

研究简报

LC - ESI/MS 分析食品中微量苏丹红 ~

喻凌寒, 杨运云, 闫世平, 陈江韩, 李光宪, 牟德海, 蔡大川

(中国广州分析测试中心 广东省化学危害应急检测技术重点实验室, 广东 广州 510070)

摘要: 建立了准确可靠的用 LC - ESI/MS 分析食品中 4 种苏丹红色素的方法。样品中的苏丹红用乙腈提取, 不需纯化。色谱柱为 Agilent C₁₈(15 cm × 2.1 mm, 3 μm), 流动相为乙腈 - 0.5% 乙酸溶液(体积比 72 : 28)。采用正离子电离方式, 每种化合物选择 3 个碎片离子为定性离子以获得高选择性, 选取每个化合物丰度最高的碎片为定量离子以获得高灵敏度。4 种苏丹红色素的检出限(LOD)和定量下限(LOQ)均为 ng/g 水平。标准加入量为 0.2 μg/g 水平时的回收率为 86% ~ 98%, 且重复性良好。本方法仪器分析时间仅需 8 min, 适合于大量样品的日常快速分析。

关键词: 液质联用; 苏丹红; 食品; 色素

中图分类号: O657.63; TS 202.3 文献标识码: A 文章编号: 1004 - 4957(2005)04 - 0028 - 04

Determination of Trace Sudan in Food by HPLC - ESI/MS

YU Ling-han, YANG Yun-yun, YAN Shi-ping, CHEN Jiang-han, LI Guang-xian, MU De-hai, CAI Da-chuan

(Guangdong Key Laboratory of Chemical Emergency Test, China National Analytical Center, Guangzhou, Guangzhou, 510070, China)

Abstract: A rapid and reliable method for the determination of trace Sudan , , and in food stuffs by reversed-phase liquid chromatography - ESI/MSD was presented. The Sudan dyes were extracted with acetonitrile and the clean-up procedure was not required. An Agilent C₁₈(15 cm × 2.1 mm) column with acetonitrile - 0.5% acetic acid mixture as the mobile phase was used under isocratic conditions(72 : 28 by volume). The mass spectra was acquired in positive ion mode. For each compound, three fragment ions were selected as qualitative ions to obtain high selectivity, and the most abundant fragment of each compound was selected for quantification to obtain high sensitivity. The detection limits(LOD) and quantification limits(LOQ) of Sudan - were at μg/g levels. The extraction recoveries of Sudan dyes in red pepper products ranged from 86% to 98% with good reproducibility at a spiking level of 0.2 μg/g. The time for the instrumental analysis was only 8 min. The method is applicable for routine analysis.

Key words: HPLC - ESI/MS; Sudan dyes; Food; Pigment

苏丹红是偶氮苯类人工色素, 目前工业上生产的苏丹红, 除苏丹红 外, 还有 、 和 3 种同系物(见图 1), 主要用于机油、蜡和鞋油等产品的染色。科学实验发现, 苏丹红 会导致鼠类患癌, 在人类肝细胞研究中也显现出可能致癌的特性^[1]。鉴于此, 世界各国都禁止将苏丹红作为食品添加剂用于食品生产, 我国《食品添加剂使用卫生标准》(GB 2760 - 1996)也不允许在食品中使用苏丹红。

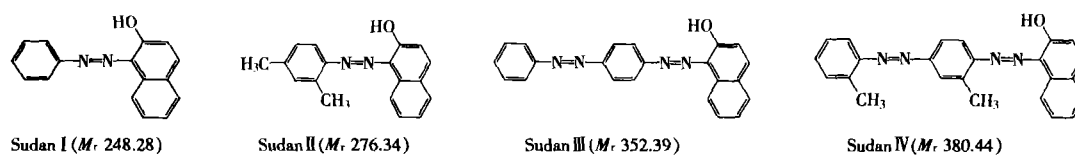


图 1 苏丹红系列色素的结构式
Fig. 1 Chemical structures of Sudan dyes

2004 年 6 月 14 日, 英国向消费者和贸易机构发出了警示, 在超市食品中发现含有潜在致癌物苏丹

收稿日期: 2005 - 03 - 18; 修回日期: 2005 - 05 - 10

作者简介: 喻凌寒(1976 -), 男, 湖南平江人, 工程师, 在职博士研究生, Tel: 020 - 87771384, E-mail: yulinhan@163.net

