

调味品中苏丹红违禁色素的 GC-MS 分析测定 Determination of Sudan in Condiments by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

苏小川

SU Xiao-chuan

(广西疾病预防控制中心, 广西南宁 530021)

(Guangxi Center for Disease Prevention and Control, Nanning, Guangxi, 530021, China)

摘要:应用气相色谱-质谱联用(GC-MS)方法的选择离子监测技术,测定调味品辣椒粉和腌料中的苏丹红 I、II 色素。在 $0.58 \sim 18.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内,该方法具有良好的线性关系 ($\gamma = 0.99959$)。样品的平均回收率为 $80.7\% \sim 95.4\%$, RSD 为 $1.90\% \sim 7.14\%$ 。样品称量为 5.0 g 时,苏丹红 I、II 的检出限分别为 $0.0058 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $0.0076 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

关键词:气相色谱-质谱 苏丹红 辣椒粉 腌料

中图分类号:O657.63 文献标识码:A 文章编号:1002-7378(2006)S0-0459-04

Abstract: Selected ion monitoring (SIM) technique was used in the GC/MS determination of Sudan I and Sudan II in chilli powder and hot condiment-containing food products. Linear relationships in the range from $0.58 \sim 18.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ of either of 2 compounds were obtained with correlation coefficients (γ) larger than 0.9990. RSD 's obtained were in the range of 1.90% to 7.14% , and average recoveries were in the range of 80.7% to 95.4% . Detection limits were found to be $0.0058 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $0.0076 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ when samples weight were 5.0 g .

Key words: GC-MS, Sudan, chilli powder, hot condiment-containing food

苏丹红色素是一种人工合成的化工染料。有关资料表明,该类化合物在降解过程会产生具有毒性的苯胺和萘酚,因此早在 10 年前就被国际癌症研究机构(IARC)归为三类可疑致癌物质^[1]。在欧洲和我国一直被禁止使用于食品生产和加工中。

苏丹红 I (1-phenylazo-2-naphthol, 简称 Sudan I), 化学名 1-偶氮苯基-2-萘酚, 分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$, 分子量 248, 结构式见图 1。苏丹红 II (1-[(2,4-dimethylphenyl)azo]-2-naphthol 简称 Sudan II) 化学名 1-(2,4-二甲基)偶氮苯基-2-萘酚, 分子式 $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}$, 分子量 276, 结构式见图 2。为了配合对食品滥用苏丹红色素的安全监测,本试验开展了气相色谱-质谱联用(GC-MS)法检测辣椒粉和腌料中苏丹红 I、II 色素的研究。目前国内外已报道的苏丹红色素监测方法有分光光度法^[2]、极谱法^[3]、液相色谱法^[4~9]和液-质联用法(LC-MS)^[10~16],但尚未有关

GC-MS 分析苏丹红 I、II 的报道。

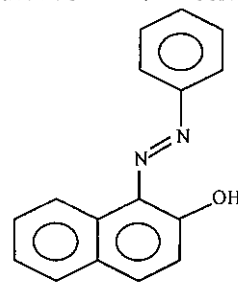


图 1 苏丹红 I 的结构式

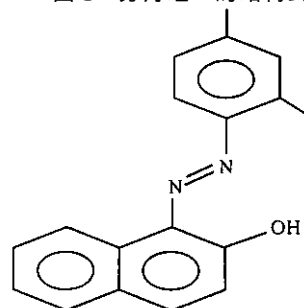


图 2 苏丹红 II 结构式

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

HP6890-5973 气相色谱-质谱联用仪(EI源)。

SB2200 超声波萃取仪(上海超声有限公司生产);R-250 旋转浓缩器(上海亚荣分析仪器厂生产);80-1 台式离心机(上海手术器械厂生产)。正己烷、甲醇、丙酮(AR级,天津市光复精细化工研究所生产),以上试剂均经重新精馏确认无干扰后专用。

中性氧化铝,100~200目,105℃干燥2h,2%的水降活,密闭24h后备用。

苏丹红 I、II 标准溶液:准确称取适量苏丹红 I、II 标准品(美国 Supelco 公司提供),用甲醇配制成苏丹红 I $0.118 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 和苏丹红 II $0.420 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的贮备液,供配制标准系列使用。

