

# LC-MS/MS 法测定豆制品中碱性嫩黄等 11 种工业染料

LCMSMS-717

**摘要：**本文采用岛津三重四极杆液质联用仪建立了豆制品中碱性嫩黄等 11 种染料定量分析方法。该方法中，在 0.2~10 ng/mL 浓度范围内线性良好，相关系数均大于 0.999，准确度为 92.4~108.3%。精密度实验中，0.5 ng/mL 标准溶液重复分析 6 次，保留时间 RSD<0.05%；峰面积 RSD<4.61%。实际样品加标实验中，2、6、40 ng/g 加标回收率分别为 81.2~118.4%、84.4~109.3% 和 94.8~111.1%。实验结果表明，该方法能快速准确定量分析豆制品中 11 种工业染料。

**关键词：**豆制品 工业染料 LC-MS/MS

碱性嫩黄、苏丹橙、碱性橙等均属于工业染料，主要用于纺织品、纸张、家具等工业产品的染色。但是由于这些染料化学性质稳定，不易褪色，颜色鲜艳，所以被不法商贩添加到豆制品中。而这些工业染料大部分都有致癌、致突变和致畸性，被人食用后对身体有很大的伤害。工业染料是 GB 2760-2014《食品

添加剂使用卫生标准》中禁止添加至食品中的染料。

本文参考食品补充检验方法 BJS 202204《豆制品中碱性嫩黄等 11 种工业染料的测定》，采用 LC-MS/MS 测定碱性嫩黄等 11 种工业染料，各目标化合物峰形良好，灵敏度高，为工业染料的测定提供参考。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-40D<sub>XS</sub> 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。

液相具体配置为：

输液泵：LC-40D<sub>XS</sub>×2

脱气机：DGU-403

柱温箱：CTO-40S

系统控制器：SCL-40

自动进样器：SIL-40C<sub>XS</sub>

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack Velox C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.8 μm,

P/N: 227-32007-03, 岛津（上海）实验器材有限公司)

流动相：A 相 -0.1% 甲酸水溶液（含 5 mmol/L 乙酸铵），B 相 - 乙腈

流速：0.2 mL/min

柱温：30°C

进样体积：5 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 20%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.01	Pumps	Pump B Conc.	20
4.00	Pumps	Pump B Conc.	50
5.00	Pumps	Pump B Conc.	70
8.00	Pumps	Pump B Conc.	95

15.00	Pumps	Pump B Conc.	95
16	Pumps	Pump B Conc.	20
20	Pumps	Pump B Conc.	20

质谱条件

离子源: ESI (+)	接口温度: 300°C
接口电压: 4.5 kV	DL 温度: 250°C
雾化气: 氮气 3.0 L/min	加热块温度: 400°C
加热气: 空气 10.0 L/min	扫描模式: MRM
干燥气: 氮气 10.0 L/min	MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数

No.	中文名	英文名	CAS. No.	离子对	Q1 Pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
1	碱性嫩黄	Auramine O	2465-27-2	267.7>147.15*	-22	-28	-15
				267.7>252.25	-14	-32	-16
2	碱性橙 21	Basic Orange 21	2056-93-7	315.2>300.2*	-23	-32	-20
				315.2>270.2	-24	-39	-22
3	苏丹橙 G	Sudan Orange G	2051-85-6	215.2>93.2*	-11	-23	-10
				215.2>198.15	-11	-14	-30
4	分散橙 3	Disperse Orange 3	2051-85-6	243.2>122.05*	-19	-17	-12
				243.2>75.1	-26	-34	-27
5	分散黄 3	Disperse Orange 3	730-40-5	270.3>107.15*	-10	-23	-12
				270.3>150.15	-29	-19	-26
6	分散橙 11	Disperse Orange 11	82-28-0	238.2>165.2*	-10	-35	-19
				238.2>223.15	-12	-25	-24
7	分散橙 37	Disperse Orange 37	13301-61-6	392.2>351.15*	-12	-23	-17
				392.2>133.2	-12	-41	-22
8	二甲基黄	Methyl yellow	60-11-7	226.2>77.15*	-18	-21	-28
				226.2>120.2	-26	-32	-22
9	分散橙 1	Disperse Orange 1	2581-69-3	319.2>169.15*	-13	-22	-18
				319.2>122.1	-16	-21	-28
10	二乙基黄	Ethyl yellow	2481-94-9	254.3>77.1*	-10	-25	-30
				254.3>134.2	-10	-29	-25
11	碱性橙 22	Basic Orange 22	4657-00-5	390.8>376.25*	-17	-26	-27
				390.8>360.15	-18	-47	-15

