

食品中有害成分检测方法 研究报告汇编



赠阅

轻工业部食品与发酵工业科技情报站
江西省食品发酵工业科学研究所

1976年

汇 編 說 明

防止食品污染，提高食品卫生质量，是关系人民健康、发展工农业生产以及为子孙后代造福的大事，是贯彻执行毛主席革命路线的一个重要方面，也是一个关系到外贸和援外的重要问题。

我国是无产阶级专政的社会主义国家，我们必须把防止食品污染的工作认真做好。

分析检测技术是防止食品污染必不可少的手段，它是我们发现问题，保证食品卫生质量的重要工具。随着工农业建设事业的发展 and 食品卫生要求的提高，需要检测的内容增多了，检测的级别提高了。因此，获得简易、准确、快速、适合于生产单位应用的检测方法以及高精度、高效能的检测方法，不断提高检测水平是当前重要的研究课题。

在轻工业部和江西省轻化工业局的领导下，近几年来我所加强了食品中有害成分分析检测的研究工作，开展了罐头、饮料酒、糖果等食品及饮用水中合成色素、痕量重金属、残留农药、硝酸盐类等方面的检测研究。现将部分检测方法整理如下，供参考。

目 录

一、人工合成色素的分析

- 1、食品中添加的合成焦油系色素的检测
- 2、果露酒中合成色素的分析

二、重金属的分析

- 1、无焰原子吸收分光光度法测定罐头食品中的痕量汞
- 2、有机溶剂萃取—火焰原子吸收分光光度法同时测定罐头食品中痕量金属铅、镉、铜、锌
- 3、罐头食品中痕量铅的比色测定法
- 4、罐头食品中痕量汞的比色测定法

三、有机农药的测定

- 1、气相色谱法测定水产、果蔬罐头中有机氯农药的残留量
- 2、薄层层析法测定罐头鱼、水果和蔬菜中六六六和DDT的残留量
- 3、甜菜糖中甲拌磷的测定

四、硝酸根、亚硝酸根和氨氮的测定

- 1、罐头食品中硝酸根的测定
- 2、水中硝酸根、亚硝酸根和氨氮的测定

五、其他

- 1、番茄酱的霍华特霉菌计测法
- 2、蘑菇罐头中一些小虫的检验方法

人工合成色素的检测

人工合成色素作为一种着色剂广泛添加在各种食品中,早已为各国所应用。近年来,随着食品卫生科研的进展,发现部分人工合成色素具有致癌作用及其它毒性,引起了人们的注意。目前,各国对食用色素的使用品种已作了严格的规定。我国于1960年规定了食品中只准添加五种合成色素,其后又停止了一种,即目前准许使用胭脂红、苋菜红、柠檬黄及靛蓝四种人工合成色素,并指定有关工厂生产。为了保证人民身体健康,严格控制食用色素的使用,建立一套相应的检测方法就显得极为必要。

食品中添加的合成焦油系色素的检测

检测方法

一、样品的前处理和提纯

1、试剂

聚酰胺粉(尼龙6,为北京合成纤维实验厂所提供,下同)

甲醇—甲酸溶液(6:4)

甲醇溶液(99.5%)

丙酮(化学纯或分析纯,含量95%以上)

丙酮—氨溶液(40毫升丙酮、9毫升及1毫升比重为0.88的氨溶液相互混和,必须新鲜配制)

20%柠檬酸溶液。

淀粉液化酶(将酶制剂1克溶于10毫升水中,用滤纸过滤,得澄清酶液。保存于冰箱中,备用)

硫酸溶液(1:1, 1:10)

10%磷钨酸溶液

甲醇—氨溶液

甲醇—氢氧化钠溶液(1克氢氧化钠溶于1000毫升70%甲醇溶液中)

蛋白酶液

河沙:过20目筛,经酸、碱处理后,漂洗至中性左右

2、仪器

沙芯漏斗(IG2)

吸滤器

3、非酒精饮料样品的前处理和提纯

准确吸取果子露或汽水50毫升（视样品中色素含量多少而决定取样量）于100毫升烧杯中，置于电炉上加热煮沸，驱除二氧化碳。加聚酰胺浆（称取0.5—1克聚酰胺粉于10毫升小烧杯中，加少量水调浆），充分搅拌，使样品中色素完全被吸收。加聚酰胺粉浆前，如样品的pH值较高，必须用20%柠檬酸调至pH 4左右。将样品溶液移入2号沙芯漏斗中，抽滤，用20毫升约70°C的蒸馏水二次洗涤沉淀物。再用20毫升甲醇—甲酸溶液分4次洗涤漏斗中之沉淀物，以洗脱天然色素，再加8毫升甲醇充分洗涤之。最后用约300毫升70°C左右的蒸馏水分多次洗涤，直至洗下水与原蒸馏水的pH相同为止。前后洗涤过程必须适当搅拌，使所用各洗涤液与聚酰胺粉充分接触。

