

通过本研究可提示 DiBP 能够导致小鼠空间学习能力相对减弱。虽然小鼠和人在 DiBP 的代谢上有很多不一致的地方, DiBP 对小鼠学习记忆的影响尚不能直接外推到人,但低剂量长期暴露产生的危害比较隐匿,提示今后在评估 DiBP 暴露(尤其是和多种邻苯二甲酸类化合物联合暴露)对人体健康的影响时,认知指标应引起充分重视。另外,大量的实验证实啮齿类动物的海马在空间学习记忆过程中起重要作用^[12,13]。因此,有必要进一步对小鼠海马组织的生理、生化水平改变进行研究,以探讨 DiBP 可能的学习记忆损伤机制。

参考文献

- [1] National Industrial Chemicals Notification and Assessment. DIBP hazard assessment-draft for comment[R]. Australia: NICNAS, 2007:1-20.
- [2] SAILLENFAIT A M, SABATE J P, GALLISSOT F. Diisobutyl phthalate impairs the androgen-dependent reproductive development of the male rat[J]. *Reprod Toxicol*, 2008, 26(2): 107-115.
- [3] SAILLENFAIT A M, SABATE J P, GALLISSOT F. Developmental toxic effects of diisobutyl phthalate, the methyl-branched analogue of di-n-butyl phthalate, administered by gavage to rats[J]. *Toxicol Lett*, 2006, 165(1): 39-46.
- [4] 赵文红, 厉曙光. 染毒后小鼠各脏器含量的测定及其意义[J]. *中国卫生检验杂志*, 2005(3): 262-263.
- [5] GILIOLI R A. Transversal and longitudinal neurological study of a working population engaged in the production of phthalates. Preliminary data[J]. *Med Lav*, 1978, 69(5): 620-631.
- [6] ANDRADE A J. A dose-response study following in utero and lactational exposure to di-(2-ethylhexyl)-phthalate (DEHP): non-monotonic dose-response and low dose effects on rat brain aromatase activity[J]. *Toxicology*, 2006, 227(3): 185-192.
- [7] 李元锋, 庄梅株, 李涛, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对雄性子代大鼠学习记忆及海马 Spinophilin 表达的影响[J]. *癌变·畸变·突变*, 2008(5): 380-384.
- [8] WALSH R N, CUMMINS R A. The Open-Field Test: a critical review[J]. *Psychol Bull*, 1976, 83(3): 482-504.
- [9] MORRIS R G. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions[J]. *Nature*, 1982, 297(5868): 681-683.
- [10] VORHEES C V, WILLIAMS M T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory[J]. *Nat Protoc*, 2006, 1(2): 848-858.
- [11] 马宁, 徐海滨. 神经行为毒理学测试方法的现状和进展[J]. *中国食品卫生杂志*, 2009, 21(1): 63-67.
- [12] BECKER J T, WALKER J A, OLTON D S. Neuroanatomical bases of spatial memory[J]. *Brain Res*, 1980, 200(2): 307-320.
- [13] O'KEEFE J, SPEAKMAN A. Single unit activity in the rat hippocampus during a spatial memory task[J]. *Exp Brain Res*, 1987, 68(1): 1-27.

论著

固相萃取-超高效液相色谱串接四级杆质谱同时测定调味品中 12 种工业染料

赵 榕 李 兵 赵海燕 薛 颖 吴国华 刘 伟 赵 耀
(北京市疾病预防控制中心, 北京 100013)

摘要:目的 建立调味品中苏丹橙、苏丹黄、苏丹 I~IV、溶剂蓝 35、对位红、苏丹黑 B、苏丹红 7B、苏丹红 G、苏丹棕等工业染料的固相萃取-超高效液相色谱串接四级杆质谱(SPE-UPLC-MS/MS)测定方法。方法 以含 10% 乙醇的丙酮溶液作为提取溶剂,利用 MAX 强阴离子交换固相萃取柱(60 mg, 3 ml)对样品进行净化,UPLC-MS/MS 测定试样中 12 种工业染料的含量。结果 方法的线性范围:对位红 10.0~800.0 ng/ml,其他 11 种染料 5.0~400.0 ng/ml。12 种工业染料的定性检出限为 0.3~10.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。定量检出限为 0.8~31.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。高、中、低 3 个浓度水平的加标回收率 77.1%~141.9%,相对标准偏差 5.5%~26.4%。结论 本方法灵敏、准确,可用于调味品中苏丹橙、苏丹黄、苏丹 I~IV、溶剂蓝 35、对位红、苏丹黑 B、苏丹红 7B、苏丹红 G、苏丹棕等 12 种非法添加的工业染料的同时测定及确证。

关键词:苏丹;工业染料;调味品;固相萃取-超高效液相色谱串接四级杆质谱

中图分类号:R155.5+1;R151.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2010)04-0305-08

收稿日期:2009-06-20

基金项目:北京市卫生局、北京市中医管理局青年科学研究资助项目(QN2007-16)

