

CODEX 2nd.ed 1972

[2] B.A.FOX and A.G.Cameron, 食物科学的化学基础科学出版社 1983 尚久方、张玉昆等译

[3] The Federation of Food Additives Associations in Japan, THE JAPANESE STANDARDS OF

FOOD ADDITIVES 4th.ed 1979

[4] 天津轻工业学院编: 食品添加剂 轻工业出版社 1978

[5] 郑鹏然节译 国外医学参考资料(卫生学分册) 1977.1

[6] 上海第一医院、中国医科院卫研所主编: 食品毒理 人民卫生出版社 1978

## 橙 油 的 测 定 方 法 探 讨

长春市卫生防疫站 李希媛、金淑兰

最近几年,我国从美国进口制冷设备的同时,带进了美国着色剂橙油,并越来越多的应用于食品生产中。美国进口色素橙油的使用说明书中规定,生产水果每公斤不得超过0.8克,比我国食品色素柠檬黄与日落黄最大使用量高8倍。目前我国对橙油的使用剂量和含量测定还没有统一的标准和方法。

为了认真贯彻食品卫生法,适应食品生产的管理和监测工作的需要,我们在实验室的工作中,经过反复试验,摸索了橙油含量的检验方法,得到了满意的效果,并应用于实际工作中。

现将进口食用色素橙油的检验方法介绍如下,希有关同道批评指教。

### 一、原理:

聚酰胺在酸性条件下与水溶性酸性染料结合,而在碱性条件下解吸色素,单色可直接与标准比较定量,复色可用滤纸色谱进行分离鉴定后与标准比较,做定性、定量的测定。

### 二、试剂:

#### 1. 聚酰胺粉:

(尼龙6) 滤化一小时温度100°C或701厂出品的聚酰胺,颗粒度为14~30目。

2. 乙醇—氨水: 取乙醇90毫升,加氨水10毫升。

3. 20%柠檬酸。

4. pH=6水: 用20%柠檬酸调至pH=6。

5. 展开剂: 异丁醇:无水乙醇:水=3:2:2供纸色谱用。

### 三、标准液的配制:

1. 贮备液: 精确称取橙油1.0克,用pH=6的蒸馏水溶解于100毫升容量瓶中定容,每毫升相当商品橙油10毫克。暗处保存。

2. 应用液: 取橙油贮备液10毫升,置于100毫升容量瓶中定容。

### 四、仪器:

1. G<sub>3</sub>或G<sub>4</sub>垂熔漏斗。

2. 滤纸: 5×20中速滤纸《新华1号》,纸色谱用。

3. 微量注射器或血色素吸管。

4. 展开槽或250毫升量桶。

5. 电吹风机。

6. 真空泵或水泵。

7. 721型分光光度计。

### 五、操作方法及步骤:

#### 1. 样品处理

冷饮水(冰果): 精确吸取或称重10~20克、置于25毫升比色管或100毫升三角烧瓶,驱除二氧化碳,用20%柠檬酸调成pH=4,水浴60°C。

#### 2. 吸附分离

称取聚酰胺粉1~1.5克,倒入上述在水浴的样液中,充分振荡,置60°C水浴锅15~20分钟,复色素完全吸附,聚酰胺粉不足可补加。将聚酰胺全部移入G<sub>3</sub>垂熔漏斗中,

抽滤、用20%柠檬酸酸化至pH=4 蒸馏水加热60℃、反复洗涤，每次10~20毫升，至洗液无色为止。再用乙醇—氨溶液分次解吸全部色素。收集全部解吸液，再用20%柠檬酸溶液调至pH=6，定容100毫升。

### 3. 定性〈纸色谱法〉

取上液100毫升，浓缩至0.5毫升，移入2毫升容量瓶中。

取色谱用滤纸〈新华1号〉，在距底边2厘米的起始线上点样10~30微升，同时点橙油标准液（10毫克/毫升）5，10，20微升，挂在分别加有展开剂95。毫升量桶内（或展开槽中），使溶剂系统平衡半小时后，再行展开。待溶剂到达离起始点15厘米处，将滤纸取出于鉴气中晾干，与标准色斑比较，若比移值相同即为同一色素。

也可取样0.5毫升，在起始线上从左到右点成带状，纸的右边点色素标准溶液，依次展开，晾干后先定性后定量。

### 4. 定量：

1）若为已知橙油色素，解吸定溶后，直接与标准比较定量。

2）将纸色谱的带状色斑剪下，加乙醇—氨洗脱至无色、移入10毫升比色管中，加水至刻度。

3）精确吸取橙油标准液高10毫升，低0，0.2，0.4，0.6，0.8，1.0……（高浓度相当色素0，2，4，6，8，10毫克，低浓度相当色素0，0.2，0.4，0.6，0.8，1.0毫克），分别置于10毫升比色管中，均加pH=6的水稀释至刻度。

