

# LCMS-8050 测定辣椒中的色素

## LCMSMS-176

**摘要：**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-8050 联用测定辣椒中色素的方法。36 种色素的线性良好，判定系数均大于 0.995；保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.02~0.26 % 和 0.33~4.73 % 间，仪器精密度良好；其仪器检出限为 0.0004~0.022 ng/mL，定量限为 0.002~0.075 ng/mL；样品加标回收率在 88.5~109.1 % 间。该方法在 10 min 左右实现快速分离分析，因此可以快速、准确的测定 36 种色素残留量。

**关键词：**色素辣椒超高效液相色谱仪三重四极杆质谱仪

食品中添加色素可以改变食品的观感、增加食品的可接受性，我国允许食品中加入可食用色素。工业合成染料主要用于纺织品、皮革制品及木制品的染色，由于其价格低廉、着色强、稳定性高，食品中非法添加工业染料的事件在国内外频繁发生。这些工业染料大部分含有芳香结构，可在人体内代谢分解产生芳香胺类物质，而大多数芳香胺类物质具有高毒性、高残留和“三致”（致

畸、致癌、致突变）等副作用。为了加强对该类物质的监管，国家严令禁止将这类物质添加到食品中，为了保障人们的食品安全，建立食品中多种色素同时测定的方法迫在眉睫。本文参考《GB 2760-2011 食品安全国家标准食品添加剂使用标准（含 14 个增补公告）和软饮料、调味品及加工肉制品中 23 种工业染料检测方法》建立了一种快速灵敏的食品中色素的检测方法。

### 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-8050 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2（输液泵），DGU-20A<sub>SR</sub>（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-8050 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.60 SP2 色谱工作站。

#### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III 2.0 mmI.D.×75 mmL., 1.6 μm

流动相：A：水（5mM 乙酸铵，0.1 % 甲酸）

B：乙腈

流速：0.3 mL/min

柱温：40℃

洗脱方式：梯度洗脱，初始比例 10 %B

表1 通用梯度洗脱程序

Time (min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	10
3.00	Pumps	Pump B Conc.	40
8.00	Pumps	Pump B Conc.	90
12.00	Pumps	Pump B Conc.	90
12.01	Pumps	Pump B Conc.	10
16.00	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器：LCMS-8050

离子源：ESI

雾化气流速：3.0 L/min

加热气流速：10.0 L/min

接口温度：300℃

DL 温度：250℃

加热模块温度：400℃

干燥气流速：10.0 L/min

扫描模式：多反应监测 (MRM)

MRM 参数见表 2

表2 MRM 参数

中文名称	极性	母离子	子离子	Q1 Pre Bias	CE	Q3 Pre Bias	英文名称	CAS
苏丹红I	+	249.00	93.05*	-27	-23	-17	Sudan redI	842-07-9
			232.05	-27	-13	-25		
苏丹红II	+	277.10	121.05*	-30	-22	-22	Sudan redII	3118-97-6
			106.05	-30	-40	-20		
苏丹橙G	+	215.10	93.05*	-25	-25	-17	Sudan orange G	2051-85-6
			198.05	-25	-15	-21		
苏丹黄	+	226.00	77.00*	-28	-22	-30	Sudanyellow	60-11-7
			120.05	-28	-31	-21		
苏丹蓝2	+	351.15	251.10*	-18	-32	-27	Sudan blue 2	17354-14-2
			294.10	-18	-21	-21		
甲苯胺红	+	308.05	128.05*	-16	-28	-24	Toluidine red	2425-85-6
			156.10	-16	-17	-30		
亚甲基蓝	+	284.05	268.05*	-30	-34	-30	Methylene blue	7220-79-3
			252.05	-30	-52	-28		
分散蓝106	+	336.05	178.10*	-17	-18	-19	Disperse blue 106	68516-81-4
			118.10	-17	-45	-21		
分散蓝124	+	378.05	220.10*	-19	-17	-24	Disperse blue 124	61951-51-7
			87.05	-19	-27	-16		
分散橙3	+	243.10	122.05*	-13	-18	-23	Disperse orange 3	730-40-5
			75.00	-13	-32	-29		
分散橙37	+	392.00	350.95*	-20	-22	-25	Disperse orange 37	13301-61-6
			132.95	-20	-37	-25		
分散橙11	+	238.10	167.05*	-12	-37	-18	Disperse orange 11	82-28-0
			165.10	-12	-33	-30		
分散黄3	+	270.10	107.05*	-30	-25	-20	Disperse yellow 3	2832-40-8
			108.05	-30	-31	-20		
分散红1	+	315.10	134.10*	-17	-25	-24	Disperse red 1	2872-52-8
			255.05	-17	-28	-28		
罗丹明B	+	443.10	399.15*	-30	-43	-29	Rhodamine B	81-88-9
			355.10	-30	-55	-25		
碱性橙	+	213.00	77.00*	-26	-19	-30	Chrysoidin	532-82-1
			121.05	-26	-22	-22		
酸性金黄G	+	354.10	157.10*	-18	-20	-25	Acid Yellow G	587-98-4
			169.10	-18	-24	-29		
碱性嫩黄O	+	268.00	147.10*	-30	-32	-30	Auramine O	2465-27-2
			131.05	-30	-48	-24		
间胺黄	-	351.70	156.05*	16	35	28	Metanil yellow	587-98-4
			80.25	16	49	28		
酸性紫49	+	712.10	526.00*	-36	-52	-38	Acid Violet 49	1694-09-3
			340.15	-36	-55	-24		

