

冉丹, 罗苏苏, 张可欣, 等. HPLC 法检测蜜饯中 20 种合成着色剂含量 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(16): 281-289. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100307

RAN Dan, LUO Susu, ZHANG Kexin, et al. Determination of 20 Kinds of Synthetic Colorants in Candied Fruit by HPLC[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(16): 281-289. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100307

· 分析检测 ·

HPLC 法检测蜜饯中 20 种合成着色剂含量

冉丹, 罗苏苏, 张可欣, 肖玥惠子, 王淑霞, 徐思敏, 李 萌

(湖南省产商品质量检验研究院食品安全监测与预警湖南省重点实验室, 湖南长沙 410007)

摘要: 建立蜜饯中柠檬黄、新红、苋菜红、靛蓝、丽春红 S、胭脂红、喹啉黄、日落黄、诱惑红、亮蓝、酸性红 44、酸性红、食品红 1、橙黄 1、酸性红 50、专利蓝 V、赤藓红、酸性橙 2、酸性橙 8、亮蓝 G 共 20 种合成着色剂的高效液相色谱测定方法。试样用甲醇/氨水溶液提取, 混合型弱阴离子反相固相萃取柱净化, 甲醇/20 mmol/L 乙酸铵为流动相梯度洗脱, 二极管阵列检测器多波长检测, 外标法定量。结果表明, 该方法在 0.1~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的线性范围内相关系数均大于 0.999, 加标回收率范围为 84.0%~104.5%, 相对标准偏差 (RSD) 为 1.3%~5.3%。该方法操作便捷、稳定性好、回收率高, 适用于蜜饯中 20 种合成着色剂的同时分析检测。该方法可以扩展应用于其他同结构性质的色素分析, 对其他食品类别中色素的检测也具有参考意义。

关键词: 合成色素, 甲醇/氨水提取, 混合型弱阴离子反相固相萃取, 高效液相色谱法, 蜜饯

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)16-0281-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021100307



本文网刊:

Determination of 20 Kinds of Synthetic Colorants in Candied Fruit by HPLC

RAN Dan, LUO Susu, ZHANG Kexin, XIAO Yuehuizi, WANG Shuxia, XU Simin, LI Meng

(Hunan Provincial Key Laboratory of Food Safety Monitoring and Early Warning, Hunan Institute of Product Quality Inspection, Changsha 410007, China)

Abstract: A method for the determination of tartrazine, xinhong, amaranth, indigo, ponceau S, carmine, quinoline yellow, sunset yellow, temptation red, bright blue, acid red 44, acid red, food red 1, orange yellow 1, acid red 50, patent blue V, erythrin, acid orange 2, acid orange 8 and bright blue G in candied fruit was established by high-performance liquid chromatography. The sample was extracted by methanol/ammonia solution, purified by mixed weak anion reversed phase solid phase extraction, eluted by methanol/20 mmol/L ammonium acetate as mobile phase, detected by multi-wavelength diode array detector, and quantified by external standard method. The correlation coefficients were higher than 0.999 in the linear range of 0.1~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The recoveries were 84.0%~104.5%, the relative standard deviations (RSDs) were 1.3%~5.3%. Results showed that, the method had the advantages of convenient operation, good stability and high recovery, and was suitable for simultaneous analysis of 20 synthetic colorants in candied fruit. The method could be extended to the analysis of other colorants with the same structure property, and could be reference significance for the detection of colorants in other food categories.

Key words: synthetic colorants; methanol/ammonia extraction; mixed weak anion reversed phase solid phase extraction; high-performance liquid chromatography; candied fruit

合成着色剂又称合成色素, 是一种重要的食品添加剂, 可以改善食品色泽, 较天然色素具有成本低、着色力好等优势, 因而广泛被应用于食品工业^[1-3]。

在食品抽检过程中发现, 合成着色剂在蜜饯产品中应用较多, 如口味姜、猕猴桃果脯、杨梅凉果、芒果干等, 一些蜜饯产品合成着色剂超标情况频频出现。而

收稿日期: 2021-11-01

基金项目: 湖南省科技创新平台与人才计划项目 (2019TP1058)。

作者简介: 冉丹 (1987-), 女, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 食品质量检验, E-mail: 674844338@qq.com。

合成着色剂作为一种化工产品,长期食用对人体存在一定的潜在危害^[4-6]。因此,为保障食品安全,蜜饯中合成着色剂的检测仍然是工作重点。

目前适用于测定蜜饯中合成色素的标准方法为 GB 5009.35-2016^[7],该方法在蜜饯测定过程中存在诸多方面的问题^[8-9]。该标准采用液液分配法和聚酰胺粉吸附法分别测定赤藓红和其他 6 种合成着色剂,操作繁琐、耗时长,不利于实现批量检测。此外蜜饯样品在抽提过程中,其残渣极容易堵塞垂融漏斗,造成抽提困难,实验难以进行。聚酰胺粉吸附法操作不当,难以保证较好的回收率。

根据 GB 2760-2014 规定^[10],我国允许在食品中添加的有机合成色素有 11 种,分别为柠檬黄、日落黄、新红、苋菜红、胭脂红、亮蓝、赤藓红、酸性红、诱惑红、靛蓝、喹啉黄。就现有的标准检测方法来看^[7,11-13],均只覆盖部分产品类别和部分色素项目,难以满足实际检测需要。值得重视的是,和欧盟及其他国家法规相比较^[14-16],我国在合成着色剂方面的监管还存在滞后情况,例如我国专利蓝 V、橙黄、丽春红 S 等还并未纳入监管范畴,也没有相应的检测标准和方法,而在欧盟及其他国家已被允许应用于食品工业。国外一些关于此类新型色素已屡有报道,如 2019 年 6 月输日食品违反日本食品卫生法的情况,通报了原产地为俄罗斯的点心专利蓝 V 非法添加^[17];2020 年 12 月 3 日,欧盟发布条例(EU) 2020/1819,修订(EC) No 1333/2008 附件 II 中关于在鲑鱼替代品中的色素使用规定^[18],其中就包含了橙黄和丽春红 S。由此可见,面对品类繁多的新型合成着色剂,我国相应的法律法规及市场监管亟待完善。

