

研究报告

食品中苏丹红1号的GC-MS/SIM快速分析方法研究

吴惠勤, 黄晓兰, 黄芳, 林晓珊, 邓欣, 蔡大川

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

摘要: 采用气相色谱-质谱(GC-MS)选择离子检测法(SIM), 提出一种测定食品中苏丹红1号的新方法。色谱柱 30 m × 0.25 mm PR-SR 石英毛细管柱, 进样口温度 280 °C, 柱温 200 °C, 10 °C/min 升至 280 °C; 柱前压 100 kPa, 载气 He; EI 离子源, 选择 m/z 77、115、143、248 离子用于 SIM 检测, 并根据这 4 个抽出离子的峰面积比进行确证。苏丹红 1 号的线性范围为 0.01~10.0 mg/L, 相对标准偏差小于 6.1%, 回收率 85%~90%, 检出限为 0.001 mg/kg。每个样品分析时间为 5 min。本法与欧洲健康与消费者保护委员会发布的方法(HPLC 法)相比灵敏度提高两个数量级, 分析时间缩短, 用色谱保留时间、质谱同时定性, 消除了食品中杂质的干扰, 避免了只用色谱保留时间定性可能产生的假阳性, 结果准确可靠, 选择性和重复性好, 适用于所有食品成品及原料的检验。

关键词: 苏丹红 1 号; 食品; 气相色谱-质谱; 选择离子检测

中图分类号: O657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2005)03-0001-05

Rapid Determination of Sudan Red 1 in Food by GC-MS/SIM

WU Hui_qin, HUANG Xiao_lan, HUANG Fang, LIN Xiao_shan, DENG Xin, CAI Da_chuan

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

Abstract: A new method was established for determining Sudan Red 1 in food by gas chromatography-mass spectrum with selected ion monitor (GC-MS/SIM). The conditions of GC-MS were optimized, and the selected ions were m/z 77, 115, 143 and 248, respectively. The interferences caused by the impurities in food could be avoided by this method. The linear range of the determination was 0.01–10.0 mg/L with a determination limit of 0.001 mg/kg. The recovery range was 85%–90% and the RSD was less than 6.1%. The method has been proved to be reliable and accurate. It has been applied to the determination of Sudan Red 1 in food with satisfactory results.

Key words: Sudan Red 1; Food; Gas chromatography-mass spectrum; Select ion monitor

苏丹红 1 号是一种红色工业染料^[1], 用于为溶剂、油、蜡、汽油增色以及鞋、地板等的增光。研究表明, 苏丹红 1 号具有致癌性, 中国和欧盟等多数国家和地区都禁止用于食品生产。然而, 仍有不少食品生产企业将其作为食用色素, 以改善食品色泽、降低成本。英国食品标准署于 2005 年 2 月 18 日公布了可能含有苏丹红 1 号的食物, 包括虾色拉、泡面、熟肉、馅饼、辣椒粉、调味酱等。我国质量监督部门也检出了包括几家知名企业生产的众多含有苏丹红 1 号的食物, 引起了世人对食品安全的关注。在这种情况下, 尽快建立准确可靠的检测方法至关重要。目前有关食品中苏丹红 1 号测定方法的报道很少, 国内外都采用液相色谱法(HPLC)^[2~4], 欧洲健康与消费者保护委员会制定的检测辣椒粉、辣椒油等以辣椒为主要原料的产品的方法也采用 HPLC 法^[3], 检出限为 0.1 mg/kg。由于辣椒油、调味品及其它大多数食品成分复杂, 给液相色谱分离带来困难, 杂质峰干扰较严重, 色谱峰重叠, 易导致假阳性结果。我国刚刚发布的国标方法^[4]采用氧化铝柱净化, 但重复性和回收率都不理想, 且操作繁琐。Donna 等^[5]采用大气压化学电离质谱-同位素稀释法测定, 由于仪器和试剂昂贵而难以普及。为克服现有检测方法的不足, 我们采用气相色谱-质谱技术(GC-MS)研究更为简便可靠的分析方法。

苏丹红 1 号为偶氮类化合物, 化学结构式见图 1, 化学名称为苯基偶氮-2-萘酚。其沸点高, 难气化, 一般认为不能用气相色谱方法测定^[5], 但我们经研究采用耐高温、低流失的毛细管色谱柱, 选择合