作者简介:赵 榕 女 副主任技师 研究方向为食品中污染物及营养成分 E-mail:lxue@yeah.net

Simultaneous Determination of 12 Kinds of Industrial Dyes in Condiment by SPE-UPLC-MS/MS Method

ZHAO Rong, LI Bing, ZHAO Hai-yan, XUE Ying, WU Guo-hua, LIU Wei, ZHAO Yao
(Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China)

Abstract: Objective To establish a method for simultaneous determination of Sudan Orange, Sudan Yellow, Sudan I-IV, Solvent Blue 35, Para Red, Sudan Black B, Sudan Red 7B, Sudan Red G and Sudan Brown in condiment by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography electrospray ionization-tandem mass spectrometry (SPE-UPLC-MS/MS) method. **Method** The samples were extracted by acetone containing 10% ethanol and cleaned-up by OASIS MAX solid phase extraction column (60 mg, 3 ml). The dyes were determined by UPLC-MS/MS. **Results** The linear range was 10.0-800.0 ng/ml for Para Red and 5.0-400.0 ng/ml for the other 11 compounds, the correlation coefficients were >0.99. The qualitative detection limits of the method were in the range of 0.3-10.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and the quantitative detection limits of the method were in the range of 0.8-31.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The average recoveries of adding standard at three levels were 77.1%-141.9% and the relative standard deviation (RSD) of the method was 5.5%-26.4%. **Conclusion** The method is sensitive, accurate and could be used for detecting 12 kinds of industrial dyes simultaneously in condiments.

Key words: Sudan; Industrial Dye; Condiment; SPE-UPLC-MS/MS

苏丹橙 (Sudan orange)、苏丹黄 (Sudan yellow)、苏丹 I ~ IV (Sudan I ~ IV)、溶剂蓝 35 (Solvent blue 35)、对位红 (para red)、苏丹黑 B (Sudan black B)、苏丹红 7B (Sudan red 7B)、苏丹红 G (Sudan red G)、苏丹棕 (Sudan brown) 均属于亲脂性偶氮工业染料, 在工业上常用于油漆、鞋油、汽车蜡等的增色。苏丹染料进入人体后, 在还原酶的作用下代谢产生相应的胺类。国际癌症研究机构 (IARC) 将苏丹 I、苏丹 II 及其代谢产物 2,4-二甲基苯胺列为三类致癌物; 将苏丹 III 及其代谢产物 4-氨基偶氮苯分别列为三类和二类致癌物; 将苏丹 IV 列为三类致癌物, 其代谢产物邻甲苯胺和邻氨基偶氮甲苯被列为二类致癌物。上述工业染料在我国被严格禁止添加于食品中, 但是, 近几年我国和世界各国不断报道食品中检出了各种工业染料。

目前文献报道可用于测定食品中非法添加的苏丹染料的检测方法主要有液相色谱法^[1,2]、液相色谱质谱联用法^[3-5]、气相色谱质谱联用法^[6]等。由于液相色谱法特异性差、灵敏度低, 会造成检测结果的假阳性, 因此, 食品中苏丹染料的检测多使用气相色谱质谱联用和液相色谱质谱联用技术。国家质检总局在 2005 年 3 月 29 日颁布了 GB/T 19681—2005《食品中苏丹红的检测方法—高效液相色谱法》。由于工业染料的种类比较多, 不法经营者使用的染料不尽相同, 而目前国标方法和文献报道的检测方法, 大多只能用于苏丹 I、苏丹 II、苏丹 III、苏丹 IV 4 种工业染料的检测, 这就给食品检测和卫生监管部门的执法带来了很大的困难。

本文通过对提取、净化、测定及确证等条件的研

究与优化, 建立了同时测定调味品中 12 种工业染料苏丹橙、苏丹黄、苏丹 I ~ IV、溶剂蓝 35、对位红、苏丹黑 B、苏丹红 7B、苏丹红 G、苏丹棕的固相萃取-超高效液相色谱串接四级杆质谱 (SPE-UPLC-MS/MS) 方法。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

超高效液相色谱-质谱/质谱联用仪: 配备有 ACQUITY 超高效液相色谱仪, Quattro Premier/XE 质谱仪 (Waters 公司)。Oasis MAX 固相萃取柱 (60 mg, 3 ml; Waters 公司)。

甲醇、丙酮、乙腈、甲基叔丁基醚 (色谱纯, 迪马公司); 甲酸 (分析纯, 北京化学试剂公司); 苏丹橙、苏丹 I ~ IV、溶剂蓝 35、苏丹红 7B (纯度 $\geq 95\%$, 购于 SIGMA 公司); 苏丹黄、对位红、苏丹黑 B、苏丹红 G、苏丹 IV 同位素内标 (D6-苏丹 IV)、苏丹 I 同位素内标 (D5-苏丹 I) (纯度 $\geq 95\%$, 购于 Dr. Ehrenstorfer GmbH); 苏丹棕 (保证试剂, 北京通县育才精细化工厂); 试验用水均为超纯水; 高纯氮。

