

超高效液相色谱-串联四极杆质谱联用分析 鸭蛋黄中的苏丹红 I ~ IV

杜振霞, 孙姝琦

(北京化工大学, 北京 100029)

摘要 建立了鸭蛋黄中苏丹红 I ~ IV 号的超高效液相色谱-串联四极杆质谱联用(UPLC-MS/MS)的分析方法。采用乙腈提取样品中的苏丹红,加水反沉淀除去蛋白质和脂肪等杂质,冷冻后高速离心,取上层清液供 UPLC-MS/MS 分析。经 Waters Acquity BHE C₁₈ 超高效液相色谱柱分离,串联四极杆质谱多反应监测模式检测,4 种物质的检出限均为 0.05 $\mu\text{g/L}$,实际样品中 4 种物质的检出限为 10 $\mu\text{g/kg}$ 。采用标准添加法测定苏丹红的回收率,100.0, 200.0, 300.0 $\mu\text{g/kg}$ 3 个不同添加水平的回收率为 50.2% ~ 101.3%。实验结果表明该方法灵敏度高,检出限低,确证能力强,分析时间短,可满足高通量食品样品中苏丹红的日常检测。

关键词 超高效液相色谱-串联四极杆质谱; 苏丹红; 鸭蛋黄

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2007)05-0705-06 栏目类别: 研究论文

Determination of Sudan Red I – IV in Duck Egg Yolk Using Ultra Performance Liquid Chromatography- Tandem Mass Spectrometry

DU Zhenxia, SUN Shuqi

(Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract : A method of the simultaneous analysis of Sudan Red I – IV in duck egg yolk was developed with an ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). Acetonitrile was used to extract the residues from duck egg yolk, and water was added into the extract to precipitate impurities such as protein and fat. The supernatant was detected by the UPLC-MS/MS after refrigeration and centrifugation. The sample was separated on a Waters Acquity BHE C₁₈ column, and detected by MS/MS with the multiple reaction monitoring (MRM) mode. The limits of detection (LOD) were 0.05 $\mu\text{g/L}$ in the standard solution, and 10 $\mu\text{g/kg}$ of the four substances in the sample spiked with Sudan Red I – IV. The average recoveries were between 50.2% – 101.3% at three spiking levels of 100.0, 200.0, 300.0 $\mu\text{g/kg}$. The experiment results show that this method is of high sensitivity, low LOD, better determination capacity and shorter analysis time. The method could meet the high-throughout detection of Sudan Red in food samples.

Key words : ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS); Sudan Red; duck egg yolk

苏丹红 I ~ IV 号均为人工合成的一系列偶氮类工业染料。研究表明,其原型及代谢产物均有一定的潜在致癌作用^[1]。近年来欧盟和我国都禁止苏丹红作为食品添加剂使用。但是由于苏丹红成本低廉,颜色鲜艳,不易褪色,一些不法商贩将苏丹红添加到鸡鸭饲料、辣椒制品中,极大地危害了消费者的健康。目前,国内外关于苏丹红的检测方法主要有薄层色谱法^[2]、高效液相色谱法(HPLC)^[3-8]、高效

液相色谱-质谱联用法(HPLC-MS)^[9,10]、气相色谱-质谱联用法^[11]等,此类方法已应用于如辣椒制品、调味品、熟食、蛋禽类制品等食品中苏丹红的残留检测。由于液相色谱与质谱联用技术在一定程度上能够排除基质干扰,对于基质复杂、需要高灵敏度、宽适用范围的检测工作而言,它已成为最佳的手段之一。串联四极杆质谱的多反应监测(MRM)扫描方式更加有效地提高了分析的灵敏度和选择性,是目