红 色素的食品。2005年2月18日,英国食品标准管理局宣布收回受非法致癌工业染料苏丹红 污染的359种食品。2月23日,我国国家质量监督检验检疫总局发出紧急通知,在全国展开对可能含有苏丹红 食品的抽查行动。当时由于我国还没有食品中苏丹红的检测标准,大多数实验室均采用和参考欧盟的检测方法(高效液相色谱法),3月29日国家质量监督检验检疫总局和国家标准委联合发布《食品中苏丹红染料的检测方法-高效液相色谱法》(GB/T 19681-2005)。我国国标与欧盟标准的主要不同之处在于增加了用氧化铝柱层析法净化的步骤,同时充分考虑到我国的实际情况,使用配置较为简单的仪器。但国标法操作步骤复杂,流程长,仅仪器分析时间就达到40 min。另外,如果色谱中存在干扰峰,国标法也无法进行鉴定和确认,由于食品种类繁多、基体复杂,国标法不可避免地会出现假阳性结果^[2-4]。

基于上述原因,本文研究了用HPLC-ESI/MS检测食品中苏丹红系列色素的方法,由于离子阱质谱检测器的高选择性,可以去除可能存在的干扰峰的影响,样品处理变得非常简单,提取液无需纯化即可上机分析,仪器分析时间仅需8 min即可获得准确可靠的定量和定性结果。建议国标法中增加HPLC-MS法。

1 实验部分

1.1 仪器设备

安捷伦1100 LC-trap-XCT液相色谱-电喷雾离子源-离子阱质谱系统; Sartorius BP 61型电子天平(0.1 mg); WH-851旋涡混合器(上海环宇仪器厂); R201型旋转蒸发器(上海申科仪器厂); GL20A全自动高速冷冻离心机(湖南仪表总厂离心机厂)。

1.2 试剂及材料

乙腈购于Sigma公司,色谱纯;苏丹红 (1-(phenylazo)-2-naphthol, CAS No. 842-07-9, CI 12055)、苏丹红 (1-[(2,4-dimethylphenyl)azo]-2-naphthol, CAS No. 3118-97-6, CI 12140)、苏丹红 (1-(4-phenylazophenylazo)-2-naphthol, CAS No. 85-86-9, CI 26100)和苏丹红 (1-[[2-methyl-4-[(2-methylphenyl)azo]phenyl]azo]-2-naphthol, CAS No. 85-83-6, CI 26105)均购于Sigma-Aldrich公司;水为二次蒸馏水,三氯甲烷为色谱纯,购于山东禹王有限公司;样品为送检样品。

1.3 储备液配制

称取约50.0 mg苏丹红色素标准,苏丹红 和苏丹红 用乙腈溶解,苏丹红 和苏丹红 用三氯甲烷溶解,然后定容至50 mL,配成1.0 mg/mL的工作储备液;将储备液置于阴暗处保存,使用时用乙腈稀释至所需浓度。

1.4 样品处理

取约5.0 g样品,用30 mL乙腈分3次萃取,离心分离,旋转蒸发浓缩至10 mL。经0.45 μm滤膜过滤,取10 μL进高效液相色谱仪。

1.5 液相色谱与质谱条件

色谱柱: Agilent C₁₈ 15 cm × 2.1 mm, 3 μm, 柱温: 室温, 流动相: 乙腈与0.5%乙酸水溶液的体积比72:28, 流速: 0.5 mL/min。进样量: 10 μL。

MS条件: 电喷雾电离(ESI), 离子化模式: 正离子化, 毛细管电压: 4 000 kV, 雾化气压力: 3.44 × 10⁵ Pa, 干燥气流量: 10 L/min, 干燥气温度: 350 。

2 结果与讨论

2.1 LC/DAD-ESI/MS-MS分析^[5]

由于苏丹红系列色素为偶氮类化合物,其生成负离子的丰度较小,灵敏度不及正电离模式;它们在ESI(+)-MS/MS条件下,主要是羟基、偶氮基和碳-氮键断裂形成的子离子,如图2所示。苏丹红 形成 m/z 249的分子离子峰 $[M+H]^+$, 主要碎裂成 m/z 93、156和232的子离子,其中以232的响应最大,作为苏丹红 的定量离子;苏丹红 形成 m/z 277的分子离子峰,碎裂形成 m/z 120、156和260的子离子,以 m/z 260的子离子作为苏丹红 的定量分析离子;苏丹红 的分子离子峰为 m/z 353,主要碎裂成

m/z 156、197 和 336, 以 m/z 197 作为定量分析离子; 苏丹红 的分子离子峰为 m/z 381, 主要离解成 m/z 209、224、276 和 364, 以 m/z 224 作为定量分析离子。苏丹红系列色素有着相似的结构, 故有着相同的碎片离子峰如 m/z 156, 因此该碎片离子峰不宜作为定量分析离子。苏丹红系列色素质谱的离子碎裂详见图 3。

