

使用CORTECS C₁₈, 2.7 μm色谱柱对辣椒油中的苏丹红染料进行LC-MS分析

Michael S. Young和Kim Van Tran

沃特世公司 (美国马萨诸塞州米尔福德)

应用优势

- 灵敏的LC-MS分析, 低ppb级检测限
- 2.7 μm实心核颗粒色谱柱, 兼容所有LC系统, 可提供高效分离
- 高效、简便直观的SPE样品制备, 适用于极其复杂的油性树脂基质

沃特世解决方案

[ACQUITY UPLC® H-Class系统](#)

[CORTECS® 2.7 μm色谱柱](#)

[Xevo® TQD](#)

[Sep-Pak® 硅胶](#)

关键词

辣椒油树脂, LC-MS/MS, 苏丹红染料

简介

苏丹红染料是一类重氮偶联化合物, 不溶于水, 可用于蜡、油、溶剂和塑料的增色剂。大部分染料单独或混合使用可形成与红辣椒中的天然有色化合物非常相似的颜色 (两种重要的辣椒色素的结构见图1)。然而, 苏丹红染料这种潜在致癌物有时会被人们用于为辣椒类产品增色。由于此类用途是非法的, 食品中不允许含有任何苏丹红染料。因此, 人们开发了灵敏重现的方法以测定典型辣椒产品中的苏丹红染料。然而, 与新鲜辣椒或辣椒粉相比, 辣椒油的基质更为复杂。辣椒油是一种从辣椒中萃取的天然油脂和树脂的高浓度混合物。在食品行业中, 它可用作强的调味剂和强的着色剂。在药物制剂和胡椒粉喷雾剂中, 它也可作为辣椒素的来源。由于辣椒油可用作食品着色剂, 因此需要高效的分析方法来测定食品中的非法染料。本应用纪要展示了一种适用于测定辣椒油中常见的苏丹红染料的SPE分析方法。本应用纪要还介绍了使用填充有2.7 μm颗粒实心核分析柱的液相方法。这种色谱柱可在较低反压下实现高效分离, 并且与HPLC和UPLC®系统兼容。图2展示了本研究中使用的染料的结构。

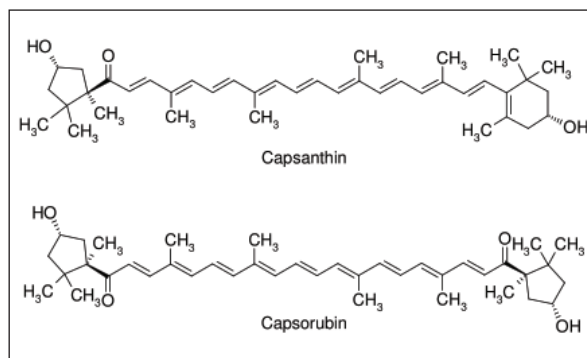


图1. 辣椒油中的天然有色化合物。

实验

LC条件

LC系统: ACQUITY UPLC H-Class
 色谱柱: CORTECS C₁₈,
 2.7 μm, 2.1 × 100 mm
[\(部件号 186007400\)](#)
 流动相A: 0.1%甲酸水溶液
 流动相B: 0.1%甲酸的甲醇溶液
 进样体积: 5 μL
 进样模式: 部分定量环进样
 柱温: 45 °C
 弱洗针液: 甲醇/水 (10:90)
 (600 μL)
 强洗针液: 甲醇 (200 μL)
 密封清洗液: 乙腈/水 (10:90)
 流速: 0.40 mL/min
 梯度:

时间	A%	B%	C%
初始	80	10	10
0.5	40	30	30
5.0	0	50	50
9.0	0	50	50
9.1	80	10	10
12.0	80	10	10

MS条件

质谱仪: Xevo TQD
 电离模式: 电喷雾正离子
 离子源温度: 150 °C
 脱溶剂气温度: 500 °C
 脱溶剂气流速: 1000 L/h
 锥孔气流速: 30 L/h
 碰撞气流速: 0.15 mL/min
 数据管理: Masslynx® 4.1版

