

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 检测食品中染料

LCMSMS-040

摘要：本文建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用检测饼干中 6 种工业染料的方法。使用外标法绘制 6 种工业染料的校准曲线，线性良好，相关系数为 0.999 以上；对不同浓度的标准溶液进行精密度实验，连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.553 % 和 4.786 % 以下，系统精密度良好。该方法灵敏度高，分析速度快，适合于食品中碱性黄 1、酸性橙 20、碱性橙 2、酸性橙 7、碱性嫩黄 O 和酸性黄 36 染料残留的检测。

关键词：染料 三重四极杆质谱 饼干 残留

工业染料可将皮毛制品、纤维制品、陶瓷制品染成鲜亮的五颜六色。碱性黄 1、酸性橙 20、碱性橙 2、酸性橙 7、碱性嫩黄 O 和酸性黄 36 均属于工业染料。这些染料都有致癌、致畸、致突变性，对人体健康具有严重的危害。在我国，工业染料被严格禁止添加于食品中，但由于这些工业染料价格便宜、着色强、稳定性强，不法商人在利益驱使下，经常会将工业染料违法加入，用于食品的染色。

目前这些染料常用检测方法有高效液相色谱法和液相色谱—串联质谱法。液相色谱法应用较为广泛，但灵敏度差、定性能力差，假阳性率高。液相色谱质谱联用法是现在一种比较认可的技术用于检测食品中非法添加的染料。本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用系统检测 6 种工业染料（碱性黄 1、酸性橙 20、碱性橙 2、酸性橙 7、碱性嫩黄 O 和酸性黄 36）的方法。该方法具有灵敏度高，分析速度快的优点。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A5 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8030 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.41 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III 2.0 mm I.D. × 50 mm L., 1.6 μm

流动相：

A - 10 mM 醋酸铵的水溶液 - 甲酸 (100:0.1;v/v);

B - 乙腈

流速：0.4 mL/min

柱温：40°C

进样量：5 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 30%，洗脱程序见表 1

质谱条件

离子化模式：碱性黄 1、碱性橙 2 和碱性嫩黄 O 使用 ESI(+) 模式；酸性橙 20、酸性橙 7 和酸性黄 36 使用 ESI(-) 模式。

离子喷雾电压：4.5 kV

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 15 L/min

碰撞气：氩气

DL 温度：250°C

加热模块温度：400°C

扫描模式：多反应监测 (MRM)

驻留时间：20 ms

延迟时间：3 ms

MRM 参数：见表 2

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.8	Pumps	Pump B Conc.	60
1.6	Pumps	Pump B Conc.	60
1.61	Pumps	Pump B Conc.	30
2.5	Controller	Stop	

1.3 标准品溶液的配制

标准物质：共 6 种，分别为碱性黄 1、酸性橙 20、碱性橙 2、酸性橙 7、碱性嫩黄 O 和酸性黄 36。

标准工作溶液配制：用甲醇配制 20 mg/L 的混合标准中间溶液，用 30 % 乙腈水溶液稀释成 10、20、50、100、200 和 500 $\mu\text{g/L}$ 不同浓度的混合标准工作液。

1.4 样品前处理方法

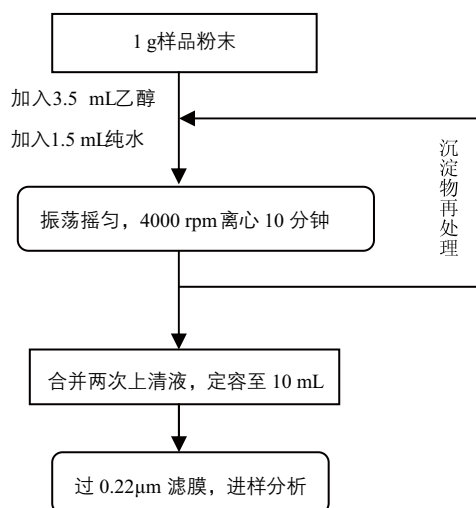


表 2 MRM 优化参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
碱性嫩黄 O	268.4	147.1 *	-30.0	-30.0	-16.0
		131.1	-30.0	-50.0	-26.0
碱性橙 2	213.2	77.2 *	-11.0	-20.0	-17.0
		121.2	-11.0	-20.0	-14.0
碱性黄 1	283.0	267.1 *	-30.0	-35.0	-30.0
		252.1	-30.0	-50.0	-27.0
酸性黄 36	352.0	156.1 *	12.0	35.0	29.0
		80.0	12.0	50.0	29.0