2.2 线性范围

取标准储备液适量用乙腈稀释定容成最终质量浓度为 0.05、0.10、0.20、0.50、0.80 和 1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准工作液, 取 10 μL 进样, 按上述色谱分离条件和质谱分析条件进行分离、测定。实验结果表明苏丹红系列色素在 0.05 ~ 1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度范围内各物质的峰面积 (Y) 与浓度 (X) 线性相关性良好。苏丹红、苏丹红、苏丹红和苏丹红的回归方程和线性相关系数 (r) 分别为 $Y_1 = 8.40 \times 10^5 + 1.45 \times 10^8 X_1$ ($r_1 = 0.9994$)、 $Y_2 = -2.14 \times 10^5 + 3.55 \times 10^7 X_2$ ($r_2 = 0.9976$)、 $Y_3 = 7.53 \times 10^5 + 1.64 \times 10^8 X_3$ ($r_3 = 0.9989$) 和 $Y_4 = -4.27 \times 10^5 + 6.11 \times 10^7 X_4$ ($r_4 = 0.9991$)。

2.3 回收率和精密度试验

按上述方法, 对空白样品(不含有苏丹红系列色素)进行加标回收试验(添加量 1.00 μg), 按上述的样品处理方法进行前处理, 重复测量 6 次, 计算样品的加标回收率。4 种苏丹红色素的平均回收率介于 86% ~ 98%。

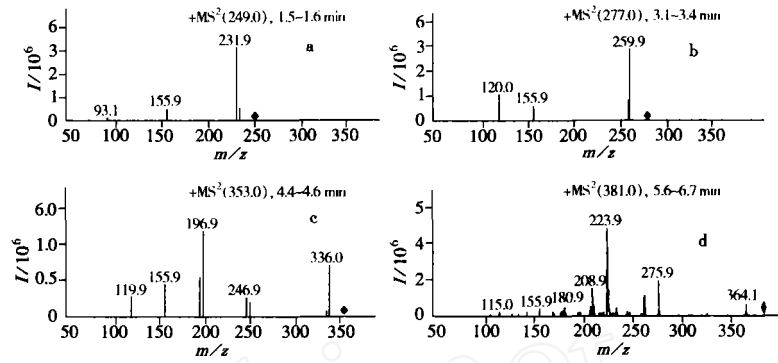


图 2 苏丹红 (a)、苏丹红 (b)、苏丹红 (c) 和苏丹红 (d) 的碎片离子峰

Fig. 2 The fragment ion of Sudan (a)、Sudan (b)、Sudan (c) and Sudan (d)

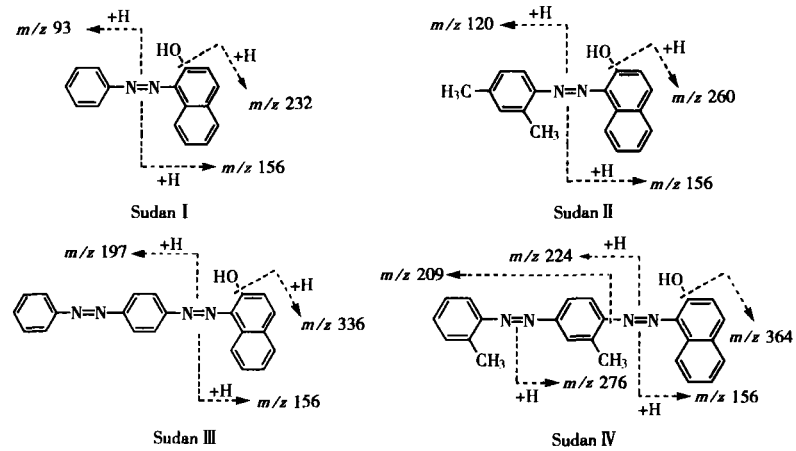


图 3 苏丹红色素的质谱碎裂示意图

Fig. 3 The fragmentation pattern of $[M+H]^+$ ions of Sudan dyes

表 1 HPLC-MS 法测定苏丹红、和 的回收率
Table 1 Spiking recovery of Sudan , , and determined with HPLC-MS

Sample	Sudan dyes	Added $ms/\mu\text{g}$	Found $me/\mu\text{g}$	Recovery $R/\%$
Hot chili oil (辣椒油)	Sudan	1.00	0.89 \pm 0.04	89 \pm 4
	Sudan	1.00	0.93 \pm 0.03	93 \pm 3
	Sudan	1.00	0.87 \pm 0.05	87 \pm 5
	Sudan	1.00	0.86 \pm 0.03	86 \pm 3
Hot chili sauce (辣椒酱)	Sudan	1.00	0.90 \pm 0.04	90 \pm 4
	Sudan	1.00	0.92 \pm 0.02	92 \pm 2
	Sudan	1.00	0.86 \pm 0.04	86 \pm 4
	Sudan	1.00	0.89 \pm 0.03	89 \pm 3
Hot chili powder (辣椒粉)	Sudan	1.00	0.94 \pm 0.02	94 \pm 2
	Sudan	1.00	0.98 \pm 0.04	98 \pm 4
	Sudan	1.00	0.96 \pm 0.04	96 \pm 4
	Sudan	1.00	0.94 \pm 0.05	94 \pm 5