酸性紫17	+	740.15	554.15 <sup>*</sup> 570.05	-22 -22	-53 -46	-40 -30	Acid Violet 17	4129-84-4
结晶紫	+	372.00	356.20 <sup>*</sup> 340.20	-30 -30	-41 -55	-26 -25	CrystalViolet	548-62-9
姜黄素	+	369.05	177.05 <sup>*</sup> 145.05	-19 -19	-22 -31	-19 -28	Curcumin	458-37-7
茜素黄 GG	-	286.00	242.00 <sup>*</sup> 168.05	13 13	16 21	23 15	Alizarin Yellow GG	584-42-9
荧光素钠	+	333.00	287.10 <sup>*</sup> 202.05	-30 -30	-36 -55	-30 -22	Uranine	518-47-8
酸性橙67	-	581.10	425.95 <sup>*</sup> 291.90	28 28	26 43	27 29	Acid Orange 67	1222006-3
碱性品红	+	302.15	209.10 <sup>*</sup> 195.05	-30 -30	-31 -34	-23 -22	Fuchsin	58969-01-0
碱性红14	+	344.15	289.15 <sup>*</sup> 329.15	-30 -30	-32 -24	-21 -24	Astrazon Brilliant Red	12217-48-0
分散红60	+	332.10	239.10 <sup>*</sup> 314.15	-17 -17	-30 -24	-26 -23	Disperse Red 60	12223-37-9
分散红74	+	472.10	87.00 <sup>*</sup> 189.05	-25 -25	-31 -35	-16 -21	Disperse Red 74	61703-11-5
酸性蓝1	+	545.10	164.10 <sup>*</sup> 396.00	-28 -28	-40 -30	-30 -28	Acid Blue 1	129-17-9
酸性蓝6B	-	802.10	170.00 <sup>*</sup> 602.20	22 22	50 46	15 40	Brilliant Blue R	6104-59-2
酸性绿3	+	669.10	483.05 <sup>*</sup> 498.75	-34 -34	-53 -42	-25 -25	Guinea Green B	4680-78-8
酸性绿50	+	555.00	392.15 <sup>*</sup> 390.90	-28 -28	-39 -45	-29 -28	Acid Green 50	3087-16-9
色酚AS	+	264.10	171.05 <sup>*</sup> 115.05	-13 -13	-41 -22	-22 -19	Naphthol AS	92-77-3
色酚 AS-OL	+	294.05	171.10 <sup>*</sup> 115.05	-15 -15	-18 -43	-30 -21	Naphthol AS-OL	135-62-6

\*表示定量离子

### 1.3 样品制备

标准溶液配制：用乙腈配制 2 $\mu$ g/mL 的混合标准贮备液，用乙腈 + 水溶液 (V/V, 10:90) 逐步稀释成 0.1、0.5、1、5、10、20 ng/mL 不同浓度的混合标准工作液。

样品前处理方法：具体参考《软饮料、调味品及肉制品中 23 种工业染料检测方法液相色谱 – 质谱 / 质谱法》。

## 结果讨论

### 2.1 标准样品的 MRM 色谱图

混合标准样品的 MRM 色谱如图 1 所示。

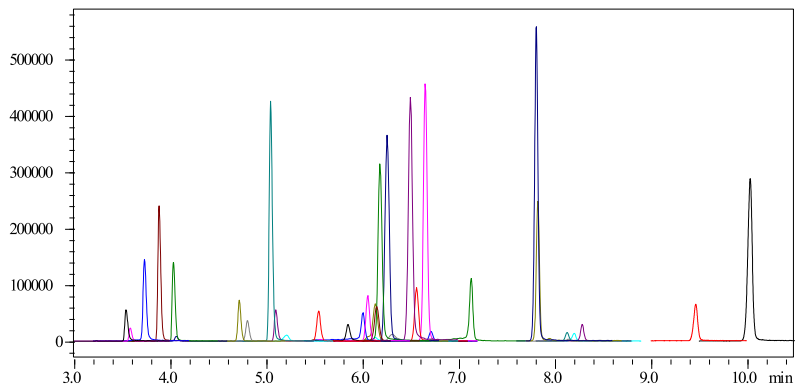
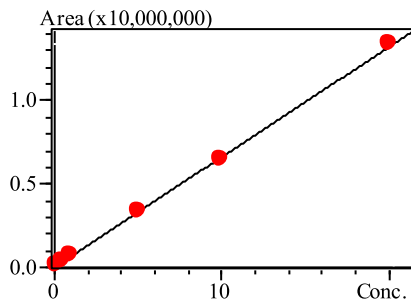


