



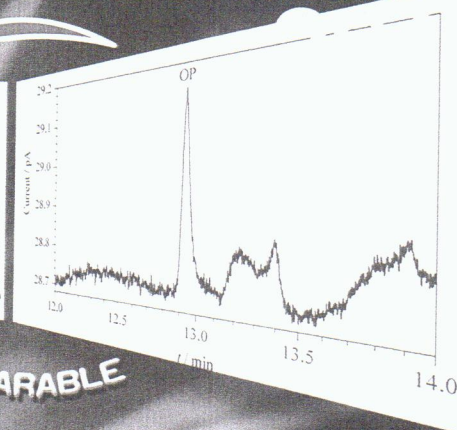
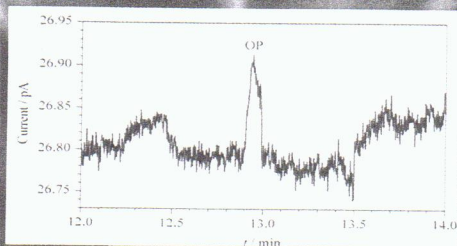
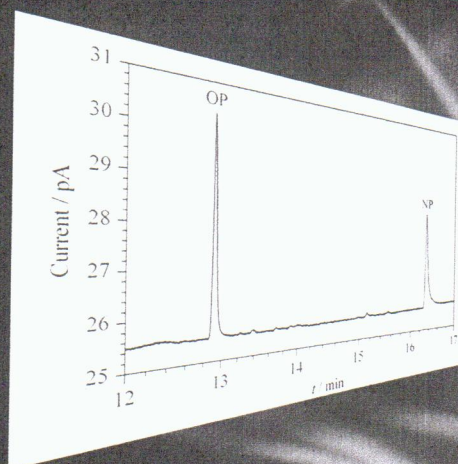
ISSN 1000-8713
CN 21-1185/O6

色谱

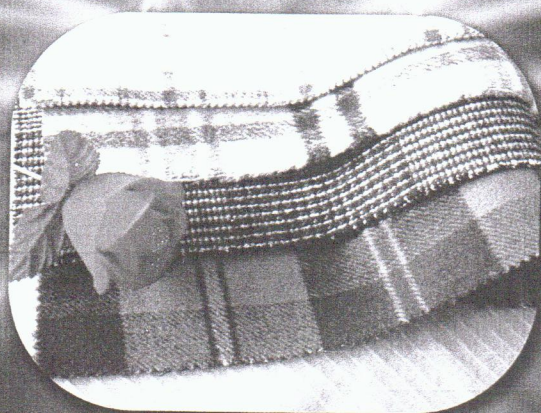
Chinese Journal of Chromatography

主编: 张玉奎

Vol.33 105



COMPARABLE
In-tube Capillary SPE-GC



中国化学会 主办
中国科学院大连化学物理研究所 承办
国家色谱研究分析中心 出版
科学出版社

目次

聚焦

- 1017 高效液相色谱和超高效液相色谱仪器的一些最新发展 李 彤

研究论文

- 1019 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定果蔬中 6 种酰胺类农药残留量 马 琳, 陈建波, 赵 莉, 占绣萍
- 1026 QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法快速测定凉茶中非法添加的 12 种化学药物 宋宁宁, 张科明, 刘向红, 桑 彤, 孙 煜, 滕南雁
- 1032 高效液相色谱-串联质谱法同时测定银杏保健茶中的 16 种黄酮类功效成分 蒋娅兰, 黄 芳, 毋福海, 吴惠勤, 黄晓兰, 邓 欣
- 1040 高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱测定奶粉中的低聚果糖 刘 芸, 丁 涛, 徐素丽, 吴 斌, 沈崇钰, 张 睿, 王 艳, 费晓庆
- 1046 高效液相色谱-高分辨质谱法鉴定水稻稻曲病菌毒素 卞英芳, 于莎莎, 牟仁祥, 曹赵云, 孙伟华, 杨 欢, 林晓燕, 陈铭学
- 1051 指示稳定性的反相超高效液相色谱评价原料药和制剂配方中奈必洛尔杂质的方法建立与验证(英文) Veera Raghava Raju THUMMALA, Mohana Krishna LANKA
- 1059 超高效液相色谱快速分析塑料制品中的 18 种多环芳烃 戴雪伟, 卫碧文, 望秀丽, 于文佳, 徐永威
- 1065 新型毛细管内固相萃取-气相色谱法检测纺织品中烷基酚类物质 张洛红, 杜 婷, 钟佳宇
- 1071 同位素稀释-高分辨气相色谱/高分辨质谱法测定大气中多溴联苯醚和多溴联苯 153 郑晓燕, 于建钊, 许秀艳, 于海斌, 陈 辉, 谭 丽, 吕怡兵

技术与应用

- 1080 QuEChERS-液相色谱-质谱法快速筛查和确证大米中 205 种农药残留 陈 溪, 程 磊, 曲世超, 黄大亮, 刘佳成, 崔 晗, 贾彦波, 纪明山
- 1090 柱前衍生-超高效液相色谱-串联质谱法同时检测茶叶中草甘膦和草铵膦的残留量 吴晓刚, 陈孝权, 肖海军, 刘彬球
- 1097 超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法快速筛查水产品中 15 种碱性合成色素 黄 鹏, 戴意飞, 王萍亚, 周 勇, 赵巧灵, 蒋玲波, 罗海军

