

QuEChERS 前处理高效液相色谱-串联质谱法 同时测定食品中 6 种工业染料

张 燕*, 舒 平, 张妮妮, 陆 敏, 王 坤, 杨绍育, 杨朝义
(大理州质量技术监督综合检测中心, 大理 671000)

摘 要: **目的** 建立食品中 6 种工业染料的 QuEChER 前处理高效液相色谱-串联质谱同时测定方法。**方法** 均匀样品用水分散溶解后, 加乙腈提取, 经改进的 QuEChERS 方法净化, 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 用 0.1%甲酸-5 mmol/L 乙酸铵溶液和乙腈为流动相梯度洗脱, C_{18} 柱分离, 分别在电喷雾正、负离子模式下以多反应监测方式检测, 外标法定量。**结果** 结果表明, 6 种工业染料在 0.5~40 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内与其呈良好的线性关系($r>0.999$), 检出限为 1.0~2.0 $\mu\text{g/kg}$, 在添加水平为 1.0、5.0、20 $\mu\text{g/kg}$ 时, 平均回收率为 76.1%~114.8%, 相对标准偏差(RSD)为 2.0%~9.7%($n=6$)。**结论** 该方法分析速度快, 灵敏可靠, 重复性好, 适用于调味品、豆制品、卤肉制品、红糖等食品中 6 种工业染料的测定。

关键词: QuEChERS; 调味品; 豆制品; 肉制品; 工业染料; 高效液相色谱-串联质谱法

Simultaneous determination of 6 kinds of industrial dyes in food using QuEChERS sample preparation and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHANG Yan*, SHU Ping, ZHANG Ni-Ni, LU Min, WANG Kun, YANG Shao-Yu, YANG Chao-Yi
(Dali State Comprehensive Technical Inspection Center, Dali 671000, China)

ABSTRACT: Objective To develop a new method for simultaneous determination of 6 kinds of industrial dyes in food by QuChERS sample preparation and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods** The homogenized samples were dispersed by water, then the analyte were extracted with acetonitrile, purified by improved QuEChERS method, and filtered through 0.22 μm millipore membrane. The filtrate was detected by HPLC-MS/MS, identified by electrospray ionization (ESI) in positive and negative mode under multiple reaction monitoring (MRM) mode, and quantified with external standard method. The sample extracts were separated on a C_{18} column by gradient elution with acetonitrile-containing 0.1% formic acid and 5 mmol/L ammonium acetate water solution as mobile phase. **Results** The method showed good linear relationships in the range of 0.5~40 $\mu\text{g/L}$ of 6 kinds of industrial dyes, and the correlation coefficients were more than 0.999. The limits of quantitation (LOQ) for samples were between 1.0 and 2.0 $\mu\text{g/kg}$. The average recovery rates were 76.1~114.8% at spiked levels of 1.0, 5.0, and 20 $\mu\text{g/kg}$. The relative standard deviations (RSD, $n=6$) were 2.0%~9.7%. **Conclusion** The method is fast, sensitive, reliable and reproducible for the determination of 6 kinds of industrial dyes in condiments, bean products, pot-stewed meat products, brown sugar and so on.

*通讯作者: 张燕, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: shiyan1230@163.com

*Corresponding author: ZHANG Yan, Engineer, Dali State Comprehensive Technical Inspection Center, Economic Development Zone 1 Box, Dali 67100, China. E-mail: shiyan1230@163.com

KEY WORDS: QuEChERS; condiment; bean products; pot-stewed meat products; industrial dyes; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

1 引言

工业染料种类繁多,世界范围内工业染料品种多达 5000 多种。主要用于纺织品、皮毛制品、木制品以及陶瓷制品等的染色。因非法添加到食品中被广为熟悉的工业染料包括孔雀石绿、金黄粉、玫瑰红、苏丹红、酸性金黄、铅铬绿、碱性橙(2, 21, 22)、罗丹明 B、酸性橙 II、碱性嫩黄 O 等。另外,工业合成染料,具有高毒、致畸、致突变等毒性作用^[1]。当前仍存在小作坊将其用于食品的加工。近年来,在食品中违法使用工业合成染料的事件频发,如在卤制鸡腿、鸡翅的过程中添加酸性橙,在腊肠制作中加入罗丹明 B、在辣椒粉和辣椒酱中添加苏丹红,给人民的健康和社会稳定造成了极大的伤害。2011 年 4 月 21 日,国务院办公厅下发了《关于严厉打击食品非法添加行为 切实加强食品添加剂监管的通知》,卫生部和农业部等根据风险监测和监督检查中发现的问题,公布了《151 中食品和饲料中非法添加物名单》中的 47 种可能在食品中违法添加的非食用物质,包括碱性橙 2、碱性嫩黄 O、碱性橙 21、碱性橙 22、罗丹明 B 和酸性橙 II 6 种违禁用于食品中的工业染料^[2]。

