



ISSN 1000-8713

CN 21-1185/O6

SEPU 色谱

Chinese Journal of Chromatography

主编: 张玉奎

Vol.33 **8**
2015



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

特别策划:第20届全国色谱学术报告会专栏

- 785 引言 郑晓晖,赵新锋
- 786 赤霉素类植物激素分析方法研究进展
张晓娜,卢明华,徐林芳,校瑞,蔡宗苇
- 792 印迹分子聚合物结合低共熔溶剂用于山楂中咖啡酸的固相萃取(英文)
李桂珍,唐为扬,曹伟敏,王倩,朱涛
- 799 高效液相色谱法同时测定防晒类化妆品中15种紫外线吸收剂
孟宪双,马强,白桦,张庆,吕庆
- 805 高效液相色谱法测定菌群降解纤维素产物中的糖、有机酸和醇
姜艳,范桂芳,杜然,李佩佩,姜立,赵刚,齐泮仑,李十中
- 809 不同产地龙葵药材的高效液相色谱-蒸发光散射检测指纹图谱
王珏,金一宝,王铁杰,李晓帆
- 816 毛细管区带电泳-间接紫外检测法快速测定食品中乳糖、蔗糖、葡萄糖和果糖
张欢欢,李疆,赵珊,丁晓静,王志
- 研究论文**
- 822 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28种酸性合成色素
王萍亚,周勇,戴意飞,黄鹏,赵巧灵
- 830 QuEChERS-液相色谱-串联质谱法测定植物性食品中30种氨基甲酸酯类农药残留
达晶,王钢力,曹进,张庆生
- 838 分子印迹固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中5种 β_2 -受体激动剂残留
张学亮,罗云敬,姜洁,路勇,冯楠
- 843 超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用同时检测环境水体中22种典型药品及个人护理用品
吴春英,谷风,白鹭,陆文龙
- 849 整体柱在线固相微萃取-高效液相色谱同步富集检测水中的苯氧羧酸类除草剂
王家斌,吴芳玲,赵琦
- 856 高效液相色谱-紫外检测法同时测定食品接触材料中7种苯多酸及其衍生物的特定总迁移量
王建玲,肖晓峰,陈彤,刘艇飞,何军,邓弘毅,杨娟娟
- 864 自动真空液相色谱装置的研制及其在五味子成分分离中的应用
朱靖博,刘宝月,单世波,丁燕,寇自农,萧伟
- 869 气相色谱-三重四极杆串联质谱法测定白芍中99种农药残留
刘小勤,佟玲,孟文婷,孙国祥
- 878 气相色谱-负化学电离源质谱法测定鱼油中16种多氯联苯
王丽,李书书,张展,王守林,李磊
- 885 超声辅助碱解萃取-气相色谱-电子捕获检测器测定海洋沉积物中8种多溴联苯醚
王国光,张大海,杨丹丹,彭佳琳,李先国

色 谱

(SEPU)

第33卷 第8期

2015年8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 卫晓鸾

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 28 种酸性合成色素

王萍亚, 周 勇, 戴意飞*, 黄 鹂, 赵巧灵

(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:利用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF MS)技术建立了水产品中 28 种酸性合成色素的快速检测方法。水产样品采用氨水-水-乙醇(2:1:7, v/v/v)溶液提取,经氨基化吸附剂基质分散法净化后直接用 UPLC-Q-TOF MS 测定。目标物经 Eclipse Plus-C₁₈柱分离,以 0.1% (v/v) 甲酸-5 mmol/L 乙酸铵水溶液和乙腈为流动相进行梯度洗脱,采用电喷雾负离子模式下全信息串联质谱扫描模式进行检测。结果表明:水产品中 28 种酸性合成色素的定量限(LOQ, $S/N=10$)为 20~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$;并在各自的线性范围内线性关系良好(相关系数 $r \geq 0.991$,峰面积的相对标准偏差($n=6$)均小于 5.61%;在 3 个加标水平下的平均回收率为 70.24%~106.47%,相对标准偏差为 5.62%~9.65% ($n=6$)。该方法快速简单、灵敏度高,适用于水产品中 28 种色素的快速筛查。

关键词:超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱;酸性合成色素;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)08-0822-08

Rapid screening of 28 acidic artificial dyes in fishery products by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry

WANG Pingya, ZHOU Yong, DAI Yifei*, HUANG Li, ZHAO Qiaoling

(Zhoushan Institute for Food and Drug Control, Zhoushan Institute of Calibration and
Testing for Quality and Technology Supervision, Zhoushan 316021, China)