用丙酮—氨溶液解吸色素，解吸过程不断搅拌，收集全部解吸液。

将色素解吸液置于小瓷蒸发皿中，用20%柠檬酸调至pH 6，于水浴上使总体积浓缩至4毫升左右，留作点样用。

如果样品中含天然色素较多，一次未能除尽，则将未浓缩的解吸色素溶液再加少量蒸馏水，并调至pH 4左右，加0.5克聚酰胺浆，以后按前述操作再重复提纯1—2次。直至天然色素去净为止。又如原样不含天然色素，则可将样品驱除二氧化碳后，加聚酰胺粉浆吸附色素，再加70°C左右蒸馏水洗涤后，即可解吸色素。

4、硬糖（水果糖）样品的前处理和提纯

将糖果置玻璃研钵中破碎后，精确称取样品5—10克（视样品中色素含量多少而决定取样量），加30毫升蒸馏水，加热溶解。如样品溶液的pH较高，则用20%柠檬酸调至pH 4左右，加聚酰胺浆（配制同前3），充分搅拌，使样品中色素完全被吸附。

将样品溶液移入2号沙芯漏斗中，抽滤，用20毫升70°C蒸馏水洗涤漏斗中的沉淀物。再用5—10毫升丙酮溶液分2次洗涤，以洗去样品中所含油脂等，最后用约300毫升70°C左右的蒸馏水分多次洗涤，直至洗下水与原蒸馏水的pH相同为止。前后洗涤过程必须适当搅拌。

用丙酮—氨溶液解吸色素，收集全部解吸液，将色素解吸液置于小瓷蒸发皿中，用20%柠檬酸调至pH 6，于水浴上浓缩至要求的容积（使总容积浓缩至4毫升左右），留作点样用。

5、淀粉软糖样品的前处理和提纯

将淀粉软糖去除外层冰糖屑，切碎，精确称取样品8—10克（视样品中色素含量多少而决定取样量）。加30毫升蒸馏水，加热溶解。用20%柠檬酸调节溶液至pH 5，于88—90°C下加淀粉液化酶1毫升，搅匀后，于约90°C保温5—10分钟。此时可出现絮状凝沉现象，加入0.5—1克聚酰胺浆（配制同前3），充分搅拌，使样品中色素完全被吸附。

然后，把上述样品溶液移入2号沙芯漏斗中，抽滤。用20—30毫升70°C左右的蒸馏水，分8次洗涤漏斗中沉淀物，再用15—20毫升丙酮分3次洗涤，最后用70°C左右的蒸馏水300毫升分多次洗涤，直至洗下水与原蒸馏水的pH相同为止。前后洗涤过程必

须适当搅拌。

用丙酮—氨溶液解吸色素，解吸过程不断搅拌，收集全部解吸液。将色素解吸液置于小瓷蒸发皿中，用20%柠檬酸调至pH 6，于水浴上浓缩至要求的容积，留作点样用。

6、奶糖样品的前处理和提纯

将奶糖置玻璃研钵中破碎，如糖果中有某一部分不着色的，须将不着色部分切去后再破碎，以消除计算误差，但计算总样品量时则须包括在内。

精确称取样品2—4克（视样品中色素含量多少而决定取样量），加20毫升蒸馏水，加热溶解。加1毫升1:10的硫酸溶液和1毫升10%磷酸，慢慢搅拌使奶脂、蛋白质等凝集沉淀。将凝聚物移入2号沙芯漏斗中，抽滤，用70°C蒸馏水充分洗涤滤层，直至洗液澄清为止，收集并合并全部滤液，加入0.5—1克聚酰胺浆（制法同2），充分搅拌，使样品中色素完全被吸附，然后移入2号沙芯漏斗中抽滤。用20—30毫升70°C左右的蒸馏水分3次洗涤沙芯漏斗上的沉淀物，再用20—40毫升丙酮溶液分3次洗涤，最后用300毫升70°C左右蒸馏水分多次洗涤，直至洗下水与原蒸馏水的pH值相同为止，前后洗涤过程必须适当搅拌。用丙酮—氨溶液解吸色素，收集全部解吸液。将解吸液置于小瓷蒸发皿中，用20%柠檬酸调至pH值为6，于水浴上浓缩至4毫升左右，留作点样用。

7、中脂胶汁糖样品的前处理和提纯

将糖用不锈钢剪刀剪碎后，充分混匀，精确称取样品2克左右（视样品中色素含量多少而决定取样量），置于玻璃研钵中，加河沙3克，充分研细，再加20毫升石油醚继续研磨抽提，以除去脂肪和水，这样重复处理三次，每次处理后用滴管吸出或倾出石油醚抽出液。再加30毫升70°C的蒸馏水于研钵中，慢慢研磨，使糖完全溶解，将此溶液移至1号沙芯漏斗中抽滤，用70°C的蒸馏水，分数次洗涤研钵及残留的河沙，直至滤板和滤出液完全无色为止。

收集上述全部解吸液，加1:10的硫酸调至pH 1，再加1毫升10%磷酸溶液，使蛋白质沉淀（如溶液混浊，可再加少量硫酸至澄清）。

将上述沉淀物移至3号沙芯漏斗抽滤，用70°C的蒸馏水充分洗涤漏斗中内容物，直至滤出液澄清为止，收集全部滤液。

称取0.5—1克聚酰胺粉，置于10毫升小烧杯中，加少量水调浆后，加入上述滤液中，充分搅拌，使样品中色素完全被吸附，然后转移入3号沙芯漏斗中抽滤。用约300毫升70°C的蒸馏水（水先用柠檬酸调至pH 4左右），分多次洗涤漏斗中内容物，直至滤出液与原蒸馏水的pH值相同为止，前后洗涤时必须充分搅拌。用甲醇—氨溶液分次解吸全部色素，并收集之。

