

全自动固相萃取—高效液相色谱法测定 现制饮料中 7 种合成着色剂

Determination of 7 synthetic colorants in freshly prepared beverages by
high performance liquid chromatography dual wavelength
method with automatic solid phase extraction

姚誉阳¹ 徐 曼² 潘春燕¹ 缪 雄^{3,4} 薛 强¹

YAO Yuyang¹ XU Man² PAN Chunyan¹ MIAO Xiong^{3,4} XUE Qiang¹

- (1. 无锡市疾病预防控制中心〔南京医科大学附属无锡疾病预防控制中心〕, 江苏 无锡 214023;
2. 新疆克拉玛依市疾病预防控制中心, 新疆 克拉玛依 834000; 3. 无锡市食品安全检验检测中心,
江苏 无锡 214142; 4. 国家市场监管技术创新中心〔特殊食品〕, 江苏 无锡 214142)
(1. The Affiliated Wuxi Center for Disease Control and Prevention of Nanjing Medical University,
Wuxi Center for Disease Control and Prevention, Wuxi, Jiangsu 214023, China;
2. Karamay City Center for Disease Control and Prevention, Karamay, Xinjiang 834000, China;
3. Wuxi Food Safety Inspection and Test Center, Wuxi, Jiangsu 214142, China; 4. Technology
Innovation Center of Special Food for State Market Regulation, Wuxi, Jiangsu 214142, China)

摘要:目的: 建立一种全自动固相萃取—高效液相色谱双波长法测定现制饮料中 7 种合成着色剂的方法。方法: 样品经纯水提取 2 次, 离心后, 合并上清液, 调节 pH 至 3~4。利用全自动固相萃取装置活化 Poly-sery 色素专用固相萃取小柱, 并上样、淋洗、洗脱。洗脱液氮吹浓缩至 200 μ L, 用 50% 流动相 A+50% 流动相 B 混合液定容至 1.0 mL。色谱柱采用 C₁₈ 柱, 流动相为 20 mmol/L 乙酸铵—甲醇, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL/min, 进样量 10 μ L, 检测波长 254, 628 nm。结果: 各物质在 0.5~50.0 μ g/mL 范围内相关系数均大于 0.999 9, 方法检出限为 0.023~0.179 mg/kg, 定量限为 0.078~0.598 mg/kg, 加标回收率为 92.4%~96.8%, 相对标准偏差 (RSD) 为 1.2%~4.2%。结论: 该方法试剂使用量小, 操作步骤简便, 自动化程度高, 回收率高, 重复性好, 适合于批量样品测定。

关键词: 全自动固相萃取; 高效液相色谱法; 现制饮料; 合成着色剂

Abstract: Objective: A method for the determination of 7 synthetic colorants in freshly prepared beverages by high performance liquid chromatography dual (HPLC) wavelength method with automatic solid phase extraction was established.

Methods: Extraction conditions: The sample was extracted 2 times with pure water, and then the supernatant combined after centrifugation. The pH of the supernatant was adjusted to 3~4. After activation by an automatic solid-phase extraction device, loading, rinsing, and elution of the sample were carried out on the Poly-sery synthetic colorant solid-phase extraction column. The eluent was concentrated to 200 μ L by nitrogen blowing, and then fixed to 1.0 mL with 50% mobile phase A+50% mobile phase B. Instrument conditions: The column was C₁₈ column. The mobile phase was 20 mmol/L ammonium acetate-methanol, gradient elution. The flow rate was 1.0 mL/min. The injection volume was 10 μ L. The detection wavelength were 254 nm and 628 nm. **Results:** The correlation coefficient of each substance in the range of 0.5~50 μ g/mL was greater than 0.999 9, the detection limit of the method was 0.023~0.179 mg/kg, the quantitative limit was 0.078~0.598 mg/kg, the standard recovery was 92.4%~96.8%, and the relative standard deviation (RSD) was 1.2%~4.2%. **Conclusion:** This method has low

基金项目: 无锡市卫生健康委重点学科项目 (编号: LCZX2021006); 新疆维吾尔自治区卫生健康青科项目 (编号: WJWY-202307)

作者简介: 姚誉阳, 男, 无锡市疾病预防控制中心实验师, 硕士。

通信作者: 缪雄 (1990—), 男, 无锡市食品安全检验检测中心检测工程师, 学士。E-mail: 751132516@qq.com

薛强 (1975—), 男, 无锡市疾病预防控制中心高级实验师, 学士。E-mail: 1477151962@qq.com

收稿日期: 2023-06-25 **改回日期:** 2023-11-23

consumption of toxic reagents, simple operation steps, high degree of automation, good recovery and repeatability, and it is suitable for the determination of large quantities of samples.

