

改进的高效液相色谱梯度洗脱测定

食品中碱性橙含量

夏立娅¹, 匡林鹤², 吴广臣¹

(1. 河北大学质量技术监督学院, 河北保定 071002; 2. 河北省产品质量监督检验院, 河北石家庄 050051)

摘要: 改进了食品中碱性橙检测的高效液相色谱分析方法。采用甲醇提取, Cleanert Alumina N 固相萃取柱净化黄鱼和豆制品中的碱性橙, 以 XDB-C₁₈ (5 μm, 150 mm × 4.6 mm) 色谱柱进行分离, 检测波长为 452 nm, 以甲醇-0.02 mol/L 乙酸铵溶液为流动相梯度洗脱。碱性橙的检测线性范围为 0.006~100 μg/mL, 最低检出浓度为 0.005 mg/L, RSD 为 3.06%, 加标回收率为 90.2%~97.5%。

关键词: 碱性橙, 反相高效液相色谱, 梯度洗脱, 食品

Determination of basic orange2 in foodstuffs by improved high performance liquid chromatography

XIA Li-ya¹, KUANG Lin-he², WU Guang-chen¹

(1. Supervision Institution of Quality & Technology, Hebei University, Baoding 071002, China;

2. Hebei Province Institution of Supervision and Inspection Product Quality, Shijiazhuang 050051, China)

Abstract: The analytical method of basic orange2 in foodstuffs by reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) was improved. Basic orange2 was extracted by methanol from yellow-fin tuna and bean-product, then purified by Cleanert Alumina N SPE. Separation and quantification was achieved by using a XDB-C₁₈ (5 μm, 150 mm × 4.6 mm) column. And a binary mobile phase of methanol and 0.02 mol/L ammoniumv was used with the following gradient elution. A photo-diode array detector was used to detect the compositions with 452 nm as the detection wavelength. The linear range of the proposed method was 0.006~100 μg/mL, and the detection limit was 0.005 mg/L, and RSD was 3.06%, and the recoveries were 90.2%~97.5%.

Key words: basic orange2; reversed phase high performance liquid chromatography; gradient elution; foodstuffs

中图分类号: TS207.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2009)01-0304-03

碱性橙是一种偶氮类碱性染料, 俗名“王金黄”, 化学名为 2,4-二氨基偶氮苯, 分子式为 C₁₂H₁₂N₄·HCl, 染料索引号为 C.I. Basic Orange2 (11270), 主要用于纺织品、皮革制品及木制品的染色。根据美国卫生研究所 (NIH) 化学品健康与安全数据库资料表明: 摄取、吸入以及皮肤接触该物质均会造成急性和慢性的中毒伤害^[1], 有确凿的动物实验数据表明, 该物质为致癌物^[2]。根据《中华人民共和国食品添加剂使用卫生标准》(GB2760) 及《中华人民共和国食品卫生法》的相关规定, 其为禁止用作食品添加剂的化学制品。由于碱性橙比其它水溶性染料如柠檬黄、日落黄等更易于在鲜海鱼和豆制品上染色且不易褪色, 因此一些不法商贩用碱性橙对黄鱼、豆皮、

腐竹等豆制品进行染色, 极大危害了消费者的身心健康。目前, 食品中碱性橙的提取及检测方法有高效液相色谱法^[2,3]和液-质联用法^[4,5]等, 但存在回收率低、检测线性范围较窄、仪器价格昂贵等问题。本文对碱性橙的检测方法进行了改进, 利用固相萃取法提取黄鱼和豆制品中碱性橙, 开发了新的梯度洗脱高效液相色谱分析法, 取得了满意的效果。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

甲醇、正己烷 色谱纯; 乙酸铵、磷酸等 优级纯; 碱性橙标准品 Sigma 公司提供; 碱性橙标准溶液 准确称取 1.000 g 碱性橙标准品, 用甲醇溶解定容到 100 mL, 配制成 1.000 mg/mL 的标准储备液, 准确移取该溶液适量, 用体积浓度为 80% 甲醇水溶液稀释为浓度合适的标准溶液。

Agilent 1100 四元梯度高效液相色谱仪 配二极管阵列检测器 (DAD)、在线脱气机及柱温箱; TU-1901 紫外可见分光光度计, CGJB 型均质机, HGC-36 氮吹仪, Cleanert Alumina N 固相萃取柱 (3 mL,

收稿日期: 2008-04-08

作者简介: 夏立娅 (1978-), 女, 讲师, 硕士, 研究方向: 食品分析与食品安全。

基金项目: “十一五”科技支撑项目 (2006BAK02A17); 河北省地方标准项目 (200585)。

200mg), SBS 5200 超声清洗器,旋涡振荡器。

1.2 色谱条件

色谱柱为 XDB-C₁₈ (5 μ m, 150mm $\times$ 4.6mm), 流速 1.0mL/min, 检测波长 452nm, 参比波长 650nm, 柱温 30 $^{\circ}$ C, 进样量 20 μ L。流动相为甲醇(A)和 0.02mol/L 乙酸铵溶液(B), 梯度洗脱: 0~8min, 50% A $\rightarrow$ 75% A。

