

高效液相色谱-串联质谱法同时测定饮料中 54 种食品添加剂

王 警, 郑娟梅, 王海波, 莫紫梅*, 陈宁周, 唐德智

(广西-东盟食品检验检测中心, 南宁 530021)

摘 要: **目的** 建立高效液相色谱-串联质谱法同时测定饮料中的 11 种甜味剂, 33 种着色剂, 7 种防腐剂和 3 种抗氧化剂的分析方法。**方法** 样品经 50%甲醇水混合溶液提取后, 采用 Atlantis T3 色谱柱分离, 以不同比例的 10 mmol·L⁻¹ 乙酸铵水溶液和乙腈作为流动相进行梯度洗脱。采用电喷雾正负离子模式和多反应监测模式进行测定。**结果** 54 种待测物质的质量浓度在一定范围内与峰面积呈线性关系, 相关系数大于 0.990, 定量限为 71.1~1323 μg·kg⁻¹。加标回收率为 73.5%~117.6%, 相对标准偏差为 0.4%~16.7%。**结论** 该方法快速、准确、灵敏度高, 可用于饮料中多种添加剂的测定。

关键词: 高效液相色谱-串联质谱法; 食品添加剂; 饮料; 筛查

Simultaneous determination of 54 food additives in beverages by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

WANG Jing, ZHENG Juan-Mei, WANG Hai-Bo, MO Zi-Mei*, CHEN Ning-Zhou, TANG De-Zhi

(Guangxi-ASEAN Food Inspection and Testing Center, Nanning 530021, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for simultaneous determination of 11 sweeteners, 33 pigments, 7 preservatives and 3 antioxidants in beverages by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods** The samples were extracted by a mixture of 50% methanol and water, then separated by Atlantis T3 column. The 10 mmol·L⁻¹ ammonium acetate solution and acetonitrile were used as mobile phase for gradient elution, and then the samples were detected by electrospray positive and negative ion mode and multi-reaction monitoring mode. **Results** The mass concentration of 54 kinds of test substances had a linear relationship with the peak area in a certain range, and the correlation coefficients were greater than 0.990. The limit of quantitation was 71.1-1323 μg·kg⁻¹. The standard recoveries were 73.5%-117.6%, and the relative standard deviations were 0.4%-16.7%. **Conclusion** The method is rapid, accurate and sensitive, and it can be applied for the determination of various additives in beverages.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; additives; beverage; screening

基金项目: 广西-东盟食品药品安全检验检测中心 2019 科研项目(KY201904)

Fund: Supported by the Guangxi-ASEAN Center for Food and Drug Safety Control 2019 Scientific Research Project (KY201904)

*通讯作者: 莫紫梅, 硕士, 副主任技师, 主要研究方向为食品药品质量与安全。E-mail: 269636574@qq.com

*Corresponding author: MO Zi-Mei, Master, Associate Chief Pharmacist, Guangxi Institute for Food and Drug Control, No.9, Qinghu Road, Qingxiu District, Nanning 530021, China. E-mail: 269636574@qq.com

1 引言

近几年,我国饮料年产量以超过 20%的年均增长率递增,达到 1300 万吨。饮料市场已成为中国食品行业中发展最快的市场之一^[1]。食品添加剂作为饮料工业中不可或缺的一部分,其安全性也越来越受到消费者的关注^[2,3]。饮料中常用的食品添加剂包括甜味剂、防腐剂和着色剂等。目前世界上常用的甜味剂主要有:蔗糖、糖精、甜蜜素、甜味菊苷、阿斯巴甜等。据相关报道,甜味剂超量使用时,会对人体产生毒副作用,导致皮肤病变、情绪变化、行为异常、呼吸困难甚至癌症等^[4-7]。人工着色剂因其化学性质稳定、价格低廉和着色力强等优点,受到现代食品工业的广泛青睐。但是,人工合成色素主要含有苯环、氧杂萘等结构,部分色素含有硝基,经过人体肝脏等器官代谢后转化为致癌性物质,可能引发人体的膀胱癌等癌症^[8-11]。防腐剂是指抑制微生物增殖或杀死微生物的一类化合物,防腐剂对于延长食品保质期起到关键的作用,我国常用的防腐剂有苯甲酸、山梨酸等。苯甲酸钠进入人体后会与胃酸反应生成苯甲酸,苯甲酸对人体具有毒副作用。山梨酸毒性较苯甲酸低,杀菌能力较苯甲酸强,但过量摄入也会影响人体的新陈代谢^[12-14]。

目前对于食品添加剂分析大多以分类检测为主,国家标准也大都按照添加剂的性质分类别进行检测,分类检测耗时长、成本高、效率低。液相色谱法、气相色谱法等检测方法难以完全阐明化合物的结构裂解信息,定性准确度方面尚有欠缺,容易产生假阳性的结果,而且能同时检测的目标物数量有限。因此,非常有必要建立一种灵敏、准确、快速的方法来检测食品中多种添加剂。高效液相色谱串联质谱由于具有优越的分离和定性功能,可实现对同一食品中不同类别添加剂的同时测定,可以满足批量样品高通量快速筛查分析的要求^[10,12]。但目前应用高效液相色谱-串联质谱法同时检测饮料中的多类别添加剂的研究相对较少。

本研究采用高效液相色谱-串联质谱法同时检测饮料中的多类别添加剂,主要包含 11 种甜味剂(甜蜜素、安赛蜜、阿斯巴甜、三氯蔗糖、纽甜、阿力甜、糖精钠、抗坏血酸葡萄糖苷、异麦芽糖、异麦芽三糖、异麦芽四糖),7 种防腐剂(山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸苄酯、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯),33 种着色剂(新红、柠檬黄、赤藓红、靛蓝、胭脂红、日落黄、诱惑红、亮蓝、喹啉黄、酸性橙 7、酸性绿 50、橙黄 G、孟加拉红、荧光桃红、丽春红 3R、荧光素钠、罗丹明 B、碱性橙 2、酸性红 G、酸性蓝 3、碱性橙 21、碱性橙 22、结晶紫、隐性结晶紫、苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV、隐性孔雀石绿、偶氮玉红、橙黄 1、酸性红 87、酸性紫 7)以及 3 种抗氧化剂(叔丁基羟基茴香

