

超高效液相色谱法快速检测食品中胭脂树橙的含量

林 钦

(福建省产品质量检验研究院, 福建 福州 350002)

摘要: 本文建立了食品中胭脂树橙含量的超高效液相色谱紫外检测方法。样品采用酸化乙腈溶液提取, 提取液经乙腈饱和正己烷萃取净化后注入超高效液相色谱仪, 由BEH C₁₈柱(1.7μ m, 2.1× 50mm)快速分离后进入紫外检测器检测。本方法胭脂树橙检测限为0.1mg/kg。5种食品样品回收率为83.8%~96.1%, 相对标准偏差(RSD)为0.6%~6.1% (n=6), 在0.1μ g/mL~2μ g/mL浓度范围内呈良好的线性关系, 线性回归系数r=0.9999, 结果令人满意。

关键词: 超高效液相色谱仪; 食品; 胭脂树橙; 检测

中图分类号: O657. 文献标识码: A 文章编号: 1009-8143(2011)03-0036-04

Rapid Determination of the Bixin in Food using Ultra High Performance Liquid Chromatography

Lin Qin

(Fujian Inspection and Research Institute for Product, FuZhou, Fujian350002, China)

Abstract: A method for determination of Bixin in food using ultra high performance liquid chromatography had been developed. The sample was extracted by acidified acetonitrile, cleaned up with hexane and determined by UPLC-UV. The separation column was used with Waters BEH C₁₈ (1.7μ m, 2.1× 50mm). The detection limit was 0.1mg/kg. The recovery ranged from 83.8% to 96.1% with five food samples, the relative standard deviation (RSD) was 0.6%~6.1% (n=6). The good linearity was achieved in 0.1μ g/mL~2μ g/mL with r=0.9999, the result was satisfactory.

Keywords: UPLC; food; bixin; determination

胭脂树橙是以胭脂树(红木)种子为原料,经溶剂提炼、精加工而成的天然色素,为红褐色粉末或橙褐色液体,溶于动物油脂、丙二醇、丙酮,不溶于水,其结构见图1。应用于食品中呈现诱人的橙黄色色调,色泽不受PH值的影响,色泽光亮鲜艳,着色力强,抗光性及耐热性较好。胭脂树橙还具有保健生理功能,安全营养,是一种重要的食用天然色素,在国内外食品工业上受到广泛的应用,也是我国批准允许使用的食用天然色素。可用于西式甜点、奶油、人造奶油、油脂、调味色拉油、起酥油、冰淇淋玉米片、面包、通心面、糕点类、饮料、洋火腿、香肠、干酪等的着色^[1]。近年来食品中非法添加非食用物质,超量超范围使用食品添加剂的现象时有发生,给我

国的食品安全造成极大的威胁。胭脂树橙作为天然物质的提取物,现已广泛应用于食品加工领域。由于缺乏对食品中胭脂树橙快速、准确的测定方法,对食品生产企业在食品加工过程中缺少有效的监控,同时也不利于监管部门的监督检查。目前我国《食品添加剂使用卫生标准》(GB 2760-2007)^[2]中规定:胭脂树橙可用于人造奶油,限量为0.05g/kg;糕点0.015g/kg;饮料0.02g/kg;香肠、西式火腿、巧克力0.025g/kg;复合调味料0.1g/kg;油炸薯片0.01g/kg;重制干酪0.6g/kg;即食谷物类食品0.07g/kg。

目前,胭脂树橙的测定方法有液相色谱法,主要用于天然提取物中天然色素的测定^[3],用于食品中的方法只有乳酪中胭脂树橙含量的测定(德国标

收稿日期: 2011-2-9

基金项目: 国家质量监督检验检疫总局自筹经费项目(T2009-FJQTS-0064)