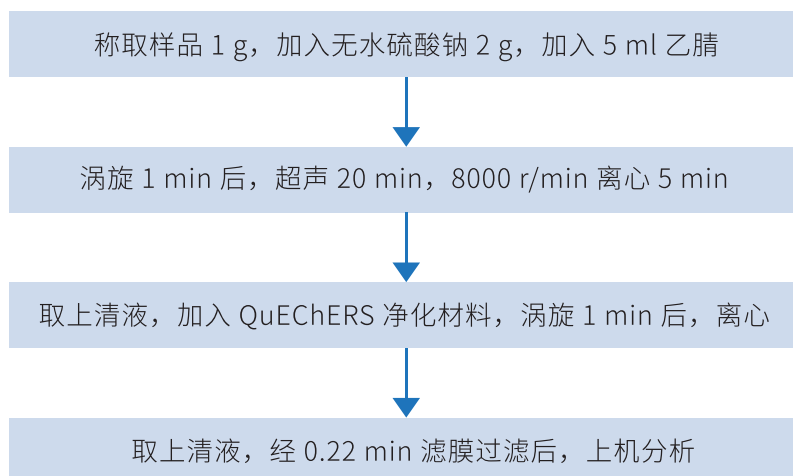
注: \* 表示定量离子

1.3 标准品配制

标准储备液: 称取标准品 10 mg, 分散橙 3、碱性嫩黄、分散黄 3、碱性橙 21 和分散橙 37 加入 10 mL 甲醇溶解, 其余染料加入 10 mL 乙腈溶解, 储备液浓度为 1 mg/mL;

标准溶液: 取适量标准储备液, 用空白基质溶液稀释, 配制浓度为: 0.2、0.5、1、2、5、10 ng/mL 的基质标准溶液。

## 1.4 样品前处理



## ■ 结果与讨论

### 2.1 标准溶液色谱图

本实验采用基质标准溶液，溶剂为 100% 乙腈，与流动相初始比例相差较大，标准模式进样时，溶剂效应明显，最先出峰的两个目标物出现明显峰前延现象，通过 Sil-40 自动进样器同时注入 (Co-injection) 功能 (示意图见图 1)，同时注入与进样量相同体积的水，峰前延得到明显改善，具体见图 2。

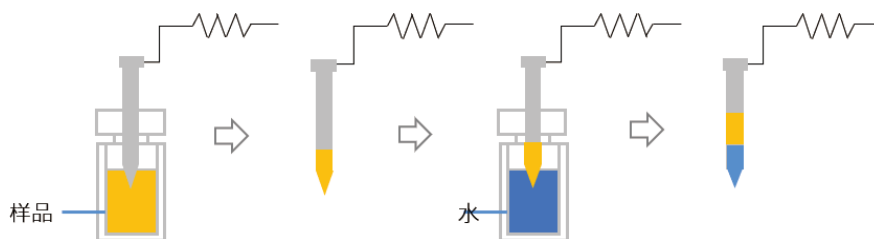
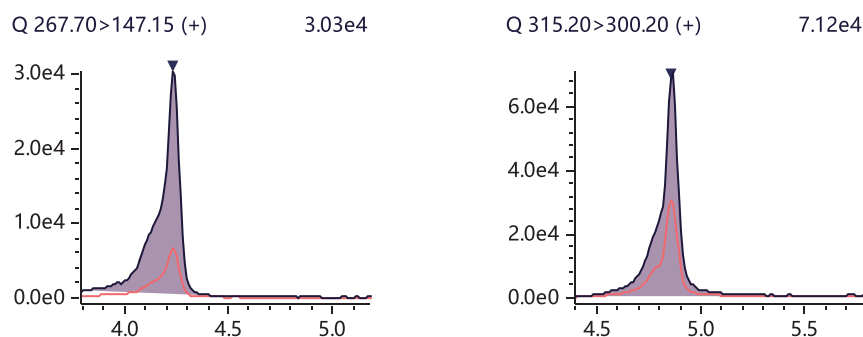


