

# 气相色谱-质谱法测定粮油制品中的二甲基黄和二乙基黄含量

徐文泱\*, 廖燕芝, 孙桂芳, 宋 阳, 黄忠意, 郑利军

(湖南省食品质量监督检验研究院, 长沙 410017)

**摘要:** **目的** 建立气相色谱-质谱法测定粮油制品中二甲基黄和二乙基黄的含量的分析方法。**方法** 试样以1%醋酸的乙腈提取, 采用油基质萃取管净化和HP-5MS色谱柱分离, 质谱采用全扫描和选择离子模式测定, 以外标法定量。同时考察了不同的提取溶剂及净化方式对回收率的影响。**结果** 在添标水平为1、10和25 mg/kg时, 二甲基黄和二乙基黄的平均回收率为76.3%~89.3%, 相对标准偏差为3.0%~8.7%, 二甲基黄的方法检出限为0.002 mg/kg, 二乙基黄的检出限为0.001 mg/kg, 符合检测方法参数的确认要求。**结论** 该方法快速、准确, 适用于粮油制品中的二甲基黄和二乙基黄含量。

**关键词:** 气相色谱-质谱法; 二甲基黄; 二乙基黄; 粮油制品

## Determination of dimethyl yellow and diethyl yellow in cereal and oilseeds products by gas chromatography-mass spectrometry

XU Wen-Yang\*, LIAO Yan-Zhi, SUN Gui-Fang, SONG Yang, HUANG Zhong-Yi, ZHENG Li-Jun

(Hunan Research Institute of Food Quality Supervision and Inspection, Changsha 410017, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the determination of dimethyl yellow and methyl yellow in cereal and oilseeds products by gas chromatography-mass spectrometry. **Methods** The samples were extracted with acetonitrile containing 1% ethylic acid, purified by oil matrix extraction tube and separated by HP-5MS column. Full scan and selected ion mode were used in mass spectrometry with external standard method for quantitative analysis. Also the effects of ways of extraction and purification on the recovery were studied. **Results** The average recoveries spiked at levels of 1, 10 and 25 mg/kg were in the range of 76.3%~89.3% with relative standard deviation of 3.0%~8.7%, and the limits of detection of dimethyl yellow and methyl yellow were 0.002 mg/kg and 0.001 mg/kg, respectively, which met the requirement of technical parameters for analysis. **Conclusion** This method is rapid and accurate, which is suitable for the determination of dimethyl yellow and methyl yellow in cereal and oilseeds products.

**KEY WORDS:** gas chromatography-mass spectrometer; dimethyl yellow; methyl yellow; cereal and oilseeds products

基金项目: 湖南省食品药品安全科技项目(湘食药科 R201517)

**Fund:** Supported by the Science and Technology Project of Food and Drug Security in Hunan (R201517)

\*通讯作者: 徐文泱, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全研究。E-mail: xuwenyang0714@163.com

\*Corresponding author: XU Wen-Yang, Master, Engineer, Hunan Institute of Food Quality Supervision Inspection and Research, No. 238. Shi dai yang guang Road, Yuhua District, Changsha 410017, China. E-mail: xuwenyang0714@163.com

## 1 引言

2014年底台湾惊爆二甲基黄食品安全事件,不法商贩将非食用色素二甲基黄添加到豆制品中着色牟利<sup>[1]</sup>。二甲基黄及其同系物二乙基黄属于亲脂偶氮性染料,这种偶氮类物质多含有 R-N=N-R 键和其他芳香环或其衍生物的结构<sup>[2,3]</sup>,被人体食用后易在肠道还原或分解为易致癌的芳香胺类。在此次台湾食品安全事件发生之前,偶氮染料如苏丹红、甲苯胺红、对位红等早已被禁止添加到食品中。

除了豆制品外,粮食、油脂、油炸食品及饼干糕点都有可能为了追求色泽效果和降低成本而在生产过程中非法添加这2种偶氮染料。因此,如何在各类食品中有效、准确地检出这类非食用色素,是当前的食品安全热点之一。

目前偶氮性染料的检测方法应用较多的是液相色谱法<sup>[4]</sup>和液相色谱-串联质谱法<sup>[5-10]</sup>。二甲基黄和二乙基黄的检测报道较少<sup>[11]</sup>。范素芳等<sup>[12]</sup>以改进的 QuEChERS 方法结合液相色谱-串联质谱法测定腐竹和豆干中的二甲基黄和二乙基黄,方法回收率在73.5%~84.5%之间。林长虹等<sup>[13]</sup>建立了液相色谱法测定二甲基黄和二乙基黄的检测方法,发现二甲基黄的回收率略高于二乙基黄。林子豪等<sup>[14]</sup>以分散固相萃取法对豆干和调味品中的二甲基黄和二乙基黄同时进行检测,先采用高效液相色谱法筛查后,再以超高效液相色谱-串联质谱法进行进一步确证。但这些方法研究的食品基质范围较窄,不能完全满足当前食品安全监管的需要。而气相色谱-质谱法主要用于对豆制品中二甲基黄的检测<sup>[15-17]</sup>,尚未见气相色谱-质谱法对二甲基黄及二乙基黄进行同时检测的报道,本研究拟建立气相色谱-质谱联用法对大米、豆腐、油条、饼干以及油脂中的二甲基黄和二乙基黄进行检测,在实现化合物有效分离的基础上提高检测效率。