结果讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

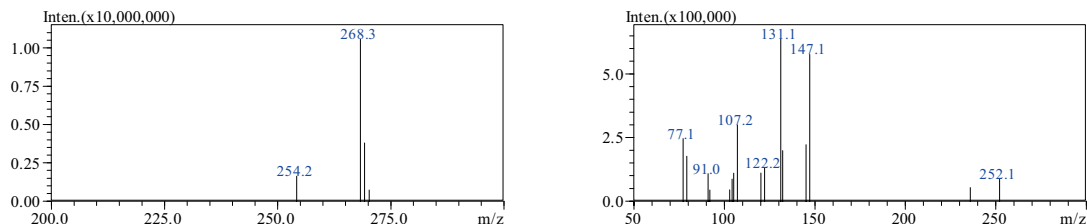


图1 碱性嫩黄O 的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (CE值-45V) (右图)

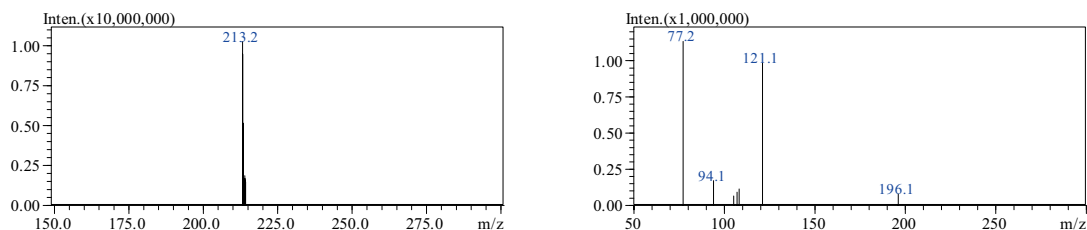


图2 碱性橙 2 的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (CE值-20V) (右图)

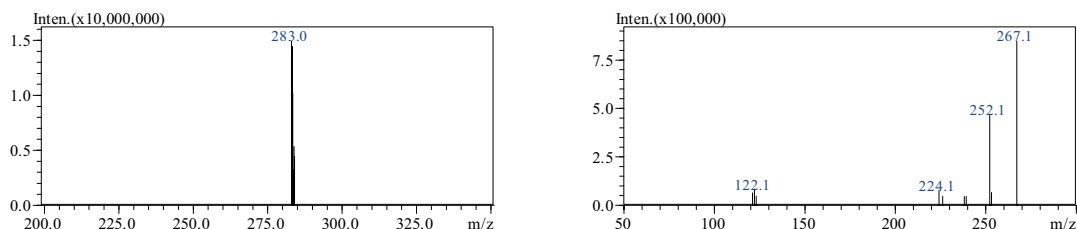


图3 碱性黄1 的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (CE值-45V) (右图)

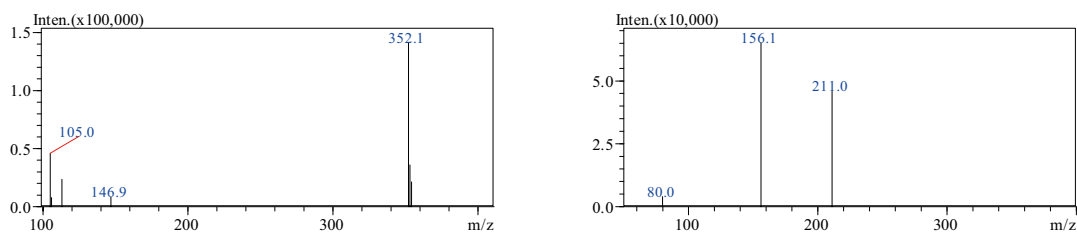


图4 酸性黄36的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (CE值30V) (右图)

