

辣椒及其制品中苏丹红 1 号的 HPLC-MS/MS 检测方法

杨 强 李 刚 彭 涛 雍 炜 李建中 储晓刚
(中国检验检疫科学研究院,北京 100025)

摘 要:为快速检测食品中的苏丹红 1 号,建立了一种快速准确的苏丹红 1 号液质联用测定方法。样品用乙腈提取,稀释定容后用液相色谱-质谱联用法测定,对 HPLC-MS/MS 的测定条件进行了研究和优化。回收率在 90.5 %~110.0 %之间,多次测定的 RSD 在 1.3 %~7.2 %之间,该方法的最低检出限低于 10 pg。该方法简便、快速、准确、灵敏,可以满足食品中苏丹红 1 号检测的需要。
关键词:辣椒;苏丹红 1 号;色谱法;高压液相;光谱分析;质谱

Determination of Sudan I in foods by HPLC-MS/MS
YANG Qiang , LI Gang , PENG Tao , YONG Wei , LI Jian-zhong , CHU Xiao-gang
(Chinese Academy of Inspection and Quarantine , Beijing 100025 , China)

Abstract: A HPLC-MS/MS method has been developed for determining Sudan I in foods. The sample was extracted by acetonitrile , and the extract after dilution was analyzed by HPLC-MS/MS. This study optimized the analysis condition. The recovery was 90.5 %~110.0 % , with RSD of 1.3 %~7.2 % , and LOD was 10 pg. The method is fast , convenient , accurate and sensitive. The method can be used to detect Sudan I in foods.
Key word: CAPSICUM FRUTESCENS ; Sudan I ; Chromatography , High Pressure Liquid ; Spectrum Analysis ; Mass

2.3 回收率实验 在保健酒和固体制剂中添加一定浓度的标准品溶液做回收率实验,添加后保健酒和固体制剂中伐地那非的浓度分别为 0.2 mg/ml 和 0.2 mg/g。每个试样平行处理 5 份,按照试样测定方法进行分析,求算平均回收率。伐地那非在 2 种试样中的平均回收率分别为 98.9 % (RSD = 1.5 %) , 101.2 % (RSD = 1.1 %) 。
2.4 抗干扰实验 检测 10 个酒样,酒样中采用的原料标称分别为:蛇鞭、牛鞭、玉米酒、米酒、枸杞、桂圆肉、西洋参、党参、人参,以上样品均按照 1.4 所述方法前处理,采用 1.5 所述色谱条件进行分析。实验过程中,原料成分未对检测目标造成干扰,图 4、图 5 分别为加样前后检测试样的 254 nm 紫外色谱图及加标准样品后的检测试样的选择离子 (SIR) 489 记录的色谱图。对其它较流行的治疗性功能障碍药物如西地那非、他地那非也用本文所述色谱条件进行了分析,都不对目标峰产生干扰(见图 6)。

2.5 试样测定 按照“1.4”实验条件所述测定市场所购样品中伐地那非的含量,在一种保健酒中测出伐地那非含量为 0.32 mg/ml,图 7 为检测试样的紫外色谱图和全扫描方式的色谱图及质谱图。
参考文献
[1] 鲁敏,丁鼎乐. 男性性功能障碍的新一代治疗药—伐地那非[J]. 上海医药,2002,23:356-357.
[2] 马培奇. 勃起功能障碍治疗药物市场走势[J]. 药物进展,2004,28:288.
[3] Stark S,Sachase R, Stark A, et al. Erectile response on visual sexual stimulation after 20 mg or 40 mg Bay 38 - 9456 or placebo[J]. Eur Urol, 2000, 37 (S2): Abst15.
[4] 陈巧云,王楠,姚峰,等. 磷酸二酯酶 5 抑制剂治疗勃起功能障碍的疗效与安全性比较[J]. 中华男科学,2004,10:302-304.
[5] 张杰,杨吉伟,张伟. 伐地那非与勃起功能障碍[J]. 世界临床药物,2004,25:94-98.