## 2 材料与方 法

### 2.1 材料与试剂

二甲基黄(纯度 98.5%,德国 Dr.Ehrenstorfer 公司);二乙基黄(98.5%,德国 Dr.Ehrenstorfer 公司);乙腈(色谱纯,德国 Merck 公司);氯化钠(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);实验用水超纯水。

### 2.2 仪器与设备

Agilent 7890A 5975C-MSD 气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司);Centrifuge 5804R 离心机(德国 Eppendorf 公司);KQ-500B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);RE-2000A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);BS224s 分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);CM-1000 涡混振荡仪(东京理化器械株式会社);有油基质玻璃萃取管(上海安谱科学仪器有限公司)。

## 2.3 实验方法

### 2.3.1 仪器条件

#### (1)色谱条件

色谱柱:HP-5 MS,柱温:40℃,1 min,30℃/min 升至180℃(持3 min),5℃/min 升至250℃,保持6 min;进样口:220℃;分流方式:不分流。

#### (2)质谱条件

离子源:电子轰击离子源;电子轰击能量:70 eV,离子源温度:230℃;四极杆温度:150℃;扫描模式:全扫描和选择离子模式(selected ion mode, SIM);溶剂延迟时间:5 min;二甲基黄选择离子:  $m/z$ : 77、105、120 和 225,二乙基黄选择离子  $m/z$ : 253、238、148 和 133。

### 2.3.2 样品前处理

大米、豆腐:称取4 g 均质样品,视含水量酌情加入少量去离子水后静置10 min,加入2~3 g NaCl 后以10 mL 含1%醋酸的乙腈超声提取20 min。振荡10 min 后以2500 r/min 离心5 min。取上清液,重复一次提取过程后合并上清液于45℃下浓缩至近干,并以1 mL 乙腈定容后上机。

植物油:称取0.5 g 油脂,将其放入有油基质玻璃萃取管中,加入2 mL 1%醋酸的乙腈涡混振荡2 min 后离心,将上清液上机。

油条、饼干:称取4 g 均质样品,视含水量酌情加入少量去离子水后静置10 min,加入少量 NaCl 后以10 mL 1%醋酸的乙腈超声提取20 min。振荡10 min 后以2500 r/min 离心5 min。提取上清液,重复一次提取过程后收集上清液于45℃下浓缩至近干,以乙腈定容至2 mL,转移至有油基质玻璃萃取管中,涡混2 min 后离心取上清液上机。

### 2.3.3 标准溶液的配制

准确称取二甲基黄、二乙基黄各0.1 g(精确至0.0001 g),以乙腈定容至10 mL。此为标准储备液,浓度为10 mg/mL。用时按需要以乙腈进行稀释,配制标准工作溶液。

## 3 结果与分析

### 3.1 样品提取溶剂的选择

在提取过程中,提取溶剂的选择对二甲基黄、二乙基黄的回收率有很大影响。根据二甲基黄的油性,分别选择丙酮、乙酸乙酯和乙腈为提取溶剂,通过比较大米及油条中二甲基黄及二乙基黄加标量为5 mg/kg 时的回收率选择合适的提取溶剂。不同溶剂对回收率的影响见表1,由表1可知,经1%醋酸的乙腈提取后其回收率最高。这可能是因为,在样品含水的情况下,通常不使用与水混溶的提取溶剂,否则提取液中会含有大量水分从而影响浓缩效果。乙酸乙酯和丙酮的提取效率较好,但其易提取样品中的大分子物质,提取出的杂质较多,且丙酮不易与水分离,不易用盐析出其中的水分。乙酸乙酯在提取油性样品时,将

一些非极性亲脂性干扰物质同时提取出来, 杂质较多。乙腈不溶于油, 能沉淀蛋白质, 且提取的脂肪少, 与样品混合匀浆后, 虽然提取液中可能有水分, 但较易用盐析出。而加入 1%醋酸的乙腈其回收率高且稳定, 这可能是由于二甲基黄、二乙基黄是酸性化合物, 低 pH 的环境可使得它不会发生离解和溶剂化作用, 保持其稳定性。故本实验选择 1%醋酸的乙腈作为提取溶剂。

