

# 分光光度法测定饮料中色素含量

孙延春, 敬 铭

(四川理工学院化学与制药工程学院, 四川 自贡 643000)

**摘 要:**采用紫外分光光度法对饮料中两种食用色素进行了同时测定。确定了各色素的最大吸收波长及最大吸收波长处的吸收系数和摩尔吸收系数。结果表明柠檬黄最大吸收波长分别为 424 nm, 吸收系数为  $32.22 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ , 摩尔吸收系数为  $1.72 \times 10^4 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ; 胭脂红的最大吸收波长为 507 nm, 吸收系数为  $35.92 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ , 摩尔吸收系数为  $2.17 \times 10^4 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ 。测定饮料中柠檬黄和胭脂红的含量分别为  $4.32 \times 10^{-3} \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $3.36 \times 10^{-3} \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 相对标准偏差分别为 2.89%、2.57%, 加标回收率分别为 89.7%、90.6%。该方法操作简便, 易于推广, 可用于实际样品的检测。

**关键词:**分光光度法; 色素; 饮料

**中图分类号:** O657.3

**文献标志码:** A

## 引 言

食品的颜色是食品感观品质的一个重要因素, 能促进人的食欲, 增加消化液的分泌, 因而有利于消化和吸收。因此, 人们在制作食品时常使用一种食品添加剂——食用色素。食用色素有天然食用色素和合成食用色素两大类, 与天然色素相比, 合成色素颜色更加鲜艳, 不易褪色, 且价格较低, 被广泛使用在食品及饮料中。然而, 合成食用色素主要是通过化学合成制得的有机色素, 它们对人体存在一定的不安全性或者产生有害作用<sup>[1-2]</sup>。因此食品中合成色素含量的监测在食品安全中起着重要的作用。

柠檬黄和胭脂红作为我国允许使用的合成食用色素, 其最大用量规定为  $0.1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ <sup>[3]</sup>。合成食用色素的检测方法有高效液相色谱法<sup>[4]</sup>、伏安法<sup>[5]</sup>、示波极谱法<sup>[6]</sup>、偏最小二乘法-分光光度法<sup>[7]</sup>、紫外可见吸收光谱法<sup>[8]</sup>等。但这些方法通常要求两色素吸收峰重叠较少, 且测定时需要两色素进行分离, 操作过程繁杂, 仪器设备要求高, 不易推广。

本文探讨了双色素饮料中两种色素吸收光谱重叠严重时, 不进行色素分离, 采用紫外分光光度法<sup>[9-10]</sup>, 依据吸光度的加和性, 联立方程组求解饮料中柠檬黄和胭脂红进行含量。该方法样品无需预处理, 原理、仪器简单, 方法操作简单, 易于推广, 测定准确度较高。

## 1 实验方案

### 1.1 仪器与试剂

仪器: 双光束紫外-可见分光光度计(GBC, UV/VIS 916)。

试剂: 柠檬黄(浙江吉高德色素科技有限公司), 胭脂红(天津市光复精细化工研究所), 美年达(橙味)饮料购自当地超市。准确称取  $m = 1.000 \text{ g}$  的色素, 加入至 100 mL 的容量瓶, 蒸馏水稀释至刻度。吸取 10 mL, 再加至 100 mL 容量瓶, 得  $C_{\text{储备液}} = 1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。再次吸取 10 mL  $C_{\text{储备液}}$  加至 100 mL 容量瓶, 分别得  $C_{\text{工作液}} = 0.1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。实验用水均为一次蒸馏水。

### 1.2 实验原理

胭脂红和柠檬黄这两种物质的吸收光谱相互重叠,

收稿日期: 2012-07-19

作者简介: 孙延春(1979-), 女, 陕西延安人, 讲师, 硕士, 主要从事分析化学和配位化学方面的研究, (E-mail) sunyanchun2000@sina.com