目前关于色素的分析研究,已有很多文献报道,如刘珈伶^[19]固相萃取法测定冰淇淋中 6 种合成色素,唐一秋^[20]采用色素专用柱测定茶饮料中 9 种合成着色剂,夏宗艳等^[21]采用 90% 丙酮作为提取剂,固相萃取法测定食品中 8 种色素,高家敏等^[22]采用高效液相色谱法同时测定饮料中 12 种水溶性合成着色剂。但现有的文献基本都是基于特定的样品基础,选择性对部分色素类别进行研究,没有基于合成色素结构特性,开发具有普适性的检测方法。本研究旨在以蜜饯为样品基础,建立一个具有普适性的,可以检测同类型合成着色剂的方法,并可以扩展应用到其他食品类别。同时对前处理各关键影响因素进行探索研究,优化色谱条件,以实现复杂基质样品中合成色素准确、高效、高通量的检测分析。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

标准品:柠檬黄(CAS 1934-21-0, 0.5 mg/mL)、新红(CAS 220658-76-4, 1.0 mg/mL)、苋菜红(CAS 915-67-3, 0.5 mg/mL)、日落黄(CAS 2783-94-0, 0.5 mg/mL)、胭脂红(CAS 2611-82-7, 0.5 mg/mL)、亮蓝(CAS 3844-45-9, 0.5 mg/mL)、赤藓红(CAS 16423-

68-0, 纯度 86.0%)、酸性红(CAS 3567-69-9, 纯度 87.4%)、诱惑红(CAS 25956-17-6, 纯度 86.0%)、酸性橙 2(CAS 633-96-5, 纯度 80.8%)、靛蓝(CAS 860-22-0, 1.0 mg/mL)、丽春红 S(CAS 6226-79-5, 纯度 91.4%)、喹啉黄(CAS 8004-92-0, 纯度 90.5%)、专利蓝 V(CAS 3536-49-0, 纯度 89.7%)、酸性红 44(CAS 2766-77-0, 纯度 85.0%)、食品红 1(CAS 4548-53-2, 纯度 90.5%)、橙黄 1(CAS 523-44-4, 纯度 88.3%)、酸性橙 8(CAS 5850-86-2, 纯度 99.9%)、亮蓝 G(CAS 6104-58-1, 纯度 91.4%)、酸性红 50(CAS 5873-16-5, 纯度 60.6%) 均购于上海安谱公司。

乙酸铵、无水乙醇、氨水(分析纯),甲醇、乙腈(色谱纯) 国药集团;Inspire C₁₈ 色谱分析柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 迪马科技有限公司;聚酰胺柱 Cleanert PA(1 g/6 mL) 天津博纳艾杰尔科技有限公司;混合型强阴离子反相固相萃取柱 ProElut PXA(150 mg/6 mL)、混合型弱阴离子反相固相萃取柱 ProElut PWA(150 mg/6 mL)、混合型弱阴离子反相固相萃取柱 ProElut PWA-2(150 mg/6 mL) 迪马科技有限公司;混合型弱阴离子反相固相萃取柱 Cleanert PWAX 柱(150 mg/6 mL) 天津博纳艾杰尔科技有限公司;混合型弱阴离子反相固相萃取柱 CNW poly-sery PWAX (150 mg/6 mL)、CNW poly-sery 色素专用固相萃取柱(500 mg/6 mL) 上海安谱公司;样品材料口味姜、甜心金桔干、猕猴桃干、金梅姜等 源于抽检残余样品及市场采购。

岛津 LC-20A 高效液相色谱仪(配 DAD 检测器) 岛津(中国)有限公司;Milli-Q 超纯水仪 德国默克密理博公司;VGT 超声波振荡仪 广东固特公司;M37610-33 涡旋振荡器 赛默飞世尔公司;SHZ-W 恒温水浴锅 常州万顺仪器制造有限公司;TD-6 高速离心机 万和仪器制造公司;HPD 24 位固相萃取装置 色谱科仪器公司;MTN-2800W 氮吹浓缩仪 天津奥特赛恩斯仪器公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理 样品取可食部分,经充分粉碎后混合均匀,称取 5.0 g(精确至 0.01 g)于 50 mL 具塞比色管中,加入 20 mL 提取剂(甲醇:氨水=10:1, v/v),涡旋混匀后超声 10 min,重复提取两次,上清液水浴蒸发至近干,3~5 mL 水少量多次溶解转移至 15 mL 离心管,加入 100 μL 甲酸混匀,待净化。依次用 5 mL 甲醇、5% 甲酸水溶液活化混合型弱阴离子反相固相萃取柱 ProElut PWA-2,将待净化液转移至萃取小柱,控制流速每秒 1 滴,再依次用 5 mL 5% 甲酸、甲醇淋洗,弃去淋洗液,用 6 mL 5% 氨水甲醇洗脱,收集洗脱液,氮吹浓缩至近干,流动相(甲醇:20 mmol/L 乙酸铵=2:8, v/v)溶解定容至 1 mL,过 PTFE 膜,待测。

1.2.2 液相色谱参考条件 岛津 LC-20A 高效液相色谱仪(配 DAD 检测器);色谱柱:Inspire C₁₈ 色谱分析柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);柱温:30 °C;进样量:

表 1 梯度洗脱条件

Table 1 Gradient elution conditions

时间(min)	流速(mL/min)	A 甲醇(%)	B 20 mmol/L 乙酸铵(%)
0.0	1.0	10	90
2.0	1.0	10	90
18.0	1.0	70	30
27.0	1.0	90	10
32.0	1.0	90	10
34.0	1.0	10	90
38.0	1.0	10	90

10 μ L; 检测波长: 254 nm/428 nm/509 nm/625 nm; 流速: 1.0 mL/min; 流动相 A 为甲醇, 流动相 B 为 20 mmol/L 乙酸铵溶液, 梯度洗脱条件见表 1。

1.2.3 标准溶液 称取固体标准品各 5.0 mg(按纯度折算后的质量), 水定容至 10 mL 容量瓶, 配制浓度为 0.5 mg/mL 标准储备液, 新红、靛蓝液体标准品直接稀释至 0.5 mg/mL, 分别准确移取 0.01、0.1、0.2、0.4、1.0、2.0 mL 标准储备液于 50 mL 容量瓶中, 水定容至刻度, 配得浓度为 0.1~20 μ g/mL 系列标准工作液。按 1.2.2 进行分析测定, 记录线性方程及相关系数。

1.2.4 方法学考察 选择空白基质样品, 分别加入不同浓度水平的标液, 每个水平重复分析测定 6 次, 进行加标回收与精密度试验。以供试液响应最低项目的 3 倍信噪比及 10 倍信噪比确定检出限与定量限。

1.3 数据处理

通过与岛津 LC-20A 仪器配套的 Labsolution 色谱处理软件完成数据采集分析, 采用 Excel 软件进行图形绘制及处理, 结果统计为 3 次平行测定结果。