Keywords: automatic solid phase extraction; high performance liquid chromatography (HPLC); freshly prepared beverages; synthetic colorant

合成着色剂是一类人工合成色素,具有色泽鲜亮、着色力好、价格便宜、化学性质稳定等显著优势,在食品加工过程中被广泛使用,达到改善食品颜色的目的^[1-3]。合成着色剂主要是由苯和甲苯为原料合成,对人体存在潜在危害,长期过量摄入,可能会导致生育力降低,幼儿行为过激乃至智力发育异常等^[4-7]。虽然中国对合成着色剂使用有严格的限量规定,但是在实际生产过程中,往往存在一定的使用主观性,如鲜榨果蔬汁、奶茶、奶昔和咖啡等现场制作饮料,易造成合成着色剂过量使用的情况^[8-10]。

目前,中国针对食品中常用合成着色剂的测定标准有 GB 5009.141—2016、GB 5009.35—2016、SN/T 1743—2006 等,这些标准采用聚酰胺吸附法或液—液分配法提取,并不具备良好的普适性。其中,赤藓红仅能采用液—液分配法提取。同时,上述标准中的测定方法氨水等有

机溶剂使用量大;还需采用抽滤、液—液萃取、水浴蒸发等操作,前处理繁琐,难以应用于批量样品操作。针对以上问题,研究拟采用新型固相萃取柱同时提取现制饮料中 7 种合成着色剂,同时结合全自动固相萃取仪,优化样品前处理方法和色谱分析条件,以期提高检验检测效率,支撑现制饮料中合成着色剂的快速检测。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

7 种合成着色剂标准物质(信息见表 1):中国计量科学研究院;

乙酸铵、甲酸:色谱级,上海麦克林生化科技股份有限公司;

乙腈、甲醇:色谱纯,赛默飞世尔科技有限公司;

柠檬酸、氨水:分析纯,南京化学试剂股份有限公司;

食品中合成着色剂专用 SPE 小柱 CNW Poly-sery (500 mg/6 mL);上海安谱实验科技有限公司;

Eclipse XDB-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm×5 μm);美国安捷伦公司;

试验用水:自制超纯水,电阻率 18.2 MΩ·cm;

现制饮料样品:市售。

表 1 7 种合成着色剂信息

Table 1 Information on 7 synthetic colorants

着色剂	化学式	CAS 号	标准物质编号	质量浓度/(μg·mL ⁻¹)
柠檬黄	C ₁₆ H ₉ N ₄ O ₉ S ₂ Na ₃	1934-21-0	GBW(E)100158	1 000
苋菜红	C ₂₀ H ₁₁ N ₂ Na ₃ O ₁₀ S ₃	915-67-3	GBW(E)100160	1 000
胭脂红	C ₂₀ H ₁₁ O ₁₀ N ₂ S ₃ Na ₃	1390-65-4	GBW(E)100161	1 000
日落黄	C ₁₆ H ₁₀ N ₂ Na ₂ O ₇ S ₂	2783-94-0	GBW(E)100159	1 000
亮蓝	C ₃₇ H ₃₄ N ₂ Na ₂ O ₉ S ₃	3844-45-9	GBW(E)100162	1 000
赤藓红	C ₂₀ H ₆ I ₄ Na ₂ O ₅	16423-68-0	GBW(E)100163	1 000
新红	C ₁₈ H ₁₆ N ₃ NaO ₁₁ S ₃	220658-76-4	BW 0719-1	1 000

1.2 主要仪器与设备

高效液相色谱仪—二极管阵列检测器:1200 型,美国安捷伦公司;

涡旋振荡器:DMT-2500 型,常州白塔新宝仪器厂;

全自动固相萃取仪:Extrahera 型,瑞典拜态齐公司;

超纯水仪:Milli-Q 型,美国密理博公司。

1.3 标准溶液配制

移取 7 种合成着色剂标准溶液各 1 mL,置于 10 mL 容量瓶中,用纯水稀释至刻度,配制成 100 μg/mL 的混合标准储备液,置于 4 ℃ 冰箱保存(保存期为 1 个月)。将上述储备液用纯水逐级稀释成 0.5, 1.0, 5.0, 10, 20, 50 μg/mL 的系列标准工作液。

1.4 样品前处理

于 15 mL 聚丙烯离心管中称取样品约 1 g(精确至

0.001 g),加入 6 mL 纯水,涡旋 30 s,超声提取 5 min, 4 000 r/min 离心 5 min,上清液转移至另一 15 mL 离心管中。残渣再加入 6 mL 纯水,重复操作一次。合并两次上清液。用 20% 的柠檬酸水溶液调节提取液至 pH 为 3~4。

运用全自动固相萃取仪,在 0.12 MPa 下,分别用 5 mL 甲醇和 5 mL 纯水对 Poly-sery 色素专用进行活化,处理时间为 150 s,立即在 0.05 MPa 压力下,将上述全部提取液过柱,并用 5 mL 甲醇—甲酸—水混合溶液(V_{甲醇}:V_{甲酸}:V_水=4:2:4)清洗小柱并干燥。在 0.08 MPa 下用 3 mL 10% 氨水甲醇溶液洗脱两次。收集洗脱液于 15 mL 离心管中,50 ℃ 水浴下氮吹浓缩至 200 μL 左右,用 50% 的流动相 A+50% 的流动相 B 定容至 1.0 mL,涡旋混匀。过 0.45 μm 亲水 PTFE 针式过滤