图 1 Co-injection 示意图

标准注入：



同时注入：

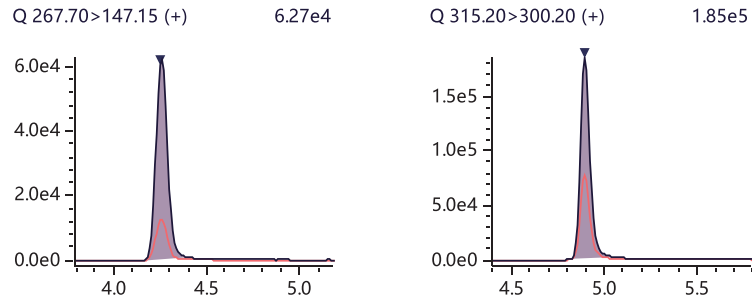


图 2 碱性嫩黄（左）和碱性橙 21（右）标准注入和同时注入 MRM 图比较（浓度：10 ng/mL）

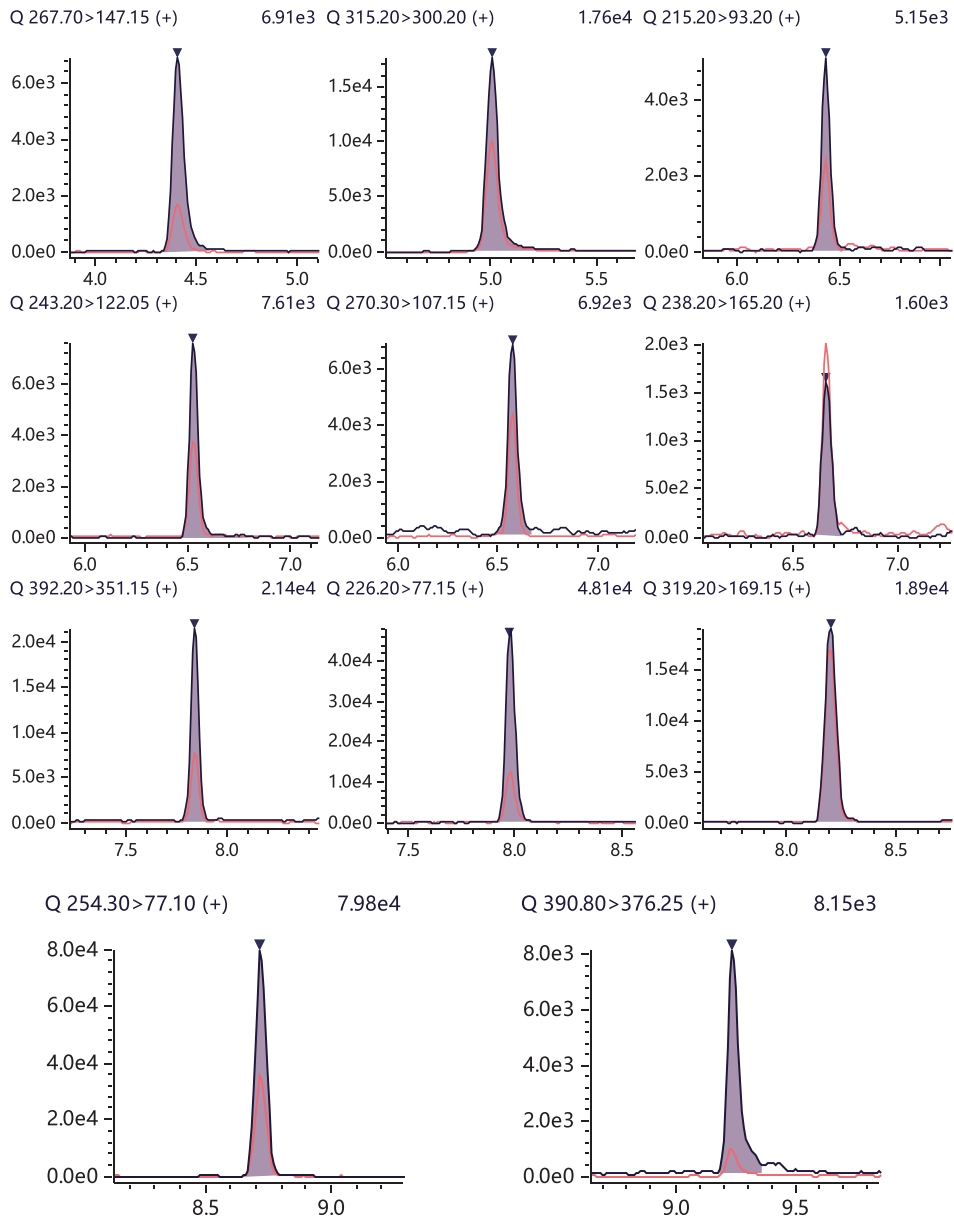


图 3 11 种染料 MRM 图 (0.5 ng/mL)

## 2.2 校准曲线

按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，采用外标法建立校准曲线，结果如图 3 所示。11 种组分在 0.2~10 ng/mL 线性浓度范围内，线性相关性良好，线性相关系数大于 0.999，准确度为 92.4~108.3%，具体结果见表 3，部分化合物校准曲线图如图 4 所示。

