

# 液相色谱法测定茶叶中 5 种合成着色剂含量

LC-293

**摘要：** 本文使用液相色谱仪建立了茶叶中 5 种合成着色剂含量的分析方法，并对方法的线性、重现性及加标回收率进行了考察。结果显示，合成着色剂在 0.1-10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  内线性关系良好；对照品溶液连续进 6 针，保留时间和峰面积的 RSD% 均小于 2%，重复性好，稳定性强；对样品进行加标，加标浓度为 0.5、2、5  $\mu\text{g}/\text{g}$ ，回收率为 80%~105%，方法可靠，本应用建立的方法准确、灵敏、重复性好，可为测定茶叶中合成着色剂的含量提供参考。

**关键词：** 液相色谱法 茶叶 合成着色剂

茶叶是世界人民喜闻乐见的健康饮品，种类繁多，具有安神明目、清热解毒、消食利水等功效；且在医疗领域、人文领域都有不菲的价值。市面上售有的茶叶含天然着色剂，属正常，无毒。但部分不法商家会添加合成着色剂，以润色旧茶，达到以次充好、滥竽充数的目的。

合成着色剂具有偶氮类、氧蒽类、二苯甲烷类结构，性质稳定。少量的合成着色剂对人体几乎无害，但部分着色剂过量可能会造成包括一般毒性、致泻性、致

突性（基因突变）与致癌作用。因此为提高产品安全性，应对其进行质量控制。合成着色剂常见的检测方法有紫外 - 可见分光光度法、液相色谱法等。液相色谱法具有专属性强、灵敏度高、操作自动化等特点，适合合成着色剂的检测。

本文采用液相色谱法测定茶叶中合成着色剂的含量，包括柠檬黄、苋菜红、胭脂红、日落黄、亮蓝等，操作性和实用性强，可供相关检测参考。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本文使用岛津 LC-16 液相色谱仪，配置信息如下：

系统控制器：CBM-20Alite

自动进样器：SIL-16

柱温箱：CTO-16L

输液泵：LC-16

脱气机：DGU-20A

检测器：SPD-16

### 1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18-AQ 250 mm  $\times$  4.6 mm I.D., 5  $\mu\text{m}$ ,

岛津（上海）实验器材有限公司，P/N: 227-30742-08

净化柱：SHIMSEN Styra PGM 150 mg/6 mL，岛津（上海）实验器材有限公司，P/N: 380-00852-02

柱温：35  $^{\circ}\text{C}$

检测波长：波长切换，起始波长为 425 nm

流动相 A：0.02 mol/L 乙酸铵溶液

B：甲醇

进样量：10  $\mu\text{L}$

流速：1 mL/min

洗脱方式：梯度洗脱，B 相起始浓度为 14%

梯度洗脱及波长切换时间程序见表 1

表 1 梯度洗脱及波长切换时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
6.50	SPD-20A(检测器 A)	Wavelength Ch1	520
13.00	SPD-20A(检测器 A)	Wavelength Ch1	483
18.50	SPD-20A(检测器 A)	Wavelength Ch1	620
26.00	泵	B.Conc	68
30.00	泵	B.Conc	86
30.50	泵	B.Conc	14
35.00	控制器	Stop	

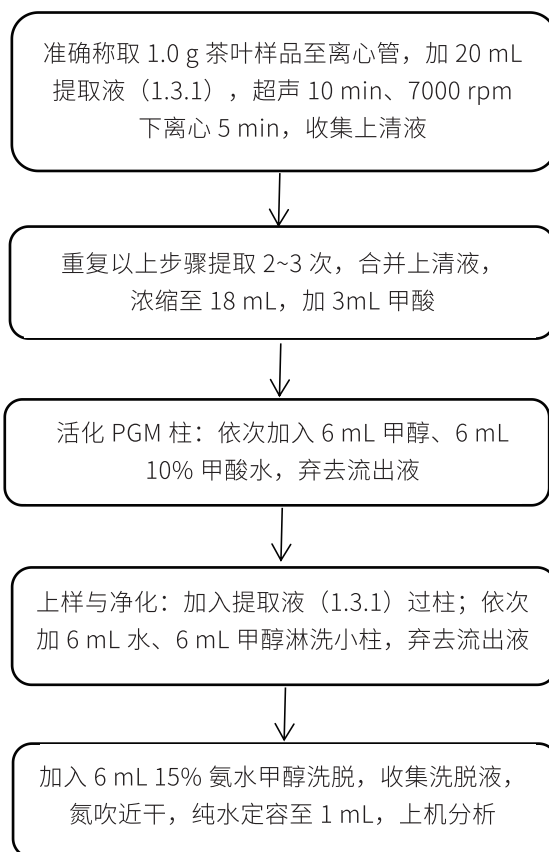
### 1.3 供试品溶液配制

#### 1.3.1 试剂

溶液 A: 乙醇 - 乙腈 (V:V=2:1); 溶液 B: 水 - 氨水 (V:V=30:1);