表1汇总了本研究使用的MRM通道和离子源参数。

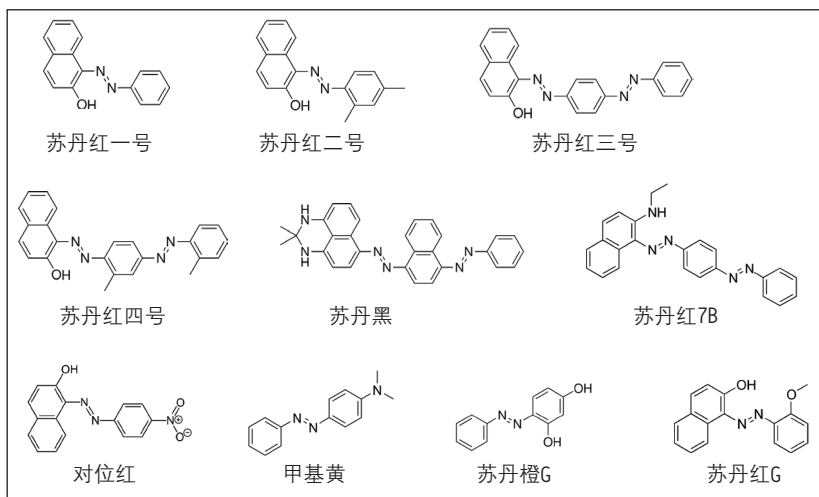


图2. 本研究中的苏丹红染料。

样品制备

辣椒油（辣椒）购自商业来源。将0.1 g此树脂样品溶于1 mL己烷中。用3 mL己烷活化Sep-Pak硅胶小柱（6 mL, 500 mg, 部件号WAT043400），然后上样稀释样品。用2 mL己烷清洗小柱，然后用2 mL乙腈/二氯甲烷（5:95）洗脱。蒸干洗脱液，用150 μL甲醇复溶。SPE采用了具有最低真空度的真空导管，在所有步骤中液体均能以2 mL/min的流速通过小柱。

化合物	母离子 (m/z)	锥孔 (V)	子离子1 (m/z)	碰撞能量1 (eV)	子离子2 (m/z)	碰撞能量2 (eV)
苏丹橙G	215.1	32	93	20	122	14
二甲基黄	226.1	42	77	30	121	30
苏丹红一号	249.1	34	93	20	156	14
苏丹红二号	277.1	30	121	24	156	20
苏丹红G	279	28	123	18	108	34
对位红	294.1	30	143	30	128	35
苏丹红三号	353.2	48	197.1	26	156	24
苏丹红7B	330.15	30	183.1	15	115	50
苏丹红四号	381.2	50	106.1	42	91.04	24
罗丹明B	443.3	80	341	66	355.2	60
苏丹黑B	457.1	58	194	35	211.1	26

表1. 本研究使用的MRM通道和离子源参数。

结果与讨论

结果见表2。本研究中测定的苏丹红染料包括酚类（如苏丹红一号）、多酚类（如苏丹橙G）和胺类（如苏丹黑）。由于Sep-Pak硅胶小柱能有效保留10种目标分析物染料，因此被选用于SPE纯化。虽然回收率一般在75%至100%之间，但多酚类苏丹橙G的回收率只有约50%。与其它染料相比，此化合物在硅胶SPE小柱上的保留性更强。通过增加洗脱体积或提高洗脱溶剂中乙腈的百分含量可提高回收率。然而，这些步骤都会使最终萃取物中深色基质化合物含量变多，从而使纯化效果明显变差。图3展示了获得的纯化样品，左侧样品瓶中为SPE处理前从溶于己烷的1.0 mL样品中取出的一份150 µL样品，右侧样品瓶中为SPE处理后复溶于150 µL甲醇的样品。SPE方案不仅显著提升了萃取物的纯净度，还将萃取物浓缩了将近7倍。

化合物%	回收率(%RSD)	
	10 ppb	100 ppb
多酚类		
苏丹橙G	46 (28)	54 (23)
酚类		
苏丹红一号	69 (16)	78 (4)
苏丹红二号	80 (17)	86 (10)
苏丹红三号	73 (8)	75 (7)
苏丹红四号	106 (16)	100 (14)
苏丹红G	75 (13)	79(3)
对位红	75 (30)	79 (5)
胺类		
甲基黄	81 (10)	84 (3)
苏丹黑	73 (13)	88 (13)
苏丹红7B	83 (9)	82 (7)

表2. 10种苏丹红染料的回收率数据 (n = 6)。

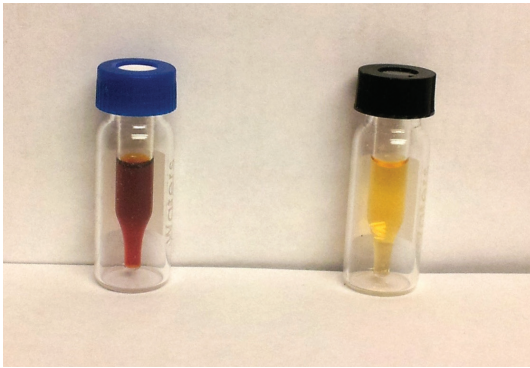


图3. SPE纯化；左侧样品瓶为未经纯化的辣椒油样品，右侧样品瓶为纯化和富集之后的辣椒油树脂样品。

CORTECS 2.7 μm 实心颗粒色谱柱具有出色的色谱性能，并且进样200多次均保持一致的性能。图4显示了加标100 ng/g (ppb) 样品的典型分析色谱图。本次分析在ACQUITY UPLC H-Class系统上进行。此系统经设计不仅可在UPLC压力和流速下提供优异的性能，而且在诸如本文研究使用的HPLC条件下同样具有出色表现。由于本研究中观察到的色谱柱反压约为3100 psi，因此在压力上限为4000 psi甚至更高的传统HPLC仪器上进行分析不会出现问题。对于需要真正UPLC性能的分析人员来说，可将分离转移至CORTECS C₁₈, 1.6 μm 实心色谱柱上进行分析。