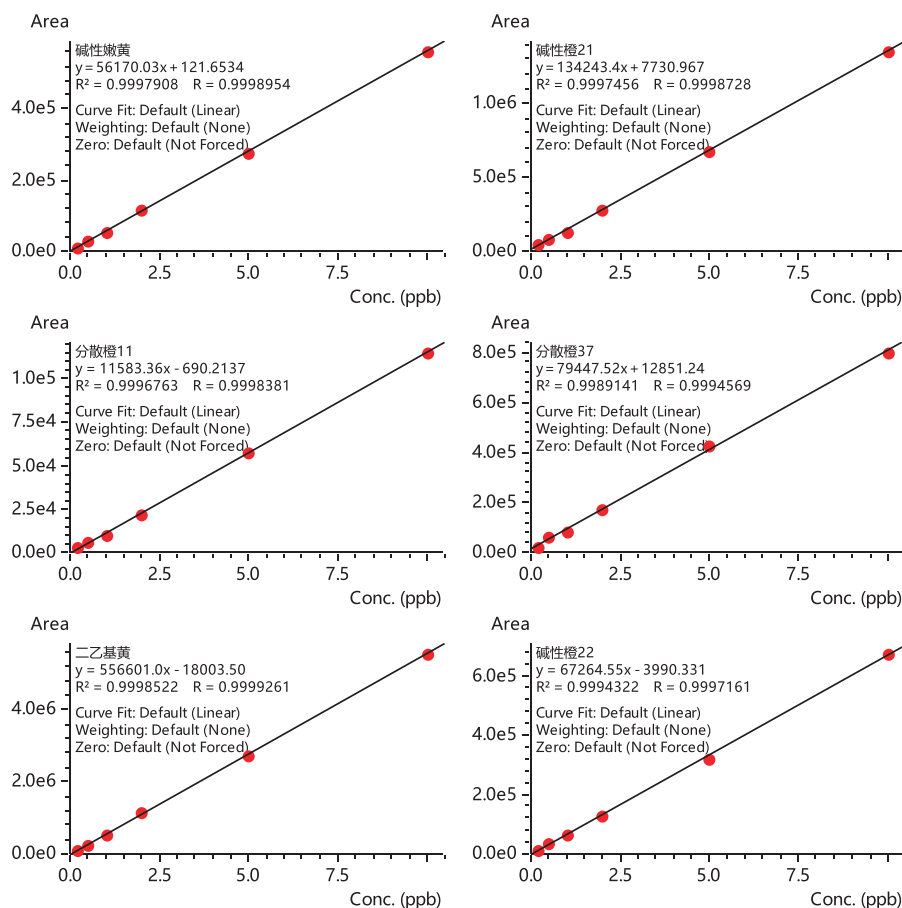


图 4 部分染料校准曲线

表 3 梯 11 种化合物校准曲线、线性及准确性表

No.	化合物名	校准曲线	线性相关系数 r	准确性 (%)
1	碱性嫩黄	$Y=56044X+245.7$	0.9998	96.6~104.0
2	碱性橙 21	$Y=134226X+4937.4$	0.9998	93.5~103.6
3	苏丹橙 G	$Y=31640X+1597.5$	0.9998	95.6~105.2
4	分散橙 3	$Y=46239X+232.4$	0.9991	95.1~106.2
5	分散黄 3	$Y=41318X+913.8$	0.9999	97.3~103.0
6	分散橙 11	$Y=11647X-1317.9$	0.9998	96.6~104.3
7	分散橙 37	$Y=81464X+3739.8$	0.9994	93.5~104.7
8	二甲基黄	$Y=302005X-3106.8$	0.9999	93.4~105.9
9	分散橙 1	$Y=121467X+4503.7$	0.9996	92.4~105.4
10	二乙基黄	$Y=553258X-5509.4$	0.9997	95.1~107.3
11	碱性橙 22	$Y=66143X-749.671$	0.9997	96.5~108.3

### 2.3 精密度实验

按照 1.2 分析条件, 将浓度为 0.5 ng/mL 的基质标准溶液重复分析 6 次。11 种化合物保留时间 RSD 小于 0.045%, 峰面积 RSD 小于 4.61%, 具体结果如表 4 所示。

表 4 标准溶液 (0.5 ng/mL) 保留时间和峰面积精密度结果 (n=6)

No.	化合物	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)
1	碱性嫩黄	0.043	2.58
2	碱性橙 21	0.034	2.99
3	苏丹橙 G	0.029	4.49
4	分散橙 3	0.031	4.15
5	分散黄 3	0.031	3.49
6	分散橙 11	0.045	2.71
7	分散橙 37	0.036	2.25
8	二甲基黄	0.039	1.06
9	分散橙 1	0.036	4.61
10	二乙基黄	0.033	2.23
11	碱性橙 22	0.044	4.20