2 结果与分析

2.1 提取剂的选择

提取是分析检测的第一步, 也是关键步骤, 如果提取溶剂选择不当, 会直接影响目标物回收率。有文献提出采用水溶液超声提取^[23]、亚铁氰化钾-乙酸锌-水溶液沉淀提取^[24]、丙酮/水溶液提取^[21]、乙醇/氨水/水溶液提取^[25]、乙腈/氨水溶液提取^[26]、甲醇/氨水溶液提取^[27]等方法提取着色剂。本研究就以上各种提取溶剂进行了比较, 以柠檬黄、胭脂红、日落黄、酸性橙 2 四种极性有差异的合成着色剂为监测指标, 以蜜饯加标样品作为分析对象, 研究其提取效果及回收率, 回收率为统计 3 次平行试验结果值, 如表 2。

以上结果表明, 采用乙醇/氨水/水、甲醇/氨水两种提取溶剂时回收率较高、便于操作。通过分析合成着色剂分子结构式, 发现除靛蓝外, 赤藓红为苯甲酸钠结构, 其他合成着色剂均为苯磺酸钠结构, 而含此类酸性基团的色素更容易被碱性提取溶剂提取。采用乙腈/氨水提取, 虽然回收率高, 但因某些蜜饯样品可能会添加氯化钠、山梨酸钾、苯甲酸钠、焦亚硫酸钠及糖类, 产生盐析和糖析现象, 应用范围存在局限。为进一步探索比较乙醇/氨水/水、甲醇/氨水两种提取方式, 选取口味姜丝、芒果干及甜心金桔三种样品类型分别进行比较研究。试验发现, 在检测分析甜心金桔干样品时, 采用乙醇/氨水/水、甲醇/氨水两种提取溶剂, 日落黄、酸性橙 2 回收率差异不大, 但乙醇/氨水/水提取, 柠檬黄、胭脂红回收率很低, 平行性很差, 高低相差近 10 倍, 测试结果见表 3。所以本研究提取液采用甲醇/氨水作为优化选择的样品提取液。

表 2 不同提取溶剂的提取效果及回收率比较

Table 2 Comparison of extraction effect and recovery rate with different extraction methods

提取溶剂	提取效果	回收率(%)
温热水	样液极浑浊	35.2 \pm 10.0
乙酸铵水溶液	样液极浑浊	37.6 \pm 8.8
亚铁氰化钾-乙酸锌	样液澄清	26.3 \pm 6.9
硫酸-钨酸钠	样液较澄清	27.5 \pm 7.3
丙酮:水=9:1, v/v	样液澄清, 部分样品结团, 不易分散	51.2 \pm 5.4
乙腈:氨水:水=7:2:1, v/v	样液澄清	92.6 \pm 3.7
甲醇:氨水=10:1, v/v	样液澄清	93.6 \pm 3.9
乙腈:氨水=10:1, v/v	样液澄清, 但有样品提取液出现分层	91.6 \pm 4.1

表 3 不同提取剂对不同样品的色素回收率比较(%)

Table 3 Comparison of colorant recovery rate of different extractants for different samples (%)

样品类型	提取剂	柠檬黄	胭脂红	日落黄	酸性橙2
口味姜丝	乙醇/氨水/水	93.4 \pm 3.1	90.3 \pm 4.1	93.0 \pm 4.4	91.4 \pm 3.4
	甲醇/氨水	94.2 \pm 3.0	91.2 \pm 2.6	93.2 \pm 3.1	94.4 \pm 3.1
芒果干	乙醇/氨水/水	91.0 \pm 3.2	91.3 \pm 2.9	94.0 \pm 4.7	92.5 \pm 2.8
	甲醇/氨水	92.3 \pm 4.1	92.5 \pm 3.5	93.3.0 \pm 2.5	93.1 \pm 3.5
甜心金桔	乙醇/氨水/水	11.5 \pm 7.1	26.3 \pm 10.2	91.0 \pm 3.2	92.3 \pm 4.1
	甲醇/氨水	89 \pm 4.9	91.3 \pm 2.9	92.2 \pm 3.5	91.4 \pm 2.7

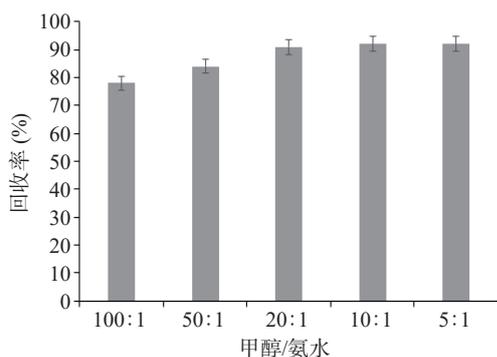


图1 不同比例甲醇氨水溶液提取效率比较

Fig.1 Comparison of extraction efficiency of methanol-ammonia solution with different proportions

通过对不同比例甲醇/氨水进行试验,发现氨水比例越高,提取效果越好,结果见图1。但甲醇/氨水比例到达20:1后,增加氨水比例,回收率影响并不明显,考虑到某些样品本身可能含有天然酸性物质,会中和少量碱,所以提取溶剂宜增大氨水使用比例。当甲醇/氨水比例为5:1时,增加后续蒸发浓缩时长。故最终本文选择的甲醇/氨水比例为10:1。

2.2 固相萃取柱选择

现有国标多采用聚酰胺吸附法净化合成着色剂,该法成本低,但过程繁琐耗时,不利于实现批量检验。固相萃取技术是目前常用的净化手段,能有效提

取目标物,在检测领域应用广泛。也有文献对固相萃取柱在合成着色剂方便的应用进行了探索,如刘秀娟等^[28]采用HLB柱净化饼干中合成着色剂;任荣军等^[29]采用Cleanert-PWAX柱净化中成药中合成着色剂;刘珈伶等^[19]采用Oasis WAX柱净化冰淇淋中合成着色剂。由于合成着色剂多为苯磺酸、苯甲酸类有机酸,若采用C₁₈、HLB硅胶基质SPE柱,保留较弱,难以吸附,或在淋洗阶段被洗脱。结合色素结构特性,选择阴离子交换模式较为适宜,市面上阴离子交换柱类型较多,本试验选择国产3个品牌7种固相萃取小柱进行比较研究,分别为聚酰胺柱: Cleanert PA(1 g/6 mL),混合型强阴离子反相固相萃取柱: ProElut PXA(150 mg/6 mL),混合型弱阴离子反相固相萃取柱: ProElut PWA(150 mg/6 mL)、ProElut PWA-2(150 mg/6 mL)、Cleanert PWAX柱(150 mg/6 mL)、CNW poly-sery PWAX(150 mg/6 mL),CNW poly-sery色素专用柱(500 mg/6 mL)。本实验通过对同一加标样品加入甲醇/氨水进行提取,蒸发浓缩后加入甲酸,以保证待净化液偏酸性,再采用相同的淋洗和洗脱条件进行SPE净化处理(见1.2.1),以测试7种固相萃取柱对不同色素的回收率,统计3次平行测试结果如下表4。试验表明聚酰胺柱 Cleanert PA对丽春红S、胭脂红、酸性红等保留性强难以洗脱;混合型强阴离子反相柱 ProElut PXA对所有色素