收稿日期: 2005-02-28 修回日期: 2005-04-01

作者简介: 吴惠勤(1961-), 男, 广东恩平人, 研究员, Tel: 020-87686536, E-mail: wu_hui_qin@tom.com

适的分析条件, 获得了较满意的分离效果。同时用质谱法定性, 选择离子检测法(SIM) 定量, 抽出离子作进一步结构确认, 在国内外首次建立 GC- MS/ SIM 快速测定食品中苏丹红 1 号的方法。方法准确可靠, 简便快速, 适用于各类食品中苏丹红 1 号的快速分析。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

美国安捷伦公司 Agilent 6890/ 5973i GC- MS 气相色谱- 质谱联用仪。AS 3120 超声波发生器, Auto Science 公司。

苏丹红 1 号, AR。苏丹红 1 号标准溶液: 准确称取标准品 10.0 mg 置于 100 mL 容量瓶中, 用乙腈溶解定容至刻度, 配成 100 mg/L 的标准储备液, 使用时再逐级稀释成所需浓度。

乙腈, 分析纯, 广州化学试剂厂。

1.2 样品处理方法

1.2.1 液体样品 准确称取样品 10.0 g(精确至 0.1 mg), 加无水硫酸钠至完全吸干液体, 并研磨成干粉(辣椒油可直接加乙腈提取), 加乙腈 50 mL, 超声波振荡 10 min, 重复提取 3 次, 合并提取液, 加无水硫酸钠干燥后用氮吹仪浓缩至干, 用氯仿溶解定容至 1.0 mL, 待分析。

1.2.2 固体样品 准确称取样品 10.0 g(精确至 0.1 mg), 粉碎, 加乙腈 50 mL, 超声波振荡 10 min, 重复提取 3 次, 合并提取液, 加无水硫酸钠干燥后用氮吹仪浓缩至干, 用氯仿溶解定容至 1.0 mL, 待分析。

1.3 实验条件

色谱柱 30 m×0.25 mm PR- SR 石英毛细管柱, 进样口温度 280 ℃, 柱温 200 ℃, 10 ℃/min 升至 280 ℃。柱前压 100 kPa, 载气 He。EI 离子源, 离子源温度 230 ℃, 电子能量 70 eV, 质量扫描 29~ 350 u, 传输线温度 280 ℃。扫描方式: SCAN、SIM, 定量选择离子: m/z 77, 115, 143, 248。

2 结果与讨论

2.1 色谱柱的选择

苏丹红 1 号为偶氮化合物, 沸点高、难气化, 通常认为不宜用气相色谱测定。我们选择耐高温、低流失的色谱柱, 解决了这一问题。又由于苏丹红 1 号主要用在辣椒及含辣椒的各类食品中, 其基体的化学成分复杂, 化合物极性较大, 而极性柱无法耐高温, 故选择弱极性耐高温的高效毛细管色谱柱, 经反复试验, 用 PR- SR 毛细管色谱柱得到较理想的分离效果, 苏丹红 1 号标样的 GC- MS 总离子流色谱图见图 2。

2.2 GC- MS 与液相色谱的比较

图 3 为辣椒油样品的 GC- MS 总离子流色谱图, 图 4 为辣椒油样品的液相色谱图。从液相色谱图看出, 色谱峰众多, 几乎一个接一个, 分离效果不理想, 仅靠其保留时间定性, 容易造成假阳性, 结果不可靠; 而 GC- MS 总体分离效果明显较好, 峰数量明显增加, 但苏丹红 1 号也不能完全避免干扰, 须由质谱进行确证。

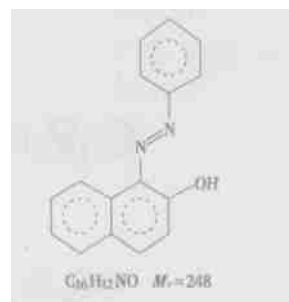


图 1 苏丹红 1 号化学结构式
Fig. 1 The structure of Sudan Red 1

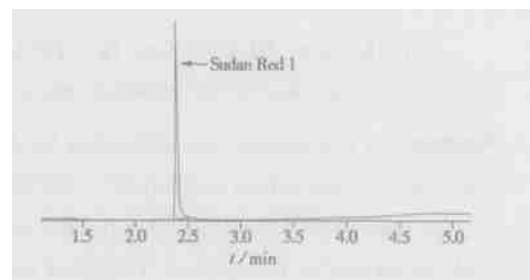


图 2 苏丹红 1 号标样的 GC- MS 总离子流色谱图
Fig. 2 The GC- MS total ion chromatogram of Sudan Red 1 standard