图1 0.5 ng/mL 混合标准样品的MRM色谱图

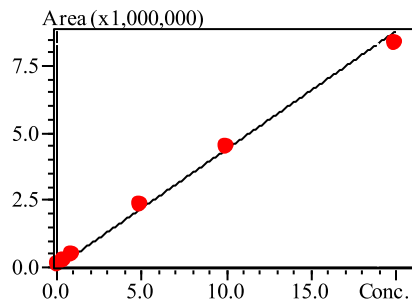
### 2.2 线性关系及检出限和定量限

配制浓度为 0.1、0.5、1、5、10 和 20 ng/mL 的混合标准工作液，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，外标法制作校准曲线，如下图所示。在 0.1~10 ng/mL (苏丹蓝 2) 和 0.1~20 ng/mL 浓度范围内线性良好。

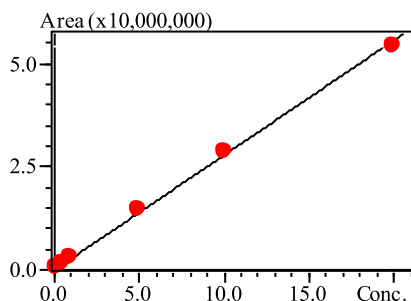
用辣椒基质稀释得到浓度为 0.1 ng/mL 的溶液进样分析，36 种色素的线性方程、线性范围和相关系数及最低检出限 (S/N=3, LOD 表示)、最低定量限 (S/N=10, LOQ 表示) 结果如表 3 所示。



