

研究报告

GC- MS/ SIM 法同时测定食品中的苏丹红 I ~ IV

黄晓兰, 吴惠勤, 黄芳, 林晓珊, 邓欣

(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), 建立了准确可靠、灵敏度高、快速简便的同时测定食品中苏丹红 I ~ IV 的新方法。色谱柱为 PR- SR 石英毛细管柱(20 m × 0.25 mm), 进样口温度 280 °C, 柱温 200 °C, 以 15 °C/min 升至 280 °C; 柱前压 130 kPa, 载气 He; EI 离子源, 选择 m/z 77, 105, 115, 143, 176, 247, 248, 261, 352, 380 用于 SIM 检测, 并按不同的采样时间分成 4 组, 每组 4 个离子, 分别对应于每种苏丹红进行定性分析确证; 选择苏丹红 I ~ IV 各自的分子离子峰 m/z 248, 276, 352, 380 作抽出离子图进行定量分析。苏丹红 I、II 的线性范围为 0.01~ 10.0 mg/L, 苏丹红 III、IV 的线性范围为 0.1~ 10.0 mg/L; 检出限苏丹红 I、II 为 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 苏丹红 III 为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 苏丹红 IV 为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 回收率 86% ~ 95%。本法与欧洲健康与消费者保护委员会的方法(HPLC 法)相比灵敏度高 1~ 2 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, 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 I ~ IV; 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)04- 0001- 05

Rapid Determination of Sudan I - IV in Food by GC- MS/ SIM

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

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

Abstract: A new method was established for determining Sudan I - IV 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, 105, 115, 143, 176, 247, 248, 261, 352, 380, respectively. The interferences caused by the impurities in food could be avoided by this method. The linear range of the determination Sudan I and II were 0.01- 10 mg/L with a determination limit of 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The linear range of the determination Sudan III and IV were 0.1- 10 mg/L with a determination limit of 5 and 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The recovery range was 86% - 95% 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 I - IV in food with satisfactory results.

Key words: Sudan I - IV; Food; Gas chromatography- Mass spectrum; Select ion monitor

苏丹红色素为偶氮类化合物, 化学结构式见图 1。化学名称: 苏丹红 I, 苯基偶氮_2_萘酚; 苏丹红 II, 2,4_二甲基苯基偶氮_2_萘酚; 苏丹红 III, 苯基偶氮_(4_苯基偶氮)_2_萘酚; 苏丹红 IV, 邻甲苯基偶氮_(4_邻甲苯基偶氮)_2_萘酚。苏丹红是合成工业染料^[1], 常用于溶剂、汽油以及鞋、地板等的增色。苏丹红 I 早在 1995 年就被确认为致癌物, 苏丹红 II、III、IV 也怀疑具有致癌性。中国和欧盟等全球多数国家都禁止用于食品生产, 但有不少食品生产企业为改善色泽、降低成本仍将其作为食用色素。因此, 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色素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方法也采用 HPLC 法^[3], 检出限为 0.1 mg/kg。由于大多数食品成分复杂, 给液相色谱分离带来困难, 基体杂质干扰较严重, 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]采用过氧化铝柱净化, 但操作繁琐, 实验条件要求苛刻, 结果重复性差。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(GC- MS)建立了快速

收稿日期: 2005- 04- 08; 修回日期: 2005- 05- 12

作者简介: 黄晓兰(1964-), 女, 广东潮州人, 高级工程师; 吴惠勤, 联系人, Tel: 020- 87686536, E-mail: wu_hui_qin@tom.com

测定苏丹红 I 的方法^[6]。在前文的基础上,本文进一步研究建立了用气相色谱-质谱/选择离子检测技术(GC-MS/SIM)同时测定苏丹红 I ~ IV 的新方法。

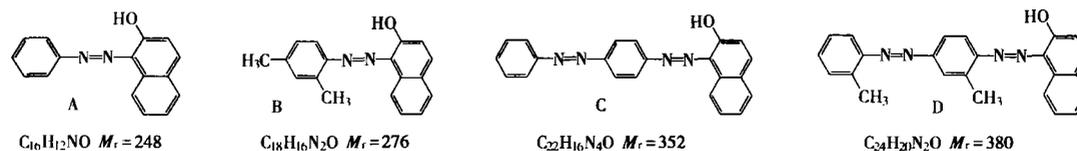


图 1 苏丹红 I ~ IV 的化学结构式
Fig. 1 The structures of Sudan I - IV
A. Sudan I ; B. Sudan II ; C. Sudan III ; D. Sudan IV