表4 不同固相萃取柱回收率比较(%)

Table 4 Comparison of recovery rate with different solid phase extraction columns (%)

序号	项目	Cleanert PA	ProElut PXA	ProElut PWA	ProElut PWA-2	cleanert PWAX	poly-sery 专用柱	poly-sery PWAX
1	柠檬黄	98.1±3.1	3.8±1.1	87.2±3.1	91.7±1.1	89.7±1.1	95.1±4.6	92.5±1.1
2	新红	65.3±2.6	6.4±2.5	85.3±2.3	92.6±2.1	91.5±5.3	96.5±2.7	94.5±3.1
3	苋菜红	61.1±4.3	9.0±3.2	61.5±1.1	94.3±3.4	97.3±2.2	94.7±4.2	92.3±4.3
4	靛蓝	72.4±3.3	13.3±1.7	92.6±1.4	94.4±2.5	92.3±1.1	87.2±2.7	92.1±3.4
5	丽春红S	4.0±3.2	1.2±2.5	46.7±5.1	88.2±2.2	94.1±2.1	92.6±4.4	94.5±3.5
6	胭脂红	0.5±0.1	0.3±3.2	52.2±3.2	98.3±1.8	94.2±1.2	92.8±1.5	91.7±2.1
7	喹啉黄QYNa ₂ I ^a	82.3±2.3	11.2±1.2	73.1±1.2	91.2±2.4	94.0±2.3	92.7±2.2	93.4±2.3
8	日落黄	92.1±4.1	13.2±4.1	86.3±1.5	94.2±3.8	95.7±2.1	94.2±3.2	93.3±3.3
9	喹啉黄QYNa ₂ II ^a	87.2±4.3	16.5±1.2	82.5±1.1	91.7±2.3	94.2±3.2	91.1±2.2	93.1±3.3
10	诱惑红	94.1±3.7	11.3±3.2	94.2±2.8	91.3±4.2	93.1±4.1	96.3±3.7	91.0±3.6
11	亮蓝	98.2±2.9	10.2±2.2	95.5±4.1	93.1±1.1	92.8±1.4	57.3±2.5	95.4±2.5
12	酸性红44	51.4±3.1	11.1±1.5	58.1±2.6	94.2±2.5	93.1±3.4	97.5±5.7	94.5±1.1
13	酸性红	31.3±2.3	1.3±1.1	59.3±5.5	94.6±3.1	97.3±2.9	91.2±5.1	91.3±2.1
14	喹啉黄 QYNaI ^a	71.8±4.3	15±1.9	63.3±2.1	90.2±2.7	93.4±3.6	92.1±2.7	94.2±3.6
15	食品红1	78.3±1.7	4.6±2.1	53.3±4.5	95.4±2.5	93.2±3.3	92.3±3.1	94.1±1.1
16	橙黄1	97.1±1.5	1.2±1.5	82.5±2.2	96.6±1.7	97.8±4.7	93.2±2.8	92.2±2.1
17	喹啉黄 QYNaII ^a	88.2±2.7	6.8±1.2	84.4±2.7	93.7±2.1	94.6±2.8	94.1±2.3	91.7±3.5
18	专利蓝V	96.5±2.8	1.4±1.1	96.1±3.7	92.3±2.3	93.3±5.9	69.4±4.2	94.3±1.2
19	酸性红50	96.1±4.6	1.1±0.9	95.7±2.1	91.5±4.5	92.4±2.2	92.2±3.2	91.2±1.4
20	赤藓红	94.2±2.3	3.2±3.1	81.3±5.6	97.2±2.3	95.5±3.4	93.0±2.1	91.3±2.0
21	酸性橙2	0.4±0.3	2.5±1.1	78.4±2.1	97.3±1.8	92.1±1.8	94.5±4.0	91.4±2.7
22	酸性橙8	98.5±3.7	1.7±0.5	98.2±3.1	98.1±3.1	97.2±3.2	95.2±3.2	95.1±1.9
23	亮蓝G	97.3±2.8	5.6±0.6	96.3±3.1	97.3±3.1	95.3±2.8	63.4±2.9	91.5±3.3

注:^a喹啉黄为2-(2-喹啉基)-苄满基-1,3-二酮单磺酸钠盐(QYNa)和2-(2-喹啉基)-苄满基-1,3-二酮二磺酸钠盐(QYNa₂)的混合物。QYNa、QYNa₂各存在两个同分异构体,按保留时间的前后分别定义为: QYNa₂ I、QYNa₂ II、QYNa I、QYNa II^[13]。

有极强吸附保留作用;混合型弱阴离子反相柱 ProElut PWA 比 ProElut PWA-2 保留性更强,部分色素回收率偏低;CNW poly-sery 色素专用柱对亮蓝、专利蓝 V、亮蓝 G 保留性较弱,在甲醇淋洗阶段被部分洗脱,回收率偏低。洗脱液氨水比例从 5% 提升到 20%,聚酰胺柱和混合型强阴离子反相柱对部分色素仍有强保留,因此不适宜色素分析。不同的弱阴离子反相柱可能最优淋洗和洗脱条件有所差异,在本试验条件下,ProElut PWA-2、cleanert PWAX、CNW poly-sery PWAX 性能相当,各色素均有较好的回收。本实验建立的方法选择 ProElut PWA-2 作为净化 SPE 柱。

2.3 针式过滤器及色谱分析柱的选择

针式过滤器是实验室最为常见的、使用频率很高的耗材,多用于上机前最后一步净化处理。然而某些材质的针式过滤器对目标物可能存在吸附作用,直接影响最终回收率。目前市面上主要滤膜材质分为

6 种,具体分类及性能如下表 5 所示。为研究 6 种滤膜(均选用 0.45 μm)对合成着色剂是否吸附作用,选用浓度为 2.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标样进行测试。结果表明,尼龙膜对合成着色剂吸附作用最为明显,其他膜对赤藓红存在一定吸附,PTFE 膜对合成色素基本无吸附作用。