表 1 不同溶剂对回收率的影响( $n=3$ )  
Table 1 Extraction efficiency of different solvents ( $n=3$ )

提取溶剂	平均回收率(%)		RSD(%)	
	大米	油条	大米	油条
乙酸乙酯	70.2	69.4	6.5	6.2
丙酮	61.5	64.2	7.3	7.4
乙腈	78.3	72.5	6.4	8.5
1%醋酸的乙酸乙酯	82.0	81.6	5.8	7.9

### 3.2 净化方法的选择

二甲基黄和二乙基黄为阴离子酸性化合物, 宜用反相 SPE 小柱对其进行萃取。当样品为大米及豆腐时其基质简单, 由于在前处理过程中每多增一步骤即有可能伴随目标物损失, 故应在保证回收率的前提下尽量简化净化步骤。实验中加入少量去离子水后可活化分子状态, 便于溶剂与微细试样反复接触萃取。加入 NaCl 促进两相分配, 有效降低待测物对水相的亲合力。对于含油量较多的饼干、油条及油脂, 净化的重点集中在油脂的去除。

本研究分别对低温冷冻法、PSA(N-丙基乙二胺)基质分散固相萃取以及氨基小柱固相萃取 3 种净化模式进行考察。结果表明, 氨基小柱固相萃取的净化效果略差, 图谱上杂峰较多, 且回收率仅为低温冷冻法和基质分散固相萃取法的 2/3。低温冷冻法和 PSA 基质分散固相萃取的净化效

果相似, 回收率均可达 75%以上。但低温冷冻法耗时长, 不利于风险监测时效性的提高。因此净化方式选择 PSA 基质分散固相萃取, 选用上海安谱科学仪器有限公司的有油基质玻璃萃取管, 除油效果较好。

### 3.3 仪器条件的选择

根据文献<sup>[17]</sup>, 采用 HP-5MS 作为分离色谱柱。由于二甲基黄出峰较晚, 优化仪器条件时将前面的升温速率提高, 并减缓第二段升温速率。进行样品测定时, 如满足以下条件则判断样品为阳性结果: (1)色谱峰的保留时间与标准样品色谱峰的保留时间一致, 且偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内; (2)所选择的监测离子均出现; (3)离子丰度比符合表 2 要求。标准物质及加标样品的总离子流图(total ion chromatograms, TIC)及扫描离子图如图 1~6 所示。

### 3.4 线性范围和检出限

以 2 种色素的质量浓度为横坐标, 色谱峰面积为纵坐标绘制标准工作曲线, 二甲基黄的线性方程为  $Y=1.257 \times 10^5 X - 5.579 \times 10^4$ , 二乙基黄的线性方程为  $Y=1.444 \times 10^5 X - 5.651 \times 10^4$ 。结果表明, 二甲基黄和二乙基黄在 0.125~25  $\mu\text{g/mL}$  范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.99。以 3 倍信噪比计算检出限, 二甲基黄的检出限为 0.002 mg/kg, 二乙基黄的检出限为 0.001 mg/kg。

### 3.5 回收率和精密度

由于二甲基黄及二乙基黄浓度低于 1  $\mu\text{g/mL}$  时即接近无色, 实验中称样量为 2~5 g, 故将加标浓度设为 25、10 和 1 mg/kg, 使二甲基黄和二乙基黄在样品中的浓度大于 1  $\mu\text{g/mL}$ 。由于二甲基黄与二乙基黄是脂溶性物质, 采用乙醇为油性模拟介质。将二甲基黄与二乙基黄分别溶于乙醇后, 将已知浓度的溶液浸泡于大米和豆腐制品, 超声提取并过夜。油脂类则直接称量一定质量的标准物质超声溶于油脂。由表 3 可见, 各组分测定结果的相对标准偏差为 3.0%~8.7%, 平均空白加标回收率为 76.3%~89.3%, 满足 GB/T 27404-2008<sup>[18]</sup>的相关要求。

表 2 选择离子和相对离子丰度  
Table 2 Selective ion and relative ion abundance

二甲基黄选择离子( $m/z$ )	77	106	120(定量离子)	206
相对丰度(%)	70	34	100	69
允许的相对误差(%)	$\pm 10$	$\pm 15$	$\pm 10$	$\pm 10$
二乙基黄选择离子( $m/z$ )	253(定量离子)	238	148	133
相对丰度(%)	100	68	82	42
允许的相对误差(%)	$\pm 10$	$\pm 15$	$\pm 10$	$\pm 15$