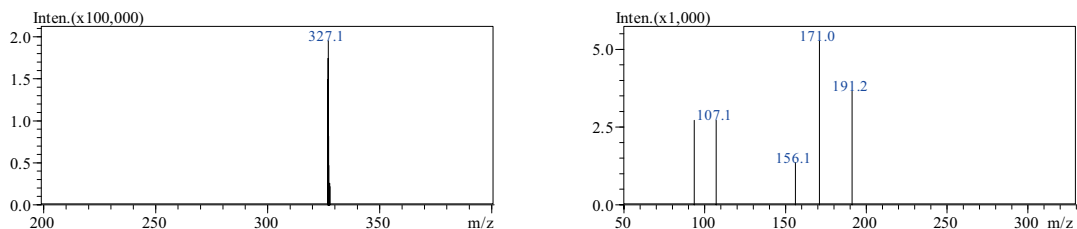


图5 酸性橙7的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (CE值30V) (右图)

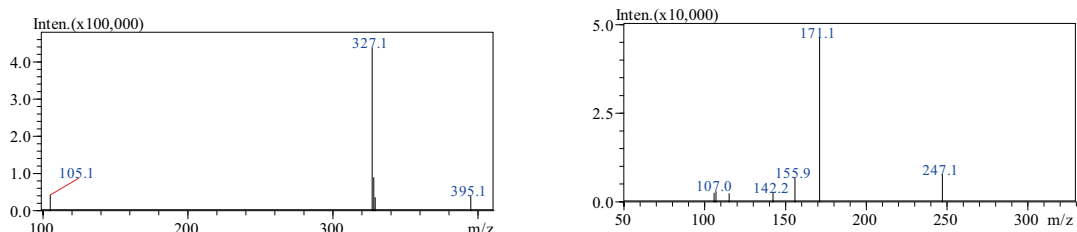


图6 酸性橙20的一级质谱图 (左图) 和产物离子扫描质谱图 (CE值25V) (右图)

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

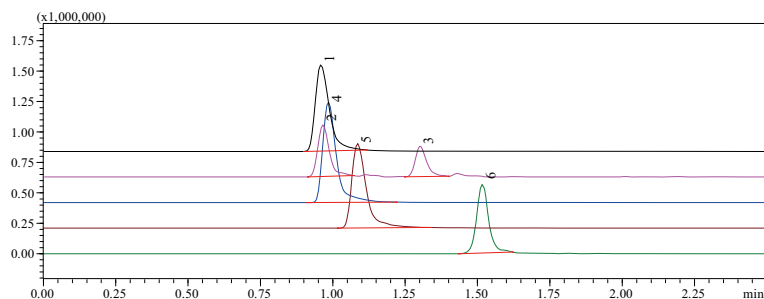


图7 标准样品(500 µg/L)的MRM色谱图

(1、碱性黄1；2、酸性橙20；3、酸性橙7；4、碱性嫩黄O；5、碱性橙2；6、酸性黄36)

2.3 线性范围

将不同浓度的混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 8~13 所示；所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。