色谱分析柱如选择不当,容易导致柠檬黄与新红分离度较差,通过优化条件也难以改善。本研究选用 Inspire C₁₈ 色谱分析柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)作为色谱分析柱,以甲醇-20 mmol/L 乙酸铵为流动相体系,通过优化条件,按表 1 条件梯度洗脱,20 种合成色素 30 min 可以完成很好分离,标准溶液色谱图见图 2。

2.4 检测波长的选择

目前国家标准和文献方法检测波长多选用 254 nm,但实际检测中发现复杂基质样品中大部分

表 5 不同滤膜材质类型及使用性能

Table 5 Different material types of filter membrane and its application performance

滤膜类型	适用条件	使用性能	合成着色剂适用情况
聚醚砜(PES)	水系	较高化学稳定和热稳定,耐酸碱	赤藓红少有吸附
混合纤维素酯(MCE)	水系	不耐有机溶液和强酸、强碱溶液	赤藓红少有吸附
尼龙(Nylon)	水系、有机系	化学稳定性较好,耐酸碱及有机试剂	大部分色素有吸附
聚四氟乙烯(PTFE)	水系、有机系	耐高温性好,抗强酸、碱及氧化剂	基本无吸附作用
聚偏氟乙烯(PVDF)	有机系	适用于化学腐蚀性强的有机溶剂	赤藓红少有吸附
聚丙烯(PP)	有机系	物理化学性质稳定,有较好相容性	赤藓红少有吸附

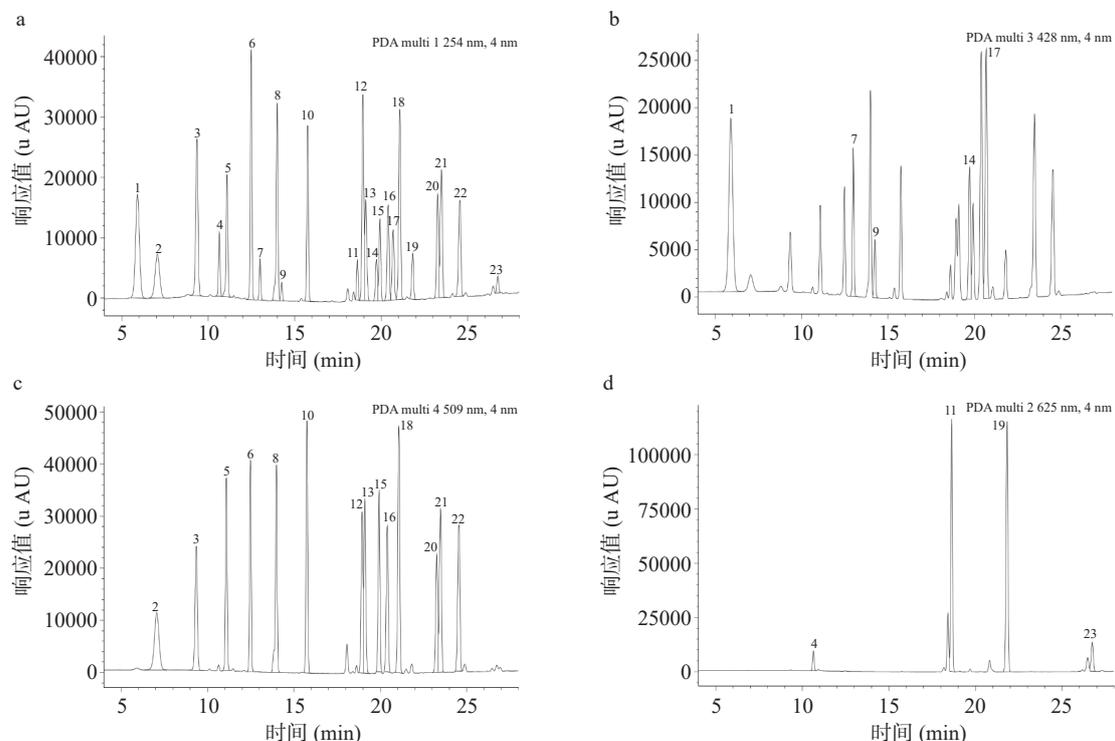


图 2 标准溶液色谱图

Fig.2 Standard solution chromatography

注: a、b、c、d 依次为标准溶液在波长 254、428、509、625 nm 的色谱图;出峰顺序为: 1.柠檬黄, 2.新红, 3.苋菜红, 4.靛蓝, 5.丽春红 S, 6.胭脂红, 7.喹啉黄 QYNa₂I, 8.日落黄, 9.喹啉黄 QYNa₂II, 10.诱惑红, 11.亮蓝, 12.酸性红 44, 13.酸性红, 14.喹啉黄 QYNaI, 15.食品红 1, 16.橙黄 1, 17.喹啉黄 QYNaII, 18.酸性红 50, 19.专利蓝 V, 20.赤藓红, 21.酸性橙 2, 22.酸性橙 8, 23.亮蓝 G。

干扰物在 254 nm 均有吸收,容易干扰积分判断。此外亮蓝、靛蓝、专利蓝 V 在紫外区灵敏度很低,往往定量不准,难以满足实际检测需要。本实验采用可见波长进行定量分析,二极管阵列检测器(DAD)对 20 种色素在 200~800 nm 范围内进行全波长扫描,各种合成着色剂最大吸收波长见表 6,综合考虑检测器通道的限制,最终选择 428、509、625 nm 为定量波长。

2.5 方法学考察

2.5.1 线性范围、检出限、定量限 将 1.2.3 的系列

标准溶液,按优化的色谱条件进行测定,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性拟合。结果可知,20 种合成色素在 0.1~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内均呈良好的线性,相关系数符合 GB/T 27404-2008 中附录 F.2 要求,不同种类合成着色剂的最大吸收波长、定量波长、线性方程及相关系数见表 6。在本试验条件下对供试液进行稀释,以单位浓度峰面积响应最低的靛蓝 3 倍信噪比确定检出限,10 倍信噪比确定定量限,结果如下表 6。本方法检出限均可以达到 GB5009.35-2016 检出限(0.5 mg/kg)要求。

表 6 20 种合成着色剂最大吸收波长、定量波长、线性方程、检出限及定量限

Table 6 Maximum absorption wavelength, quantitative wavelength, linear equation, detection limit and quantitative limit of 20 synthetic colorants