1.3 样品处理方法

将黄鱼去骨、去内脏后, 粉碎均质, 豆制品直接破碎均质。称取 5~10g 均质后样品, 加入 10mL 甲醇, 快速分散摇匀, 超声提取 30min 后, 以 10000r/min 离心 10min, 分离上层清液。残渣用少量甲醇提取多次, 直至残渣无色。合并所有提取液, 40 $^{\circ}$ C 氮吹仪上吹干后, 加入 1mL 正己烷溶解。中性氧化铝 SPE 小柱分别用 2mL 甲醇和正己烷预洗后上样, 视样品中油类杂质的多少用 5~10mL 正己烷淋洗, 至洗脱液无色, 用 2mL 体积浓度为 80% 的甲醇淋脱, 收集淋洗液定容至 5mL, 经 0.22 μ m 滤膜过滤后, 进高效液相色谱仪进行测定。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的确定

图 1 为碱性橙溶液在 190~700nm 波长范围内的光谱吸收曲线, 可见, 碱性橙的最大吸收波长为 452nm。因此选择检测器的检测波长为 452nm, 参比波长 650nm。

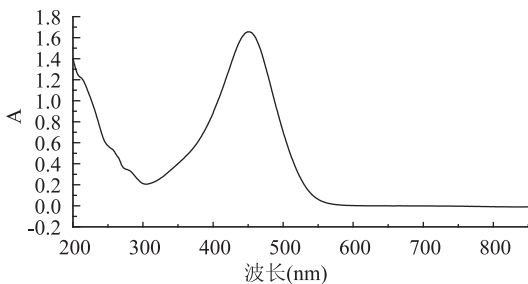


图 1 碱性橙紫外可见光区吸收曲线

2.2 流动相的确定

分别对体积分数为 0.03% 磷酸溶液—甲醇体系和 0.02mol/L 乙酸铵溶液—甲醇体系进行了实验, 结果表明, 两者的分离效果相近, 但 0.03% 磷酸溶液—甲醇体系的 pH 约为 2.0, 需要采用耐酸碱的 C₁₈ 柱, 因此选择 0.02mol/L 乙酸铵—甲醇体系作为流动相。

对于流动相中 0.02mol/L 乙酸铵和甲醇的比例进行了反复实验, 考察了流动相组成对保留时间的影响。随甲醇比例的增高, 保留时间缩短, 同时柱效提高; 但甲醇比例太高, 容量因子降低, 因此考虑采用洗脱程序。梯度变化大则使柱效提高, 但峰形的对称因子降低; 梯度变化小则使保留时间延长, 柱效降低。综合考虑后, 最佳的梯度洗脱程序为: 0~8min, 甲醇比例由 50% 增加到 75%。图 2 为标准品及样品中碱性橙色谱图。

2.3 线性关系与最低检出量

配制浓度为 0.001~100 μ g/mL 的样品溶液, 在选定色谱条件下分析检测, 测定其吸收峰面积, 并以峰面积对浓度作图。结果表明, 在浓度为 0.006 ~

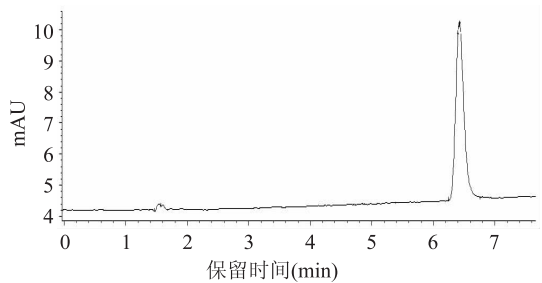


图 2 碱性橙标准样品色谱图

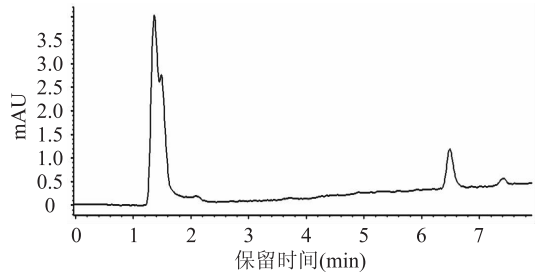


图 3 黄鱼中碱性橙加标色谱图

100 μ g/mL 范围内, 峰面积与碱性橙含量呈良好的线性关系, 线性回归方程为: $y = 88.622x + 2.3571$, 线性相关因子为 0.9999。根据 IUPAC 规定, 对空白样品进行 10 次测定, 以背景噪声标准偏差 3 倍所相当的含量值为检出限量, 得出最低检出浓度为 0.005mg/L。

2.4 精密度和加标回收率

按照相同方法对同一样品测定 6 次 (结果见表 1), 结果表明, 该方法的相对标准偏差为 3.06%。

表 1 精密度实验结果 (n=6)

实验次数	1	2	3	4	5	6
测量结果 (μ g/mL)	1.665	1.624	1.742	1.756	1.657	1.673
平均值 (μ g/mL)	1.6862					
RSD (%)	3.06					