提取液: 溶液 A: 溶液 B=7: 3

#### 1.3.2 样品前处理



## ■ 结果与讨论

### 2.1 标准溶液色谱图

5 种合成着色剂溶液色谱图如图 1 所示，相关化合物信息见表 2。

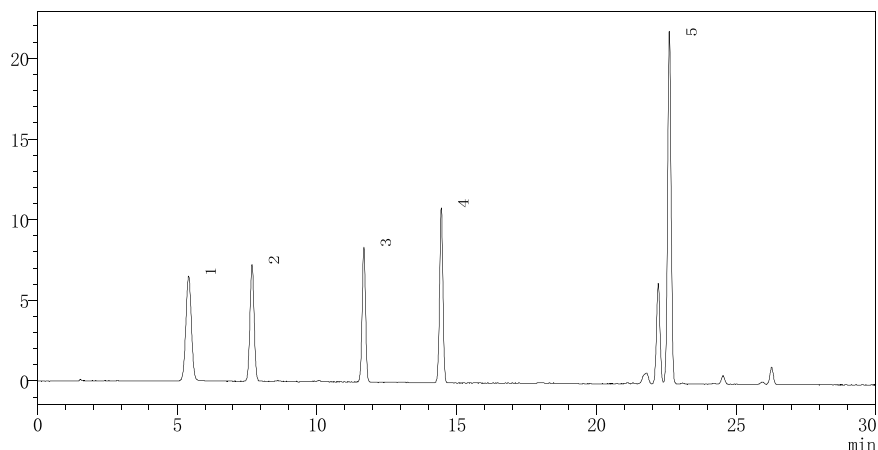


图 1 标准溶液 (5 µg/mL) 色谱图

表 2 5 种合成着色剂化合物信息

No.	化合物	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)
1	柠檬黄	Tartrazine	1934-21-0	5.347
2	苋菜红	AcidRed27	915-67-3	7.622
3	胭脂红	Carmin	15876-47-8	11.665
4	日落黄	Sunset Yellow	2783-94-0	14.437
5	亮蓝	Brilliant Blue	3844-45-9	22.613

### 2.2 校准曲线和检出限

以超纯水为溶剂，配制 0.1、0.5、1、2、5、10 µg/mL 系列浓度的标准曲线溶液。按“1.2 分析条件”进行测定，使用外标法定量。以峰面积为纵坐标，对应的标准工作溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线，如图 2 所示。校准曲线线性关系良好，相关系数大于 0.9999。根据 0.1 µg/mL 标准溶液信噪比计算仪器检出限，具体线性相关系数及仪器检出限如表 3 所示。

