

高效液相色谱法检测食品中的喹啉黄色素

奚星林 邵仕萍 邹志飞 李宪华

(广东出入境检验检疫技术中心 广州 510623)

摘要: 为了建立食品中喹啉黄含量的反相液相色谱测定方法,同时采用光电二极管阵列检测器进行定性分析。试样中的喹啉黄用聚酰胺吸附法提取,色谱柱为 C_{18} 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),以甲醇和0.02mol/L 乙酸铵溶液为流动相梯度洗脱,流速1.0 mL/min,检测波长420nm,柱温30℃。试验结果中,喹啉黄工作曲线在1.0 μg/mL~50.0 μg/mL 范围内峰面积与进样量呈良好的线性关系,喹啉黄的回收率在90.5% ~ 98.6%,相对标准偏差0.61%~2.41%。该方法准确度高,分离效能好,结果稳定可靠,适合于食品中喹啉黄含量的测定。

关键词: 高效液相色谱法; 二极管阵列检测器; 喹啉黄; 聚酰胺; 吸附

中图分类号: 0657.7

文献标识码: B

Determination of Quinoline Yellow From Foods by HPLC

Xi Xinglin, Shao Shiping, Zou Zhifei, Li Xianhua

(Guangdong Entry-exit Inspection and Quarantine Technology Centre, Guangzhou 510623)

Abstract: To develop a method for the quantitative analysis of quinoline yellow from foods and at the same time the identification was carried out by means of Photodiode Array Detector. Quinoline yellow in foods was extracted by adsorption with polyamide. HPLC was carried out on the C_{18} column (4.6 mm×250mm, 5μm) at 30℃ with MeOH+0.02mol/L as mobile phase. The flow rate was 1.0 ml and the detection wavelength 420 nm. There was good linear relationship between the peak area and the sample content injected in the ranges of 1.0μg/mL~50.0 μg/mL($r=0.9999$) for quinoline yellow. The recovery rate of fast green was between 90.5% and 98.6% (RSD0.61%~2.41%). The method is simple, accurate, and suitable for the determination of quinoline yellow from foods.

Key words: HPLC; Photodiode Array Detector; quinoline yellow; polyamide; adsorption

引言

人工合成色素是以煤焦油为原料制成的,由于它成本低廉、色泽鲜艳,故为生产厂家广泛使用。我国批准使用的食用合成色素有22种,喹啉黄是其中的一种。食用合成色素多为含有R-N=N-R键、苯环或氧杂蒽结构化合物,它们对人体存在一定的不安全性或者产生有害作用。因此,为了保

证人们的身体健康,国家对人工合成色素在食品中允许使用的品种、范围和添加量作了严格的规定,GB/T 2760-2007《食品添加剂使用卫生标准》明确规定了食品中添加食用色素的范围和用量,其中喹啉黄被允许在配制酒中使用,使用限量是100mg/kg。

目前食品中喹啉黄含量的检测

文献报道甚少, J. J. Berzas Nevado^[1]和Mahmure^[2]等报道了分光光度法测定食品中喹啉黄含量,分光光度法的选择性较差,不适用于大多数复杂食品中色素的检测,未见液相色谱法检测食品中喹啉黄的文献报道。本实验以常见含色素的食品为研究对象,用聚酰胺吸附法提取色素,取

基金项目: 广州市重大科技工程(2006Z1-E0121)资助项目

作者简介: 奚星林,男,1965年出生,高级工程师



得了满意的结果。

1 实验条件与方法

1.1 仪器及条件

高效液相色谱仪(LC10-AD, 日本岛津公司)配二极管阵列检测器。色谱柱: C_{18} 柱($5 \mu m, 4.6mm \times 250mm$); 流速: $1.0mL/min$; 柱温: $30^\circ C$; 检测波长: $420nm$; 进样量: $10 \mu L$ 。