1.2 GC-MS 分析条件

1.2.1 色谱条件

色谱柱 I:HP-5MS 毛细管柱 $30\text{m} \times 0.25\text{mm} \times 0.25\mu\text{m}$; 色谱柱 II:DB-1701 毛细管柱 $30\text{m} \times 0.25\text{mm} \times 0.25\mu\text{m}$; 载气:高纯氦气(99.999%),柱流量: $1.0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ (恒流);进样模式:脉冲不分流,压力 206.7kPa 保持 0.5min;进样口温度:275℃。炉温程序 I(柱 I):100℃保持 3.5min 后,以 $15 \text{ C} \cdot \text{min}^{-1}$ 速度升至 220℃,保持 5min,再以 $6 \text{ C} \cdot \text{min}^{-1}$ 速度升至 270℃,保持 10min。炉温程序 II(柱 II):100℃保持 4min 后,以 $20 \text{ C} \cdot \text{min}^{-1}$ 速度升至 180℃,保持 1min,再以 $10 \text{ C} \cdot \text{min}^{-1}$ 速度升至 250℃,保持 5min,再以 $3 \text{ C} \cdot \text{min}^{-1}$ 速度升至 275℃,保持 5min。经筛选后选用 DB-1701 作为日常分析柱。

1.2.2 质谱条件

气-质接口温度:280℃,离子源(EI)温度 230℃,四极杆温度 150℃。EI 源电子能量 70eV。调谐方式:Autotune。电子倍增管电压 1380V。采集方式:选择离子监测(SIM)。

1.3 实验方法

1.3.1 直接提取

用电子天平准确称取 2~5g 辣椒粉腌料样品于 100 ml 具塞锥形瓶中,加入 10 ml 正己烷,超声波萃取仪超声 5min,静置数分钟后,把有机相经滤纸过滤到干净的 100ml 烧杯中。用等量的正己烷再次超声(5min)萃取上述样品,过滤后合并两次萃取液。用适量的正己烷洗涤锥形瓶中的样品残渣,并用该

洗涤液少量多次洗涤上述漏斗和滤纸,直至洗涤液和滤纸接近无色为止。合并上述有机相于 150ml 圆底烧瓶中,旋转浓缩器浓缩至约 1ml,用丙酮少量多次洗涤圆底烧瓶,全量转移至 10.0ml 的离心管中,氮气吹干定容至 5.0ml。置离心机上 $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5min 后,供 GC-MS 测定使用。

1.3.2 柱净化

取适量经降活处理后的中性氧化铝,干法装填成 3cm 高的柱子。10ml 正己烷预淋洗。将上述提取液 5ml 慢慢加入层析柱,保持液面 2mm 时上样,控制色带小于 0.5cm,适量正己烷淋洗柱中氧化铝层至无色,弃去淋洗液。5%丙酮-正己烷 60ml 洗脱,收集洗脱液于 150ml 圆底烧瓶中,旋转浓缩器浓缩至约 1ml 左右,同上丙酮定容 5.0ml,供 GC-MS 分析。

1.3.3 测定方式

苏丹红 I、II 标准品在上述色谱-质谱条件下,用 GC-MS 全程扫描(Scan)模式测定,得到目标化合物完全分离的总离子流图(见图 3)。经检索,获得的 Sudan I、II 标准物质谱图(见图 4、5)与 NIST02 标准质谱库的标准物质谱图完全匹配。为避免样品杂质组分干扰和提高灵敏度,本试验应用 GC-MS 的选择离子监测技术(SIM)。在 SIM 模式下,四极杆只监测选定的特征离子,在相同扫描周期内,对每个特征离子扫描的频数更多,因此,其灵敏度比 Scan 模式可最大提高 100 倍,重现性也由于没有干扰而达到最优化。

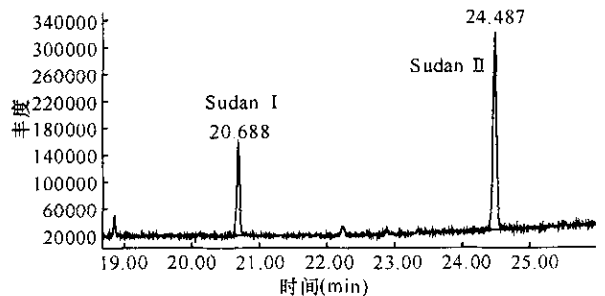


图3 苏丹红 I、II 标准 GC-MS 总离子流图(TIC)