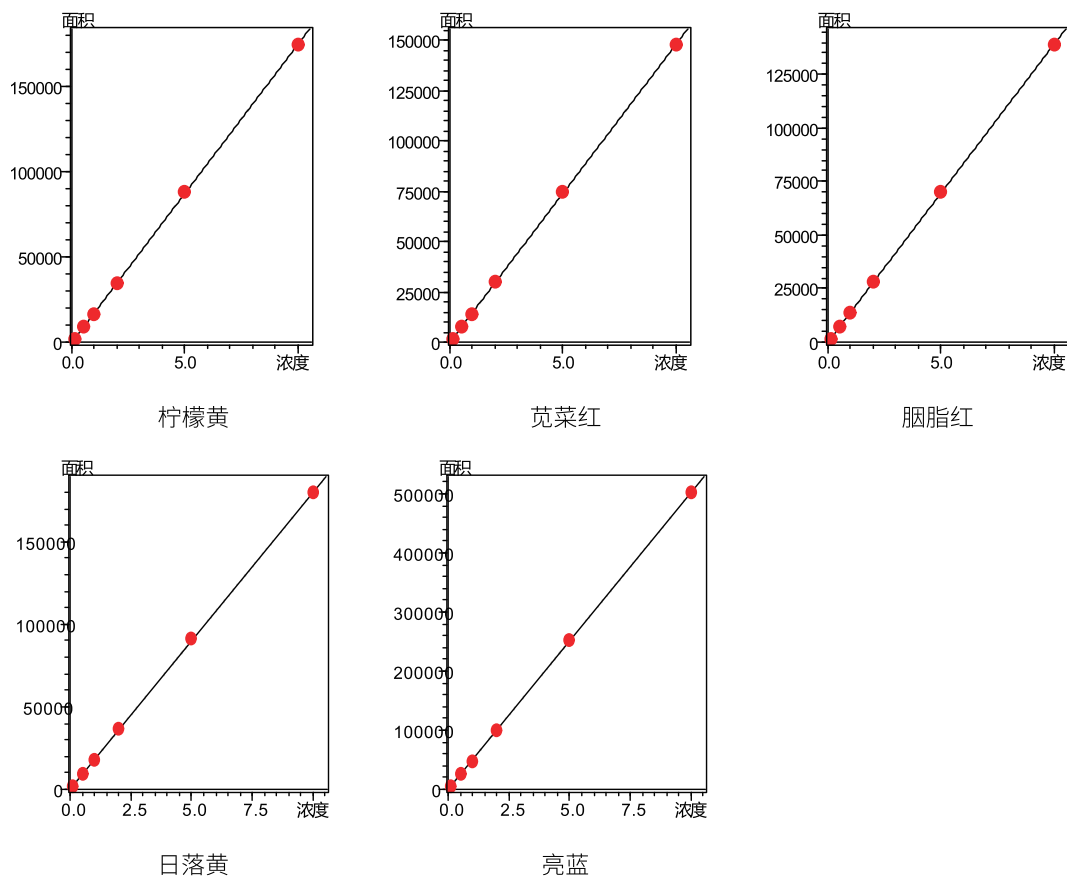


图 2 标准曲线

表 3 线性相关系数 (r) 和仪器检出限

No.	化合物	线性方程	相关系数 (r)	检出限 (μg/mL)
1	柠檬黄	$Y=17517.5X-198.049$	$R=0.9999$	0.045
2	苋菜红	$Y=14821.5X-57.7913$	$R=0.9999$	0.038
3	胭脂红	$Y=12913.4X+62.2687$	$R=0.9999$	0.027
4	日落黄	$Y=18016.0X+107.628$	$R=0.9999$	0.024
5	亮蓝	$Y=50341.8X-395.943$	$R=0.9999$	0.012

### 2.3 精密度

采用 0.5 μg/mL 标准工作溶液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：目标物保留时间和峰面积的相对标准偏差均小于 2%，显示仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No.	目标物名称	保留时间 (RSD%)	峰面积 (RSD%)
1	柠檬黄	0.23	1.18
2	苋菜红	0.18	0.79
3	胭脂红	0.11	0.87
4	日落黄	0.10	0.74
5	亮蓝	0.05	0.40

## 2.4 加标回收率

分析某茶叶样品，得到色谱图如图 3 所示。对实际样品加标，加标浓度分别为 0.5、2、5  $\mu\text{g/g}$ 。实际样品中合成着色剂浓度及加标回收率见表 5。

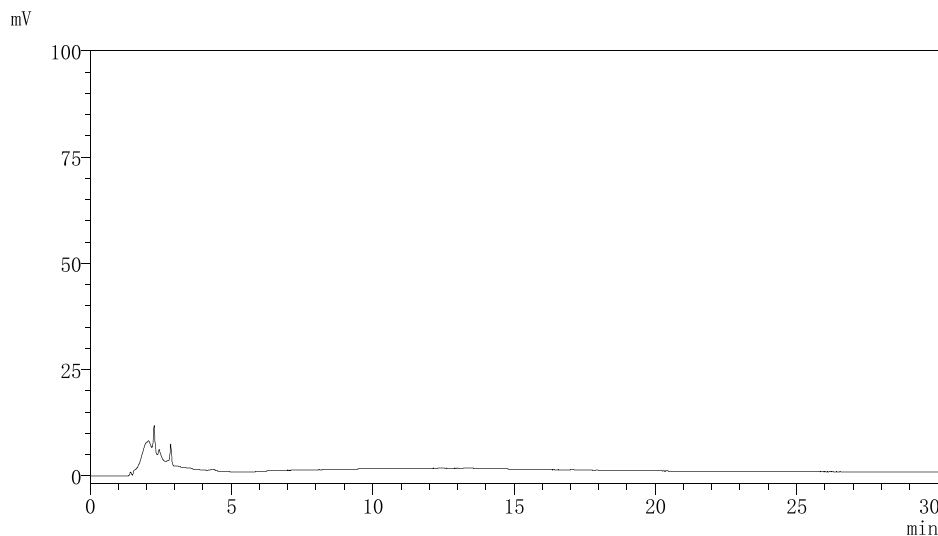


图 3 茶叶样品色谱图

表 5 样品分析和重复性实验结果 (n=6)

No.	目标物名称	样品浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	添加浓度 ( $\mu\text{g/g}$ )	回收率 (%)	添加浓度 ( $\mu\text{g/g}$ )	回收率 (%)	添加浓度 ( $\mu\text{g/g}$ )	回收率 (%)
1	柠檬黄	N.D.	0.5	82.20	2	83.88	5	81.65
2	苋菜红	N.D.	0.5	104.50	2	81.88	5	82.12
3	胭脂红	N.D.	0.5	92.00	2	86.23	5	84.71
4	日落黄	N.D.	0.5	88.50	2	84.93	5	80.86
5	亮蓝	N.D.	0.5	97.90	2	90.65	5	80.59

备注：N.D. 表示未检出

## 结论

本文建立了茶叶中 5 种合成着色剂含量测定的方法，分析结果表明：在 0.1-10  $\mu\text{g/mL}$  浓度范围内，各化合物线性相关系数均在 0.9999 以上，线性良好。0.5  $\mu\text{g/mL}$  标准溶液重复分析 6 次，保留时间和峰面积相对标准偏差均小于 2%，重复性良好。对实际样品进行测试，各合成着色剂均未检出，对样品进行不同浓度加标，加标浓度分别为 0.5、2、50  $\mu\text{g/g}$ ，加标回收率为 80%~105%。该方法灵敏度高、重复性好，可用于茶叶中 5 种合成着色剂含量的检测。

岛津应用云