醚、特丁基对苯二酚、去甲二氢愈创木酚)。该方法快速简便、灵敏度高,能够短时间内同时测定饮料中 54 种添加剂,满足目标分析物的定性和定量要求,为开展饮料中添加剂的检测及风险评估,加强食品安全质量监管提供技术支持。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

AB SCIEX TRIPLE QUAD 4500 高效液相色谱-三重四级杆串联质谱仪(美国 AB Sciex 公司); Milli-Q 超纯水器(美国 Millipore 公司); xs205DU 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); S180H 型超声波清洗机(超声频率 37 kHz,德国 Elma 公司); Heidolph Multi Reax 型多管式涡旋振荡器(德国 Heidolph 公司)。

乙腈、甲醇(色谱纯,美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 乙酸铵、甲酸铵、甲酸(色谱纯,德国 Sigma 公司); 聚四氟乙烯滤膜(PTFE, 0.22 μm , 上海安谱实验科技股份有限公司)。

山梨酸、阿力甜、安赛蜜、三氯蔗糖、柠檬黄、靛蓝、日落黄、橙黄 1、橙黄 G、孟加拉红、偶氮玉红、酸性红 G、丽春红 3R、隐性孔雀石绿、碱性橙 2、苏丹红 II、苏丹红 III、苏丹红 IV 和对羟基苯甲酸苄酯(纯度大于 90%,北京曼哈格生物科技有限公司); 苯甲酸、糖精钠、脱氢乙酸、叔丁基羟基茴香醚、特丁基对苯二酚、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯、去甲二氢愈创木酚、甜蜜素、阿斯巴甜、纽甜、抗坏血酸葡萄糖苷、异麦芽糖、异麦芽三糖、异麦芽四糖、新红、赤藓红、胭脂红、诱惑红、亮蓝、喹啉黄、酸性橙、酸性绿 50、荧光桃红、荧光素钠、罗丹明 B、酸性蓝 3、碱性橙 21、结晶紫、隐性结晶紫、苏丹红 I、酸性红 87 和酸性紫 7(纯度大于 90%,德国 Dr. Ehrenstorfer 公司); 碱性橙 22(纯度大于 90%,上海安谱实验科技股份有限公司)。

液体饮料样品:均从南宁某超市中购入。

2.2 实验方法

2.2.1 标准储备液的配制

称取 54 种食品添加剂标准品约 0.0100 g,用 50%甲醇水溶液定容至 50 mL,配制成约 200 $\mu\text{g/mL}$ 的单标储备液,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保存。根据各种添加剂的质谱响应不同,配制成各个分析物浓度不一致的混合标准溶液,待用。

2.2.2 样品前处理

准确称量(1 ± 0.01) g 样品置于 50 mL 容量瓶中,然后加入 10 mL 50%甲醇,涡旋后在超声下提取 5 min,冷却至室温,用 50%甲醇定容。移入离心管中,4000 r/min 离心 5 min,吸出上清液用聚四氟乙烯滤膜过滤,滤液即可上机测定。若目标成分浓度过高,使用 50%甲醇进行适当稀释后上机测定。

2.2.3 色谱条件

Waters AtlantisT3 色谱柱(2.1 mm×150 mm, 3 μm); 流动相: A:10 mmol/L 乙酸铵; B: 乙腈; 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 40 °C; 进样体积: 5 μL。高效液相色谱梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序
Table 1 Gradient elution program

时间/min	流速/(mL/min)	A/%	B/%
0	0.3	95	5
1.00	0.3	95	5
6.00	0.3	35	65
7.00	0.3	5	95
9.00	0.3	5	95
9.10	0.3	95	5
11.00	0.3	95	5

2.2.4 质谱条件

电离模式: 电喷雾电离(electrospray ionization, ESI), 正负离子同时进行; 采集数据模式: 多反应监测(multiple-reaction monitoring, MRM); 电喷雾电压: -4500 V, 5500 V; 气体: 氮气, 纯度≥99.99%; 气帘气压力: 35 Psi; 雾化气(GS1): 50 Psi; 辅助气(GS2): 50 Psi; 碰撞气压力: 6.0 Psi; 离子源温度: 650 °C; 其他条件见表 2。

3 结果与分析

3.1 色谱柱的优化

本实验考察了 3 种规格的 C₁₈ 色谱柱对目标物的分离能力, 包括 Atlantis T3 色谱柱(2.1 mm×150 mm, 3 μm), Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 3 μm)和 Kinetex C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 2.6 μm)。Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱能够对着色剂实现较好的分离, 但此色谱柱并不能实现

对甜味剂和防腐剂的分离。Kinetex C₁₈ 色谱柱对于结构相似的柠檬黄、胭脂红和喹啉黄 3 种着色剂保留较差。而 Atlantis T3 色谱柱(2.1 mm×150 mm, 3 μm)能够使 54 种食品添加剂在 11 min 内实现色谱保留和基线分离, 因此选择 Atlantis T3 色谱柱(2.1 mm×150 mm, 3 μm)。

3.2 质谱条件的优化

本实验采用流动注射泵直接进样方式, 分别对 54 种目标分析物的标准溶液(1 μg/mL)进行进样分析。在全扫描模式选择较高丰度的母离子, 随后比较母离子在正、负离子模式下的响应程度。监测结果显示, 苯甲酸、柠檬黄等 40 种添加剂在负离子电离模式下响应度较高, 而赤藓红、喹啉黄等 14 种添加剂在正离子电离模式下响应程度较高。采用子离子扫描方式进行 2 级质谱分析, 对子离子进行优化选择, 确定定量离子和定性离子, 在多反应监测模式下对不同目标化合物的碰撞能量进行了优化。质谱参数优化结果见表 2。