将色素解吸液置于小瓷蒸发皿中，置水浴上蒸发浓缩至4毫升左右，然后用20%柠檬酸调至pH 6左右，留作点样用。

8、明胶糖（棉花糖）样品的前处理和提纯

用不锈钢剪刀剪碎后充分混匀，精确称取样品2克左右，置于100毫升烧杯中，加25毫升蒸馏水加热溶解。此溶液的pH值为6.5左右，于45°C时加1.5毫升蛋白酶水解

蛋白质，保温5分钟。然后调节至pH5.6—6.0，于88°—90°C时加1.5毫升细菌淀粉酶液，水解淀粉，保温10分钟。再用20%柠檬酸调至pH3—4，出现絮状沉淀，此时溶液澄清，加热煮沸使酶失活。

称0.5—1克聚酰胺粉，置于10毫升小烧杯中，加少量水调浆后，加入上述溶液中，充分搅拌，使样品中色素完全被吸附，然后移入2号沙芯漏斗中抽滤。用150毫升70°C的蒸馏水，分三次洗涤漏斗中的内容物，再用60毫升丙酮分三次洗涤，最后用约300毫升70°C的蒸馏水充分洗涤，直至滤出液与原蒸馏水的pH值相同为止，前后洗涤时必须适当搅拌。

用甲醇—氨溶液解吸全部色素，并收集之，将此色素解吸液置于小瓷蒸发皿中，置水浴上蒸发浓缩至4毫升左右，然后用20%柠檬酸调至pH6左右，留作点样用。

9、肉制品样品的前处理和提纯

用不锈钢剪刀将肉剪成小颗粒，置于玻璃研钵中研碎，并混匀。精确称取样品1克左右，加8克河沙及20毫升丙酮于研钵中一起研磨抽提，以除去脂肪和水，这样重复处理三次，每次用新鲜丙酮，每次处理后用滴管吸出或倾出丙酮抽出液。

将残留物研成细粉（在这步骤中，让残留溶剂蒸发），将粉（大部分已脱脂）全部转移至2号或3号沙芯漏斗中，用甲醇—氢氧化钠溶液从肉蛋白质中抽取色素物质，用玻璃棒搅动漏斗中内容物，直至色素全部提取完为止。

将此带色溶液，用1:10的硫酸调至pH1，加1毫升10%磷钨酸溶液，慢慢搅动，使蛋白质凝聚沉淀。

将此沉淀物移入2号沙芯漏斗中抽滤，用10毫升70°C的蒸馏水洗涤漏斗中内容物，收集全部滤出液。

称0.5—1克聚酰胺粉置于10毫升小烧杯中，加少量水调浆后，加入上述滤液中，充分搅拌，使样品中色素完全被吸附，移入3号沙芯漏斗中抽滤。用约200毫升蒸馏水，充分洗涤漏斗中内容物，直至滤出液与原蒸馏水的pH值相同为止，前后洗涤时必须适当搅拌。

用甲醇—氨溶液分次解吸全部色素，并收集之，将色素解吸液置于小瓷蒸发皿中，在水浴上蒸发浓缩至4毫升左右，然后用20%柠檬酸调至pH6左右，留作点样用。

10、糕点及焙烤食品样品的前处理和提纯

将糕、饼等食品表面的染色部分刮下，于玻璃研钵中研碎。精确称取样品2克左右，加8克河沙及20毫升丙酮于研钵中一起研磨抽提，以除去脂肪和水，用丙酮重复处理三次，每次用新鲜丙酮，每次处理后用滴管吸出或倾出丙酮抽出液。

将残留物研成细粉（在这步骤中，让残留溶剂蒸发），将粉（大部分已脱脂）全部转移至3号沙芯漏斗中，用甲醇—氨溶液提取色素，用玻璃棒搅动漏斗中内容物，直至色素全部提取完为止。

将上述带色溶液用1:10硫酸调至pH5，加热70°C。另称取0.5—1克聚酰胺粉，于10毫升小烧杯中，加少量水调浆后，加入溶液中搅拌，使样品中色素完全被吸附，然后转移入2号沙芯漏斗中抽滤。用约200毫升蒸馏水充分洗涤漏斗中内容物，直至滤出

液与原蒸馏水的pH值相同为止，前后洗涤时必须适当搅拌漏斗中内容物。

用甲醇—氨溶液分次解吸全部色素，并收集之。将此色素解吸液置于小瓷蒸发皿中，于水浴上蒸发浓缩至4毫升左右，用20%柠檬酸调至pH 6，留作点样用。

11、冷饮（冰淇淋和冰砖等）样品的前处理和提纯

精确称取已溶解并混匀之样品5—10克，置于研钵中，加60毫升丙酮与样品一起研磨，直至蛋白质凝固（酸性色素就吸附在蛋白质上），倾去上层丙酮抽出液。再加3克河沙与凝固物一起研细，然后转移至3号沙芯漏斗中，用甲醇—氨溶液从蛋白质中提取色素（直至沉淀物无色为止）。将此带色溶液用1:10硫酸调至pH 1，加1毫升10%磷钨酸溶液，慢慢搅动，使蛋白质沉淀。

