

doi:10.3969/j.issn.2095-1035.2020.03.003

亲水相互作用色谱柱串联 C₁₈ 柱高效分析 饮品中的胭脂红

刘智敏¹ 余诗雨¹ 刘育坚¹ 许志刚^{1*} 刘宏程² 司晓喜³

(1. 昆明理工大学 理学院, 昆明 650500;

2. 云南省农业科学院质量标准与检测技术研究所, 昆明 650223;

3. 云南中烟工业有限责任公司 技术中心, 昆明 650231)

摘 要 建立了亲水相互作用色谱柱(HILIC)串联 C₁₈ 柱的方法, 高效分离实际样品中的胭脂红, 并对色谱柱的串联顺序以及色谱分离条件进行优化。结果表明: 当 HILIC 柱在前 C₁₈ 柱在后, 流动相为乙腈-乙酸铵(5 mmol/L)=91:9(V/V), 流速为 0.9 mL/min, 柱温为 25 ℃, 检测波长为 508 nm 时, 此时胭脂红的分离效果最佳。在最佳的色谱分离条件下, 选用两种市售饮品进行实际样品的测定, 回收率在 81.2%~119%。方法适用于水相样品中的强极性物质的高效分离与分析。

关键词 柱串联; 亲水相互作用色谱柱; C₁₈ 柱; 饮料; 胭脂红

中图分类号: O657.7; TH833

文献标志码: A

文章编号: 2095-1035(2020)03-0014-04

Separation of Carmine in Beverages by Affinity Column and C₁₈ Column High Performance Liquid Chromatography

LIU Zhimin¹, YU Shiyu¹, LIU Yujian¹, XU Zhigang^{1*}, LIU Hongcheng², SI Xiaoxi³

(1. Faculty of Science, Kunming University of Science and Technology, Kunming, Yunnan 650500, China;

2. Institute of Quality Standard and Testing Technology, Yunnan Academy of Agriculture Science, Kunming, Yunnan 650223, China;

3. R & D Center of China Tobacco Yunnan Industrial Co. Ltd., Kunming, Yunnan 650231, China)

Abstract Carmine in real samples was separated efficiently based on hydrophilic interaction column tandem C₁₈ column method. The sequence of columns in series condition was optimized. The results showed that when the mobile phase was acetonitrile-5 mmol/L ammonium acetate=91:9 (V/V), the flow rate was 0.9 mL/min, the column temperature was 25 ℃, the detection wavelength was 508 nm, and the column in series sequence was HILIC column tandem C₁₈ column, the separation effect of carmine was the best. Under the optimal chromatographic conditions, the commercial beverage plum garden strawberry flavor milk was analyzed and carmine was found in the sample. And the recovery was between 81.2% and 119%. The proposed method is suitable for the analysis of strongly polar compounds in water samples.

Keywords column tandem; hydrophilic interaction column; C₁₈ column; beverages; carmine

收稿日期: 2020-01-10 **修回日期**: 2020-02-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(21565018); 云南省重点研发计划项目(2018BC005-04); 云南中烟工业有限责任公司重点项目(2018JC05); 昆明理工大学大学生课外学术科技创新基金(2018BA387); 昆明理工大学分析测试基金项目(2017M20162111056; 2017M20152111050)

作者简介: 刘智敏, 女, 博士研究生, 主要从事色谱分析研究。E-mail: lab_chem@126.com

* **通信作者**: 许志刚, 男, 教授。E-mail: chemxuzg@kust.edu.cn

本文引用格式: 刘智敏, 余诗雨, 刘育坚, 等. 亲水相互作用色谱柱串联 C₁₈ 柱高效分析饮品中的胭脂红[J]. 中国无机分析化学, 2020, 10(3): 14-17.

LIU Zhimin, YU Shiyu, LIU Yujian, et al. Separation of Carmine in Beverages by Affinity Column and C₁₈ Column High Performance Liquid Chromatography[J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2020, 10(3): 14-17.