1.2 试剂与溶液

甲醇, 甲酸, 柠檬酸, 氨水, 无水乙醇, 乙酸铵溶液 ($0.02mol/L$), 喹啉黄: 纯度95%, Sigma公司产品。喹啉黄标准储备溶液 ($1.0mg/mL$)。

1.3 实验方法

1.3.1 试样制备

(1) 桔子汁、果味水、汽水等: 分别称取 $20.0g \sim 40.0g$ 桔子汁、果味水、汽水等液体, 放入 $100mL$ 烧杯中, 含二氧化碳试样加热驱除二氧化碳。

(2) 酒的配置: 称取 $10.0g \sim 20.0g$ 酒, 放入 $100mL$ 烧杯中, 加几粒沸

石, 加热驱除乙醇。

(3) 硬糖、蜜饯、淀粉软糖: 各称取 $5.00g \sim 10.00g$ 粉碎试样, 放入 $100mL$ 烧杯中, 加水 $30mL$, 温热溶解, 若试样 pH 值较高, 用柠檬酸溶液调 pH 到 6 左右。

(4) 巧克力及着色糖衣制品: 称取 $5.00g \sim 10.00g$ 巧克力及着色糖衣制品, 粉碎试样, 放入 $100mL$ 烧杯中, 用水反复洗涤色素, 直到试样无色素为止, 合并色素漂洗液为试样溶液。

(5) 肉制品: 将肉制品先用绞碎机绞碎, 加入 $90mL$ 无水石油醚分 3 次去除脂肪, 再用热水分 3 次萃取色素, 合并萃取液为样品液。

1.3.2 色素提取

样品液加入柠檬酸溶液调 pH 值到 6, 加热至 $60^\circ C$, 将 $1g$ 聚酰胺粉加少许水调成粥状倒

入样品溶液中, 搅拌片刻, 以 G3 垂融漏斗抽滤, 用 $60^\circ C$ pH 为 4 的水洗 3~5 次, 然后用甲醇-甲酸(6+4)混

合液洗涤 3~5 次, 再用水洗至中性, 用乙醇-氨水-水(7+2+1)混合溶液解吸 5 次, 每次 $5mL$, 收集解吸液, 加乙酸中和蒸发至近干, 加水溶解定容至 $5 \sim 20mL$ (根据颜色深浅而定), 经滤膜($0.45 \mu m$)过滤, 取 $10 \mu L$ 注入高效液相色谱仪。

1.3.3 测定

根据样液中喹啉黄含量情况, 选定峰面积相近的标准工作溶液。标准工作溶液和样液中喹啉黄响应值均应在仪器检测线性范围内, 当样品中的喹啉黄超过线性范围时, 可适当加大样品的稀释倍数。标准工作溶液和样液等体积进样测定。以喹啉黄 4 个色谱峰的峰面积总和为纵坐标, 与其对应的浓度为横坐标作图, 绘制标准工作曲线。以二极管阵列检测器的光谱图进行定性分析。

1.3.4 结果计算

试样中喹啉黄的含量按公式 (1) 式计算

$$X = \frac{c \times V \times N}{m} \quad (1)$$

式中:

X——试样中喹啉黄含量, 单位为 mg/kg ;

C——从标准工作曲线得到被测样液中喹啉黄的浓度, 单位为 mg/L ;

V——最终样液的定容体积, 单

表 1 流动相梯度

时间 (min)	甲醇 (%)	0.02mol/L 乙酸 (%)
0	20	80
5	35	65
12	98	98
18	98	98
22	20	80

位为 mL;

N——试液稀释倍数;

m——最终样液所代表试样质量, 单位为 g.