且其最大吸收互有干扰,故可依据吸光度的加和性,通过接联立方程组来求解。故设试样中有两种吸光组分分别为A、B。通过在任意浓度下测得其两种物质在连续波长下的吸收光谱图,确定其两组份的最大吸收波长分别为 $\lambda_1$ 和 $\lambda_2$ ,然后分别测定这两种组分在 $\lambda_1$ 和 $\lambda_2$ 处得吸光光度值,设 $A_{\lambda_1}$ 和 $A_{\lambda_2}$ ,解联立方程。

$$\begin{cases} A_{\lambda_1}^{A+B} = \varepsilon_{\lambda_1}^A c^A L + \varepsilon_{\lambda_1}^B c^B L \\ A_{\lambda_2}^{A+B} = \varepsilon_{\lambda_2}^A c^A L + \varepsilon_{\lambda_2}^B c^B L \end{cases} \quad (1)$$

式中 $c^A$ ,  $c^B$ 为胭脂红,柠檬黄的质量浓度( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ );  $A_{\lambda_1}^{A+B}$ ,  $A_{\lambda_2}^{A+B}$ 为两种色素在波长下的吸光度加和值;  $\varepsilon_{\lambda_1}^A$ ,  $\varepsilon_{\lambda_2}^A$ ,  $\varepsilon_{\lambda_1}^B$ ,  $\varepsilon_{\lambda_2}^B$ 为A、B两色素在不同波长下的摩尔吸收系数,根据比耳定律计算。

$$\alpha = \frac{A_1}{c_1} + \frac{A_2}{c_2} + \frac{A_3}{c_3} + \frac{A_4}{c_4} + \frac{A_5}{c_5} = \frac{\sum A}{c} \quad (2)$$

$$\varepsilon = \alpha \cdot M \quad (3)$$

其中, $\alpha$ 为吸收系数, $M$ 为色素的摩尔质量。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 吸收光谱,摩尔吸光系数的测定

准确吸取一定体积的色素工作溶液,置于10 mL比色管中,用蒸馏水定容。在双光束紫外可见分光光度计上,1 cm比色皿,用蒸馏水作参比,在350~600 nm范围内扫描两色素的吸收光谱,确定其最大吸收波长。

分别准确吸取一定体积的色素工作溶液,置于10 mL比色管中,用蒸馏水定容。在波长424 nm,507 nm处分别测定吸光度。

#### 1.3.2 样品测量

饮料暴气后,加热煮沸出去 $\text{CO}_2$ ,取适量于1 cm比色皿中,用蒸馏水作参比,在波长424 nm,507 nm处分别测定吸光度。

#### 1.3.3 回收率的测定

分别准确吸取一定体积的色素工作溶液,置于10 mL比色管中,加饮料至刻线混匀,然后用蒸馏水作参

比,在波长424 nm,507 nm处分别测定吸光度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 柠檬黄、胭脂红的吸收光谱

图1为在350~600 nm波长范围内扫描柠檬黄和胭脂红的吸收光谱曲线。由图1可看出柠檬黄的最大吸收波长为424.7 nm,胭脂红的最大吸收波长为507.1 nm,柠檬黄和胭脂红的吸收光谱重叠严重,吸光度的干扰大。

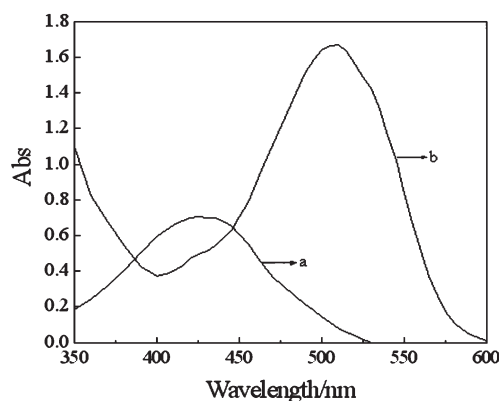


图1 柠檬黄(a)和胭脂红(b)的吸收光谱

### 2.2 柠檬黄和胭脂红摩尔吸收系数 $\varepsilon$ 的测定

分别测定了不同浓度下柠檬黄及胭脂红在424 nm及507 nm处的吸光度值,根据吸光度的加和性,联立方程组求解柠檬黄和胭脂红在424 nm及507 nm处的摩尔吸收系数 $\varepsilon$ 。结果见表1、表2。由计算可知柠檬黄在424 nm,507 nm处的摩尔吸收系数分别为 $1.72 \times 10^4$ 和 $0.22 \times 10^4$ ;胭脂红在424 nm,507 nm处的摩尔吸收系数分别为 $0.64 \times 10^4$ 和 $2.17 \times 10^4$ 。