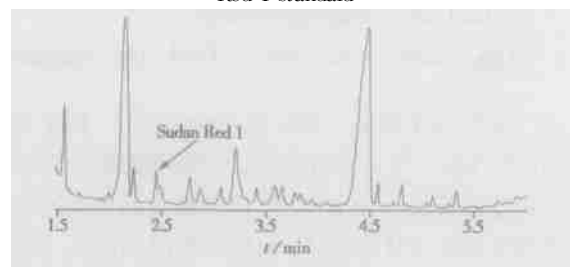


图 3 辣椒油样品的 GC- MS 总离子流色谱图
Fig. 3 TIC chromatogram of Sudan Red 1 in chili oil sample

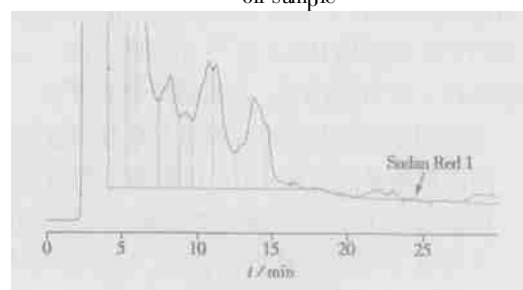


图 4 辣椒油样品的液相色谱图
Fig. 4 HPLC chromatogram of Sudan Red 1 in chili oil sample

2.3 质谱分析

2.3.1 质谱断裂机理 苏丹红1号GC的保留时间为2.41 min, 其质谱图见图5。苏丹红1号的分子离子峰 m/z 248是基峰, 通过 α 断裂产生 m/z 171碎片离子; 通过*i*诱导断裂, 两个C—N键断裂后分别产生两个碎片离子: m/z 77及 m/z 143; 碎片离子 m/z 143再脱去—CO产生 m/z 115。其碎裂方式见图6。

2.3.2 选择离子检测 为了减少干扰, 提高方法选择性, 采用选择离子检测法(SIM), 选择丰度高、高质量端的离子进行测定。苏丹红1号的质谱图中强度最高的4个峰分别是: 基峰 m/z 248(分子离子峰, 相对丰度100%), m/z 143(96.2%), 115(74.8%), 77(42.6%)。选择这4个特征峰进行定量分析, 辣椒油样品的选择离子质量色谱图见图7。与图3对比, 干扰峰明显减少, 2.41 min的峰基本分开, 定量准确度更高。

2.3.3 目标物确证 为了保证结果准确可靠, 采用抽出离子法进一步验证。选取 m/z 77、115、143、248四个离子作抽出离子图, 并分别对这4个离子峰积分计算峰面积。苏丹红1号标样的抽出离子色谱图见图8, m/z 77、115、143、248的峰面积比为0.43: 0.75: 0.96: 1.00。样品的色谱保留时间和质谱碎片离子必须与标样完全吻合, 且其质谱图中的4个抽出离子的面积比也必须与标样相符, 才能确定为目标物。4个离子只要其中有一个离子在此处无峰, 即表明样品不含苏丹红。液相色谱检出有“苏丹红1号”的辣椒油样品的GC-MS抽出离子图见图9, 在2.41 min处 m/z 77、115、143离子有峰, 但 m/z 248离子在此位置无峰, 证明此样品不含苏丹红, 液相色谱的结果为假阳性。图10为炸鸡翅样品, 4个离子在2.41 min均有峰, 且峰面积比与标样基本相符, 证明确实含有苏丹红1号。可见, 抽出离子法是作为确证的有效手段, 可避免产生假阳性, 保证测定结果准确可靠。