### 2.4 样品测定及加标实验结果

按照 1.4 中样品处理方法对某豆腐样品进行处理, 上机分析, 样品中未检出 11 种染料, 对此样品进行加标实验, 加标量为 2、6 和 40 ng/g, 重复实验 3 次, 定量及加标结果如表 5 所示。

表 5 豆腐样品中 11 种化合物定量及加标结果

序号	化合物名	样品浓度	加标量 (2 ng/g)		加标量 (6 ng/g)		加标量 (40 ng/g)	
			回收率 (%)	RSD(%)	回收率 (%)	RSD(%)	回收率 (%)	RSD(%)
1	碱性嫩黄	N.D.	104.93	1.53	97.93	2.31	103.65	0.43
2	碱性橙 21	N.D.	110.52	2.51	97.61	2.95	107.77	1.11
3	苏丹橙 G	N.D.	82.43	1.62	85.51	4.56	96.07	0.64
4	分散橙 3	N.D.	85.40	4.66	84.43	3.44	98.43	2.13
5	分散黄 3	N.D.	104.45	5.65	94.43	3.27	101.59	1.56
6	分散橙 11	N.D.	112.48	2.43	94.24	4.23	96.53	1.43
7	分散橙 37	N.D.	96.36	2.39	83.72	2.54	96.15	1.06
8	二甲基黄	N.D.	112.13	1.15	94.36	0.82	100.94	0.11
9	分散橙 1	N.D.	81.21	2.96	84.46	0.68	94.85	0.77
10	二乙基黄	N.D.	106.69	0.46	92.63	0.48	98.95	1.26
11	碱性橙 22	N.D.	118.42	2.00	109.35	4.40	111.12	3.66

备注: N.D. 表示未检出

## ■ 结论

本文采用岛津三重四极杆液质联用仪建立了豆制品中碱性嫩黄等 11 种染料定量分析方法。该方法中，在 0.2~10 ng/mL 线性范围内线性良好，相关系数均大于 0.999，准确度为 92.4~108.3%。精密度实验中，0.5 ng/mL 标准溶液重复分析 6 次，保留时间 RSD <0.05%；峰面积 RSD <4.61%。实际样品加标实验中，2、6、40 ng/g 加标回收率分别为 81.2~118.4%、84.4~109.3% 和 94.8~111.1%。实验结果表明，该方法能快速准确定量分析豆制品中 11 种工业染料。

岛津应用云