上述样品与标准分别用1厘米比色杯以蒸馏水做为零管调零，于450毫微米波长下，用721型分光光度计比色，绘制标准曲线，比较定量。

### 5. 计算：

$$\text{色素(克/公斤)} = \frac{A \times 1000}{W \times \frac{V_2}{V_1} \times 1000}$$

式中：A：测定用样中色素含量，毫克；

W：样品重量，克（毫升）；

V<sub>1</sub>：样液解吸后总体积，毫升；

V<sub>2</sub>：取样液体积，毫升。

### 检验结果：

①橙油色素标准波长的选择，表1。

色素名称	波 长 (毫微米)	光 密 度 峰 值	
		低浓度0.2mg	高浓度2mg
橙 油	430	0.02	0.235
	460	0.03	0.30
	470	0.031	0.32
	480	0.033	0.325
	490	0.032	0.316
	500	0.030	0.30
	510	0.026	0.275

从表1可见，橙油色素波长选480mm最佳。

②橙油色素标准液的高低浓度光密度值，见表2、3。

低浓度橙油标准光密度值 表2

时 间	毫 升				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
	光 密 度 值				
第一次配样10分钟比色	0.033	0.069	0.099	0.130	0.160
第一次配样4小时比色	0.033	0.060	0.099	0.130	0.160
第二次配样30分钟比色	0.030	0.070	0.095	0.135	0.160
第二次配样36小时比色	0.035	0.06	0.095	0.125	0.155

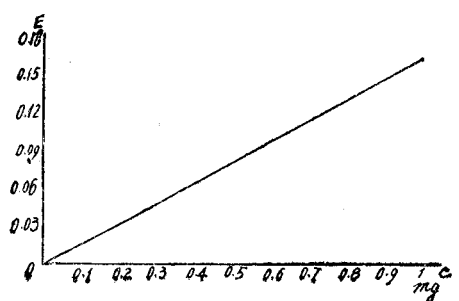


图 1

高浓度橙油色素标准光密度值 表 3

$\frac{E}{t}$	ml					
	0	2	4	6	8	10
第一次配标10分钟	0	0.325	0.170	1.10	1.35	1.60
第一次配标4小时	0	0.32	0.69	1.10	1.45	1.70
第二次配标30分钟	0	0.355	0.70	1.10	1.35	1.60
第二次配标36小时	0	0.335	0.66	1.05	1.3	1.60

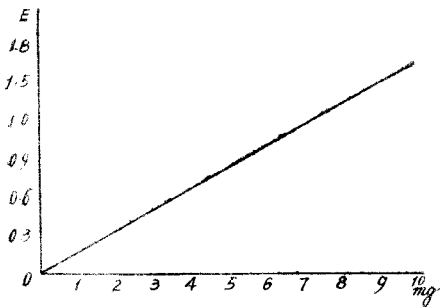


图 2

从表 2、3 和图 1、2 可见，橙油标准液色阶呈阶梯、光密度值比较稳定。而经不同时间测定标准光密度，重现性好，呈线性关系，表明橙油色素比较稳定。

样品回收与标准回收均在 88~103% 之间，此法准确度较好（见表 4，5，6）。

由变异系数知，此法精密度较好。

样品测得结果 表 4

测定次数	光密度值	测定结果 (mg/kg)
1	0.075	0.56
2	0.017	0.55
3	0.085	0.59
4	0.09	0.60
5	0.08	0.58
6	0.09	0.60
$\bar{X}$		0.58
S		0.021
Cr%		3.6

讨论:

①利用聚酰胺解吸美国进口食用色素橙油，得到了满意的检验结果，其中变异系数为316%，回收率在88~103之间，精密度与

样品加标回收率 表 5

样品编号	光密度值	样品含量 (g/kg)	加标光密度值	加标含量 (s/kg)	回收率 (%)
1	0.100	0.42	0.220	1.3	88
2	0.095	0.37	0.240	1.4	103
3	0.139	0.87	0.140	0.85	101
4	0.085	0.50	0.150	1.0	100

注：3号样加标、取原样一半加标0.4毫克。

标准回收 表 6

编 号	1	2	3	4
测得光密度值	0.16	0.16	0.33	0.295
测得结果(g/kg)	1.00	1.00	1.00	0.95
回收率	100%	100%	100%	95%

注：3、4号定容为50毫升。

准确度均达到要求。

②橙油色素的标准液在 721 型分光光度计，用 1 厘米比色杯比色，波长选段在48毫微米为最佳值。

③橙油高、低浓度标准曲线和光密度值重现性好，呈线性关系，符合比尔定律。

④美国进口色素橙油以日落黄为主，美国规定食用卫生标准与我国规定日落黄，柠檬黄的用标准高八倍，用此法抽查清饮样品中，橙油色素均在 0.4~0.7 克/公斤，均超过标准 4~7 倍，应加以限制。