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 I ~ IV, 含量大于 97.5%, Dr. Ehrenstorfer GmbH。

苏丹红 I ~ IV 混合标准溶液: 准确称取苏丹红 I ~ IV 标准品各 10.0 mg, 置于 100 mL 容量瓶中, 苏丹红 I、II 用乙腈溶解定容至刻度, 苏丹红 III、IV 用氯仿溶解定容至刻度, 配成 100 mg/L 的标准储备液; 使用时各取一定量混合, 用氯仿逐级稀释成所需浓度。

乙腈、氯仿、正己烷、甲醇等试剂均为分析纯, 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), 含水样品加无水硫酸钠至完全吸干液体, 并研磨成干粉, 加乙腈 50 mL; 油类样品直接加入乙腈, 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

色谱条件: 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, 15 °C/min 升至 280 °C; 柱前压 130 kPa, 载气 He; 进样量 1.0 μL, 进样方式: 脉冲分流, 130 kPa, 0.5 min; 分流比 10: 1。质谱条件: EI 离子源, 电子能量 70 eV, 离子源温度 230 °C, 传输线温度 280 °C, 质量扫描 29~400 u, 扫描方式: SCAN, SIM。

2 结果与讨论

2.1 样品处理方法的优化

欧洲健康与消费者保护委员会的方法采用乙腈提取后直接测定; 而国标法采用正己烷提取, 过氧化铝层析柱净化, 步骤繁琐, 操作要求严格, 不易重复。我们比较了乙腈、甲醇、氯仿、正己烷 4 种提取溶剂, 结果表明, 乙腈的提取效果最好, 因此选择乙腈作为提取溶剂。同时采用超声波振荡方法, 有助于苏丹红的溶出, 提取更完全, 回收率更高。

2.2 色谱条件的选择

苏丹红为偶氮化合物, 沸点高、难气化, 特别是苏丹红 III、IV, 沸点更高, 通常认为不宜用气相色谱方法测定^[5]。我们选择耐高温、低流失的色谱柱用于苏丹红 I ~ IV 的分析, 结果满意; 而食品中基体的化学成分复杂, 干扰组分大多数极性较大, 本应选择极性柱有利于基体中杂质的分离, 但极性柱无法耐高温, 综合考虑两方面因素, 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 毛细管色谱柱得到理想的分离效果。

虽然 GC-MS 分离效果明显较 HPLC 好^[6], 干扰峰明显分开, 但仍不能完全避免干扰, 因此必须通过质谱图对目标物峰进行确证。

2.3 质谱分析

2.3.1 质谱断裂机理 苏丹红 I、II、III、IV 的保留时间分别为 2.45、3.42、9.72、12.57 min, 其质谱图见图 2(苏丹红 I 的质谱图及碎裂机理见文献[6])。苏丹红 II 的分子离子峰 m/z 276 是基峰, 通过 i 诱导断裂, 两个 C-N 键断裂后分别产生 2 个碎片离子: m/z 105 及 143, m/z 143 再脱去 -CO 产生 m/z 115(图 3A); 苏丹红 III 的分子离子峰 m/z 352 也是基峰, 通过 i 诱导断裂, 两个 C-N 键断裂后分别产生 3 个碎片离子: m/z 77、247 及 143, m/z 143 再脱去 -CO 产生 m/z 115(图 3B); 苏丹红 IV 的分子离子峰 m/z 380 也是基峰, 通过 i 诱导断裂, 两个 C-N 键断裂后分别产生 3 个碎片离子: m/z 91、261 及 143, m/z 143 再脱去 -CO 产生 m/z 115(图 3C)。

2.3.2 选择离子检测 为了减少干扰, 提高方法选择性和灵敏度, 采用 SIM 法, 选择丰度高、高质量端的离子进行测定^[6]。所选择的苏丹红 I ~ IV 的特征离子及其峰面积的相对含量(以基峰离子为 100% 计)见表 1。采用分组扫描方法, 按不同采样时间分成 4 组, 每组选 4 个离子, 分别对应于每种苏丹红的测定。具体采集时间和选择监测离子见表 1。苏丹红 I ~ IV 混合标样和加标辣椒油样品的选择离子质量色谱图见图 4 和 5。