对小黄鱼和豆制品中的碱性橙含量测定进行了加标回收率实验, 结果 (见表 2) 表明, 该方法的回收率较为满意。

表 2 加标回收率测定结果 (n=3)

样品	加标量 (μ g/mL)	测定结果 (μ g/mL)	回收率 (%)
黄鱼	1.000	0.975	97.50
	0.800	0.754	94.25
	0.700	0.670	95.23
豆皮	1.000	0.911	91.10
	0.800	0.727	90.88
	0.700	0.632	90.25

2.5 干扰性实验

实验证明, 黄鱼及豆制品的本底颜色对于碱性橙测定无干扰。对常用的合成色素日落黄和柠檬黄进行了实验, 结果表明, 日落黄和柠檬黄的存在对于碱性橙的测定无影响。

3 结论

与已报道的检测方法相比较, 本文建立的固相萃取提取方法适用于黄鱼和豆制品, 线性范围跨越 4 个数量级, 极大地扩展了检测范围。同时 SPE 方法



旋光法测定莲子淀粉含量的研究

陶锦鸿,郑铁松*

(南京师范大学食品科学与营养系,江苏南京 210097)

摘要:用酸水解-DNS法测定莲子粗淀粉及莲子粉中的淀粉含量,操作繁琐,重现性较差。利用淀粉具有旋光性的特点,用制得的莲子淀粉纯品来求其比旋光度,结果表明,1%盐酸旋光法同样适用于莲子淀粉的测定,而且方法操作简便,准确度高。

关键词:莲子,淀粉,旋光法,比旋光度

Study on measuring starch content of lotus seed with polarimetry

TAO Jin-hong, ZHENG Tie-song*

(Department of Food Science and Nutrition, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

Abstract: HCl Hydrolysis-DNS method was used to determine the starch content of lotus seed crude starches and lotus seed powder, but this method was not easy to operate and had a bad property of reappearance. The characteristic that starch was optically active was adopted to require specific rotations using purified starches made from lotus seeds, and it came to the conclusion that 1% HCl polarimetry was suitable to measure the starch content of lotus seed crude starches and lotus seed powder. This method not only operates easily but contributes to high accuracy.

Key words: lotus seed; starch; polarimetry; specific rotation

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2009)01-0306-03

莲子(*Semen nelumbinis*)是我国重要的特产优质食品资源,不仅具有很好的食用价值,还有很强的药用功能^[1]。莲子营养丰富,其中淀粉含量在45%~49%之间,是莲子最重要的品质指标。为了提高材料筛选的可比性和可靠性,确定一种快速准确、简便经济的标准方法实有必要。目前淀粉的测定方法主要有:酸解法^[2]、酶解法、碘显色法^[3,4]、HPLC^[5]和旋光法。陆国权^[6]从测定速度、可靠性、方便性和经济实用性等角度,对现有各种淀粉测定方法进行了评价和筛选,确定盐酸水解-旋光法、盐酸水解-DNS法和高氯酸-萘酚比色法为甘薯淀粉测定的适宜方法。国外的研究则认为酶解淀粉结合萘酚比色法是比较理想的方法^[7],这些方法均操作步骤繁琐、费时。旋光法所需试剂少、操作简单、经济迅速。本文参考陆

国权^[8]测定甘薯淀粉含量的方法,选用酸水解-DNS法测定莲子淀粉纯品中淀粉含量,求出各种莲子淀粉的比旋光度,并根据淀粉具有旋光的特性对1%盐酸旋光法进行了研究,来确定适于测定和评价莲子淀粉的一种新方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

江苏扬州宝应荷园的六个品种莲子 品种及编号如表1所示;DNS溶液配制^[9] 称取6.5g DNS溶于少量水中,移入1000mL容量瓶中,加入2mol/L NaOH溶液325mL,再加入45g丙三醇,摇匀,冷却后定容到1000mL。

WZZ-2型自动旋光仪 上海浦东物理光学仪器厂;HH-6数显恒温水浴锅 国华电器有限公司;PHS-3C精密pH计、722可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司;JB-2型恒温磁力搅拌器 上海雷磁新泾仪器有限公司。

收稿日期:2008-05-06 *通讯联系人

作者简介:陶锦鸿(1982-),女,硕士,主要从事食品生化与生物技术研究。

基金项目:江苏省高校自然科学基金研究项目(07KJD550115)。

的应用,提高了回收率,降低了检出限。本方法避免了使用价格昂贵的液质联用仪,具有很强的实际应用价值。

参考文献:

[1] NTP chemical repository[M]. C.I. Basic orange 2.

[2] 铁晓威,黄百芬,任一平. RP-HPLC法测定染色黄鱼中

碱性橙含量[J]. 中国卫生检验杂志,2004,14(1):59~60.

[3] 林钦. 高效液相色谱法同时测定豆制品中碱性橙和碱性嫩黄O染料[J]. 色谱,2007,25(5):776~777.

[4] 刘劭钢,梁逸曾,龚小娟. 豆制品中“黄金粉”含量的测定[J]. 分析化学,2004,32(5):697.

[5] 任一平,黄百芬,铁晓威,寿林飞. 第十五次全国色谱学术报告[R]. 郑州,2005.741.