前言

胭脂红是一种合成色素,可在不同的食品中用作食用色素,如果汁、果酱、冰淇淋和糖果等,以及在药物制剂和化妆品中(如口红等)^[1-3]。随着社会的发展,人们生活方式的改变,生活水平的提高使得食品的配方也发生了重大改变,人们不再满足于食物可食用,而是愈发追求更好的口感,更诱人的外观^[4-6]。此时,食品添加剂的使用便尤为重要。胭脂红作为一种食品添加剂允许添加在食品中,但是过多胭脂红的摄入对人体有潜在的风险。我国在 GB 2760—2014 食品添加剂使用标准中对食品中胭脂红色素的最大用量做了规定^[7-8]:糖果、饮料、腌渍品中胭脂红的最大用量不得超过 0.05 g/kg。尽管严格控制胭脂红添加在食品中的含量,但食品生产企业为了提高外观和颜色,使用量可能超过相关的标准^[9-10]。因此,监测食品中胭脂红的含量至关重要。

柱串联技术是将两种或多种不同类型的色谱柱进行顺序连接,实现不同色谱柱的分离功能互补,提高复杂样品中重要物质的分离效果^[11-13]。与常见的反相液相色谱不同,亲水相互作用色谱(HILIC)是一种适用于保留和分离极性分析物的方法,而 C₁₈柱则对样品基质具有较好的分离效果。由于胭脂红水溶性好,分析效果不佳,而将 HILIC 柱与 C₁₈柱串联,既能实现胭脂红的有效保留,也能实现样品中基质的分离。本文建立了双柱串联,快速高效分析实际样品中胭脂红的方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Dionex Ultimate 3000 高效液相色谱仪(美国赛默飞世尔科技有限公司),配备自动进样器、DAD 检测器;HILIC 色谱柱(150 mm×4.6 mm I.D., 5 μm,天津博纳艾杰尔科技有限公司);Innoval ASB C₁₈ 色谱柱(50 mm×4.6 mm,5 μm,天津博纳艾杰尔科技有限公司);PS-20 洁康超声波清洗机(东莞洁康超声波设备有限公司)。

甲醇和乙腈(色谱纯,北京百灵威科技有限公司),乙酸铵(98%,西陇化工股份有限公司),胭脂红(90%,山东西亚化学股份有限公司),纯净水为娃哈哈纯净水,草莓风味乳和功能饮料购于昆明市超市。

1.2 实验方法

准确称取一定量的胭脂红标准品,以色谱甲醇为溶剂,采用逐级稀释法,配制成 0.1、0.5、1.0、

2.0、5.0 和 10.0 mg/L 的溶液。流动相为乙腈-乙酸铵(5 mmol/L),检测波长为 508 nm,进样量为 20 μL,对不同类型的色谱柱、流动相组分、柱温和流速等分离条件进行优化。

2 结果与讨论

2.1 色谱柱的优化

不同类型的色谱柱,色谱固定相并不相同,因此对胭脂红的分离效果也并不相同。分别采用不同类型的色谱柱,研究胭脂红在单根色谱柱和柱串联模式下的分离效果。色谱条件为乙腈-乙酸铵(5 mmol/L)=89:11(V/V),流速 0.8 mL/min,柱温 20 ℃,检测波长为 508 nm。结果如图 1 所示。胭脂红在高有机相的条件下,C₁₈柱上保留时间短,且目标峰和溶剂峰重叠在一起并不能基线分离,分离效果较差。然而分别使用 HILIC 柱和双柱串联(HILIC 柱串联 C₁₈柱和 C₁₈柱串联 HILIC 柱)分离胭脂红时,胭脂红的分离效果有所改善,保留时间变长,且目标峰不受干扰。综合实验结果,在 HILIC 柱串联 C₁₈柱的模式下,能更好地改善胭脂红色谱峰的峰形。