目前检测工业染料的标准有国家标准检测方法-高效液相色谱法^[3]和地方标准检测方法-液相色谱串联质谱法^[4-9]。但是,针对这 6 种非法使用的工业染料,无相同检测标准方法。另外,文献报道的检测方法主要有液相色谱法^[9-11]、液相色谱-串联质谱法^[12-20]、高效液相色谱-线性离子阱质谱法^[21]、液相色谱-飞行时间质谱法^[22,23]等。这些检测方法的前处理都比较复杂,费时和费力,消耗大量的有机试剂,对人体也是一种伤害。对于兽药、农药、激素类残留采用 QuEChERS 前处理方法^[24-26]报道的文献较多。无文献报道针对工业染料 QuEChERS 前处理方法。本研究利用 QuEChERS 前处理高效液相色谱-串联质谱法同时测定食品中 6 种工业染料,为食品中常规工业染料的日常监测提供参考。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

辣椒粉、辣椒酱、腐乳、豆腐皮、豆干、卤肉制品和红糖购于当地市场。

碱性橙 2、碱性嫩黄 O、碱性橙 21、碱性橙 22、罗丹明 B 和酸性橙 II 标准品(纯度均 $\geq 98.5\%$,德国 Dr.Ehrenstorfer 公司);甲醇、乙腈(色谱纯,德国 Merck 公

司);甲酸、乙酸铵(纯度 $\geq 98\%$,比利时 Acros Organics 公司);乙二胺-N-丙基硅烷(PSA)、石墨化炭黑(GCB)、 C_{18} 和有机相针式过滤器 0.22 μm (上海安谱科学仪器有限公司);所用其他试剂均为分析纯;实验室用水为超纯水。

UFLC(LC-20AD)高效液相色谱仪(日本岛津公司);API3200 串联质谱仪(美国 AB 公司);DIKMA Inspire C_{18} (3 μm , 50 mm $\times$ 2.1 mm,北京迪科马科技有限公司);AL204 和 AB135-S 分析天平(0.1 mg 和 0.01 mg,瑞士梅特勒公司);10~1000 μL 移液枪(德国 Eppendorf 公司);TG16-WS 台式高速离心机(湘南湘仪实验室仪器开发有限公司);M37610-33CN 小型旋涡混匀器(美国热电公司)。

2.2 试验方法

2.2.1 样品前处理

取有代表性的样品 200 g,粉碎均匀,准确称取 5.0 g 试样(精确至 0.001 g)于 50 mL 具塞螺纹离心管中,加入 10 mL 纯水分散混匀,再准确加入 10 mL 乙腈和 2 g 氯化钠,涡旋混合 1 min,在 6000 r/min 下高速离心 5 min,静置取其上层乙腈溶液 2 mL 于装入 0.2 g PSA 和 0.2 g C_{18} 固相分散剂的小试管中,涡旋震荡净化 1 min,静置分层,澄清液过 0.22 μm 有机滤膜,上液质联用仪测定。

2.2.2 标准溶液的配制和曲线绘制

分别准确称取 0.00100 g 碱性橙 2、碱性嫩黄 O、碱性橙 21、碱性橙 22、罗丹明 B 和酸性橙 II 标准物质于 10 mL 容量瓶,用乙腈溶解定容配制成 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准物质储备液,避光保存于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。碱性橙 2、碱性嫩黄 O、碱性橙 21、碱性橙 22、罗丹明 B 再逐级稀释配制成浓度为 0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、20.0 $\mu\text{g/L}$ 标准使用液,酸性橙 II 再逐级稀释成浓度为 1.0、2.5、5.0、10.0、20.0、40.0 $\mu\text{g/L}$ 绘制标准曲线。

2.2.3 色谱-质谱分析条件

(1) 液相色谱条件

高效液相色谱条件:流速:0.3 mL/min;柱温:35 $^{\circ}\text{C}$;进样量:5 μL ;流动相:0.1%甲酸-5 mmol/L 乙酸铵溶液+乙腈,洗脱梯度见表 1。

(2) 质谱条件

质谱离子源为电喷雾正负离子源(ESI);多反应监测(MRM)模式;电喷雾电压(IS):5500(-4500)V;雾化气(GS1):50.0 psi;气帘气压力(CUR):30 psi;碰撞气体(CAD):10 psi;辅助气流速(GS2):55 psi;离子源温度(TEM):500 $^{\circ}\text{C}$;驻留时间 50 ms;定量离子对;去簇电压(DP, V);碰撞室入口电压(EP, V);碰撞气能量(CE, V)及碰撞室出口电压(CXP, V)见表 2。

表 1 梯度洗脱比例
Table 1 Gradient elution ratio

时间(min)	流速(mL/min)	0.1%甲酸-5 mmol/L 乙酸铵溶液 A (%)	乙腈 B (%)
0.00	0.3	70	30
0.50	0.3	70	30
1.00	0.3	10	90
3.50	0.3	10	90
4.00	0.3	70	30
6.50	0.3	70	30