Abstract: An analytical method was established for the simultaneous determination of 28 acidic 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 ethyl alcohol containing 20% (v/v) ammonia water and 10% (v/v) water. Then the extract solution was purified according to amination adsorbent matrix dispersion method. The compounds were separated by an Eclipse Plus-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 negative mode. As a result, the limits of quantification (LOQs, $S/N=10$) of the target compounds were 20–100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in fishery products. The 28 analytes behaved linearly in wide-range with the correlation coefficients more than 0.991 as well as the relative standard deviations (RSDs) of the peak areas less than 5.61% ($n=6$). The average recoveries of the 28 analytes spiked at three levels were ranged from 70.24% to 106.47% with RSDs of 5.62%–9.65% ($n=6$). This method can be applied to the analysis of the 28 acidic artificial dyes in fishery products due to its fastness, simplicity and relatively high sensitivity.

Key words: ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS); acidic 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,在食品中非法添加和滥用酸性合成色素的现象层出不穷。因此相关的检测方法^[1-5]也随之受到关注和研究。合成色素与天然色素有着本质区别,合成色素由于色泽鲜艳、容易上色等特点主要应用于工业生产中。如对羊毛、皮革、蚕丝等进行染色处理,但均有一定程度的毒性。然而有些不法分子为节省成本,在食品中非法添加酸性合成色素,如酸性黄^[6]、酸性红^[7]等,对人体健康和社会稳定产生了极大的危害。但考虑到酸性合成色素种类繁多,无法一一列明,因此有必要针对目前市场上常见的28种酸性合成色素建立筛查方法,从而为有效遏制非法添加行为和食品安全风险预警提供技术手段。

目前色素的检测方法很多,如毛细管电泳法^[8]、高效液相色谱法^[9-11]、液相色谱-质谱法^[12-15]等。液相色谱与质谱联用技术能够在一定程度上排除基质干扰,对于基质复杂、需要高灵敏度、宽适用范围的检测工作而言,它已成为最佳的手段之一。四极杆飞行时间质谱(Q-TOF MS)作为高分辨质谱,能测定得到精确质量数,并且通过数据库进行一级、二级质量数匹配和同位素匹配等进行化合物鉴定,特别是对非特定的目标化合物进行鉴定,同时可以对检测到的阳性目标物进行定量。但目前对未知添加色素的筛查技术研究较少,且未见水产品中未知添加色素检测的相关报道。

因此,本文以水产品为研究对象,对其中28种禁用的酸性合成色素进行分析,建立了UPLC-Q-TOF MS筛查方法。对样品前处理方法、液相色谱条件、质谱条件进行了系统优化,为水产品中酸性合成色素高通量的筛查和确证提供了可行的方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent UHPLC 和 Agilent 6540-Q-TOF MS (Agilent, 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、丙酮、正己烷、乙醇和氨水(质量分数 25%~28%)为分析纯;C18 填料(40~63 μm)、聚酰胺粉(100~200 目)均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。

标准物质:苋菜红(Amaranth,纯度 89%)、日落黄(Sunset Yellow FCF,纯度 90%)、靛蓝(Indigo carmine,纯度 89%)、诱惑红(Allura Red AC,纯度

91%)、亮黑 BN(Brilliant Black BN,纯度 91%)、萘酚黄(Naphthol Yellow,纯度 89%)、酸性红(New Coccine,纯度 91%)、酸性黄(Acid Yellow,纯度 89%)、喹林黄(Quinoline Yellow,纯度 91%)、酸性红 2G(Acid Red 1,纯度 89%)、亮绿 SF(Light Green SF Yellowish,纯度 91%)、偶氮玉红(Carmoisine,纯度 91%)、酸性红 26(Ponceau Xylidine,纯度 91%)、羊毛绿(Wood Green S,纯度 91%)、橙色 I(Orange I,纯度 91%)、橙色 II(Orange II,纯度 91%)、监牢绿 FCF(Fast Green FCF,纯度 91%)、萘酚蓝黑(Naphthol Blue Black,纯度 91%)、酸性蓝(Brilliant Blue FCF,纯度 91%)、酸性红 52(Sulforhodamine B,纯度 91%)、赤藓红(Erythrosine,纯度 91%)、荧光桃红(Phloxine B,纯度 91%)、酸性黄 36(Metanil Yellow,纯度 91%)、酸性绿 3(Guinea Green B,纯度 91%)、荧光素钠(Uranine,纯度 91%)、孟加拉玫瑰红(Rose Bengal,纯度 91%)、酸性红 87(Eosin Y,纯度 91%)、丽春红 SX(Ponceau SX)均购于上海安谱实验科技股份有限公司。

