

乙醇作为流动相分析饮料中多种合成着色剂

LC-070

摘要：本文使用乙醇/乙酸铵代替传统使用的甲醇/乙酸铵为流动相体系，建立了饮料中六种合成着色剂的测定方法。乙醇的使用可降低流动相对实验操作人员身体的损害及环境的污染。LC-30A 的使用，提高了分析的效率，2.5 分钟内可完成分析过程。当取样 20 g，定容体积为 100 mL 时，六种着色剂的定量限在 0.45-1.15 mg/kg 之间，满足相关规定对灵敏度的要求。同时，方法的重复性良好。

关键词：乙醇 流动相 饮料 着色剂

人工合成着色剂不能提供人体所需的任何营养物质，并且某些合成着色剂还会危害人体的健康，如致泻性、致基因突变性与致癌性等。因此，食品中着色剂的检测一直是食品安全监管工作的重点。

目前国内外常用的检测方法有高效液相色谱法、薄层色谱法、示波极谱法、毛细管电泳法、分光光度法等。高效液相色谱法是一种很好的分离技术，应用高效液相色谱法测定人工合成着色剂准确度高、方法灵敏、重现性好，因此被广泛采用。

检测着色剂传统采用的流动相是甲醇/乙酸铵体系。但实验人员长期吸入含有甲醇的空气，会使人头昏，无力，严重损坏人的视神经，导致失明，而乙醇的毒性要远远低于甲醇。甲醇与乙醇在毒性上的区别主要在于甲醇本身无毒，但甲醇经人体代谢产生甲醛和甲酸，然后对人体产生伤害，而乙醇代谢后的产物乙醛和乙酸对人体的危害大大降低。

在液相色谱的应用中较少使用乙醇做流动相是由于乙醇的粘度要远大于甲醇，传统的液相色谱仪及色谱柱难以承受如此大的压力。近年来，随着超快速液相色谱仪及色谱柱的出现，其体现出的耐高温、高压的特性，解决了乙醇作为流动相在液相色谱应用中的瓶颈。

因此，本文通过以乙醇替代甲醇作为流动相分析饮料中常见的 6 种合成着色剂的实验，探讨了绿色环保的乙醇在超快速液相色谱中替代甲醇、乙腈等高毒性流动相的可行性。

实验部分

1.1 试剂与仪器

1.1.1 试剂：

色谱纯乙醇

0.02 mol/L 乙酸铵溶液：称取 1.54 g 乙酸铵，加水至 1000 mL，溶解，经 0.45 μm 滤膜过滤。

合成着色剂标准储备溶液：准确称取柠檬黄、日落黄、苋菜红、胭脂红、诱惑红、亮蓝各 0.100 g，置 100 mL 容量瓶中，加水 (pH 6) 定容，配成 1.00 mg/mL 的水溶液。

合成着色剂标准使用液：以 pH=6 的水为溶剂，将柠檬黄的标准溶液稀释为 0.15、0.30、0.75、1.50、2.25、3.00、6.00 mg/L，将日落黄、苋菜红、胭脂红、诱惑红、亮蓝的标准溶液稀释为 0.50、1.00、2.50、5.00、7.50、10.00、20.00 mg/L，作为建立标准曲线的工作液使用。

1.1.2 仪器

LC-30A

1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS

(2.0mm \times 75 mm, 2.2 μm)；

柱温：60

流动相：A：0.02 mol/L 乙酸铵的水溶液；B：乙醇；

洗脱方式：梯度洗脱

Time	Module	Command	Value
0.00	Pumps	B.Conc	5
1.50	Pumps	B.Conc	40
2.00	Pumps	B.Conc	80
2.00	Controller	Stop	

流速：0.5 mL/min；

紫外检测波长：254 nm

进样体积：2.0 μL

1.3 样品处理

称取 20.0 g 某碳酸饮料，放入 100 mL 烧杯中，加热驱除二氧化碳。然后加水定容至 100 mL，经 0.45 μm 滤膜过滤后待测。

结果讨论

2.1 标准曲线结果

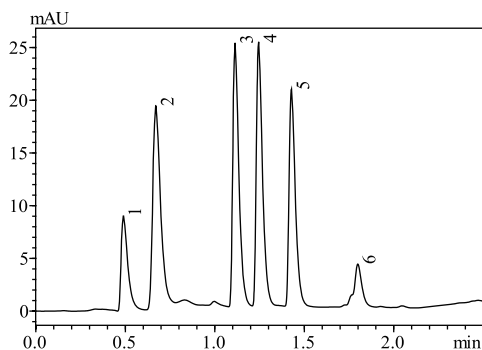


图1 标准样品的色谱图

1: 柠檬黄 (3.00mg/L), 2: 苋菜红 (10.00mg/L),
 3: 胭脂红 (10.00mg/L), 4: 日落黄 (10.00mg/L),
 5: 诱惑红 (10.00mg/L), 6: 亮蓝 (10.00mg/L)