3.3 流动相优化

本研究中 54 种添加剂性质相差较大, 对色谱条件要求极为苛刻。为了达到最佳的色谱分离, 考察了甲醇-水、乙腈-水和乙腈-乙酸铵水 3 种流动相体系对 54 种目标分析物色谱分离的影响。甲醇-水体系对于喹啉黄等着色剂, 普遍存在峰形展宽, 严重拖尾和重叠峰等现象, 对于目标物的定量存在严重干扰; 当选用乙腈水体系, 即纯乙腈为流动相的有机相时, 大多数目标物出峰时间提前, 安赛蜜、柠檬黄和糖精钠的出峰时间过早, 在测定过程中容易受杂质干扰, 难以实现定性定量分析; 选用乙腈-乙酸铵水体系, 色谱分离度好, 质谱响应度高, 满足检测灵敏度的要求。通过考察 20 mmol/L 乙酸铵水溶液和 10 mmol/L 乙酸铵水溶液两种浓度对目标分析物的影响, 最后选择乙腈-10 mmol/L 乙酸铵水溶液作为流动相, 能够达到最佳分离效果。54 种混合标准品(浓度为 100 ng/mL)的总离子流图(total ion chromatogram, TIC)见图 1。

表 2 优化的 54 种食品添加剂的多反应监测参数
Table 2 Optimum parameters of MRM for 54 food additives

编号	目标化合物	离子化模式	保留时间/min	母离子(m/z)	子离子(m/z)	去簇电压/V	碰撞电压/V
1	山梨酸	[M-H] ⁻	3.99	110.9	67*	-45	-18
2	苯甲酸	[M-H] ⁻	3.33	121	77*	-36	-18
3	脱氢乙酸	[M-H] ⁻	4.11	167	82.9*	-47	-17
					123		-10
4	叔丁基羟基茴香醚	[M-H] ⁻	8.37	178.9	148.7*	-75	-34
					164		-21
5	特丁基对苯二酚	[M-H] ⁻	8.37	164.8	149*	-114	-33
					108		-25
6	对羟基苯甲酸苄酯	[M-H] ⁻	8.03	227	92*	-91	-32
					135.9		-20

续表 2

编号	目标化合物	离子化模式	保留时间/min	母离子(m/z)	子离子(m/z)	去簇电压/V	碰撞电压/V
7	对羟基苯甲酸甲酯	$[M-H]^-$	6.31	151	92* 136.1	-76	-26 -17
8	对羟基苯甲酸丙酯	$[M-H]^-$	7.54	179	93* 136.8	-85	-26 -20
9	对羟基苯甲酸丁酯	$[M-H]^-$	8.05	193	136* 92	-97	-22 -29
10	去甲二氢愈创木酚	$[M-H]^-$	7.50	301.2	122* 273.2	-134	-35 -33
11	新红	$[M-3Na+H]^{2-}$	3.91	271.3	171.9* 231.3	-61	-22 -17
12	柠檬黄	$[M-3Na+H]^{2-}$	1.57	233	210.9* 171.1	-38	-10 -16
13	赤藓红	$[M+H]^+$	5.82	837.5	583.9* 330	3	64 80
14	靛蓝	$[M-2Na]^{2-}$	4.11	210	79.9* 155.9	-69	-44 -29
15	胭脂红	$[M-2Na]^{2-}$	4.37	268	205.9* 79.8	-72	-15 -67
16	日落黄	$[M-2Na]^{2-}$	4.56	203	170.9* 155.8	-50	-19 -25
17	诱惑红	$[M-2Na]^{2-}$	4.76	225	206.9* 199.7	-52	-21 -22
18	亮蓝	$[M-H]^-$	5.34	742.2	561.3* 667.3	-175	-62 -50
19	喹啉黄	$[M-2Na+3H]^+$	4.17	434	183.5* 161.5	-73	-46 -27
20	酸性橙 7	$[M-Na]^-$	6.33	327	107.1* 156	-70	-54 -42
21	酸性绿 50	$[M-Na]^-$	5.45	553.1	496* 511	-197	-54 -41
22	橙黄 G	$[M-2Na+H]^-$	4.63	407	302* 238	-76	-26 -41
23	孟加拉红	$[M-2Na+H]^-$	6.60	972.5	674.3* 892.7	-175	-52 -39
24	荧光桃红	$[M-H]^-$	6.27	784.5	658.6* 704.6	-155	-41 -39
25	丽春红 3R	$[M-2Na+H]^-$	5.53	449	369.1* 301.6	-148	-35 -38
26	荧光素钠	$[M-2Na+H]^-$	5.57	331.1	287.1* 243.1	-95	-23 -37
27	罗丹明 B	$[M-Cl]^+$	8.06	443.2	297.1* 399	227	98 56
28	碱性橙 2	$[M-Cl]^+$	7.95	213.1	121.1* 196.1	44	27 27
29	酸性红 G	$[M-H]^-$	4.87	231.5	179* 158	-73	-15 -20