色 谱

(SEPU)

第 33 卷 第 10 期

2015 年 10 月 8 日出版

月刊 国内外公开发行

(1984 年创刊)

主管 中国科学技术协会

主办 中国化学会

中国科学院大连化学物理研究所

承办 国家色谱研究分析中心

名誉主编 卢佩章

主编 张玉奎

编辑 《色谱》编辑委员会

大连市中山路 457 号, 116023

Tel: (0411) 84379021

Fax: (0411) 84379543

E-mail: sepu@dicp.ac.cn

http://www.chrom-China.com

出 版 科学出版社

印刷装订 大连华伟印刷有限公司

总 发 行 科学出版社

北京东黄城根北街 16 号

邮编: 100717

电话: (010) 64034563

E-mail: sales_journal@mail.

sciencep.com

国外发行 中国出版对外贸易总公司

北京 782 信箱, 100011

国外发行代号 DK21010

广告代理 北京行胜言广告有限公司

(010) 51289621

国内统一连续出版物号 CN 21-1185/O6

国际标准连续出版物号 ISSN 1000-8713

CODEN SEPUER

广告经营许可证号 2013003

订 购 处 全国各地邮政局

邮发代号 8-43

定 价 20 元/册

编辑部成员 侯春彦 王亚玲

魏桂林 卫晓离

超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法快速筛查 水产品中 15 种碱性合成色素

黄 鹂, 戴意飞, 王萍亚, 周 勇, 赵巧灵*, 蒋玲波, 罗海军
(舟山市食品药品检验检测研究院, 舟山市质量技术监督检测研究院, 浙江 舟山 316021)

摘要:建立了超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF MS)快速检测水产品中 15 种碱性合成色素的方法。水产样品经乙腈(含 10% (v/v) 乙酸)提取,采用 C₁₈ 复合硅胶基质分散管进行样品净化处理。目标物采用 C₁₈ 色谱柱分离,以乙腈和 0.1% (v/v) 甲酸-5 mmol/L 乙酸铵溶液为流动相,梯度洗脱,四极杆飞行时间串联质谱电喷雾正离子模式检测。结果表明:15 种碱性色素的定量限(LOQs, $S/N=10$)为 0.1~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$,并在各自的线性范围内线性关系良好,相关系数(r) ≥ 0.993 。在 3 个加标水平下的平均回收率为 80.60%~107.37%,测定结果的相对标准偏差为 3.33%~6.69% ($n=6$)。该方法快速、简便、灵敏度高,适用于日常水产品中 15 种碱性合成色素的快速筛查。

关键词:超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱;C₁₈ 复合硅胶基质萃取管;碱性合成色素;水产品;快速筛查
中图分类号:O658 文献标识码:A 文章编号:1000-8713(2015)10-1097-07

Rapid screen of 15 basic artificial dyes in fishery products by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry

HUANG Li, DAI Yifei, WANG Pingya, ZHOU Yong,
ZHAO Qiaoling*, JIANG Lingbo, LUO Haijun
(Zhoushan Institute for Food and Drug Control, Zhoushan Institute of Calibration
and Testing for Quality and Technology Supervision, Zhoushan 316021, China)

Abstract: A new method was established for the simultaneous determination of 15 basic artificial dyes in fishery products by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS). The analytes in fishery products were extracted with acetonitrile containing 10% (v/v) acetic acid, then purified by dispersive solid phase extraction with C₁₈-silicone adsorbent. The compounds were separated by a C₁₈ column with acetonitrile and 0.1% (v/v) formic acid-5 mmol/L ammonium acetate solution as the mobile phases, and measured by UPLC-Q-TOF MS with electrospray ionization in positive mode. As a result, the limits of quantification (LOQs, $S/N=10$) of the 15 target compounds were 0.1–100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in fishery products. The 15 analytes behaved linearly in their respective ranges with the correlation coefficients no less than 0.993. The average recoveries of the 15 analytes spiked at three levels were ranged from 80.60% to 107.37% with the RSDs of 3.33%–6.69% ($n=6$). This method is suitable for routine qualitative and quantitative analyses of the 15 basic artificial dyes in fishery products due to its fastness, simplicity and relatively high sensitivity.

Key words: ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS); C₁₈-silicone solid phase extraction column; basic artificial dyes; fishery products; rapid screening

* 通讯联系人.Tel: (0580)2080538, E-mail: zxhuaxueshi@163.com.

基金项目: 国家科技部公益专项(201210060); 舟山市公益类科技项目(2013C31050).