序号	项目	最大吸收波长 $\lambda(\text{nm})$	定量波长 $\lambda(\text{nm})$	线性方程	相关系数 r	检出限(mg/kg)	定量限(mg/kg)
1	柠檬黄	428	428	$Y=14772X+236$	0.99994	0.5	1.5
2	新红	507	509	$Y=10435X+315$	0.99996	0.5	1.5
3	苋菜红	522	509	$Y=11256X+102$	0.99989	0.5	1.5
4	靛蓝	609	625	$Y=2985X-116$	0.99912	0.5	1.5
5	丽春红S	518	509	$Y=12854X+256$	0.99936	0.5	1.5
6	胭脂红	510	509	$Y=12806X+330$	0.99998	0.5	1.5
7	喹啉黄QYNa ₂ I	412	428	$Y=4819X-111$	0.99994	0.5	1.5
8	日落黄	483	509	$Y=14439X+529$	0.99997	0.5	1.5
9	喹啉黄QYNa ₂ II	417	428	$Y=2002X-145$	0.99982	0.5	1.5
10	诱惑红	508	509	$Y=16089X+336$	0.99989	0.5	1.5
11	亮蓝	630	625	$Y=38530X-127$	0.99995	0.5	1.5
12	酸性红44	513	509	$Y=11767X+244$	0.99989	0.5	1.5
13	酸性红	518	509	$Y=12675X+369$	0.99996	0.5	1.5
14	喹啉黄 QYNaI	417	428	$Y=5580X-141$	0.99948	0.5	1.5
15	食品红1	504	509	$Y=12699X+512$	0.99998	0.5	1.5
16	橙黄1	472	509	$Y=11157X+103$	0.99997	0.5	1.5
17	喹啉黄 QYNaII	413	428	$Y=11142X+126$	0.99992	0.5	1.5
18	酸性红50	532	509	$Y=19511X+361$	0.99988	0.5	1.5
19	专利蓝 V	636	625	$Y=44901X-115$	0.99912	0.5	1.5
20	赤藓红	531	509	$Y=9673X-125$	0.99912	0.5	1.5
21	酸性橙2	484	509	$Y=13401X+223$	0.99986	0.5	1.5
22	酸性橙8	492	509	$Y=12895X+116$	0.99995	0.5	1.5
23	亮蓝G	609	625	$Y=5738X+128$	0.99945	0.5	1.5

表 7 20 种合成着色剂不同添加水平的回收率和精密度(n=6)

Table 7 Recovery and precision of 20 synthetic colorants with different additive levels (n=6)

序号	项目	加标量1.0 mg/kg		加标量5.0 mg/kg		加标量50 mg/kg	
		回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
1	柠檬黄	91.5~99.6	3.8	90.1~97.8	3.5	91.3~98.1	3.2
2	新红	85.5~93.9	4.0	91.5~96.3	2.3	90.5~95.6	2.4
3	苋菜红	90.5~94.1	1.7	91.4~96.7	2.4	101.1~104.5	1.4
4	靛蓝	87.3~96.9	4.4	91.0~97.6	3.1	91.5~99.7	3.9
5	丽春红S	91.5~94.6	1.9	91.5~96.5	2.3	91.0~96.4	2.1
6	胭脂红	89.6~99.6	4.3	91.1~97.9	3.2	91.2~98.9	3.5
7	喹啉黄QYNa ₂ I	90.4~99.6	4.2	91.2~95.7	2.1	94.4~98.8	2.1
8	日落黄	92.9~101.7	4.1	93.8~103.6	4.4	92.4~96.5	1.9
9	喹啉黄QYNa ₂ II	91.5~95.4	1.9	91.5~95.8	1.8	91.1~97.9	3.3
10	诱惑红	92.4~98.1	2.7	93.9~97.6	2.1	92.3~96.2	1.8
11	亮蓝	87.1~92.5	2.2	93.7~95.9	1.3	92.5~99.8	3.4

续表 7

序号	项目	加标量1.0 mg/kg		加标量5.0 mg/kg		加标量50 mg/kg	
		回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
12	酸性红44	92.6~96.5	1.8	90.8~97.5	3.2	91.2~96.6	2.5
13	酸性红	90.1~95.1	2.1	91.1~94.6	1.6	92.9~99.7	3.4
14	喹啉黄 QYNaI	91.7~96.8	2.2	91.5~95.7	1.9	90.2~101.6	5.1
15	食品红1	90.6~95.4	2.1	91.5~99.2	3.5	91.3~102.1	4.8
16	橙黄1	91.8~97.7	2.3	91.2~95.6	2.1	91.6~99.4	3.8
17	喹啉黄 QYNaII	90.5~98.3	3.7	90.2~92.6	1.3	92.3~97.1	2.2
18	酸性红50	91.1~99.3	4.0	90.5~93.3	1.3	94.5~98.3	1.7
19	专利蓝 V	84.0~94.1	4.3	92.5~97.5	2.4	91.1~102.8	5.3
20	赤藓红	89.3~95.1	2.7	90.5~95.7	2.3	91.5~98.4	3.1
21	酸性橙2	91.5~97.7	3.0	93.1~104.3	4.9	91.5~97.7	2.9
22	酸性橙8	92.4~95.8	1.6	90.5~94.2	1.7	93.6~99.4	2.7
23	亮蓝G	91.3~97.5	2.6	93.5~100.8	3.0	92.4~97.9	2.5

2.5.2 加标回收率、精密度 选择一未添加色素的口味姜作为空白基质,按三个浓度水平进行加标,分别为 1.0、5.0 和 50 mg/kg,每个水平重复分析测定 6 次,计算回收率和相对标准偏差(RSD),结果如表 7。实验结果表明,20 种合成色素在 1.0 mg/kg 添加水平回收率为 84.0%~101.7%,RSD 为 1.6%~4.4%;5.0 mg/kg 添加水平回收率为 90.1%~104.3%,RSD 为 1.3%~4.9%;50 mg/kg 添加水平回收率为 90.2%~104.5%,RSD 为 1.4%~5.3%。回收率及精密度符合 GB/T 27404-2008 中附录 F.1、F.3 要求。

2.5.3 实际样品分析 目前适用于检测蜜饯中合成着色剂的标准为 GB5009.35-2016。为验证本实验方法,并进一步与标准检测方法进行比较分析,选择添加有合成着色剂的甜心金桔干、猕猴桃干和金梅姜作为分析对象,按步骤 1.2 进行检测分析,结果如表 8。试验结果表明,甜心金桔干检出胭脂红和日落黄,胭脂红超出 GB2760-2014 限量标准 0.05 g/kg;猕猴桃干检出柠檬黄和亮蓝;金梅姜检出胭脂红,超出 GB2760-2014 限量标准 0.05 g/kg。由表 8 可见,采用本方法检测分析阳性样品,定量结果均高于国标