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^[6]。将苏丹红 I ~ IV 各自选择的 4 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比。苏丹红 I ~ IV 标样的抽出离子及其峰面积比见表 1。当样品的色谱保留时间和质谱碎片离子与标样完全吻合, 且质谱的 4 个抽出离子的峰面积比也与标样相符时, 才能确定样品中含有目标物。样品中这 4 个离子只要其中有一离子在此处无峰, 即表明样品不含目标物。

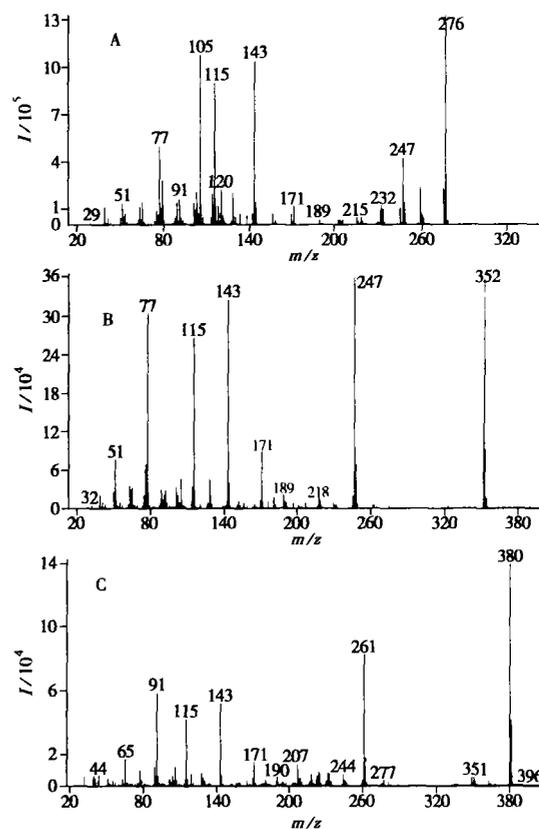
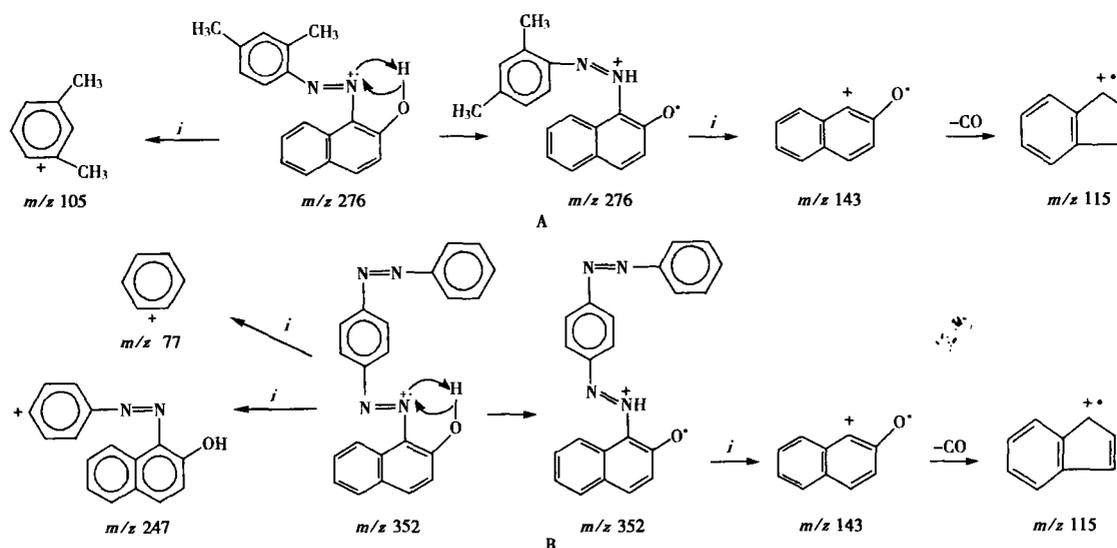