样品提取液: 丙酮 + 乙醇 = 90 + 10; 淋洗溶液: 丙酮 + 1 mol/L 氢氧化钾水溶液 = 10 + 90; 洗脱溶液: 甲基叔丁基醚 + 甲醇 + 甲酸 = 90 + 8 + 2。

标准储备液 (1.0 mg/ml): 准确称取 0.0100 g 苏丹橙、苏丹黄、苏丹 I ~ IV、溶剂蓝 35、对位红、苏丹黑 B、苏丹红 7B、苏丹红 G、苏丹棕标准品于 10.0 ml 棕色容量瓶中, 用适量氯仿溶解, 用甲醇定容至体积。

D5-苏丹 I、D6-苏丹 IV 内标储备液溶液 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$):准确称取 0.00100 g D5-苏丹 I、D6-苏丹 IV 标准品于 10.0 ml 棕色容量瓶中,用适量氯仿溶解,用甲醇定容至体积。

D5-苏丹 I、D6-苏丹 IV 内标使用溶液 (1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$):吸取 1.0 ml D5-苏丹 I、D6-苏丹 IV 内标储备液溶液与 100 ml 容量瓶中,用甲醇定容至体积。

标准系列:用甲醇配制苏丹橙、苏丹黄、苏丹 I ~ IV、溶剂蓝 35、对位红、苏丹黑 B、苏丹红 7B、苏丹红 G、苏丹棕混合标准系列,对位红的浓度为 0、0.50、1.00、2.00、5.00、10.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$,其他各组分的浓度为 0、0.25、0.50、1.00、2.50、5.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$,D5-苏丹 I、D6-苏丹 IV 浓度 0.50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

1.2 仪器条件

色谱柱 Acquity UPLC BEH C_{18} (1.7 μm , 2.1 mm \times 50 mm)。进样量 5 μl 。柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ 。流速 0.3 ml/min。流动相:A: 0.1% 甲酸水溶液;B: 乙腈。梯度洗脱情况见表 1。

表 1 UPLC 梯度表

时间 (min)	流速 (ml/min)	流动相 A	流动相 B
0	0.3	60	40
5.0	0.3	10	90
7.0	0.3	10	90
7.5	0.3	60	40
9.5	0.3	60	40

离子源 ESI (+)。扫描方式:多反应监测 MRM。毛细管电压 3.5 kV;源温度 110 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气温度 450 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气流量 700 L/h;12 种染料的质谱分析优化参数见表 2。

1.3 样品及基质加标工作曲线的制备

1.3.1 样品的制备 称取 1.0 g 样品于 50 ml 离心管中,加入内标使用溶液 50 μl ,加入 10.0 ml 样品提取溶液超声提取 30 min,10 000 r/min 离心 10 min。

取 2.0 ml 样品提取液与 10.0 ml 1.0 mol/L 氢氧化钾水溶液混合,过 MAX 固相萃取柱 (3 ml 甲醇、3 ml 水、3 ml 1.0 mol/L 氢氧化钾水溶液活化),用 2 ml 淋洗液、2 ml 水淋洗,5 ml 洗脱液洗脱,收集洗脱液,氮气吹干,用甲醇定容至 1.0 ml,过 0.22 μm 滤膜后超高效液相色谱-串联质谱测定。

1.3.2 基质加标工作曲线的制备 称取 1.0 g 空白样品基质于 50 ml 离心管中,称取 6 份,分别加入标准系列溶液 100 μl ,按 1.3.1 进行操作,制备基质加标标准工作曲线:对位红的浓度为 0、10.0、20.0、40.0、100.0、200.0 ng/ml,其他各组分的浓度为 0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 ng/ml,内标 D5-苏丹 I、D6-苏丹 IV 浓度 10.0 ng/ml。

表 2 12 种染料的质谱分析优化参数

化合物	锥孔电压 (V)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)
苏丹橙	30	214.9	92.5	18
			197.8	15
苏丹黄	38	225.9	76.5	20
			120.5	18
苏丹 I	25	249.0	92.4	25
			155.5	18
D5-苏丹 I	30	254.4	97.9	18
			155.9	18
苏丹红 G	30	279.1	155.9	15
			248.0	15
对位红	30	294.1	143.0	30
			277.0	18
苏丹棕	35	299.1	76.5	70
			126.5	25
苏丹 II	22	277.0	120.6	15
			155.6	14
溶剂蓝 35	38	351.0	250.9	20
			294.0	28
苏丹 III	42	353.1	76.5	20
			155.7	28
苏丹红 7B	50	380.2	168.6	28
			182.7	32
苏丹 IV	35	381.1	90.6	25
			155.7	25
D6-苏丹 IV	35	387.1	90.8	25
			161.9	30
苏丹黑 B	50	457.1	193.6	32
			210.8	25