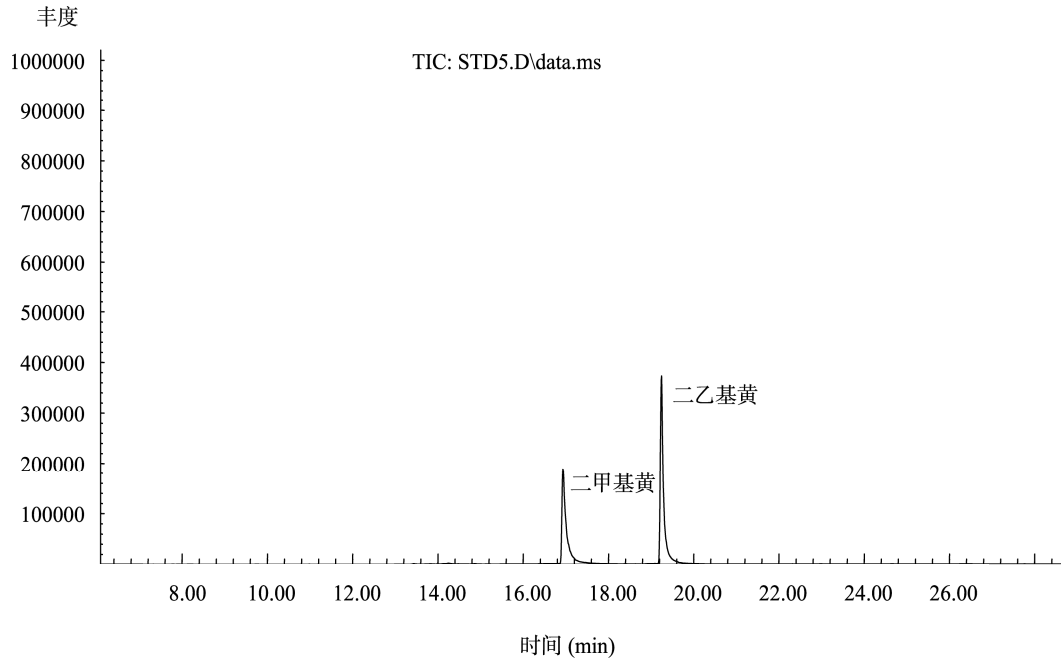


图 1 二甲基黄和二乙基黄的特质离子图  
Fig. 1 Total ionic chromatogram of dimethyl yellow and methyl yellow