图 2 苏丹红 II ~ IV 的质谱图

Fig. 2 Mass spectra of Sudan II - IV
A. Sudan II; B. Sudan III; C. Sudan IV



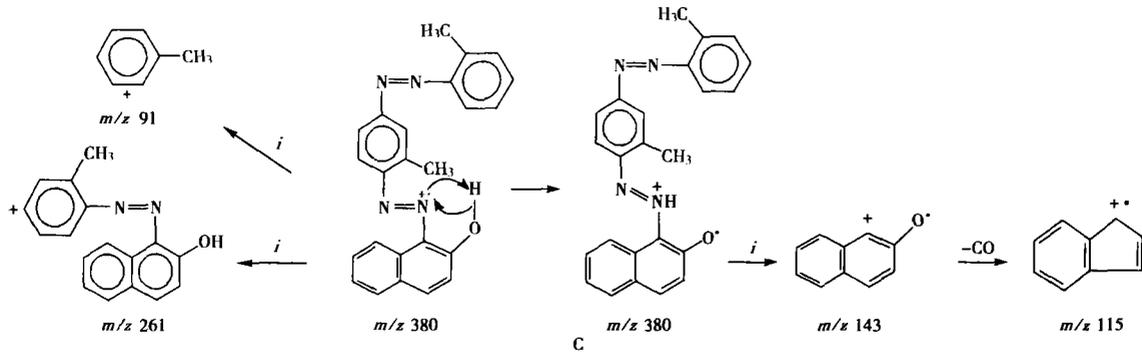


图 3 苏丹红 II~IV 裂解过程

Fig. 3 Cleavage process of Sudan II-IV

A. Sudan II; B. Sudan III; C. Sudan IV

表 1 GC-MS 测定苏丹红的分段采集时间和选择监测离子

Table 1 GC-MS acquisition time for segment ions and selected monitor ions

| Ion set | Detected component | Start acquisition time <i>t</i> /min | Selected monitor ions <i>m/z</i> (relative content / %) | Quantitative ion <i>m/z</i> |
|---------|--------------------|---|--|--------------------------------|
| 1 | Sudan I | 0.01 | 77(43), 115(75), 143(96), 248(100) | 248 |
| 2 | Sudan II | 3.0 | 105(43), 115(38), 143(50), 276(100) | 276 |
| 3 | Sudan III | 7.0 | 115(33), 143(46), 247(77), 352(100) | 352 |
| 4 | Sudan IV | 11.0 | 115(29), 143(36), 261(58), 380(100) | 380 |

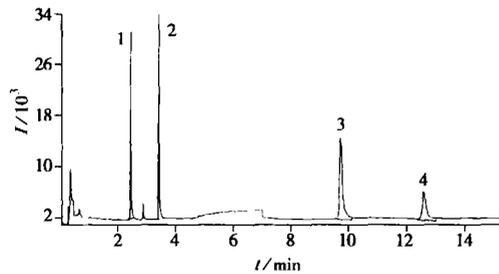


图 4 苏丹红 I~IV 标样的 GC-MS 选择离子质量色谱图

Fig. 4 The GC-MS/SIM chromatogram of Sudan I-IV standard

1. Sudan I; 2. Sudan II; 3. Sudan III; 4. Sudan IV

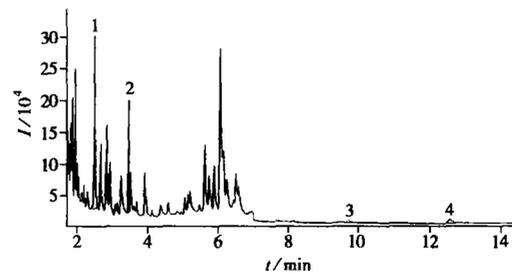


图 5 加标辣椒油样品的选择离子质量色谱图

Fig. 5 GC-MS-SIM chromatogram of chili oil sample with Sudan I-IV standard

1. Sudan I; 2. Sudan II; 3. Sudan III; 4. Sudan IV

2.4 定量分析

经过抽出离子法确证后进行定量分析。苏丹红 I~IV 的分子离子峰强度高, 干扰小, 因此选择其分子离子峰作为定量分析离子(见表 1), 选择性及灵敏度最高。以所选定量离子作抽出离子色谱图, 积分计算峰面积, 以外标法定量。

2.5 线性范围及检出限

取苏丹红 I~IV 标准储备液逐级稀释成 0.01、0.05、0.1、0.5、1.0、2.5、5.0、7.5、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, 苏丹红 I~IV 的线性方程、相关系数、线性范围见表 2。

