

# 高效液相色谱-离子阱质谱联用测定食品中 7 种苏丹红类染料

喻凌寒<sup>1,2,3</sup>, 宋之光<sup>1</sup>, 苏流坤<sup>2</sup>, 牟德海<sup>2</sup>, 李光宪<sup>2</sup>

(1. 中国科学院广州地球化学研究所 有机地球化学国家重点实验室, 广东 广州 510640;

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

3. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

**摘要:**本文研究了高效液相色谱-电喷雾离子阱质谱联用仪准确测定辣椒类食品中 7 种苏丹红类染料的分析方法。样品中的苏丹红类染料用有机溶剂乙腈提取, 直接定容后进行色谱分析。质谱检测采用正离子电离方式。方法的线性范围为 5.0~30  $\mu\text{g/L}$ , 重现性  $\text{RSD} < 5\%$ , 回收率为 63.5%~106.8%。结果表明本方法具有操作简便、快速、准确等优点。

**关键词:**液质联用; 苏丹红; 食品; 染料

中图分类号: O657.63; TS202.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2006)04-221-05

## Determination of 7 Kinds of Sudan Dye in Food by HPLC-ESI-MS/MS

YU Ling-han<sup>1,2,3</sup>, SONG Zhi-guang<sup>2</sup>, SU Liu-kun<sup>2</sup>, MU De-hai<sup>2</sup>, LI Guang-xian<sup>2</sup>

(1. State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangzhou Institute of Geochemistry,

Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China;

2. Guangdong Key Laboratory of Chemical Emergency Test,

China National Analytical Center, Guangzhou, Guangzhou 510070, China;

3. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Abstract:** A method for determination of 7 kinds of Sudan dye in food by reversed-phase (RP) liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with electro spray (LC-ESI-MS/MS) was developed. The sample was extracted by acetonitrile and analysed by LC-ESI-MS/MS. The linear range was 5.0~30  $\mu\text{g/L}$ . The average recoveries were 63.5%~106.8% and its relative standard deviation was lower than 5%. The method was sensitive, reliable, selective and reproducible.

**Key words:** HPLC-ESI-MS/MS; Sudan dye; food

苏丹红属于偶氮系列化工合成染色剂, 主要应用于蜡、油彩、鞋油等产品。偶氮化合物在体内分解可形成丙种芳香胺化合物, 芳香胺在体内经过代谢活动后与靶细胞作用可能引起癌肿。

虽然苏丹红对人体的致癌性目前还没有明确结论, 但它对动物的致癌性已得到证实<sup>[1-3]</sup>。国际癌症研究机构将其归类为第三类致癌物质, 不允许以任何数量添加到任何食品中。我国 1996 年

出台了《食品添加剂使用卫生标准》,禁止将苏丹红 I 号作为食品添加剂用于食品生产。

然而有不少食品生产企业为改善产品色泽、降低成本仍将其作为食品添加剂。近年来,数个著名跨国公司加工的食品,包括辣椒粉、酱料及调味料等被检出含有苏丹红 I 及 IV,该事件引发了世界各国对苏丹红在食品中安全性问题的关注。因此建立苏丹红染料及类似结构染料的检验和识别方法,对维护食品安全,保证人民健康有积极作用。

目前国内外对苏丹红类染料的分析研究仅局限于苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV 及对位红,采用的方法一般为 HPLC-UV<sup>[4-6]</sup>, HPLC-MS/MS<sup>[7-8]</sup> 及 GC/MS<sup>[9]</sup>。但苏丹红类染料的沸点较高,目前所报道的 GC/MS 方法仅能检测苏丹红 I 和苏丹红 II。

为加大检测力度,提高方法的灵敏度,针对食品样品的基质复杂性,在借鉴国内外方法的基础上,运用广州分析测试中心新引进的高效液相色谱-离子阱质谱联用仪对食品中 ng/g 水平的 7 种苏丹红类似结构染料(Sudan Red B、Sudan Red G、Sudan Red 7B、Sudan Black B、Methyl Yellow、Toluidine Red 和 Fast Garnet GBC Base)的检测方法进行了系统研究。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 7 种苏丹红类染料的测定。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器设备

Agilent 1100HP LC-Trap-SL 高效液相色谱-电喷雾离子源-离子阱质谱系统;美国 Agilent 公司产品,配有在线真空脱气机、二元高压梯度泵、恒温自动进样器、柱温箱、电喷雾离子源(ESI);Sartorius BP 61 型电子天平(0.1 mg);德国 Sartorius 公司产品;WH-851 旋涡混合器;上海环宇仪器厂产品;GL20A 全自动高速冷冻离心机;湖南仪表总厂离心机厂产品。