1.4 定性及定量

1.4.1 定性 在 1.2 仪器条件下测定基质加标标准溶液及样品溶液。各检测目标化合物以保留时间和特征离子与定量离子所对应的 LC-MS/MS 色谱峰面积相对丰度进行定性。要求被测试样中目标化合物的保留时间与标准溶液中目标化合物的保留时间一致(一致的条件是偏差小于 20%),同时要求被测试样中目标化合物的特征离子与定量离子对应 LC-MS/MS 色谱峰面积比与标准溶液中目标化合物的面积比一致,相对丰度 > 50%、20% ~ 50%、10% ~ 20%、< 10% 时,容许偏差分别为 20%、25%、30% 和 50%。

1.4.2 定量 内标法定量:苏丹橙、苏丹黄、苏丹 I、苏丹红 G、对位红、苏丹棕以 D5-苏丹 I 为内标;苏丹 II、溶剂蓝 35、苏丹 III、苏丹红 7B、苏丹 IV、苏丹黑 B 以 D6-苏丹 IV 为内标。各目标化合物以标准溶液浓度对定量离子与内标离子峰面积比绘制标准曲线,内标法定量。

$$C = \frac{c \times v}{W} \times 5$$

式中:C—样品中目标化合物含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$);c—测定浓度 (ng/ml);v—定容体积 (ml);W—称样量 (g)。

2 结果

2.1 方法精密度、回收率、线性范围及检出限

在空白样品基质中加标,按照方法进行提取、净化和浓缩,得到基质加标工作曲线。12种目标化合

物线性范围、线性方程及线性相关系数(r)见表3。

本文分别进行了高、中、低3个浓度水平加标实验,每个水平5次的平行测定,得到方法的回收率、精密度见表4。

表3 12种目标化合物线性范围、线性方程及线性相关系数

化合物	线性范围(ng/ml)	线性方程	r
苏丹橙	5.0~400.0	$y = 0.0218x + 0.1094$	0.999
苏丹黄	5.0~400.0	$y = 0.2498x + 2.3499$	0.995
苏丹I	5.0~400.0	$y = 0.0157x + 0.159$	0.996
苏丹红G	5.0~400.0	$y = 0.1638x + 1.1378$	0.999
对位红	10.0~800.0	$y = 0.0410x + 0.0473$	0.999
苏丹棕	5.0~400.0	$y = 0.0518x + 0.156$	0.999
苏丹II	5.0~400.0	$y = 0.0805x + 0.0216$	0.998
溶剂蓝35	5.0~400.0	$y = 0.8734x - 4.2349$	0.997
苏丹III	5.0~400.0	$y = 0.1116x - 0.0261$	0.999
苏丹红7B	5.0~400.0	$y = 0.0280x + 0.0832$	0.999
苏丹IV	5.0~400.0	$y = 0.0239x + 0.0482$	0.999
苏丹黑B	5.0~400.0	$y = 0.1564x - 0.7979$	0.994

表4 方法的回收率、精密度($n=5$)

化合物	加标量($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均检出量($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率(%)	精密度(%)	定性检出限($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量检出限($\mu\text{g}/\text{kg}$)
苏丹橙	25.0	5.6	111.7	15.4	4.0	12.0
	100.0	18.5	92.4	17.4		
	500.0	88.2	88.2	13.2		
苏丹黄	25.0	5.1	102.8	16.3	0.3	0.8
	100.0	20.1	100.7	11.1		
	500.0	96.7	96.7	10.7		
苏丹I	25.0	4.5	89.6	17.4	0.7	2.0
	100.0	22.5	112.6	8.8		
	500.0	100.6	100.6	10.8		
苏丹红G	25.0	5.0	100.7	13.0	0.3	0.9
	100.0	20.7	103.4	5.5		
	500.0	92.5	92.5	7.3		
对位红	50.0	9.9	99.1	18.9	5.6	18.4
	200.0	46.6	116.4	13.8		
	1000.0	214.1	107.0	13.8		
苏丹棕	25.0	5.0	99.3	21.4	0.9	2.7
	100.0	28.4	141.9	19.3		
	500.0	130.9	130.9	21.9		
苏丹II	25.0	4.8	95.8	24.9	1.1	3.3
	100.0	20.3	101.3	16.3		
	500.0	88.4	88.4	17.7		
溶剂蓝35	25.0	5.3	106.2	19.4	0.6	1.7
	100.0	15.4	77.1	25.7		
	500.0	91.9	91.9	17.1		
苏丹III	25.0	5.0	100.3	22.5	0.7	2.0
	100.0	21.3	106.7	18.1		
	500.0	93.0	93.0	8.9		
苏丹红7B	25.0	5.2	103.9	22.5	8.3	25.0
	100.0	17.6	88.1	18.1		
	500.0	74.7	74.7	16.8		
苏丹IV	25.0	4.7	93.3	19.6	10.4	31.2
	100.0	20.4	101.8	6.8		
	500.0	94.7	94.7	9.8		
苏丹黑B	25.0	5.7	114.8	23.9	2.3	6.9
	100.0	17.4	86.9	19.4		
	500.0	91.0	91.0	26.4		

