一定的毒性, 过多使用会对人体产生危害。蛋卷是以小麦粉、糖、油、鸡蛋为主要原料的饼干类制品, 表面呈浅黄色、金黄色、浅棕黄色。一些厂家为减少鸡蛋的用量, 通过在蛋卷中加入苋菜红和日落黄人工合成色素, 用人工色素的色泽来代替鸡蛋天然色泽, 来改善蛋卷感观, 从而达到提高销售利润的目的, 国家标准<sup>[1]</sup>未允许在蛋卷中添加人工合成色素。目前, 我国测试食品中合成着色剂的检验依据<sup>[2]</sup>不适合测定含淀粉和蛋白质的蛋卷中人为添加的合成色素检测。因此, 建立一种快速、准确、方便和经济的检测方法, 有利于监控蛋卷厂家们对苋菜红和日落黄合成色素的使用, 从而保障食品质量。

### 1 材料与amp;方法

收稿日期: 2007-04-19

通讯作者: 郭新东

#### 1.1 实验仪器

高效液相色谱仪: LC-10Avp (SPD-10Avp型阵列检测器, 日本岛津公司); 固相萃取装置 (waters公司, 美国)。

#### 1.2 实验试剂

日落黄和苋菜红标准品 (上海染料研究有限公司); 甲醇 (色谱纯, 美国Sigma公司); 其它为国产分析纯试剂; 水为去离子水。

柠檬酸溶液: 称取20 g柠檬酸 (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>·H<sub>2</sub>O), 加水溶解, 稀释至100 mL, 混匀。

甲醇-甲酸溶液: 量取甲醇60 mL, 甲酸40 mL, 混匀。

无水乙醇与氨水混合溶液: 量取70 mL无水乙醇、20 mL氨水、10 mL水, 混匀。

#### 1.3 标准溶液的配制

准确称取按其纯度折算为 100%质量的日落黄、苋菜红各 0.1000 g, 置于同一个 100 mL 容量瓶中, 用 pH 5 的缓冲溶液溶解, 并稀释至刻度, 使合成着色剂混合标准储备液浓度为 1.00 mg/mL。

合成着色剂混合标准使用液：临用时将合成着色剂标准储备液用水稀释至所需浓度，经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤。

#### 1.4 高效液相色谱分析

色谱柱：Diamonsil TMC 185  $\mu\text{m}$ ，200 mm $\times$ 4.6 mm；流动相：甲醇和乙酸铵溶液（0.02 mol/L），梯度洗脱；柱温：30  $^{\circ}\text{C}$ ；流速为1.0 mL/min；检测波长：日落黄选用483 nm，苋菜红选用520 nm；进样体积：20  $\mu\text{L}$ 。

#### 1.5 试样制备

##### 1.5.1 样品处理

将蛋卷粉碎后，称取 1.50 g 样品于固相萃取小柱空管或针筒注射器中，用约 60 mL 无水乙醇+氨水+水溶液洗脱至流出液无色，控制流速不超过 2 滴/s，流出液收集于烧杯中，蒸发至近干，加入 40 mL 水，混匀。

##### 1.5.2 色素提取

试样溶液加柠檬酸溶液调pH值到5，加热至60  $^{\circ}\text{C}$ ，将1.0~1.5 g 酰胺粉加少许水调成粥状，倒入试样溶液中，吸附色素，将吸附色素的聚酰胺粉全部转移到漏斗中，抽滤，用60  $^{\circ}\text{C}$  pH 5的水洗涤3~5次，然后用甲醇-甲酸混合溶液洗涤3~5次，再用水洗至流出液中性，用乙醇-氨水-水溶液解吸3~5次，每次5 mL，收集解吸液，蒸发至近干，加水溶解，用水定容至25 mL，经0.45  $\mu\text{m}$ 滤膜过滤，滤液进行HPLC分析。

##### 1.5.3 加标样品制备

将合成色素日落黄和苋菜红预先加入制作蛋卷的面浆当中，经过搅拌充分混合均匀，再经过自动烘烤成型等加工制成 A、B、C 三个样品（各 45 kg）。制作的原料中有面粉、糖、水、食用油和鸡蛋等，A 样品分别添加 1.1 g 苋菜红和日落黄，B 样品分别添加 2.9 g 苋菜红和日落黄，C 样品分别添加 5.8 g 苋菜红和日落黄。苋菜红、日落黄是由上海染料研究所有限公司生产，用液相色谱法定量，含量分别是 61.4%和 63.8%。

