

高效液相色谱法同时测定食品中9种合成着色剂

王 婷, 程国栋, 李 娜, 朱文峰, 范迎春, 马海峰*

(安徽中创食品检测有限公司, 芜湖 241000)

摘 要: **目的** 建立高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)同时检测食品中9种合成着色剂(柠檬黄、新红、苋菜红、靛蓝、胭脂红、日落黄、诱惑红、亮蓝及酸性红)的分析方法。**方法** 样品经超声提取、聚酰胺净化、浓缩、定容、过膜,经 Shim-pack GIST C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)分离,以甲醇和 0.02 mol/L 乙酸铵为流动相,梯度洗脱分离进二极管阵列检测器检测。**结果** 在 0.4~20.0 μg/mL 浓度范围内,线性关系良好,相关系数均在 0.999 以上,方法检出限为 0.5 mg/kg;分别对多种样品进行低(0.5 mg/kg)、中(1.0 mg/kg)、高(5.0 mg/kg) 3个浓度加标回收率实验,回收率范围为 76.2%~107.1%,相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)为 0.4%~8.5% (n=6)。**结论** 该方法分析速度快、准确度高、重复性好,适用于各种基质食品中9种合成着色剂的同时检测。

关键词: 合成着色剂; 二极管阵列检测器; 高效液相色谱法

Simultaneous determination of 9 kinds of synthetic colorants in foods by high performance liquid chromatography

WANG Ting, CHENG Guo-Dong, LI Na, ZHU Wen-Feng, FAN Ying-Chun, MA Hai-Feng*

(Anhui Zhongchuang Food Testing Co., Ltd., Wuhu 241000, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the simultaneous determination of 9 kinds of synthetic colorants (lemon yellow, new red, amaranth, indigo, carmine, sunset yellow, temptation red, brilliant blue and acid red) in foods by high performance liquid chromatography (HPLC). **Methods** After ultrasonic extraction, polyamide purification, concentration, constant volume, membrane separation, the samples were separated on a Shim-pack GIST C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) using methanol and 0.02 mol/L ammonium acetate as the mobile phase, and detected by a diodearray detector after gradient elution separation. **Results** Within the concentration range of 0.4 to 20.0 μg/mL, the linear relationship was good and the correlation coefficients were all above 0.999. The limits of detection of this method were 0.5 mg/kg, the recoveries of various samples were tested at low (0.5 mg/kg), medium (1.0 mg/kg) and high (5.0 mg/kg), the recoveries ranged from 76.2% to 107.1%, and the relative standard deviations (RSDs) were 0.4% to 8.5% (n=6). **Conclusion** This method has the advantages of fast analysis speed, high accuracy and good repeatability, which is suitable for the simultaneous determination of 9 kinds of synthetic colorants in various matrix foods.

KEY WORDS: synthetic colorant; diode array detector; high performance liquid chromatography

*通信作者: 马海峰, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: f_shf@3songshu.com

*Corresponding author: MA Hai-Feng, Anhui Zhongchuang Food Testing Co., Ltd., Building 11, Northwest of the Intersection of Fumao Road and Fudong Road, Wuwei City Wuwei Economic Development Zone, Wuhu 241000, China. E-mail: f_shf@3songshu.com

0 引言

食用合成着色剂作为一种常用的食品添加剂被广泛应用到食品生产、加工过程中。食用合成着色剂具有色泽鲜艳、着色力强、稳定性好、不易褪色、易调色、成本价格低等特点,添加过合成着色剂的食品外观色泽鲜艳,容易激起人的食欲和购买欲,受到食品生产加工企业的青睐。然而,食用合成着色剂通常由甲醛、苯等化工原料合成制得,生产过程容易混入有毒有害化学物质,具有潜在的安全隐患。其次,部分合成着色剂的毒理性尚不明确,有待进一步研究,我国在 GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》中对各种着色剂的限量使用作了严格要求,但受到经济利益的驱使,食品中超标准、超范围使用着色剂的现象仍不时出现。此外,随着人们生活水平提高、健康意识增强,越来越多的人开始追求原生态、无添加的食品,目前市面上出现琳琅满目的无添加人工着色剂食品,但是否如商家宣称那样做到无添加,需要对其进行检测验证,所以开发一种快速、准确检测食品中着色剂的方法具有较强的社会和经济意义。

目前,合成着色剂检测的方法主要有高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)^[1-6]、高效液相色谱-质谱法^[7-9]、极谱法^[10-11]、分光光度法^[12-13]、毛细管电泳法^[14-17]等,其中成杰等^[18]总结目前常用样品前处理方法有液液萃取法^[19-20]、固相萃取法^[21-24]、QuEChERS法^[25-26]和磁固相萃取法^[27-28],本研究采用聚酰胺吸附法^[29-30]提取 9 种合成着色剂。高效液相色谱法测定食用合成着色剂具有准确度高、方法灵敏、重现性好的特点,我国采用高效液相色谱法制定了多个国家标准检测方法,但 GB 5009.35—2016《食品安全国家标准 食品中合成着色剂的测定》、GB 5009.141—2016《食品安全国家标准 食品中诱惑红的测定》同时检测的着色剂种类较少、前处理步骤烦琐、批量处理难,而且限于饮料、配制酒、硬糖、蜜饯、淀粉软糖等食品基质的检测。本研究结合国家标准要求,对方法进行优化调整,建立一种同时测定食品中 9 种着色剂含量的分析方法,以期达到快速、准确、批量检测,节约检测成本的目的,为综合性食品实验室和第三方检测机构提供方法参考。

1 材料与方 法

1.1 仪器和试剂

LC-2030C 3D 高效液相色谱仪(配备二极管阵列检测器,日本岛津公司); ME-204 电子天平(0~220 g, 瑞士梅特勒托利多公司); KQ-800DE 超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司); IKA 涡旋混合器、T25 均质器(美国 IKA 公司); N1 氮吹仪(上海屹尧科技有限公司); Milli-Q 超纯水机(美国