续表 2

编号	目标化合物	离子化模式	保留时间/min	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	去簇电压/V	碰撞电压/V
30	酸性蓝 3	[M-H] ⁻	4.55	559	479.2* 435	-150	-42 -58
31	碱性橙 21	[M-Cl] ⁺	7.62	315.2	270* 300.2	250	48 31
32	碱性橙 22	[M-Cl] ⁺	8.83	391.1	376.1* 220.1	250	37 34
33	结晶紫	[M-Cl] ⁺	10.86	372	356* 251	220	56 49
34	隐性结晶紫	[M-Cl] ⁺	9.94	374.3	358.2* 239.2	200	45 45
35	苏丹红 I	[M+H] ⁺	9.58	249.1	92.9* 156	65	35 21
36	苏丹红 II	[M+H] ⁺	10.57	277.1	121* 156	70	30 18
37	苏丹红 III	[M+H] ⁺	8.98	353.1	156.1* 77	90	30 60
38	苏丹红 IV	[M+H] ⁺	8.77	381.2	224.2* 90.9	100	29 52
39	隐性孔雀石绿	[M+H] ⁺	9.83	331.2	316.1* 239.2	10	27 42
40	偶氮玉红	[M-2Na+3H] ⁺	5.20	459	233.1* 442	115	34 27
41	橙黄 1	[M-Na] ⁻	6.34	326.7	170.9* 155.8	-64	-32 -37
42	酸性红 87	[M-2Na+H] ⁻	5.42	646.7	520.7* 522.8	-128	-35 -36
43	酸性紫 7	[M-H] ⁻	4.44	260.1	157.7* 171.5	-68	-24 -26
44	甜蜜素	[M-Na] ⁻	6.38	178	80* 95.9	-80	-37 -28
45	安赛蜜	[M-H] ⁻	3.23	162.1	82* 77.9	-80	-40 -17
46	阿斯巴甜	[M-H] ⁻	5.10	293	261* 200	-80	-23 -14
47	三氯蔗糖	[M-H] ⁻	5.16	395.1	359.1* 34.9	-80	-10 -25
48	纽甜	[M-H] ⁻	6.39	377.2	200.2* 301.2	-80	-25 -25
49	阿力甜	[M+H] ⁺	5.29	332	129* 159	70	22 28
50	糖精钠	[M-Na] ⁻	3.96	182	42* 105.9	-80	-54 -20
51	抗坏血酸葡萄糖苷	[M-H] ⁻	1.20	337	277* 174	-99	-25 -29
52	异麦芽糖	[M-H] ⁻	1.29	341	178.8* 220.9	-69	-11 -18
53	异麦芽三糖	[M-H] ⁻	1.27	503.2	178.9* 341.1	-100	-27 -17
54	异麦芽四糖	[M-H] ⁻	1.27	665.2	503.2* 545.2	-125	-20 -29

注: *为定量离子。

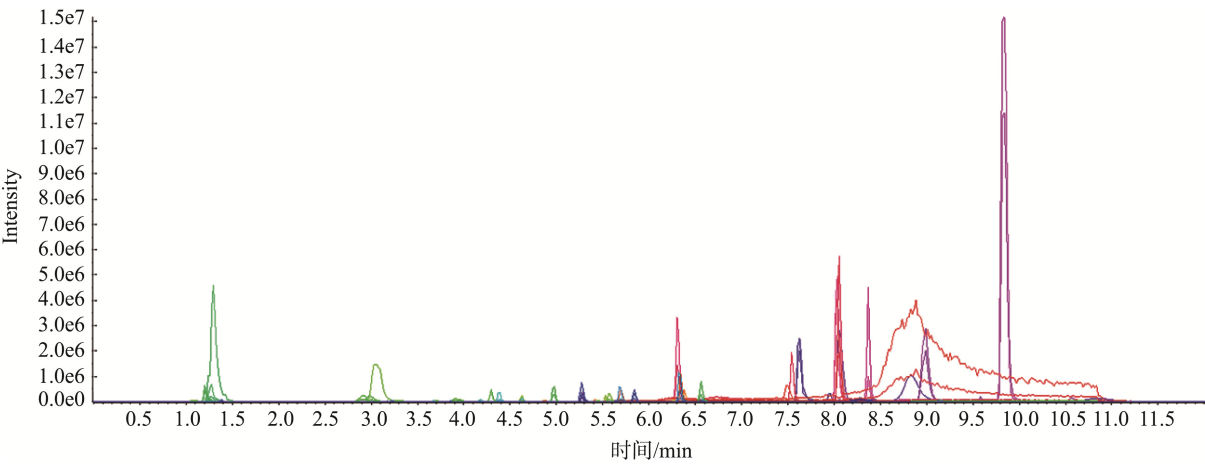


图 1 54 种食品添加剂对照品溶液的 TIC 谱图

Fig.1 TIC spectrogram of 54 standard food additives solutions

3.4 样品前处理优化

考察了 50%、65%、80%乙腈水溶液, 50%、65%、80%甲醇水溶液 6 种不同提取溶剂对样品的提取效率的影响。结果显示, 6 种提取溶剂对各组分回收率无明显区别。考虑与标准曲线配制的一致性, 选择使用 50%甲醇作为提取溶剂。

3.5 方法学考察

3.5.1 标准曲线和基质效应

基质效应(matrix effect, ME)是指检测系统在分析样品中的分析物时, 处于分析物周围的基质对分析物测定结果的影响。基质效应可以用 $ME=B/A\times 100\%$ 计算, 式中 B 为基质曲线斜率, A 为标准曲线斜率。当 $ME>100\%$ 时, 基质存在离子化增强作用; 当 $ME<100\%$ 时, 基质存在离子化抑制作用。实验分别配制两组标准曲线: 曲线 A, 直接使用 50%甲醇将混合标准工作液稀释成标准曲线工作溶液; 曲线 B, 用空白饮料样品提取液做稀释液配制标准曲线溶

液。如表 3 所示, 在 0.02~1 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内, 2 种曲线的线性相关系数均大于 0.990。大部分食品添加剂表现出基质抑制效应, 只有偶氮玉红、安赛蜜、甜蜜素、阿力甜和纽甜 5 种添加剂表现出基质增强效应。一般认为, 基质曲线响应值与其标准曲线响应值之比在 85%~115%之间不存在明显的基质效应^[15], 根据此方法可以判断, 54 种添加剂的两种曲线方程之间无显著影响。因此, 标准曲线溶液可用 50%甲醇直接配制。