3 结果与分析

3.1 质谱条件的选择

采用针泵直接进样方式,以 5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的速度分别将 0.5 mg/L 6 种工业染料标准溶液注入离子源,除了酸性橙 II 采用负离子模式扫描,其他均采用正离子扫描方式进行一级质谱分析(Q1 扫描),得到碱性橙 2、碱性嫩黄 O、碱性橙 21、碱性橙 22、罗丹明 B 和酸性橙 II 质子化分子离子峰分别为 m/z 213.3, m/z 268.1, m/z 315.1, m/z 391.1, m/z 443.3, m/z 326.8, 再对分子离子进行二级质谱离子扫描(MS2),得到相应的碎片离子。结合使用仪器对各离子对的其他仪器参数进行优化,使得 6 种工业染料离子化效率达到最好,优化后的参数见表 2。

表 2 6 种工业染料质谱定性、定量离子对其参考条件
Table 2 Mass spectrometry identification, quantitative ion and reference conditions of 6 kinds of industrial dyes

化合物	离子对(m/z)	DP(V)	EP(V)	CEP(V)	CE(V)	CXP(V)
碱性橙 2	213.3/77.1*	32	6.0	16.0	55	4.0
	213.3/120.9	32	6.0	16.0	50	4.0
碱性嫩黄 O	268.1/147.1*	42	6.0	32.0	50	4.0
	268.1/122.1	42	6.0	32.0	52	4.0
碱性橙 21	315.1/300.4*	51	5.0	24.0	30	5.9
	315.1/285.1	51	5.0	24.0	41	5.9
	315.1/269.9	51	5.0	24.0	49	5.9
碱性橙 22	391.1/376.1*	42	5.0	21.0	43	7.7
	391.1/361.3	42	5.0	21.0	52	7.7
罗丹明 B	443.3/399.1*	85	6.0	41.0	48	4.0
	443.3/355.2	85	6.0	41.0	55	4.0
酸性橙 II	326.8/170.7*	-41	-10	-29.0	-20	-4.0
	326.8/155.17	-41	-10	-29.0	-25	-4.0
	326.8/79.8	-41	-10	-31.7	-35	-4.0

注: *为定量离子对。

3.2 色谱条件的优化

本实验主要比较了 0.1%(V:V)甲酸溶液-甲醇、0.1%(V:V)甲酸-5 mmol/L 乙酸铵溶液-乙腈及 0.1%(V:V)甲酸水-乙腈三种体系,结果加入 5 mmol/L 乙酸铵,碱性橙 2、碱性嫩黄 O、碱性橙 21、碱性橙 22、罗丹明 B 的峰型得到改善,响应也随之增强。其次,考察了 0.1%~0.6%(V:V)甲酸-5 mmol/L 乙酸铵溶液,通过不断改变甲酸浓度观察各个化合物的峰型及响应情况;增加甲酸浓度,会对负离子模式的酸性橙 II 响应有明显的离子抑制作用,结合正模式条件下扫描的其他 5 种工业染料的响应强度,故选择了 0.1%甲酸浓度。比较了迪马科技 Inspire C_{18} (50 mm $\times$ 2.1 mm, 3 μm)、岛津 Shim-pack FC-ODS(75 mm $\times$ 4.6 mm)及资深堂 CAPCELL CORE C_{18} (50 mm $\times$ 2.1 mm, 2.7 μm)3 种色谱柱,结果 Inspire C_{18} 色谱柱峰型较好且响应更强。固定色谱柱,改变了流动相的流速从 0.2~0.6 mL/min, 0.1~0.2 mL/min 流速表现为出峰时间晚且峰宽较宽, 0.4~0.6 mL/min 流速表现出离子源的离子化效率降低, 6 种工业染料不能同时得以分离且响应强度降低;故最后选择 0.3 mL/min 既能满足各个化合物的分离又能增强响应强度。

3.3 样品前处理条件的选择

3.3.1 提取溶剂的选择

6 种工业染料都属于水溶性染料,化学性质差异不大。溶于水、乙醇,微溶于丙酮、不溶于苯,且更易溶于乙腈和甲醇或甲醇水溶液。本实验对比了甲醇、无水乙醇、甲醇水溶液(50:50, V:V)、5 mmol/L 乙酸铵溶液-甲醇(50:50,

V:V)和乙腈作为提取液,分别考察了不同提取溶剂对 6 种工业染料加标回收率的影响,实验过程表明采用甲醇、无水乙醇提取出更多的辣椒色素和油脂类杂质,且回收率最高只有 60%,甲醇水溶液和 5 mmol/L 乙酸铵-甲醇溶液,且回收率在 75%以上,考虑后续前处理的简单易得,故选用乙腈作为提取液。

3.3.2 净化条件的选择

实验室考察了 50~500 mg PSA、50~500 mg C₁₈ 和石墨化炭黑(GCB)的单种和混合使用对检测目标物回收率的影响,表明 PSA 和 C₁₈ 两种材料混合使用效果较好;当加入石墨化炭黑,净化液颜色变浅,但目标物的回收率有所下降,平均回收率在 63%;可能是由于石墨化炭黑去除色素的效果明显,在去除天然色素的同时也吸附了部分检测的目标物。还考察了 PSA 和 C₁₈ 两种材料的不同配比对 2 mL 提取液净化效果的影响,首先固定 PSA(或 C₁₈)分别为 50、100、200、400、500 mg,改变另外一种 C₁₈(或 PSA)分别为 50、100、200、400、500 mg 进行配比,测定回收率结果见图 1。结果表明,C₁₈ 的加入量对回收率影响不大,但通过上机分析可以看出,增加 C₁₈ 使用量,空白样品的基线噪音明显降低;特别是针对含油脂样品辣椒酱、卤肉制品等样品,净化效果更好。所以最后选择 2 mL 提取液中加入 200 mg PSA 和 200 mg C₁₈ 进行配比作为净化剂。与现有 GB/T 23496-2009、DBS 22/008-2012 和 DBS 52/006-2014 比较,无论采取上述哪种混合溶剂提取,都涉及繁琐的前处理过程:浓缩、过固相萃取小柱(弱阴离子交换柱或 Oasis HLB 柱)净化、洗脱再浓缩。