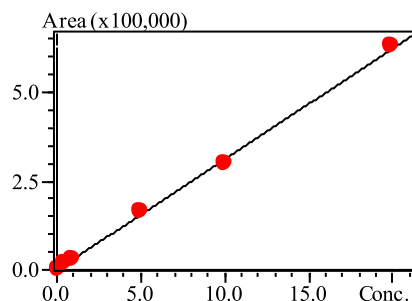
碱性橙



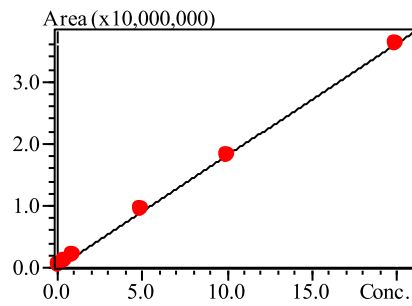
苏丹橙 G



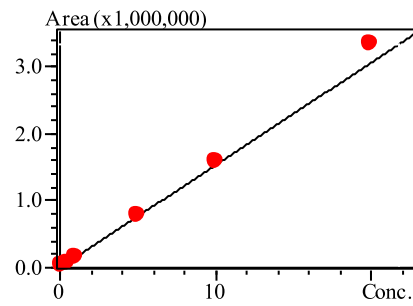
苏丹黄



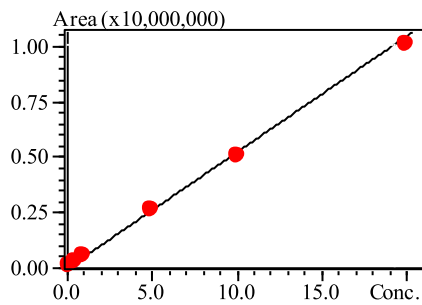
分散橙 11



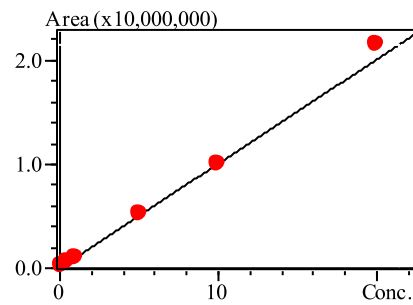
分散橙 3



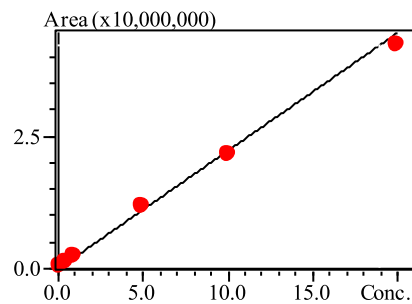
苏丹红 1



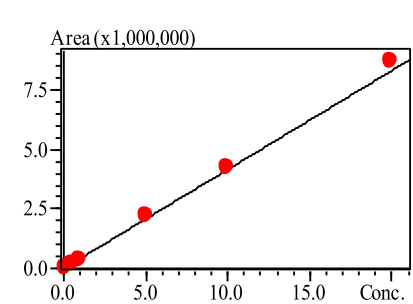
色酚 AS



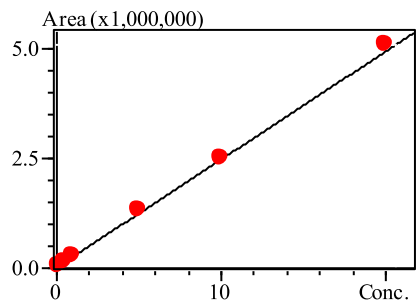
碱性嫩黄 O



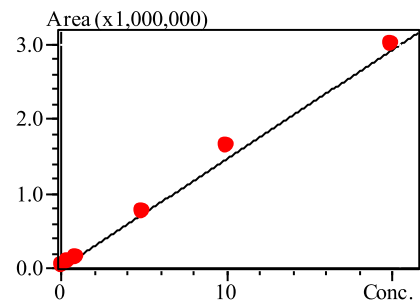
分散黄 3



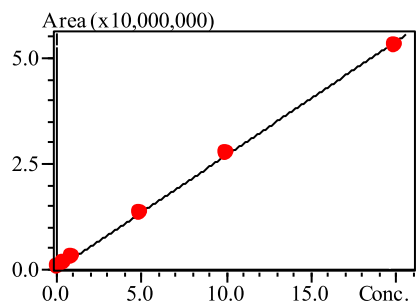
苏丹红 2



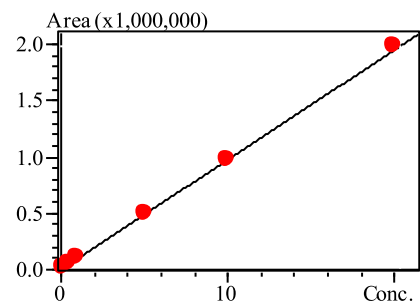
亚甲基蓝



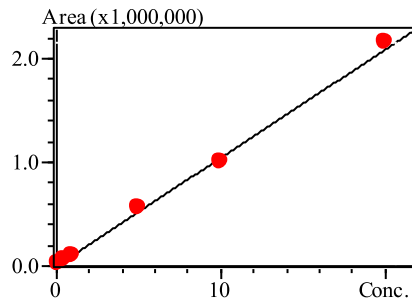
茜素黄 GG



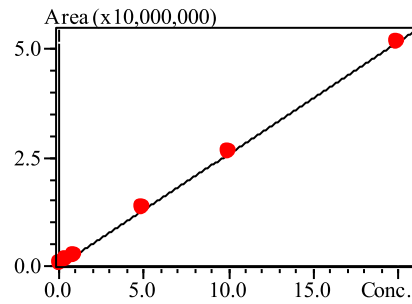
色酚 AS-OL



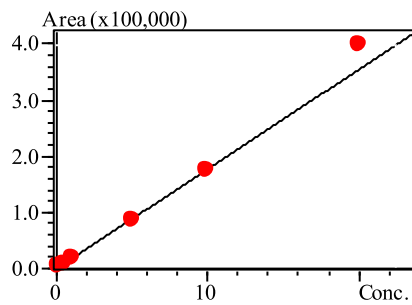
碱性品红



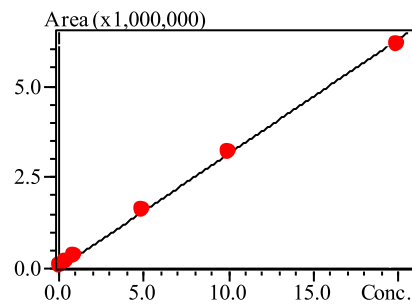
甲苯胺红



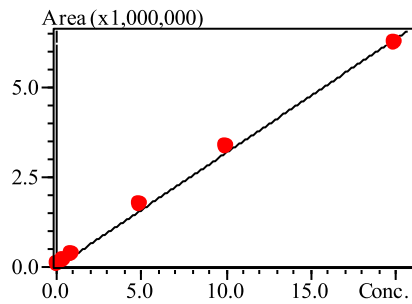
分散红 1



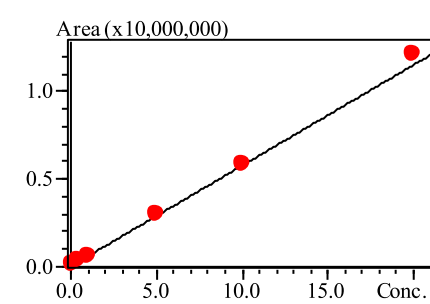
分散红 60



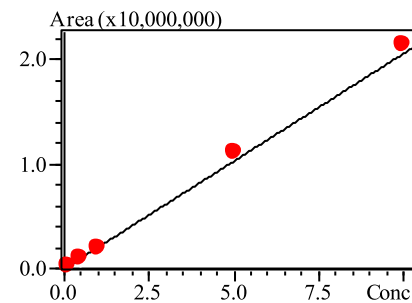
荧光素钠



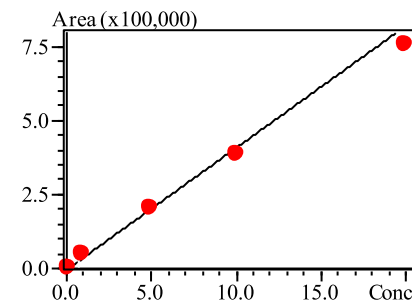
分散蓝 106



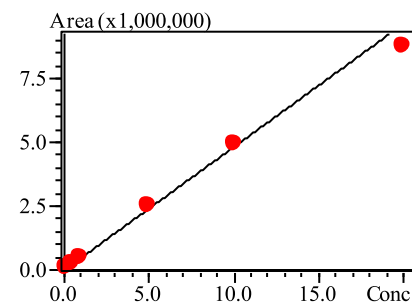
碱性红 14



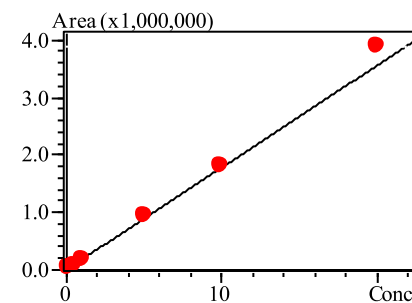
苏丹蓝 2



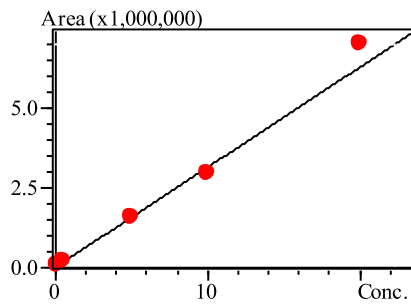
间胺黄