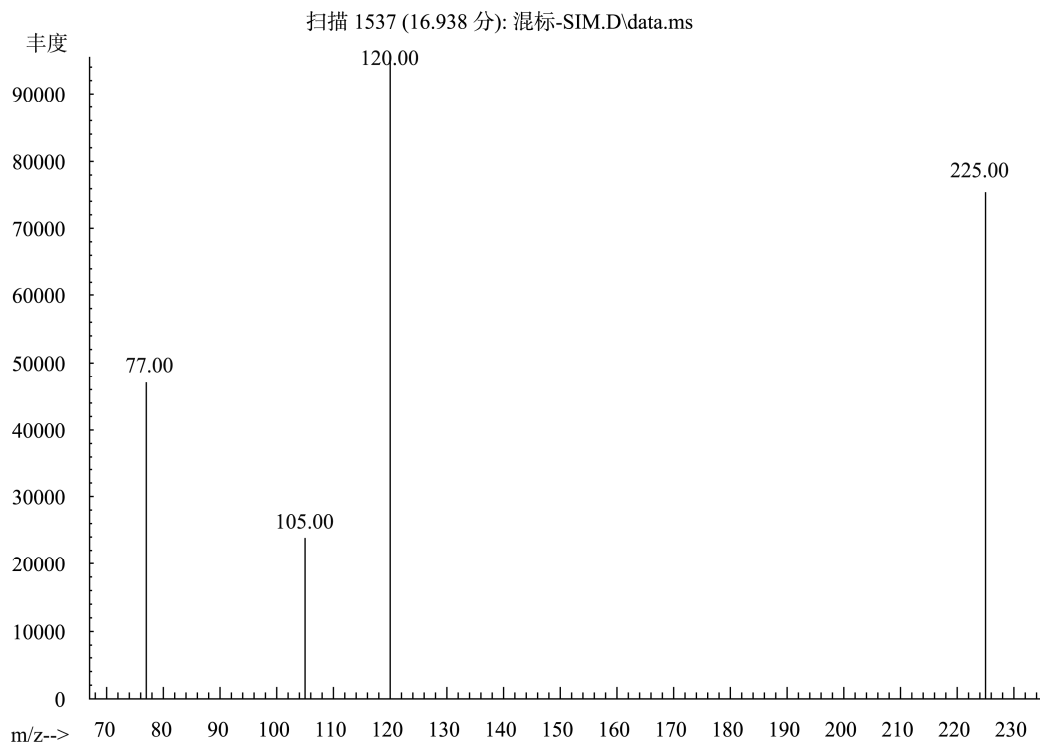


图 2 标准物质二甲基黄的特质离子图  
Fig.2 SIM chromatogram of dimethyl yellow

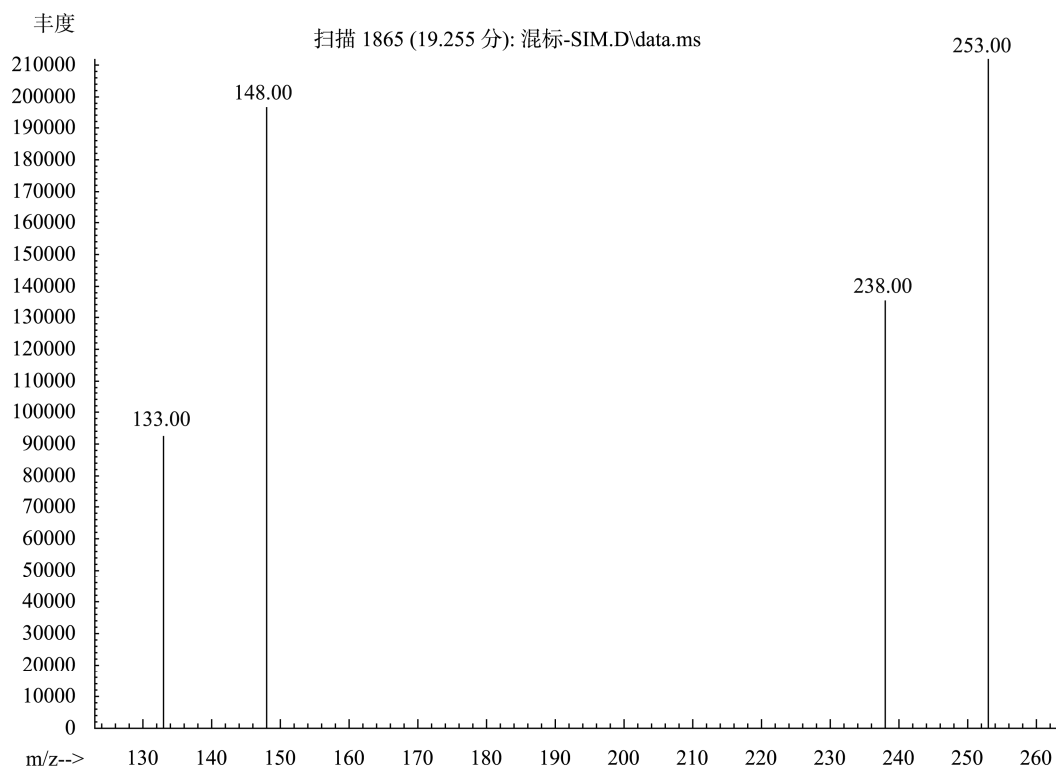


图 3 标准物质二乙基黄的 SIM 图  