收稿日期: 2015-03-17

近年来,违法使用碱性橙、罗丹明 B、孔雀石绿等工业碱性合成色素的食品安全问题尤为突出。这些工业碱性色素具有较强的致毒、致癌作用,由于色彩丰富、价格低廉、着色稳定,被某些不法分子非法添加在食品中,对人民健康和社会稳定造成危害,成为食品安全领域内的高危风险因子。因此,目前关于食品中碱性橙、罗丹明 B、孔雀石绿等碱性色素的检测方法越来越受关注,已有较多报道^[1-7]。

近几年有关色素的检测方法层出不穷,主要有分光光度法^[8]、薄层色谱法^[9]、毛细管电泳法^[10]、示波极谱法^[11]、酶联免疫吸附分析法^[12]、高效液相色谱法^[13-16]、液相色谱-串联质谱法^[17,18]等,由于不同色素的极性不同,导致现有的检测方法在高灵敏度和高效方面具有一定的局限性。

四极杆飞行时间质谱(Q-TOF MS)能提供精确质量数,可通过分子质量数的匹配对化合物进行鉴定和确证,现在已开展了部分研究,如奶酪中色素的分析^[19]、饮料中色素的快速检测^[20]。但是目前使用 Q-TOF MS 对于食品中未知添加物的筛查研究总体上比较少,尤其是对水产品中的色素筛查未查到相关报道。因此,本文以水产品为研究对象,对其中 15 种禁用的碱性合成色素进行分析,并对样品前处理方法、液相色谱条件、质谱条件进行优化,以期建立水产品中多种色素的 UPLC-Q-TOF MS 快速高效的检测方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent UHPLC 和 Agilent 6540-QTOF(Agilent 公司,美国);Avanti® J-E 高速冷冻离心机、Talboys 涡旋混合器、N-EVAP™-112 氮吹仪、样品萃取管;甲醇、乙腈、甲酸、乙酸为色谱纯,均购自上海安谱实验科技股份有限公司;无水硫酸镁、乙酸铵为分析纯;C₁₈填料(40~63 μm)、硅胶粉(40~63 μm)均购自上海安谱实验科技股份有限公司;阳离子交换小柱(Oasis MCX)、弱阳离子交换小柱(Oasis WCX)均购自 Waters 公司;C₁₈小柱购自上海安谱实验科技股份有限公司;实验用水为 Milli-Q 超纯水。

标准品:金胺(Auramine O,纯度 89%)、隐性的孔雀石绿(Leucomalachite Green,纯度 90%)、孔雀石绿(Malachite Green,纯度 89%)、苏丹红 III(Sudan III,纯度 91%)、苏丹红 IV(Sudan IV,纯度 91%)、苏丹黄(Butter Yellow,纯度 89%)、苏丹黑 B(Sudan

Black B,纯度 91%)、碱性橙 II(Chrysoidine G,纯度 89%)、罗丹明 B(Rhodamine B,纯度 91%)、苏丹橙(Sudan Orange G,纯度 89%)、苏丹红 7B(Sudan Red 7B,纯度 91%)、苏丹红 G(Sudan Red G,纯度 91%)、苏丹红 I(Sudan I,纯度 91%)、苏丹红 II(Sudan II,纯度 91%)、橘红 2 号(Citrus Red 2,纯度 91%),均购于上海安谱实验科技股份有限公司。

1.2 标准溶液配制

分别准确称取 15 种碱性合成色素标准品各 10 mg 于 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶解,配制成 1 g/L 的单标准储备液(-20 ℃保存),再分别吸取 1 g/L 的 15 种单标准储备液各 1 mL 于 100 mL 容量瓶中,用甲醇定容得 10 mg/L 的混合标准溶液。实验中使用初始流动相溶液将其稀释成相应的标准工作溶液,于 4 ℃保存。

1.3 样品前处理

称取 2.0 g 样品于 50 mL 带盖聚四氟乙烯离心管中,加入 10 mL 乙腈(含有 1% (v/v) 乙酸)溶液,涡旋 1 min,超声 5 min,以 10 000 r/min 冷冻离心 10 min,取 5 mL 上清液转移至基质分散管中,管内装有 C₁₈复合硅胶吸附剂(500 mg 无水硫酸镁、100 mg C₁₈粉末、40 mg 硅胶粉末),振荡基质分散管 5 min,以 10 000 r/min 冷冻离心 10 min,取离心后的上清液 3 mL,经氮气吹干,用甲醇-水(50:50, v/v)溶解并定容到 1 mL,过 0.22 μm 有机滤膜后供 UPLC-Q-TOF MS 分析测定。

1.4 色谱-质谱条件

1.4.1 色谱条件

Agilent Eclipse Plus-C₁₈(100 mm×3.0 mm, 1.8 μm)作为分析柱,柱温为 30 ℃;流动相:A 相为 5 mmol/L 乙酸铵-0.1% (v/v) 甲酸水溶液,B 相为乙腈;梯度洗脱程序:0~1 min, 5% B~20% B;1~10 min, 20% B~100% B;10~15 min, 100% B。进样体积为 3 μL,流速为 0.2 mL/min。