表 8 蜜饯中合成着色剂的检测方法比较 (mg/kg)

Table 8 Comparison of detection methods of synthetic colorants in candied fruit (mg/kg)

序号	项目	本方法			GB 5009.35-2016		
		甜心金桔干	猕猴桃干	金梅姜	甜心金桔干	猕猴桃干	金梅姜
1	柠檬黄	ND	36	ND	ND	29	ND
2	新红	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	苋菜红	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	靛蓝	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	丽春红S	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	胭脂红	64 ^a	ND	58 ^a	51 ^a	ND	52 ^a
7	喹啉黄QYNa ₂ I	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	日落黄	82	ND	ND	77	ND	ND
9	喹啉QYNa ₂ II	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	诱惑红	ND	ND	ND	ND	ND	ND
11	亮蓝	ND	21	ND	ND	19	ND
12	酸性红44	ND	ND	ND	ND	ND	ND
13	酸性红	ND	ND	ND	ND	ND	ND
14	喹啉黄 QYNaI	ND	ND	ND	ND	ND	ND
15	食品红1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
16	橙黄1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
17	喹啉黄 QYNaII	ND	ND	ND	ND	ND	ND
18	酸性红50	ND	ND	ND	ND	ND	ND
19	专利蓝 V	ND	ND	ND	ND	ND	ND
20	赤藓红	ND	ND	ND	ND	ND	ND
21	酸性橙2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
22	酸性橙8	ND	ND	ND	ND	ND	ND
23	亮蓝G	ND	ND	ND	ND	ND	ND

注: a:胭脂红检测结果超出GB2760-2014限量标准0.05 g/kg; ND表示未检出。

方法,回收率更高,操作更加便捷,具有更好的优势。

3 结论

本研究采用二极管阵列反相高效液相色谱对蜜饯中 20 种合成着色剂进行分析检测。对不同提取试剂的提取效率进行比较优化,选择甲醇/氨水溶液作为样品提取液;对 7 种不同的 SPE 柱进行比较分析,选择混合型弱阴离子反相固相萃取柱进行样品净化;对不同过滤膜进行比较优选;对检测波长及仪器条件进行优化。从线性方程、检出限、定量限、回收率、精密度等方面进行方法学考察,并对不同品类的实际样品进行测试分析。结果表明,该方法操作便捷、稳定性好、回收率高,可以有效解决目前在蜜饯检测过程中遇到的困难,并可以参考应用于其他食品类别,为色素类检测标准的制订及修订提供参考依据。

参考文献

[1] DIACU E, UNGUREANU E M, IVANOVI A A, et al. Voltammetric techniques for determination of synthetic pigment Allura Red AC in beverages[J]. *Revista de Chimie-Bucharest-Original Edition-*, 2015, 66(8): 1100-1104.

[2] DOELL D L, FOLMER D E, LEE H S, et al. Exposure estimate for FD&C Color Additives for the U. S. population[J]. *Food Additives & Contaminants*, 2016, 33(5): 782-797.

[3] 李巧玲,田晶.食用合成色素的安全性评价及对策[J].*食品工业*,2017(11):268-271. [LI Qiaoling, TIAN Jing. Safety evaluation and countermeasure of edible synthetic pigment[J]. *Food Industry*, 2017(11): 268-271.]

[4] 孙文通,康勇,王仕兴.食品中偶氮类色素检测方法的研究进展[J].*食品安全质量检测学报*,2016(6):2302-2308. [SUN Wentong, KANG Yong, WANG Shixing. Research progress on determination methods of azo pigments in food[J]. *Journal of Food Safety and Quality Inspection*, 2016(6): 2302-2308.]

[5] 胡梦坤,王震宇,董娇.食用色素安全评价及检测技术[J].*农业科技与装备*,2019(4):47-48. [HU Mengkun, WANG Zhenyu, DONG Jiao. Safety evaluation and detection technology of food pigment[J]. *Agricultural Technology and Equipment*, 2019(4): 47-48.]

[6] CLEMENS R, PRESSMAN P. Coloring the truth: Color additives in nutrition and health[J]. *Nutrition Today*, 2018, 53(4): 169-173.

[7] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.35-2016 食品安全国家标准 食品中合成着色剂的测定[S].北京:中国标准出版社,2017. [National Health and Family Planning Commission. GB 5009.35-2016 National standard for food safety. Determination of synthetic colorants in food[S]. Beijing: China Standard Press, 2017.]

[8] 廖若宇,孙悦,刘新保,等.食品中合成着色剂的提取方式及测定方法研究进展[J].*食品工业科技*,2021,41(20):342-350. [LIAO Ruoyu, SUN Yue, LIU Xinbao, et al. Research progress on extraction and determination of synthetic colorants in food[J]. *Science and Technology in the Food Industry*, 2021, 41(20): 342-350.]

[9] 郭永辉,赵连兴,柯泽华,等.高效液相色谱法测定食品中着色剂和工业染料[J].*食品与发酵工业*,2020,46(17):259-263. [GUO Yonghui, ZHAO Lianxing, KE Zehua, et al. High-performance liquid chromatography determination of colorants and industrial dyes in food[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2020, 46(17): 259-263.]

[10] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 2760-2014 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准[S].北京:中国标准出版社,2015. [National Health and Family Planning Commission. GB 2760-2014 National standard for food safety standard for use of food additives[S]. Beijing: China Standard Press, 2015.]

[11] 中华人民共和国出入境检验检疫总局. SN/T 1743-2006 进出口行业标准 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[S].北京:中国标准出版社,2006. [General Administration of Entry-exit Inspection and Quarantine. SN/T 1743-2006 Standard for import and export industries, determination of alluring red, acid red, bright blue, and sunset yellow in foods, high-performance liquid chromatography[S]. Beijing: China Standard Press, 2006.]

[12] 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21916-2008 水果罐头中合成着色剂的测定 高效液相色谱法[S].北京:中国标准出版社,2008. [Standardization Administration of China. GB/T 21916-2008 Determination of synthetic colorants in canned fruits, high-performance liquid chromatography[S]. Beijing: China Standard Press, 2008.]

[13] 江苏省计划和生育委员会. DBS 32/012-2016 食品安全地方标准 食品中喹啉黄的检测 高效液相色谱法、液相色谱-质谱/质谱法[S]. [Jiangsu Provincial Planning and Family Planning Commission. DBS 32/012-2016 Local standard for food safety, determination of quinoline yellow in food, High-performance liquid chromatography, LC-MS/MS[S].]