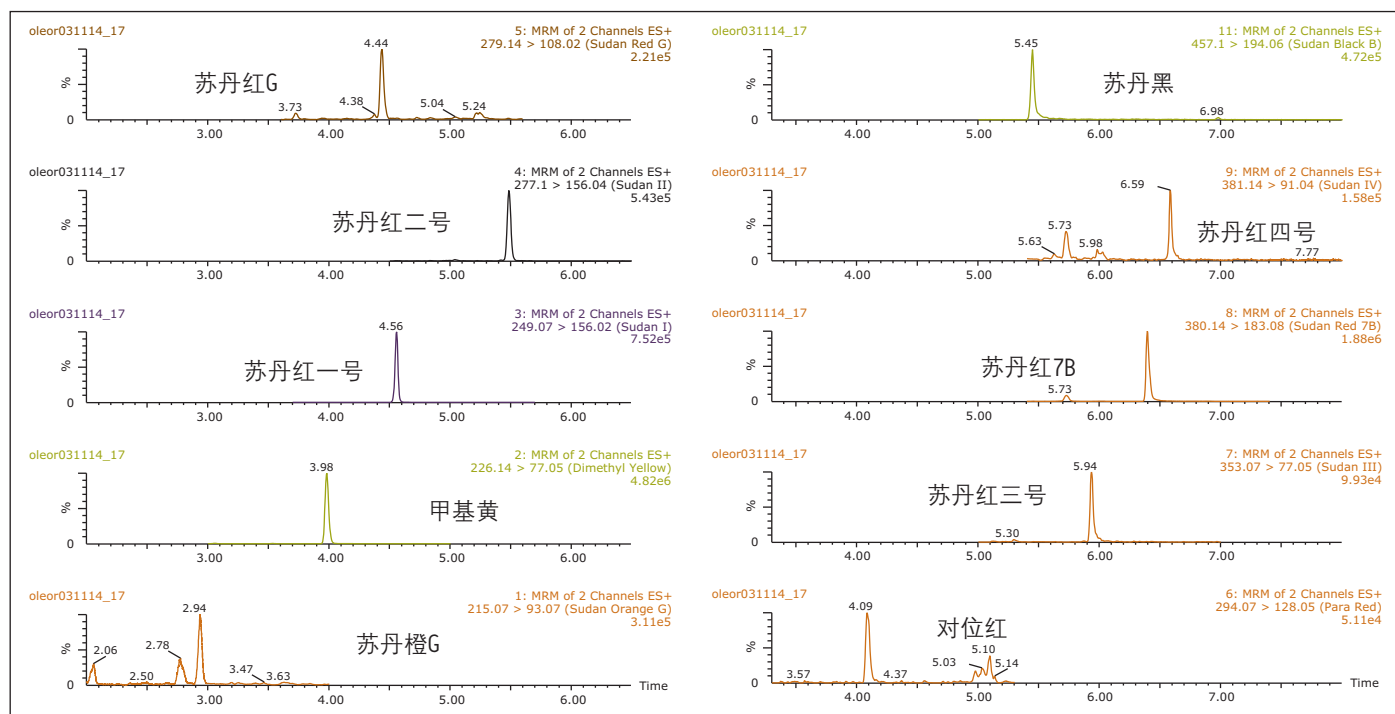


图4. 加标100 ppb (ng/g) 的辣椒油树脂样品的提取离子色谱图。

结论

- 开发了一种测定辣椒油中苏丹红染料的有效方法。
- Sep-Pak硅胶小柱可有效纯化样品。
- CORTECS C₁₈, 2.7 µm实心色谱柱具有优异的色谱性能，反压可兼容最传统的HPLC系统。

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters, The Science of What's Possible, ACQUITY UPLC, Xevo, UPLC, Sep-Pak, MassLynx和CORTECS是沃特世公司的注册商标。其它所有商标均归各自的拥有者所有。

©2014 年沃特世公司。印制于中国。2014年6月 720005070ZH AG-PDF

沃特斯中国有限公司
沃特世科技（上海）有限公司

北京：010 - 5209 3866
上海：021 - 6156 2666
广州：020 - 2829 6555
成都：028 - 6578 4990
香港：852 - 2964 1800

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676
www.waters.com