### 1.2 试剂及材料

乙腈购于 Bruker-Daltonik 公司,色谱纯;Sudan Red B (CAS No. 3176-79-2, CI 26110)、Sudan Red G (CAS No. 1229-55-6, CI 12150)、Sudan Red 7B (CAS No. 6368-72-5 CI 26050)、Sudan Black B (CAS No. 4197-25-5, CI

26150)、Methyl Yellow (CAS No. 60-11-7, CI 11020)、Toluidine Red (CAS No. 2425-85-6, CI 12120)和 Fast Garnet GBC Base (CAS No. 97-56-3, CI 11160)购于 Sigma-Aldrich 公司;水为二次蒸馏水、丙酮为分析纯,购于山东禹王有限公司;样品为送检样品(辣椒粉、辣椒油等)。

### 1.3 储备液配制

分别称取 7 种苏丹红染料标准物适量,加入 10.0 mL 丙酮溶解,然后用乙腈定容至 100.0 mL,配成 100 mg/mL 的工作储备液;将储备液置于-4℃下避光保存,使用时用乙腈稀释至所需浓度。

### 1.4 样品处理

称取约 5.0 g 样品于 50 mL 离心管中,加入 15 mL 乙腈溶液超声振荡提取 30 min,离心 10 min。重复提取 3 次,合并提取液,用乙腈定容至 50 mL,经 0.45 μm 滤膜过滤后,进行色谱-质谱分离和检测。

### 1.5 液相色谱、质谱条件

色谱柱:Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> 2.1 m×30 mm×3.5 μm;柱温:35℃;流动相:乙腈-1.0% 甲酸水溶液;梯度洗脱;乙腈的体积分数 φ: 0->12 min, 40%->80%;12->16 min, 80%;16->20 min, 80%->40%;流速:0.5 mL/min;进样量:10 μL。

质谱条件:电喷雾电离(ESI),正离子化模式;毛细管电压:4 000 kV;雾化气压力:3.44×10<sup>5</sup> Pa;干燥气流量:10 L/min;干燥气温度:350℃;碰撞电压:150.0 V;毛细管出口补偿:144.3 V;锥型体 1:34.5 V。

## 2 结果与讨论

### 2.1 质谱分析

7 种苏丹红类染料在电喷雾正离子电离方式和实验条件下,主要生成[M+H]<sup>+</sup>准分子离子峰,选择[M+H]<sup>+</sup>进行产物离子扫描,生成的主要碎片离子分别为 m/z 226->95 (Methyl Yellow)、m/z 226->209 (Fast Garnet GBC Base)、m/z 279->248 (Sudan Red G)、m/z 308->291 (Toluidine Red)、m/z 381->224 (Sudan Red B)、m/z 457->246 (Sudan Black B)和 m/z 381->183 (Sudan Red 7B),见图 1。将这些主要碎片离子作为定量分析时监测的产物离子。

