

# 食品中 7 种合成着色剂检测的固相萃取方法 (Copure® PA)

合成着色剂又称合成色素，常以苯、甲苯、萘等化工产品为原料，经过磺化、偶合、缩合、偶氮化等一系列有机反应制备而成。合成着色剂由于成本低廉、色泽鲜艳，着色力强，色调多样，故被广泛应用；但它有一定的毒性（包括毒性、致泻性和致癌性），过多摄入会危害人体健康。因此，国家对合成着色剂的使用严格控制了范围和最大限量值。

本方案以聚酰胺固相萃取柱为净化柱，开发了高效液相色谱法测定食品中柠檬黄、日落黄、新红、胭脂红、苋菜红、诱惑红和亮蓝检测方案。本方法操作简单，灵敏度高，准确，满足日常检测需求。

## 一、样品提取

### 1. 果蔬饮料提取

称取试样 2.0 g (精确至 0.001 g) 于 50 mL 离心管中，加入 25 mL 乙醇氨水溶液，涡旋 5 min，50 °C 超声提取 15 min，8000 转 / 分钟离心 5 min，取上清液置于 50 mL 离心管中，加入 15 mL 乙醇氨水溶液重复提取 1 次，离心后合并上清液，用乙醇氨水溶液定容至 50 mL，混匀后得提取液。准确吸取提取液 10 mL，50 °C 下氮气浓缩至 2 mL 左右，加入 10 mL 5% 甲醇水溶液溶解，混匀作为待净化液，用 20% 柠檬酸溶液调节溶液 pH=3~4，待上样。

### 2. 火腿、薯片、面包和卤鸡翅试样提取

称取试样 2 g 于 50 mL 离心管中，加入 25 mL 乙醇氨水溶液至试样中，涡旋 5 min，50 °C 超声提取 5 min，8000 转 / 分钟离心 5 min，取上清液置于 50 mL 离心管中，加入 15 mL 乙醇氨水重复提取一次，离心后合并上清液，乙醇氨水溶液定容至 50 mL，混匀后得提取液。准确吸取提取液 10 mL，50 °C 下氮气浓缩至 2 mL 左右，加入 10 mL 5% 甲醇水溶液溶解，混匀作为待净化液，用 20% 柠檬酸溶液调节溶液 pH=3~4，待上样。

## 四、实验结果

加标回收实验结果

表 2 加标水平回收结果

目标物	回收率 %									
	饮料		火腿		面包		酱卤鸭翅根		薯片	
	3.0mg/kg	5.0mg/kg	3.0mg/kg	5.0mg/kg	3.0mg/kg	5.0mg/kg	3.0mg/kg	5.0mg/kg	3.0mg/kg	5.0mg/kg
柠檬黄	103	100	87.5	96.4	96.7	98.7	89.3	94.6	87.6	93.1
新红	101	102	92.9	97.9	94.3	102	98.4	92.1	92.4	95.3
苋菜红	93.5	101	98.1	103	87.3	93.5	86.4	90.2	88.4	94.8
胭脂红	97.5	99.0	89.5	92.1	96.1	92.3	89.9	96.7	81.1	93.9
日落黄	101	98.4	89.1	93.1	86.4	91.2	85.5	94.3	87.6	92.8
诱惑红	102	101	90.5	95.6	95.9	92.1	87.7	93.2	95.2	93.2
亮蓝	92.9	91.7	95.2	90.7	92.6	97.4	90.7	96.4	94.1	97.5

注：乙酸氨水溶液：乙醇 700 mL，氨水 4 mL，用水定容至 1L。

## 二、样品净化 (Copure® PA, 500mg/6mL)

活化：依次用 6mL 甲醇和 6mL 水活化；

上样：将上述待净化液过柱，弃掉流出液；

淋洗：依次用 5 mL 水和 5 mL 甲醇淋洗，抽干小柱；

洗脱：7 mL 5% 氯化甲醇溶液洗脱，收集洗脱液，于 45 °C 氮吹仪浓缩至 0.3 mL 左右，加入 0.02mmol/L 乙酸铵溶液 (pH=9.0) 复溶至 2mL，涡旋混匀，过 PTFE 滤膜，上机。

## 三、仪器条件

仪器：液相色谱仪，ThermoFisher U3000

色谱柱：Agilent ZORBAX SB-C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)

流动相：A: 0.02mol/L 乙酸铵溶液 B: 甲醇

洗脱方式：梯度洗脱，见表 1

流速：1.0 mL/min

柱温：30 °C

进样量：10 μL

检测器：紫外检测器

检测器波长范围：400~800 nm，柠檬黄测定波长为 415 nm；新红、苋菜红、胭脂红、日落黄、诱惑红测定波长为 520 nm；亮蓝测定波长为 630 nm。

