

doi: 10.11857/j.issn.1674-5124.2019010059



超高效液相色谱-串联质谱测定卷烟爆珠中 7种着色剂

张建铎, 杨文武, 向海英, 曾婉俐, 宋春满, 杨叶昆, 李雪梅

(云南中烟工业有限责任公司技术中心, 云南昆明 650106)

摘要: 为检测卷烟爆珠中7种水溶性着色剂含量, 建立超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS-MS)同时分析爆珠中柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红、赤藓红、诱惑红、亮蓝含量的检测方法。爆珠样品用水匀浆提取, 再用正己烷除去有机杂质, 水相经0.22 μm滤膜过滤后进样分析。以Waters BEH色谱柱为分析柱, 甲醇和10 mmol/L乙酸铵水溶液为流动相进行梯度洗脱, 采用超高效液相色谱-串联质谱在正负两种电离模式下多反应监测模式(MRM)分析, 外标法定量。7种着色剂的线性范围介于0.005~0.5 μg/mL, 相关系数均大于0.99, 3个水平加标平均回收率为85.2%~105%, 相对标准偏差为2.1%~4.6%, 方法定量限在0.4~5.0 μg/g。该方法灵敏、准确, 适用于爆珠中7种着色剂的含量分析。

关键词: 爆珠; 着色剂; 超高效液相色谱-串联质谱

中图分类号: TS43

文献标志码: A

文章编号: 1674-5124(2019)06-0077-04

Determination of seven colorants in cigarette breakable capsule by ultra-high performance liquid chromatograph-tandem mass spectrometry

ZHANG Jianduo, YANG Wenwu, XIANG Haiying, ZENG Wanli, SONG Chunman,
YANG Yekun, LI Xuemei

(Technology Center of China Tobacco Yunnan Industrial Co., Ltd., Kunming 650106, China)

Abstract: To detect seven kinds of water-soluble colorant in cigarette breakable capsule, a method was developed for determination tartrazine, amaranth, ponceau, sunset yellow, allura red, brilliant blue and erythrosine by ultra-high performance liquid chromatograph-tandem mass spectrometry. The samples were extracted by homogenate with water, removed organic impurity with hexane, and injected after filter with 0.22 μm. Waters BEH column was selected as analysis column with methanol and 10 mmol/L ammonium acetate aqueous solution as mobile. MRM with ESI+ and ESI- mode was used to analyze sample by ultra-high performance-tandem mass spectrometry. The results showed that average recoveries of 7 colorants were in the range of 85.2%-105% with relative standard deviation of 2.1%-4.6%. The linear range were 0.005-0.5 μg/mL, correlation coefficients were all greater than 0.99, and the limit of quantitation were 0.4-5.0 μg/g. The method

收稿日期: 2019-01-11; 收到修改稿日期: 2019-02-21

基金项目: 中国烟草总公司标准预研项目(2016QB007)

作者简介: 张建铎(1992-), 男, 山东德州市人, 助理研究员, 硕士, 研究方向为仪器分析。

通信作者: 曾婉俐(1984-), 女, 云南怒江市人, 副研究员, 博士, 研究方向为仪器分析。

is sensitive and suitable for the analysis of 7 colorants in breakable capsule.

Keywords: breakable capsule; colorants; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

0 引言

爆珠是嵌于卷烟滤嘴中的一种包裹不同类型香精且易捏破的香味胶囊,在卷烟抽吸过程中将其捏破,可释放出特色香味,达到突出产品个性特征,提升卷烟抽吸品质的作用。由于爆珠在改善卷烟感官特征方面的独特作用,近年来已成为中式卷烟品质的一种新标志。爆珠产品由壁材、芯材两部分构成。芯材主要是包裹的香精,壁材主要是天然胶。为区分不同规格或香气特征,大多数爆珠使用合成色素生产成彩色样式。合成色素,又称合成着色剂,是指用化学合成的方法制得的有机染料,具有成本低廉、色泽鲜艳、着色力强、稳定性好,可任意调配等特点,一定程度上弥补了天然色素的不足,在食品生产过程中广泛应用。合成色素多以苯、甲苯等化工产品为原料制成,过量的合成色素及其分解产物会对人体健康产生潜在危害,表现为慢性毒性或致癌性等^[1]。我国对人工合成色素在食品中允许使用的品种、范围和添加量都作了严格规定^[2],并制定了相应的检测标准,如 GB/T 5009.35-2016《食品中合成着色剂的测定》^[3]。采用液相色谱测定饮料^[4]、冰淇淋^[5]、蜜饯^[6]、膨化食品^[7]、糕点^[8]、海米^[9]以及肉制品^[10]中合成着色剂已有不少报道。近年来超高效液相色谱-质谱联用仪因其高灵敏度高选择性也被逐渐用于食品^[11-12]、酒水^[13-14]和化妆品^[15-16]中合成着色剂的检测。目前烟草行业尚未规定卷烟爆珠中合成着色剂的检测方法,也未规定限量要求。本文采用匀浆提取、超高效液相色谱-串联质谱检测,建立了爆珠中7种着色剂的检测方法,为掌握爆珠中合成着色剂的使用情况,及时应对卷烟滤嘴爆珠潜在的安全性风险,以及卷烟产品安全性评价提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 仪器