Fig. 3 SIM chromatogram of methyl yellow

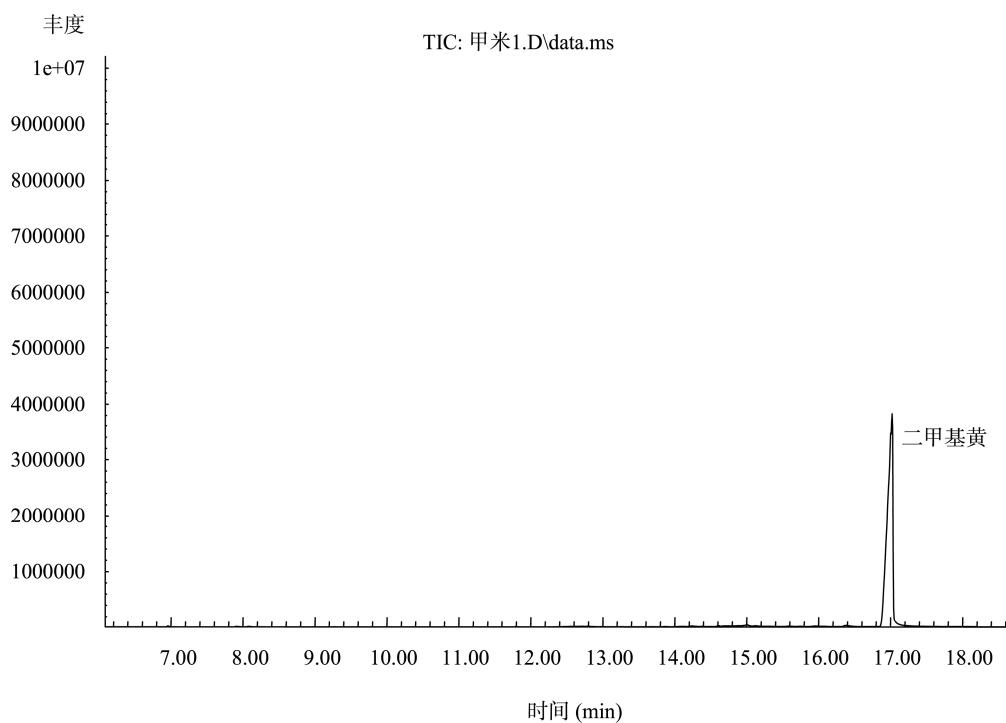


图 4 加入二甲基黄的大米样品 TIC 图  
Fig. 4 Total ionic chromatogram of rice sample spiked dimethyl yellow