1.2 标准溶液的配制

分别准确称取 28 种酸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 $^{\circ}\text{C}$ 保存),再分别吸取 1 g/L 的 28 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。用初始流动相将其稀释成相应的标准工作溶液,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 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 氨水和乙醇水溶液(2:7:1, v/v/v),涡旋混匀后于 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中浓缩至 4 mL,用 200 g/L 柠檬酸调节提取液 pH 值至 4.0,以 10 000 r/min 冷冻离心 10 min,将上清液转移至基质分散管中,管内装有氨基化吸附剂(1 000 mg 无水硫酸镁、50 mg C18 粉末、200 mg 聚酰胺粉末),振荡基质分散管 5 min,以 10 000 r/min 冷冻离心 10 min,去除上清液,然后向沉淀中加入 5 mL 氨水-甲醇(30:70, v/v)洗脱,重复洗脱一次后合并两次洗脱液,用氨化甲醇定容 10 mL,取 1 mL 用氮气吹干,再用 0.2 mL 甲醇-水(50:50, v/v)溶解,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 $\times$ 3.0 mm,

1.8 μm)作为分析柱,柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$;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 min~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:负离子全扫描;全扫描范围: m/z 50~1 100;毛细管电压:3 500 V;离子源喷雾电压:1 500 V;离子化电压:130 V;鞘气温度:350 $^{\circ}\text{C}$;干燥气温度:325 $^{\circ}\text{C}$;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 (Allions MS/MS)。参比溶液中含三氯乙酸 ($\text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2$, 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) 磷氮的三氟乙酸加合离子 ($\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{F}_{27}\text{N}_3\text{O}_8\text{P}_3^+$, 精确相对离子质量为 1 033.9 881)。

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 质谱条件的优化

选取负离子模式,在全扫描方式下优化离子化电压、毛细管电压、碰撞电压等参数。离子化电压和毛细管电压是质谱离子源的一项关键参数,该参数直接影响目标化合物的检测灵敏度。随着离子化电压和毛细管电压的逐渐增大,离子的响应强度会逐渐增强,响应达到一定值后,离子的响应又逐渐减弱。本实验考察了离子化电压为 100~150 V 以及毛细管电压为 3 000~5 500 V 的影响,结果表明在

130 V 的离子化电压和 3 500 V 的毛细管电压下,所有的目标化合物均能够得到比较满意的准分子离子峰,因此本文以 130 V 作为最佳采样离子化电压,根据优化结果采集数据。其次优化了碰撞电压,通过设定 5~80 V 的碰撞电压,根据二级离子灵敏度的总体情况进行调节,最终选择了两个碰撞能量,低能量值为 10 V,高能量为 40 V,由于高分辨质谱的筛查需要准确质量的二级图谱碎片进行匹配,所以通过不同的碰撞电压进行碎裂,并用全息二级图谱建立数据库,最终确定了用于酸性合成色素分析的质谱条件,同时用一级质量数、同位素丰度和二级碎片信息等建成一个完整的数据库,用于质谱筛选。

2.2 流动相的选择

本实验选择甲醇-0.1% (v/v) 甲酸水溶液、乙腈-0.1% (v/v) 甲酸水溶液、甲醇-含 0.1% (v/v) 甲酸的 5 mmol/L 乙酸铵溶液、乙腈-含 0.1% (v/v) 甲酸的 5 mmol/L 乙酸铵溶液作为流动相,分析比较了多种酸性合成色素的分离效果。结果表明,乙腈的分离效果明显优于甲醇,同时乙腈的洗脱能力更好,提高了分析效率;而乙酸铵能够得到较好的酸性合成色素峰形,相比之下纯水的效果较差;且在乙酸铵溶液中加入 0.1% (v/v) 甲酸,虽然在负离子条件下灵敏度有一定程度的损失,但实验发现其影响在可接受的范围内,同时峰形和分离度有明显改善。因此比较了在乙酸铵溶液中添加不同体积分数 (0%、0.1%、0.2%、0.5%) 的甲酸对色谱峰的影响,结果表明含 0.1% (v/v) 甲酸的 5 mmol/L 乙酸铵溶液和乙腈为最佳的流动相。由此,通过优化质谱条件和流动相确定最终的采集方法,然后通过标准物质采集获得 28 种酸性合成色素的分子特征提取色谱图 (见图 1)。