Waters Acquity UPLC 超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Waters Primer 串联质谱仪(美国 Waters 公司); IKA T18 匀浆机(德国 IKA 公司); Talboys 多管旋涡混合仪(美国 Troemner 公司); Millipore 超纯水机(德国 Merck Millipore 公司);

Eppendorf 5804 台式离心机(德国 Eppendorf 公司)。

1.2 试剂

甲醇、正己烷(色谱纯,美国 Tiade 公司);标准品柠檬黄(tartrazine, CAS: 1934-21-0)、日落黄(sunset yellow, CAS: 2783-94-0)、苋菜红(amaranth, CAS: 915-67-3)、胭脂红(ponceau, CAS: 2611-82-7)、诱惑红(allura red, CAS: 25965-17-6)、亮蓝(brilliant blue, CAS: 3844-45-9)、赤藓红(erythrosine, CAS: 16423-88-0)均购自 Sigma-Aldrich 公司,纯度大于 99.0%。

1.3 方法

1.3.1 溶液配制

分别称取 7 种着色剂标准物质 0.025 g,用纯水溶解定容于 25 mL 容量瓶中,配制成浓度为 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的单一标准储备液。然后移取每种单一标准储备液各 1 mL 至 10 mL 容量瓶中,用纯水定容,得到每种着色剂浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的混合储备液,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.3.2 样品处理

称取爆珠 0.2 g 于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 水,用匀浆机以 15 000 r/min 匀浆 2 min,再加 5 mL 正己烷涡旋振荡 2 min,4 000 r/min 离心 5 min,取水相层用 0.22 μm 滤膜过滤后上机分析。

1.3.3 分析条件

色谱柱: Acquity BEH C18 柱(2.1mm \times 100 mm, 1.7 μm);流动相: A 为含 10 mmol/L 乙酸钠的纯水, B 为甲醇;洗脱程序: 0 min 75% A, 2 min 50% A, 4 min 25% A, 5 min 75% A, 9 min 75% A。流量: 0.3 mL/min;进样量: 2 μL ;柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

质谱扫描方式: 正、负离子两种模式;监测方式: 多反应监测;喷雾电压: 3000 V;雾化气压力: 750 L/h;辅助气压力: 50 L/h;离子源温度: 120 $^{\circ}\text{C}$ 。7 种着色剂的检测参数见表 1。

2 结果与讨论

2.1 前处理方法的选择

目前常用的爆珠壁材多为明胶,可溶于热水,不溶于冷水。采用 70~80 $^{\circ}\text{C}$ 的热水超声提取^[17],本

表 1 测定的着色剂种类及检测参数

着色剂	离子模式	定量离子对(m/z)	定性离子对(m/z)	碰撞能/eV
柠檬黄	ESI+	469.2/108.2	469.2/199.9	38, 38
	ESI-	467.2/171.9	467.2/198.0	18, 18
苋菜红	ESI+	539.2/223.1	539.2/348.1	36, 36
	ESI-	537.2/237.0	537.2/317.0	42, 30
胭脂红	ESI+	539.2/157.9	539.2/223.1	36, 38
	ESI-	537.2/302.0	537.2/509.0	22, 16
日落黄	ESI+	409.2/173.0	409.2/236.0	38, 28
	ESI-	407.2/207.0	407.2/327.0	30, 26
诱惑红	ESI+	453.1/202.1	453.1/217.0	38, 34
	ESI-	451.1/207.0	451.1/235.0	28, 28
亮蓝	ESI+	749.3/171.0	749.3/306.2	80, 50
	ESI-	747.3/260.3	747.3/481.1	48, 50
赤藓红	ESI+	836.9/328.9	836.9/582.9	64, 60
	ESI-	834.9/536.8	834.9/662.9	32, 30