[14] 邹志飞,蒲民,李建军,等.各国(地区)食用色素的使用现状与比对分析[J].*中国食品卫生杂志*,2010,22(2):112-121. [ZOU Zhifei, PU Min, LI Jianjun, et al. The present situation and comparative analysis of the use of food pigment in different countries (regions)[J]. *Food Safety*, 2010, 22(2): 112-121.]

[15] 宋丹萍,张宏,李琪.国内外食用色素标准的比较及检测方法的研究进展[J].*食品科学*,2014,35(3):295-300. [SONG Danping, ZHANG Hong, LI Qi. Comparison of food pigment standards and development of detection methods at home and abroad[J]. *Food Science*, 2014, 35(3): 295-300.]

[16] 陈贤驰,曾豪威,汪宁,等.国内外食用色素比对分析[J].*食品安全导刊*,2018(16):70-74. [CHEN Xianchi, ZENG Hao-wei, WANG Ning, et al. Comparative analysis of edible pigments at home and abroad[J]. *Food Safety Guide*, 2018(16): 70-74.]

[17] 《2019年6月输日食品违反日本食品卫生法情况》[N/OL].食品伙伴网. <http://news.foodmate.net/2019/06/522569.html>. [《Violation of Japanese Food Hygiene Law by food exported to Japan in June 2019》[N/OL]. Food partners. <http://news.foodmate.net/2019/06/522569.html>.]

[18] 《欧盟修订鲑鱼替代品中的色素使用规定》[N/OL].进出口服务网. <http://www.ciedata.com/News/202101/fa73dd75-1b30-4148-8322-2123ffbd097d.html>. [EU revised regulations on the use

- of pigments in Salmon Substitutes [N/OL]. Import and Export Service Network. <http://www.ciedata.com/News/202101/fa73dd75-1b30-4148-8322-2123ffbd097d.html>.]
- [19] 刘珈伶, 陈宁周, 蒋定之, 等. 冰淇淋中 6 种合成色素的固相萃取 HPLC 检测方法 [J]. 中国食品添加剂, 2018, 1(167): 196–201. [LIU Jialing, CHEN Ningzhou, JIANG Dingzhi, et al. Determination of six synthetic pigments in ice cream by solid phase extraction and HPLC [J]. Chinese Food Additives, 2018, 1(167): 196–201.]
- [20] 唐一秋. 固相萃取-高效液相色谱法对食品中 9 种合成着色剂的测定 [J]. 粮食流通技术, 2019(7): 149–152. [TANG Yiqiu. Solid phase extraction-determination of nine synthetic colorants in food by high-performance liquid chromatography [J]. Food Distribution Technology, 2019(7): 149–152.]
- [21] 夏宗艳, 徐文远, 徐豪, 等. 超高压液相色谱同时检测食品中 8 种人工合成色素 [J]. 化工技术与开发, 2019, 48(1): 52–56. [XIA Zongyan, XU Wenyuan, XU Hao, et al. Simultaneous determination of eight synthetic pigments in food by high-performance liquid chromatography [J]. Chemical Technology and Development, 2019, 48(1): 52–56.]
- [22] 高家敏, 钮正睿, 李红霞, 等. 高效液相色谱法测定饮料中 12 种水溶性合成着色剂 [J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(1): 135–140. [GAO Jiamin, NIU Zhengrui, LI Hongxia, et al. High-performance liquid chromatography determination of 12 water soluble synthetic colorants in beverages [J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2019, 10(1): 135–140.]
- [23] 肖锋, 赵琼晖, 吕行, 等. 高效液相色谱法同时测定糖果中喹啉黄等 9 种禁用合成色素 [J]. 湘潭大学自然科学报, 2014, 36(3): 86–89. [XIAO Feng, ZHAO Qionghui, LÜ Xing, et al. Simultaneous determination of quinoline yellow and other 9 restricted synthetic pigments in candy by high-performance liquid chromatography [J]. Journal of the University of Xiangtan, 2014, 36(3): 86–89.]
- [24] 陈沛金, 张毅, 肖锋, 等. 高效液相色谱法测定糖果、蜜饯和饮料中 19 种食品添加剂 [J]. 食品安全质量检测学报, 2014(11): 3487–3494. [CHEN Peijin, ZHANG Yi, XIAO Feng, et al. High-performance liquid chromatography determination of 19 food additives in confectionery, candied fruit and beverages [J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2014(11): 3487–3494.]
- [25] 邢晓慧, 尹未华, 韩春菊, 等. 高效液相色谱法测定蜜饯中食用合成色素 [J]. 食品研究与开发, 2007, 28(10): 133–135. [XING Xiaohui, YIN Weihua, HAN Chunju, et al. High-performance liquid chromatography determination of edible synthetic pigment in candied fruit [J]. Food Research and Development, 2007, 28(10): 133–135.]
- [26] 代弟, 徐静, 杨璐, 等. 高效液相色谱法检测饮料中 7 种人工合成色素 [J]. 食品安全质量检测学报, 2017(3): 1037–1040. [DAI Di, XU Jing, YANG Lu, et al. High-performance liquid chromatography assay for seven synthetic pigments in beverages [J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2017(3): 1037–1040.]
- [27] 罗镭, 董婷, 马临科. UPLC-DAD 法快速检测延胡索和红花中非法添加的 28 种合成色素 [J]. 中药材, 2017, 40(11): 2546–2550. [LUO Lei, DONG Ting, MA Linke. Rapid detection of 28 synthetic pigments illegally added in *Corydalis yanhusuo* and *Carthamus tinctorius* by UPLC-DAD method [J]. Chinese Materia Medica, 2017, 40(11): 2546–2550.]
- [28] 刘秀娟, 曹秀, 余明霞, 等. 高效液相色谱法测定饼干中的 9 种合成着色剂 [J]. 食品工业, 2021, 42(5): 455–457. [LIU Xiujuan, CAO Xiu, YU Mingxia, et al. High-performance liquid chromatography determination of 9 synthetic colorants in biscuits [J]. Food Industry, 2021, 42(5): 455–457.]
- [29] 任荣军, 毛谊平, 陶涌, 等. 阴离子交换固相萃取-高效液相色谱法快速测定中成药中 10 种合成色素的方法研究 [J]. 临床医药实践, 2019, 28(2): 127–131. [REN Rongjun, MAO Yiping, TAO Yong, et al. Study on the rapid determination of 10 synthetic pigments in Chinese patent medicines by anion exchange solid phase extraction with high-performance liquid chromatography [J]. Clinical Medicine Practice, 2019, 28(2): 127–131.]