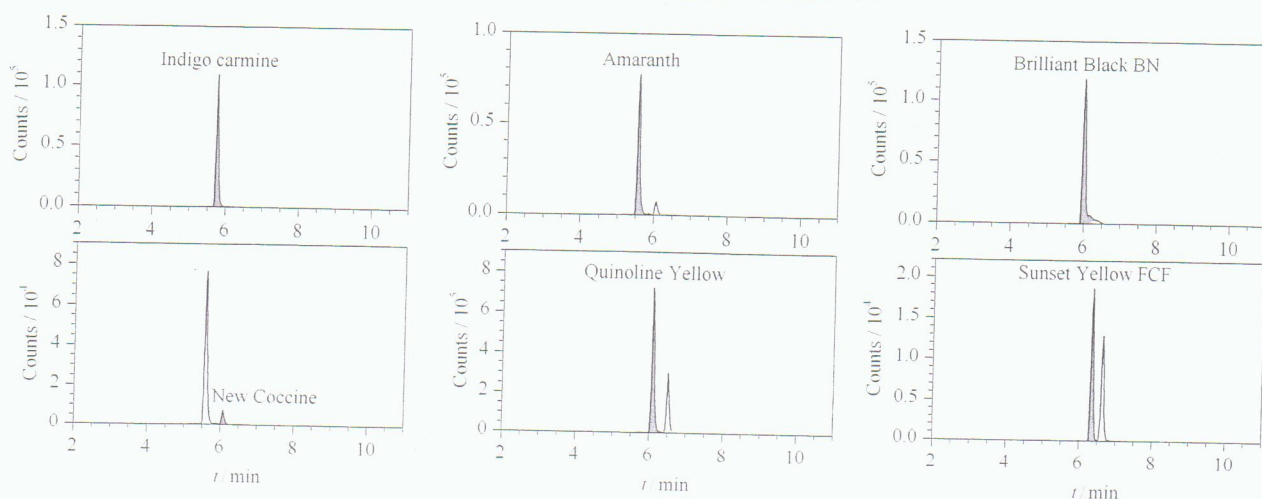


图 1 28 种酸性合成色素的 UPLC-Q-TOF MS 分子特征提取离子色谱图
Fig. 1 Molecular feature of extracted chromatograms of the 28 acidic artificial dyes by UPLC-Q-TOF MS