将此沉淀物移入3号沙芯漏斗中抽滤，用蒸馏水洗涤漏斗中内容物，收集并合并全部滤出液。

称取0.5—1克聚酰胺粉，置于10毫升小烧杯中，加少量水调浆后，加入上述溶液中搅拌，使样品中色素完全被吸附，然后转移入3号沙芯漏斗中抽滤，先用约100毫升70°C的蒸馏水洗涤，再用20毫升丙酮分次洗去残留油脂，然后再用200毫升蒸馏水充分洗涤，直至滤出液与原蒸馏水的pH值相同为止，前后洗涤时必须适当搅拌。

用甲醇—氨溶液分次解吸全部色素，并收集之。将此色素解吸液置于小瓷蒸发皿中，于水浴上蒸发浓缩至4毫升左右，用20%柠檬酸调至pH 6，留作点样用。

12、蜜饯（山楂片）样品的前处理和提纯

将山楂片置于研钵中研碎并混匀，精确称取样品1.5—2克，加30毫升蒸馏水，加热使之溶解。

称取0.5—1克聚酰胺粉置于10毫升小烧杯中，加少量水调浆后，加入上述溶液中，充分搅拌，使样品中色素完全被吸附，然后移入2号沙芯漏斗中抽滤，用200毫升70°C蒸馏水洗涤漏斗中内容物，用甲醇—甲酸洗至滤出液无色为止，再加10毫升甲醇充分洗涤之，以除去天然色素。最后用约300毫升的70°C蒸馏水充分洗涤，直至滤出液与原蒸馏水的pH值相同为止，前后洗涤必须适当搅拌。

用甲醇—氨溶液分次解吸全部色素（此时漏斗的内容物中还有少许天然色素附着），并收集之。将此解吸液用1:1硫酸调至pH 3—4左右，出现大量的沉淀物，再按前述，加聚酰胺重复提纯1—2次，直至天然色素去净为止。

用甲醇—氨溶液解吸色素，并收集之，将此色素解吸液置于小瓷蒸发皿中，于水浴上蒸发浓缩至4毫升左右，然后用20%柠檬酸调至pH 6左右，留作点样用。

二、提纯的色素溶液的纸层析定性

1、试剂和材料

（1）展层溶剂

正丁醇：无水乙醇：1%氨水 = 6 : 2 : 3

正丁醇：吡啶：1%氨水 = 6 : 3 : 4

（2）标准色素

胭脂红、苋菜红、柠檬黄、靛兰（由上海染化六厂提供），其它各种单色素（可采用注明牌号及规格的进口制品）（3）层析纸（新华中速滤纸，16×20厘米）

2、仪器及工具

点样管（可用微量吸管、注射器等）

层析缸（ $\phi 9 \times 20$ 厘米或其它）

3、操作步骤

将浓缩后的样品色素溶液，点样约8微升（根据样品溶液中色素浓度而增减），点于离滤纸底边2厘米的起始线上。两边样点距滤纸边不小于2厘米，样点间相距2厘米，样点直径不超过5毫米。

如用标准样品对照法时，在样点上再点上疑似标准色素。

展层前，层析缸及滤纸先用相应的溶剂系统平衡1小时，用上行法展开，滤纸底边浸入展开剂约1厘米，保持20°C，待溶剂前沿到达离起始线12厘米处，将滤纸取出于空气中自然凉干，测量各色素的Rf值（比移值）。