2 结果和讨论

2.1 色谱条件的选择

2.1.1 检测波长的选择

喹啉黄 4 个色谱峰的最大吸收波长分别为 414、418、415、418nm, 我们选择 420nm 为检测波长。

2.1.2 流动相的选择

分别考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-乙酸铵溶液、乙腈-乙酸铵溶液等流动相系统对于喹啉黄的色谱峰形的影响, 结果表明, 采用甲醇-乙酸铵溶液作为流动相, 喹啉黄的色谱峰形最好。加入不同体积分数的甲醇, 结果发现, 随着甲醇比例的增加, 流动相的极性逐渐减小, 洗脱能力逐渐增强, 兼顾到合适的保留时间和良好的色谱峰形, 以及试样中还有众多脂溶性成分需要洗脱, 最终选择甲醇初始比例为 20%。流动相梯度按表 1 程序进行。

2.1.3 柱温的选择

当流动相固定以后, 对不同的柱温 (15℃~35℃) 条件进行了考察, 结果表明, 当柱温为 30℃ 时, 喹啉黄的保留时间和色谱峰形最为理想。

2.1.4 色谱柱的选择

分别考察了 Kromasil C₁₈ (5 μm, 250mm × 4.6mm i.d.), Sulpeco C₁₈ (5 μm, 250mm × 4.6mm i.d.), Ultimate (5 μm, 250 mm × 4.6 mm i.d.) 等不同固定相色谱柱条件下喹啉黄的色

谱峰形。结果表明, 采用 Ultimate C₁₈ (5 μm, 250 mm × 4.6 mm i.d.) 作为色谱柱, 色谱峰形最为尖锐。

2.2 工作曲线及最低检出浓度

在本方法所确定的实验条件下, 取一系列标准溶液 5.0、10.0、20.0、35.0、50.0mg/L。

以喹啉黄 4 个色谱峰的峰面积总和为纵坐标对相应的喹啉黄浓度 (X 轴) 作图, 结果表明, 喹啉黄的工作曲线在浓度 1.0 mg/L~50.0 mg/L 范围内, 线性方程为 Y=24808X-53381, 线性相关系数 0.9992, 浓度

与其对应的峰面积值呈良好线性关系。当样品中的喹啉黄超过此线性范围时, 可适当加大样品的稀释倍数。

喹啉黄标准品 4 个色谱峰成分的光谱图见图 1, 液相色谱分离图见图 2。按信噪比为 3 计算, 方法的最低检出浓度为 1.0mg/kg。

1. 喹啉黄组分 1
2. 喹啉黄组分 2
3. 喹啉黄组分 3
4. 喹啉黄组分 4

2.3 试样回收试验

选用饮料、糖果做回收率试验。
(下转第 19 页)