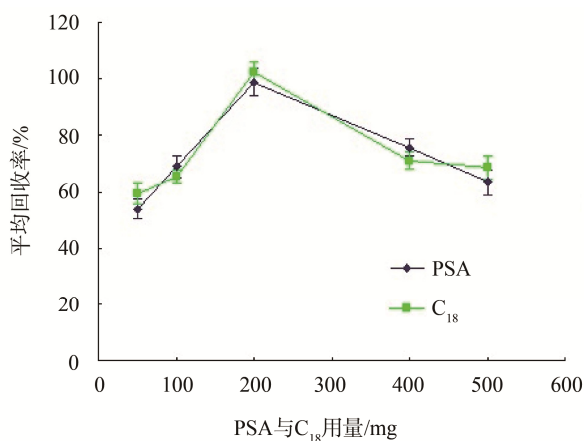


图 1 2 mL 提取液中 PAS 和 C₁₈ 用量对 6 种工业染料平均回收率的影响($n=3$)

Fig. 1 Effects of the amount of PSA and C₁₈ added in 2 mL extract on the average recoveries of 6 kinds of industrial dyes ($n=3$)

3.3.3 除水方法的改进

针对这种 QuEChERS 快速前处理方法,本试验不是采用无水硫酸镁进行除水,而是用食盐代替了无水硫酸镁,加入食盐使乙腈水溶液达到过饱和状态,乙腈水盐析分层;

避免了采用无水硫酸镁除水带来的剧烈放热,导致离心管塞冲开,造成目标物损失;同时也避免振摇不及时形成结块影响提取净化效果。

3.3.4 基质效应

基质效应是残留检测中普遍存在的现象。本实验中发现,固定取样量,加入不同浓度的标准溶液考察其回收率;或是称取 0.2~10.0 g 不等的样品量,加入同一浓度的标准溶液考察其回收率。结果净化提取液上机分析,不同浓度标准液在相同取样量样品中的浓度,或是不同称样量同一浓度标准溶液浓度,其测定结果的响应基本是一致;且与乙腈水溶液配制的同一水平浓度标准溶液相比较,响应明显降低,说明其样品基质抑制效应非常严重。6 种工业染料基质抑制效应最严重的是碱性橙 2。针对碱性橙 2 可以采取减少取样量(比如取样量为 1 g),这样可明显减少基质抑制效应。另外,也可以通过空白基质加标配制标准溶液来消除基质效果的干扰。但对于辣椒粉、辣椒酱等基质的样品,通过空白基质加标消除基质抑制效应,效果不明显。最后采用两者结合的方式,能更好地消除其抑制效应。

3.4 方法的线性范围、检出限及定量下限

根据各物质响应强度的不同,用空白基质提取液稀释混合标准溶液碱性橙 2、碱性嫩黄 O、碱性橙 21、碱性橙 22 和罗丹明 B 标准溶液浓度分别为 0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、20.0 $\mu\text{g/L}$,酸性橙 II 为 1.0、2.5、5.0、10.0、20.0、40.0 $\mu\text{g/L}$,采用上述方法测定,得到的线性方程见表 3。由表 3 可知,碱性橙 2、碱性嫩黄 O、碱性橙 21、碱性橙 22 和罗丹明 B 在 0.5~20.0 $\mu\text{g/L}$ 范围之内呈良好线性关系;酸性橙 II 在 1.0~40.0 $\mu\text{g/L}$ 范围之内呈良好线性关系。标准溶液的多反应监测(MRM)图谱见图 2。表明碱性橙 2、碱性嫩黄 O、碱性橙 21、碱性橙 22 和罗丹明 B 浓度为 0.5 $\mu\text{g/L}$,酸性橙 II 在 1.0 $\mu\text{g/L}$ 时各标准物质响应良好。

根据国家风险监测的要求,对调味品、豆制品、卤肉制品和红糖等样品进行 6 种工业染料的测定。结果表明,0.5 与 1.0 $\mu\text{g/L}$ 时标液浓度,信噪比 S/N 大于 3。且当添加量为 0.5(1.0) $\mu\text{g/kg}$ 时,定性离子对信噪比 S/N 远大于 3,定量离子对信噪比 S/N 大于 10。本方法采用基质添加标样配制标准溶液和适当减少称量数量,以消除基质对样品检测的干扰。以 3 倍信噪比在实际标准曲线查出结果作为检出限(LOD),结合取样量计算检出限。得出碱性橙 2、碱性嫩黄 O、碱性橙 21、碱性橙 22 和罗丹明 B 为 1.0 $\mu\text{g/kg}$,酸性橙 II 2.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