3.5.2 加标回收率和检出限

在阴性饮料样品中添加 54 种添加剂的混合标准工作溶液(10 $\mu\text{g/mL}$), 添加水平分别为 5、7.5、10 mg/kg , 进行 6 次重复实验, 计算其回收率及相对标准偏差(relative standard deviation, RSD), 由表 3 可知, 各组分的平均回收率为 73.5%~117.6%, 精密度为 0.4%~16.7%。取最低添加水平 5 mg/kg , 上机检测, 得到仪器信噪比, 检出限计算公式如下: 检出限=添加水平 $\times$ 3/信噪比, 以 3 倍的检出限作为定量限。结果见表 3。

表 3 54 种食品添加剂的线性及相关系数 r 、平均回收率、RSD 和检出限($n=6$)

Table 3 Linearities and correlation coefficients, average recoveries, RSDs and detection limits of 54 food additives($n=6$)

化合物名称	线性及相关系数	浓度范围 /(ng/mL)	ME /%	添加水平 /(mg/kg)	平均回收率 /%	检出限 /($\mu\text{g/kg}$)	定量限 /($\mu\text{g/kg}$)
山梨酸	A: $Y=1308.15X+25008.3$ ($r=0.9993$)	20 ~ 1000	89.8	5	76.1 $\pm$ 3.8	235	705
	B: $Y=1174.03X+19864.7$ ($r=0.9997$)			7.5	90.5 $\pm$ 1.9		
				10	94.9 $\pm$ 1.7		
苯甲酸	A: $Y=5846.18X+66848.4$ ($r=0.9999$)	20 ~ 1000	93.7	5	96.8 $\pm$ 5.6	36	108
	B: $Y=5475.60X+59548.1$ ($r=0.9992$)			7.5	88.1 $\pm$ 7.7		
				10	114.1 $\pm$ 2.4		
脱氢乙酸	A: $Y=6816.53X-14758.1$ ($r=0.9995$)	20 ~ 1000	94.2	5	101.5 $\pm$ 1.6	115	345
	B: $Y=6423.37X-18693.2$ ($r=0.9989$)			7.5	93.3 $\pm$ 3.5		
				10	95.2 $\pm$ 2.2		

续表 3

化合物名称	线性及相关系数	浓度范围 (ng/mL)	ME /%	添加水平 (mg/kg)	平均回收率 /%	检出限 (μg/kg)	定量限 (μg/kg)
叔丁基羟基茴香醚	A: Y= 86932.6X-436875 (r=0.9992) B: Y= 79234.8X- 369874 (r=0.9956)	20 ~ 200	91.1	5	94.4±3.9	347	1041
				7.5	89.8±5.0		
				10	92.4±4.1		
特丁基对苯二酚	A: Y= 976.914X-3370.02 (r=0.9999) B: Y= 957.224X-4631.42 (r=0.9983)	20 ~ 1000	98.0	5	82.5±5.0	57	171
				7.5	78.0±4.1		
				10	86.4±4.0		
对羟基苯甲酸苄酯	A: Y= 38756.2X-12270200 (r=0.9935) B: Y= 35894.6X-15247800 (r=0.9956)	100 ~ 1000	92.6	5	86.4±5.3	29	87
				7.5	84.8±3.7		
				10	90.2±4.5		
对羟基苯甲酸甲酯	A: Y= 63931.3X-2790700 (r=0.9945) B: Y= 56993.4X-2236970 (r=0.9927)	50 ~ 400	89.2	5	79.3±3.6	237	711
				7.5	82.2±5.0		
				10	83.5±3.7		
对羟基苯甲酸丙酯	A: Y= 39865.6X-1014850 (r=0.9952) B: Y= 35756.4X-920047 (r=0.9932)	20 ~ 400	89.7	5	98.8±4.0	89	267
				7.5	102.5±5.4		
				10	97.3±6.2		
对羟基苯甲酸丁酯	A: Y= 42820.4X-10087200 (r=0.9955) B: Y= 40268.9X-9823610 (r=0.9987)	100 ~ 1000	94.0	5	86.3±2.1	178	534
				7.5	89.2±3.7		
				10	90.8±5.2		
去甲二氢愈创木酚	A: Y= 22977.3X-546468 (r=0.9996) B: Y= 20687.7X-586547 (r=0.9991)	20 ~ 1000	90.0	5	92.3±6.1	264	792
				7.5	96.2±5.4		
				10	104.3±3.4		
新红	A: Y= 450.963X+ 11942.7 (r=0.9995) B: Y= 442.846X+ 10368.6 (r=0.9982)	20 ~ 1000	98.2	5	102.1±0.6	132	396
				7.5	101.9±1.4		
				10	113.5±0.4		
柠檬黄	A: Y= 2109.88X-6219.81 (r=0.9967) B: Y= 1827.34X- 6679.54 (r=0.9924)	20 ~ 1000	86.6	5	83.8±1.3	115	345
				7.5	94.3±1.5		
				10	108.6±7.1		
赤藓红	A: Y= 1710.49X+ 6988.72 (r=0.9974) B: Y= 1659.20X+ 7046.37 (r=0.9983)	20 ~ 1000	97.0	5	94.5±5.7	88	264
				7.5	90.7±4.9		
				10	96.8±1.0		
靛蓝	A: Y= 399.890X+ 13037.6 (r=0.9980) B: Y= 356.775X+ 15638.4 (r=0.9997)	20 ~ 1000	89.2	5	107.8±2.0	146	438
				7.5	108.7±1.3		
				10	103.3±0.5		
胭脂红	A: Y= 1756.92X+ 31905.9 (r=0.9991) B: Y= 1687.45X+ 38587.4 (r=0.9986)	20 ~ 1000	96.1	5	100.6±1.2	86	258
				7.5	75.9±2.0		
				10	87.0±2.9		
日落黄	A: Y=6607.45X+ 334768 (r=0.9969) B: Y=6358.19X+ 384647 (r=0.9989)	20 ~ 1000	96.2	5	97.8±1.8	110	330
				7.5	104.9±1.6		
				10	103.0±2.6		
诱惑红	A: Y=3449.98X+ 40983.2(r=0.9995) B: Y=3255.67X+ 32148.0 (r=0.9993)	20 ~ 1000	94.4	5	93.6±3.0	88	264
				7.5	96.6±0.4		
				10	108.8±0.5		
亮蓝	A: Y= 724.625X+ 13889.1 (r=0.9995) B: Y= 710.337X+ 11566.4 (r=0.9977)	20 ~ 1000	98.0	5	100.7±0.4	119	357
				7.5	109.5±0.9		
				10	97.1±1.8		