器,滤液置于进样小瓶中,待测。

1.5 色谱条件

色谱柱: C_{18} 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm $\times$ 5 μ m); 流动相: 20 mmol/L 乙酸铵—甲醇; 洗脱方式: 梯度洗脱; 柱温: 35 $^{\circ}$ C; 流速: 1 mL/min; 进样量: 10 μ L; 检测器: 二极管阵列; 波长: 254, 628 nm。梯度洗脱程序见表 2, 其中 A 相为甲醇, B 相为 20 mmol/L 乙酸铵溶液。

表 2 梯度洗脱程序

时间/min	A 相/%	B 相/%
0	5	95
3.0	15	85
7.0	100	0
10.0	100	0
10.1	5	95
18.0	5	95

1.6 数据处理

采用仪器工作站进行标准曲线拟合及含量计算, Excel 2016 进行数据统计, Origin 8.1 绘制图谱。

2 结果与讨论

2.1 前处理条件优化

为探究最佳萃取条件, 采用单因素法对前处理过程中的影响参数进行优化。取不含 7 种合成着色剂的现制饮料样品(柠檬汁)进行 5 mg/kg 加标, 所有试验在此加标水平下完成, 每个试验平行 3 次。

2.1.1 提取方式优化 已报道的食品中合成着色剂的提取溶剂有氨水—甲醇^[1]、乙醇—氨水—水^[11-13]、三正辛胺—正丁醇^[11]、甲醇—水^[14]、纯水^[15]等。研究的基质为现制饮料, 合成着色剂在制作过程中绝大部分已溶于水。因此, 优先采用纯水提取。当取样量为 1 g 时, 采用 6 mL 以上水提取, 提取效率已无明显变化。如果部分饮料含有果蔬纤维、蛋白质、脂肪等, 一次提取无法完全, 这可能是由于离心后残渣较多, 部分合成着色剂吸附在残渣上。进一步二次提取后, 各合成着色剂回收率均达到 90% 以上, 采用 3 次提取, 回收率无明显变化。试验表明, 现制饮料, 经过纯水提取两次后, 7 种合成着色剂均取得满意的提取效果, 无须使用任何有机溶剂。故采用 6 mL 纯水提取两次, 每次超声 5 min, 4 000 r/min 离心 5 min, 合并两次上清液待净化。

2.1.2 提取液 pH 值优化 现制饮料的 pH 值大多为 5 与 7, 用 20% 的柠檬酸水溶液或氨水(1+1)调节 pH 值为 2~6, 考察了 pH 值对回收率的影响, 结果如图 1 所示。

由图 1 可知, pH 值在 3~4 时, 7 种物质的回收率均达到最大, 可能是由于合成着色剂在此 pH 值范围内以单

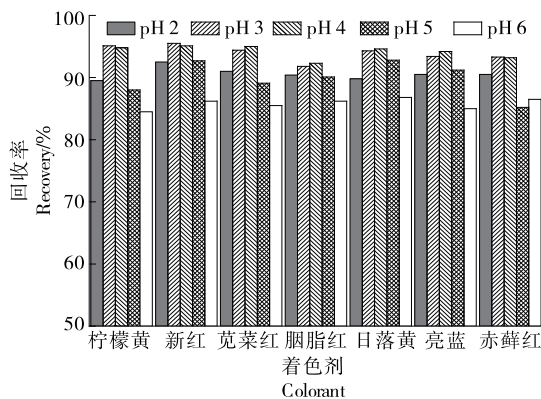


图 1 提取液 pH 对回收率的影响

Figure 1 Effect of pH of extract on recovery ($n=3$)

分子的形式存在, 保持良好的稳定性, 提取过程中损失较小。故后续试验调节提取液 pH 值为 3~4。

2.1.3 淋洗液优化 采用 1.4 中甲醇—甲酸—水混合溶液淋洗, 赤藓红回收率仅为 (79.8 $\pm$ 3.85)% , 其余 6 种物质回收率均在 90% 以上, 推测可能是除赤藓红外, 6 种合成着色剂均含有较多的磺酸钠基团, 在酸性条件下生成磺酸根, 与 SPE 填料结合很紧密, 甲醇/甲酸/水溶液并不能使其分离, 故淋洗液可以洗去一些杂质; 而赤藓红在酸性条件下生成酚羟基, 与填料相互作用不强, 在甲醇等有机溶剂的淋洗下, 容易溶解在甲醇中随淋洗液流出, 故赤藓红回收率低。尝试仅用纯水淋洗, 有效降低淋洗液的洗脱强度, 赤藓红的回收率提高至 (93.4 $\pm$ 0.60)% , 提取效果满意。因此, 当样品中存在赤藓红时, 可用纯水淋洗。

2.1.4 洗脱液优化 欲将合成着色剂从固相萃取小柱中洗脱出来, 需调节体系为碱性, 常用的洗脱液为氨水甲醇溶液。考察了氨水比例对回收率的影响, 结果如图 2 所示。