1.4.2 质谱条件

离子源:电喷雾离子(ESI)源;扫描方式:正离子全扫描;全扫描范围: m/z 50~1 100;毛细管电压:4 000 V;离子源喷雾电压:250 V;离子化电压:130 V;鞘气温度:350 ℃;干燥气温度:325 ℃;鞘气流速:11 L/min;干燥气流速:8 L/min;数据采集模式:全息离子扫描(All ions MS/MS)。参比溶液中含三氟乙酸(C₂HF₃O₂),其精确相对离子质量为 112.985 5)和六(1*H*,1*H*,3*H*-全氟丙氧基)磷氮的加氢离子(C₁₈H₁₉F₂₄N₃O₆P₃⁺),其精确相对离子质量

为 922.009 8)。

数据采集与处理通过 Agilent Mass Hunter Workstation Software (Version B.05.00) 软件完成,碎片离子数据库建立通过 Agilent Mass Hunter PCDL Manager (B.04.00) 软件完成。

2 结果与讨论

2.1 色谱-质谱分析

本文以隐性孔雀石绿、苏丹红 III 等为代表的 15 种在水产品中禁用的碱性合成色素为研究目标物进行检测,依据它们的相对分子质量和理化性质

的差异,结合应用 UPLC 技术进行色谱分离,Q-TOF MS 进行质谱信息采集。图 1 是 15 种碱性合成色素的分子特征提取色谱图,并由 All ions MS/MS 模式收集 15 种目标物的母离子及保留时间等信息(见表 1)。通过实验获得的质谱信息并结合 Agilent Mass Hunter 软件对目标物进行质谱库对比,以保留时间、母离子和碎片离子精确质量数、同位素丰度模型进行比对确证,以母离子用于定量分析。由于方法中的碎片匹配采用了二级全离子图谱匹配,所以匹配度比一般用特征子离子的方式有更高的可靠性和准确度,效果更好,使得筛查的准确度更高。