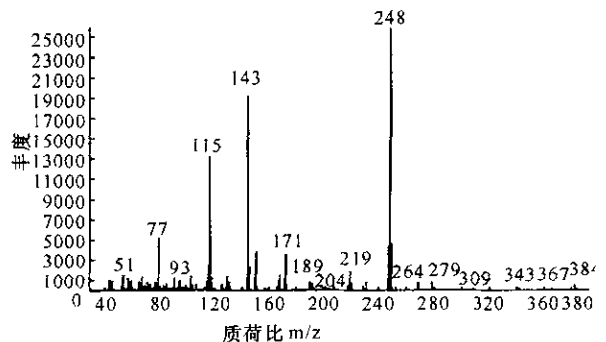


图4 苏丹红 I 标准质谱图

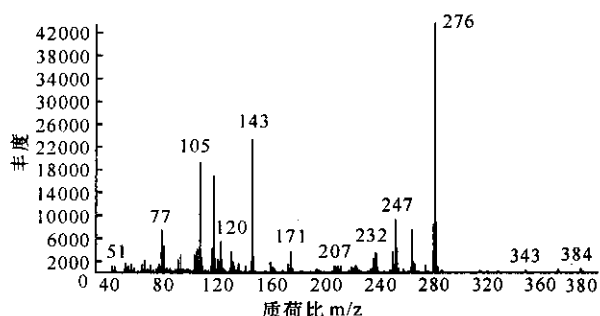


图5 苏丹红Ⅱ标准质谱图

根据获得的苏丹红 I、II 标准物质谱图,选择如下质荷比(m/z)的特征监测离子,即苏丹红 I 选择:51、77、115、143、171、248;苏丹红 II 选择:77、105、143、171、247、276。其中 248 和 276 分别为苏丹红 I 和苏丹红 II 的分子离子峰和基峰,在质谱分析中,作为相应组分的定性离子和定量离子,其它则作为测定的参考离子。

2 结果

2.1 加标回收率和精密度试验结果

在辣椒粉样品中加入 $1.89, 1.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $4.72, 7.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的苏丹红 I、II 混合标准,按照试验方法进行测定,考察样品直接提取后 ($n=5$) 与提取液经氧化铝柱净化后 ($n=3$) 的加标回收率,结果见表 1。

表1 方法回收率及精密度试验结果

组 分	加入量 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	直接提取 ($n=5$)			氧化铝柱净化 ($n=3$)		
		回收量 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	回收率 (%)	RSD (%)	回收量 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	回收率 (%)	RSD (%)
苏丹红 I	1.89	1.79	94.7	6.05	1.56	82.5	3.54
	4.72	4.50	95.4	7.14	4.16	88.1	1.90
苏丹红 II	1.50	1.30	87.2	3.64	1.21	80.7	2.98
	7.50	6.41	85.5	4.91	6.10	81.4	3.18

2.2 标准曲线

从贮备液中准确配制浓度为 $0.58 \sim 18.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

表2 标准曲线和检出限

组 分	线性范围 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	回归方程	相关系数 γ	检出限 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}, 3 \times S/N$)	定量限 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}, 9 \times S/N$)
苏丹红 I	0.58~18.9	$Y = 2.06 \times 10^5 X - 1.39 \times 10^4$	0.99959	0.0058	0.017
苏丹红 II	0.31~19.8	$Y = 1.84 \times 10^5 X - 6.96 \times 10^3$	0.99947	0.0076	0.023

L^{-1} 和 $0.31 \sim 19.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的苏丹红 I、II 标准系列,在相同仪器条件下,进样 $1.0 \mu\text{l}$,得出各浓度对峰面积的校正曲线。苏丹红 I 的相关系数 $\gamma=0.9996$,苏丹红 II 的相关系数 $\gamma=0.9995$ 。以 3 倍基线信噪比(S/N)计算称样量为 5.0g (定容 5.0ml) 时两组分的方法检出限,取 3 倍检出限作为方法定量限。详细结果见表 2。

3 讨论

3.1 提取溶剂选择

喻凌寒在他的液相色谱法中^[4]选用甲醇作为提取剂,每个样品的溶剂用量为 90ml ;O Veretout 在他的液-质联用法^[16]中使用乙腈,溶剂量达到 100ml 。本试验则选用毒性较低、价格便宜的正己烷作为提取剂,溶剂量仅为约 35ml ,提取过程少于 40min ,样品加标回收率满足试验要求。

3.2 GC-MS 定性、定量准确可靠

在已报道的方法中,对苏丹红的定性分析均为 LC-MS 法^[10~15],其中包括欧盟 2004 年发布的“苏丹红检测方”(03/99)^[16]也如此。在这些方法中,有 LC-MS 法^[10,12,16]; LC-MS-MS 法^[11,13,14]; LC-Q-TOF 法^[15]等。从图 4、图 5 可见,苏丹红 I、II 在 GC-MS 的 EI 源中有相当丰富的碎片离子,质谱特征非常明显,因此在质谱分析中,依据标准图谱检索或与标准物的 SIM 图比对,都可以获得准确可靠的定性结果。