Millipore 公司); TDZ5-WS 高速离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司); HH-6 数显恒温水浴锅(常州国宇仪器制造有限公司); 0.22 μm 水系滤膜(上海安谱实验科技股份有限公司)。

甲醇(色谱纯)、柠檬黄、新红、苋菜红、靛蓝、胭脂红、日落黄、诱惑红、亮蓝(1000 μg/mL)、酸性红(纯度≥98%)标准物质(北京坛墨质检科技有限公司); 乙酸铵(优级纯)、氨水、冰乙酸、无水乙醇、石油醚、柠檬酸(分析纯)、聚酰胺粉(100~200 目)(国药集团化学试剂有限公司); 实验用水为 Milli-Q 超纯水机制备的超纯水。

1.2 实验方法

1.2.1 混合标准溶液的配制

(1) 标准储备溶液的配制

准确称取 50 mg 酸性红标准品,用水稀释并定容至 50 mL 容量瓶中,得到 1000 μg/mL 酸性红标准储备溶液。其他 8 种着色剂标准溶液为购买的液体标准溶液。

(2) 标准工作液配制

分别移取柠檬黄、新红、苋菜红、靛蓝、胭脂红、日落黄、亮蓝、诱惑红、酸性红(1000 μg/mL)各 10 mL 于 100 mL 容量瓶中,用水稀释并定容至刻度,混匀得到 100 μg/mL 混合中间标准溶液。临用时用水将混合中间标准溶液逐级稀释,得到 5 个质量浓度为 0.4、1.0、2.0、4.0、10.0 和 20.0 μg/mL 的 9 种色素系列标准工作液。

1.2.2 样品前处理

(1) 样品称量、提取

准确称取 5 g 均匀样品于 100 mL 塑料离心管中,加入 50 mL 60 °C 左右 pH=4.0 的柠檬酸水溶液,再将 1~2 g 聚酰胺粉加少许水调成粥状,倒入试样溶液中,涡旋混匀后超声提取 30 min,将聚酰胺粉与样品的混合物以 4000 r/min 离心 10 min,弃去上清液除去水溶性杂质[若样品含糖量较高,如糖果、蜜饯等可多次水洗后再进行 1.2.2(2)步骤]。若样品中含油脂,如糕点、肉制品等,可添加适量石油醚,离心除油脂后再作上述处理。

(2) 样品解吸附

残渣中加入 20 mL 乙醇-氨水-水(70:5:25, V:V:V)混合溶液解吸附,超声 5 min,4000 r/min 离心 10 min,收集解吸液,再加入混合液 20 mL,涡旋混匀,重复提取至解吸液无色,合并解吸液。

(3) 样品定容、上机

解吸液中加入乙酸调节 pH 至 6.8 左右,80 °C 氮吹蒸发至 5 mL 左右,用 50% 甲醇+50% 乙酸铵溶液定容至 25 mL,经 0.22 μm 水系微孔滤膜过滤后进高效液相色谱仪测定。

1.2.3 色谱条件

色谱柱: Shim-pack GIST C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 二极管阵列检测器波长: 190~800 nm; 流动相: 甲醇和 0.02 mol/L 乙酸铵溶液; 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 35 °C; 进样量: 10 μL。梯度洗脱程序如表 1。

表 1 梯度洗脱程序
Table 1 Gradient elution programs

时间/min	0.02 mol/L 乙酸铵溶液/%	甲醇/%
0.0	90	10
5.5	89	11
8.5	0	100
18.0	0	100
18.1	90	10
22.0	90	10

1.2.4 数据处理

采用岛津 LabSolutions 软件对高效液相色谱仪所采集的数据进行积分处理, 并导出色谱图, 数据和图谱经 OriginPro 9.0 绘图软件分析处理, 采用 WPS 2021 软件处理回收率、相对标准偏差等实验数据。

2 结果与分析

2.1 样品前处理条件的优化

2.1.1 超声时间的选择

本研究中的 9 种合成着色剂均属于水溶性色素, 在酸性环境下被聚酰胺粉吸附。实验使用 pH=4.0 柠檬酸溶液对样品进行超声提取, 探究超声时间(10、20、30、40、50、60 min)对样品提取率的影响。当超声时间达到 30 min 以上时提取效率趋于稳定, 为了提高检测效率, 选择 30 min 作为超声提取时间, 结果见图 1。

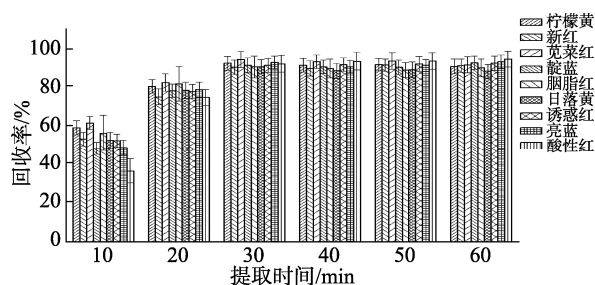


图 1 不同超声时间对样品提取率的影响($n=6$)

Fig.1 Effects of different ultrasonic time on sample extraction rate ($n=6$)

2.1.2 解吸液氨水浓度的选择

聚酰胺是具有二极性的化合物, 在酸性溶液中能与人工合成色素牢固地结合, 碱性条件下解吸色素。为了研究氨水浓度变化对色素回收率的影响, 实验分别采用不同体积比的无水乙醇:氨水:水(V:V:V)进行解吸附。实验结果显示, 当氨水体积占比小于 2%时, 解吸不够完全, 各化合物回收率均偏低; 当氨水体积占比为 2%时, 靛蓝和诱惑红相对其他色素回收率稍微偏低; 氨水体积占比在 5%时,