根据基质加标标准工作曲线最低浓度点的响应值进行推算,当信噪比 $S/N = 10$ 时对应的目标化合物含量为方法的定量检出限;当信噪比 $S/N = 3$ 时对应的目标化合物含量为方法的定性检出限。见表 4。

2.2 样品的测定

运用本方法对市售五香粉、辣椒面、咖喱粉等 30 种调味料中苏丹橙、苏丹 I ~ IV、溶剂蓝 35、苏丹红 7B、苏丹黄、对位红、苏丹黑 B、苏丹红 G、苏丹棕进行了测定,均未检出。

3 讨论

3.1 样品提取液的选择

苏丹橙、苏丹 I ~ IV、溶剂蓝 35、苏丹红 7B、苏丹黄、对位红、苏丹黑 B、苏丹红 G、苏丹棕是脂溶性染料,不溶于水,易溶于有机溶剂。常用于提取苏丹 I ~ IV、对位红的溶剂有甲醇、乙腈、正己烷和丙酮。由于苏丹 IV、苏丹红 7B、苏丹黑 B 等组分微溶于甲醇和乙腈,因此无法用甲醇或乙腈对样品中 12 种目标化合物同时提取。使用正己烷进行提取,虽然提取效率较高,但样品中的油脂也被同时提取,对固相萃取净化过程造成困难。

本研究就丙酮对 12 种目标化合物的提取进行了实验,结果表明丙酮能够将样品中 12 种目标化合物同时提取,但丙酮提取液经氢氧化钠水溶液稀释后,苏丹黑 B 析出,经固相萃取净化,苏丹黑 B 回收率不稳定。根据苏丹黑 B 溶于乙醇的性质,使用丙酮 + 乙醇(9 + 1)溶液提取,苏丹黑 B 回收率稳定,能够同时提取样品中 12 种目标化合物。

3.2 样品净化方法优化

测定食品中苏丹 I ~ IV、对位红采用硅胶基质的固相萃取柱进行除油净化,由于固相萃取小柱柱容量不够,往往净化效果不好^[3]。国标方法(GB/T 19681—2005)使用氧化铝层析柱除油净化,操作步骤繁琐。本文研究的 12 种目标化合物分子极性较弱,提取液经水稀释后可用反相机理的固相萃取柱进行净化。同时 12 种目标化合物中,除苏丹黄、溶剂蓝 35、苏丹红 7B 和苏丹黑 B 外,其他化合物分子结构中均带酚羟基,当溶液的 pH 值大于 11 时,酚羟基脱去氢离子带负电,可采用阴离子交换机理的固相萃取柱进行净化。本文根据以上化合物的性质,选择了同时具有反相和阴离子交换机理的 Oasis MAX 强阴离子固相萃取柱进行净化。

固相萃取柱上柱溶液中有有机溶剂与氢氧化钾水溶液的比例对目标化合物回收率影响较大。当上柱溶液中有有机相含量过高时,分子结构中不带酚羟基

的苏丹黄、溶剂蓝 35、苏丹红 7B 和苏丹黑 B 无法在固相萃取柱上保留,造成这些目标化合物的回收率偏低。当上柱溶液中氢氧化钾水溶液含量过高时,12 种目标化合物中极性较弱的苏丹黑 B、苏丹 IV、苏丹红 7B 等化合物析出,造成回收率偏低。本文通过实验当上柱溶液中有有机溶液与氢氧化钾水溶液的比例在 1:4 至 1:5 时回收率最好。因此,本方法选择了 2.0 ml 样品提取溶液与 10.0 ml 氢氧化钾水溶液混合作为上柱溶液,淋洗液为丙酮 + 1 mol/L 氢氧化钾水溶液(10 + 90)。

吸附于 MAX 固相萃取柱上的 12 种目标化合物,需要在酸性条件下使用弱极性有机溶剂洗脱。本文对多种洗脱体系的洗脱能力进行了实验,最终确定以甲基叔丁基醚 + 甲醇 + 甲酸(90 + 8 + 2)作为洗脱溶液。