4、计算比移值及定性

$$R_f \text{ 值} = \frac{\text{斑点移动距离}}{\text{溶剂前沿距离}}$$

以样品展层的各色素斑点的Rf值与同样条件下展层的标准色素斑点的Rf值对比，即可确定样品的色素为何种色素。

三、提纯的色素溶液中我国准用的四种合成食用色素的薄层分离和定量

1、试剂和材料

（1）展层溶剂

正丁醇：吡啶：5%氨水 = 6：6：4

2.5%柠檬酸钠：浓氨水 = 4：3

甲醇：乙二胺：浓氨水 = 10：3：4

（2）标准色素

胭脂红、苋菜红、柠檬黄、靛兰（由上海染化六厂提供）

（3）其它溶剂

75%甲酸

20%柠檬酸

甲醇—氢氧化钠溶液（1克氢氧化钠溶于1升70%甲醇中）

（4）吸附剂

硅胶G（上海光明化工厂，下同）

聚酰胺粉

2、仪器及工具

玻璃基板（窗玻璃，15×8厘米）

刮板器（可用简易工具如图一，以玻棒串两个橡皮塞，间距同玻璃板宽度，橡皮塞内侧各扎铜丝2~3圈，使玻棒垫高0.25~0.3毫米，即刮板后薄层厚度）

研钵（可用玻璃质）

放板架（可用木制）（图二）

大玻璃缸（有盖）（图二）

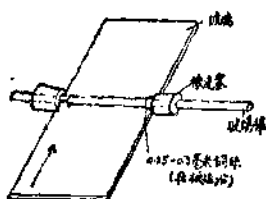
层析缸（ $11 \times 10 \times 7$ 厘米或其它）

点样管（可用微量吸管，微量注射器，10或50微升等）

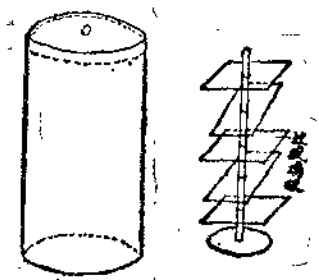
刮刀

收集器（结构如图三，垫底玻璃棉须处理洁净，垫塞紧密）

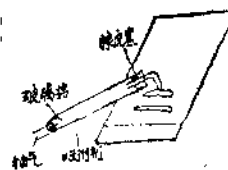
分光光度计



图一括板器



图二薄板存放器



图三粉粒收集器

3、薄板制法

取聚酰胺粉 7 克，放入研钵中，加 100 毫升 75% 甲酸拌研，使聚酰胺粉全部溶解，然后加 52 克硅胶 G，充分研磨，使混和均匀。浆液要稀稠适宜，如感到太稠可补充些甲酸。

玻璃基板可用一般窗玻璃，表面要求平整，按需要规格划制。板面必须先用洗涤剂充分去除油污等，再用清水淋洗干净后，干燥。在涂板前再用酒精擦拭，用不脱毛的布揩干。

混合浆液调妥后立即进行涂板，先用浆液均匀铺在玻璃板一端，再用刮板器推刮涂成薄层。

涂成薄板置于薄板架上，连架放入盛有少量清水的大玻璃缸中，加盖，使薄层中挥发的甲酸由缸底清水吸收，约 2—3 小时。取出薄板，如薄板尚未干透，可在空气中稍放晾干，然后移入烘箱中，在 60°C 烘 30 分钟，取出稍冷，放入干燥器内备用。

4、操作步骤

将浓缩后并定容的样品色素溶液，用点样管点在薄板上，点样量为 300—400 微升。点成与底边平行的条状，点样线距底边 2 厘米，点样位置两端距边各 2 厘米，点样时每点完 1 次，均须干燥（可用吹风机吹干）再在原线条上重点一次，直至点完一定量。线条宽度要求在 2 毫米内，吹干后进行展层。

层析缸与薄板先用相应的溶剂系统饱和 30 分钟，用上行法展开，薄板下端浸入溶剂 0.5—1 厘米，待需分离的色素已明显分开（约 2—3 小时）即可取出，于空气中自然晾干。

所用溶剂系统：用于靛兰与其它三种色素分离的为正丁醇—吡啶—5% 氨水；用于

柠檬黄与其它三种色素分离的为柠檬酸钠—浓氨水，用于苋菜红与胭脂红分离的为甲醇—乙二胺—浓氨水。

5、比色定量

将展开的各条状色斑（附展层后刮取前的样板附图四）包括有扩散部分，分别用刮刀刮下，分别用收集器吸收。

用少量甲醇—氢氧化钠解吸液洗涤解吸收集器内的色素直至解吸完全为止，收集解吸液，用20%柠檬酸调至pH 6，稀释至10毫升，留作比色用。

用可见分光光度计的1厘米比色杯测定上述色素溶液的消光值，将其测定值与标准曲线上相应的座标值对照，得出样品色素溶液中的色素含量。

6、计 算

根据下列公式计算每克糖果或每毫升饮料样品中含有的某种色素的万分之几的值，

$$C = Y \cdot \frac{V_1 V_2}{W \cdot V_2 100 F_2}$$

Y 为展层后色素提取液中色素含量 (ppm)

W 为样品重量 (克) 或容量 (毫升)

V₁ 为样品中纯色素浓缩液容量 (毫升)

V₂ 为纯色素浓缩液的点样量 (毫升)

V₃ 为展层后薄层上色素提取液容量 (毫升)

F₁ 为制标准曲线色素的浓度

F₂ 为生产上实际用色素的浓度

7、说 明

由于本方法乃将样品中所含色素先经纸层析鉴定，如样品中只含单色素，则可将提纯的色素溶液直接在分光光度计上比色定量。提纯色素溶液就不必浓缩和调pH，但要稀释至一定量，其计算公式也可简化如下：

$$C = Y \cdot \frac{V \cdot F_1}{100 \cdot W \cdot F_2}$$



图四 条状色斑图

Y、W、F的意义和前节中同。

V为样品中色素提纯溶液容量 (毫升)

8、标准曲线

以含各色素的浓度由0.5ppm至20ppm，取若干个指定浓度，配成各浓度标准溶液，在可见分光光度计中用1厘米比色杯测定各相应的消光值。以各指定的色素溶液浓度为横座标，以各相应的消光值为纵座标，在座标纸上画上各点，并连成曲线。取其直线段为定量对照用的有效标准曲线。有效范围可按照图谱目测判定，或根据回归方程计算，即根据方程由消光值计算的浓度值与原定浓度值相差5%以上的点舍弃后确定。

制订标准用的比色液的pH值要求在5~6，各色素的最大消光值波长：胭脂红为

508毫微米，苋菜红为520毫微米，柠檬黄为428毫微米，靛兰为610毫微米。

讨 论

在确定检测方法的研究试验中，曾遇到如下一些问题。

1、样品处理不净的影响

一般情况下，色素溶液点样量不同对展层后Rf值无影响。我们曾以我国准用的四种色素进行纸层析，结果证明是如此，但在桔子硬糖样品试验检测中，曾发现处理及提纯后的样品溶液，浓缩与未浓缩的溶液的展层Rf值不同（见表一）。