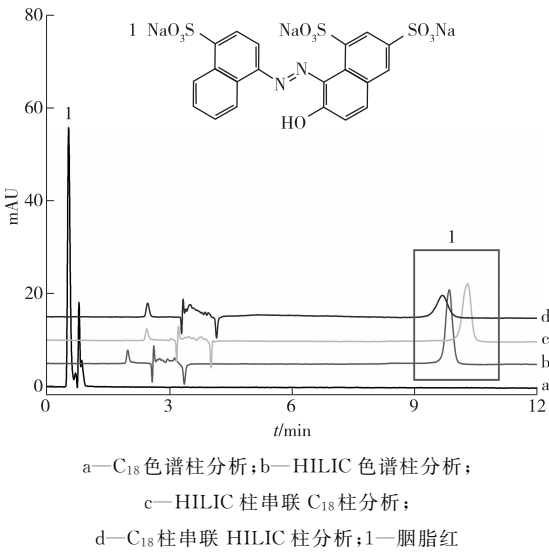


图 1 不同类型的色谱柱分离胭脂红的色谱图

Figure 1 Chromatogram of carmine separated by different types of columns.

2.2 流动相比比例的优化

在 HILIC 柱在前 C₁₈柱在后的串联模式下,流速 0.8 mL/min,柱温 20 ℃,检测波长 508 nm 的条件下,考察胭脂红在不同比例的乙腈-乙酸铵(5 mmol/L)的分离效果。结果如图 2 所示,随着有机相比例的逐渐增加,胭脂红在色谱柱上的保留时

间逐渐增加,保留效果明显,此时的分析效率降低,兼顾分离效果和分析效率,最终选择乙腈-乙酸铵(5 mmol/L)=91 : 9(V/V)为最佳的流动相比例。

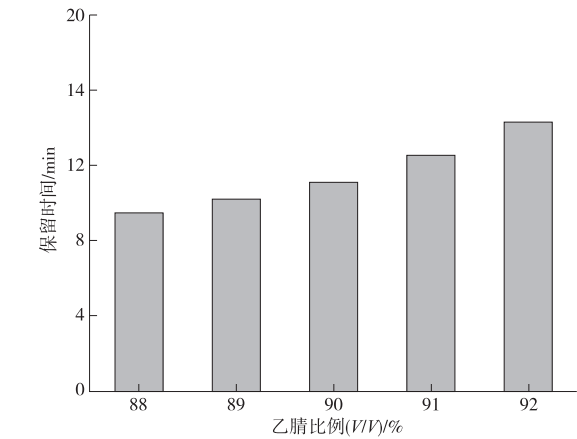


图 2 流动相比例对胭脂红分离的影响

Figure 2 Effects of the proportion of mobile phase to the separation of melamine.

2.3 柱温的优化

在 HILIC 柱在前 C₁₈ 柱在后的模式下,乙腈-乙酸铵(5 mmol/L)=91 : 9(V/V),流速 0.8 mL/min,检测波长 508 nm 的色谱条件下,考察柱温(15~30 ℃)下,对胭脂红色谱分离的影响(图 3)。随着柱温的变化,胭脂红的保留时间的差异不是很明显。然而此时的容量因子则有显著的变化,同时,过低的柱温带来压强的增大,影响色谱柱的寿命。因此,最终选择 25 ℃为最佳的柱温。

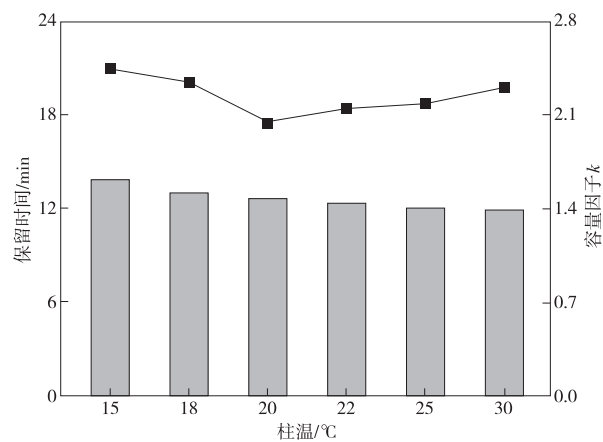


图 3 不同柱温对胭脂红分离的影响

Figure 3 Effect of different column temperature on separation of carmine.