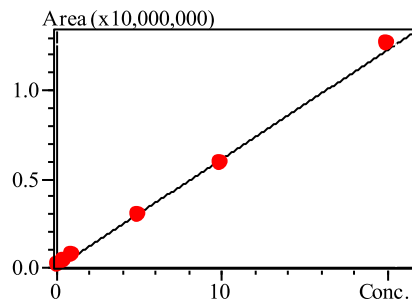
酸性金黄 G



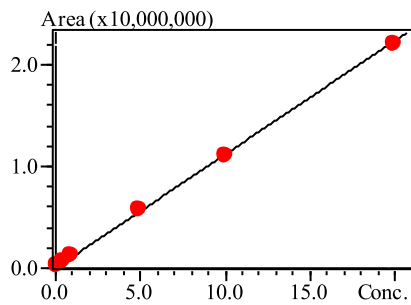
姜黄素



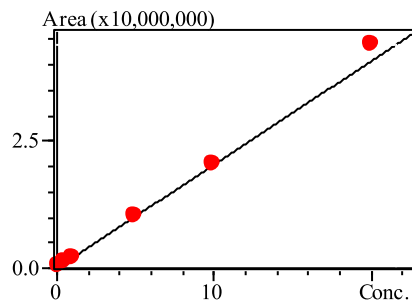
结晶紫



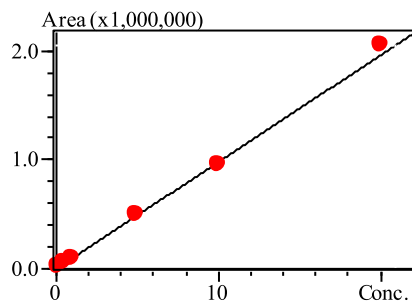
分散蓝 124



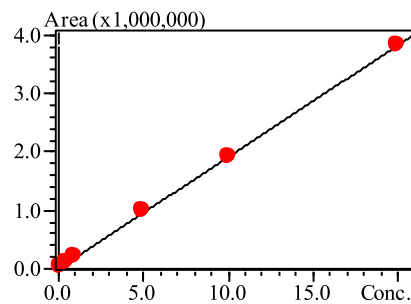
分散橙 37



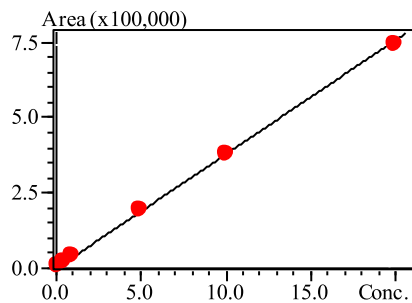
罗丹明 B



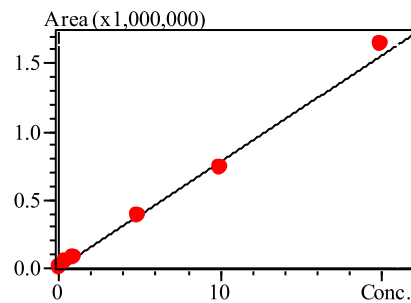
分散红 74



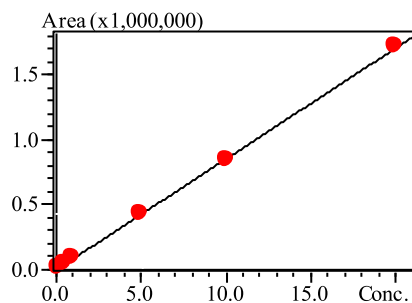
酸性蓝 1



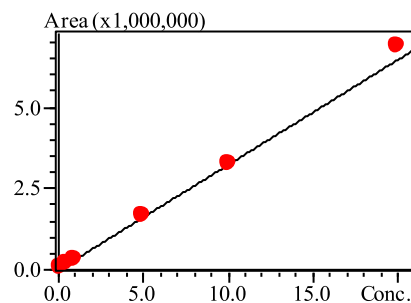
酸性绿 50



酸性橙 67



酸性绿 3



酸性紫 49

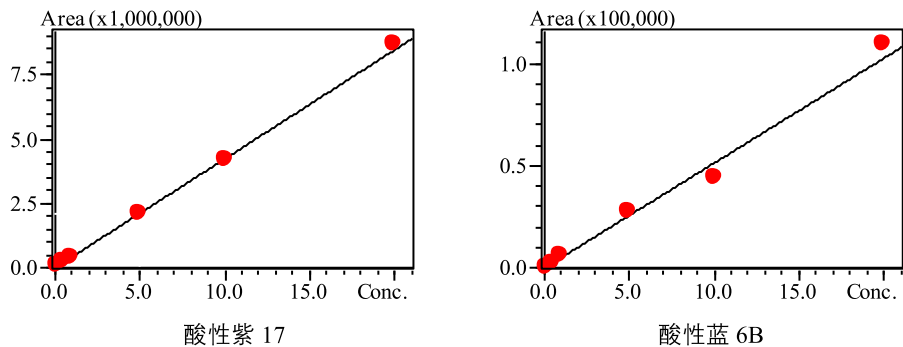


图2 标准工作曲线

表3 36种物质的校准曲线参数及检出限量结果

编号	名称	校准曲线	准确度 (%)	判定系数 $r^2$	检出限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
1	碱性橙	$Y = (666653)X + 24413.7$	97.4~101.3	0.9999	0.002	0.006
2	苏丹橙G	$Y = (436143)X + (3759.58)$	95.4~104.0	0.9994	0.002	0.005
3	苏丹黄	$Y = (278921e+006)X + (-954.016)$	96.7~103.9	0.9995	0.002	0.006
4	分散橙11	$Y = (30819.9)X + (-430.532)$	91.3~106.1	0.9985	0.019	0.062
5	分散橙3	$Y = (1.81919e+006)X + (39603.4)$	98.3~101.6	0.9999	0.002	0.006
6	苏丹红1	$Y = (153595)X + (720.914)$	91.0~108.8	0.9978	0.014	0.048
7	色酚 AS	$Y = (520209)X + (3953.46)$	96.6~106.4	0.9993	0.002	0.007