2.4 灵敏度

按照本文的处理方法,苏丹红、苏丹红、苏丹红和苏丹红的定量下限(LOQ)分别为2.0、0.9、2.1和5.8 $\mu\text{g/L}$ ($S/N=10$),检出限(LOD)分别为0.6、0.3、0.7和1.8 $\mu\text{g/L}$ ($S/N=3$),相当于实际样品的LOQ为4.0、1.8、4.1和11.6 ng/g , LOD为1.1、0.6、1.4和3.6 ng/g 。

2.5 实际样品分析

如图4所示, a为采用分段技术所获得的定量离子流色谱图,峰1、2、3和4分别为苏丹红、苏丹红、苏丹红和苏丹红。b为某公司送检的剁辣椒风味萝卜样品的定量分析离子流色谱图,从图可知该样品含有苏丹红,这从其二级质谱得到确证。

3 结论

对于食品中苏丹红系列色素同时的检测, HPLC-ESI/MS有着不可比拟的优势。它通过选择性的离子通道检测一个或几个具有代表性的 m/z 来测出化合物的浓度,对于一些具有不同 m/z 的化合物,即使在色谱不能完全分离的情况下,选择性的离子通道也能去除干

扰峰的影响,获得可靠的结果。本方法已应用于对经国标法检测可能含有苏丹红的食品的确证中,效果良好。

本文的研究结果表明,相对于国标的高效液相色谱法, HPLC-ESI/MS联用具有选择性高、抗干扰能力强、不会出现假阳性结果、分析时间短、样品处理步骤简单等优点,因此建议国标法中增加 HPLC-MS法作为确证,并规定在用 HPLC-UV/Vis 检出可能含有苏丹红时用 HPLC-MS 予以确证。

参考文献:

- [1] MARIE S, BEFEKADU A, PAVEL A. [J]. Federation of European Biochemical Societies, 1988, 232: 387 - 390.
- [2] YU Linghan, MU Dehai, LI Guangxian, et al. [J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory(喻凌寒,牟德海,李光宪,等.光谱实验室), 2004, 21(6): 1131 - 1133.
- [3] DI DONNA L, MAIUOLO L, MAZZOTTI F, et al. [J]. Anal Chem, 2004, 6: 5104 - 5108.
- [4] TATEO F, BONONI M. [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52: 655 - 658.
- [5] WANG Zhengfan. Chromatograph Quality and Quantification[M]. Beijing: Chemical Industry Press(汪正范. 色谱定性与定量[M]. 北京: 化学工业出版社), 2003.

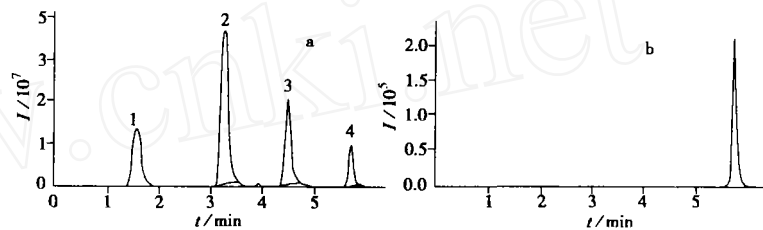


图4 苏丹红系列色素总离子流程图(a)和实际样品分析(b)
Fig. 4 Chromatograms of TIC of Sudan dyes standard(a) and EIC of a sample (b)
1. Sudan I ; 2. Sudan II ; 3. Sudan III ; 4. Sudan IV

因为专业 所以更好

标准物质、助熔剂和CS坩埚销售

广州分析测试中心科力技术开发公司成立于1996年,是中国广州分析测试中心的下属公司,多年来一直从事标准物质和标准样品的代销、分析仪器的研究开发、销售代理和售后服务。业务遍及华南地区,在广大用户中有着良好的信誉。公司遵循质量第一、用户至上的原则,为广大用户提供国家授权的标准物质、标准样品、助熔剂和CS坩埚,并代理国内外知名分析仪器以及提供分析测试人员的培训业务,为广大用户解决后顾之忧。同时公司还专业经营各类玻璃仪器和专用化学试剂。

标准物质应用领域:冶金、农药、环境、食品、水质、物理化学、气体、生物等各行业(如需详细目录,请来电索取或登录 <http://www.fenxi.com.cn/biaowu/index.htm>)。

联系地址:广州市先烈中路100号大院34号楼,邮编:510070,电话(传真):020-87684186