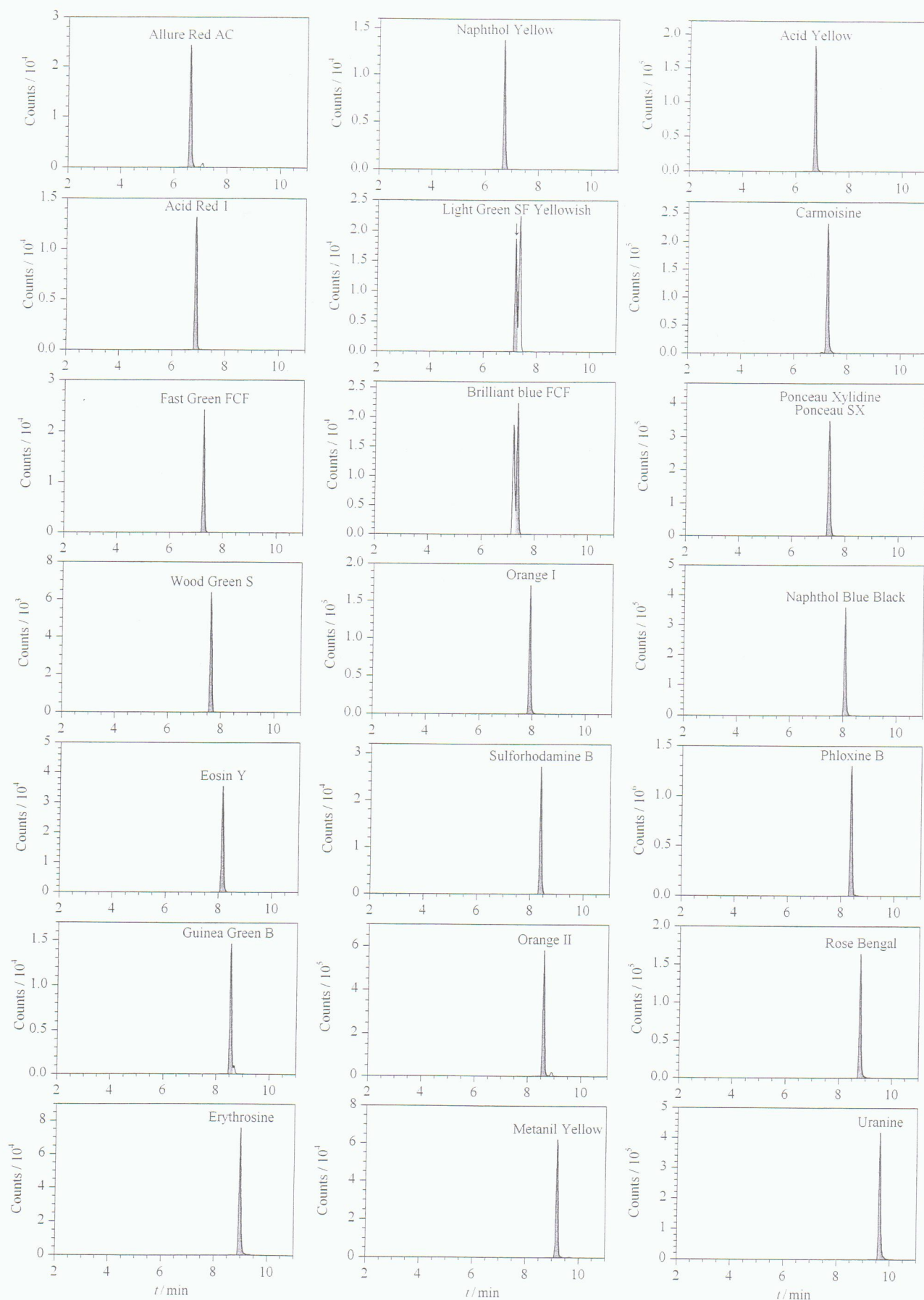


图 1 (续)

Fig. 1 (Continued)

通过 Allions MS/MS 模式一次进样同时检测 28 种酸性合成色素的质谱全扫描信息,在化学工作站设置 28 种酸性合成色素质谱检测的母离子及保留时间等信息,检测得到的质谱特征离子如表 1 所示。

表 1 水产品中 28 种酸性合成色素的保留时间和质谱信息
Table 1 Retention times and MS information of the 28 acidic artificial dyes in fishery products

Compound	Molecular formula	Retention time/min	Parent ion (m/z)	CAS No.
New Coccine	$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$	6.072	537.4752	2611-82-7
Brilliant Black BN	$C_{28}H_{17}N_5Na_4O_{14}S_4$	5.994	537.4752	2519-30-4
Amaranth	$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$	5.572	421.4820	915-67-3
Quinoline Yellow	$C_{18}H_9NNa_2O_8S_2$	6.083	778.4909	8004-92-0
Indigo carmine	$C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$	5.761	432.4868	860-22-0
Allura Red AC	$C_{18}H_{14}N_2Na_2O_8S_2$	6.617	407.5012	25956-17-6
Naphthol Yellow	$C_{10}H_4N_2NaO_8S$	6.705	451.5290	846-70-8
Acid Red 1	$C_{18}H_{13}N_3Na_2O_8S_2$	6.894	504.9452	3734-67-6
Sunset Yellow FCF	$C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$	6.350	312.9772	2783-94-0
Acid Yellow	$C_{16}H_{10}Cl_2N_4Na_2O_7S_2$	6.705	464.5242	6359-98-4
Carmoisine	$C_{20}H_{12}N_2Na_2O_7S_2$	7.250	503.4405	3567-69-9
Light Green SF Yellowish	$C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3$	7.205	293.0238	5141-20-8
Brilliant Blue FCF	$C_{37}H_{34}Na_2N_2O_9S_3$	7.361	763.6475	3844-45-9
Fast Green FCF	$C_{37}H_{34}N_2Na_2O_{10}S_3$	7.272	747.6526	2353-45-9
Wood Green S	$C_{27}H_{25}N_2NaO_7S_2$	7.616	435.5341	3087-16-9
Orange I	$C_{16}H_{11}N_2NaO_4S$	7.905	553.6124	523-44-4
Ponceau Xylidine	$C_{18}H_{14}N_2O_7S_2Na_2$	7.383	327.0445	3761-53-3
Ponceau SX	$C_{18}H_{14}N_2Na_2O_7S_2$	7.383	327.0445	4548-53-2
Naphthol Blue Black	$C_{22}H_{14}N_6Na_2O_9S_2$	8.061	571.5389	1064-48-8
Eosin Y	$C_{20}H_6Br_4Na_2O_5$	8.139	323.5964	95917-83-2
Phloxine B	$C_{20}H_2Br_4Cl_4Na_2O_5$	8.372	557.6437	18472-87-2
Orange II	$C_{16}H_{11}N_2NaO_4S$	8.594	392.2661	633-96-5
Guinea Green B	$C_{37}H_{35}N_2NaO_6S_2$	8.528	667.6958	4680-78-8
Sulforhodamine B	$C_{27}H_{29}N_2NaO_7S_2$	8.383	327.0445	74874-35-5
Rose Bengal	$C_{20}H_2Cl_4I_4Na_2O_5$	8.794	970.4919	632-69-9
Uranine	$C_{20}H_{10}Na_2O_5$	9.605	834.6478	518-47-8
Metanil Yellow	$C_{18}H_{14}N_3NaO_3S$	9.183	352.0761	587-98-4
Erythrosine	$C_{20}H_8I_4O_5$	8.983	331.0612	568-63-8