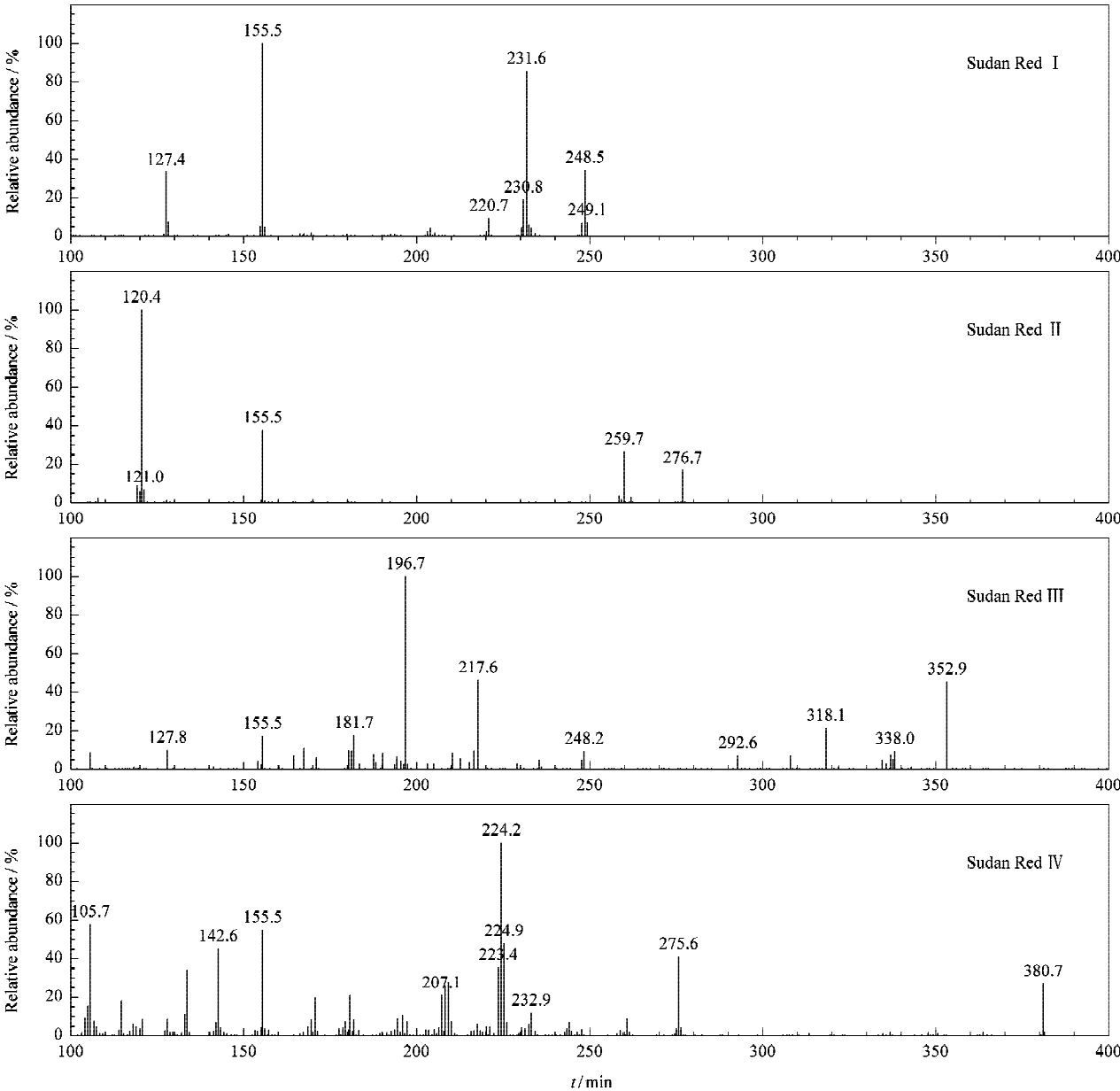


图 1 苏丹红 I ~ IV 号的子离子扫描质谱图

Fig. 1 Daughter scan mass spectra of Sudan Red I - IV

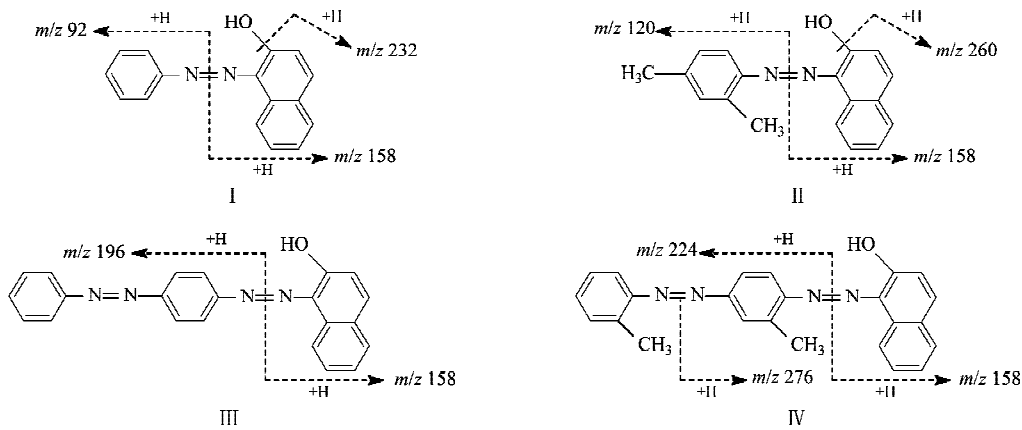


图 2 苏丹红 I ~ IV 号的主要碎裂机理

Fig. 2 Fragmentation mechanisms of Sudan Red I - IV

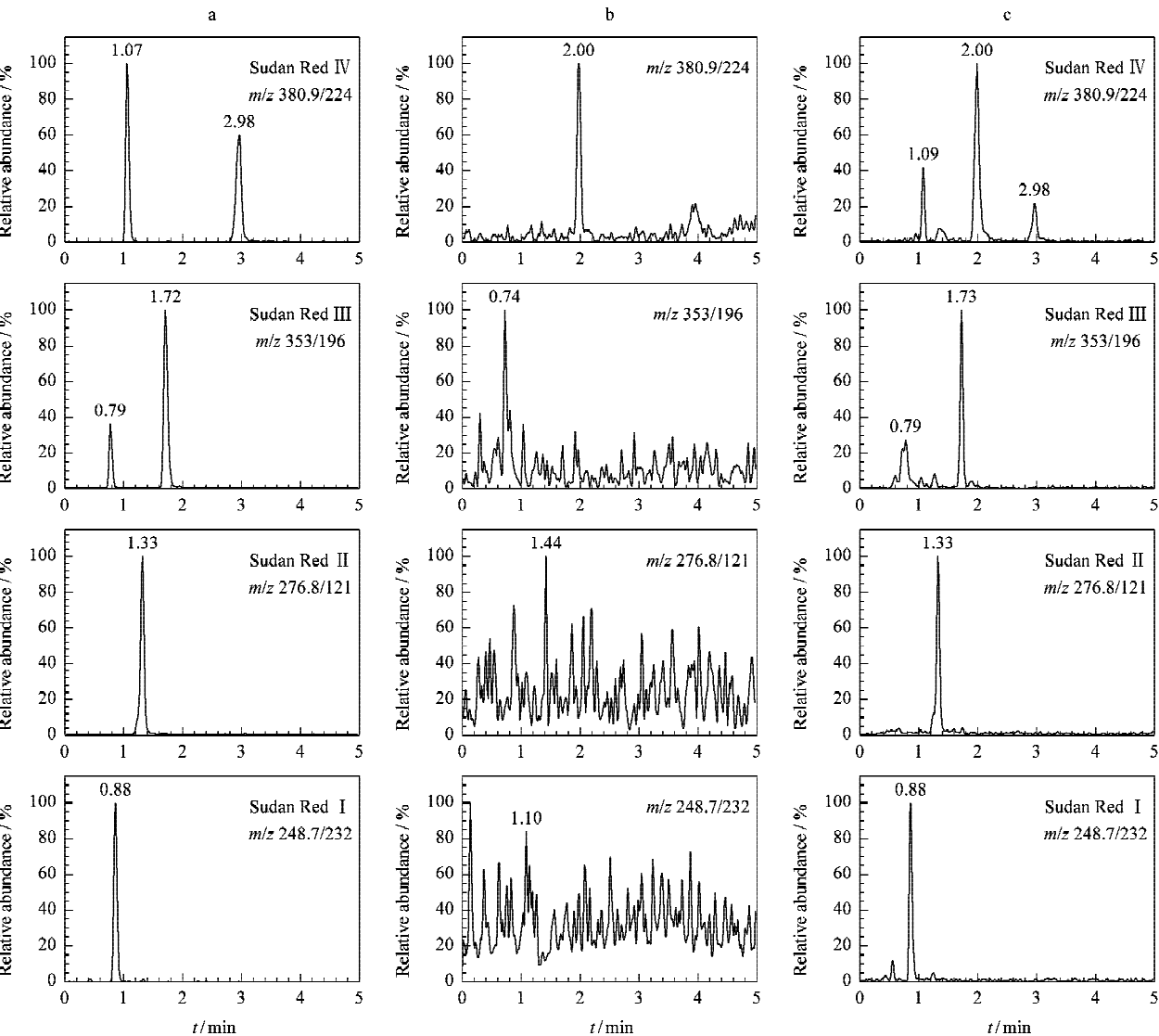


图 3 (a) 苏丹红 I ~ IV 号标准品、(b) 空白基质和 (c) 加标样品的 MRM 色谱图

Fig. 3 MRM chromatograms of (a) Sudan Red I – IV standards, (b) blank matrices and (c) spiked samples

2.3 标准曲线与线性范围