表 1 梯度洗脱程序

时间 /min	A/%	B/%
0.01	90	10
12.0	65	35
19.0	55	45
22.5	50	50
23.0	45	55
24.0	35	65
34.0	35	65
35.0	90	10
42.0	90	10

## 饮料、面包、酱卤鸡翅根、火腿和薯片中着色剂色谱图

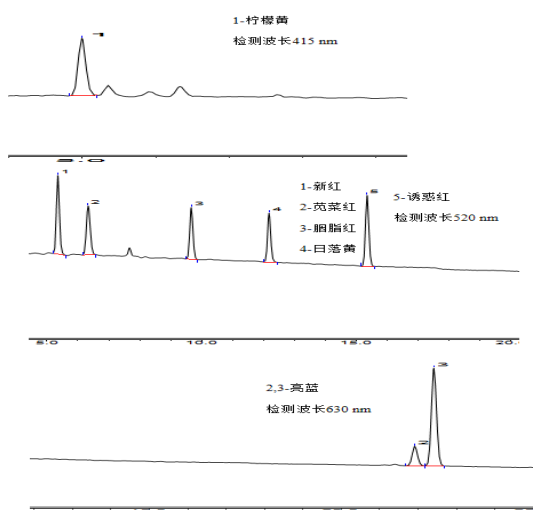


图1 饮料添加水平 (5.0 mg/kg) 中7种着色剂色谱图



图2 面包添加水平 (5.0 mg/kg) 中7种着色剂色谱图

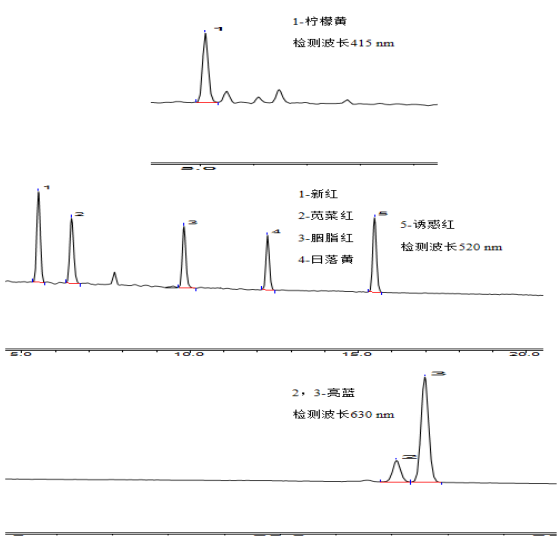


图3 酱卤鸡翅根添加水平 (5.0 mg/kg) 中7种着色剂色谱图

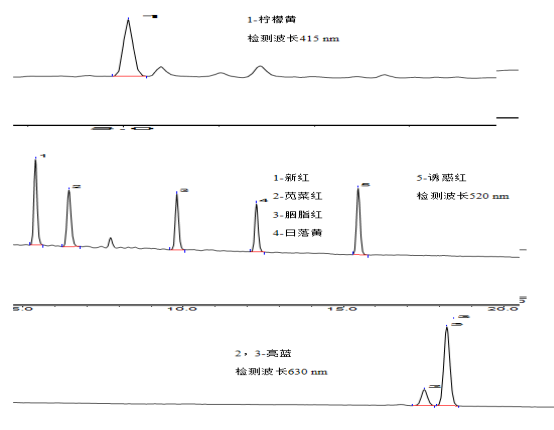


图4 火腿添加水平 (5.0 mg/kg) 中7种着色剂色谱图

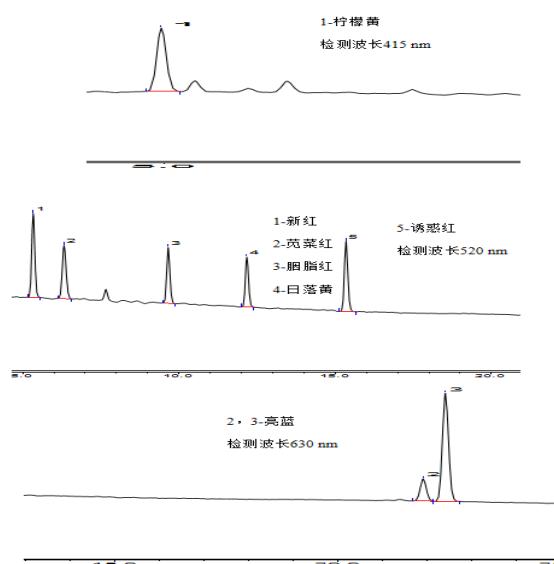


图5 薯片添加水平 (5.0 mg/kg) 中7种着色剂色谱图

## 订购信息

货号	描述	包装
COPACR66	Copure® PA 净化柱, 500mg/6mL	30支 / 盒
SDC-3000-D	biocomma® 多管涡旋混匀仪	1台 / 箱
SF130-22-PTFE	PTFE 针式过滤器, 直径 13 mm, 孔径 0.22 μm, 有机系	100个 / 盒
SC2-1	2 mL 蓝色聚丙烯盖, 白色 PTFE / 红色硅胶垫, 9-425	100个 / 盒
V2-AL	2 mL 螺纹棕色样品瓶, 带书写处 11.6*32 mm, 9-425	100个 / 盒