2.4 线性范围

取苏丹红1号标准储备液逐级稀释成0.010 0、0.050 0、0.100 0、0.500 0、1.00、2.50、5.00、7.50、10.0 mg/L的系列标准溶液, 进行GC-MS/SIM分析。以峰面积(A)和质量浓度(ρ)作定量工作曲线, 线性方程为 $A = 3.39 \times 10^5 \rho - 4.65 \times 10^4$, 相关系数为0.997 4, 在0.010 0~10.0 mg/L质量浓度范围内线性关系良好。

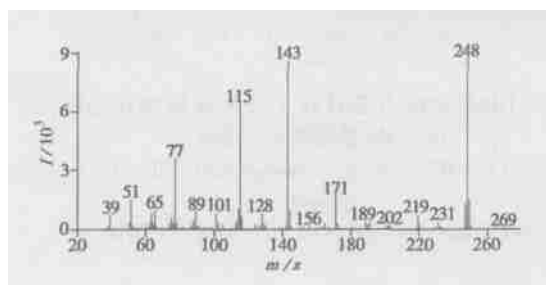


图5 苏丹红1号的质谱图

Fig. 5 Mass spectra of Sudan Red 1

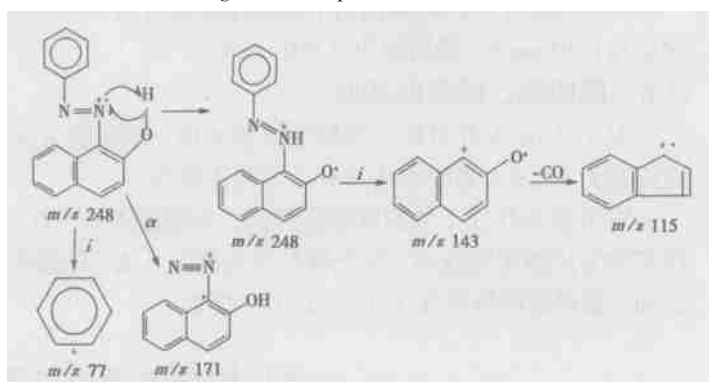


图6 苏丹红1号碎裂途径

Fig. 6 Cleavage process of Sudan Red 1

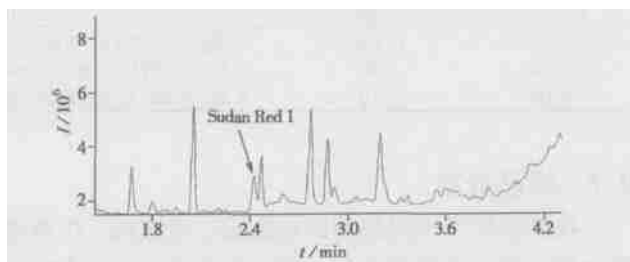


图7 辣椒油样品的GC-MS选择离子质量色谱图

Fig. 7 GC-MS/SIM chromatogram of Sudan Red 1 in chili oil sample

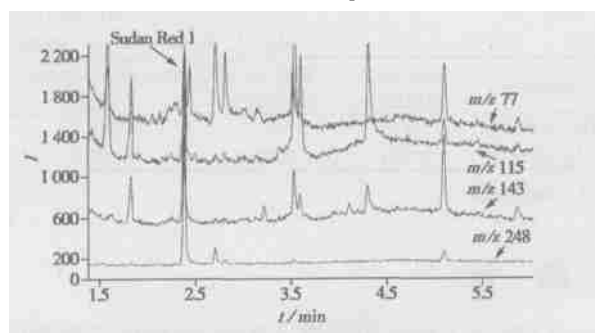


图8 苏丹红1号标样的GC-MS抽出离子色谱图

Fig. 8 GC-MS extract ion chromatogram of Sudan Red 1 standard

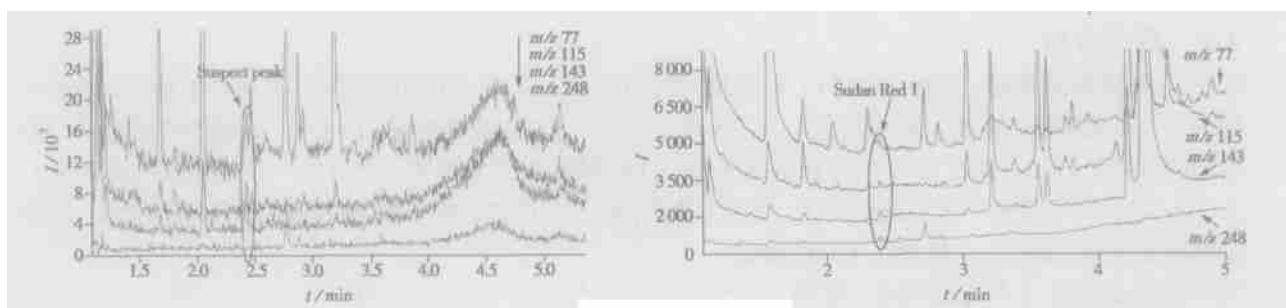


图 9 HPLC 检出有苏丹红 1 号的辣椒油样品的 GC-MS 抽出离子色谱图

Fig. 9 GC-MS extract ion chromatogram of the chili oil sample

Note: Sudan Red 1 was found in this sample by HPLC

图 10 炸鸡翅样品 GC-MS 抽出离子色谱图(含苏丹红 1 号)

Fig. 10 GC-MS extract ion chromatogram of the fried chicken wing containing Sudan Red 1

2.5 检出限

以苏丹红 1 号色谱峰相当于基线噪音强度的 10 倍 ($S/N=10$) 计算分析物的检出限, 仪器的最低检出含量为 0.01 mg/L, 检出限为 0.001 mg/kg。

2.6 回收率、精密度试验

取 1.0 mg/L 苏丹红 1 号标准溶液 6 份, 按实验方法进行测定, 考察方法的精密度, 得到其相对标准偏差为 3.2%, 表明本法具有良好的重复性。