（表一）

所 含 色 素	标准色素 Rf 值	未浓缩溶液 Rf 值	浓缩溶液 Rf 值
胭脂红	0.20	0.20	0.16
柠檬黄	0.07	0.07	0.04

由浓缩溶液的略呈粘稠状及带有苦涩味判断，可能溶液中糖分未除尽或其它杂质影响，故要求样品处理中除尽杂质。

2、聚酰胺粉吸附色素时洗涤液的pH

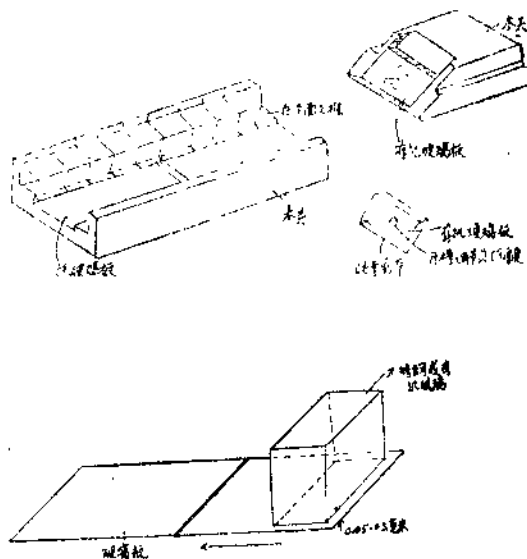
聚酰胺粉吸附色素系与酸性色素的磺酸基形成氢键结合，而在硷性情况下又分离。所以聚酰胺粉要保持在较低的pH值，才有较好吸附效果。色素溶液在吸附前先需酸化，但在操作过程中聚酰胺粉吸附色素后需用大量蒸馏水，特别是热蒸馏水洗除样品中杂质时，有时出现部分色素解吸现象，这由于蒸馏水加热后，水中溶解的二氧化碳等逸出，pH会转变至中性或偏硷性，用于洗涤时改变了聚酰胺粉的吸附介质的性质。在这样情况下，洗涤用水宜适当酸化。

3、溶解聚酰胺的溶剂

以聚酰胺—硅胶G为吸附剂的薄板，制板时聚酰胺如用甲酸溶解而甲酸有强烈的腐蚀性和刺激性，我们虽将涂毕的薄板置于底部有水的密闭缸中的木架上，以便由水吸收甲酸，但仍不免使实验室的空气污染，今后可考虑用异丙醇溶解后制板。

4、涂板方法

制板方法很多，如刮涂法、浸涂法、流涂法、喷涂法等。我们曾用刮涂法的二种工具。涂板要求均匀一致，厚薄稳定，否则直接影响展层结果。在涂板时要求动作迅速，溶剂



(甲酸)因不断挥发,浓度不断改变,硅胶的胶体性质也在不断改变,使前后制板质地不一,而直接影响制板质量,必要时应少量分批制板。

5、吸附剂的规格和质量稳定性

吸附剂不同则吸附性质就不同,对展层溶剂的展层结果要产生一系列影响。而同一种吸附剂由于来源不同,也有不同使用要求和使用效果。为达到有效检测,对吸附剂的选择是一关键。

6、混合吸附剂薄层的优点

使用的混合吸附剂层乃采用聚酰胺7克与硅胶G52克的配比,曾与硅胶G单一吸附剂的薄层比较,后者除在吸附剂涂板前调浆中可以用水,较聚酰胺需用溶剂溶解为优,和展层速度快以外,其缺点为涂板时浆液很易变稠使涂布困难;做成薄层较松而容易酥落;展层中混合色素较难分开和有拖尾;在同样情况下靛兰更易退色。若聚酰胺—硅胶中的聚酰胺量减少则薄层逐渐接近单一硅胶的性质。

7、薄板的活化

薄板层析有吸附层析作用和分配层析与吸附层析相结合的作用。通常以前者为普遍。如属前者则必须把薄层上结合的液体(主要是水)尽可能去除,所以需用较高温度烘干,使薄层活化。如属分配层析,则不需十分烘干,只要求除去薄层上多余的液体,而薄层上留下必要量的液体,使在展层中与展层溶剂起分配作用。据一些单位介绍,认为色素在聚酰胺—硅胶G上的薄层分析乃是分配层析作用。因而我们采用60°C、30分钟烘干。实践证明效果正常。应注意在烘板前板必须已较干燥,否则湿板立即加热至60°C,会造成薄层很酥松,影响使用效果。

8、解吸液浓缩

用丙酮—氨水溶液解吸的解吸液,在水浴上浓缩时容易起泡,色素溶液容易溅出蒸发皿外,影响定量结果,因此蒸发器皿要稍大些。解吸液浓缩时要随时摇晃蒸发皿,防止溶剂蒸发,蒸发皿边上有色素干积,不易溶解,影响定量结果。我们决定,展层后用于比色定量的解吸液则用甲醇—氢氧化钠溶液解吸,用柠檬酸调节pH,以防挥发性溶剂可能使比色液中形成气泡,影响比色消光值的正确性。有时解吸液可能混浊,但调节至酸性后则可澄清。