8	碱性嫩黄 O	$Y = (1.01609e+006)X + (29708.1)$	94.4~105.8	0.9982	0.001	0.003
9	分散黄3	$Y = (2.26157e+006)X + (41130.4)$	93.2~107.1	0.9967	0.001	0.004
10	苏丹红2	$Y = (426598)X + (-3468.96)$	91.5~106.4	0.9962	0.007	0.023
11	亚甲基蓝	$Y = (252940)X + (16792.8)$	97.8~102.3	0.9996	0.004	0.015
12	茜素黄 GG	$Y = (148757)X + (1126.7)$	89.8~104.7	0.9967	0.022	0.075
13	色酚 AS-OL	$Y = (2.71064e+006)X + (31075)$	97.4~103.6	0.9995	0.002	0.006
14	碱性品红	$Y = (98182.5)X + (1988.09)$	98.1~101.1	0.9998	0.0004	0.002
15	甲苯胺红	$Y = (105744)X + (3081.79)$	94.7~105.5	0.9988	0.014	0.047
16	分散红1	$Y = (2.58463e+006)X + (11153)$	96.7~103.4	0.9990	0.001	0.005
17	分散红60	$Y = (17724.7)X + (15.0156)$	96.3~107.0	0.9983	0.022	0.072
18	荧光素钠	$Y = (316416)X + (1463.86)$	96.8~102.9	0.9995	0.003	0.009
19	分散蓝 106	$Y = (316600)X + (589.456)$	96.4~108.1	0.9979	0.009	0.032
20	碱性红14	$Y = (584477)X + (31448.5)$	93.8~105.4	0.9978	0.002	0.007
21	苏丹蓝2	$Y = (2.06278e+006)X + (-17838.5)$	90.4~105.9	0.9959	0.002	0.007
22	间胺黄	$Y = (41192.5)X + (-3822.11)$	95.5~109.5	0.9973	0.008	0.028
23	酸性金黄 G	$Y = (490870)X + (-985.603)$	91.6~104.9	0.9974	0.003	0.010