为了更好地检测食品中低浓度的苏丹红,配制较低浓度范围的标准溶液。分别配制质量浓度为 1,2,5,10,50 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准溶液,在“1.4.2”节的 UPLC 条件下经 UPLC-MS/MS 的 MRM 方式检测,得到各物质定量离子对的峰面积对其质量浓度的标准曲线。从表 2 的结果中可以看出苏丹红 I ~ IV 号的线性关系良好, r 均大于 0.998。

表 2 苏丹红 I ~ IV 测定的线性关系

Table 2 Linear equations for Sudan Red I – IV

Analyte	Liner range/ ($\mu\text{g/L}$)	Linear equation	r
Sudan Red I	1 – 50	$Y = 89.5229X + 11.4261$	0.9984
Sudan Red II	1 – 50	$Y = 220.489X + 89.2069$	0.9986
Sudan Red III	1 – 50	$Y = 149.007X + 134.88$	0.9993
Sudan Red IV	1 – 50	$Y = 120.694X + 146.493$	0.9996

Y : peak area; X : mass concentration, $\mu\text{g/L}$.

2.4 灵敏度

按国际纯粹与应用化学联合会 (IUPAC) 的定义,检出限以信噪比 $S/N > 3$ 计、定量限以 $S/N > 10$ 计,用 MassLynx V4.1 软件计算标准溶液的检出限为 0.05 $\mu\text{g/L}$,定量限为 0.1 $\mu\text{g/L}$,加标实际样品的检出限为 10 $\mu\text{g/kg}$,可以满足痕量分析的要求。图 4 为 1 000 $\mu\text{g/L}$ 混合标准溶液在相同色谱和质谱系统下分别经 Waters Acquity BHE C_{18} 超高效色谱柱和常规 C_{18} 色谱柱分离的色谱图。常规 C_{18} 色谱柱的规格为 5 μm ,4.6 mm $\times$ 250 mm (Alltech 公司),HPLC 条件为以乙腈-0.2% 甲酸水 (体积比为 97:3) 为流动相,等度洗脱 20 min。从实验结果可知,常规色谱柱不仅分离时间长,而且对相同浓度样品的响应值比 UPLC 柱低 1 ~ 2 个数量级,峰面积小 40% 左右,证明 UPLC 柱具有速度快、灵敏度高的特点。