靛蓝和诱惑红回收率均到达最大值, 而随着氨水占比增加其他色素回收率无明显变化, 最终确定无水乙醇:氨水:水为 70:5:25 (V:V:V), 结果见图 2。

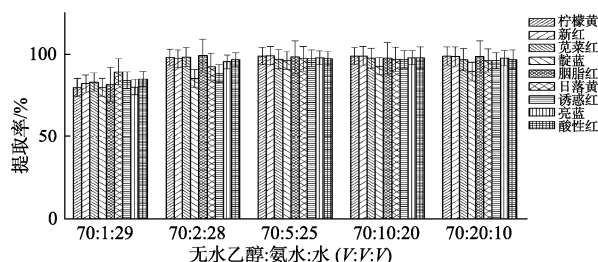


图 2 不同氨水浓度下各色素的平均回收率($n=3$)

Fig.2 Average recoveries of each pigment under different ammonia concentration ($n=3$)

2.1.3 针式滤膜的选择

目前常用的针式滤膜有尼龙(nylon)、聚醚砜(polyethersulfone, PES)和超滤纤维素(ultrafiltration of cellulose, CELL) 3 种材质。实验以 10 $\mu\text{g/mL}$ 工作液通过以上 3 种滤膜进行 3 次平行上机测试, 结果显示 nylon 对所有色素均具有吸附作用, 且对日落黄和酸性红吸附较严重, PES 和 CELL 对各色素的吸附都较小, 但经 PES 过滤后酸性红的回收率较 CELL 低, 最终实验选用 CELL 滤膜进行过滤。各合成着色剂经过滤膜过滤的通过率数据如图 3。

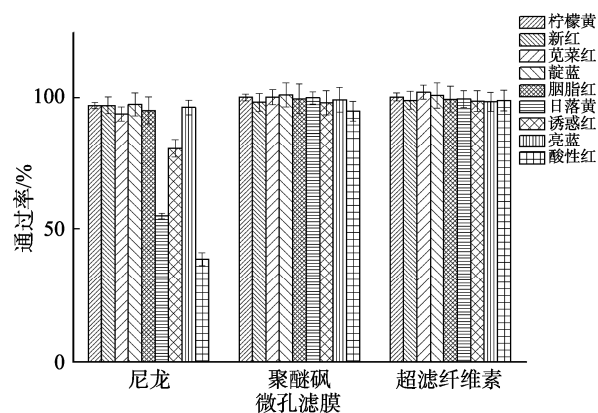


图 3 各色素过滤膜后的通过率($n=3$)

Fig.3 Passing rates of each pigment filter membrane ($n=3$)

2.2 色谱条件的优化

2.2.1 流动相的选择

根据 9 种合成着色剂的特性, 研究了不同流动相构成对待测物质分离度的影响。有机相选取甲醇和乙腈进行考察, 使用乙腈时, 各组分保留时间较甲醇短, 柠檬黄与新红、亮蓝与酸性红不能有效分离。水相选取乙酸铵和磷酸盐缓冲溶液作比较, 磷酸盐缓冲溶液较乙酸铵出峰慢, 且采用磷酸盐溶液对色谱柱的损伤较大, 后期仪器维护成本

较乙酸铵高。

实验选择浓度为 0.01、0.02 mol/L 乙酸铵缓冲溶液对 9 种色素分离度进行比较, 2 种缓冲液浓度均能对待测目标物进行有效分离, 采用 0.02 mol/L 乙酸铵溶液作为流动相, 9 种合成着色剂色谱峰形较 0.01 mol/L 乙酸铵溶液作为流动相, 9 种合成着色剂色谱峰形更尖锐、好看。

根据上述研究结果, 最终实验选择甲醇-0.02 mol/L 乙酸铵作为流动相, 9 种着色剂分离色谱图如图 4。

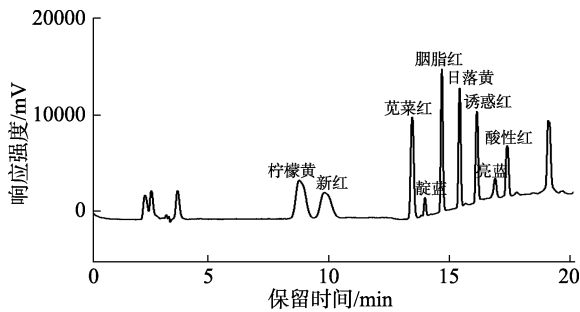


图 4 9 种合成着色剂色谱图

Fig.4 Chromatograms of 9 kinds of synthetic colorants

2.2.2 检测波长的选择

将 9 种合成色素标准溶液注入高效液相色谱仪, 用二极管阵列检测器在 190~800 nm 波长范围内进行全波长扫描, 得到 9 种合成着色剂的最大吸收波长, 结果如表 2。

表 2 9 种着色剂的检测波长
Table 2 Testing wavelengths of 9 kinds of colorants

化合物名称	波长/nm	化合物名称	波长/nm
柠檬黄	428	日落黄	483
新红	525	诱惑红	507
苋菜红	521	亮蓝	625
靛蓝	608	酸性红	540
胭脂红	509		

2.3 方法学验证

2.3.1 线性关系及检出限

将 9 种合成着色剂的标准系列工作溶液注入高效液相色谱仪进行测定, 以质量浓度(X , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标, 建立标准校准曲线。质量浓度在 0.4~20.0 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内, 相关系数(r^2)均大于 0.999, 线性关系良好。按照色谱峰 3 倍信噪比($S/N=3$), 同时结合实际样品在本方法前处理前处理环节的影响, 当样品加标浓度在 0.5 mg/kg 时, 9 种着色剂均能有效检出, 回收率、精密度满足 GB 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》附录 F 要求, 计算得出本方法检出限为 0.5 mg/kg, 远低于 SN/T 1743—2006《食品中诱惑红、酸性红、亮蓝、日落黄的含

量检测 高效液相色谱法》、GB 5009.141—2016 标准方法的检出限, 也同样能够满足 GB 5009.35—2016 国家标准方法的要求, 结果见表 3。