3.5 方法回收率和精密度

分别选取了调味品、豆制品、卤肉制品和红糖等有代表性的阴性样品,添加 1.0、5.0、20 $\mu\text{g/L}$ 3 个不同浓度水平的 6 种工业染料进行添加回收试验,每个浓度水平进行 6 次实验,测定结果见表 4。结果表明 6 种工业染料的平

均回收率均在 76.1%~114.8%，且测定的批内的相对标准偏差 2.0%~9.7%, RSD<10%(n=6)。辣椒酱空白样品及添加回收样品的 MRM 色谱图(见图 3)。说明该方法准确度和精密度完全可以满足食品中 6 种工业染料的检测要求。

表 3 6 种工业染料线性方程和线性相关系数
Table 3 Linear equations and linear correlation coefficients of 6 kinds of industrial dyes

化合物	线性范围(μg/L)	保留时间 (min)	线性方程	相关系数 <i>r</i>
碱性橙 2	0.5~20.0	0.97	$Y=4.51\times10^3X-79.8$	0.9999
碱性嫩黄 O	0.5~20.0	2.04	$Y=8.11\times10^3X+412$	0.9996
碱性橙 21	0.5~20.0	2.39	$Y=1.88\times10^4X-995$	0.9997
碱性橙 22	0.5~20.0	2.49	$Y=3.28\times10^4X+1.32\times10^3$	0.9997
罗丹明 B	0.5~20.0	2.80	$Y=1.47\times10^4X+131$	0.9999
酸性橙 II	1.0~40.0	3.27	$Y=689X-219$	0.9999

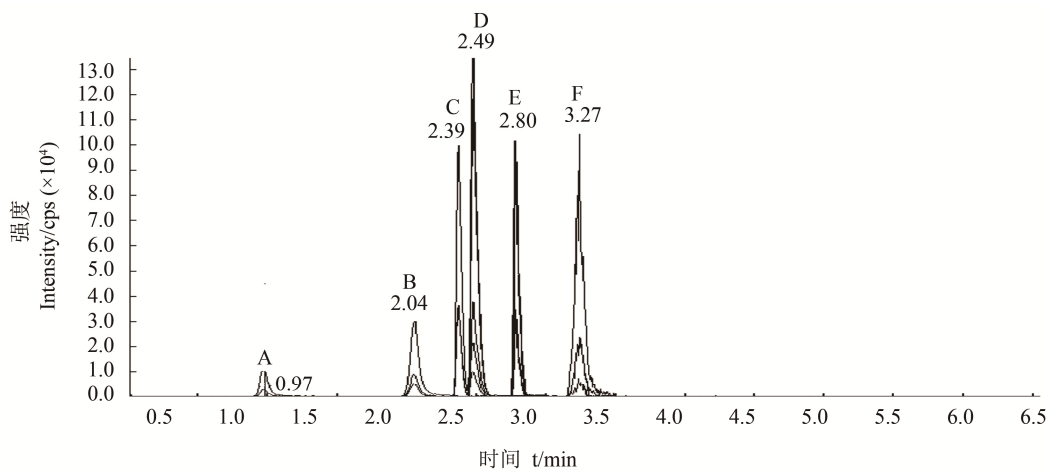


图 2 标准溶液的多反应监测(MRM)图谱
Fig. 2 Multiple reaction monitoring (MRM) chromatogram of standard solution
A: 碱性橙 2; B: 碱性嫩黄 O; C: 碱性橙 21; D: 碱性橙 22; E: 罗丹明 B; F: 酸性橙 II

表 4 6 种工业染料加标回收率及精密度测定结果(n=6)
Table 4 The recovery rates and precisions of 6 kinds of industrial dyes in samples(n=6)

化合物 名称	添加 浓度/ (μg/kg)	调味品		豆制品		卤肉制品		红糖	
		回收率 范围/%	相对标 准偏差/%	回收率 范围/%	相对标准 偏差/%	回收率 范围/%	相对标准 偏差/%	回收率 范围/%	相对标准 偏差/%
碱性 橙 2	1.0	76.3~91.5	5.7	78.3~93.8	6.4	76.9~91.7	5.7	84.9~92.1	3.9
	5.0	77.4~114.8	6.3	79.3~95.1	3.9	76.5~89.1	3.9	82.3~102.5	5.1
	20.0	78.4~93.6	8.7	79.5~101.3	7.5	83.4~103.1	4.8	82.9~103.1	7.9
碱性 嫩黄 O	1.0	76.1~89.9	3.1	89.1~102.3	6.3	81.9~96.1	3.9	83.2~103.1	2.1
	5.0	86.1~97.3	6.7	76.3~101.6	3.5	78.3~93.1	2.7	79.5~98.4	3.1
	20.0	78.3~102.2	8.9	78.3~106.7	7.9	76.1~97.3	4.6	87.1~97.3	5.9
碱性 橙 21	1.0	85.7~112.0	6.5	79.3~96.1	6.1	81.3~92.8	5.1	82.3~102.5	9.0
	5.0	86.7~104.5	2.3	81.3~98.7	3.7	82.9~97.2	3.7	86.5~103.7	3.0
	20.0	83.4~103.1	3.4	82.6~101.4	5.3	86.3~99.0	8.1	79.8~104.3	6.1