2.3 方法学验证

2.3.1 标准曲线、检出限与精密度

配制 20~10 000 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准溶液,以峰面积(Y)对相应的质量浓度(X , $\mu\text{g/L}$)分别绘制 28 种酸性合成色素的标准曲线。将 200 $\mu\text{g/L}$ 混合标

准溶液连续检测 6 次,计算峰面积的相对标准偏差(RSD)。各酸性合成色素的线性范围、相关系数(r)和峰面积的 RSD 见表 2。结果表明,28 种酸性合成色素在各自的线性范围内线性关系良好($r \geq 0.991$)。

表 2 28 种酸性合成色素的线性范围、相关系数(r)和 200 $\mu\text{g/L}$ 时峰面积的 RSD
Table 2 Linear ranges, correlation coefficients (r) and RSDs of the peak areas of the 28 acidic artificial dyes at 200 $\mu\text{g/L}$

Compound	Linear range/ ($\mu\text{g/L}$)	r	RSD/% ($n=6$)	Compound	Linear range/ ($\mu\text{g/L}$)	r	RSD/% ($n=6$)
New Coccine	20-5000	0.995	2.76	Wood Green S	20-5000	0.996	3.52
Brilliant Black BN	100-2000	0.995	5.61	Orange I	20-10000	0.999	3.86
Amaranth	20-2000	0.998	1.27	Ponceau Xylidine	100-10000	0.997	1.83
Quinoline Yellow	50-5000	0.995	1.25	Ponceau SX	20-2000	0.999	2.16
Indigo carmine	100-2000	0.995	2.41	Naphthol Blue Black	50-2000	0.997	2.13
Allura Red AC	50-2000	0.999	4.19	Eosin Y	50-10000	0.999	4.74
Naphthol Yellow	100-5000	0.991	1.43	Phloxine B	50-10000	0.998	1.56
Acid Red 1	50-10000	0.999	3.64	Orange II	20-5000	0.999	1.38
Sunset Yellow FCF	50-2000	0.997	0.97	Guinea Green B	20-5000	0.995	3.32
Acid Yellow	100-10000	0.998	5.42	Sulforhodamine B	20-10000	0.997	1.29
Carmoisine	50-2000	0.997	2.19	Rose Bengal	50-10000	0.998	2.57
Light Green SF Yellowish	50-5000	0.994	4.96	Uranine	20-10000	0.999	1.32
Brilliant Blue FCF	20-5000	0.999	3.10	Metanil Yellow	20-5000	0.999	0.90
Fast Green FCF	50-10000	0.999	2.59	Erythrosine	20-2000	0.995	2.48

2.3.2 回收率、检出限与定量限

根据 3 倍、10 倍信噪比 (S/N) 分别确定检出限 (LOD)、定量限 (LOQ)。在阴性的鲳鱼样品基质中添加 100、200 和 500 $\mu\text{g/kg}$ 3 个水平的混合标准溶液,按 1.3 节方法进行预处理,每个水平重复测定 6 次,得到 28 种酸性合成色素的回收率、LOD 与 LOQ

(见表 3)。28 种目标物的 LOD 为 5~50 $\mu\text{g/kg}$, LOQ 为 20~100 $\mu\text{g/kg}$;且在 3 个不同加标水平下 28 种酸性合成色素的回收率分别为 70.24%~106.47%,可以满足国内外水产品中酸性色素检测的要求。

表 3 鲳鱼中 28 种酸性合成色素的加标回收率、RSD、检出限和定量限
Table 3 Recoveries, RSDs, LODs and LOQs of the 28 acidic artificial dyes spiked in *Pampus argenteus*