表 3 9 种着色剂的线性方程、相关系数和检出限
Table 3 Linear regression equations, correlation coefficients and limits of detection of 9 kinds of colorants

化合物名称	线性方程	相关系数(r^2)
柠檬黄	$Y=63222.3X-4635.77$	0.99926
新红	$Y=64919.3X-5409.24$	0.99923
苋菜红	$Y=49375.6X-3325.21$	0.99917
靛蓝	$Y=5204.21X+566.947$	0.99994
胭脂红	$Y=47870.6X-2986.27$	0.99935
日落黄	$Y=60801.1X-3266.53$	0.99933
诱惑红	$Y=58668.6X-42252.47$	0.99916
亮蓝	$Y=159206X-10448.2$	0.99927
酸性红	$Y=45298.8X-3021.30$	0.99923

2.3.2 加标回收率及精密度

分别于肉制品、蜜饯、糖果、饮料、配制酒、巧克力、淀粉软糖空白基质样品中加入 9 种着色剂混合标准溶液, 制备得到质量浓度为 0.5、1.0、5.0 mg/kg 3 个梯度的加标样品。加标样品分别同时检测 6 次, 肉制品(鸭肉)回收率为 79.7%~94.7%, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)为 0.5%~5.4%; 蜜饯(芒果干)回收率为 76.2%~93.5%, RSDs 为 0.7%~5.4%; 糖果(胶基软糖)样品回收率 86.1%~94.6%, RSDs 为 0.4%~5.2%; 此外, GB 5009.35—2016、GB 5009.141—2016 等国家标准方法中所涉及的饮料、配制酒、巧克力、淀粉软糖基质样品检测回收率为 84.7%~107.1%, RSDs 为 2.7%~8.5%。各基质综合回收率为 76.2%~107.1%, RSDs 为 0.4%~8.5%, 该方法回收率、精密度良好, 能够满足检测要求, 具体数据见表 4。

2.3.3 准确度

本研究方法准确度验证参考 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》提出的“重复分析标准物质(实物标样)或水平测试品, 测定含量(经回收率校正后)平均值与真值的偏差”的方式进行评定。由于寻找同时具备 9 种着色剂的质控样品较为困难, 所以实验采用经国家标准方法检测 9 种色素检测结果为 0 的样品作为空白样品, 然后进行加标实验, 理论加标量约定为真值。

实验制备 50、100、200 mg/kg 加标样品, 进行 6 次平行分析, 同时检测样品回收率, 计算平均值, 经回收率校正后得到测定值, 测定值与约定真值的偏差范围在 0.2%~11.4%之间, 满足 GB/T 27404—2008 附录 F.5 中要求真值含量在 10~1000 mg/kg 指导范围内, 其测定值与真值的偏差小于 15%的要求, 说明此方法的准确度能够满足检测需求, 具体结果见表 5。

表 4 不同基质中加标回收率和精密度($n=6$)
Table 4 Spiked recoveries and relative standard deviations of spiked standard in different matrices ($n=6$)

样品基质	化合物名称	0.5 mg/kg		1.0 mg/kg		5.0 mg/kg	
		回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%
肉制品 (鸭肉)	柠檬黄	81.6	2.0	84.3	0.6	88.5	0.6
	新红	82.5	1.1	82.8	0.6	84.2	1.6
	苋菜红	89.6	5.2	90.4	2.6	94.7	2.1
	靛蓝	79.7	3.0	89.1	0.5	90.2	0.5
	胭脂红	81.9	4.8	81.8	3.2	84.4	1.8
	日落黄	82.7	2.8	85.3	5.2	85.5	1.1
	诱惑红	88.5	3.2	90.1	1.8	90.5	1.2
	亮蓝	82.2	2.7	83.3	0.7	88.4	2.5
	酸性红	85.3	5.4	82.2	1.2	86.7	2.4
蜜饯 (芒果干)	柠檬黄	78.5	1.5	78.5	2.3	87.5	1.2
	新红	80.6	1.3	80.0	1.5	82.1	1.4
	苋菜红	85.2	4.8	90.4	2.6	93.5	0.8
	靛蓝	80.1	2.3	89.1	0.9	90.2	3.3
	胭脂红	78.6	2.8	79.8	1.5	82.4	1.8
	日落黄	76.2	3.0	79.7	5.2	82.4	1.1
	诱惑红	80.5	2.5	88.2	3.0	88.6	1.9
	亮蓝	82.1	2.7	85.3	0.7	88.0	1.3
	酸性红	79.5	5.4	82.2	1.2	84.0	1.1
糖果 (胶基软糖)	柠檬黄	90.2	3.2	91.6	5.2	94.3	0.6
	新红	89.1	2.7	88.7	1.8	90.3	0.4
	苋菜红	86.1	3.0	87.9	0.7	94.6	1.6
	靛蓝	90.2	2.5	89.1	1.2	93.3	0.5
	胭脂红	85.9	4.8	89.8	2.3	88.4	1.8
	日落黄	86.2	0.9	89.7	1.5	92.4	3.2
	诱惑红	92.5	1.5	91.8	2.6	92.3	1.4
	亮蓝	88.5	1.9	89.1	1.3	92.0	1.2
	酸性红	88.5	0.9	92.2	1.2	94.0	0.9
饮料	柠檬黄	90.7	3.8	91.6	4.4	91.9	4.1
	新红	91.3	5.6	92.5	3.9	90.4	6.5
	苋菜红	95.2	6.3	93.1	6.2	95.1	3.7
	靛蓝	92.7	4.2	94.3	7.1	93.5	5.3
	胭脂红	95.6	4.5	97.8	2.7	94.9	4.8
	日落黄	91.3	3.9	92.9	6.5	92.4	5.1
	诱惑红	90.6	5.8	93.1	4.3	92.6	4.7
	亮蓝	90.2	6.9	91.6	2.9	92.1	3.9
	酸性红	92.8	5.1	91.5	8.5	94.3	4.5
配制酒	柠檬黄	93.1	4.1	93.5	7.1	94.3	3.9
	新红	93.6	6.5	88.9	4.6	91.5	5.7
	苋菜红	91.5	3.3	93.1	6.3	92.6	6.3
	靛蓝	92.4	8.1	89.7	5.7	93.1	7.1
	胭脂红	95.7	6.7	97.3	6.6	94.1	5.6
	日落黄	92.6	4.3	92.9	8.1	93.7	6.1
	诱惑红	91.7	5.9	88.9	3.8	90.7	5.3
	亮蓝	90.6	5.1	90.7	4.2	89.5	6.4
	酸性红	92.5	5.3	90.9	4.8	91.3	5.2
巧克力	柠檬黄	85.1	7.1	87.5	6.3	87.1	4.1
	新红	85.9	4.6	88.2	4.8	89.6	6.5
	苋菜红	87.5	8.5	90.1	5.7	89.4	7.2
	靛蓝	86.6	7.3	87.9	6.2	88.5	4.9
	胭脂红	90.1	6.1	91.7	4.5	94.2	7.3
	日落黄	89.7	5.1	90.4	8.4	91.6	8.2