2.4 流速的优化

最后,考察了流速对胭脂红分离的影响。在 HILIC 柱在前 C₁₈ 柱在后的模式下,乙腈-乙酸铵

(5 mmol/L)=91 : 9(V/V),柱温 25 ℃,检测波长 508 nm,流速范围 0.6~1.0 mL/min。结果如图 4 所示。随着流速的逐渐增大,胭脂红的保留时间逐渐减小。兼顾分离效果和分析效率,以 0.9 mL/min 为最佳流速。

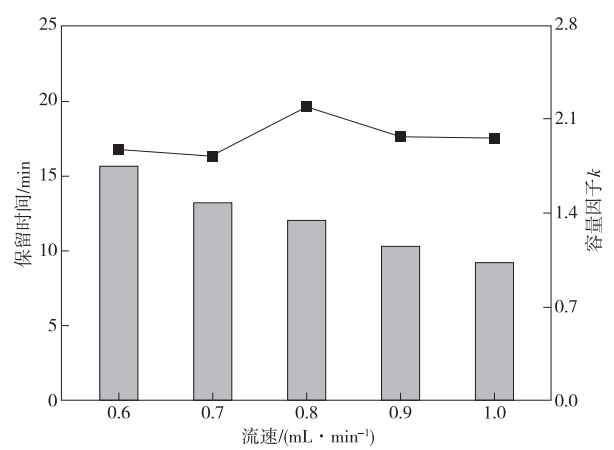


图 4 不同流速对胭脂红分离的影响

Figure 4 Effect of different flow rates on the separation of carmine.

2.5 实际样品测定

为了评估所建立方法的准确性,选择市售的草莓风味乳和功能饮料为实际样品,在最佳的色谱条件下对样品中胭脂红的含量进行测定(图 5)。移取 5 mL 液体样品,选用甲醇 : 水=60 : 40(V/V)稀释,超声,最后定容至 25 mL,色谱分析前用 0.45 μm 滤膜过滤,每份样品测定 3 个平行样。

通过系列不同浓度的胭脂红标准溶液,其线性方程为 $Y=0.296\ 79X-0.176\ 43$, $R=0.999\ 9$ 。结果表明,胭脂红在 0.1~10.0 mg/L 范围内线性关系良好。分别对不同的样品进行加标回收实验,以验证所建立的方法可靠性,加标浓度分别为 0.5 mg/L 和 2.0 mg/L,测定其回收率和相对标准偏差。结果如表 1 所示,胭脂红的加标回收率在 81.2%~119%。

表 1 实际样品中胭脂红的含量及加标回收率

Table 1 The content and recovery of carmine in real samples

样品	本底值测定		加标检测		
	曲酸的浓度/ (mg · L ⁻¹)	RSD/ %	加标量/ (mg · L ⁻¹)	回收率/ %	RSD/ %
草莓风味乳	5.47	7.27	0.5	109	3.6
			2.0	105	4.5
功能饮料	-	-	0.5	119	0.18
			2.0	81.2	0.88

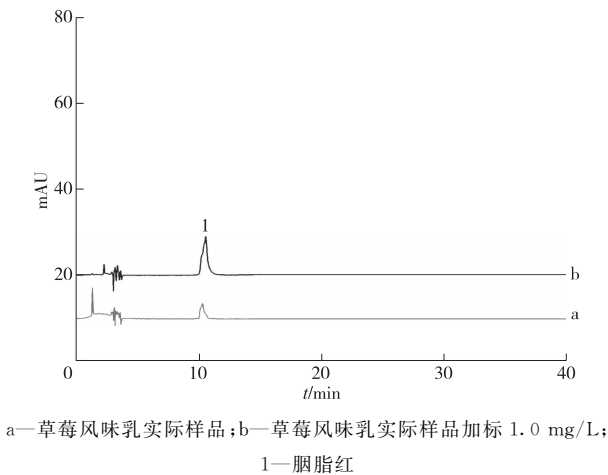


图 5 实际样品分析色谱图

Figure 5 Chromatogram of real sample analysis.