由图 2 可知, 当氨水比例为 10% 时, 各物质的回收率达到最大, 继续提高氨水比例, 各物质回收率基本不变,

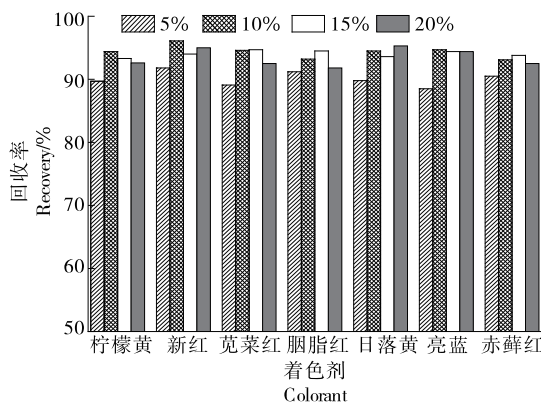


图 2 氨水比例对回收率的影响

Figure 2 Effect of ammonia ratio on recovery ($n=3$)

推测可能是 10% 的氨水甲醇作为洗脱液,使合成着色剂分子与填料作用力减弱从而被有机溶剂洗脱。同时,相对于更高比例的氨水,有效减少了氮吹浓缩时间。故选择 10% 的氨水甲醇作为洗脱液,用量为 3 mL 洗脱 2 次。

2.1.5 复溶剂优化 尝试采用纯水作为复溶剂,观察到管壁上有很多红色物质残留,反复涡旋后仍难以溶解,上机测定,发现赤藓红回收率低于 20%,其他 6 种合成着色剂回收率超过 90%,推测是赤藓红水溶性差所致。加入一定比例甲醇后,有望明显提升赤藓红回收率。研究表

明,用甲醇—水($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}=1:1$)或甲醇—20 mmol/L 乙酸铵($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{乙酸铵}}=1:1$)溶解,赤藓红回收率在 90% 以上。因流动相也为甲醇—20 mmol/L 乙酸铵溶液,为减小溶剂效应,复溶剂也采用甲醇—20 mmol/L 乙酸铵($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{乙酸铵}}=1:1$)。

2.1.6 滤膜选择 研究过程中发现,部分滤膜对合成着色剂有吸附作用。为评估滤膜的适用情况,采用 20 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准溶液直接过滤膜测定,共考察了 7 种常见的滤膜,结果如表 3 所示。

表 3 不同滤膜对合成着色剂的吸附作用

Table 3 Adsorption of synthetic colorants by different membranes

滤膜类型	回收率/%						
	柠檬黄	新红	苋菜红	胭脂红	日落黄	亮蓝	赤藓红
聚醚砜(PES)	96	96	97	95	94	88	71
混合纤维素酯(MCE)	95	97	96	94	94	98	91
尼龙(Nylon)	38	35	39	78	82	75	40
疏水性聚四氟乙烯(PTFE)	98	96	99	96	100	95	92
亲水性聚四氟乙烯(PTFE)	97	98	98	99	97	96	98
聚偏氟乙烯(PVDF)	100	96	95	97	96	94	93
聚丙烯(PP)	98	95	95	94	100	96	91

由表 3 可知,尼龙滤膜对各物质均有吸附作用,可能是因为尼龙滤膜由聚酰胺制成,与各种合成着色剂作用明显,应避免使用。此外,除亲水性 PTFE 滤膜,其他类型的滤膜对赤藓红有不同程度的吸附。综合考虑,采用亲水性 PTFE 滤膜过滤。

2.2 色谱条件优化

2.2.1 流动相优化 考察了乙酸铵水溶液—甲醇体系和乙酸铵水溶液—乙腈体系对分离效果的影响,结果在两种流动相体系下,各物质均能达到良好的分离效果,且基线均平稳。考虑到甲醇毒性小且价格低廉,故采用乙酸铵水溶液—甲醇体系作为流动相。比较了乙酸铵水溶液

含量(0.5,10,20,30,40,50 mmol/L)对分离效果的影响,结果表明,不添加乙酸铵时,某些物质无法被洗脱,且峰形较差,随着乙酸铵含量的提高,待测物的峰型明显改善,峰面积随之升高,当乙酸铵含量超过 20 mmol/L 时,各物质分离效果均无明显变化,且高浓度的乙酸铵与甲醇混合后易析出,造成色谱柱损坏。故流动相采用甲醇 20 mmol/L 乙酸铵体系。

由于 7 种物质极性相差大,故采用梯度洗脱方式。其中柠檬黄与新红结构相似,较难分离,需小心调节流动相比例,最终形成 1.5 中的色谱条件。标准物质色谱图见图 3。