取不含苏丹红 1 号的辣椒酱样品, 分别加入 0.100、1.00、10.0 mg/kg 3 种不同含量的苏丹红 1 号, 按实验方法测定回收率, 每个样品平行测定 6 次, 结果见表 1。由表 1 可见, 样品回收率在 85% ~ 90% 之间, 相对标准偏差在 3.3% ~ 6.1% 之间。

表 1 辣椒酱样中苏丹红 1 号的回收率 ($n=6$)
Table 1 Recovery and RSD of Sudan Red 1 in chili sauce samples ($n=6$)

Original $w_0/10^{-6}$	Added $w_A/10^{-6}$	Found $w_F/10^{-6}$	Recovery $\bar{R}/\%$	RSD $s_r/\%$
0.00	0.100	0.091 2, 0.083 6, 0.085 5, 0.084 3, 0.106 0, 0.090 5	90	6.1
0.00	1.00	0.831, 0.852, 0.909, 0.838, 0.870, 0.844	85	3.3
0.00	10.0	8.62, 8.36, 8.90, 8.48, 8.95, 8.23	86	3.8

2.7 样品分析

我们分析了不同品牌的辣椒酱、辣椒油、炸鸡翅、人工色素等样品, 并与 HPLC 方法比较, 结果发现少部分样品含有苏丹红 1 号, 判断出 HPLC 法检出的假阳性样品多批。有代表性的样品的测定结果见表 2。

表 2 不同样品中苏丹红 1 号的检测结果
Table 2 Results for the determination of Sudan Red 1 in samples $w/10^{-6}$

Method	Chili oil 1 辣椒油 1	Chili oil 2 辣椒油 2	Fried chicken wing 炸鸡翅	Chili sauce 1 辣椒酱 1	Chili sauce 2 辣椒酱 2	Coloring matter 1 人工色素 1	Coloring matter 2 人工色素 2
This method	—*	—	0.051 4	—	—	0.072 8	0.063 2
HPLC method	0.301	0.376	0.052 8	0.216	0.232	0.170	0.225

* : undetected

3 结 论

(1) 建立了用气相色谱-质谱/选择离子检测 (GC-MS/SIM) 测定食品中苏丹红 1 号的新方法。选择 m/z 77、115、143、248 离子进行 SIM 模式检测, 并在苏丹红 1 号标准品出峰位置, 根据这 4 个抽出离子色谱图的峰面积比进行目标物确证, 消除了食品中复杂基体的干扰。该方法简便快速, 准确可靠,