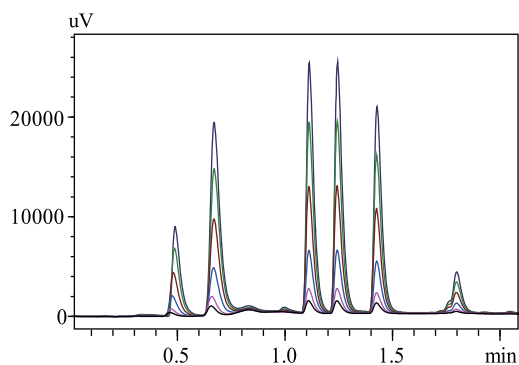
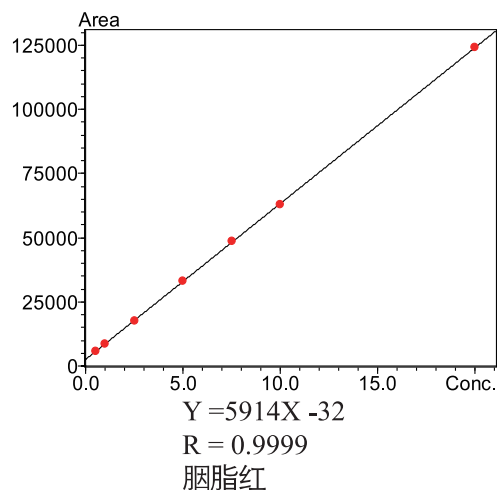
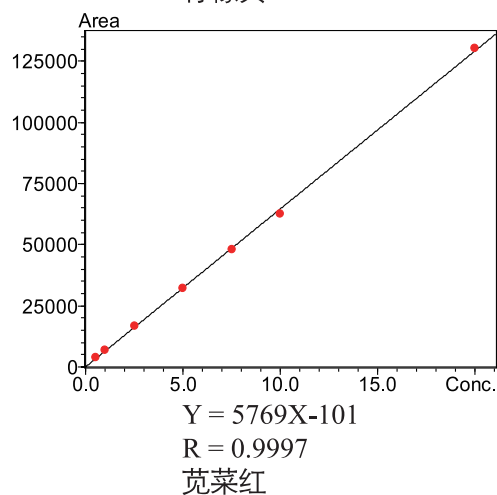
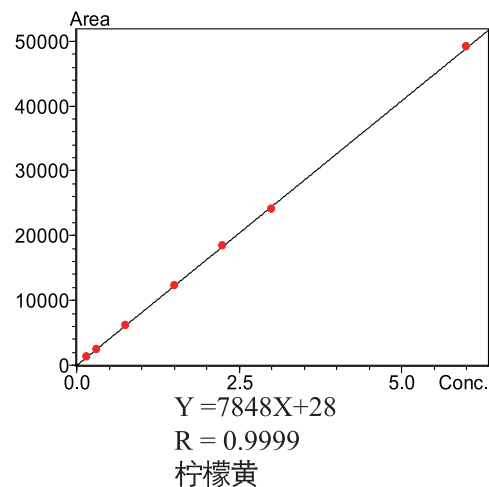
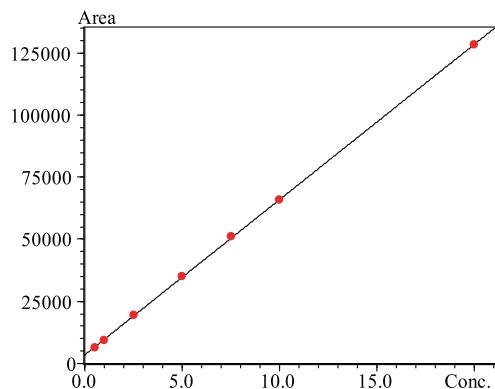


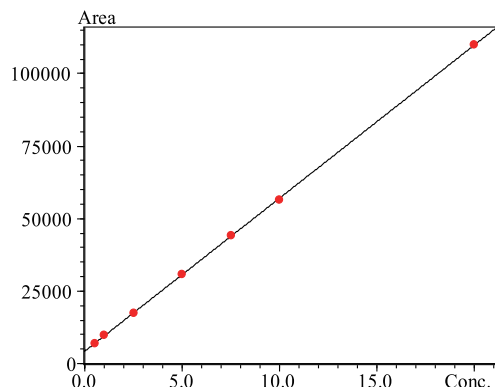
图2 七个不同浓度下标准样品的色谱图

图 1 是标准品色谱图，图 2 是七个不同浓度的标准溶液采集得到的色谱图。六种着色剂化合物的校准曲线及方程如下所示。曲线的相关系数 R 在 0.9997-0.9999 之间，线性关系良好。