9、点样量多的点样要求

在定量分析中一般需要点样的量较大,如点在一个点子上,必然使圆点的直径扩大,而圆点小的分离效果好,因而我们将色素溶液在薄层上点成条状,宽度约2毫米,在8厘米宽的薄板上可点样500微升,一般为200—300微升,展层后图谱扩散不明显。(溶液浓度太低,须先使总体积浓缩至4毫升左右)。

10、使用新配溶剂

展层溶剂系统由几种单溶剂组合,这些单溶剂在一起时间稍久能起反应,故要求使用新配溶剂。我们用隔天配的溶剂与当日配的溶剂进行比较,Rf值有区别。

11、斑点重现性

在展层时,常会出现斑点的重现性不好,或同一样品色素几次展层的Rf值不一致,

有时与对比的标准色素的Rf值也有上下，其原因可能由于吸附剂性质和规范不一，吸附剂及溶剂中的杂质，溶剂的pH和饱和度，溶剂的过陈，点样液的pH、纯度和量，展层时薄板或滤纸浸入溶剂高度，展层温度的差异，样品色素本身问题等，因而必须进行平行试验或做空白试验。

12、一种色素几个斑点

在纸层析或薄板层析展层后，在图谱上常出现一种色素的一个主要斑点外，还有其它斑点，这由于色素不纯或色素中混有其它杂质所致。其原因为色素制造、食品加工、食品贮存、分析操作等过程中产生了中间产物或副产物，与食品中其它成份作用的降解产物，一些外界因素促使色素分解的产物，分析中吸附剂及溶剂中杂质等影响。这种不纯物所形成的少数几个点，在某些溶剂混合物中较清晰，但不影响主要斑点的鉴定。

13、多次展层

混合的色素溶液展层后，如不同色素的斑点分离不明显，可用多次展层，使斑点间继续扩大间距，这在定量上更显需要，以便分别刮取薄层上吸附各色素的部分吸附剂，再次展层可用同一种溶剂系统，也可用为达到不同色素分离目的的另一溶剂系统。但一次展层后，薄板必须干燥后再转入另一次展层，而且因定量不计Rf值，故每次展层也无须使溶剂展至规定前沿。

14、靛兰退色

靛兰按下列演变过程而退色，深兰色→浅兰色→黄色→无色。靛兰退色受光、氧、热、pH等几个因素的影响，而这些因素又相互促成。

光与放置时间对靛兰退色的消光值有影响（表二）。又如在展层时，遮光与不遮光，前者斑点呈兰色而后者已退色。

色素溶液放置情况不同对测定消光值的影响

（表二）

测定时情况	消光值（平均数）	折合色素浓度
当时	0.3466	3.501 ppm
暗柜中放12日	0.3288	3.310 ppm
自然光下放12日	0.3222	3.242 ppm

过氧化氢促使靛兰斑点退色，而已退色斑点用二氧化硫或亚硫酸盐浸润则不再显色。靛兰色素溶液在加塞的瓶中贮放较敞着存放退色较慢，说明了氧促使退色。

呈硷性的靛兰色素溶液放置过程中比中性、酸性易退色，展层中使用硷性溶剂也促使靛兰斑点退色。硷性靛兰色素溶液放在暗处比放在自然光下的退色情况好一些，加热浓缩更促使退色。退了色的靛兰色素溶液把pH调回至酸性时能恢复原来色泽。酸性靛兰色素溶液在加热时退色不明显。