续表 4

化合物名称	添加浓度/ (μg/kg)	调味品		豆制品		卤肉制品		红糖	
		回收率 范围/%	相对标准 偏差/%	回收率 范围/%	相对标准 偏差/%	回收率 范围/%	相对标准 偏差/%	回收率 范围/%	相对标准 偏差/%
碱性橙 22	1.0	87.3~109.1	3.9	86.3~102.4	3.5	83.6~101.9	3.0	81.3~94.6	5.9
	5.0	81.3~98.6	5.4	85.9~102.3	3.1	79.2~103.4	6.0	79.5~98.4	6.1
	20.0	86.3~99.0	7.1	86.7~106.2	2.9	80.3~91.7	3.7	86.1~108.0	5.0
罗丹明 B	1.0	80.1~93.5	2.0	78.9~93.4	3.0	79.3~105.2	6.0	83.6~95.7	4.0
	5.0	79.3~103.2	6.7	82.9~94.3	5.1	82.3~101.9	8.0	86.1~97.2	8.3
	20.0	85.3~98.0	4.6	79.9~97.1	7.3	83.9~98.1	7.2	82.9~103.1	7.1
酸性橙 II	1.0	77.1~89.1	6.0	81.3~96.5	2.6	76.3~102.8	3.0	81.9~95.3	4.0
	5.0	76.6~102.3	3.0	79.1~102.9	9.7	81.6~102.6	4.9	79.6~102.4	7.6
	20.0	76.1~97.3	7.2	80.6~97.6	7.0	76.5~91.3	8.5	86.1~94.2	5.9

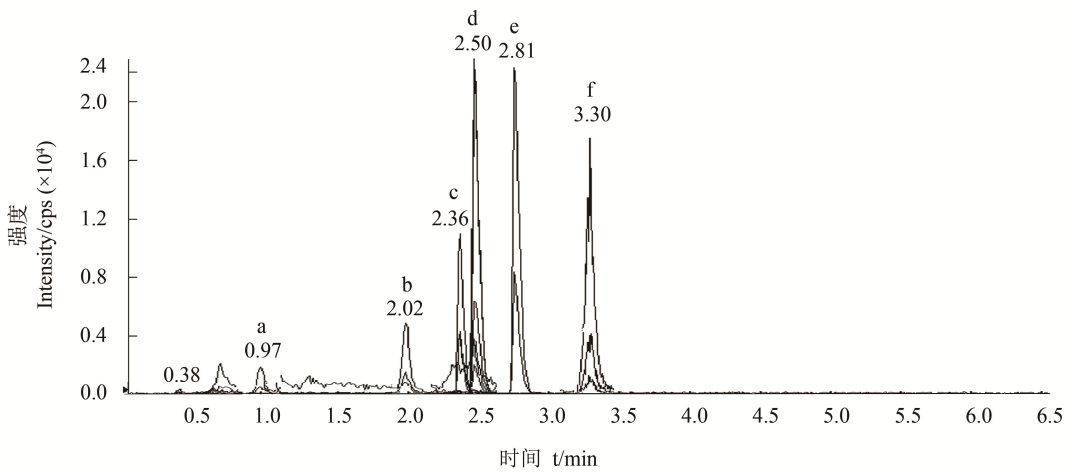


图 3 空白样品和辣椒酱添加标准物质样品的多反应监测(MRM)图谱
Fig. 3 Multiple reaction monitoring (MRM) chromatogram of blank sample and adding standard sample in Chili sauce
a: 碱性橙 2; b: 碱性嫩黄 O; c: 碱性橙 21; d 碱性橙 22; e: 罗丹明 B; f: 酸性橙 II

3.6 实际样品的检测

在选定的色谱质谱条件下,对当地市售的辣椒粉、干辣椒、辣椒酱、腐乳、酱卤肉制品、豆干及红糖等 50 份样品进行风险监测,同时检测了样品中的上述 6 种工业染料,结果均未检出。

4 结 论

本文采用改进的 QuEChERS 方法对调味料、豆制品、卤肉制品及红糖进行前处理,以高效液相色谱-串联质谱为检测仪器,建立了食品中 6 种工业染料的快速定性定量检测方法。采用乙腈提取样品中的 6 种工业染料,加入食盐盐析分层后,经 PSA 和 C₁₈ 混合固相萃取分散剂进行净化。与现有的检测方法相比,省略了固相萃取和氮吹浓缩

过程,还进一步优化了 QuEChERS 前处理方法。通过基质加标和减少取样量,消除检测过程中产生的基质抑制效应。与文献报道的方法比较,本试验在定性定量上更加准确,检出限能达到 1.0~2.0 μg/kg,灵敏度有了很大的提高。采用此方法对当地市售的样品进行风险监测,均未检出这 6 种工业染料,表明本地市场上销售的产品不存在违法添加的情况。其次,本方法具有提取简单、快速、净化效果好、所用有机溶剂少、灵敏度较高等优点,能满足食品中常规工业染料的日常监测。