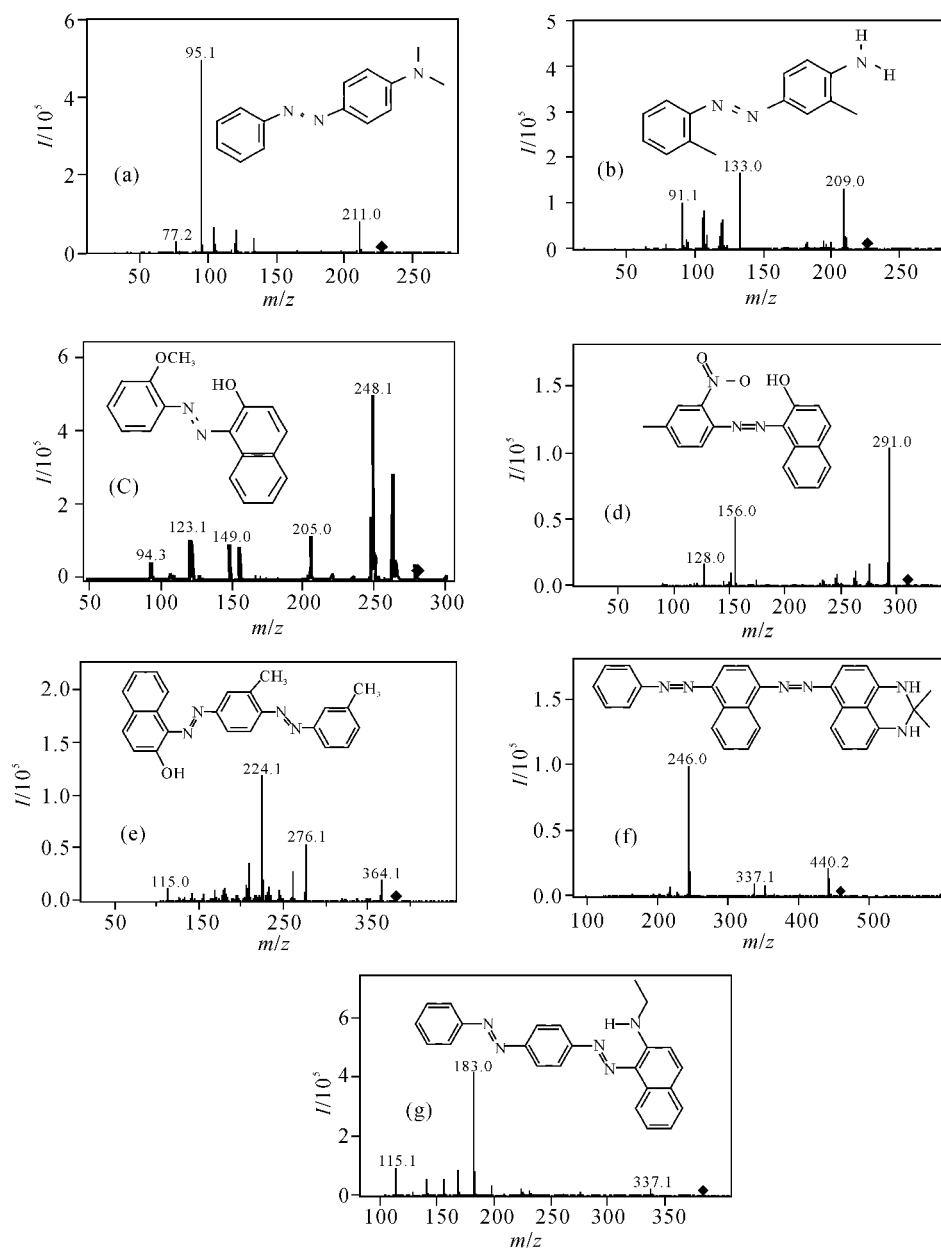


图 1 7 种苏丹红类染料的二级质谱图

(a) 甲基黄; (b) 固酱紫 GBC; (c) 苏丹红 G; (d) 甲苯胺红; (e) 苏丹红 B; (f) 苏丹黑 B; (g) 苏丹红 7B

Fig. 1 ESI(+)-MS/MS product-ion mass spectra of Sudan Red Dyes

(a) Methyl Yellow; (b) Fast Garnet GBC Base; (c) Sudan Red G; (d) Toluidine Red;  
(e) Sudan Red B; (f) Sudan Black B; (g) Sudan Red 7B

## 2.2 线性范围

用移液管取标准储备液适量体积,用乙腈稀释定容成最终浓度为 5.0、10.0、15.0、20.0、25.0 和 30.0  $\mu\text{g/L}$  的标准工作溶液,分别取 10  $\mu\text{L}$  各进一针,按 1.5 中色谱和质谱条件进行分离和检测。用峰面积( $Y$ )对标准浓度( $X$ )进行线性回归。Methyl Yellow 回归方程为  $Y = -2.09 \times 10^5 + 2.08 \times 10^5 \times X$ ,  $r = 0.9999$ ; Fast Gar-

net GBC Base 回归方程为  $Y = -6.23 \times 10^4 + 5.23 \times 10^4 \times X$ ,  $r = 0.9988$ ; Sudan Red G 回归方程为  $Y = 1.05 \times 10^5 + 6.54 \times 10^4 \times X$ ,  $r = 0.9959$ ; Toluidine Red 回归方程为  $Y = 5.81 \times 10^4 + 3.11 \times 10^4 \times X$ ,  $r = 0.9970$ ; Sudan Red B 回归方程为  $Y = -1.23 \times 10^4 + 5.10 \times 10^4 \times X$ ,  $r = 0.9964$ ; Sudan Black B 回归方程为  $Y = -1.59 \times 10^5 + 3.41 \times 10^4 \times X$ ,  $r = 0.9927$ 。实

验结果表明各种苏丹红染料在 5.0~30.0  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内,质谱均有着良好的线性响应。