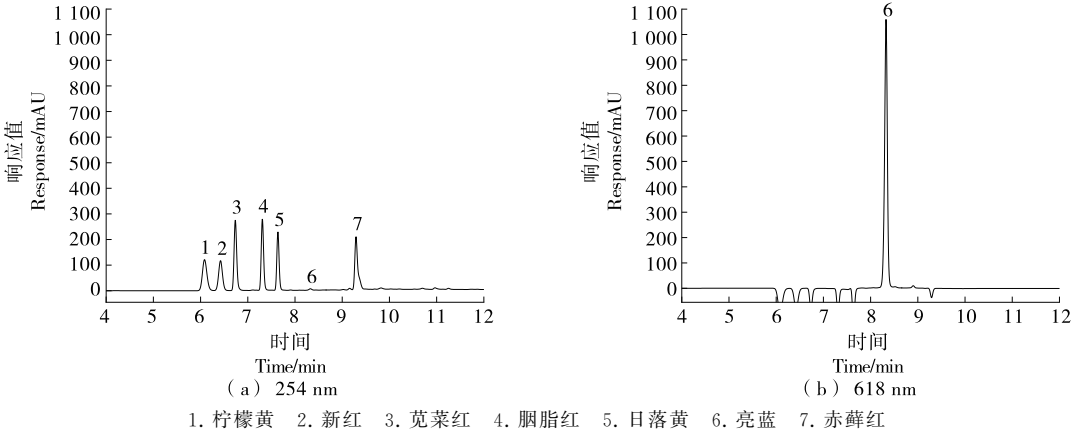


图 3 50 $\mu\text{g/mL}$ 标准物质色谱图

Figure 3 50 $\mu\text{g/mL}$ mixed standard substance chromatogram

由图 3 可知,在优化后的条件下,7 种合成着色剂在 10 min 内可完全分离,由于流动相比比例变化大,从 10 min 后恢复初始流动相比比例,维持至 18 min,各物质保留时间重复性良好。

2.2.2 波长的优化 目前国家标准和文献方法多采用 254 nm 检测,但是在试验过程中发现 254 nm 下亮蓝响应值极小[见图 3(a)],难以满足检测要求。利用二极管阵列检测器对亮蓝在 200~800 nm 进行波长扫描,紫外光谱图见图 4。

由图 4 可知,亮蓝的特征吸收波长有 307, 408, 628 nm,其中 628 nm 处响应值远大于 254 nm 处。图 3(b)为 628 nm 下标准物质色谱图,亮蓝的峰面积由 24.8 (254 nm)提升至 5 596.4(628 nm),增幅超过 220 倍,同时在 628 nm 下基线更稳定,杂质干扰更少,这可能是亮蓝在 628 nm 下发生带边跃迁导致的。故利用二极管阵列检测器同时采集 254,628 nm 处信号。

2.3 方法学考察

2.3.1 稳定性 取同一 5 mg/kg 加标样品提取液,于 0, 2,4,6,8,12,24 h 进样,计算柠檬黄、新红、苋菜红、胭脂红、日落黄、亮蓝、赤藓红峰面积的相对标准偏差(RSD),

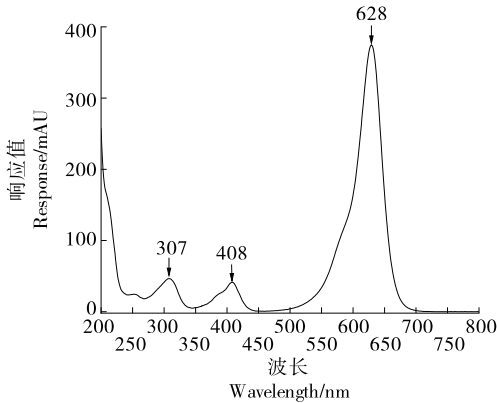


图 4 亮蓝的紫外光谱图

Figure 4 Bright blue ultraviolet spectrum

分别为 0.64%,0.85%,0.97%,0.83%,1.03%,0.41%, 0.47%。可见 7 种合成着色剂在 24 h 内非常稳定。

2.3.2 线性参数和检出限、定量限 按 1.3 的方法配制 0.5,1.0,5.0,10,20,50 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准溶液系列,按 1.5 的色谱条件进行测定,得到各物质的线性参数。

测定实际加标样品的噪音值和各物质的信号值,并结合取样量,提取分离过程,将检出限和定量限换算成样品中的质量浓度。其中检出限以 3 倍信噪比计算,定量限以 10 倍信噪比计算。如表 4 所示,7 种合成着色剂在 0.5~50.0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内相关系数均大于 0.999 9。检出限为 0.023~0.179 mg/kg,定量限为 0.078~0.598 mg/kg,均低于 GB 5009.35—2016 中检出限和定量限。

2.3.3 回收率及重复性 结合各物质的测定低限、限量指标以及实际样品中的含量,对现制饮料空白样品进行 4 个浓度的加标试验,每个浓度平行 6 次试验。如表 5 所示,7 种合成着色剂回收率为 92.4%~96.8%,相对标准偏差(RSD)为 1.2%~4.2%。该方法回收率和重复性均较好,适合于现制饮料中 7 种合成着色剂的测定。

2.4 实际样品测定

在江苏无锡校园周边的奶茶店、饮料铺等采集现制饮料 54 件,其中 29 件检出上述合成着色剂,阳性样品测定结果见表 6。由表 6 可见检出的合成着色剂有柠檬黄、新红、胭脂红和日落黄,含量为 0.33~56.93 mg/kg,均未超过 GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》所规定的限量。其中日落黄的检出率最高(50.0%),其次为胭脂红(9.3%)。从实际检测结果来看,不同产品中合成着色剂的种类和含量均存在显著差异。这可能是现制饮料中的合成着色剂引入方式不明,可能由制作者人为添加或原料引入,且制作过程中主观性强,疏于质量控制。因此,加强现制饮料的安全监管是必要的。