3 结论

建立了一种 HILIC 柱串联 C₁₈ 柱分析胭脂红的色谱方法,并运用于实际样品中胭脂红含量的测定。通过柱串联技术,能实现样品中胭脂红的有效分离分析,对不同的样品进行加标回收实验,胭脂红的加标回收率在 81.2%~119%,表明该方法可以有效地对水相样品中的胭脂红进行分离测定。

参考文献

[1] 李军德,王亚楠,宋吉英. 超声-微波协同萃取-液相色谱法检测口红中的 4 种色素[J]. 化学试剂,2018,40(12): 1169-1172.

LI Junde, WANG Yanan, SONG Jiying. Determination of four lipstick by ultrasonic-microwave synergistic extraction with liquid chromatography[J]. Chemical Reagents,2018,40(12):1169-1172.

[2] ARSLAN Z K,AYCAN S. An example of the use of spectrophotometric method;determining the carmine in various food products[J]. Procedia Social and Behavioral Sciences,2014,116:4622-4625.

[3] MIAO P,CHEN S,LI J,et al. Decreasing consumers' risk perception of food additives by knowledge enhancement in China[J]. Food Quality and Preference, 2020, 79:103781.

[4] DEHGHAN P,MOHAMMADI A,AGHDASH H M, et al. Pharmacokinetic and toxicological aspects of potassium sorbate food additive and its constituents[J]. Trends in Food Science & Technology,2018,294:123-130.

[5] LIM Ho-soo,CHOI Jae-chon,SONG Sung-bong,et al. Quantitative determination of carmine in foods by high-performance liquid chromatography[J]. Food Chem. ,

2014,158:521-526.

[6] MARTINS F C, SENTANIN M A, SOUZA D D. Analytical methods in food additives determination: Compounds with functional applications[J]. Food Chemistry,2019,272:732-750.

[7] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品添加剂使用标准:GB 2760—2014[S]. 北京:中国标准出版社,2014.

National Health and Family Planning Commission of PRC. Chinese standards for food additives:GB 2760—2014[S]. Beijing:Standards Press of China;2014.

[8] 王书涛,彭涛,李明珊,等. 基于三维荧光光谱和 PSO-SVM 对胭脂红含量的测定[J]. 光谱学与光谱分析, 2019,39(1):150-155.

WANG Shutao, PENG Tao, LI Mingshan, et al. Determination of the carmine content based on spectrum fluorescence spectral and PSO-SVM[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis,2019,39(1):150-155.

[9] CREMA A P S,BORGES L D P,MICKE G A,et al. Degradation of indigo carmine in water induced by non-thermal plasma, ozone and hydrogen peroxide: A comparative study and by-product identification[J]. Chemosphere,2019,125502.

[10] SHARMA V, MCKONE H T, MARKOW P G. A global perspective on the history, use, and identification of synthetic food dyes[J]. Journal of Chemical Education, 2011,88(1):24-28.

[11] 刘育坚,刘智敏,许志刚. C₁₈柱串联冠醚手性柱高效分离 3 种芳香族氨基酸对映体[J]. 分析化学,2017,45(3): 369-373.

LIU Yujian, LIU Zhimin, XU Zhigang. Enantiomeric separation of three kinds of aromatic amino acids by C₁₈ column tandem crown ether chiral column[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry,2017,45(3): 369-373.

[12] 刘育坚,杜甫佑,刘智敏,等. 色谱分析中的串联技术[J]. 色谱,2018,36(9):842-849.

LIU Yujian, DU Fuyou, LIU Zhimin, et al. Tandem technologies in chromatographic analysis[J]. Chinese Journal of Chromatography,2018,36(9):842-849.

[13] 刘育坚,王丽,刘智敏,等. 手性冠醚柱串联 C₁₈柱分析米类样品中的手性芳香族氨基酸[J]. 化学研究与应用,2019,31(6):1216-1219.

LIU Yujian, WANG Li, LIU Zhimin, et al. Simultaneous determination of chiral aromatic aminos in rice samples by crown ether chiral column tandem C₁₈ column[J]. Chemical Research and Application, 2019, 31 (6): 1216-1219.