[收稿日期:2005 - 04 - 20]

中图分类号:R15;TS218;O657.72 文献标识码:B 文章编号:1004 - 8456(2005)06 - 0508 - 04

作者简介:杨强 男 硕士
通讯作者:储晓刚 男 博士 研究员

辣椒及其制品中苏丹红 1 号的 HPLC-MS/MS 检测方法——杨 强 李 刚 彭 涛等

苏丹红 1 号作为一种人工合成染料,有着广泛的工业应用,在化工中主要用于对油类、蜡和肥皂进行染色。由于它有着潜在的致癌作用,因此严禁用于食品中。近来,食品中苏丹红的使用问题越来越受到重视,但是我国多用 HPLC 方法来检测食品中的苏丹红^[1]。本文建立的 HPLC-MS/MS 检测方法,与传统的 HPLC 检测方法相比^[1],具有强大的定性能力,且更快速、简便。由于采用了三离子原则^[2],HPLC-MS/MS 方法更准确、更灵敏,具有检出限低、杂质干扰小的优点。

1 材料和方法

1.1 试剂与仪器 Micromass Quattro Ultima Pt 质谱仪,Alliance 高效液相色谱仪(Waters 公司),MassLynx 色谱工作站(v4.0)。标准品(Dr. Ehrenstorfer Co., Germany)。所用有机溶剂均为色谱纯,实验用水为 Milli-Q 高纯水。

苏丹红 1 号标准储备液 准确称取 10 mg 苏丹红 1 号标准品于 100 ml 容量瓶中,用乙腈定容,作为浓度为 100 μg/ml 标准储备液。

苏丹红 1 号工作液 用乙腈将苏丹红 1 号标准储备液逐级稀释成 100、80、50、20 以及 10 ng/ml 的标准工作液。

1.2 试样处理 称取 5 g 样品于离心管中,加入 20 ml 乙腈,涡旋、振荡、离心,将上清液转移至 100 ml 容量瓶中,重复提取 2 次,合并提取液。用乙腈将提取液定容至 100 ml,摇匀。量取 0.5 ml 提取液,N₂吹干,用 1 ml 乙腈 + 水(含 0.2 %甲酸,体积分数) = 1 + 1 的流动相定容待测。

1.3 HPLC-MS/MS 分离条件 Waters XTerra MS C₁₈ 色谱柱,5 μm,2.1 mm ×150 mm。流动相体系:乙腈 + 水(含 0.1 %甲酸,体积分数),梯度程序见表 1。流速 0.2 ml/min,柱温 30 °C,进样量 10 μl。

表 1 流动相梯度洗脱程序			
时间(min)	水(%)	乙腈(%)	梯度曲线
0.00	18	82	1
6.00	5	95	6
8.00	5	95	6
12.00	18	82	1

注:(a) 水中含 0.1 %甲酸,体积分数

ESI 正离子检测,毛细管电压 1.8 kV,源温度 120 °C,去溶剂温度 350 °C,锥孔气流速 100 L/h,去溶剂气流速 500 L/h。锥孔电压 47 V,监测离子 248.8/231.8,248.8/92.8,MRM 方式监测定量,每个离子监测停留时间 0.2 s。

2 结果和讨论

2.1 提取条件的选择 由于食品试样基质复杂,在 MRM 方式的监测中,虽然试样的基质对目标物的响应影响不大,但是不同的提取溶剂对前处理有不同的要求,也会对色谱柱产生不同的影响。通过比较乙酸乙酯与乙腈的提取液,发现乙酸乙酯作为提取溶剂时提取油脂过多,需要更进一步的净化以除去杂质,才能供 HPLC 进样检测。乙腈提取液提取的杂质较少,可以直接稀释上样检测,符合快速简便的要求。