图 5 为阳性样品色谱图,可见该方法净化效果较好,合成着色剂色谱峰未受到杂质干扰。

表 4 线性参数和检出限、定量限

Table 4 Linear parameters, detection limits and quantitative limits

着色剂	线性范围/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回归方程	相关系数	波长/nm	检出限/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	定量限/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
柠檬黄	0.5~50.0	$Y=17.136X+0.099$	0.999 99	254	0.151	0.504
新红	0.5~50.0	$Y=14.608X-0.387$	1.000 00	254	0.177	0.593
苋菜红	0.5~50.0	$Y=24.133X+1.070$	0.999 99	254	0.107	0.359
胭脂红	0.5~50.0	$Y=21.354X-0.352$	0.999 99	254	0.122	0.407
日落黄	0.5~50.0	$Y=17.573X-1.599$	0.999 94	254	0.148	0.491
亮蓝	0.5~50.0	$Y=112.076X+9.108$	0.999 94	628	0.023	0.078
赤藓红	0.5~50.0	$Y=14.469X+1.161$	0.999 99	254	0.179	0.598

表 5 回收率及重复性结果

Table 5 Results of recovery and repeatability ($n=6$)

着色剂	加标量 0.2 mg/kg		加标量 1 mg/kg		加标量 10 mg/kg		加标量 50 mg/kg	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
柠檬黄	93.4	1.5	94.4	1.4	94.1	1.9	95.4	2.7
新红	94.9	1.8	96.6	1.6	96.8	1.4	96.6	1.4
苋菜红	93.6	1.5	94.4	2.3	94.6	2.3	96.5	1.6
胭脂红	93.8	2.4	93.5	2.4	93.3	2.6	92.4	1.6
日落黄	93.4	2.6	94.7	2.2	93.7	2.2	95.3	2.0
亮蓝	93.5	1.8	93.8	2.1	94.0	2.8	93.2	1.9
赤藓红	92.6	1.2	93.1	3.1	92.6	4.2	93.0	2.8

表 6 阳性样品测定结果[†]

Table 6 Measurement results of positive samples mg/kg

样品	柠檬黄	新红	苋菜红	胭脂红	亮蓝	日落黄	赤藓红
茶饮料 1	—	—	—	—	—	5.43	—
茶饮料 2	0.96	—	—	—	—	2.57	—
果汁饮料 1	—	—	—	—	—	2.58	—
茶饮料 3	—	—	—	—	—	4.68	—
茶饮料 4	—	—	—	—	—	17.95	—
果汁饮料 2	—	—	—	0.81	—	2.37	—
果汁饮料 3	1.54	—	—	1.20	—	5.14	—
奶茶 1	—	—	—	—	—	5.46	—
奶茶 2	—	—	—	—	—	2.07	—
果汁饮料 4	1.82	—	—	0.33	—	0.61	—
茶饮料 5	—	—	—	—	—	0.52	—
茶饮料 6	—	—	—	—	—	12.67	—
茶饮料 7	—	—	—	—	—	13.90	—
奶茶 3	—	—	—	—	—	0.97	—
奶茶 4	—	—	—	—	—	0.38	—
茶饮料 8	—	2.08	—	—	—	—	—
果汁饮料 5	—	—	—	—	—	9.07	—
茶饮料 9	—	—	—	—	—	3.77	—
茶饮料 10	—	—	—	—	—	7.26	—
茶饮料 11	—	—	—	—	—	19.12	—
茶饮料 12	—	—	—	—	—	20.39	—
奶茶 5	—	—	—	—	—	1.21	—
果汁饮料 6	—	—	—	4.37	—	0.75	—
茶饮料 13	—	—	—	—	—	56.93	—
茶饮料 14	—	—	—	—	—	25.15	—
茶饮料 15	—	—	—	—	—	22.91	—
果汁饮料 7	—	—	—	2.29	—	—	—
茶饮料 16	—	—	—	—	—	3.30	—
茶饮料 17	—	—	—	—	—	2.60	—

[†] —代表小于方法检出限。

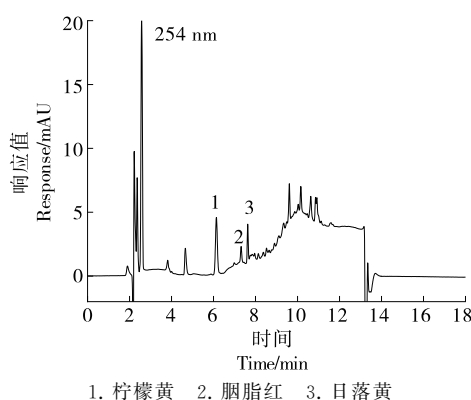


图 5 阳性样品色谱图

Figure 5 Chromatogram of positive sample

3 结论

研究建立了全自动固相萃取结合高效液相色谱双波长法测定现制饮料中 7 种常见合成着色剂的分析方法。该方法结合自动固相萃取仪,优化样品前处理方法,操作简单快速,可实现批量化检测,显著提高检验检测效率;进一步采用双波长法,显著提高了亮蓝的检测灵敏度和抗干扰性,应用于实际样品的测定中,回收率和重复性结果均达到满意。在江苏无锡校园周边采集的 54 份现制饮料中,有 29 件检出上述合成着色剂,不同样品中合成着色剂的种类和含量均存在显著差异,可能是现制饮料中合成着色剂的引入方式不明,且制作过程主观性强。因此,加强现制饮料的安全监管是非常必要的。