续表 3

化合物名称	线性及相关系数	浓度范围 /(ng/mL)	ME /%	添加水平 /(mg/kg)	平均回收率 /%	检出限 /(μg/kg)	定量限 /(μg/kg)
喹啉黄	A: $Y=548.193X+8438.02$ ($r=0.9992$) B: $Y=531.287X+8664.17$ ($r=0.9992$)	20 ~ 1000	96.9	5	98.2±9.1	307	921
				7.5	113.8±8.2		
				10	91.1±2.1		
酸性橙 7	A: $Y=16685.6X+167156$ ($r=0.9975$) B: $Y=14394.1X+147539$ ($r=0.9954$)	50 ~ 1000	86.3	5	94.1±13.2	38	114
				7.5	106.8±6.6		
				10	117.6±5.2		
酸性绿 50	A: $Y=1011.74X+59474.9$ ($r=0.9901$) B: $Y=992.343X+68452.4$ ($r=0.9917$)	50 ~ 1000	98.1	5	87.3±7.9	107	321
				7.5	111.6±3.0		
				10	110.0±11.6		
橙黄 G	A: $Y=8373.64X-213207$ ($r=0.9994$) B: $Y=7176.39X-202237$ ($r=0.9988$)	50 ~ 1000	85.7	5	89.9±2.1	31	93
				7.5	85.4±8.8		
				10	92.1±7.8		
孟加拉红	A: $Y=1583.60X+63439.5$ ($r=0.9969$) B: $Y=1387.97X+59362.1$ ($r=0.9954$)	50 ~ 1000	87.7	5	81.4±4.1	307	921
				7.5	88.2±15.4		
				10	100.7±12.2		
荧光桃红	A: $Y=1419.84X+28085.5$ ($r=0.9915$) B: $Y=1258.66X+23975.1$ ($r=0.9904$)	20 ~ 1000	88.7	5	91.3±8.6	441	1323
				7.5	106.4±11.5		
				10	104.3±5.9		
丽春红 3R	A: $Y=4668.24X-105505$ ($r=0.9995$) B: $Y=4355.08X-186314$ ($r=0.9967$)	20 ~ 1000	93.3	5	88.8±2.7	37	111
				7.5	87.5±5.7		
				10	87.4±6.8		
荧光素钠	A: $Y=11103.1X-122144$ ($r=0.9903$) B: $Y=10048.4X-163554$ ($r=0.9927$)	20 ~ 1000	90.5	5	95.1±4.6	126	378
				7.5	90.0±4.3		
				10	95.0±3.0		
罗丹明 B	A: $Y=32337.6X+9.05034$ ($r=0.9966$) B: $Y=30046.3X+7.33654$ ($r=0.9978$)	50 ~ 400	92.9	5	73.5±5.1	108	324
				7.5	108.3±3.3		
				10	103.1±6.4		
碱性橙 2	A: $Y=5132.41X+699460$ ($r=0.9995$) B: $Y=5001.27X+636881$ ($r=0.9998$)	100 ~ 1000	97.4	5	96.4±3.5	47	141
				7.5	89.5±3.2		
				10	82.7±2.4		
酸性红 G	A: $Y=1403.76X+28454.9$ ($r=0.9967$) B: $Y=1217.44X+25443.8$ ($r=0.9922$)	50 ~ 400	86.7	5	76.9±6.8	134	402
				7.5	105.8±1.4		
				10	81.1±3.4		
酸性蓝 3	A: $Y=8071.82X+249468$ ($r=0.9982$) B: $Y=7854.34X+215689$ ($r=0.9937$)	20 ~ 1000	97.3	5	88.7±7.9	221	663
				7.5	98.8±5.0		
				10	103.5±2.1		
碱性橙 21	A: $Y=96790.3X+2148940$ ($r=0.9962$) B: $Y=87233.1X+2536560$ ($r=0.9927$)	20 ~ 200	90.1	5	82.5±3.7	79	237
				7.5	92.1±4.5		
				10	83.3±2.2		
碱性橙 22	A: $Y=71791.2X+5064290$ ($r=0.9999$) B: $Y=68236.2X+4788260$ ($r=0.9997$)	20 ~ 200	95.1	5	102.5±3.6	169	507
				7.5	95.4±3.5		
				10	112.6±4.0		
结晶紫	A: $Y=14740.6X+1981900$ ($r=0.9991$) B: $Y=12983.5X+2113500$ ($r=0.9987$)	50 ~ 1000	88.1	5	87.5±5.4	337	1011
				7.5	93.5±3.7		
				10	92.5±4.6		