表4(续)

样品基质	化合物名称	0.5 mg/kg		1.0 mg/kg		5.0 mg/kg	
		回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%
巧克力	诱惑红	84.7	7.4	86.7	6.8	89.7	7.5
	亮蓝	86.9	8.1	85.1	6.9	87.6	6.9
	酸性红	90.6	6.3	88.4	5.6	92.3	5.8
	柠檬黄	102.7	4.7	92.5	5.9	94.1	4.8
	新红	92.4	5.1	91.8	3.6	92.5	5.2
	苋菜红	89.8	3.9	93.4	8.3	95.1	6.6
淀粉软糖	靛蓝	87.9	4.6	89.8	5.4	101.7	4.1
	胭脂红	93.6	5.6	92.8	3.9	95.8	5.6
	日落黄	103.7	4.6	97.5	4.4	104.7	8.2
	诱惑红	107.1	7.1	104.1	7.6	106.1	7.6
	亮蓝	105.4	8.2	89.7	5.3	90.3	8.1
	酸性红	106.6	6.7	93.1	6.7	91.9	8.5

表5 测定值与约定真值的检测偏差($n=6$)Table 5 Detection deviations of the measured values and the appoint true values ($n=6$)

样品基质	化合物名称	50 mg/kg		100 mg/kg		200 mg/kg		
		检测结果/(mg/kg)	偏差/%	检测结果/(mg/kg)	偏差/%	检测结果/(mg/kg)	偏差/%	
肉制品	柠檬黄	48.2	3.6	99.5	0.5	207.0	3.5	
	新红	51.3	2.6	103.2	3.2	194.7	2.7	
	苋菜红	49.7	0.6	97.2	2.8	205.7	2.8	
	靛蓝	50.4	0.8	98.6	1.4	202.6	1.3	
	胭脂红	50.1	0.2	104.2	4.2	206.9	3.5	
	日落黄	48.1	3.8	97.9	2.1	195.7	2.2	
	诱惑红	45.9	8.2	95.7	4.3	193.9	3.1	
	亮蓝	52.3	4.6	97.5	2.5	194.8	2.6	
	酸性红	49.5	1.0	94.7	5.3	207.9	4.0	
	柠檬黄	48.6	2.8	96.3	3.7	196.7	1.7	
	新红	49.4	1.2	101.7	1.7	205.9	3.0	
	苋菜红	49.1	1.8	104.8	4.8	205.7	2.8	
	靛蓝	48.9	2.2	98.7	1.3	196.3	1.8	
	胭脂红	50.4	0.8	99.6	0.4	205.1	2.6	
蜜饯	日落黄	48.3	3.4	98.6	1.4	206.8	3.4	
	诱惑红	50.3	0.6	97.3	2.7	213.5	6.8	
	亮蓝	52.6	5.2	96.5	3.5	206.2	3.1	
	酸性红	50.9	1.8	97.8	2.2	207.3	3.7	
	柠檬黄	53.1	6.2	105.4	5.4	210.6	5.3	
	新红	49.7	0.6	98.3	1.7	198.6	0.7	
	苋菜红	48.6	2.8	99.6	0.4	192.9	3.6	
	靛蓝	50.3	0.6	106.1	6.1	195.7	2.2	
	胭脂红	50.1	0.2	103.5	3.5	190.8	4.6	
	日落黄	48.7	2.6	104.3	4.3	197.5	1.3	
	诱惑红	49.1	1.8	97.6	2.4	191.3	4.3	
	亮蓝	47.6	4.8	96.5	3.5	194.9	2.6	
	酸性红	50.5	1.0	100.5	0.5	193.6	3.2	
	柠檬黄	49.1	1.8	101.6	1.6	204.6	2.3	
糖果	新红	50.6	1.2	97.8	2.2	201.7	0.8	
	苋菜红	53.4	6.8	95.4	4.6	203.6	1.8	
	靛蓝	51.6	3.2	96.7	3.3	196.5	1.8	
	胭脂红	49.3	1.4	101.7	1.7	198.4	0.8	
	日落黄	48.5	3.0	106.1	6.1	201.9	1.0	
	诱惑红	49.1	1.8	109.5	9.5	190.8	4.6	
	亮蓝	55.1	10.2	107.6	7.6	192.7	3.7	
	酸性红	50.5	1.0	104.7	4.7	195.8	2.1	
	饮料	柠檬黄	48.2	3.6	99.5	0.5	207.0	3.5
		新红	51.3	2.6	103.2	3.2	194.7	2.7
		苋菜红	49.7	0.6	97.2	2.8	205.7	2.8
		靛蓝	50.4	0.8	98.6	1.4	202.6	1.3
		胭脂红	50.1	0.2	104.2	4.2	206.9	3.5
		日落黄	48.1	3.8	97.9	2.1	195.7	2.2
诱惑红		45.9	8.2	95.7	4.3	193.9	3.1	
亮蓝		52.3	4.6	97.5	2.5	194.8	2.6	
酸性红		49.5	1.0	94.7	5.3	207.9	4.0	
柠檬黄		48.6	2.8	96.3	3.7	196.7	1.7	
新红		49.4	1.2	101.7	1.7	205.9	3.0	
苋菜红		49.1	1.8	104.8	4.8	205.7	2.8	
靛蓝		48.9	2.2	98.7	1.3	196.3	1.8	
胭脂红		50.4	0.8	99.6	0.4	205.1	2.6	