作者简介: 林钦(1973-),男,高级工程师,主要从事色谱分析研究工作。Email: phlqfci@126.com

准化学会标准)^[4]。尚未有采用超高效液相色谱法(UPLC)的检测方法报道。超高效液相色谱技术作为最新的液相色谱检测技术,采用亚2微米的填料色谱柱,同时通过优化仪器结构,创建最优化的工作平台,使检测时间大大缩短。与传统的HPLC相比,UPLC的速度、灵敏度及分离度分别是HPLC的9倍、3倍及1.7倍,因此在天然产物分析方面,使用UPLC分离检测具有更高的效率。本文研究了食品中胭脂树橙的前处理方法,建立了通过酸化乙腈溶液提取,乙腈饱和正己烷萃取净化,超高效液相色谱-紫外检测器快速检测食品中胭脂树橙含量的方法,取得了满意的效果。

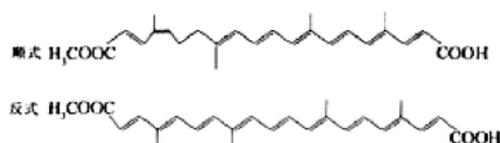


图1 胭脂树橙结构图

Fig.1 The structure of bixin

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

超高效液相色谱仪 Waters Acquity UPLC 系统配 2996 二极管阵列检测器(美国沃特世公司) 冷冻高速离心机(美国贝克曼公司,Avanti J-E) 涡旋混合器(江苏康健医疗用品有限公司) Milli-Q 超纯水纯化系统(美国 Millipore 公司) 分析天平(赛多利斯北京有限公司)。

所用试剂除特别标注外均为分析纯试剂,水为超纯水;乙腈(色谱纯,山东禹王);胭脂树橙(CAS 6983-79-5, $C_{25}H_{30}O_4$, 纯度 92.2%, 美国 ChromaDex 公司)。

1.2 标准溶液配制

胭脂树橙标准溶液配制:准确称取 5.0mg 胭脂树橙标准品,加丙酮溶解定容到 100mL,配成 50 μ g/mL 的标准储备溶液,准确移取适量混合标准储备液,用稀释液稀释成 0.1 μ g/mL~2 μ g/mL 的标准系列。

提取液配制:500mL 乙腈+10.0mL 冰乙酸。

稀释液配制:400mL 提取液+100mL 水。

1.3 样品前处理

准确量取约 200g 样品破碎均匀,称取 5.00g 样

品,置于 50mL 离心管中,加入 25.0mL 提取液和 10g 无水硫酸钠,旋紧盖子,超声震荡提取 30min,于 4 $^{\circ}$ C,15000r/min 离心 5min,取 5.0mL 上清液于 10mL 刻度试管中,用乙腈饱和正己烷涡旋萃取净化 3 次,每次 2mL,吸出正己烷层弃去;于 40 $^{\circ}$ C,氮气吹至 4mL,加入 1mL 水定容至 5.0mL,混匀,用 0.2 μ m PTFE 滤膜过滤后检测。

1.4 液相色谱分析条件

色谱柱:Waters BEH C_{18} , 1.7 μ m, 2.1 \times 50mm;柱温:35 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L;紫外检测器波长:460nm;流速:0.3mL/Min;流动相及梯度:A 为 0.5%甲酸溶液,B 为乙腈,0-3min 20% A。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件选择

本方法采用了超高效液相色谱仪和 Waters 公司 1.7 μ m 粒径的 BEH- C_{18} 色谱柱,具有极高的分离效率,能够在较宽的 pH 范围内使用。通过比较纯水、0.1%甲酸、0.3%甲酸和 0.5%甲酸作为流动相的分离效果,实验发现降低 pH 值有利于改善胭脂树橙的峰形,减小峰展宽和脱尾,因此,实验最终确定 0.5%甲酸水溶液(pH 约 2.0)/乙腈为流动相。