续表 3

化合物名称	线性及相关系数	浓度范围 (ng/mL)	ME /%	添加水平 (mg/kg)	平均回收率 /%	检出限 (μg/kg)	定量限 (μg/kg)
隐性结晶紫	A: $Y=59.53438X+77973.5$ ($r=0.9986$) B: $Y=56.36782X+70226.3$ ($r=0.9933$)	50 ~ 1000	94.7	5	77.9±5.8	257	771
				7.5	85.2±4.0		
				10	83.7±3.8		
苏丹红 I	A: $Y=5130.63X+50111.9$ ($r=0.9999$) B: $Y=4624.17X+48813.4$ ($r=0.9996$)	20 ~ 1000	90.1	5	83.2±6.9	76.4	229.2
				7.5	87.2±5.9		
				10	86.6±5.1		
苏丹红 II	A: $Y=16323.1X+541306$ ($r=0.9994$) B: $Y=14869.4X+516378$ ($r=0.9997$)	20 ~ 1000	91.1	5	96.8±3.4	89	267
				7.5	89.8±4.3		
				10	93.5±6.7		
苏丹红 III	A: $Y=4369.33X+826530$ ($r=0.9997$) B: $Y=4087.47X+765234$ ($r=0.9989$)	20 ~ 1000	93.6	5	79.9±5.2	175	525
				7.5	86.2±2.9		
				10	84.6±4.7		
苏丹红 IV	A: $Y=488.161X+28970.8$ ($r=0.9976$) B: $Y=4387.47X+765234$ ($r=0.9989$)	20 ~ 1000	89.9	5	92.5±6.7	111	333
				7.5	87.7±5.0		
				10	86.4±5.6		
隐性孔雀石绿	A: $Y=288727X+19614100$ ($r=0.9956$) B: $Y=254638X+17562300$ ($r=0.9973$)	20 ~ 200	88.2	5	74.2±8.7	39	117
				7.5	78.2±16.7		
				10	84.2±4.7		
偶氮玉红	A: $Y=431251X-5108.07$ ($r=0.9956$) B: $Y=472633X-4985.23$ ($r=0.9994$)	20 ~ 1000	109.6	5	85.4±8.6	227	681
				7.5	107.6±7.0		
				10	105.4±5.9		
橙黄 1	A: $Y=14264.6X-1481160$ ($r=0.9975$) B: $Y=13698.1X-1256850$ ($r=0.9965$)	50 ~ 1000	96.0	5	95.9±2.6	235	705
				7.5	102.1±3.7		
				10	105.4±4.2		
酸性红 87	A: $Y=1910.69X-3803.54$ ($r=0.9991$) B: $Y=1887.46X-4112.78$ ($r=0.9996$)	20 ~ 400	98.8	5	84.3±6.9	74	222
				7.5	82.1±7.7		
				10	92.8±3.8		
酸性紫 7	A: $Y=159.568X+2011.19$ ($r=0.9988$) B: $Y=143.699X+1984.30$ ($r=0.9991$)	20 ~ 1000	90.1	5	77.9±11.3	347	1041
				7.5	86.9±4.5		
				10	82.8±3.6		
甜蜜素	A: $Y=12527.2X-167553$ ($r=0.9997$) B: $Y=13347.4X-200141$ ($r=0.9999$)	20 ~ 1000	106.6	5	102.2±1.5	259	777
				7.5	92.5±2.4		
				10	95.6±2.2		
安赛蜜	A: $Y=15749.4X+103227$ ($r=0.9990$) B: $Y=17263.3X+112354$ ($r=0.9985$)	50 ~ 1000	109.6	5	94.7±1.9	45	135
				7.5	96.4±2.5		
				10	100.5±1.0		
阿斯巴甜	A: $Y=13753.6X+40805.7$ ($r=0.9999$) B: $Y=12576.5X+33687.1$ ($r=0.9984$)	20 ~ 1000	91.4	5	98.7±0.9	40	120
				7.5	94.2±1.3		
				10	98.2±1.3		
三氯蔗糖	A: $Y=186.705X-3740.13$ ($r=0.9981$) B: $Y=177.962X-3124.62$ ($r=0.9975$)	20 ~ 1000	95.3	5	86.5±2.6	36.1	108.3
				7.5	92.3±1.4		
				10	86.0±2.0		
纽甜	A: $Y=16764.2X+494944$ ($r=0.9987$) B: $Y=17014.4X+400164$ ($r=0.9927$)	50 ~ 1000	101.5	5	87.4±1.2	45	135
				7.5	98.5±1.8		
				10	104.9±2.1		

续表 3

化合物名称	线性及相关系数	浓度范围 (ng/mL)	ME /%	添加水平 (mg/kg)	平均回收率 /%	检出限 (μg/kg)	定量限 (μg/kg)
阿力甜	A: $Y=13413.2X+839280$ ($r=0.9927$) B: $Y=14411.8X+777651$ ($r=0.9939$)	50 ~ 1000	107.4	5	77.7±3.7	29	87
				7.5	85.0±1.9		
				10	104.8±3.1		
糖精钠	A: $Y=1967.21X-4183.47$ ($r=0.9987$) B: $Y=1784.37X-2963.97$ ($r=0.9991$)	20 ~ 1000	90.7	5	79.3±6.3	211	633
				7.5	96.9±7.2		
				10	97.2±1.1		
抗坏血酸葡萄糖苷	A: $Y=7976.54X-173318$ ($r=0.9998$) B: $Y=7837.61X-1523451$ ($r=0.9992$)	20 ~ 1000	98.3	5	87.2±5.6	352	1056
				7.5	95.2±6.0		
				10	93.5±4.5		
异麦芽糖	A: $Y=121.440X+3678.91$ ($r=0.9972$) B: $Y=111.212X+3451.87$ ($r=0.9966$)	20 ~ 1000	91.6	5	96.9±2.4	23.7	71.1
				7.5	97.2±4.0		
				10	100.5±1.0		
异麦芽三糖	A: $Y=49.1625X-26.7153$ ($r=0.9976$) B: $Y=42.2345X-23.6540$ ($r=0.9958$)	20 ~ 1000	85.9	5	89.0±5.5	123	369
				7.5	86.3±3.1		
				10	82.2±2.6		
异麦芽四糖	A: $Y=30.0972X-701.863$ ($r=0.9989$) B: $Y=27.5648X-652.234$ ($r=0.9996$)	50 ~ 1000	91.6	5	84.4±8.7	246	738
				7.5	82.4±2.1		
				10	86.6±1.1		