图2、图3分别为柠檬黄和胭脂红的标准曲线,由标准曲线可知柠檬黄、胭脂红回归曲线方程分别为 $y = 36.07x - 0.0142$ ,  $y = 31.95x + 0.0296$ ,由回归曲线斜率可知柠檬黄的吸收系数为 $36.07 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ,胭脂红的吸收系数为 $31.95 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。由回归曲线得出的吸收系数与求解联立方程组得出的吸收系数值近似。

表1 柠檬黄在不同波长处的 $\varepsilon$ 值

样品	波长/nm	浓度/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$					a $/\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$	$\varepsilon \times 10^4 /$ $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
		0.003	0.004	0.005	0.006	0.007		
柠檬黄	424	0.0870	0.1232	0.1754	0.2063	0.2230	32.22	1.72
	507	0.0086	0.0126	0.0290	0.0296	0.0299	4.20	0.22

表2 胭脂红在不同波长处的 $\varepsilon$ 值

样品	波长/nm	浓度/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$					a $/\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$	$\varepsilon \times 10^4$ $/\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
		0.003	0.005	0.015	0.020	0.030		
胭脂红	507	0.1126	0.2083	0.5068	0.6728	0.9897	35.92	2.17
	424	0.0345	0.0511	0.1504	0.1908	0.2846	10.16	0.64

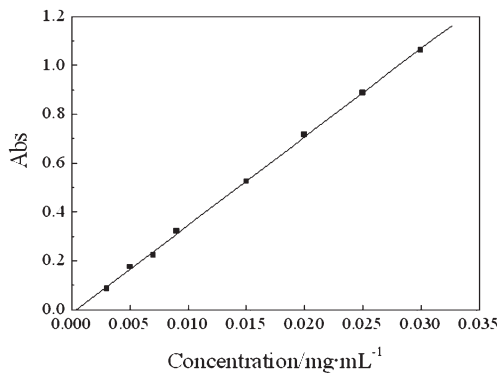


图 2 柠檬黄标准曲线

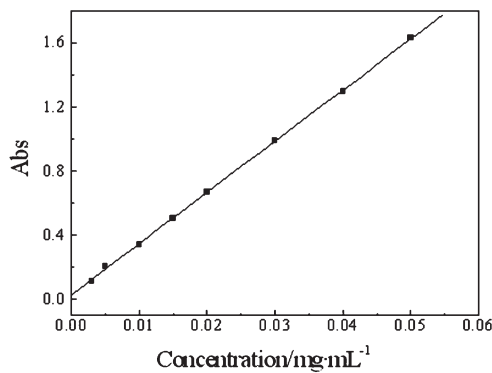


图 3 胭脂红标准曲线

2.3 饮料中柠檬黄及胭脂红含量的测定

实验中测定了美年达(橙味)饮料中柠檬黄及胭脂红的吸光度,根据柠檬黄和胭脂红在最大吸收波长处的吸光度值,求解联立方程组,得到饮料中柠檬黄和胭脂红的含量,结果见表 3。由表中数据可知美年达橙味中柠檬黄的含量为  $4.32 \times 10^{-3} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,胭脂红的含量为  $3.36 \times 10^{-3} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,相对标准偏差分别为 2.89 和 2.57。测定结果表明饮料中两种色素的含量符合食品添加剂卫生标准,这种测定方法精密度较高。

表 3 美年达(橙味)饮料测定结果

序号	柠檬黄		胭脂红	
	Abs/ $\lambda_{\text{MAX}}$	浓度 $\times 10^{-3}$ /mg·mL <sup>-1</sup>	Abs/ $\lambda_{\text{MAX}}$	浓度 $\times 10^{-3}$ /mg·mL <sup>-1</sup>
1	0.1661	4.13	0.1337	3.24
2	0.1745	4.36	0.1385	3.35
3	0.1725	4.29	0.1387	3.36
4	0.1748	4.36	0.1400	3.39
5	0.1794	4.47	0.1439	3.48
平均值		4.32		3.36
RSD (%)		2.89		2.57