### 2.3 回收率和精密度试验

用标准加入法进行回收率实验,对方法的准确度和精密度进行考察。在空白辣椒粉、辣椒酱及辣椒油样品(不含有 7 种苏丹红染料)进行加标回收实验,共进行了同一水平 5 个样本重复 5 次的加标实验,结果见表 1,具体离子流程图见图 2。由表 1 可见,样品的加标回收率介于 63.5%~106.8%,满足分析的需要。由图 2 可见,样品对目标物没有干扰,效果良好。

精密度考察采取 25  $\mu\text{g/L}$  的混合标准溶液,连续进样 6 针,计算各组分峰面积的相对标准偏差(RSD%),结果表明各组分的 RSD 介于 0.65~1.86,重复性好。

### 2.4 灵敏度

依据前述的样品前处理方法,采用质谱进行定量分析时,各种苏丹红染料的方法检出限( $S/N=3$ )分别为 8.3  $\mu\text{g/kg}$  (Fast Garnet GBC Base)、2.2  $\mu\text{g/kg}$  (Methyl Yellow)、17.0  $\mu\text{g/kg}$  (Sudan Red G)、6.4  $\mu\text{g/kg}$  (Toluidine Red)、4.8  $\mu\text{g/kg}$  (Sudan Red B)、15.0  $\mu\text{g/kg}$  (Sudan Black B)和 4.7  $\mu\text{g/kg}$  (Sudan Red 7B)。

## 3 结 论

本文建立了快速灵敏的检测食品中 7 种苏丹红染料的高效液相色谱-离子阱质谱联用的检测分析方法,通过离子阱质谱的多级质谱功能对样品准确定性。方法灵敏度高,分析时间短,可以排除色谱柱共流物的干扰,定性准确,回收率较高( $>65\%$ ),重现性好,为监测各种苏丹红染料在食品中的残留提供了可以借鉴的分析方法。

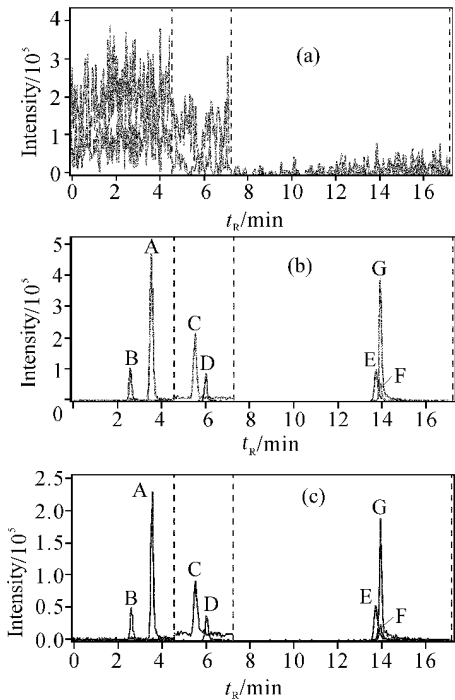


图 2 多重反应监测模式下 7 种苏丹红类染料的萃取离子流程图  
(A) 甲基黄; (B) 固酱紫 GBC; (C) 苏丹红 G; (D) 甲苯胺红; (E) 苏丹红 B; (F) 苏丹黑 B; (G) 苏丹红 7B

Fig. 2 Chromatograms of Seven Dyes by multiple reaction monitoring (MRM) scan mode (a) Blank Sample; (b) Mixture Standard Solution (20  $\mu\text{g/L}$ ); (c) Blank Sample spiked with seven Sudan dyes (A) Methyl Yellow; (B) Fast Garnet GBC Base; (C) Sudan Red G; (D) Toluidine Red; (E) Sudan Red B; (F) Sudan Black B; (G) Sudan Red 7B

表 1 HPLC-MS/MS 法测定 7 种苏丹红类染料的加标回收率

Table 1 Averaged recoveries (%) and stand deviation (%) of 7 kinds of determined dyes