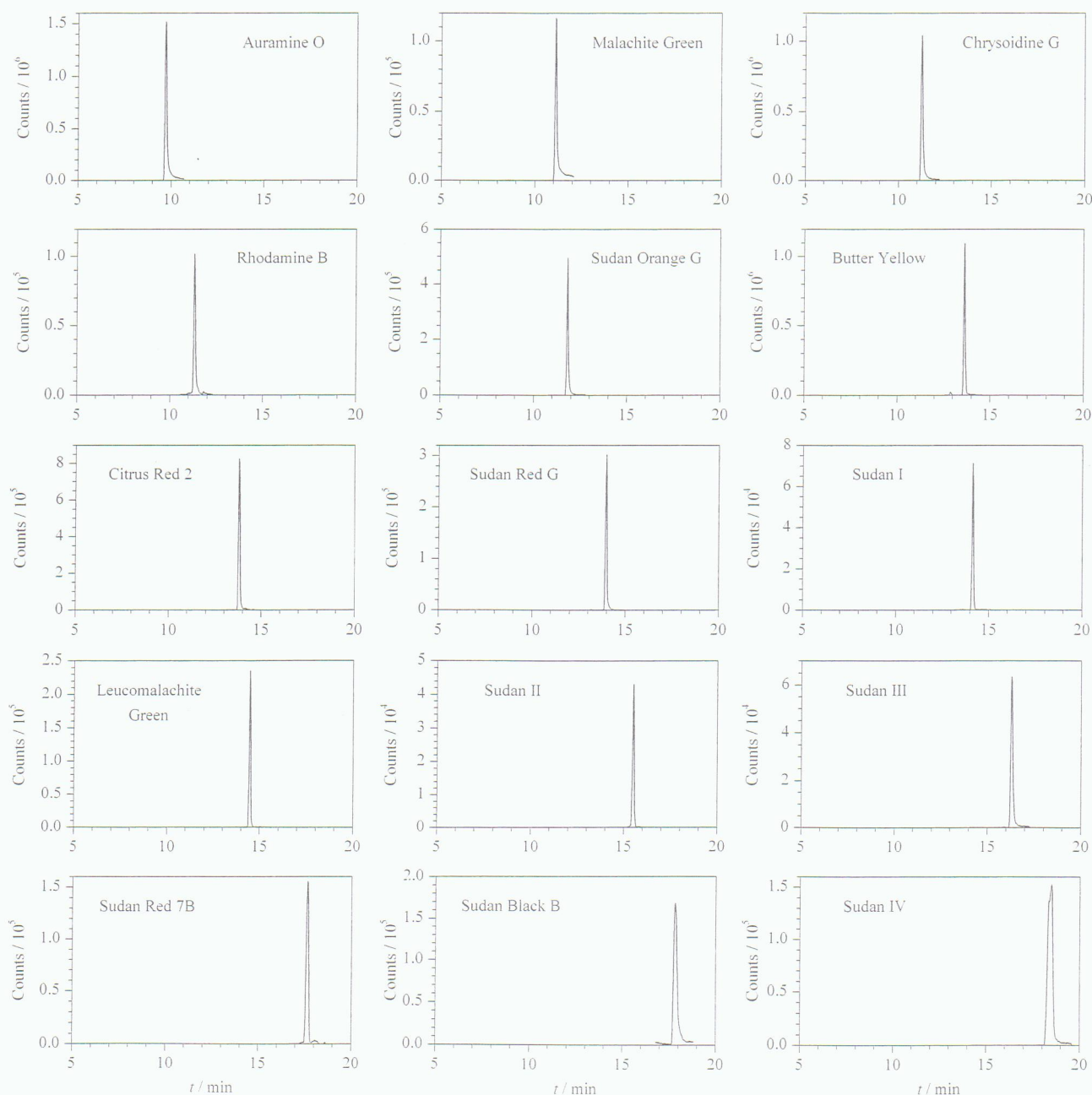


图 1 15 种碱性合成色素的 UPLC-Q-TOF MS 提取离子色谱图

Fig. 1 Extracted chromatograms of the 15 basic artificial dyes by UPLC-Q-TOF MS

表 1 水产品中 15 种碱性合成色素的保留时间和质谱信息

Table 1 Retention times and MS information for the 15 basic artificial dyes in fishery products

Compound	Molecular formula	CAS No.	Retention time/min	Parent ion (m/z)
Auramine O	$C_{17}H_{22}ClN_3$	2465-27-2	9.693	235.0954
Leucomalachite Green	$C_{23}H_{26}N_2$	129-73-7	14.449	299.1155
Malachite Green	$C_{23}H_{25}ClN_2$	569-64-2	11.082	237.0634
Sudan III	$C_{22}H_{16}N_4O$	85-86-9	16.260	375.1216
Sudan IV	$C_{24}H_{20}N_4O$	85-83-6	18.430	403.1529
Butter Yellow	$C_{14}H_{15}N_3$	60-11-7	13.593	271.0842
Sudan Black B	$C_{26}H_{24}N_6$	4197-25-5	17.782	479.6970
Chrysoidine G	$C_{12}H_{13}N_4Cl$	532-82-1	11.226	290.1628
Rhodamine B	$C_{28}H_{31}ClN_2O_3$	81-88-9	11.293	351.1832
Sudan Orange G	$C_{12}H_{10}N_2O_2$	2051-85-6	11.793	465.7165
Sudan Red 7B	$C_{24}H_{21}N_5$	6368-72-5	17.616	402.1689
Sudan Red G	$C_{17}H_{14}N_2O_2$	1229-55-6	13.938	316.0693
Sudan I	$C_{16}H_{12}N_2O$	842-07-9	14.127	331.1053
Sudan II	$C_{18}H_{16}N_2O$	6358-53-8	15.471	353.1988
Citrus Red 2	$C_{18}H_{16}N_2O_3$	18472-87-2	14.771	301.0947

2.2 前处理条件的优化

2.2.1 提取溶剂的选择

提取溶剂的优化需同时考察目标化合物和样品基质的特性,合适的提取剂可有效分离目标物与基质杂质,从而增加对样品中目标物的检测灵敏度。本实验比较了 4 种有机溶剂——乙腈、乙酸乙酯、二氯甲烷和丙酮,研究分析表明,乙腈最适合作为水产品中碱性合成色素的提取剂,回收率最高,达到 90%。乙腈适用范围广,它不仅减少了对基质中油脂的溶解,且可有效沉淀蛋白质,减少杂质对色素的干扰。二氯甲烷因溶剂密度大,提取液分布于底层,增加操作难度,回收率为 82%;此外,以丙酮和乙酸乙酯提取色素时,回收率偏低,均在 60% 以下。在确定了最优提取剂的基础上,本文进一步分析了加

入 1% (v/v) 乙酸的乙腈溶液对色素的提取效率,结果显示加入乙酸后提取剂不仅保持了较好的回收率(达到 96%),且能使目标物离子化,为下一步提取液的分离净化处理奠定了良好基础。因此,本文确定最优提取溶剂是含 1% (v/v) 乙酸的乙腈溶液。

2.2.2 净化方法的优化

本实验选用 3 种常用的固相萃取柱(C_{18} 柱、Oasis WCX 柱、Oasis MCX 柱)和 C_{18} 复合硅胶基质萃取管对水产品中色素的提取分离效率进行比较分析,样品中色素的回收率结果见表 2。由表 2 可知,以 C_{18} 复合硅胶基质萃取管为净化载体时,样品中色素的回收率最高,分析原因可能有以下几个方面:
① C_{18} 固相萃取小柱具有强疏水性,但吸附性较弱,导致 15 种碱性合成色素回收率较低(在 60%~75%

表 2 不同萃取柱对水产品中 15 种碱性合成色素的加标回收率及相对标准偏差的影响 ($n=6$)Table 2 Influence on the spiked recoveries and RSDs of the 15 target compounds in fishery products by different SPE cartridges ($n=6$)