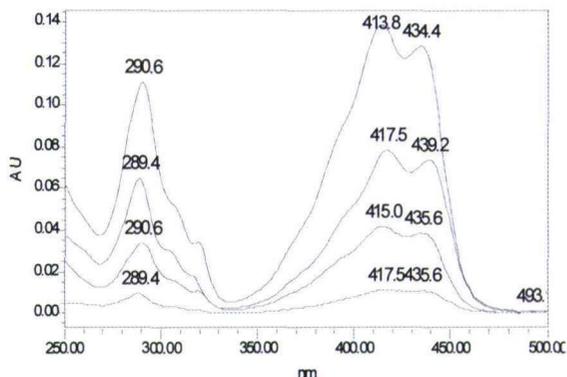


图 1 喹啉黄标准品的光谱图

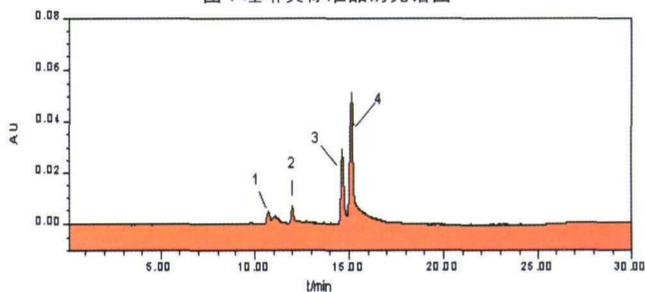


图 2 喹啉黄标准品的色谱图

表 2 饮料、糖果和饼干中喹啉黄回收率和精密度试验结果

样品名称	试样本底 (mg/kg)	添加水平 (mg/kg)	平均测定值 (mg/kg)	平均回收率 (%)	RSD (%)
饮料	未检出	1.0	0.91	91.0	1.79
饮料	未检出	2.0	1.91	95.3	1.21
饮料	未检出	4.0	3.95	98.6	0.61
糖果	未检出	1.0	0.89	89.0	2.04
糖果	未检出	2.0	1.81	90.5	2.41
糖果	未检出	4.0	3.52	88.0	1.97

(chemometric software from Buchi, Switzerland) 进行处理。

2 结果与讨论

2.1 各属性近红外测定与经典方法的结果统计如表1所示。结果显示, 酒精度、糖度和总固形物的近红外测

量结果具有良好的线性关系。特别是酒精度(图1), 无论是线性度还是预测误差, 都非常理想。

2.2 表1中糖度有两行值, 即糖度1和糖度2, 分成两组的原因在于, 国标的分析方法为两种, 如果采用一

条标准曲线, 会出现拐点, 如图2所示, 从而导致预测结果与实验结果误差偏大。

2.3 标定波长范围选择在4393.08~4801.91, 5392.03~6603.11, 7798.77~10001.1 cm^{-1} 之间, 主要目的是避开在近红外区具有强吸收的水峰的一级和二级倍频的干扰。

表1 黄酒中各属性近红外分析的标定与预测的统计

属性	样品个数	拟合方法	谱图前处理	拟合因子	标定		预测		标定范围
					误差	系数	误差	系数	
酒精度(%)	2416	PLS	1. First Derivative BCAP 2. Normalization to Unit	7	0.17	0.99	0.19	0.99	12.20-19.11
糖度1(g/100mL)	1160	PLS	MSC full	12	0.20	0.93	0.21	0.93	0.80-3.98
糖度2(g/100mL)	828	PLS	Absorbance Log10(1/x)	12	0.16	0.97	0.18	0.97	3.00-5.88
酸度(mg/100g)	1107	PLS	MSC full	13	0.29	0.75	0.34	0.65	4.40-6.90
氨氮(mg/100g)	757	PLS	Normalization by Closure	11	0.06	0.65	0.06	0.61	0.57-1.06
pH	658	PLS	First Derivative BCAP	8	0.08	0.79	0.09	0.69	3.54-4.02
总固形物(%)	767	PLS	First Derivative BCAP	5	3.47	0.95	3.83	0.94	35.04-93.50

3 结论

表1的结果表明, 用近红外光谱仪分析黄酒酒精度完全可以替代常规实验方法; 而糖度和总固形物具有良好的线性, 表明近红外方法与经典方法相关性很高, 通过完善经典数据, 也可提高预测准确度从而替代经典方法; 而其它几个属性, 也具有一定的参考意义。

(上接第17页)

设定了三个添加浓度, 按本检验方法所确定的实验条件, 对每个添加浓度进行6次平行试验, 回收率在90.5%~98.6%; 相对标准偏差在0.61%~2.41%。结果汇总于表2。

3 结论

本试验建立了食品中喹啉黄色素的含量的液相色谱检测方法, 该方法简便、快速、结果稳定可靠。

参考文献

[1] Berzas Nevado J J, Rodríguez Flores

J, Villase or Llerena M, J, Rodríguez Farinas N. Rapid spectrophotometric method to resolve ternary mixtures of Tartrazine, Quinoline Yellow and Patent Blue V in commercial products[J]. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry (4), 383-388.

[2] Mahmure USTUN OZGUR, İkbal KOYUNCU. The Simultaneous Determination of Quinoline Yellow(E-104) and Sunset Yellow(E-110) in Syrups and Tablets by Second Derivative Spectrophotometry [J]. Turk J Chem, 2002(26): 501-508.