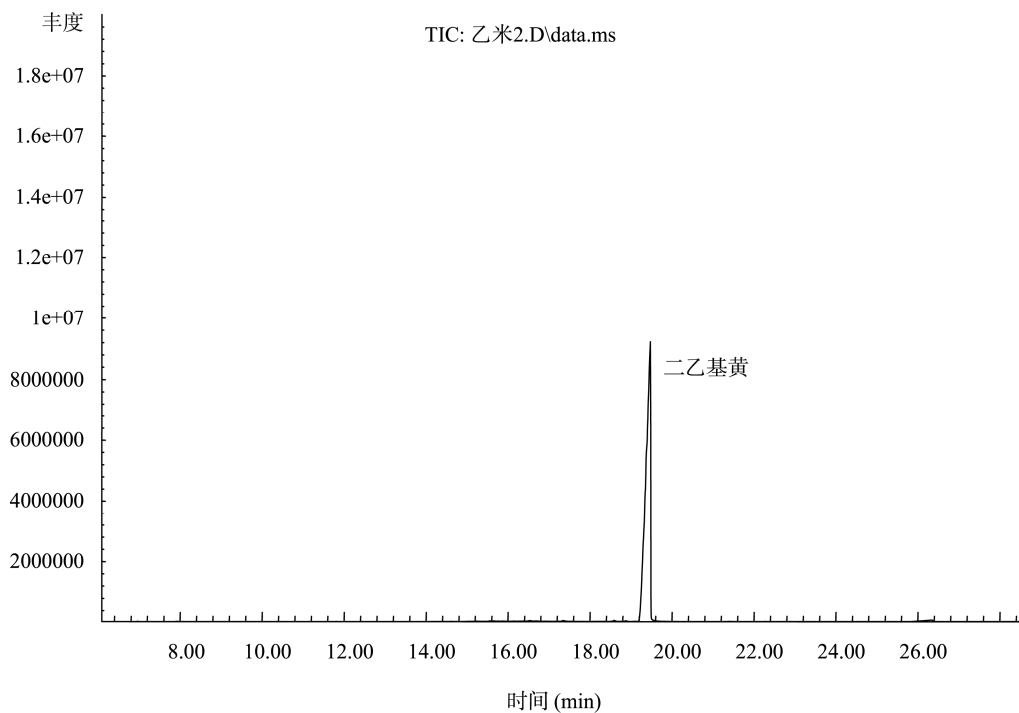


图 5 加入二乙基黄的大米样品 TIC 图

Fig. 5 Total ionic chromatogram of rice sample spiked methyl yellow

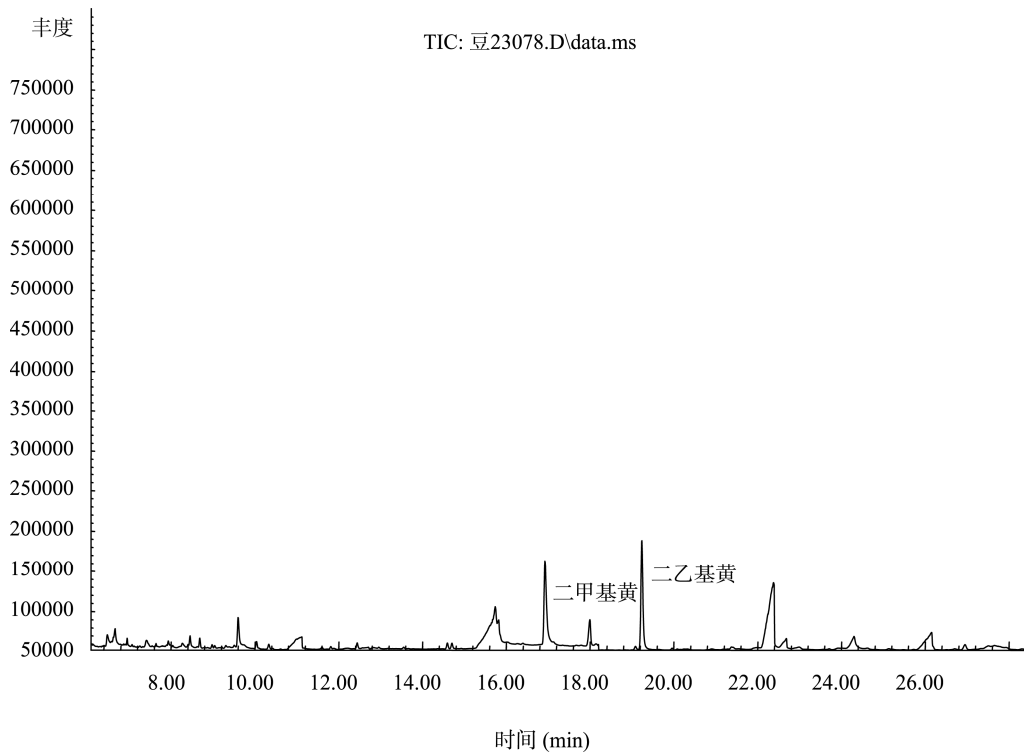


图 6 加入二甲基黄和二乙基黄的豆腐样品

Fig. 6 Total ionic chromatogram of bean products spiked dimethyl yellow and diethyl yellow

表 3 加标回收率及精密度( $n=6$ )  
Table 3 Recoveries of different spiked levels and Relative standard deviation ( $n=6$ )

样品	加入量 (mg/kg)	二甲基黄		二乙基黄	
		平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
大米	1	82.1	8.4	84.2	5.6
	10	87.6	7.7	88.2	7.7
	25	87.3	8.2	80.9	5.2
豆腐	1	81.2	7.4	83.1	5.5
	10	86.0	7.2	82.0	8.1
	25	89.3	6.9	88.0	6.9
油条	1	82.1	7.4	81.4	8.3
	10	81.4	3.0	84.2	4.8
	25	85.2	5.2	79.8	6.4
饼干	1	76.3	5.2	77.4	6.3
	10	80.9	7.2	81.7	5.2
	25	80.1	6.1	79.2	8.7
油脂	1	81.8	5.6	84.2	6.6
	10	88.4	7.7	87.9	6.2
	25	87.2	6.4	80.6	4.8

## 4 结 论

本研究通过对前处理方式及色谱条件的优化,建立了粮油制品中二甲基黄、二乙基黄的气相色谱-质谱分析方法,并考察了检出限、精密度、回收率等方法学参数。研究结果表明,该方法的两种前处理方式分别适用于含油食品及粮食制品,加标水平为 1、10 和 25 mg/kg 时的平均回收率为 76.3%~89.3%,相对标准偏差为 3.0%~8.7%,二甲基黄的检出限为 0.002 mg/kg,二乙基黄的检出限为 0.001 mg/kg,精密度和回收率均符合 GB/T 27404 实验室质量控制规范中食品理化检验的要求。