# 茶叶中合成着色剂检测的固相萃取方法 (Copure® PA)

《GB 5009.35-2016 食品安全国家标准 食品中合成着色剂的测定》

## 一、样品提取

准确称取 2.0 g 红茶置于 50 mL 离心管中，加入 20 mL 水，振荡提取 30 min，4000 r/min 离心 5 min，上层清液备用。

## 二、SPE 柱净化 (Copure® PA, 500 mg/6 mL)

活化：聚酰胺柱使用前用 5 mL 甲醇活化，5 mL 水平衡。

上样和洗脱：取 5 mL 备用液过柱，弃去流出液；用 3 mL 水淋洗，再用足量甲醇 / 甲酸溶液 (6:4, v/v) 淋洗至流出液透明，弃去流出液，抽干小柱；用 5 mL 10% 氨水甲醇洗脱，收集洗脱液。（整个上样、洗脱过程控制流速在 1 mL/min 内）。

上机测试：将洗脱液定容至 5 mL，取 1 mL 经 0.22 μm 水系滤膜过滤，供上机测试。

注：建议使用 PTFE 亲水材质滤膜过滤，避免其他材质滤膜对色素有吸附造成回收率偏低现象。

## 三、仪器条件

设备：Waters Alliance 2695

色谱柱：InertSustain-C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)

检测器：Waters 2996 紫外检测器

检测波长：254 nm

流动相：A：甲醇 B：0.02 mol/L 乙酸铵缓冲溶液

洗脱方式：梯度洗脱，见表 1

表 1 梯度洗脱条件

时间 /min	A(%)	B(%)
---	5.0	95.0
10.0	20.0	80.0
18.0	60.0	40.0
25.0	60.0	40.0
25.1	5.0	95.0
35.0	5.0	95.0

流速：1.0 mL/min

进样体积：20 μL

## 四、实验结果

表 2 10.0 mg/kg 茶叶中合成着色剂的添加回收结果

名称	回收率 (%)			平均回收率 (%)	RSD(%)
	1	2	3		
柠檬黄	90.5	88.5	88.9	89.3	1.2
苋菜红	107.7	107.1	106.6	107.1	0.5
胭脂红	109.4	107.1	110.0	108.8	1.4
日落黄	104.4	106.1	99.0	103.2	3.6
诱惑红	107.8	108.2	105.9	107.3	1.1
亮蓝	87.2	93.4	89.2	89.9	3.5

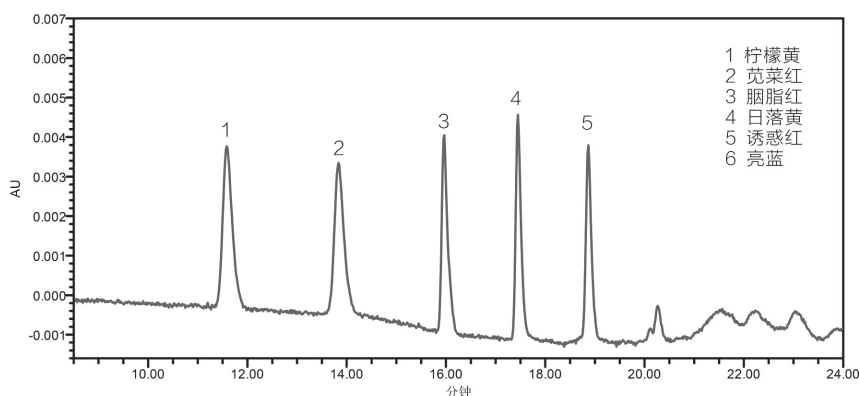


图 1 添加水平为 10.0 mg/kg 茶叶中合成着色剂检测的液相色谱图

## 订购信息

货号	描述	包装
COPACR66	Copure® 聚酰胺固相萃取柱, 500 mg/6 mL	30 支 / 盒
SF250-22-PTFE-HL	聚四氟乙烯针式过滤器, Φ25 mm/0.22 μm/ 水系	100 个 / 盒
MF047-45-MCE	MCE/Φ47 mm/0.45 μm/ 水系	200 片 / 盒
MF047-45-PTFE	PTFE/Φ47 mm/0.45 μm/ 有机系	200 片 / 盒
V2-TL	2 mL 透明短螺纹广口样品瓶, 带书写处	100 个 / 盒
SC2-1	2 mL 蓝色聚丙烯盖, 预开口, 9-425	100 个 / 盒
SPEMF12G	12 位固相萃取负压装置, 玻璃缸体	1 个 / 盒