实验采用高速匀浆机匀浆提取, 相对更为简便快捷。因此本实验将爆珠匀浆后, 以有机溶剂去除包裹的芯材, 着色剂溶于水相, 过滤后可直接上机分析。

2.2 色谱方法的优化

本实验采用超高效液相色谱(UPLC)进行分离, 比 GB 5009.35-2016 标准使用 HPLC 分析速度更快, 消耗溶剂更少。为兼顾 1.7 μm 色谱柱的使用柱压和质谱电离源对流量的要求, 实验采用 0.3 mL/min 流速, 可在 4 min 内完成 7 种组分的色谱分离。以甲醇-水(含乙酸铵)体系洗脱时, 色谱分离优于乙腈-水(含乙酸铵)体系, 且质谱响应相对较好, 因此使用甲醇和含乙酸铵的水溶液为流动相梯度洗脱。实验发现使用 5 mmol/L 乙酸铵色谱峰形相对稍差, 10 mmol/L 既可满足色谱分析要求, 又不至于造成较大的污染和基质效应, 因此采用 10 mmol/L 乙酸铵溶液。柱温对 7 种着色剂的色谱分离影响很小, 但升高柱温可轻微降低柱压, 实验选择 30 $^{\circ}\text{C}$ 柱温。

2.3 质谱方法的优化

本文采用流动注射方式, 将上述 7 种着色剂的低浓度标准溶液分别在正、负两种电离模式下优化目标物的母离子和特征子离子以及相应的质谱参数。结果 7 种着色剂在正、负两种离子模式下均能优化得到离子对, 且响应均较好, 能满足测试要求。其中柠檬黄、苋菜红、诱惑红、胭脂红、亮蓝

5 种着色剂在正离子模式下的响应稍强于负离子模式, 日落黄、赤藓红 2 种着色剂在负离子模式下的响应稍强于正离子模式。本实验发现检测 7 种着色剂时, 正负两种电离模式均能满足要求。因此在分析样品, 可任选一种电离模式, 对于具有正负离子同时扫描功能的液质仪器, 可同时采用两种模式监测, 更能有效防止假阳性。

2.4 基质效应评价

基质效应(matrix effect)是指色谱分离时共洗脱的物质改变了目标测定物的离子化效率所引起的信号的抑制或提高, 最终影响方法的灵敏度和分析结果的准确性。液相色谱-串联质谱分析样品时基质效应一般表现为基质抑制效应。根据相对响应值法, 采用基质匹配标准曲线斜率和溶剂标准曲线斜率之比来评价基质效应, $ME = (\text{基质标准曲线斜率} / \text{溶剂标准曲线斜率})$ 。实验采用无色爆珠提取液作为空白基质溶液, 配制基质匹配标准溶液, 再配制相同浓度系列的标准溶液。比较 7 种着色剂的两组校准曲线, 发现 7 种着色剂的基质效应系数介于 0.87~0.92, 基质抑制效应轻微, 可以忽略。因此可直接使用溶剂标准曲线进行定量分析。

2.5 方法学考察

2.5.1 方法线性方程与检出限

配制系列浓度的 7 种着色剂标准溶液, 对系列

混合标准工作溶液进行测定,每个浓度3次进样,平均校正。以各组分的质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准工作曲线。7种着色剂在各自的线性范围内具有良好的线性关系,相关系数均大于0.99。亮蓝的线性范围在0.005~0.2 $\mu\text{g/mL}$,其他6种着色剂的线性范围在0.02~0.5 $\mu\text{g/mL}$,如表2所示。根据最小检测浓度的3倍相对标准偏差为仪器检出限、10倍相对标准偏差为仪器定量限,结合前处理的样品质量、提取体积和稀释倍数等计算,本方法对7种着色剂的定量限在0.4~5 $\mu\text{g/g}$,能满足7种着色剂的含量分析要求。

2.5.2 方法回收率与精密度

采用无色爆珠作为空白样品,在3个水平上进行添加回收实验,每个水平6次重复。其中柠檬黄、苋菜红、胭脂红、诱惑红和赤藓红按2.5, 5, 10 $\mu\text{g/g}$ 3个水平添加;亮蓝按0.5, 1.0, 1.5 $\mu\text{g/g}$ 3个水平添加;柠檬黄按5, 10, 15 $\mu\text{g/g}$ 3个水平添加,结果如表3所示。在3个加标水平上,7种着色剂的