Compound	Recovery/%				RSD/% ($n=6$)			
	C_{18}	Oasis WCX	Oasis MCX	C_{18} -silicone	C_{18}	Oasis WCX	Oasis MCX	C_{18} -silicone
Auramine O	78.40	80.57	78.44	86.44	8.54	6.12	7.81	6.14
Leucomalachite Green	74.14	85.22	79.47	88.12	9.15	6.14	7.51	6.10
Malachite Green	71.44	105.10	89.14	107.37	8.12	6.57	7.41	6.05
Sudan III	61.14	81.01	75.47	98.53	8.07	7.01	7.43	5.84
Sudan IV	75.40	85.21	80.11	95.74	7.04	6.27	8.14	5.40
Butter Yellow	80.14	82.14	76.14	96.84	7.52	6.45	7.04	5.20
Sudan Black B	70.44	88.14	72.01	101.28	6.01	6.87	7.16	4.54
Chrysoidine G	60.48	78.45	68.14	95.40	7.35	6.87	7.54	5.14
Rhodamine B	71.05	84.04	67.14	95.81	6.45	6.25	7.25	6.14
Sudan Orange G	57.10	82.14	61.77	98.54	6.17	5.47	7.60	6.25
Sudan Red 7B	59.40	84.41	71.04	97.24	5.78	5.40	7.18	5.10
Sudan Red G	62.04	80.47	72.15	93.95	6.05	5.67	6.84	4.84
Sudan I	65.10	92.41	75.47	100.80	6.72	5.84	7.05	5.01
Sudan II	67.04	75.44	65.47	90.36	7.15	6.01	7.10	4.01
Citrus Red 2	70.58	92.14	79.44	102.31	7.25	5.11	7.15	4.05
Average recovery/%	68.26	85.13	74.09	96.58				

之间);②弱阳离子交换柱和阳离子固相萃取小柱平均色素回收率为 85.13% 和 74.09%,但对个别目标物如碱性橙 II、苏丹红 II 等的吸附能力较弱,达不到检测方法要求的高通量检测要求;③从表 2 可以看出,自制 C₁₈ 复合硅胶混合基质萃取管对 15 种碱性合成色素的平均回收率高达 96.58%,它通过不同吸附剂对目标物进行针对性的保留,有效地去除杂质干扰,提高了碱性合成色素的净化效率,缩短了检测周期。同时对于萃取管中吸附剂的量进行了考察,结果发现:无水硫酸镁的量在 500 mg 及以上时处于过饱和状态,达到良好的盐析效果;当 C₁₈ 和硅胶的配比为 100 mg:40 mg 及以上时,对于回收率和净化效果不再有明显的促进效果,因此考虑到成本及效果,最终选择了吸附剂的使用量为 500 mg 无水硫酸镁、100 mg C₁₈ 粉末、40 mg 硅胶粉末。因

此,本文确定使用 C₁₈ 复合硅胶基质萃取管作为净化载体,从而使 15 种碱性合成色素物质有较好的回收率,为水产品中色素的检测方法提供了一个快速有效的净化手段。

2.3 方法学确证

2.3.1 标准曲线、检出限与精密度

配制 0.1~500 μg/L (0.1、0.2、0.5、1、2、5、10、20、50、100、200、500 μg/L) 的混合标准溶液,以分子离子峰面积(Y)对相应的质量浓度(X, μg/L)分别绘制 15 种碱性合成色素的标准曲线,并将 10 μg/L 混合标准溶液平行测定 6 次,计算峰面积的相对标准偏差(RSD),结果见表 3。从表 3 可知,15 种碱性合成色素在各自的线性范围内线性关系良好,相关系数(*r*)≥0.993;RSD≤6.49%,说明仪器精密度良好。

表 3 15 种碱性色素的线性范围、线性方程、相关系数(*r*)和 10 μg/L 时峰面积的相对标准偏差(RSD)
Table 3 Linear ranges, linear equations, correlation coefficients (*r*) and relative standard deviations (RSDs) of the 15 basic artificial dyes at 10 μg/L

Compound	Linear range/(μg/L)	Linear equation	<i>r</i>	RSD/% (<i>n</i> = 6)
Auramine O	1-500	$Y = 55480.594X + 114819.155$	0.999	5.83
Leucomalachite Green	0.2-50	$Y = 69713.750X + 8805.081$	0.997	5.03
Malachite Green	0.2-50	$Y = 66374.494X + 16584.402$	0.997	5.30
Sudan III	20-500	$Y = 326.627X + 1784.760$	0.993	2.16
Sudan IV	10-500	$Y = 565.808X - 327.592$	0.995	6.49
Butter Yellow	1-500	$Y = 23147.646X + 66562.357$	0.999	1.55
Sudan Black B	2-200	$Y = 2524.824X + 687.609$	0.999	4.22
Chrysoidine G	0.1-50	$Y = 71975.838X + 14994.923$	0.998	5.21
Rhodamine B	0.2-50	$Y = 77685.232X + 7611.541$	0.999	6.01
Sudan Orange G	5-200	$Y = 3043.572X + 21297.215$	0.994	0.05
Sudan Red 7B	0.5-100	$Y = 7076.810X + 11367.598$	0.998	2.78
Sudan Red G	1-200	$Y = 20853.274X - 413.663$	0.999	1.00
Sudan I	1-500	$Y = 3581.971X + 15567.375$	0.999	5.10
Sudan II	1-200	$Y = 4281.334X + 11520.951$	0.995	2.39
Citrus Red 2	1-500	$Y = 13109.474X + 35976.754$	0.998	1.05

Y: peak area; X: mass concentration, μg/L.