3.3 超高效液相色谱条件的优化

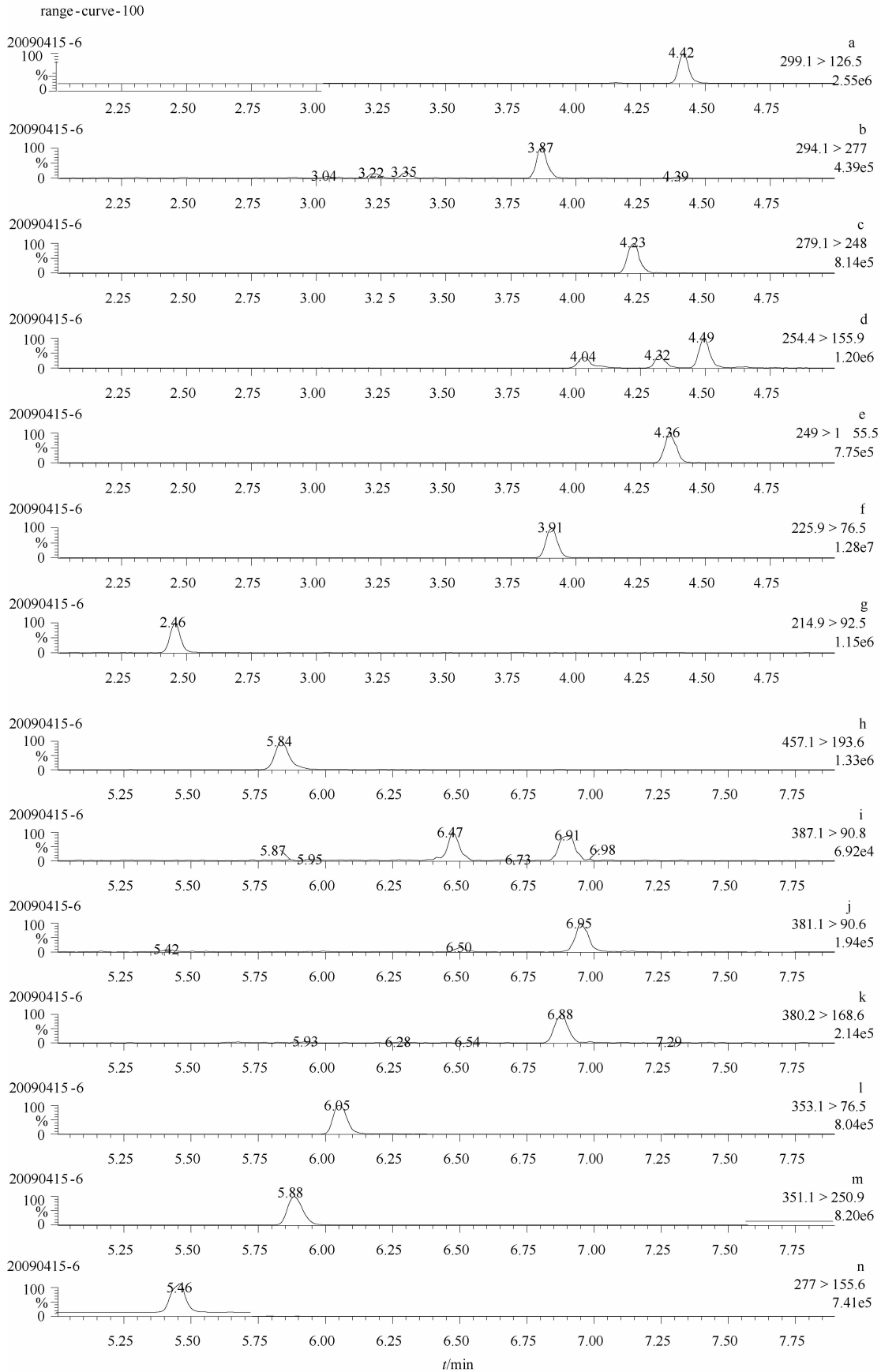
12 种目标化合物的极性较弱,在反相液相色谱柱上保留较强,同时为了增强阳离子在质谱上的响应,本文选择了 0.1% 甲酸水溶液 + 乙腈作为流动相体系。

本文对 BEH (1.7 μm , 50 mm 和 100 mm) 不同长度的超高效液相色谱柱进行了选择。使用 100 mm 色谱柱,全部目标化合物出峰需要 20 min 以上,并且出峰靠后的苏丹黑 B、苏丹 IV、苏丹红 7B 由于在色谱柱上保留过强,流出时流动相中水相比例较低,致使质谱检测响应偏低。使用 50 mm 色谱柱,12 种目标化合物能够在 7 min 内完全出峰且具有好的灵敏度,因此本文选择了 BEH 1.7 μm \times 50 mm 超高效液相色谱柱作为分析柱。