| Analyte              | Spiked conc.<br>( $\mu\text{g/kg}$ ) | Analyzed conc.<br>( $\mu\text{g/kg}$ ) |       |      |       |       | Mean<br>( $\mu\text{g/kg}$ ) | Recovery<br>(%) |
|----------------------|--------------------------------------|----------------------------------------|-------|------|-------|-------|------------------------------|-----------------|
|                      |                                      | I                                      | II    | III  | IV    | V     |                              |                 |
| Fast Garnet GBC Base | 100                                  | 85.0                                   | 92.4  | 83.8 | 97.1  | 106.8 | 93.0                         | 93.0            |
| Methyl Yellow        | 100                                  | 95.2                                   | 88.8  | 91.8 | 103.6 | 85.1  | 92.9                         | 92.9            |
| Sudan Red G          | 100                                  | 79.3                                   | 63.5  | 78.7 | 73.3  | 68.4  | 72.6                         | 72.6            |
| Toluidine Red        | 100                                  | 72.8                                   | 73.5  | 68.3 | 62.6  | 65.2  | 68.5                         | 68.5            |
| Sudan Red B          | 100                                  | 84.3                                   | 87.1  | 71.5 | 87.2  | 79.7  | 82.0                         | 82.0            |
| Sudan Black B        | 100                                  | 87.1                                   | 90.0  | 76.3 | 84.6  | 90.4  | 85.7                         | 85.7            |
| Sudan Red 7B         | 100                                  | 94.0                                   | 102.8 | 91.2 | 90.1  | 86.5  | 92.9                         | 92.9            |

## 参考文献:

- [1] Marie Stiborová, Heinz H. Schmeiser and Eva Frei. Prostaglandin H Synthase-mediated Oxidation and Binding to DNA of a Detoxication Metabolite of Carcinogenic Sudan I, 1-(phenylazo)-2,6-dihydroxynaphthalene[J]. Cancer Letters. 1999, 146(1): 53-60.
- [2] Stiborová M, Frei E, Schmeiser H H, et al. Mechanism of Formation and  $^{32}\text{P}$ -postlabeling of DNA Adducts Derived from Peroxidative Activation of Carcinogenic Non-aminoazo Dye 1-phenylazo-2-hydroxynaphthalene (Sudan I)[J]. Carcinogenesis, 1990, 11: 1 843-1 848.
- [3] Shigeki Hatakeyama, Yayoi Hayasaki, Makihiro Masuda, et al. Mechanism for Mouse Strain Differences in the Protective Effect of Sudan III Against the in Vivo Genotoxicity of Dimethylbenz[a]anthracene[J]. Anthracene Toxicology Letters, 1996, 89: 231-239.
- [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): 1 131-1 133.
- [5] 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-based Products[S]. 03/99.
- [6] 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.
- [7] Leonardo Di Donna, Loredana Maiuolo, Fabio Mazzotti, et al. Assay of Sudan I Contamination of Foodstuff by Atmospheric Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry and Isotope Dilution. Anal. Chem[J]. 2004, 6: 5 104-5 108.
- [8] Tateo F., Bononi M.. Fast Determination of Sudan I by HPLC/APCI-MS in Hot Chili, Spices, and Oven-Baked Foods[J]. J. Agric. Food Chem, 2004, 52: 655-658.
- [9] 吴惠勤, 黄晓兰, 黄 芳, 等. 食品中苏丹红 1 号的 GC-MS/SIM 快速分析方法研究[J]. 分析测试学报, 2005, 24(3): 1-5.

=====

欢迎订阅 欢迎投稿 欢迎刊登广告

## 《分析实验室》技术期刊

国内统一刊号:CN11-2017/TF

国际标准刊号:ISSN 1000-0720

DW 国际 CODEN 码:FENSE4

邮发代号:82-431

DW 国外代号:M848

广告经营许可证:京西工商广字第 0038 号

《分析实验室》是中文核心期刊,月刊,大 16 开,128 页,国内外公开发行人。

《分析实验室》1982 年创刊,目前已成为我国著名的分析化学专业刊物。影响遍及冶金、地质、石油化工、环保、药物、食品、农业、商品检验和海关等社会各行业及各学科领域。《分析实验室》以突出创新性和实用性为办刊宗旨,作者来自全国各行业的生产、科研第一线;在国际上常年被“CA”等国内外多家检索数据库、文摘收录,影响因子连续多年列化学类前列。本刊常设“研究报告”、“研究简报”、“仪器装置与设备”等栏目。“定期评述”栏目系统发布特邀知名专家学者撰写的国内外分析化学各领域的综合评述,连续跟踪学术发展前沿。“国际会议”栏目每期介绍影响广泛的分析化学领域国际学术交流会议。2004 年新设“特邀专家评论”,聚焦当前科研重点、难点、热点。2006 年新开设了“管理论坛”等栏目,介绍实验室认证、认可相关内容,交流实验室管理经验。

2007 年《分析实验室》每期定价 15 元,全年 12 期,180 元。

全国各地邮局征订,邮发代号 82-431。漏订的读者可直接与编辑部联系。

编辑部地址:北京新街口外大街 2 号

邮编:100088。电话:010-82013328

E-mail:analysislab@263.net;ana-info@263.net