平均回收率在85.2%~105%之间,相对标准偏差(RSD)在2.1%~4.6%,说明本方法对7种着色剂有较好的回收率和精密度,能满足7种着色剂的含量分析要求。

2.6 样品检测

检测了不同厂家生产的42份烟用爆珠产品,结果显示柠檬黄检出率为71.4%,含量范围在8.7~318.2 $\mu\text{g/g}$;亮蓝检出率为71.4%,含量范围在10.1~382.4 $\mu\text{g/g}$;诱惑红检出率为14.3%,含量范围在72.3~468.6 $\mu\text{g/g}$;胭脂红检出率为14.3%,含量范围在120.6~218.7 $\mu\text{g/g}$;苋菜红检出率为14.3%,含量范围在2.1~7.6 $\mu\text{g/g}$,其他几种未检出。

抽取加有不同颜色爆珠的卷烟,剪下滤嘴部分,用镊子剥开滤嘴,取出爆珠,按前述方法测定。结果显示所测卷烟样品中柠檬黄含量为0.25 $\mu\text{g/支}$,诱惑红含量为0.52 $\mu\text{g/支}$,亮蓝含量为0.25 $\mu\text{g/支}$,胭脂红含量为0.76 $\mu\text{g/支}$,其他几种未检出。

表2 方法的线性方程与定量限

着色剂	保留时间/min	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	线性方程	r^2	定量限/ $(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$
柠檬黄	1.88	0.02~0.5	$y=4\ 622.67x-832.46$	0.999 7	2.0
苋菜红	2.00	0.02~0.5	$y=5\ 165.21x+641.62$	0.998 4	1.8
胭脂红	2.46	0.02~0.5	$y=5\ 632.82x+1\ 343.55$	0.998 2	1.5
日落黄	2.55	0.05~0.5	$y=1\ 783.47x-206.84$	0.997 8	5.0
诱惑红	2.73	0.01~0.5	$y=10\ 452.34x+708.20$	0.996 0	1.5
亮蓝	3.32	0.005~0.2	$y=103\ 966.12x-18\ 017.12$	0.998 4	0.4
赤藓红	3.60	0.03~0.5	$y=4\ 015.22x+26\ 379.34$	0.998 0	2.5

表3 方法的回收率与精密度

着色剂	加标水平1		加标水平2		加标水平3	
	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%
柠檬黄	92.8	4.0	95.6	3.2	102	2.1
苋菜红	95.2	3.8	99.8	2.4	104	2.2
胭脂红	86.6	4.3	89.2	3.3	93.4	2.5
日落黄	85.7	4.4	87.3	3.4	90.5	2.2
诱惑红	93.4	4.5	96.2	2.3	105	2.4
亮蓝	85.2	4.6	88.4	2.6	94.8	2.1
赤藓红	94.1	3.9	95.8	3.1	104	2.2

3 结束语

本文采用匀浆提取、超高效液相色谱-串联质谱

检测,建立了烟用爆珠中7种着色剂含量的检测方

(下转第108页)

- 114.
- [3] FENG W, WANG Z B, CHEN W Z, et al. Extracorporeal high intensity focused ultrasound ablation in the treatment of patients with large hepatocellular carcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2004, 11(12): 1061-1069.
- [4] 张志刚. 超声技术在临床治疗中的应用 [J]. *医疗设备信息*, 2006, 21(4): 61-67.
- [5] FENG W, WANG Z B, CHEN W Z, et al. Advanced hepatocellular carcinoma: treatment with high-intensity focused ultrasound ablation combined with transcatheter arterial embolization[J]. *Radiology*, 2005, 26(2): 117-120.
- [6] FAN T B, LIU Z B, CHEN T, et al. A modeling approach to predict acoustic nonlinear field generated by a transmitter with an aluminum lens[J]. *Medical Physics*, 2011, 38(9): 5033-5039.
- [7] NICHOLAS E, AKI P, JUNHO S, et al. The utility of sparse 2D fully electronically steerable focused ultrasound phased arrays for thermal surgery: a simulation study[J]. *Phys Med Biol*, 2001(56): 4913-4932.
- [8] 邹诚, 蔡栋, 孙振国, 等. 锯齿形超声相控阵声场特性 [J]. *清华大学学报(自然科学版)*, 2017, 57(6): 604-608.
- [9] 章东, 桂杰, 王晓玲, 等. 等高度聚焦算法的超声相控阵检测技术 [J]. *电子测量与仪器学报*, 2018, 32(2): 42-47.
- [10] 刘宸, 孙宏祥, 袁寿其, 等. 基于热声相控阵列的声聚焦效应 [J]. *物理学报*, 2017, 55(15): 154302.
- [11] CHRIS A, JAMES R M, LU Z N, et al. Excitation of leaky lamb waves in cranial bone using a phased array transducer in a concave therapeutic configuration[J]. *J Acoust Soc Am*, 2017, 141(5): 3918-3918.
- [12] 单宝华, 李冬生, 郭佳, 等. 双层界面下非近轴近似多元高斯模型的相控阵声场模拟 [J]. *声学学报*, 2017, 42(4): 457-464.
- [13] EUNA C, YONGRAE R. Optimal design of a concave annular high intensity focused ultrasound transducer for medical treatment[J]. *Sensors and Actuators A*, 2017(263): 91-101.
- [14] ROBERT T H, VESNA Z, THUC N N, et al. Annular phased-array high-intensity focused ultrasound device for image-guided therapy of uterine fibroids[J]. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, 2006, 52(2): 335-348.
- [15] 邓鹰飞, 刘桂雄, 唐文明. FPGA 超声相控阵高压发射精确延时设计 [J]. *中国测试*, 2015, 41(5): 83-86.