参考文献

[1] 刘敏, 李小林, 别玮, 等. 固相萃取-高效液相色谱法同时测定调味品中 15 种工业合成染料[J]. 色谱, 2011, 29(2): 162-167
Liu M, Li XL, Bie W, et al. Simultaneous determination of 15 industrial synthetic dyes in condiment by solid phase extraction-high performance

- liquid chromatography [J]. *Chin J Chromatogr*, 2011, 29(2): 162–167
- [2] 王静. 食品中常见非法添加剂及其危害[J]. *北京工商大学学报(自然科学版)*, 2012, 30(6): 24–27
- Wang J. Illegal chemical additives in food and hazards [J]. *J Beijing Technol Bus Univ (Nat Sci Ed)*, 2012, 30(6): 24–27
- [3] GB/T 23496-2009 食品中禁用物质的检测 碱性橙染料 高效液相色谱法[S].
- GB/T 23496-2009 Determination of forbidden materials in foods-dyes of basic orange-high performance liquid chromatography method [S].
- [4] DBS52/ 006-2014 食品安全地方标准 食品中酸性橙 II 染料的测定[S].
- DBS52/ 006-2014 Local food safety standards—Determination of acid orange II in foods [S].
- [5] DB34/T 1107-2009 豆制品中碱性橙的测定 高效液相色谱法[S].
- DB34/T 1107-2009 Determination of basic orange in soy products by high performance liquid chromatography [S].
- [6] DB35/T 897-2009 食品中碱性橙、碱性嫩黄 O 和碱性桃红 T 含量的测定[S].
- DB35/T 897-2009 Determination of basic orange, auramine O and safranine T content [S].
- [7] DB S 22/ 008-2012 食品安全地方标准 食品中酸性橙、碱性橙 2 和碱性嫩黄的测定 液相色谱-串联质谱法[S].
- DB S 22/ 008-2012 Local food safety standards of food in acid orange, basic orange 2 and auramine was determined by liquid chromatography tandem mass spectrometry [S].
- [8] DB33/T 703-2008 食品和农产品中多种碱性工业染料的测定 液相色谱-串联质谱法[S].
- DB33/T 703-2008 Determination of multiple basic dyes in food and farm products LC/MS/MS method [S].
- [9] 朱浩, 李小平, 陈晓红, 等. 固相萃取-高效液相色谱法同时测定豆制品中的碱性嫩黄 O、酸性橙 II 和碱性橙 II [J]. *分析实验室*, 2013, 32(9): 63–67
- Zhu H, Li XP, Chen XH, *et al.* Simultaneous determination of auramine O in bean products, acid orange and orange alkaline using solid phase extraction and high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Anal Lab*, 2013, 32(9): 63–67
- [10] 龙泽荣, 徐微微, 鹿毅, 等. 分子印迹固相萃取-超高效液相色谱法测定河水中的碱性橙 II [J]. *理化检验(化学分册)*, 2014, 50(8): 937–943
- Long ZR, Xu WW, Lu Y, *et al.* Separation and determination of basic orange II in river water by molecularly imprinted polymers solid phase extraction coupled with UHPLC [J]. *Phys Test Chem Anal Part B (Chem Anal)*, 2014, 50(8): 937–943
- [11] 王艳春, 李博, 刘晓峰. 超高效液相色谱法同时测定调味品中非法添加 20 种工业染料[J]. *中国食品卫生杂志*, 2014, 26(5): 451–454
- Wang YC, Li B, Liu XF, *et al.* Simultaneous determination of 20 kinds illegally added industrial dye in condiments by UPLC [J]. *Chin J Food Hyg*, 2014, 26(5): 451–454
- [12] 赵榕, 赵海燕, 李兵, 等. 建立同时测定调味品中非法添加的 4 种工业染料 SPE-UPLC-MS/MS 法研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2009, 21(5): 410–414
- Zhao R, Zhao HY, Li B, *et al.* Simultaneous determination of 4 kinds of illegally added industrial dyes by SPE-UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Food Hyg*, 2009, 21(5): 410–414
- [13] 赵珊, 张晶, 杨奕, 等. 超高效液相色谱-电喷雾串联四极杆质谱法检测果汁和葡萄酒中的 27 种工业染料[J]. *色谱*, 2010, 28(4): 356–362
- Zhao S, Zhang J, Yang Y, *et al.* Determination of 27 industrial dyes in juice and wine using ultra performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem quadrupole mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2010, 28(4): 356–362
- [14] 赵榕, 李兵, 赵海燕, 等. 固相萃取-超高效液相色谱串联四级杆质谱同时测定调味品中 12 种工业染料[J]. *中国食品卫生杂志*, 2010, 22(4): 305–311
- Zhao R, Li B, Zhao HY, *et al.* Simultaneous determination of 12 kinds Industrial dyes in condiment by solid phase extraction and ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hyg*, 2010, 22(4): 305–311
- [15] 曹鹏, 乔旭光, 姜喜山, 等. 固相萃取结合超高效液相色谱-串联质谱法同时检测食品中的 6 种工业染料[J]. *分析化学*, 2011, 39(11): 1670–1675
- Cao P, Qiao XG, Lou XS, *et al.* Simultaneous determination of 6 kinds Industrial dyes in food by solid phase extraction and ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2011, 39(11): 1670–1675
- [16] 路勇, 渠岩, 冯楠, 等. 超高效液相色谱-串联四极杆质谱法快速筛查食品中的 45 种工业染料[J]. *食品科学*, 2012, 33(6): 176–180
- Lu Y, Qu Y, Feng N, *et al.* Rapid screening of 45 industrial dyes in foods by ultra performance liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2012, 33(6): 176–180
- [17] 郭新东, 冼燕萍, 罗海英, 等. 凝胶净化/超高效液相色谱串联质谱法测定调味酱中 32 种工业染料[J]. *分析测试学报*, 2012, 31(6): 658–663
- Guo XD, Xuan YP, Luo HY, *et al.* Determination of 32 industrial dyes in seasoning paste by gel permeation chromatography and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Instrum Anal*, 2012, 31(6): 658–663
- [18] 刘思洁, 范明, 姜楠, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定食品中酸性橙 II、碱性橙 2 和碱性嫩黄[J]. *中国卫生检验杂志*, 2013, 23(12): 2593–2594
- Liu SJ, Fan M, Jian N, *et al.* Determination of acid orange II, basic orange 2 and auramine O in foods by UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2013, 23(12): 2593–2594
- [19] 冯月超, 贾丽, 何亚芸, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定粮食及肉制品中的 24 种工业染料[J]. *色谱*, 2013, 31(10): 1021–1027
- Feng YC, Jia L, He YH, *et al.* Simultaneous determination of 24 industrial dyes in grain and meat products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2013, 31(10): 1021–1027
- [20] 林黛琴, 万承波, 邱萍, 等. 液相色谱-串联质谱法快速测定食品中 4 种黄色工业染料[J]. *质谱学报*, 2013, 34(3): 170–178
- Lin DQ, Wan CB, Qiu P, *et al.* Rapid determination of four high yellow dyes in foods by HPLC-MS/MS [J]. *J Chin Mass Spect Soc*, 2013, 34(3): 170–178
- [21] 李鹏, 李晓丽, 苗虹, 等. 高效液相色谱-线性离子阱质谱法测定辣椒制品中 23 种工业染料[J]. *中国食品卫生杂志*, 2012, 24(5): 430–434
- Li P, Li XL, Miao H, *et al.* Simultaneous determination of 23 industrial dyes in capsicum products by liquid chromatography-linear ion trap mass spectrometry [J]. *Chin J Food Hyg*, 2012, 24(5): 430–434
- [22] 王建凤, 冯月超, 贾丽, 等. 高效液相色谱-飞行时间质谱快速筛查粮