2.3.2 检出限、定量限与回收率

本文中的检出限与定量限是根据 3 倍和 10 倍信噪比的要求进行测定和计算的。实际操作中,我们根据 10.0 μg/kg 的添加回收试验(苏丹红 III 和苏丹红 IV 的加标量分别为 100.0 μg/kg 和 50.0 μg/kg)中目标化合物检测到的色谱峰进行 3 倍信噪比的换算,最后确定为检出限(LOD, *S/N* = 3),而该色谱峰经 10 倍信噪比换算得到的含量为定量限(LOQ, *S/N* = 10),最终通过采用初始流动相来稀释,直到信噪比分别达到 3 和 10 时的含量,进行最终各目标物的检出限和定量限的验证。如表 4 所示,15 种目标物的 LOD 在 0.05~2.0 μg/kg 之间(苏丹红 III 和苏丹红 IV 的检出限分别为 50.0 μg/kg 和 25.0 μg/kg),同时 15 种色素的定量限小

于 5.0 μg/kg(苏丹红 III 和苏丹红 IV 的定量限分别为 100.0 μg/kg 和 50.0 μg/kg)。

在阴性的鲳鱼样品基质中添加 10、50 和 200 μg/kg 3 种不同浓度水平的 15 种混合标准溶液(苏丹红 III 和苏丹红 IV 的添加浓度分别为 100、500、20 000 μg/kg),按 1.3 节方法进行预处理,采用 UPLC-Q-TOF MS 测定提取液中的目标化合物,且每个水平重复测定 6 次,计算平均回收率及 RSD,结果见表 4。由表 4 可知,在不同加标浓度范围内,15 种碱性合成色素的回收率为 80.60%~107.37%,RSD 为 3.33%~6.69%。由 15 种碱性合成色素的检出限、定量限和回收率的实验结果,可以看出本方法满足快速筛查水产品中 15 种碱性合成色素的需要。

表 4 15 种碱性合成色素的回收率、RSDs、检出限和定量限
Table 4 Recoveries, RSDs, limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) of the 15 basic artificial dyes

Compound	Spiked/($\mu\text{g/kg}$)	Found/($\mu\text{g/kg}$)	Recovery/%	RSD/% ($n=6$)	LOD/($\mu\text{g/kg}$)	LOQ/($\mu\text{g/kg}$)
Auramine O	10	8.06	80.60	5.52	0.5	1.0
	50	43.22	86.44	5.12		
	200	206.50	103.25	6.08		
Leucomalachite Green	10	8.22	82.20	4.10	0.1	0.2
	50	44.06	88.12	5.56		
	200	193.70	96.85	6.69		
Malachite Green	10	9.68	96.80	6.10	0.1	0.2
	50	53.69	107.37	5.58		
	200	202.14	101.07	4.41		
Sudan III	100	91.13	91.10	6.25	50.0	100.0
	500	492.75	98.53	4.84		
	2000	2068.28	103.41	4.12		
Sudan IV	100	95.61	95.60	5.65	25.0	50.0
	500	478.73	95.74	4.24		
	2000	1985.06	99.25	4.01		
Butter Yellow	10	9.96	99.60	4.98	0.5	1.0
	50	48.42	96.84	5.67		
	200	203.55	101.78	4.18		
Sudan Black B	10	8.71	87.10	5.98	2.0	5.0
	50	50.64	101.28	4.21		
	200	205.32	102.66	4.77		
Chrysoidine G	10	8.87	88.70	4.66	0.05	0.1
	50	47.70	95.40	4.28		
	200	199.74	99.87	5.05		
Rhodamine B	10	8.15	81.50	4.97	0.05	0.1
	50	47.91	95.81	5.34		
	200	192.90	96.45	4.89		
Sudan Orange O	10	10.02	100.20	5.21	2.0	5.0
	50	49.27	98.54	4.95		
	200	204.68	102.34	3.99		
Sudan Red 7B	10	9.41	94.10	5.24	0.2	0.5
	50	48.62	97.24	6.11		
	200	202.21	101.11	6.04		
Sudan Red G	10	10.41	104.10	5.65	0.5	1.0
	50	46.98	93.95	4.29		
	200	199.46	99.73	3.33		
Sudan I	10	9.52	95.20	3.97	2.0	5.0
	50	50.40	100.80	5.84		
	200	205.52	102.76	4.68		
Sudan II	10	8.51	85.10	3.99	0.5	1.0
	50	45.18	90.36	5.51		
	200	200.80	100.40	4.38		
Citrus Red 2	10	9.51	95.10	4.21	0.5	1.0
	50	51.16	102.31	4.05		
	200	196.24	98.12	3.66		

2.3.3 方法应用

选取市售 22 份水产品——白蟹、富贵虾、小黄鱼、大黄鱼、龙头鱼、黄姑鱼、梅童鱼、鲢鱼、玉秃、鲳鱼、带鱼、青占鱼、马鲛鱼、鳙鱼、鲮鱼、鲱鱼、乌贼、海带、海蜇、海地瓜、蛏子和文蛤作为方法验证样品基质,并做了添加回收质控样(鲳鱼样品,模拟水平 200 $\mu\text{g/kg}$),结果未发现阳性样品,质控样回收率均大于 80%。下一步将以水产制品为采集对象,扩