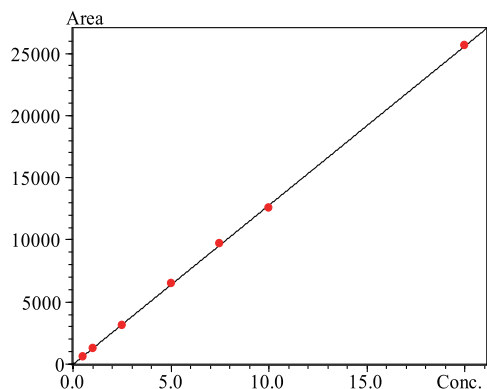




$Y = 6014X - 97$
 $R = 0.9999$
 日落黄



$Y = 5040X - 78$
 $R = 0.9999$
 诱惑红



$Y = 1325X - 11$
 $R = 0.9999$
 亮蓝

2.2 方法的重复性

为了进一步考察该方法的重复性，本文对浓度为 3.00 mg/L 的柠檬黄及 10.00 mg/L 的日落黄、苋菜红、胭脂红、诱惑红、亮蓝混合标准样品进行了 6 次重复进样，色谱图如图 3 所示。保留时间及峰面积的重复性结果 (RSD% 表示) 见表 1。各组分保留时间的 RSD% 在 0.02% 和 0.06% 之间。峰面积的 RSD% 在 0.15 和 0.45% 之间。结果的重复性良好。

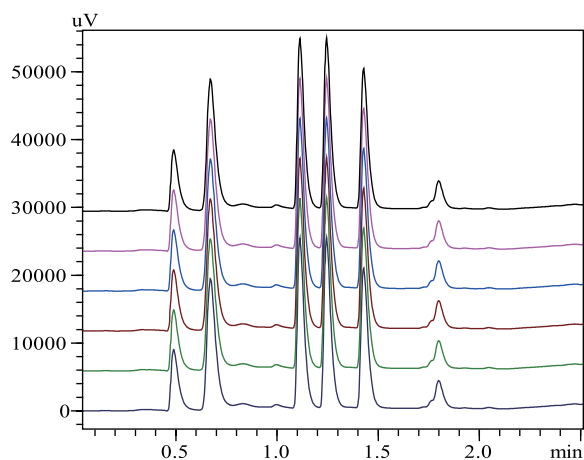


图3 6次重复进样的标准品色谱图

表1 重复性结果

化合物	保留时间		峰面积	
	平均值 (min)	RSD%	平均值	RSD%
柠檬黄	0.465	0.05	23511	0.15
苋菜红	0.657	0.04	61466	0.22
胭脂红	1.110	0.06	60685	0.35
日落黄	1.242	0.03	62271	0.45
诱惑红	1.426	0.03	51388	0.37
亮蓝	1.796	0.02	12564	0.33

2.3 方法的灵敏度

根据六种着色剂在不同浓度下的信噪比 (S/N) 计算得到的各组分在饮料中的最低检出限 (LOD 表示)、最低定量限 (LOQ 表示) 见表 2。方法的最低检出限在 0.15-0.35 mg/kg 之间, 最低定量限在 0.45-1.15 mg/kg 之间, 方法的灵敏度良好。

表2 最低检出限及最低定量限

化合物	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)
柠檬黄	0.15	0.45
苋菜红	0.25	0.70
胭脂红	0.20	0.55
日落黄	0.20	0.55
诱惑红	0.20	0.65
亮蓝	0.35	1.15

2.4 实际样品分析

按照前面的样品前处理及色谱条件进行分析, 得到某碳酸饮料的色谱图见图 4。

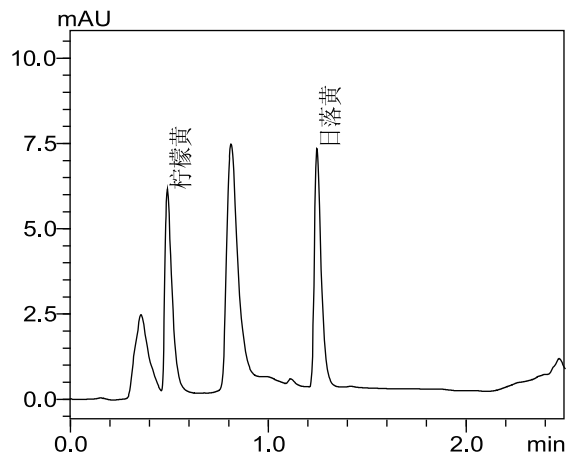


图4 某饮料的色谱图

由此计算得到该饮料中柠檬黄的含量为 10.53 mg/kg, 日落黄的含量为 13.98 mg/kg。

■ 结论

本实验中采用乙醇 / 乙酸铵的流动相体系建立了饮料中六种合成着色剂的检测方法。本法具有绿色环保、快速便捷、重复性好和灵敏度高等优点。该实验证明作为流动相, 乙醇可以在一定程度上代替甲醇、乙腈等传统高毒性有机试剂。