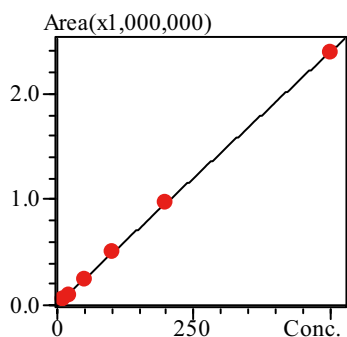


图8 碱性黄1的校准曲线

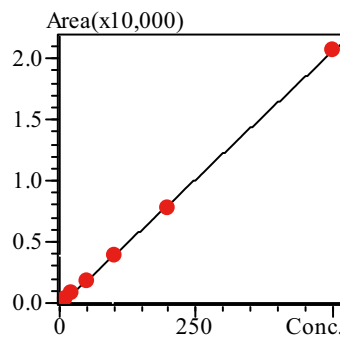


图9 酸性橙20的校准曲线

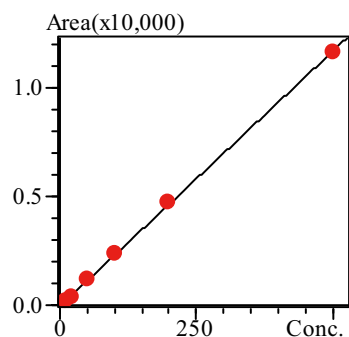


图10 酸性橙7的校准曲线

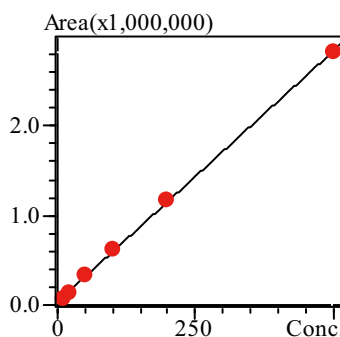


图11 碱性嫩黄O的校准曲线

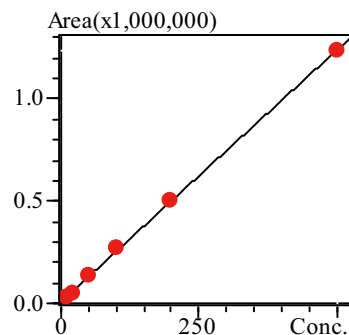


图12 碱性橙2的校准曲线

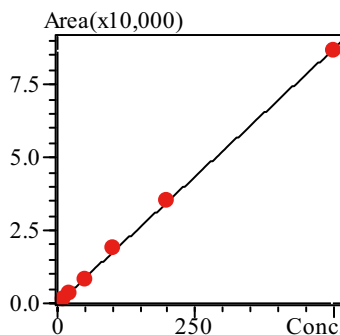


图13 酸性黄36的校准曲线

表3 校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	相关系数 r
1	碱性黄 1	$Y = (4763.02)X + (14280.1)$	10~500	0.9999
2	酸性橙 20	$Y = (41.6687)X + (-268.801)$	10~500	0.9996
3	酸性橙 7	$Y = (23.4618)X + (-54.0828)$	10~500	0.9999
4	碱性嫩黄 O	$Y = (5609.37)X + (33693.9)$	10~500	0.9998
5	碱性橙 2	$Y = (2463.23)X + (8577.69)$	10~500	0.9999
6	酸性黄 36	$Y = (173.996)X + (101.200)$	10~500	0.9997

2.4 精密度实验

对不同浓度混合标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果表明，不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.046 % ~ 0.553 % 和 1.695 % ~ 4.786 % 之间，仪器精密度良好。

表4 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

样品名称	RSD% (50 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (100 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (200 $\mu\text{g/L}$)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
碱性黄 1	0.060	3.434	0.111	2.414	0.155	2.277
酸性橙 20	0.553	4.539	0.426	3.900	0.129	1.950
酸性橙 7	0.316	4.786	0.318	3.758	0.106	2.415
碱性嫩黄 O	0.092	2.114	0.147	3.831	0.087	2.165
碱性橙 2	0.103	2.297	0.165	2.844	0.104	2.410
酸性黄 36	0.046	4.529	0.070	1.695	0.086	1.832

2.5 灵敏度实验

为考察仪器的灵敏度，将 10 $\mu\text{g/L}$ 混合标准工作液按 1.2 中的分析条件下进行测定。通过 LabSolutions Ver. 5.41 软件计算信噪比和检出限（以 3 倍信噪比计算），碱性黄 1、酸性橙 20、酸性橙 7、碱性嫩黄 O、碱性橙 2 和酸性黄 36 的信噪比和方法检出限如表 5 所示。

表5 信噪比 (S/N) 和方法检出限(LOD)

名称	S/N	LOD($\mu\text{g/kg}$)
碱性黄 1	108.33	3.05
酸性橙 20	8.63	38.24
酸性橙 7	4.97	66.40
碱性嫩黄 O	216.69	1.52
碱性橙 2	128.90	2.56
酸性黄 36	35.93	9.18

2.6 样品检测结果

以 2 种市售饼干为检测的食品样品，样品前处理方法参见 1.4，检测结果见表 6。

表 6 2种饼干样品的检测结果

名称	饼干 1	饼干 2
碱性黄 1	ND	ND
酸性橙 20	ND	ND
酸性橙 7	ND	ND
碱性嫩黄 O	ND	ND
碱性橙 2	ND	ND
酸性黄 36	ND	ND

注：ND表示未检出

■ 结论

建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用测定食品中 6 种工业染料的方法。该方法在 2.5 min 之内完成 6 种目标物的分离分析，且精密度高，线性范围宽 (10 ~ 500 g/L)，校准曲线的相关系数在 0.999 以上。同时检测了 2 种市售饼干，均未检出碱性黄 1、酸性橙 20、碱性橙 2、酸性橙 7、碱性嫩黄 O 或酸性黄 36。