大筛查范围和样品种类。

将添加回收质控样以 UPLC-Q-TOF MS 技术检测分析,得到总离子流图,对目标物进行相对分子质量及标准物质谱图数据库检索,结果可知 15 种碱性合成色素化合物的匹配度均较高,其匹配度在 85% 以上。结果表明,经过乙腈和乙酸混合液提取和 C_{18} 复合硅胶基质萃取管净化,15 种碱性合成色素能够被 UPLC-Q-TOF MS 有效筛查出来。

3 结论

本文利用 C_{18} 复合硅胶基质萃取管提取净化,结合 UPLC-Q-TOF MS 技术,建立了水产品中 15 种碱性合成色素的快速检测方法。样品前处理优化了提取剂和萃取柱种类的选择,对水产品中不同性质的合成色素进行了有效提取分离;并利用了 Q-TOF MS 的精确质量数定性功能对不同种类的色素化合物进行筛查。与目前已报道的方法相比,前处理简便、快捷、高效,数据采集和数据库建立采用全息离子扫描的方式进行,所有二级碎片的精确质量和丰度都能用来匹配,适用于水产品中 15 种碱性合成色素的快速筛选。

参考文献:

- [1] Liu S J, Fan M, Jiang N, et al. Chinese Journal of Health Laboratory Technology (刘思洁, 范明, 姜楠, 等. 中国卫生检验杂志), 2013, 23(12): 2593
- [2] Qu Z K, Deng G H, Wang S W, et al. Food Science (屈忠凯, 邓光辉, 王士伟, 等. 食品科学), 2015, 36(4): 217
- [3] Zhang Z L, Mei Y J, Zhang Q M, et al. Chinese Journal of Analysis Laboratory (张贞理, 梅英杰, 张全美, 等. 分析试验室), 2012, 31(4): 15
- [4] Tian X H, Yu Z Q, Chen W, et al. Food Science (田秀慧, 于召强, 陈玮, 等. 食品科学), 2013, 34(12): 171
- [5] Zhu C Y, Wei J, Dong X F, et al. Chinese Journal of Chromatography (朱程云, 魏杰, 董雪芳, 等. 色谱), 2014, 32(4): 419
- [6] Halme K, Lindfors E, Peltonen K. J Chromatogr B, 2007, 845: 74
- [7] Tao Y F, Chen D M, Chao X Q, et al. Food Control, 2011, 22: 1246
- [8] Jing S J, Li J Q. Journal of Shanxi Datong University; Natural Science (景顺杰, 李建晴. 山西大同大学学报: 自然科学版), 2007, 23(3): 22
- [9] Ding C H, Qian L, Ren H H, et al. Food Science (丁长河, 钱林, 任惠华, 等. 食品科学), 2007, 28(2): 244
- [10] Deng G H, Chen S Y, Zhang G H. China Condiment (邓光辉, 陈盛余, 张桂华, 等. 中国调味品), 2011, 36(4): 92
- [11] Song X, Ji S L, Yang L, et al. Chinese Journal of Food Hygiene (宋新, 纪双利, 杨丽, 等. 中国食品卫生杂志), 2009, 21(5): 422
- [12] Xing W W, Wang R M, Wang J Q, et al. Chemical Research and Application (邢玮玮, 王榕妹, 王俊卿, 等. 化学研究与应用), 2010, 22(1): 42
- [13] Zhang H, Chen D Y, Feng J L, et al. Chinese Journal of Health Laboratory Technology (张昊, 陈东洋, 冯家力, 等. 中国卫生检验杂志), 2014, 24(15): 2167
- [14] Yang L, Chen Q J, Ding X R, et al. Science and Technology of Food Industry (杨琳, 陈青俊, 丁献荣, 等. 食品工业科技), 2011, 32(2): 350
- [15] Lin H L, Zhong B P, Hua Y Y. Chinese Journal of Health Laboratory Technology (林宏琳, 钟碧萍, 华永有. 中国卫生检验杂志), 2014, 24(2): 156
- [16] Liu M, Li X L, Bie W, et al. Chinese Journal of Chromatography (刘敏, 李小林, 别玮, 等. 色谱), 2011, 29(2): 162
- [17] Chen Y, Hua J, Pan Y L, et al. China Condiment (陈勇, 花锦, 潘亚利, 等. 中国调味品), 2014, 39(4): 124
- [18] Lin D Q, Wan C B, Qiu P, et al. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society (林黛琴, 万承波, 邱萍, 等. 质谱学报), 2013, 34(3): 171
- [19] Zhao Y S, Yang M L, Zhang F, et al. Chinese Journal of Chromatography (赵延胜, 杨敏莉, 张峰, 等. 色谱), 2011, 29(7): 631
- [20] Lü D M, Ding Y L, Zhan S, et al. Modern Instruments & Medical Treatment (吕东明, 丁云连, 詹晟, 等. 现代仪器与医疗), 2013, 19(2): 52