用二极管阵列检测器扫描 200~500nm,发现胭脂树橙最大吸收波长为 460nm(见图 2)。调整流动相比例 0.5%甲酸/乙腈=20/80,流速为 0.3mL/min 时胭脂虫红酸的色谱分离图见图 3b,本方法样品运行时间只需 3min,在该条件下食品中常用的 18 种添加剂(苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯、糖精钠、阿斯巴甜、安赛蜜、柠檬黄、苋菜红、胭脂红、靛蓝、日落黄、亮蓝、诱惑红、赤藓红)对检测均不构成影响(见图 3a)。

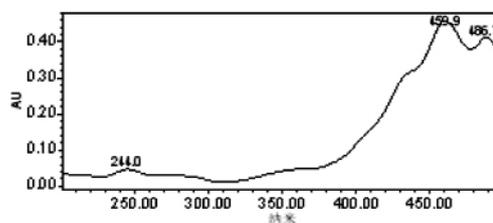


图2 胭脂树橙紫外光谱图

Fig.2 The UV spectrum of bixin

2.2 前处理条件选择

胭脂树橙不溶于水,溶于油脂、丙二醇、丙酮。为了简化前处理步骤,达到快速的目的,本方法试验了50%乙腈、乙腈和2%乙酸乙腈三种提取溶剂,并用乙腈饱和正己烷萃取去除油脂等杂质。称取肉松样品5.00g,加入25.0 mL提取液,超声波震荡提取30min,于4℃,15000r/min离心5min,取5.0mL上清液于10mL刻度试管中,用乙腈饱和正己烷涡旋萃取净化3次,每次2mL,实验结果三种提取液的回收率分别为50%、90%和95%,因此,确定2%乙酸乙腈为提取液。

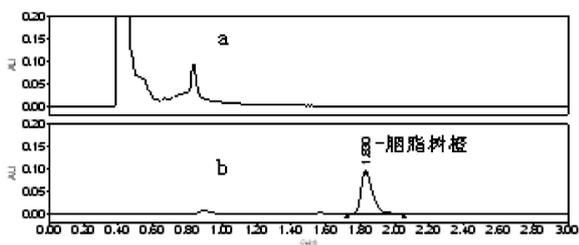


图3 胭脂树橙标准品的超高效液相分离谱图(b)和18种添加剂混标进样谱图(a)比较

Fig.3 UPLC chromatography of carminic acid(b) and eighteen food additives(a)

由于超高效液相色谱采用小粒径、小口径的色谱柱,样品溶剂对出峰有很大的影响,在进样量为10μL时,以乙腈为溶剂的样品出峰发生明显展宽,而以80%乙腈为溶剂的样品出峰则正常,因此配制2%乙酸乙腈:水=80:20的溶液作为标准品稀释溶液,同时将样品处理液于40℃,氮气吹至4mL,再加水定容至5.0mL,涡旋混匀,用0.2μm PTFE滤膜过滤后检测。通过比较辣椒酱空白和加标样品的

色谱图(见图4),可以发现,即使基质非常复杂的辣椒酱样品在使用该简单的提取、净化方法,也不会有明显的干扰,保证了胭脂树橙的定量准确性,大大提高了检测效率。

2.3 标准曲线绘制

配制不同浓度的标准溶液,以胭脂树橙的浓度为横坐标,峰面积为纵坐标做胭脂树橙的标准工作曲线,得到胭脂树橙的线性方程为 $y = 2.15 \times 10^5 \cdot x - 7.16 \times 10^3$, $r = 0.9999$,线性范围为0.1μg/mL~2μg/mL。

2.4 检测限

0.04μg/mL胭脂树橙标准溶液峰信噪比S/N为7.3(见图5),按信噪比S/N为3计,本方法胭脂树橙的检测限为0.1mg/kg。

2.5 回收率和精密度试验

取辣椒酱、山楂片、蟹肉棒、糖果、肉松5种样品进行标准添加试验,每个添加量做6个平行试验,试验结果见表1。

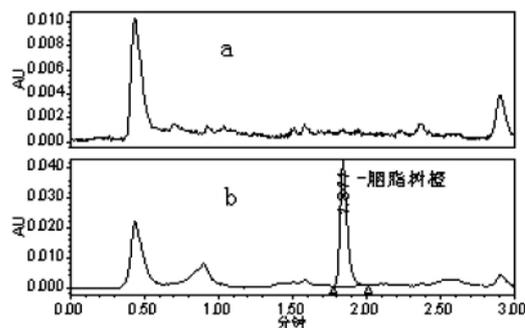


图4 辣椒酱空白样品(a)与加标样品(b)的谱图比较

Fig.4 Chromatography of blank sample (a) and spiked sample (b)