(编辑:莫婕)

(上接第 80 页)

法, 相对液相色谱方法, 定性更准确, 分析时间更快, 易于判断假阳性, 适合爆珠中 7 种着色剂含量分析。

参考文献

- [1] 姚焕章. 食品添加剂 [M]. 北京: 中国物资出版社, 2001: 106.
- [2] 食品安全国家标准食品添加剂的使用: GB 2760-2014[S]. 北京: 中国质检出版社, 2014.
- [3] 食品安全国家标准食品中合成着色剂的测定: GB 5009. 35-2016[S]. 北京: 中国质检出版社, 2016.
- [4] 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, 8(3): 1037-1040.
- [5] 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, 29(1): 194-196.
- [6] 林芳, 李涛, 王一欣, 等. 固相萃取-超高效液相色谱法同时测定蜜饯中 9 种合成色素 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(2): 567-570.
- [7] 马雪丰. 高效液相色谱法对膨化食品中合成色素的测定 [J]. *中国食品添加剂*, 2015, 26(6): 184-186.
- [8] 谭冬明. 糕点中常见食用合成色素的前处理方法优化及高效液相色谱分析 [J]. *中国食品添加剂*, 2016, 27(3): 156-159.
- [9] 刘慧慧, 宫向红, 徐英江, 等. 固相萃取-高效液相色谱法同时测定海米中 10 种合成色素 [J]. *食品科学*, 2014, 35(4): 170-173.
- [10] 关晓月, 张昊天, 顾佳. 高效液相色谱法测定肉类与肉制品中添加的人工合成着色剂 [J]. *中国食品添加剂*, 2016, 27(4): 150-152.
- [11] 伊雄海, 邓晓军, 杨惠琴, 等. 液相色谱-串联质谱法检测食品中的多种易滥用着色剂 [J]. *色谱*, 2011, 29(11): 1062-1065.
- [12] 杨伟强. 全自动固相萃取-超高效液相色谱串联质谱法检测食品中的 9 种合成色素 [J]. *福建分析测试*, 2014, 23(5): 1-5.
- [13] 黎永乐, 郑彦婕, 熊岑, 等. 液相色谱/线性离子阱-静电场轨道阱高分辨质谱法快速筛查葡萄酒中的合成色素 [J]. *色谱*, 2013, 31(8): 729-732.
- [14] 桂茜雯, 柳菡, 许蔚, 等. 葡萄酒中 26 种添加剂的高效液相色谱-高分辨质谱筛查法 [J]. *质谱学报*, 2015, 36(2): 148-150.
- [15] 贾丽, 许雯, 刘希诺, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定化妆品中 15 种色素 [J]. *香精香料化妆品*, 2013, 2(1): 36-39.
- [16] 宗珊盈, 张轩, 李超, 等. 固相萃取-HPLC-MS/MS 法同时测定食品中 6 种人工合成着色剂 [J]. *中国食品添加剂*, 2016, 27(5): 152-155.
- [17] 刘秀明, 张建, 刘亚, 等. 高效液相色谱法同时测定爆珠壁材中 8 种水溶性着色剂 [J]. *中国测试*, 2018, 44(3): 48-50.

(编辑:徐柳)