Compound	Spiked/($\mu\text{g/kg}$)	Found/($\mu\text{g/kg}$)	Recovery/%	RSD/% ($n=6$)	LOD/($\mu\text{g/kg}$)	LOQ/($\mu\text{g/kg}$)
New Coccine	100	71.54	71.54	6.25	5	20
	200	157.84	78.92	6.84		
	500	432.05	86.41	7.12		
Brilliant Black BN	100	71.77	71.77	9.22	50	100
	200	149.44	74.72	9.01		
	500	376.23	75.20	9.12		
Amaranth	100	72.14	72.14	9.65	10	20
	200	155.64	77.82	9.35		
	500	383.20	76.60	9.61		
Quinoline Yellow	100	70.45	70.45	5.67	20	50
	200	165.10	82.55	5.98		
	500	487.32	97.46	6.21		
Indigo carmine	100	73.02	73.02	6.97	50	100
	200	150.40	75.20	6.84		
	500	425.52	85.10	6.68		
Allura Red AC	100	97.42	97.42	8.10	20	50
	200	175.14	87.57	7.68		
	500	502.50	100.50	7.21		
Naphthol Yellow	100	91.05	91.05	6.61	50	100
	200	166.08	83.04	5.95		
	500	500.41	100.08	5.62		
Acid Red 1	100	102.45	102.45	7.65	20	50
	200	190.64	95.32	7.24		
	500	532.35	106.47	8.01		
Sunset Yellow FCF	100	75.11	75.11	8.35	20	50
	200	157.43	78.70	7.95		
	500	396.74	79.34	7.62		
Acid Yellow	100	74.12	74.12	8.24	20	100
	200	173.62	86.81	8.11		
	500	502.21	100.44	8.04		
Carmoisine	100	71.30	71.30	6.91	20	50
	200	154.41	77.20	6.58		
	500	405.71	81.14	6.68		
Light Green SF Yellowish	100	77.51	77.51	6.98	20	50
	200	150.64	75.32	7.21		
	500	412.22	82.44	7.77		
Brilliant Blue FCF	100	85.14	85.14	8.11	10	20
	200	173.22	86.61	8.09		
	500	501.25	100.25	7.65		
Fast Green FCF	100	70.24	70.24	8.10	20	50
	200	146.44	73.22	7.56		
	500	492.75	98.55	6.69		
Wood Green S	100	73.42	73.42	6.62	10	20
	200	151.04	75.52	6.15		
	500	392.75	78.55	6.08		

表 3 (续)
Table 3 (Continued)

Compound	Spiked/($\mu\text{g/kg}$)	Found/($\mu\text{g/kg}$)	Recovery/%	RSD/% ($n=6$)	LOD/($\mu\text{g/kg}$)	LOQ/($\mu\text{g/kg}$)
Orange I	100	71.54	71.54	6.97	5	20
	200	151.62	75.81	6.34		
	500	432.25	86.45	6.89		
Ponceau Xylidine	100	79.62	79.62	6.98	20	100
	200	158.42	79.21	6.67		
	500	502.55	100.51	8.18		
Ponceau SX	100	70.55	70.55	7.12	10	20
	200	157.62	78.81	7.05		
	500	405.52	81.10	7.25		
Naphthol Blue Black	100	85.14	85.14	8.21	20	50
	200	164.62	82.31	8.05		
	500	470.64	94.12	8.66		
Eosin Y	100	85.11	85.11	6.99	20	50
	200	180.72	90.36	6.51		
	500	502.05	100.40	6.38		
Phloxine B	100	75.30	75.30	6.52	20	50
	200	153.08	76.54	7.12		
	500	526.25	105.25	6.68		
Orange II	100	98.11	98.11	8.00	5	20
	200	185.28	92.64	9.12		
	500	500.85	100.17	9.06		
Guinea Green B	100	75.48	75.48	7.62	10	20
	200	153.22	76.61	7.05		
	500	477.35	95.47	7.03		
Sulforhodamine B	100	86.41	86.41	7.65	5	20
	200	167.92	83.95	7.29		
	500	498.65	99.73	7.33		
Rose Bengal	100	100.02	100.02	8.21	20	50
	200	169.08	84.54	7.95		
	500	526.71	105.34	7.99		
Uranine	100	80.47	80.47	7.66	5	20
	200	162.84	81.40	7.28		
	500	495.71	99.14	7.05		
Metanil Yellow	100	100.15	100.15	8.23	5	20
	200	195.88	97.94	8.12		
	500	472.94	94.58	7.98		
Erythrosine	100	85.48	85.48	9.02	10	20
	200	167.24	83.62	9.15		
	500	492.85	98.57	8.56		