表 2 苏丹红 I~IV 的标准工作曲线、线性范围和检出限

Table 2 Linear regression equation and detection limit of Sudan I-IV

| Components | Linear regression equation | <i>r</i> | Linear range $\rho/(mg \cdot L^{-1})$ | Detection limit <i>w</i> / 10^{-9} |
|------------|--|----------|--|---|
| Sudan I | $A = 3.35 \times 10^5 \rho - 5.51 \times 10^4$ | 0.997 5 | 0.01~10.0 | 1.0 |
| Sudan II | $A = 2.93 \times 10^5 \rho - 3.05 \times 10^4$ | 0.995 5 | 0.01~10.0 | 1.0 |
| Sudan III | $A = 6.11 \times 10^5 \rho - 4.42 \times 10^4$ | 0.998 3 | 0.1~10.0 | 5.0 |
| Sudan IV | $A = 4.78 \times 10^5 \rho - 3.63 \times 10^4$ | 0.994 2 | 0.1~10.0 | 10.0 |

以苏丹红 I ~ IV 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, 苏丹红 I、II 的检出限为 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$, 苏丹红 III 为 $5 \mu\text{g}/\text{kg}$, 苏丹红 IV 为 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ (表 2)。

2.6 回收率、精密度试验

取 $1.0 \text{ mg}/\text{L}$ 苏丹红 I ~ IV 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 $2.4\% \sim 3.6\%$, 表明本法具有良好的重复性。

取 3 个不含苏丹红色素的辣椒酱样品, 分别加入 0.1 、 1.0 、 $10 \text{ mg}/\text{kg}$ 3 种不同含量的苏丹红 I ~ IV, 按实验方法测定回收率, 每个样品平行测定 3 次, 结果见表 3。由表 3 可见, 样品回收率在 $86\% \sim 95\%$ 之间, 相对标准偏差在 $3.4\% \sim 5.7\%$ 之间。

表 3 辣椒酱样品中苏丹红 I ~ IV 的回收率 ($n=3$)
Table 3 Recovery and RSD of Sudan I - IV in chili sauce sample ($n=3$)

| Component | Original $w_0/10^{-6}$ | Added $w_A/10^{-6}$ | Found $w_F/10^{-6}$ | Recovery R/% | RSD $s_r/\%$ |
|-----------|---------------------------|------------------------|------------------------|-----------------|-----------------|
| Sudan I | 0.00 | 0.100, 1.00, 10.0 | 0.095, 0.923, 9.01 | 95, 92, 90 | 5.2, 3.9, 4.4 |
| Sudan II | 0.00 | 0.100, 1.00, 10.0 | 0.090, 0.907, 8.86 | 90, 91, 89 | 4.8, 3.5, 3.9 |
| Sudan III | 0.00 | 0.100, 1.00, 10.0 | 0.089, 0.864, 9.36 | 89, 86, 94 | 5.0, 3.8, 3.2 |
| Sudan IV | 0.00 | 0.100, 1.00, 10.0 | 0.091, 0.862, 8.71 | 91, 86, 87 | 6.1, 4.0, 4.7 |

2.7 样品分析

我们用本法分析了多种不同品牌的以辣椒为主要原料的产品及其他各类食品, 结果发现小部分样品含有苏丹红 I 和 IV, 未发现有苏丹红 II、III。

3 结论

(1) 建立了用 GC-MS/SIM 测定食品中苏丹红 I ~ IV 的新方法。选择 m/z 77, 105, 115, 143, 176, 247, 248, 261, 352, 380 进行 SIM 模式检测, 按不同时间分段采集数据 (每段选 4 个离子, 分别对应于一种苏丹红); 并在苏丹红 I ~ IV 标准品出峰位置, 根据各自所选的 4 个离子的抽出离子色谱峰面积比进行目标物确证; 选择分子离子峰定量。

(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 $10 \sim 100$ 倍, 检出限苏丹红 I、II 为 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$, 苏丹红 III 为 $5 \mu\text{g}/\text{kg}$, 苏丹红 IV 为 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。分析时间从 30 min 缩短为 13 min ; 采用保留时间及质谱同时定性, 消除了食品中复杂基体的干扰, 提高了可靠性。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色素的测定。

参考文献:

- [1] HE Hanwen, CHEN Xidong. Handbook of Produce 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.
- [6] WU Huiqin, HUANG Xiaolan, HUANG Fang, *et al.* [J]. Journal of Instrumental Analysis (吴惠勤, 黄晓兰, 黄芳, 等. [J]. 分析测试学报), 2005, 24(3): 1-5.