加标样品的测试按1.5.1和1.5.2处理。

## 2 结果与讨论

### 2.1 检测波长的确定

取配置好的合成色素标准溶液，在200~800 nm的波长标范围进行紫外光全波扫描(图1、图2)，从光谱图中看出，苋菜红、日落黄的长波部分最大吸收波长分别为521 nm和486 nm，故选择干扰少、吸收强的长波部分521 nm和486 nm作为定量波长。

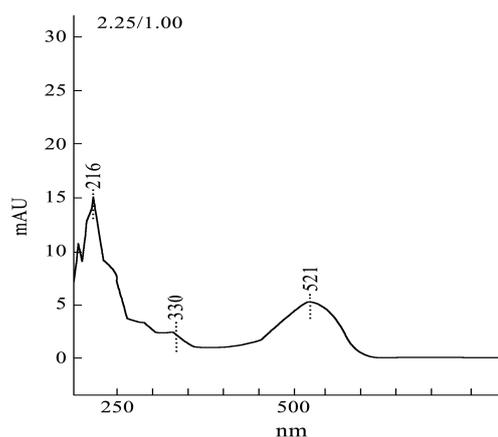


图1 苋菜红的紫外吸收光谱图

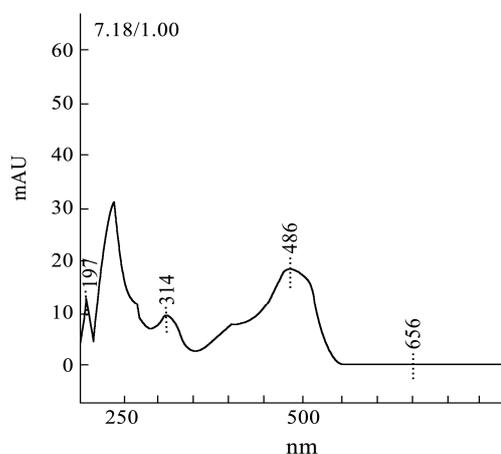


图2 日落黄的紫外吸收光谱图

### 2.2 样品萃取

蛋卷用水浸泡后，容易变成糊状，增加提取的工作量，而且由于蛋卷中的合成着色剂与淀粉及蛋白质相结合，较难用水直接浸泡出来。用乙醇和氨水的混合溶液浸泡，减少了水的用量，增加萃取溶剂的碱性，更容易将合成色素置换出来。

### 2.3 流动相的选择

选择实验室常用的流动相甲醇和乙酸铵溶液（0.02 mol/L）作为流动相，由于苋菜红、日落黄的极性相差较大，如果用等度洗脱，需要较长的分析时间，为加快样品的分析时间，采用梯度洗脱的方式，洗脱参数见表 1。

表1 流动相梯度表

时间/min	甲醇/%	0.02 mol/L 乙酸铵溶液/%
0	30	70
2.0	30	70
7.5	65	35
7.6	30	70
15.0	30	70

## 2.4 标准曲线和最低检出浓度

配制 5 个不同浓度(0.1 mg/L、0.5 mg/L、1.0 mg/L、5.0 mg/L 和 20.0 mg/L)的日落黄和苋菜红混合标准溶液,标准溶液色谱图见图 3。