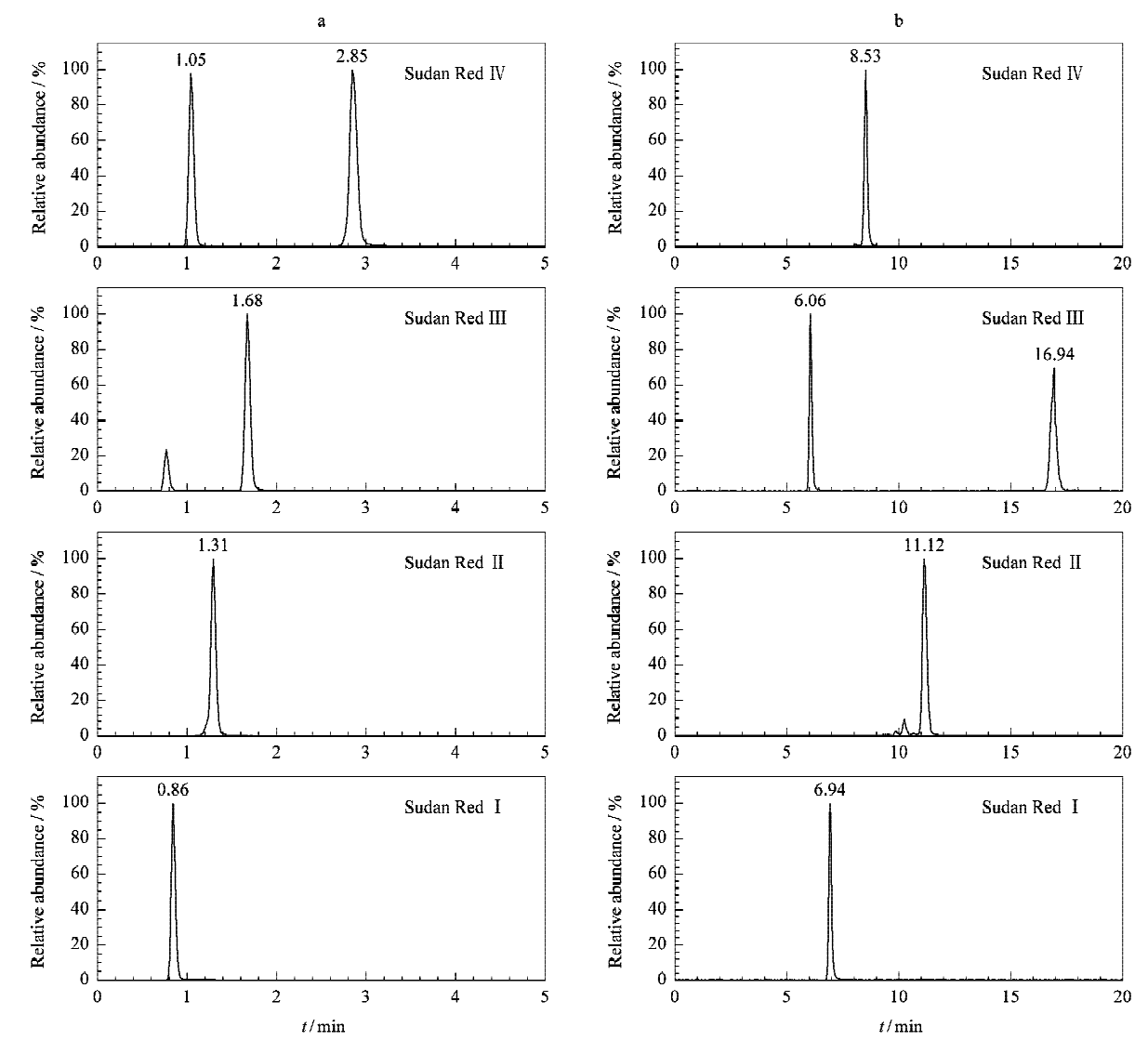


图 4 (a)超高效液相色谱柱和(b)普通液相色谱柱测定苏丹红 I ~ IV 号的对比
Fig. 4 Comparison of the determination of Sudan Red I – IV using (a) a UPLC column (C_{18} , 1.7 μm , 2.1 mm $\times$ 50 mm) and (b) a common HPLC column (C_{18} , 5 μm , 4.6 mm $\times$ 250 mm)

2.5 样品测定

2.5.1 样品前处理条件的选择

由于鸭蛋黄中含有大量的蛋白质和脂肪等成分,使用乙腈提取液直接上样容易出现基质干扰和色谱柱堵塞等问题,因此考虑加水反沉淀蛋白质和脂肪。实验中对比了乙腈提取液与水的体积比分别为 10:1,10:2,10:3 的效果。体积比为 10:1 时在冷冻条件下不能明显分层,若以该溶液直接上样,其中的脂肪可能造成色谱柱堵塞;而乙腈提取液和水的体积比为 10:3 时各物质的回收率比 10:2 时低 10% 左右。因此选用乙腈提取液与水的体积比为 10:2。加标样品的色谱图见图 3-c。

2.5.2 回收率和重现性实验

分别考察了在空白样品中添加 300.0,200.0,100.0 $\mu\text{g/kg}$ 苏丹红 I ~ IV 号标准品的回收率,各添加水平测定 3 份平行样品,且每个样品进样 3 次,计

算平均值,相对标准偏差(RSD)小于 18%,满足残留分析要求,具体结果见表 3。

表 3 鸭蛋黄中苏丹红的加标回收率及 RSD 的测定 ($n=3$)
Table 3 Recoveries and RSDs of Sudan Red in duck egg yolk ($n=3$)