3.4 定量方法的选择

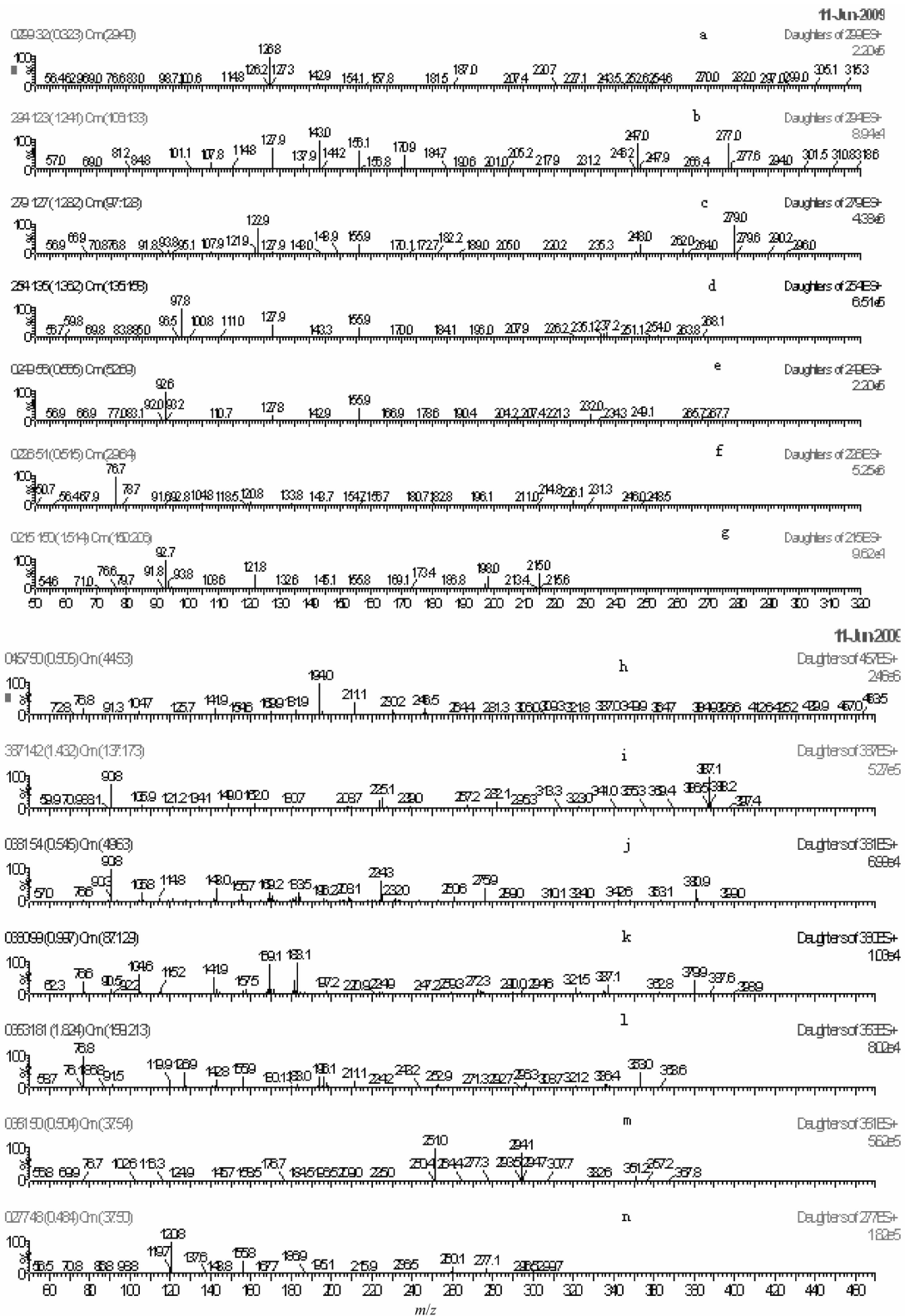
运用液相色谱-串联质谱技术进行样品测定时,由于样品中待测组分痕量、样品基质复杂、提取净化步骤繁琐,通常使用同位素稀释技术来校正操作过程中待测物质的损失。本文只购买到 D5-苏丹 I 和 D6-苏丹 IV 两种同位素内标,出峰靠前的苏丹橙、苏丹黄、苏丹 I、苏丹红 G、对位红、苏丹棕以 D5-苏丹 I 为内标,出峰靠后的苏丹 II、溶剂蓝 35、苏丹 III、苏丹红 7B、苏丹 IV、苏丹黑 B 以 D6-苏丹 IV 为内标。同时为了校正由于各目标化合物绝对回收的不同而造成的实验偏差,本文采用基质加标工作曲线内标法定量。

综上所述,该方法可有效地应用于调味品中苏丹橙、苏丹 I ~ IV、溶剂蓝 35、苏丹红 7B、苏丹黄、对位红、苏丹黑 B、苏丹红 G、苏丹棕等非法添加的工业染料的同时测定及确证,且灵敏、准确。



注：a, 苏丹棕；b, 对位红；c, 苏丹红 G；d, D5-苏丹 I；e, 苏丹 I；f, 苏丹黄；g, 苏丹橙；h, 苏丹黑 B；i, D6-苏丹 IV；j, 苏丹 IV；k, 苏丹红 7B；l, 苏丹 III；m, 溶剂蓝 35；n 苏丹 II。

图 1 12 种工业染料基质加标标准色图谱



注:a, 苏丹棕;b, 对位红;c, 苏丹红 G;d, D5-苏丹 I ; e, 苏丹 I ; f, 苏丹黄;g, 苏丹橙;h, 苏丹黑 I ;i, D6-苏丹 IV ;j, 苏丹 IV ;k, 苏丹红 7B;l, 苏丹 III ;m, 溶剂蓝 35 ;n 苏丹 II 。

图 2 12 种工业染料标准质谱图

参考文献

- [1] 国家质量监督检验检疫总局. GB/T 19681—2005 食品中苏丹红的检测方法—高效液相色谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [2] 温忆敏, 汪国权, 张慧敏, 等. 食品中苏丹红系列和对位红的测定方法研究[J]. 环境与职业医学, 2006, 23(1): 27-30.
- [3] MAZZOTTI F, DONNA L D, MAIUOLO L, et al. Assay of set of all sudan azodye (I , II , III , IV , and Para-Red) contaminating agents by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and isotope dilution methodology[J]. J Agric Food Chem, 2007, 56: 63-67.