2.2 分析条件的选择 通过比较乙腈 + 水(含 0.1 %甲酸,体积分数)以及乙腈 + 水(含 0.5 % mmol/L 乙酸铵,体积分数)流动相体系,发现乙腈 + 水(含 0.1 %甲酸,体积分数)能很好的提高仪器信号的灵敏度,可使检测限下降 50 %~80 %,最终采用乙腈 + 水(含 0.1 %甲酸,体积分数)作为分析所用流动相体系,以 ESI 正离子模式检测。由于苏丹红 1 号是小分子偶氮化合物,有很强的共轭体系,所以采取 1.8 kV 毛细管电压进行分析,质谱可以很好地达到优化效果。图 1、2 分别为测定过程中的试样空白及标准品的质量色谱图。

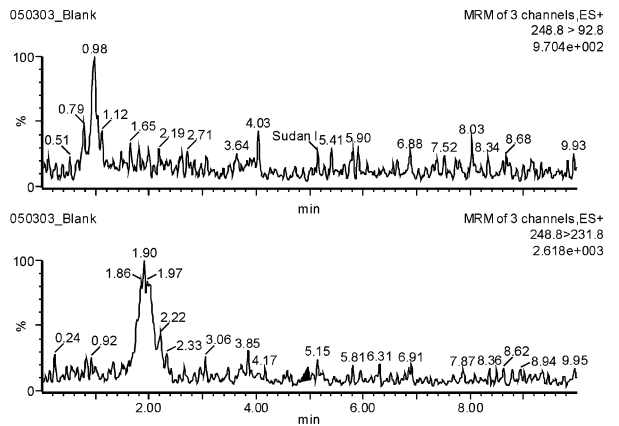


图 1 样品空白的质量色谱图

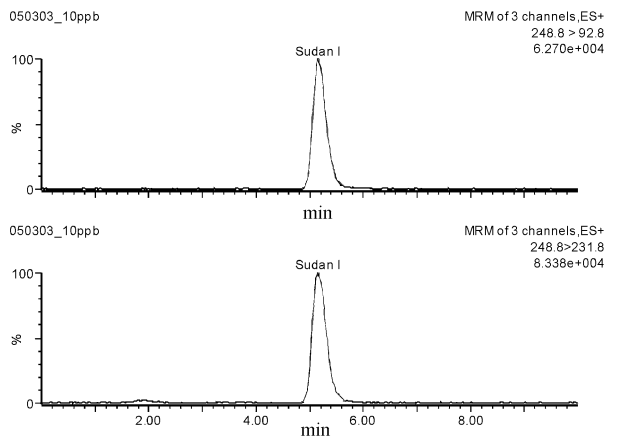


图 2 苏丹红 1 号(10 ng/ml)标准品的质量色谱图

2.3 线性关系 在确定的最佳分离条件下,配制一

系列浓度的标准溶液进行测定,以峰面积(y)对浓度 x (ng/ml) 绘制校正曲线,得到校正曲线方程为: $y = 422.54x - 9.6334$, 相关系数为 0.9997。

2.4 回收率、精密度和检测限 在空白样品中按浓度分别为 50、100、500 $\mu\text{g/kg}$ 添加标准溶液,按照方法操作步骤进行回收率实验,每个浓度同时做 7 个平行,同时测定精密度。苏丹红 1 号的回收率在 90.5 %~110.0 %之间(见表 2),多次测定的 RSD 在 1.3 %~7.2 %之间。图 3 为添加浓度为 100 $\mu\text{g/kg}$

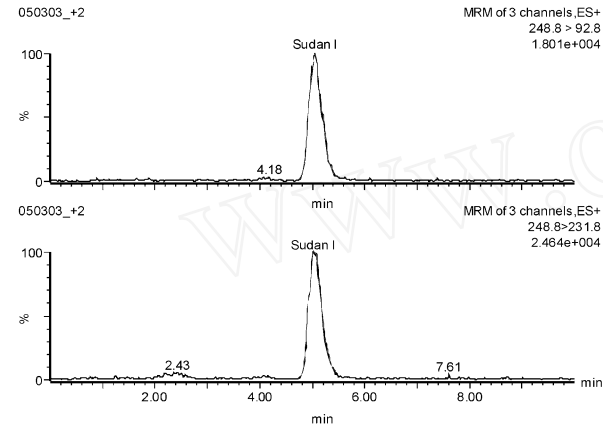


图 3 添加浓度为 100 $\mu\text{g/kg}$ 苏丹红 1 号的质量色谱图

表 2 苏丹红 1 号的添加回收率 %

50 $\mu\text{g/kg}$		100 $\mu\text{g/kg}$		500 $\mu\text{g/kg}$	
回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD
107.1	7.20	100.2	3.2	95.7	1.3