- 食及肉制品中工业染料[J]. 分析试验室, 2013, 32(10): 67-71
- Wang JF, Feng YC, Jia L, *et al.* Fast screening industrial dyes in foods and meat by liquid chromatography/quadruple time-of-flight mass spectrometry [J]. J Chin J Anal Lab, 2013, 32(10): 67-71
- [23] 黄丽英, 张晓波, 陈小珍, 等. 液相色谱-离子阱-飞行时间质谱法测定调味品中 9 种酸性工业染料[J]. 分析测试学报, 2013, 32(6): 687-692
- Huang LY, Zhang XB, Chen XZ, *et al.* Determination of 9 acidic dyes in condiment by liquid chromatography-ion trap-time of flight mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2013, 32(6): 687-692
- [24] 王连珠, 周昱, 陈泳, 等. QuEChERS 样品前处理-液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 66 种有机磷农药残留量方法评估[J]. 色谱, 2012, 30(2): 146-153
- Wang LZ, Zhou Y, Chen Y, *et al.* Evaluation of QuEChERS methods for the analysis of 66 organophosphorus pesticide residues in vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2012, 30(2): 146-153
- [25] 王登飞, 林德娟, 徐敦明. 基于 QuEChERS 提取方法优化的液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 51 种氨基甲酸酯类农药残留[J]. 色谱, 2013, 31(12): 1167-1175
- Wang DF, Lin DJ, Xu DM. Determination of 51 carbamate pesticide residues in vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry based on optimization of QuEChERS sample preparation method [J]. Chin J Chromatogr, 2013, 31(12): 1167-1175
- [26] 辉泰, 黄晓兰, 吴惠勤, 等. QuEChERS/液相色谱-串联质谱法同时测定鱼肉中 30 种激素类及氯霉素类药物残留[J]. 分析测试学报, 2011, 30(12): 1329-1337
- Hui T, Huang XL, Wu HQ, *et al.* Simultaneous determination of 30 hormones and chloramphenicol residues in fish using QuEChERS sample preparation and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2011, 30(12): 1329-1337

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



张 燕, 高级工程师, 主要研究方向
为食品安全检测。
E-mail: shiyan1230@163.com