- [4] CALBIANI F, CAERI M, ELVIRI L, et al. Accurate mass measurements for the confirmation of Sudan azo-dyes in hot chilli products by capillary liquid chromatography-electrospray tandem quadrupole orthogonal-acceleration time of flight mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1058: 127-135.
- [5] 喻凌寒, 杨运云, 闫世平, 等. LC-ESI/MS 分析食品中微量苏丹红 I ~ IV [J]. *分析测试学报*, 2005, 24(4): 28-31.
- [6] 苏小川, 黄梅, 甘宾宾, 等. 调味品辣椒粉和腌料中苏丹 I 染料的 GC-MS 分析 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2005, 15(9): 1073-1074.

论著

持久性化学改进剂铱用于电热原子吸收光谱法直接测定酒中痕量铅

高 舸¹ 张钦龙¹ 王 玲²

(1. 成都市疾病预防控制中心, 四川 成都 610041;

2. 四川大学华西公共卫生学院, 四川 成都 610041)

摘要:目的 使用持久性化学改进剂铱, 建立了酒中痕量铅的电热原子吸收光谱测定法。方法 用铱作为持久性化学改进剂处理石墨平台进行试验, 考察了灰化温度、原子化温度及各项分析性能指标。结果 样品加标回收率在 95.7% ~ 104.6% 之间, 相对标准偏差 $RSD(n=5)$ 在 0.3% ~ 2.8% 之间, 检出限为 0.4 $\mu\text{g/L}$, 特征质量为 30 pg。结论 该方法准确、灵敏、简便, 符合痕量元素分析要求。

关键词:持久性化学改进剂; 铱; 电热原子吸收光谱法; 铅; 酒

中图分类号: R123.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2010)04-0312-03

Use of Permanent Chemical Modifier Iridium for the Detection of Lead in Wine by Electro-Thermal Atomic Absorption Spectrometry

GAO Ge, ZHANG Qin-long, WANG Ling

(Chengdu Municipal Center for Disease Control and Prevention, Sichuan Chengdu 610041, China)

Abstract: Objective To establish a method for the detection of lead in wine by using iridium (Ir) as a permanent chemical modifier for electro-thermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). **Method** Using iridium (Ir) as a permanent chemical modifier coated on the integrated platform of transversely heated graphite atomizer (THGA). Pyrolysis temperature, atomization temperature and analysis performances were estimated. **Results** With the use of Ir, the $RSDs$ ($n=5$) were in the range of 0.3% - 2.8% and the recoveries were in the range of 95.7% - 104.6%. Detection limit for lead was 0.4 $\mu\text{g/L}$, the characteristic mass was 30 pg. **Conclusion** This method was accurate, simple and sensitive, and met the demands for analyzing trace elements.

Key words: Permanent Chemical Modifier; Iridium; ETAAS; Lead; Wine

酒是餐桌上常见的一类含酒精的饮料, 如果用铁桶储运酒或用锡壶盛酒就有可能造成铅污染。铅是一种蓄积性毒物, 长期积累可造成慢性中毒。我国国家标准对酒中铅有限量规定, 如蒸馏酒及配制酒 $\leq 1.0 \text{ mg/kg}$ ^[1]、发酵酒 $\leq 0.5 \text{ mg/kg}$ ^[2]。

目前国家标准食品卫生检验方法^[3]中提供的

铅的分析方法有原子吸收法、原子荧光法、双硫脲比色法、极谱法。其中电热原子吸收光谱法(ETAAS)由于其灵敏度高、检出限低, 成为痕量元素分析的主要技术之一, 目前已被广泛应用。

基体干扰为 ETAAS 分析中常见干扰, 一般需加入化学改进剂消除。1992 年 Shuttler^[4] 提出的持久性化学改进技术改变了几十年来化学改进剂需每次随样品同时加入原子化器的经典方法, 不仅降低了空白信号值, 改善了检出限和精密度, 而且还大大延长了石墨管的使用寿命。近年来国外有文献报道了单元素贵金属作持久性化学改进剂的 ETAAS

收稿日期: 2009-12-09

基金项目: 四川省卫生厅科学基金项目 (05147)

作者简介: 高 舸 女 主任技师 研究方向为卫生理化检验, 原子光谱分析 E-mail: ggkddy@sina.com