3.6 市售样品的检测

应用本方法对 30 件购自超市的饮料样品进行分析,共检出苯甲酸阳性样品 4 个,检出值分别为 172、140、154、115 mg/kg; 山梨酸阳性样品 2 个,检出值分别为 240、79 mg/kg; 安赛蜜阳性样品 2 个,检出值分别为 170、129 mg/kg; 甜蜜素阳性样品 1 个,检出值为 450 mg/kg; 柠檬黄阳性样品 1 个,检出值为 1.5 mg/kg。根据国标 GB 2760-2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》对各类饮料食品添加剂的使用限量标准,以上阳性样品检出值均在限量范围内,符合国家标准要求^[16]。

4 结 论

本文建立了高效液相色谱-串联质谱法测定饮料中 54 种食品添加剂的分析方法。该方法具有简单快速、灵敏度高、重现性好等特点,能够满足饮料中痕量分析要求,为饮料食品中添加剂的检测提供了实用的技术手段,对监测食品中添加剂的使用情况具有重要意义。

参考文献

[1] 李学莉, 胡海娥, 梁洪源, 等. 国内外新品类能量饮料发展趋势[J]. 饮料工业, 2018, 21(6): 71-75.
Li XL, Hu HE, Liang HY, et al. Development trend of the new categories of energy beverage at home and abroad [J]. Bever Ind, 2018, 21(6): 71-75.
[2] 吴文清. 浅谈食品添加剂对食品安全的影响[J]. 现代食品, 2018, (24):

59-62.
Wu WQ. The influence of food additives on food safety [J]. Mod Food, 2018, (24): 59-62.
[3] 陈荣圻. 食品添加剂对食品安全的影响[J]. 染料与染色, 2016, 53(5): 5-12.
Chen RQ. Effect of food additives on food safety [J]. Dyestuffs Colorat, 2016, 53(5): 5-12.
[4] Gao H, Yang M, Wang M, et al. Determination of 30 synthetic food additives in soft drinks by HPLC/electrospray ionization-tandem mass spectrometry [J]. J AOAC Int, 2013, 96(1): 110-115.
[5] Zyglar A, Wasik A, Namies'nik J. Analytical methodologies for determination of artificial sweeteners in food stuffs [J]. Trends Anal Chem, 2009, 28(9): 1082-1102.
[6] Zalko D, Jacques C, Duplan H, et al. Viable skin efficiently absorbs and metabolizes bisphenol A [J]. Chemosphere, 2011, 82(3): 424-430.
[7] 柯润辉, 王丽娟, 安红梅, 等. 超高效液相色谱-质谱/质谱法快速测定饮料中 8 种甜味剂[J]. 饮料工业, 2013, 16(9): 35-38.
Ke YH, Wang LJ, An HM, et al. Simultaneous determination of 8 sweeteners in beverages by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Bever Ind, 2013, 16(9): 35-38.
[8] 宋宁宁. 食品中合成色素的安全性及其检测方法研究现状[J]. 食品与药品, 2013, 15(6): 440-442.
Song NN. Security of synthetic pigments in food and status quo of relevant analysis methods [J]. Food Drugs, 2013, 15(6): 440-442.
[9] 卢士英, 邹明强. 食品中常见的非食用色素的危害与检测[J]. 中国仪器仪表, 2009, (8): 45-50.
Lu SY, Zou MQ. The hazards of frequent inedible colorants used in foods

- and their detection methods [J]. *China Instrum*, 2009, (8): 45–50.
- [10] 高莹, 高杰, 张勋, 等. 基于液相色谱-串联质谱法检测多种食品中的 9 种非食用色素[J]. *食品与发酵工业*, 2017, 42(1): 183–188.
- Gao Y, Gao J, Zhang X, *et al.* Determination of 9 illegal pigments in food by LC-MS/MS method [J]. *Food Ferment Ind*, 2017, 42(1): 183–188.
- [11] Wang X, Wang SJ, Cai ZW. The latest developments and applications of mass spectrometry in food-safety and quality analysis [J]. *Trac Trends Anal Chem*, 2013, 52: 170–185.
- [12] 赵灵芝, 黄笑晨, 花中霞, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定酒中 6 种对羟基苯甲酸酯类防腐剂[J]. *食品研究与开发*, 2019, 40(15): 147–151.
- Zhao LZ, Huang XC, Hua ZX, *et al.* Simultaneous determination of 6 parabens in wine by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Food Res Dev*, 2019, 40(15): 147–151.
- [13] Routledge EJ, Parker J, Odum J, *et al.* Some alkyl hydroxyl benzoate preservatives (parabens) are estrogenic [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1998, 153(1): 12–19.
- [14] 高敏国, 陆小燕. 我国几类食品添加剂滥用现状、危害及应对措施[J]. *职业与健康*, 2013, 29(24): 3351–3353.
- Gao MG, Lu XY. Current situation, hazards and response measures on abuse of some food additives in China [J]. *Occup Health*, 2013, 29(24): 3351–3353.
- [15] 林永辉, 刘正才, 杨方, 等. 柱前衍生化液相色谱-串联质谱法测定茶叶中草铵膦的残留量[J]. *色谱*, 2012, 30(12): 1260–1264.
- Lin YH, Liu ZC, Yang F, *et al.* Determination of glufosinate residue in tea by liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with precolumn derivatization [J]. *Chin J Chromatogr*, 2012, 30(12): 1260–1264.
- [16] GB 2760-2014 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准[S].
- GB 2760-2014 National food safety standard-Standards for use of food additives [S].

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



王 警, 硕士, 主管药师, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: 352495485@qq.com



莫紫梅, 硕士, 副主任技师, 主要研究方向为食品药品质量与安全。
E-mail: 269636574@qq.com