灵敏度高, 已成功用于各类食品中苏丹红 1 号的测定。

(2) 与欧洲健康与消费者保护委员会方法(HPLC 法)相比, 本法灵敏度高 100 倍, 检出限为 0.001 mg/kg, 分析时间缩短; 采用保留时间及质谱定性, 避免了 HPLC 法可能出现的假阳性结果, 提高了可靠性; 适用范围从原来限于辣椒粉、辣椒油等以辣椒为主要原料的产品, 扩展到可应用于所有的食品及原料的分析。

参考文献:

- [1] HE Hanwen, CHEN Xidong. Handbook of Production Technology on Fine Organic Chemicals[M]. Beijing: Chemical Industry Press(何汉文, 陈熙东. 精细有机化学品生产工艺手册[M]. 北京: 化学工业出版社), 2003. 590.
- [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. [J]. 光谱实验室), 2004, 21(6): 31- 33.
- [3] European Commission, Health and Consumer Protection Directorate- General, Directorate D- Food Safety: Production and Distribution Chain, Analysis and Dosage of the Colorants Sudan and Bixin in Chili Powder and Pepper- Base Products[S]. 03/99.
- [4] The Method for the Determination of Sudan Dyes in Foods- High Performance Liquid Chromatography[S] (食品中苏丹红染料的检测方法——高效液相色谱法[S]), GB/T 19681- 2005.
- [5] DONNA L D, MAIUOLO L, MAZZOTTI F, *et al.* [J]. Anal Chem, 2004, 76(17): 5104- 5108.

中国有机质谱学第十三届全国学术大会(第一轮)通知

中国有机质谱学第十三届全国学术大会将于 2005 年 9 月 21- 25 日在广州- 珠海召开。本次会议由中国质谱学会有机质谱专业委员会主办, 中国广州分析测试中心和广东省质谱学会承办。会议将邀请国内外著名质谱学专家作大会学术报告, 举行分组专题报告, 交流近年来有机质谱学的最新研究成果及应用经验, 并进行青年学术论坛及青年优秀论文评选。会议期间还将有质谱仪器各主要生产厂家的介绍新产品和新技术。

一、征文要求 凡未公开发表的, 与有机质谱学基础研究, 生物学、医学、药学、环境、石油、农林、化学化工等领域的应用研究, 食品分析、毒物分析和兴奋剂检测, 蛋白质及多肽分析, 有机化合物的结构分析, 以及有机质谱的新技术、新进展等议题相关的研究内容或有参考价值的综述均可投稿。

论文摘要内容应包括论文题目、前言、材料和方法(实验部分)、结果和讨论、主要参考文献、英文论文题目和简要英文摘要。整个论文摘要限于 2 页。会议论文摘要将刊登于《分析测试学报》增刊(有正式出版号)。

收稿截止时间为 2005 年 6 月 30 日, 论文请用 e- mail 投稿至以下联系人之一, 并注明“参加第 13 届全国有机质谱会(广州)”!

二、报名截止时间 2005 年 5 月 31 日前, 请将姓名、性别、年龄, 工作单位及通讯地址, 职称及职务, 电话和 E- mail 等信息, 以邮寄回执、传真、E- mail 等形式通知以下联系人之一。

吴惠勤研究员: 中国广州分析测试中心, 广州市先烈中路 100 号, 邮编: 510070; 电话/ 传真: 020- 87686536. E- mail: wu_hui_qin@tom.com

黄晓兰高工: 中国广州分析测试中心, 广州市先烈中路 100 号, 邮编: 510070; 电话: 020- 37656312 (a. m.), 37656606 (p. m.), 传真: 020- 87686536, E- mail: wenhxl@21cn.com

钟大放教授: 沈阳药科大学药物代谢与药物动力学实验室, 沈阳市文化路 103 号, 邮编: 110016; 电话/ 传真: 024- 23902539, E- mail: zhongdf@china.com

再帕尔·阿不力孜研究员: 中国医学科学院药物研究所, 北京市先农坛街一号, 邮编 100050; 电话: 010- 63165218/ 63159289; 传真: 010- 63017757, E- mail: zeper@imm.ac.cn

中国质谱学会有机质谱专业委员会

2005 年 3 月 28 日