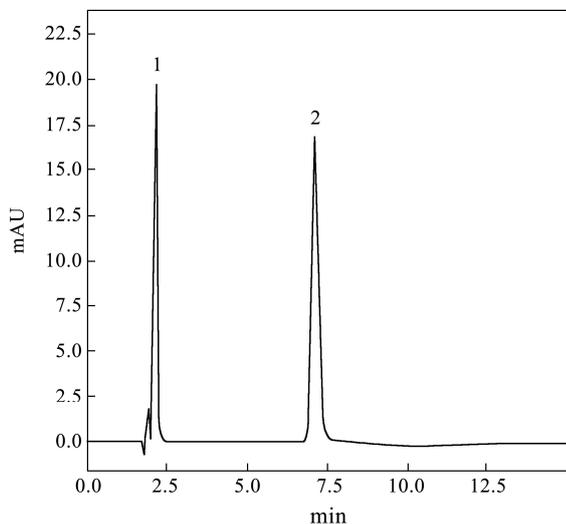


图3 日落黄和苋菜红标准溶液色谱图

注: 1为日落黄; 2为苋菜红。

在上述色谱条件下测定了日落黄和苋菜红的浓度相应值的线性关系。以浓度  $x$  (mg/L) 对峰面积  $y$  作日落黄标准曲线(图 4), 回归方程为  $y=6.82 \times 10^4 x - 5.10 \times 10^2$ , 回归系数为  $r=0.9998$ , 方法检出限为  $0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$  ( $S/N=3$ ); 苋菜红标准曲线(图 5) 回归方程为  $y=5.23 \times 10^4 x - 4.38 \times 10^2$ , 回归系数为  $r=0.9998$ ; 方法检出限为  $0.10 \mu\text{g}/\text{kg}$  ( $S/N=3$ )。

## 2.5 精密度和回收率实验

采用实际样品添加回收率来表示本方法的准确度

表2 被测组分的回收率和相对标准偏差 ( $n=6$ )

色素	添加量 (mg/kg)	回收率/%						平均回 收率/%	相对标准 偏差/%
		1	2	3	4	5	6		
苋菜红	15.0	68.4	71.8	77.1	68.3	76.1	67.4	71.5	5.9
	39.6	76.4	71.6	75.4	77.9	75.8	77.0	75.7	2.9
	79.1	74.9	78.0	78.3	76.6	76.6	76.9	76.9	1.6
日落黄	15.6	80.5	74.2	69.2	79.1	76.0	80.7	76.6	5.8
	41.1	79.1	79.6	79.5	78.2	81.6	83.3	80.2	2.3
	82.3	80.8	83.2	79.9	80.3	82.3	81.9	81.4	1.5

由表 2 可知,通过对实际添加的蛋卷样品分析的准确度及精确度检验,本方法测定蛋卷中合成色素的回收率为 71.5%~81.4%, 变异系数为 1.5%~5.9%, 达到分析要求。因此,利用本方法进行蛋卷样品中合成色素含量的测定,重现性好,能为试验提供可靠的数据。

和精密度,添加样品的制备见 1.5.3,按照上述规定的色谱操作条件测定两种添加色素的含量,计算其回收率及变异系数,结果见表 2。

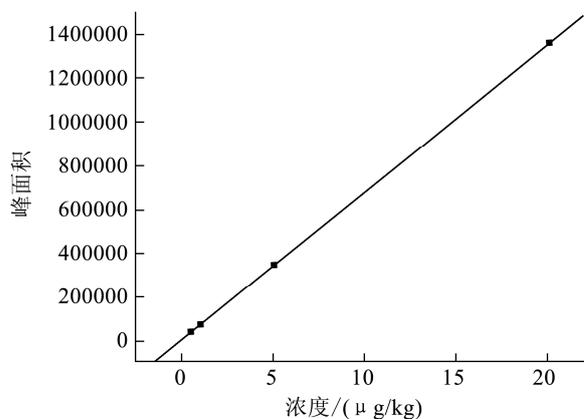


图4 日落黄的检测标准曲线图

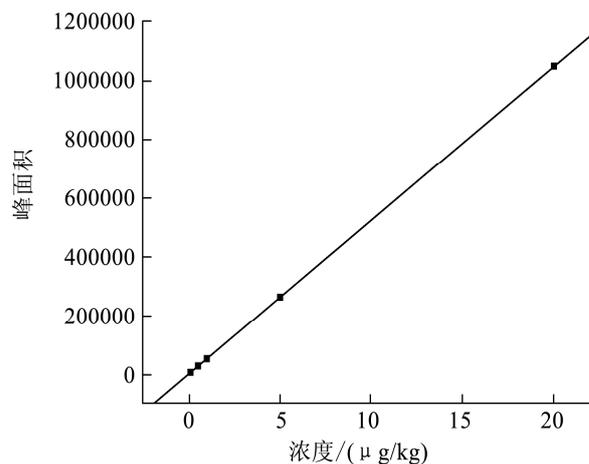


图5 苋菜红的检测标准曲线图

## 3 讨论

目前,我国食品中合成着色剂的检验依据<sup>[2]</sup>不适合测定含淀粉和蛋白质的蛋卷中人为添加的合成色素检测。因此,建立一种快速、准确、方便和经济的检

(下转第 85 页)