定量方面,由于所检样品基质往往比较复杂,如果净化不彻底,液相法紫外吸收的强度易受到影响致使检测灵敏度降低。相对而言,在 SIM 模式下,质谱检测器只对定量目标离子 248 和 276 (基峰和分子离子峰) 以及选定的其它特征碎片离子有响应,选择性专一,且定量离子的丰度与样品浓度呈良好的线性关系,灵敏度达 ng 级,因此 GC-MS 法灵敏度高,定量重现性好。本试验的方法检出限均低于欧盟液相法 $0.013 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 GB/T 19681-2005 国标液相法^[17] $0.010 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的水平。

参考文献:

- [1] 陈纪刚译. 国际癌症研究所(IARC)最新公布的对人致癌危险的评价表[J]. 劳动医学, 1995, 12(3): 50-60.
- [2] 余孔捷, 杨方, 卢声宇. 分光光度法测定红辣椒及其产品中苏丹 I [J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14(5): 596.
- [3] 彭科怀, 向仕学, 汤晓勤, 等. 辣椒制品中苏丹红 I 的极谱法快速测定[J]. 预防医学情报杂志, 2005, 21(3): 286-288.
- [4] 喻凌寒, 牟德海, 李光宪, 等. HPLC-DAD 法测定辣椒及其制品中苏丹红 I 的含量[J]. 光谱实验室, 2004, 21(6): 1131-1133.
- [5] 余孔捷, 杨方. 高效液相色谱法测定红辣椒及其产品中苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III 和苏丹红 IV [J]. 福建轻纺, 2005, 119(4): 5-7.
- [6] 李平, 陈澍, 付松. 二极管阵列检测器在液相色谱测定苏丹红 I 中的应用[J]. 预防医学情报杂志, 2005, 21(2): 132-134.
- [7] 刘昱, 岳振峰, 彭艳, 等. 高效液相色谱法快速测定辣椒制品苏丹色素含量[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2005, 28(2): 110-112.
- [8] 张玉黔, 栾燕, 王新丽, 等. 反相高效液相色谱法测定食品中苏丹红 1、2、3、4 的方法研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(7): 807-808.
- [9] 梁高道, 徐顺清, 革丽亚, 等. 凝胶渗透-液相色谱法检测食品中的苏丹红 I, II, III, IV 号[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(11): 1316-1318.
- [10] 黄宏南, 华永有, 林宏琳, 等. HPLC-PDA-MS 快速测定“染红食品”中苏丹红残留量方法的研究[J]. 海峡预防医学杂志, 2005, 11(4): 7-11.
- [11] 杨强, 李刚, 彭涛, 等. 辣椒及其制品中苏丹红 I 号的 HPLC-MS/MS 检测方法[J]. 中国食品卫生杂志, 2005, 17(6): 511-513.
- [12] TATEO F, BONONI M. Fast determination of sudan 1 by HPLC/APCI-MS in hot, spices and oven-baked food[J]. J Agric food Chem, 2004, 52(4): 655-658.
- [13] MAZZETTI M, FASCIOLI R, MAZZONCINI I, et al. Determination of 1-phenylazo-2-naphthol (Sudan I) in chillipowder and in chilli-containing food products by GPC clean-up and HPLC with LC/MS confirmation [J]. Food Additives & Contaminants, 2004, 21(10): 935-937.
- [14] CALBIANI F, CARERI M, ELVIRI L, et al. Development and in-house validation of a liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of Sudan I, Sudan II, Sudan III and Sudan IV in hot chilli products[J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1042 (1/2): 123-128.
- [15] CALBIANI F, CARERI M, ELVIRI L. Accurate mass measurements for the confirmation of Sudanazo-dyes in hot chilli products by capillary liquid chromatography electrospray tandem quadrupole orthogonal-acceleration time of flight mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1058(1/2): 127-129.
- [16] O VERETOUT, L DEMESSE, L SZYMANSKI. Analysis and dosage of the colorants Sudan and bixin in chilli powder and pepper-based products [R]. European Commission, NEWS notification: 2004: 03/99.
- [17] GB/T 19681-2005. 食品中苏丹红染料的检测方法高效液相色谱法[S].

朝鲜开发出新型血糖测试酶试纸

朝鲜理科大学的研究人员在综合分析过去使用的酶试纸后,最近依靠本国的原料和器材,开发出成本低廉的新型测试血糖的酶试纸。

目前全世界已有 1.2 亿糖尿病患者,发达国家糖尿病发病率已达 2%~10%,国内该病群体规模也已超过 4000 万人。糖尿病已成为人类死亡的第三杀手,其发病率正以每年 10% 的速度递增。这种新型酶试纸的成功开发和批量生产,将对糖尿病的早期诊断发挥重要作用。