Analyte	Spiked/ ($\mu\text{g/kg}$)	Found/ ($\mu\text{g/kg}$)	Recovery/ %	RSD/ %
Sudan Red I	100.0	73.4	73.4	9.1
	200.0	140.4	72.0	6.8
	300.0	260.0	86.7	17.4
Sudan Red II	100.0	101.3	101.3	4.2
	200.0	151.5	75.7	1.6
	300.0	226.6	75.5	9.8
Sudan Red III	100.0	62.4	62.4	4.5
	200.0	100.4	50.2	17.5
	300.0	206.9	69.0	12.4
Sudan Red IV	100.0	63.6	63.6	3.2
	200.0	122.6	61.3	5.6
	300.0	189.8	63.3	3.2

3 结论

本方法采用超高效液相色谱-串联四极杆质谱联用技术建立了鸭蛋黄中苏丹红染料含量的检测方法。超高效液相色谱的快速和高分辨率及质谱的MRM检测模式,使该方法所得到的数据准确可靠,标准目标物的检出限可低达 0.05 $\mu\text{g/L}$,实际样品中的目标物的检出限可达 10 $\mu\text{g/kg}$,分析时间仅为 3 min。样品前处理方法简便,回收率及相对标准偏差范围分别为 50.2%~101.3% 和 1.6%~17.5%,满足残留分析要求。与传统液相色谱相比,极大地缩短了分析时间并且提高了灵敏度,为高通量样品分析提供了可靠的分析平台。

参考文献:

[1] Ministry of Public Health of China. Evaluation Report on Risk of Sudan Red. Beijing: Ministry of Public Health of People's Republic of China (卫生部. 苏丹红危险性评估报告. 北京: 中华人民共和国卫生部), 2005