24	姜黄素	$Y = (181645)X + (9023.93)$	93.8~102.7	0.9988	0.007	0.022
25	结晶紫	$Y = (312263)X + (18693.9)$	97.3~102.7	0.9995	0.007	0.022
26	分散蓝 124	$Y = (614105)X + (7521.33)$	94.4~106.8	0.9986	0.003	0.010
27	分散橙37	$Y = (1.11949e+006)X + (12126.4)$	97.6~102.9	0.9998	0.002	0.007
28	罗丹明B	$Y = (2.03877e+006)X + (13020.1)$	92.6~108.0	0.9971	0.001	0.003
29	分散红74	$Y = (98061.4)X + (1133.57)$	93.7~106.1	0.9975	0.007	0.023
30	酸性蓝1	$Y = (191157)X + (1654.01)$	98.4~101.8	0.9999	0.002	0.006
31	酸性绿50	$Y = (37901.9)X + (-294.528)$	92.9~102.7	0.9985	0.011	0.035
32	酸性橙67	$Y = (78192)X + (-648.835)$	94.3~104.7	0.9984	0.010	0.034
33	酸性绿3	$Y = (85368.3)X + (-0.819054)$	98.1~101.2	0.9999	0.005	0.017
34	酸性紫17	$Y = (423566)X + (520.397)$	98.7~102.7	0.9997	0.002	0.006
35	酸性蓝6B	$Y = (5137.31)X + (-71.4068)$	95.5~106.2	0.9961	0.002	0.007
36	酸性紫49	$Y = (323521)X + (463.950)$	95.1~106.5	0.9980	0.001	0.003

### 2.3 精密度实验

对三个浓度的混合标准溶液连续7次进样，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。36种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在0.02~0.26%和0.33~4.73%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=7)

编号	化合物	RSD% (0.5ng/mL)		RSD% (5ng/mL)		RSD% (20ng/mL)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	碱性橙	0.10	2.08	0.12	1.35	0.13	0.80
2	苏丹橙 G	0.06	1.66	0.04	2.57	0.09	1.18
3	苏丹黄	0.05	0.73	0.04	1.06	0.05	0.87
4	分散橙11	0.06	3.60	0.04	3.52	0.08	2.44
5	分散橙3	0.06	3.84	0.04	1.94	0.08	1.92
6	苏丹红1	0.05	4.06	0.05	1.32	0.05	1.56
7	色酚AS	0.06	1.95	0.03	1.53	0.08	2.26
8	碱性嫩黄O	0.11	2.61	0.09	1.06	0.13	0.81
9	分散黄3	0.06	3.28	0.03	2.42	0.08	1.92
10	苏丹红2	0.04	2.27	0.06	2.98	0.02	3.18
11	亚甲基蓝	0.11	4.81	0.14	1.41	0.14	1.75
12	茜素黄 GG	0.25	2.86	0.10	4.69	0.12	2.56
13	色酚 AS-OL	0.06	2.95	0.03	2.70	0.08	3.09
14	碱性品红	0.12	4.04	0.12	1.19	0.14	1.46
15	甲苯胺红	0.05	3.00	0.05	2.46	0.05	4.60
16	分散红1	0.06	0.70	0.04	1.17	0.07	0.90
17	分散红60	0.07	3.00	0.05	2.12	0.05	4.68
18	荧光素钠	0.09	1.63	0.03	0.82	0.12	0.90
19	分散蓝106	0.05	3.77	0.03	3.89	0.08	3.99
20	碱性红14	0.13	1.94	0.07	1.10	0.12	0.58