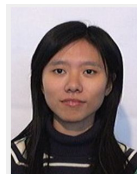
## 参考文献

- [1] 四款台湾进口食品怀疑含禁用染色料二甲基黄[EB/OL]. [http://www.cfs.gov.hk/sc\\_chi/press/20150225\\_0177.html](http://www.cfs.gov.hk/sc_chi/press/20150225_0177.html). 2015-02-20. Dimethyl yellow, a kind of dye material forbidden in food industry, was suspected to be put in the four bands of Taiwan food for export [EB/OL]. [http://www.cfs.gov.hk/sc\\_chi/press/20150225\\_0177.html](http://www.cfs.gov.hk/sc_chi/press/20150225_0177.html). 2015-02-20.
- [2] 钱微君, 阮勇, 张卫娣, 等. GC/MS 联用快速检测纺织品中禁用偶氮染料[J]. 上海纺织科技, 2010, 38(5): 55-57. Qian WJ, Ruan Y, Zhang WD, et al. Rapid determination of banned Azo dyes in textiles with GC/MS [J]. Shanghai Textile Sci Technol, 2010, 38(5): 55-57.
- [3] 吴节莉, 孔祥泰. 禁用偶氮染料检测方法探讨[J]. 实验室研究与探索. 2010, 29(2): 47-49. Wu JL, Kong XT. Discussion on analysis methods of banned azo dyestuffs [J]. Res Explor Lab, 2010, 29(2): 47-49.
- [4] 丁安帮, 施祖灏, 陆利霞, 等. 高效液相色谱法测定豆干中的二甲基黄[J]. 粮油加工(电子版), 2015, (11): 53-55. Ding AB, Shi ZH, Lu LX. The determination of dimethyl yellow in bean products by HPLC method [J]. Cereal Oil Process (Elec Vers), 2015, (11): 53-55.
- [5] Ferrer AC, Unterluggauer H, Fischer RJ, et al. Development and validation of a LC-MS/MS method for the simultaneous determination of aflatoxins, dyes and pesticides in spices [J]. Anal Bioanal Chem, 2010, 397(1): 93-107.
- [6] Zhu H, Huang C, Chen Y, et al. Quantitative determination of four azo dyes in rat plasma with solid-phase extraction and UFLC-MS-MS analysis: application to a pharmacokinetic study [J]. J Chromatogr Sci, 2016.
- [7] Walker MJ, Colwell P, Biesenbruch S, et al. Forensically robust determination of the illegal dye dimethyl yellow in a refractory curcuma oleoresin-surfactant matrix-a case study [J]. Food Anal Methods, 2013, 6(2): 395-405.
- [8] 李娟, 丁晓明, 刘宏民, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定豆制品中 6 种违禁偶氮染料[J]. 质谱学报, 2015, 36(3): 229-236. Li J, Ding XM, Liu HM, et al. Simultaneous determination of six banned azo-dyes in soybean products by HPLC-MS/MS [J]. J Chin Mass Spectr Soc, 2015, 36(3): 229-236.
- [9] 严恒, 余婷婷, 蒋丽萍, 等. 液相色谱-串联质谱法检测豆制品中的二乙基黄[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(4): 1459-1463. Yan H, Yu TT, Jiang LP, et al. Determination of diethyl yellow in bean products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2015, (4): 1459-1463.
- [10] 赵珊, 张晶, 丁晓静, 等. 凝胶净化/超高效液相色谱电喷雾质谱法检测调味油中 11 种禁用偶氮染料及罗丹明 B [J]. 分析测试学报, 2012, (4): 448-452. Zhao S, Zhang J, Ding XJ. Determination of 11 azo-dyes and rhodamine b in seasoning oil by gel permeation chromatography/ultra performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2012, (4): 448-452.
- [11] 张协光, 曾泳艇, 黎永乐. 固相萃取-超高效液相串联质谱同时测定食品中苏丹橙 G、二甲基黄、苏丹黑 B [J]. 广东化工, 2012, 1(39): 109-110. Zhang XG, Zeng YT, Li YL. Determination of sudan orange G, dimethyl yellow, sudan black B in food by SPE-UPLC-MS/MS method [J]. Guangdong Chem Ind, 2012, 1(39): 109-110.
- [12] 范素芳, 李强, 马俊美, 等. 改进的 QuEChERS 方法结合液相色谱-串联质谱法测定腐竹和豆干中的二甲基黄和二乙基黄[J]. 色谱, 2015, (6): 657-661. Fan SF, Li Q, Ma JM, et al. Determination of dimethyl yellow and diethyl yellow in yuba and dried beancurd by modified QuEChERS method and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2015, (6): 657-661.
- [13] 林长虹, 董超先, 陈杰锋, 等. 豆制品中二甲基黄和二乙基黄的检测方法研究[J]. 中国食品添加剂, 2016, (6): 174-179. Ling CH, Dong CX, Chen JF, et al. Study on determination of dimethyl yellow and diethyl yellow in bean products [J]. China Food Addit, 2016,

- (6): 174–179.
- [14] 林子豪, 周庆琼, 曾羲, 等. 分散固相萃取-HPLC 及 HPLC-MS/MS 法测定豆干和调味品中的二甲基黄和二乙基黄[J]. 食品科学, 2016, 37(8): 217–221.  
Ling ZH, Zhou QQ, Zeng X. Determination of dimethyl yellow and diethyl yellow in dried beancurd and condiment using dispersive solid-phase extraction and hplc with diode array detector and UPLC-MS/MS [J]. Food Sci, 2016, 37(8): 217–221.
- [15] 李桂生, 陈桂琴, 杨戈, 等. 凝胶色谱净化/气质联用法测定即食豆制品中二甲基黄[J]. 分析试验室, 2015, (12): 1399–1402.  
Li GS, Chen GQ, Yang G, *et al.* The determination of dimethyl yellow in bean products by GC-MS with GPC purification [J]. Chin J Anal Lab, 2015, (12): 1399–1402.
- [16] 夏栋, 丁安帮, 施祖灏, 等. 气相色谱串联质谱法测定豆干中的二甲基黄[J]. 粮油加工(电子版), 2015, (08): 56–58.  
Xia D, Ding AB, Shi ZH. Determination of dimethyl yellow in dried tofu by gas chromatography tandem mass spectrometry method [J]. Cereal Oil Process (Elect Vers), 2015, (08): 56–58.
- [17] 徐文泱, 廖燕芝, 孙桂芳, 等. 气相色谱-质谱法检测豆制品中的二甲基黄[J]. 化学分析计量, 2016, 25(3): 30–33.  
Xu WY, Liao YZ, Sun GF. Determination of dimethyl yellow in bean products by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chem Anal Meter, 2016, 25(3): 30–33.
- [18] GB/T 27204-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测[S].  
GB/T 27204-2008 Criterion on quality control of laboratory chemical testing of food [S].

(责任编辑: 姚 菲)

### 作者简介



徐文泱, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: xuwenyang0714@163.com