表 5(续)

样品基质	化合物名称	50 mg/kg		100 mg/kg		200 mg/kg	
		检测结果/(mg/kg)	偏差/%	检测结果/(mg/kg)	偏差/%	检测结果/(mg/kg)	偏差/%
配制酒	柠檬黄	50.8	1.6	103.4	3.4	203.7	1.8
	新红	49.6	0.8	98.3	1.7	204.1	2.1
	苋菜红	48.2	3.6	99.1	0.9	205.8	2.9
	靛蓝	48.9	2.2	98.3	1.7	203.1	1.6
	胭脂红	50.3	0.6	94.9	5.1	203.5	1.8
	日落黄	51.2	2.4	97.6	2.4	197.8	1.1
	诱惑红	48.8	2.4	103.8	3.8	196.1	2.0
	亮蓝	47.9	4.2	104.1	4.1	195.5	2.3
	酸性红	46.8	6.4	98.7	1.3	194.3	2.8
	柠檬黄	51.3	2.6	106.1	6.1	185.3	7.3
	新红	52.6	5.2	104.2	4.2	189.1	5.5
	苋菜红	55.7	11.4	105.4	5.4	198.6	0.7
	靛蓝	53.6	7.2	97.8	2.2	183.6	8.2
	胭脂红	52.9	5.8	102.7	2.7	197.3	1.3
巧克力	日落黄	50.7	1.4	103.9	3.9	205.3	2.7
	诱惑红	51.4	2.8	106.3	6.3	181.9	9.1
	亮蓝	54.7	9.4	108.5	8.5	187.5	6.3
	酸性红	52.7	5.4	105.6	5.6	190.3	4.8
	柠檬黄	49.4	1.2	98.8	1.2	207.1	3.6
	新红	48.5	3.0	96.3	3.7	198.6	0.7
	苋菜红	49.3	1.4	95.1	4.9	191.4	4.3
	靛蓝	48.2	3.6	96.7	3.3	194.6	2.7
	胭脂红	50.3	0.6	98.5	1.5	205.7	2.8
	日落黄	48.7	2.6	97.8	2.2	206.3	3.2
	诱惑红	46.9	6.2	103.2	3.2	210.7	5.3
	亮蓝	47.2	5.6	95.1	4.9	195.6	2.2
	酸性红	48.9	2.2	93.7	6.3	192.3	3.8
	淀粉软糖	胭脂红	50.3	0.6	98.5	1.5	205.7
日落黄		48.7	2.6	97.8	2.2	206.3	3.2
诱惑红		46.9	6.2	103.2	3.2	210.7	5.3
亮蓝		47.2	5.6	95.1	4.9	195.6	2.2
酸性红		48.9	2.2	93.7	6.3	192.3	3.8

2.3.4 干扰实验

分别向肉制品、蜜饯、糖果、饮料、配制酒、巧克力、淀粉软糖基质中添加苏丹红、碱性橙、脂肪、蛋白质等干扰物质,利用本研究提供的前处理方法和色谱方法进行检测。结果表明,上述干扰物质未对 9 种着色剂的测定产生干扰,对检测结果无影响,方法可靠。

2.4 方法比较

比较本研究方法与国家标准方法对肉制品、蜜饯、糖果、饮料、配制酒、巧克力、淀粉软糖基质加标(50 mg/kg)平均回收率差异,具体结果见图 5,本研究对 9 种色素的回收率为 89.6%~97.9%,优于国家标准方法检测回收率 84.6%~92.3%,同时本研究检测步骤简单,可进行大批量、快速筛查分析。

2.5 实际样品测定

随机采集 258 份肉制品、蜜饯、面包糕点、糖果、饮料等代表性基质采用本研究方法进行合成着色剂的检测。检测结果显示,采集样品中 1 款蜜饯和 1 款调理面包胭脂红检测结果分别为 0.19 g/kg、0.0017 g/kg,超出 GB

2760—2014 要求,进一步分析调理面包胭脂红超标原因为面包中果酱带入导致的不合格,其他检测项目均符合 GB 2760—2014 要求。

3 结论与讨论

本研究建立了一种食品中 9 种常用合成着色剂的高效液相色谱方法,9 种合成色素在 18 min 内达到完全分离,整个样品上机分析时间控制在 22 min 内,方法回收率为 76.2%~107.1%,RSDs 为 0.4%~8.5%,满足日常检测需求。同时,本研究也对 GB 5009.35—2016、GB 5009.141—2016 等国家标准方法进行优化、改进,国家标准中所涉及的饮料、配制酒、巧克力、淀粉软糖等基质,利用本研究的前处理方法,检测回收率为 84.7%~107.1%,RSDs 为 2.7%~8.5%,结果良好,方便了综合性食品实验室及第三方检测机构对着色剂的快速、准确检测,具有较高的实际应用价值。