参考文献

- [1] 许彬, 林金海, 张少虹, 等. 固相萃取—高效液相色谱法测定蜜饯中 7 种合成着色剂的含量[J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(3): 70-75.
XU B, LIN J H, ZHANG S H, et al. Determination of seven synthetic colorants in preserved fruit by solid phase extraction-high performance liquid chromatography[J]. China Food Additives, 2021, 32(3): 70-75.
- [2] 初红涛, 于淼, 陈嘉琪, 等. 循环伏安法快速测定饮料及果冻中柠檬黄和日落黄[J]. 食品与机械, 2020, 36(5): 80-83.
CHU H T, YU M, CHEN J Q, et al. A quick determination of the content of tartrazine and sunset yellow FCF in beverages and jelly by cyclic voltammetry[J]. Food & Machinery, 2020, 36(5): 80-83.
- [3] 岳超, 王峰, 刘柱. 酶解样品—高效液相色谱法测定糯米类制品中 10 种合成着色剂的含量[J]. 理化检验: 化学分册, 2022, 58(3): 264-269.
YUE C, WANG F, LIU Z. Determination of 10 synthetic colorants in glutinous rice products by high performance liquid chromatography after sample enzymolysis[J]. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis, 2022, 58(3): 264-269.
- [4] 孔兰芬, 高敏. 饮料中合成着色剂测定方法研究进展[J]. 化学

分析计量, 2022, 31(9): 94-99.

- KONG L F, GAO M. Research progress on determination methods of synthetic colorants in beverages [J]. Chemical Analysis and Meterage, 2022, 31(9): 94-99.
- [5] 梁剑锋, 李亚, 柯立坚, 等. 液液萃取—高效液相色谱法测定奶茶中六种合成着色剂含量[J]. 中国食品添加剂, 2022, 32(9): 190-195.
LIANG J F, LI Y, KE L J, et al. Determination of six synthetic pigments in milk tea by liquid-liquid extraction and high performance liquid chromatography[J]. China Food Additives, 2022, 32(9): 190-195.
- [6] 谢赛. 超高效液相色谱法快速测定饮料中赤藓红含量[J]. 食品与机械, 2022, 38(4): 85-88.
XIE S. Rapid determination of erythrosine in beverages by UPLC [J]. Food & Machinery, 2022, 38(4): 85-88.
- [7] 邱万山. 高效液相色谱内标法测定葡萄酒中的人工合成色素[J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(1): 102-106.
DI W S. Determination of synthetic pigments in wine by HPLC internal standard method[J]. China Food Additives, 2021, 32(1): 102-106.
- [8] 王磊, 杨大进, 于京平, 等. 我国现制饮料微生物污染状况研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2022, 34(5): 1 100-1 103.
WANG L, YANG D J, YU J P, et al. Research progress on the microbiological contamination of prepared beverage in China[J]. China Journal of Food Hygiene, 2022, 34(5): 1 100-1 103.
- [9] 王寅, 张坤, 文秋, 等. 泸州市 2018 年市售自制饮料中食品添加剂使用情况调查[J]. 食品与发酵科技, 2019, 55(3): 92-94.
WANG Y, ZHANG K, WEN Q, et al. Investigation of the food additives used in homemade beverages sold in Luzhou City in 2018 [J]. Food and Fermentation Sciences & Technology, 2019, 55(3): 92-94.
- [10] 向往. 重庆市开州区自制饮料的卫生状况调查分析[J]. 预防医学情报杂志, 2018, 34(3): 327-330.
XIANG W. Sanitation condition of self-made drinks in Kaizhou District in Chongqing [J]. Journal of Preventive Medical Intelligence, 2018, 34(3): 327-330.
- [11] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中诱惑红的测定: GB 5009.141—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National food safety standard for determination of allure red in foods: GB 5009.141—2016 [S]. Beijing: China Standards Press, 2016.
- [12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中合成着色剂的测定: GB 5009.35—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National food safety standard for determination of synthetic colorants in foods: GB 5009.35—2016 [S]. Beijing: China Standards Press, 2016.