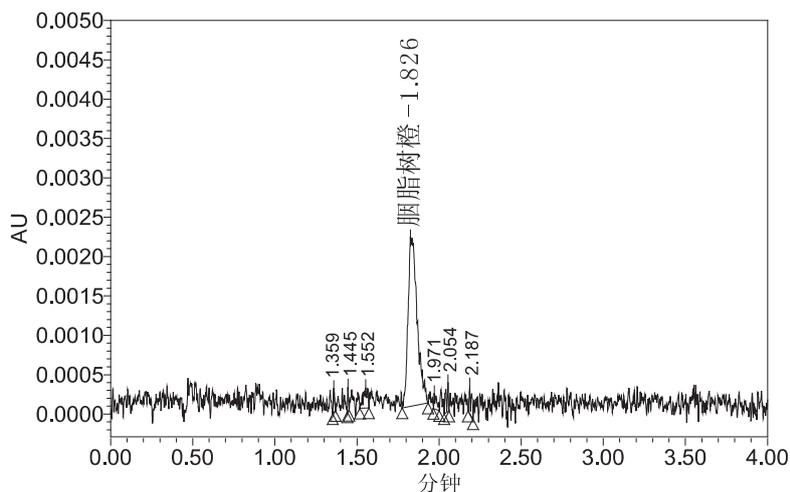


图5 0.04μg/mL胭脂树橙标准溶液色谱图

Fig.5 Chromatography of 0.04μg/mL bixin

表1 不同食品中胭脂树橙的加标回收率和精密度(n=6)

Table 1 The recovery and precision in different food samples (n=6)

Analyte	Added (mg/kg)	辣椒酱		山楂片		蟹肉棒		糖果		肉松	
		Recovery	RSD								
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
胭脂树橙	0.8	93.3	3.6	95.1	1.1	94.8	1.8	90.3	3.3	96.1	1.1
Bixin	4.0	90.2	5.4	90.7	3.8	83.8	0.6	93.6	4.2	94.0	2.7
	8.0	93.4	6.1	94.3	5.8	86.4	0.7	93.3	1.6	91.8	2.3

3 结 论

本文建立了食品中胭脂树橙的快速提取方法以及采用超高效液相色谱-紫外检测器快速检测食品中胭脂树橙含量的方法,该方法处理简单、检测时间短,灵敏度高,对食品生产企业在食品加工过程中的质量监控及政府监管部门的监督检查,都具有重要的实际意义。

参考文献

- [1] 凌关庭. 食品添加剂手册[M]. 2版. 北京: 化学工业出版社, 1997: 551-552.
- [2] GB 2760-2007, 食品添加剂使用卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [3] 李晓露, 李宁, 王海燕, 等. HPLC法测定胭脂树种子假种皮中胭脂树橙的含量[C]. 第九届全国青年药学工作者最新科研成果交流会, 2008.
- [4] DIN 10482-2-2006, 乳酪中胭脂树橙含量的测定 第2部分: 高效液相色谱法[S]. 德国标准化学会(DE- DIN), 2006.

赠送阅读卡启事

为方便读者利用网络资源查阅和下载《福建分析测试》的文章, 本刊与维普资讯网合作, 向本刊作者/ 全年订户免费赠送“维普阅读体验卡”一张, 每卡面额30元。读者持本卡可随时登陆维普资讯网(www.qvip.com)了解《维普资讯阅读卡使用细则》, 还可用于维普网站下载文章账号充值。

《福建分析测试》编辑部

2011.1