的质量色谱图。以 3 倍信噪比计算,该方法的最低检出限低于 10 μg ,可以满足最大残留限量检测的要求。

2.5 应用实例 本方法具有简单、快速、误判率低的特点,在实际样品测定中准确高效。操作简便。图 4 是每公斤辣椒酱含 2.3 mg 苏丹红 1 号的辣椒酱质量色谱图。

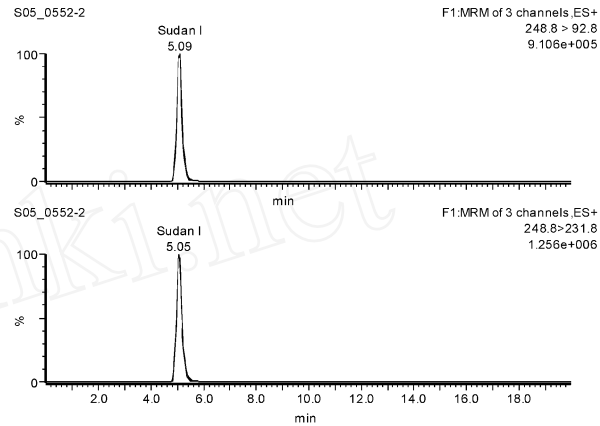


图 4 辣椒酱中苏丹红 1 号的质量色谱图

参考文献

[1] 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].
[2] Dudley H Williams, Ian Fleming, 著. 王剑波,施卫峰,译. 有机化学中的光谱方法[M]. 北京,北京大学出版社,2001.

[收稿日期:2005 - 06 - 02]

中图分类号:R15;S641.3;TS202.3;O657.72 文献标识码:B 文章编号:1004 - 8456(2005)06 - 0511 - 03

《中国食品卫生杂志》2006 年征订启事

《中国食品卫生杂志》(ISSN 1004 - 8456/CN 11 - 3156/R)系中华预防医学系列杂志,公开发行,双月刊,96 页。所设栏目论文部分有:论著、实验技术与方法、监督管理、调查研究、综述、食物中毒、CAC 专栏、网络信息等;法规文件部分刊登有关食品卫生的国家法律、法规、标准、行政答复、通告等。读者可以通过本刊及时掌握国家新颁布的食品卫生法律、法规,了解最新食品卫生科研成果,解决工作中遇到的问题,提高论文水平。

本刊可通过邮局订阅,邮发代号:82 - 450;亦自办发行并常年办理订阅。

自办发行办法如下,2006 年《中国食品卫生杂志》全年售价 80 元(含邮费)。从邮局汇款时请注明订阅册数、详细的收件人地址、单位、邮编、姓名;通过银行汇款的单位,请在汇款的同时寄函或电传我所以下内容:订阅册数、详细收件人地址、邮编、单位、姓名,以便准确邮寄。

希望挂号投寄期刊的用户,每期杂志需加挂号费 3 元,全年合计挂号费 18 元,并请在寄款时同时说明要求挂号。

汇款地址:北京市宣武区南纬路 29 号 《中国食品卫生杂志》编辑部

邮 编:100050

电 话:(010)83132658

银行汇款:工商银行北京潘家园支行

户 名:中国疾病预防控制中心营养与食品安全所 请注明“《中国食品卫生杂志》订阅款”

联系人:娄人怡

电 传:(010)83132658

账 号:0200022709008904285

《中国食品卫生杂志》编辑部
2005 年 9 月