2.4 方法的应用

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、鲭鱼、鱿鱼、乌贼、海带、海蜇、海地瓜、蛭子和文蛤)进行检测,结果未发现阳性样品,下一步将以水产品加工品作为采集对象,扩大筛查范围。按照本方法筛选,以酸性红为例,图 2 是酸性红的二级碎片质谱图,可获得相应的母离子和碎片离子信息。经过精确分子质量及标准物质谱图数据库的检索,28 种目标物的匹配度均大于 85%,说明建立 UPLC-Q-TOF MS 技术可快速有效地筛查水产品中 28 种酸性合成色素。

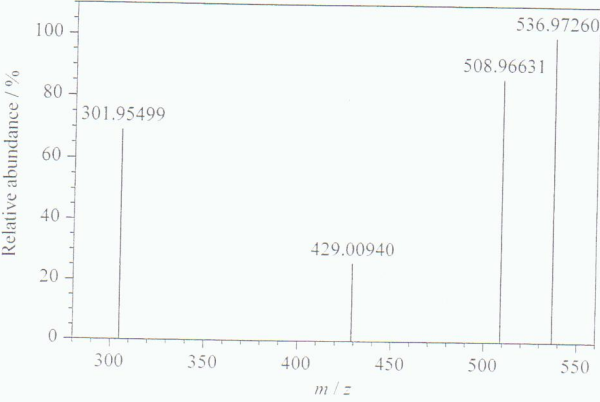


图 2 酸性红的二级碎片图谱
Fig. 2 Fragment spectrum of New Coccine

3 结论

本文建立了UPLC-Q-TOF MS快速筛查水产品中28种酸性合成色素的方法,该方法简便快速,灵敏度高,其回收率及重复性能满足日常检测的要求。采用氨基化吸附剂基质分散法对样品净化处理,可有效地减少样本中杂质的干扰。且该方法具有高通量、高灵敏度、高分辨率、高质量精确度及可行的线性范围,可利用四极杆串联飞行时间质谱定性的功能,对28种酸性合成色素进行检测筛查,适用于水产品中违禁添加色素化合物的快速确证。

参考文献:

- [1] Ma M, Luo X B, Chen B, et al. J Chromatogr A, 2006, 1103: 170
- [2] Feng F, Zhao Y S, Yong W, et al. J Chromatogr B, 2011, 879: 1813
- [3] 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
- [4] 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
- [5] Zhang Y D, Chang C L, Guo Q L, et al. Chinese Journal of Chromatography (张一丁, 常翠兰, 郭启雷, 等. 色谱), 2014, 32(4): 438
- [6] Huang L Y, Zhang X B, Chen X Z, et al. Journal of Instrumental Analysis (黄丽英, 张晓波, 陈小珍, 等. 分析测试学报), 2013, 32(6): 687
- [7] Tu H Y, Xiao H L, Zhu S D, et al. China Food (屠海云, 肖海龙, 朱顺达, 等. 中国食品), 2011(10): 82
- [8] Johns C, Macka M, Haddad P R. J Chromatogr A, 2003, 997: 87
- [9] Ni R, Yang L B, Liu L X. Chinese Journal of Health Laboratory Technology (倪蓉, 杨龙彪, 刘兰侠. 中国卫生检验杂志), 2010, 20(5): 991
- [10] Zhao F, Gao G H, Na H Q, et al. Chinese Journal of Chromatography (赵飞, 高广慧, 那海秋, 等. 色谱), 2013, 31(5): 490
- [11] Wang D Y, Yang X L, Li X Q, et al. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis (王冬妍, 杨晓丽, 李兴权, 等. 理化检验-化学分册), 2010, 46(9): 1034
- [12] Zhao R, Li B, Zhao H Y, et al. Chinese Journal of Food Hygiene (赵榕, 李兵, 赵海燕, 等. 中国食品卫生杂志), 2010, 22(4): 305
- [13] Li B R, Feng J L, Pan Z Q, et al. Chinese Journal of Health Laboratory Technology (李帮锐, 冯家力, 潘振球, 等. 中国卫生检验杂志), 2007, 17(4): 579
- [14] Hu L, Lei S R, Guo L A, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry (胡莉, 雷绍荣, 郭灵安, 等. 分析化学), 2013, 41(1): 110
- [15] Zheng L Y, Chen J J, Xu J L, et al. Chinese Journal of Chromatography (郑立洋, 陈娟娟, 徐继林, 等. 色谱), 2014, 32(9): 992