由于合成着色剂种类繁多,后续重点研究方向是在本研究的基础上扩充同时检测更多种合成着色剂,以达到提升检测效率、降低检测成本的目的。

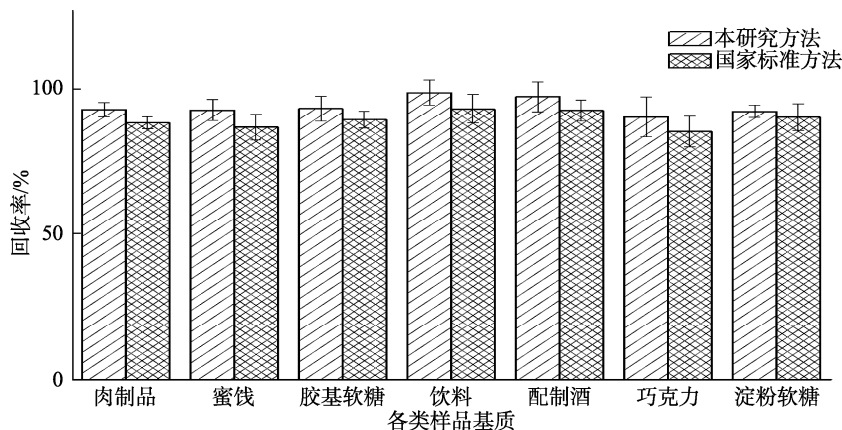


图 5 不同检测方法回收率对比(n=6)

Fig.5 Comparison of recoveries of different detection methods (n=6)

参考文献

- [1] LI R, WANG Y, TAN J, *et al.* Simultaneous determination of synthetic edible pigments in beverages by titania-based RP-HPLC [J]. *Arab J Chem*, 2020, 13(2): 3875–3881.
- [2] 郭永辉, 赵连兴, 柯泽华, 等. 高效液相色谱法测定食品中着色剂和工业染料[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(17): 259–263, 270.
GUO YH, ZHAO LX, KE ZH, *et al.* Determination of colorants and industrial dyes in food by high performance liquid chromatography [J]. *Food Ferment Ind*, 2020, 46(17): 259–263, 270.
- [3] 李聪, 廖文彬, 罗美芬, 等. 高效液相色谱法测定熟肉制品中 8 种合成着色剂[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(16): 5696–5699.
LI C, LIAO WB, LUO MF, *et al.* Simultaneous determination of 8 synthetic colorants in cooked meat by high performance liquid chromatography [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(16): 5696–5699.
- [4] 毛希琴, 李春玲, 任国杰, 等. 高效液相色谱法同时检测化妆品中 38 种限用着色剂[J]. *色谱*, 2015, 33(3): 282–290.
MAO XQ, LI CL, REN GJ, *et al.* Simultaneous determination of 38 restricted colorants in cosmetics by HPLC [J]. *Chin J Chromatogr*, 2015, 33(3): 282–290.
- [5] 佟芳获, 张婷, 何婷, 等. 高效液相色谱法测定食品中 11 种合成着色剂[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(2): 534–538.
TONG FD, ZHANG T, HE T, *et al.* Determination of 11 kinds of synthetic colorants in foods by high performance liquid chromatography [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(2): 534–538.
- [6] 张大芬, 朱敖兰, 陶红霞, 等. 高效液相色谱法同时测定玉米粉和小米粉中的 8 种合成着色剂[J]. *现代预防医学*, 2015, 42(7): 1202–1204, 1219.
ZHANG DF, ZHU AOL, TAO HX, *et al.* Simultaneous determination of eight synthetic colorants in corn flour and millet flour by HPLC [J]. *Mod Prev Med*, 2015, 42(7): 1202–1204, 1219.
- [7] 王警, 郑娟梅, 王海波, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定饮料中 54 种食品添加剂[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(6): 223–233.
WANG J, ZHENG JM, WANG HB, *et al.* Simultaneous determination of 54 food additives in beverages by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(6): 223–233.
- [8] 李玮, 艾连峰, 马育松, 等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法测定辣椒中多种禁用着色剂[J]. *分析科学学报*, 2020, 36(1): 81–86.
LI W, AI LF, MA YS, *et al.* Determination of several prohibited dyes in chilli by ultra-high performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole-time of flight-mass spectrometry [J]. *J Anal Sci*, 2020, 36(1): 81–86.
- [9] 颜春荣, 高惠敏, 林慧, 等. 液相色谱-串联质谱法检测干制水产品中 9 种酸性偶氮类着色剂[J]. *食品科技*, 2020, 45(11): 308–312.
YAN CR, GAO HM, LIN H, *et al.* Determination of nine acid azo dyes in dried aquatic products by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci Technol*, 2020, 45(11): 308–312.
- [10] 辛若竹, 王静, 韩静秋. 示波极谱法测定食品中合成色素的抗干扰性的研究[J]. *中国酿造*, 2007, (3): 65–66.
XIN RZ, WANG J, HAN JQ. Study on anti-interference of determination of synthetic pigments in food by oscillography [J]. *China Brew*, 2007, (3): 65–66.
- [11] 文君, 缪红, 范柯. 示波极谱法测定食品中人工合成色素赤藓红[J]. *食品研究与开发*, 2001, 22(3): 63–64.
WEN J, MIAO H, FAN K. Determination of synthetic pigment erythritol in food by oscillography [J]. *Food Res Dev*, 2001, 22(3): 63–64.
- [12] 余孔捷, 钱鑫, 黄杰, 等. 分光光度法测定食品添加剂偶氮玉红中未磺化芳伯胺类[J]. *食品与发酵工业*, 2009, 35(5): 157–159.
YU KJ, QIAN J, HUANG J, *et al.* Spectrophotometric determination of non sulfonated aromatic primary amines in food additive azorubin [J]. *Food Ferment Ind*, 2009, 35(5): 157–159.
- [13] 许陆贵, 唐波, 蔡小华, 等. 多波长分光光度法测定食品中的合成色素[J]. *现代预防医学*, 2002, 29(5): 715–716.
XU LG, TANG B, CAI XH, *et al.* Determination of synthetic pigments in food by multi wavelength spectrophotometry [J]. *Mod Prev Med*, 2002, 29(5): 715–716.
- [14] 龙巍然, 王兴益, 史振雨, 等. 胶束电动毛细管色谱同时测定食品中 13 种人工合成色素[J]. *分析测试学报*, 2012, 31(9): 1100–1104.
LONG WR, WANG XY, SHI ZY, *et al.* Simultaneous determination of 13 synthetic pigments in food by micellar electrokinetic capillary chromatography [J]. *J Instrum Anal*, 2012, 31(9): 1100–1104.
- [15] 王丽芳, 丁晓静, 解娜, 等. 毛细管电泳法测定糖果及调制酒中 10 种人工合成色素[J]. *食品科学*, 2014, 35(14): 145–150.
WANG LF, DING XJ, XIE N, *et al.* Determination of 10 synthetic