2.4 加标回收率的测定

在美年达(橙味)饮料中加入了不同浓度的柠檬黄

或胭脂红,分别测定了加标后溶液的吸光度,通过求解方程组计算出了回收量。表 4、表 5 分别为美年达(橙味)饮料中柠檬黄和胭脂红加标回收试验结果,从数据可知回收率在 90% 左右,回收率较高,反映出实验结果较准确度。

表 4 美年达(橙味)饮料中柠檬黄加标回收试验结果

序号	初始值 $\times 10^{-3}$ /mg· mL <sup>-1</sup>	加标量 /mg· mL <sup>-1</sup>	回收量 $\times 10^{-3}$ /mg· mL <sup>-1</sup>	回收率 /%
1	4.32	0.005	4.51	90.2
2	4.32	0.007	6.28	89.7
3	4.32	0.010	8.87	88.7
4	4.32	0.012	10.99	91.6
5	4.32	0.014	12.34	88.1
平均值				89.7

表 5 美年达(橙味)饮料中胭脂红加标回收试验结果

序号	初始值 $\times 10^{-3}$ /mg· mL <sup>-1</sup>	加标量 /mg· mL <sup>-1</sup>	回收量 $\times 10^{-3}$ /mg· mL <sup>-1</sup>	回收率 /%
1	3.36	0.005	4.52	90.4
2	3.36	0.007	6.41	91.6
3	3.36	0.010	8.98	89.8
4	3.36	0.012	11.04	92.0
5	3.36	0.014	12.49	89.2
平均值				90.6

3 结束语

饮料中两种色素的含量符合食品添加剂卫生标准,这种测定方法精密度较好,仪器简单,操作方便,易于推广。

参考文献:

- [1] 陈国庆,吴亚敏,刘慧娟,等.基于荧光光谱和径向基函数神经网络的合成食品色素测定和鉴别[J].光谱学与光谱分析,2010,30(3):706-709.
- [2] Erdal D,Emine B,Murat K,et al.Spectrophotometric multicomponent determination sunset yellow and tartrazine in soft drink power by double divisor-ratio spectra derivative[J].Talanta,2002,58(1):579-594.
- [3] 董光华,李建晴.分光光度法同时测定柠檬黄和胭脂红[J].忻州师范学院学报,2009,25(2):6-9.
- [4] 祁广建,王熠,沈国英,等.染色大米中苹果绿色素含量的 HPLC 测定[J].中国公共卫生,2002,18(5):629-632.
- [5] 白洁玲.导数吸附伏安法同时测定柠檬黄及日落黄[J].分析测试学报,1996,15(4):56-59.

- [6] 刘玉莹.示波极谱法测定饮料及糖果中人工合成色素柠檬黄[J].中国医学检验杂志,2001,2(1):53-54.
- [7] 贾燕,张克荣,郑波.偏小二乘法-分光光度法同时测定多种食用合成色素[J].重庆医科大学学报,2005,30(2):260-262.
- [8] 张浩,魏新军,任玉芬.饮料中柠檬黄和亮蓝的同时测定[J].饮料工业,2001,4(4):43-45.
- [9] 高倩.紫外分光同时测定四种食用合成色素[J].食品科学,1999(3):56-58.
- [10] 景顺杰,李建晴.分光光度法直接测定饮料中的柠檬黄和胭脂红[J].山西大同大学学报:自然科学版,2006,23(3):22-24.

## Determination of Pigments in Beverage by Ultraviolet Spectrophotometry

SUN Yan-chun, JING Ming

(School of Chemical and Pharmaceutical Engineering, Sichuan University of Science & Engineering, Zigong 643000, China)

**Abstract:** A method for simultaneous determination of two pigments in beverage are developed by Ultraviolet spectrophotometry. Tartrazine and ponceau 4R in beverage is determined by this method. The results show that maximum absorption wavelengths are 424 nm and 507 nm respectively, the absorption coefficients are  $32.22 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  and  $35.92 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  respectively, the molar absorption coefficients are  $1.72 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  and  $2.17 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  respectively. The contents of tartrazine and ponceau 4R in beverage are  $4.32 \times 10^{-3} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  and  $3.36 \times 10^{-3} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  respectively, relative standard deviations are 2.89% and 2.57% respectively, the recovery rates are 89.7% and 90.6% respectively. This method is proved to be simply and convenient and deserved to be popularized.

**Key words:** spectrophotometry; pigment; beverage