综上所述在靛兰色素分析过程中，色素溶液须呈偏酸性，存放暗处，展层时应该避光操作（色素溶液需浓缩时，要保持在偏酸性的条件）。

15、标准色素来源

（下文转12页）

果露酒中人工合成色素的分析

人工色素的提取

目前国内生产的果露酒中所用的人工色素均为酸性色素，以下试验方法也皆对酸性色素而言。

一、试剂

1、1N醋酸溶液

2、0.1%氨水

3、白色羊毛线：预先用0.1%氢氧化钠溶液煮沸30分钟，再用水洗至中性，干燥备用。

二、试验方法

取25毫升酒样（根据所含色素浓度，酌作增减），于水浴上蒸发至半量后，加水稀释至原体积，再加1N醋酸溶液1毫升使成酸性（ $\text{pH} 2 \sim 3$ ），加入预先用水浸湿之脱脂白毛线0.1~0.5克，煮沸3分钟，继在室温下放置5~7分钟，此时，白毛线为酸性人工色素所染色。取出毛线，用清水洗涤干净，沥干后，在30毫升0.1%氨水中煮沸约10分钟。为尽可能地除去天然色素，需使以上染色与洗脱操作重复两次。滤出最终之洗脱液

~~~~~  
(上文接11页)

我们提出的合成食用色素鉴定方法乃是标准样品对照展层法。此法比较简易，使用也普遍，但必须具备符合要求的标准色素，标准色素的来源可请上海染化六厂提供。

#### 16、比色液要求清淨

色素溶液在分光光度计上比色时，要求和对照的蒸馏水的透亮度一致。比色液有时混浊，可能是薄层上吸附剂或滤纸在解吸时有吸附剂屑或纸纤维屑混入，或由于拌在色素一起的不溶性不纯物所引起。混浊情况有时在酸性时有所改善，混浊物或可通过离心（如RPM155，10分钟）而沉淀。

## 结 语

我们认为这种检测糖果、饮料中合成焦油系色素的方法，包括样品处理、滤纸层析定性及薄板层析定量，是比较简便的。除前一段原料处理有其特殊性外，后一段的操作方法适用于较多的食品。

，于水浴上浓缩至小体积，供纸上层析及薄层层析用。

### 三、讨 论

1、经毛线染色提取的色素溶液中含无机盐，将对某些溶剂系统的层析产生影响，例如：在正丁醇：吡啶：1%氨水（6：3：4）系统中，当样液含无机盐时，色素斑

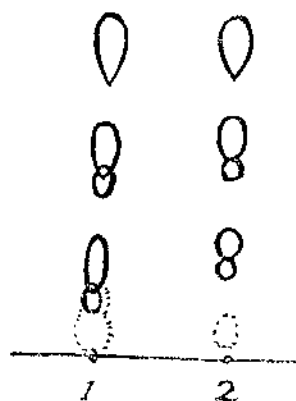


图1 无机盐对层析的影响  
展开剂：正丁醇吡啶：

1%氨水（6：3：4）

样品：1、经中和

2、未经中和

点将受牵制而产生拖尾，如图1所示，虚线表示层析结束时，盐斑点扩散轮廓。样<sub>1</sub>和样<sub>2</sub>均是酒样，按前述方法平行处理的，不同之处在于样<sub>1</sub>的最终洗脱液用IN醋酸中和至pH 7，然后置于水浴上浓缩、点样，样<sub>2</sub>的最终洗脱液未经中和，直接置于水浴上浓缩，然后点样，层析。由图2可见，样<sub>1</sub>中和时形成的醋酸铵对层析产生一定的影响。实际操作时，最终的氨洗脱液应避免用酸中和，而以直接置于水浴上浓缩并驱氨较好。由于本试验采用0.1%氨水洗脱，残留的氨极易驱净。

2、近年来，Lehmann等曾报道了采用聚酰胺粉从食品中提取人工色素的方法，认为该法具有操作简单快速，提取较为完全等优点，当试样含有多量天然色素时，则可用甲酸—甲醇从聚酰胺粉上洗除。我们曾利用北京合成纤维实验厂试产的聚酰胺粉进行了试验，在将其应用到果露酒时，发现提取虽然快速、完全，但却难以除尽聚酰胺所吸附的天然色素，因条件所限，其原因未作进一步研究。

## 人工色素的分离

### 一、薄层层析法

#### （一）试剂、材料与装置

##### 1、试 剂

（1）正丁醇

（2）无水乙醇

（3）氨水

（4）吡啶

（5）甲酸

（6）氯化铵

（7）展开剂

（i）正丁醇：无水乙醇：0.08%氨水：氯化铵（6.0：2.5：3.0：1%※）

（ii）正丁醇：吡啶：0.8%氨水（6：3：4）



(8) 标准色素的0.1%水溶液:

## 2、材料

(1) 聚酰胺粉(北京合成纤维实验厂试制品)。

(2) 硅胶G(上海第一泡化碱厂出品, 过200目筛)。

(8) 玻璃板: 窗玻璃12×16, 5×20, 2.5×7.5厘米

表1 应用于本试验的水溶性酸性色素

| 色素名称             | 色素编号索引<br>(1956年) | 英文品名                   |
|------------------|-------------------|------------------------|
| 苋菜红              | 16185             | Amaranth               |
| 靛蓝               | 73015             | Indigo Carmine         |
| 柠檬黄              | 19140             | Tartrazine             |
| 胭脂红              | 16255             | Ponceau 4R, New Cocciw |
| 以上四种色素均系上海染化六厂出品 |                   |                        |
| 猩红 R             | 16150             | Ponceau R              |
| 猩红 6R            | 16290             | Ponceau 6R             |
| 猩红 SX            | 14700             | Ponceau SX             |
| 卡美新              | 14720             | Carmoisin              |
| 坚牢红              | 16045             | Fast Red E             |
| 赤藓红              | 45430             | Erythrosin             |
| 酸性红              | 45100             | Acid Red               |
| 晚霞黄 FCF          | 15985             | Sunset Yellow FCF      |
| 橙色 I 号           | 14600             | Orange I               |
| 橙色 II 号          | 15510             | Orange II              |
| 橙黄 G             | 16230             | Orange G               |
| 亮蓝 FCF           | 42090             | Brilliant Blue FCF     |
| 基尼绿 B            | 42085             | Guinea Green B         |
| 坚牢绿 FCF          | 42053             | Fast Green FCF         |
| 紫色 6B            | 42640             | Acid Violet 6B         |

※系由正丁醇:无水乙醇:0.08%氨水按体积比6.0:2.5:3.0, 并添加固体氯化铵, 使其在液相中浓度为1%配制而成。

## 3、装置

(1) 层析缸: 高35厘米, 直径30厘米。

层析槽: 长26厘米×宽6厘米×高4厘米。

染色缸

(2) 微量吸管: 10微升。