21	苏丹蓝2	0.04	1.53	0.06	2.82	0.02	4.73
22	间胺黄	0.25	3.15	0.09	3.83	0.12	2.90
23	酸性金黄G	0.24	2.12	0.10	2.44	0.12	1.81
24	姜黄素	0.07	4.51	0.04	2.23	0.09	4.06
25	结晶紫	0.15	3.59	0.06	3.02	0.11	4.58
26	分散蓝124	0.06	2.54	0.04	4.41	0.06	1.46
27	分散橙37	0.05	0.96	0.05	1.80	0.05	2.14
28	罗丹明B	0.13	1.02	0.05	0.62	0.11	0.77
29	分散红74	0.06	4.02	0.04	1.89	0.07	1.50
30	酸性蓝1	0.18	2.61	0.07	0.73	0.12	0.33
31	酸性绿50	0.13	4.31	0.11	1.65	0.10	0.61
32	酸性橙67	0.26	4.13	0.11	2.18	0.10	2.76
33	酸性绿3	0.22	4.51	0.06	1.30	0.13	1.33
34	酸性紫17	0.19	2.72	0.07	1.63	0.11	1.49
35	酸性蓝6B	0.21	4.55	0.07	3.88	0.11	3.66
36	酸性紫49	0.16	1.68	0.07	0.63	0.12	0.47

#### 2.4 基质加标实验

用辣椒基质按照 1.3 进行处理后加混标至浓度为 2 ng/mL，平行 3 份样品测定回收率和 RSD。具体结果如表 5，样品加标回收率在 89.9~105.2 % 之间。空白基质的色谱图如图 3 所示，标样品的色谱图如图 4 所示。

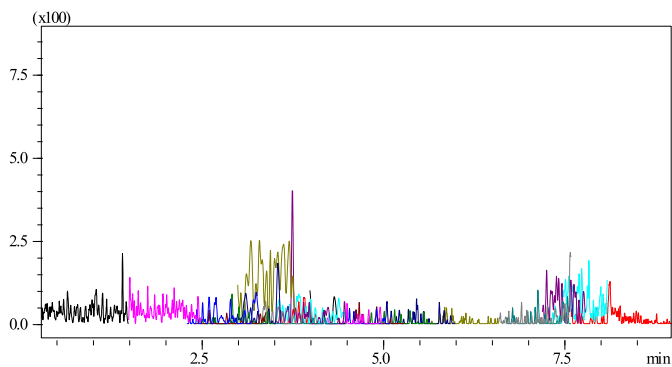


图3 空白色谱图

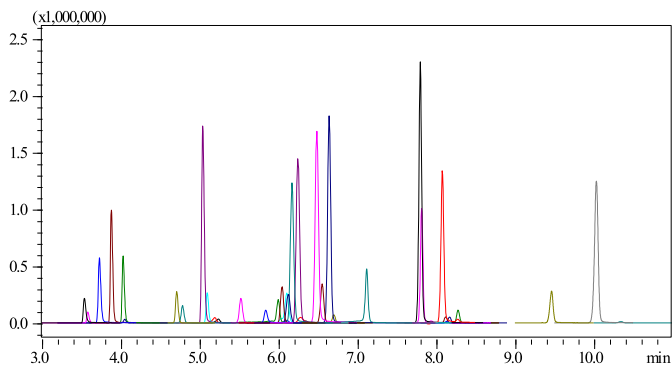


图4 基质加标样色谱图

表5 加标样的回收率结果(n=3)

No.	样品名称	回收率(%)	RSD%
1	碱性橙	97.08	1.59
2	苏丹橙G	103.88	1.41
3	苏丹黄	101.07	0.32
4	分散橙11	99.52	1.92
5	分散橙3	100.80	0.82
6	苏丹红1	99.05	2.18
7	色酚AS	97.90	3.10
8	碱性嫩黄O	100.47	0.94
9	分散黄3	101.33	1.80
10	苏丹红2	97.00	0.54
11	亚甲基蓝	99.78	4.61
12	茜素黄GG	93.30	3.08
13	色酚 AS-OL	98.07	2.53
14	碱性品红	102.30	0.93
15	甲苯胺红	91.18	0.84
16	分散红1	98.88	1.21
17	分散红60	90.42	0.60
18	荧光素钠	99.97	0.63
19	分散蓝106	99.50	4.36
20	碱性红14	101.10	1.95
21	苏丹蓝2	89.90	0.42
22	间胺黄	99.60	4.54
23	酸性金黄G	105.22	4.01
24	姜黄素	94.38	1.93
25	结晶紫	103.12	4.63
26	分散蓝124	101.82	4.47
27	分散橙37	104.57	0.94
28	罗丹明B	98.98	0.32
29	分散红74	100.95	2.45
30	酸性蓝1	100.65	1.65
31	酸性绿50	101.10	0.47
32	酸性橙67	98.82	1.97
33	酸性绿3	100.88	2.29
34	酸性紫17	102.38	2.89
35	酸性蓝6B	100.03	4.12
36	酸性紫49	100.77	1.93

## ■ 结论

使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用测定辣椒基质中色素残留量, 36 种色素的线性良好, 判定系数均大于 0.995; 其仪器检出限为 0.0004~0.022 ng/mL, 定量限为 0.002~0.075 ng/mL; 基质加标回收率在 89.9~105.2 % 之间; 此方法快速、简单、选择性强和灵敏度高, 可作为测定食品中色素残留的有效检测方法。