[2] Yang L F, Ding Y, Zhang G H, Lai J, Luo J P. Practical Preventive Medicine (杨林飞, 丁愈, 张桂华, 赖娟, 罗建平. 实用预防医学), 2006, 13 (1): 185

[3] Ertas E, Özer H, Alasalvar C. Food Chemistry, 2007, 105: 756

[4] Wu M, Lin J Z, Zou W, Wu S H, Zhou Y. Journal of Instrumental Analysis (吴敏, 林建忠, 邹伟, 吴抒怀, 周昱. 分析测试学报), 2006, 25 (3): 74

[5] Wen Y M, Wang G Q, Zhang H M, Liu H, Jin Y E, Zhu Y P. Journal of Environmental and Occupational Medicine (温忆敏, 汪国权, 张慧敏, 刘弘, 金玉娥, 朱怡平. 环境与职业医学), 2006, 23 (1): 27

[6] Li D G, Li C J, Sun C H, Li Y, Liang Z F. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis (李东刚, 李春娟, 孙长华, 李妍, 梁振芬. 理化检验: 化学分册), 2006, 42 (8): 608

[7] Zhong Y T, Chen C X, Xu J H, Liu G H. Chinese Journal of Health Laboratory Technology (仲岳桐, 陈春晓, 徐锦洪, 刘桂华. 中国卫生检验杂志), 2007, 17 (2): 265

[8] Xie W P, Huang Y Y, Fu H R, Hu G L. Chinese Journal of Chromatography (谢维平, 黄盈煜, 傅晖蓉, 胡桂莲. 色谱), 2005, 23 (5): 542

[9] Yu L H, Yang Y Y, Yan S P, Chen J H, Li G X, Mu D H, Cai D C. Journal of Instrumental Analysis (喻凌寒, 杨运云, 闫世平, 陈江韩, 李光宪, 牟德海, 蔡大川. 分析测试学报), 2005, 24 (4): 28

[10] GB/T19681-2005

[11] Yu H W, Qu Q. Chinese Journal of Health Laboratory Technology (于红卫, 曲青. 中国卫生检验杂志), 2007, 17 (2): 274

欢迎订阅 欢迎投稿 欢迎刊登广告

《分析测试学报》

国内刊号 CN 44-1318/TH
国际刊名代码 CODEN FXCESX

国际标准刊号 ISSN 1004-4957
广告经营许可证: 粤 010029

邮发代号 46-104
国外代号 BM 6013

《分析测试学报》是由中国分析测试协会、中国广州分析测试中心共同主办的全国性学术刊物。刊登电子显微学、质谱学、光谱学、色谱学、波谱学及电化学等方面的分析测试新理论、新方法、新技术的研究成果,介绍新仪器装置及在医药、化工、商检、食品检验等方面实用性强的实验技术。适合科研院所、大专院校、医学、卫生以及厂矿企业分析测试工作和管理人员阅读。

本刊已入选美国化学文摘千种表,俄罗斯《文摘杂志》、《日本科技文献速报》、英国皇家化学学会《分析文摘》(AA)、《质谱公报》(MBS)等。本刊为中文核心期刊、中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)、《中国科技期刊精品数据库》收录期刊、《中国科学引文数据库》来源期刊、《中国科技期刊数据库》来源期刊、《中国学术期刊(光盘版)》全文收录期刊、《中国期刊网》全文收录期刊等。

本刊自 2007 年起变更为月刊,国内外公开发行。大 16 开,单价 12.00 元/册,全年 144 元。请在全国各地邮局订阅。在邮局漏订者可直接向本编辑部补订。补订办法:请从邮局汇款至广州市先烈中路 100 号《分析测试学报》编辑部,写明订户单位、详细地址、收刊人姓名、邮编及补订份数(全年或某期)。

联系方式:

联系电话:(020) 87684776, 37656606; E-mail: fxcsxb@china.com

网址: <http://www.fxcsxb.com>

联系地址: 广州市先烈中路 100 号《分析测试学报》编辑部 邮编 510070