(下转第 94 页)

- 2020, 68(50): 15 015-15 026.
- [15] PAN Q M, LI Y H, HUA J, et al. Antiviral matrine-type alkaloids from the rhizomes of *sophora tonkinensis*[J]. *Journal of Natural Products*, 2015, 78(7): 1 683-1 688.
- [16] 郭秋平, 金若敏. 苦参碱和氧化苦参碱致小鼠肝毒性比较[J]. *中国药理学与毒理学志*, 2016, 30(7): 736-740.
- GUO Q P, JIN R M. Comparison of liver toxicity of matrine and oxymatrine in mice[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2016, 30(7): 736-740.
- [17] 赵岩, 杨丹, 邸子真, 等. LC-MS/MS 法测定苦参提取物中苦参碱和氧化苦参碱的质量浓度[J]. *现代生物医学进展*, 2021, 21(14): 2 792-2 796.
- ZHAO Y, YANG D, DI Z Z, et al. LC-MS/MS determination of the concentration for matrine and oxymatrine in *sophora flavescens* extract[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2021, 21(14): 2 792-2 796.
- [18] 孙扬, 徐应明, 秦冬梅, 等. 苦参碱在黄瓜和土壤中的检测方法及其残留动态研究[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(4): 686-691.
- SUN Y, XU Y M, QIN D M, et al. Residue detection and degradation of matrine in cucumber and soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(4): 686-691.
- [19] 门磊, 张梦莹, 胡文忠. 高效液相色谱法同时测定复方木鸡颗粒中金雀花碱、苦参碱、槐果碱和槲皮苷的含量[J]. *沈阳药科大学学报*, 2020, 37(2): 131-135.
- MEN L, ZHANG M Y, HU W Z. Simultaneous determination of cytosine, matrine, sophocarpine and quercitrin in Fufang Muji granules by HPLC [J]. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University*, 2020, 37(2): 131-135.
- [20] 吴惠勤, 张春华, 黄晓兰, 等. 气相色谱—串联质谱法同时检测尿液中 15 种有毒生物碱[J]. *分析测试学报*, 2013, 32(9): 1 031-1 037.
- WU H Q, ZHANG C H, HUANG X L, et al. Simultaneous determination of 15 toxic alkaloids in urine by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2013, 32(9): 1 031-1 037.
- [21] 陈红平, 刘新, 汪庆华, 等. 液相色谱—串联质谱法与气相色谱—串联质谱法测定茶叶中苦参碱残留量[J]. *分析测试学报*, 2010, 29(12): 1 162-1 167.
- CHEN H P, LIU X, WANG Q H, et al. Determination of matrine residue in tea using liquid chromatography-tandem mass spectrometry or gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2010, 29(12): 1 162-1 167.
- [22] 周鹏, 黄芊, 欧阳立群. 超高效液相色谱—串联质谱法测定茶叶中 9 种天然植物源农药残留量[J]. *质谱学报*, 2020, 41(5): 490-501.
- ZHOU P, HUANG Q, OUYANG L Q. Determination of nine botanical pesticide residues in tea by UHPLC-MS/MS[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2020, 41(5): 490-501.
- [23] 荆辉华, 向俊, 蒋登辉, 等. 蜂蜜中苦参碱与氧化苦参碱的快速检测[J]. *食品与机械*, 2022, 38(7): 57-63.
- JING H H, XIANG J, JIANG D H, et al. Rapid determination of matrine and oxymatrine in honey[J]. *Food & Machinery*, 2022, 38(7): 57-63.
- [24] 李丽. 液相色谱串联质谱仪测定有机茶叶中的苦参碱与氧化苦参碱[J]. *化工设计通讯*, 2022, 48(1): 96-99.
- LI L. Determination of matrine and oxymatrine in organic tea by liquid chromatography coupled with mass spectrometer [J]. *Chemical Engineering Design Communications*, 2022, 48(1): 96-99.
- [25] 沈沛霖, 钱圆, 卫严冰, 等. 超高效液相色谱—串联质谱法分析柑橘及土壤中苦参碱残留[J]. *浙江农业科学*, 2018, 59(3): 501-503.
- SHEN P L, QIAN Y, WEI Y B, et al. Determination of matrine residues in citrus and soil by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Zhejiang Agricultural Science*, 2018, 59(3): 501-503.
- [26] 刘颖, 石璐, 魏永辉, 等. 超高效液相色谱—串联质谱法测定蔬菜水果中苦参碱残留量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(9): 2 871-2 878.
- LIU Y, SHI L, WEI Y H, et al. Determination of matrine residues in vegetables and fruits by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2022, 13(9): 2 871-2 878.

(上接第 88 页)

- [13] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 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: SN/T 1743—2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- State Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Determination of allure red AC, carmosine, brilliant blue FCF, sunset yellow FCF in food: High performance liquid chromatographic method: SN/T 1743—2006[S]. Beijing: China Standards Press, 2006.

- [14] 陈洁. 高效液相色谱法测定市售自制饮料中多种色素、防腐剂及甜味剂[J]. *中国食品添加剂*, 2021, 32(1): 92-95.
- CHEN J. Simultaneous determination of various pigments, preservatives and sweeteners in vendor-made beverages by HPLC [J]. *China Food Additives*, 2021, 32(1): 92-95.
- [15] 吕小丽, 朱春燕, 陈林, 等. HPLC 法测定果汁和葡萄酒中的三种红色合成着色剂[J]. *食品工业*, 2020, 41(6): 299-302.
- LU X L, ZHU C Y, CHEN L, et al. Determination of three red synthetic pigments in juice and wine by HPLC[J]. *Food Industry*, 2020, 41(6): 299-302.