- pigments in candy and prepared wine by capillary electrophoresis [J]. *Food Sci*, 2014, 35(14): 145–150.
- [16] 龙巍然, 岑怡红, 王兴益, 等. 毛细管区带电泳法同时测定饮料中16种食品添加剂[J]. *色谱*, 2012, 30(7): 747–751.
LONG WR, CEN YH, WANG XY, *et al.* Simultaneous determination of 16 food additives in beverages by capillary zone electrophoresis [J]. *Chin J Chromatogr*, 2012, 30(7): 747–751.
- [17] YI J, ZENG L, WU Q, *et al.* Sensitive simultaneous determination of synthetic food colorants in preserved fruit samples by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection [J]. *Food Anal Method*, 2018, 11(6): 1608–1618.
- [18] 成杰, 吴安理, 杨如娥, 等. 液相色谱-串联质谱法检测食品中合成染料的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(20): 7986–7994.
CHENG J, WU ANL, YANG RE, *et al.* Recent progress on detection of synthetic dyes in food by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(20): 7986–7994.
- [19] 高家敏, 钮正睿, 李红霞, 等. 高效液相色谱法测定饮料中12种水溶性合成着色剂[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(1): 136–140.
GAO JM, NIU ZR, LI HX, *et al.* Determination of 12 kinds of water-soluble synthetic colorants in drinks by high performance liquid chromatography [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(1): 136–140.
- [20] AL TA, ALRABEH M, AL TAA, *et al.* Fast and simple method for the detection and quantification of 15 synthetic dyes in sauce, cotton candy, and pickle by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Arab J Chem*, 2020, 13(2): 3882–3888.
- [21] 曾楚莹, 王露, 黎秀娟. 固相萃取-高效液相色谱法测定食品基质中5种不同合成红色着色剂[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(5): 1342–1345.
ZENG CY, WANG L, LI XJ. Determination of 5 kinds of different synthetic red colorants in food substrates by solid phase extraction-high performance liquid chromatography [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(5): 1342–1345.
- [22] 傅红雪, 陈万勤, 周霞, 等. 高效液相色谱法测定青团中合成色素的方法改进[J]. *食品工业*, 2021, 42(2): 295–298.
FU HX, CHEN WQ, ZHOU X, *et al.* Improved method determination of synthetic colorants in qingming fruit by high performance liquid chromatography [J]. *Food Ind*, 2021, 42(2): 295–298.
- [23] 宗珊盈, 张轩, 李超, 等. 固相萃取-HPLC-MS/MS法同时测定食品中6种人工合成着色剂[J]. *中国食品添加剂*, 2016, (5): 152–156.
ZONG SY, ZHANG X, LI C, *et al.* Simultaneous determination of 6 kinds of synthetic pigments in foods by using solid-phase extraction coupled with HPLC-MS/MS [J]. *China Food Addit*, 2016, (5): 152–156.
- [24] NGUYEN NVT, NGUYEN KNH, DAM KTT, *et al.* Simultaneous determination of 11 water-soluble dyes in food products and beverages by high performance liquid chromatography [J]. *Int Food Res J*, 2021, 28(1): 120–128.
- [25] 苑婷婷, 梁景文, 钟彩丽, 等. QuEChERS结合高效液相色谱-串联质谱法同时测定黄颡鱼中7种染料类兽药残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(17): 5628–5635.
YUAN TT, LIANG JW, ZHONG CL, *et al.* Simultaneous determination of residues of 7 kinds of dye veterinary drugs in *Pelteobagrus fulvidraco* fish by QuEChERS combined with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(7): 5628–5635.
- [26] 周庆琼, 林子豪, 曾羲, 等. QuEChERS-液相色谱-串联质谱法同时测定调味品中49种工业染料[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(13): 3385–3395.
ZHOU QQ, LIN ZH, ZENG X, *et al.* Simultaneous determination of 49 kinds of industrial dyes in condiments by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry based on QuEChERS [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(13): 3385–3395.
- [27] JIANG HL, LI N, CUI L, *et al.* Recent application of magnetic solid phase extraction for food safety analysis [J]. *TrAC Trend Anal Chem*, 2019, 120: 115632.
- [28] NIU P, LIANG X, LU X, *et al.* Preparation of magnetic carbonized polyaniline nanotube and its adsorption behaviors of xanthene colorants in beverage and fish samples [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1605: 460369.
- [29] 叶帆, 黎丽颜, 陈斯其. 聚酰胺吸附-高效液相色谱法测定蜜饯中的七种水溶性偶氮着色剂[J]. *中国食品添加剂*, 2020, 31(1): 108–115.
YE F, LI LY, CHEN SQ, *et al.* Simultaneous determination of 7 water-soluble AZO colorants in preserved fruits by polyamide adsorption-HPLC [J]. *China Food Addit*, 2020, 31(1): 108–115.
- [30] 李林, 武木兰, 王震. 食品中合成着色剂的测定方法研究-高效液相色谱法[J]. *现代农业科技*, 2017, (17): 253–254.
LI L, WU SL, WANG Z. Study on determination method of synthetic colorants in food-high performance liquid chromatography [J]. *Mod Agric Sci Technol*, 2017, (17): 253–254.

(责任编辑: 于梦娇 郑 丽)

作者简介



王婷, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全与检测方法开发。

E-mail: f_sgz@3songshu.com



马海峰, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: f_shf@3songshu.com