

# 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱快速筛查测定几种食品中的 8 种碱性色素

张慧敏<sup>1</sup>, 彦培傲<sup>1</sup>, 马湘君<sup>1</sup>, 王静<sup>2</sup>, 鞠玲燕<sup>2</sup>

(1. 威海海洋职业学院海洋生物与医药系, 山东威海 264300) (2. 威海出入境检验检疫局, 山东威海 264205)

**摘要:** 本文研究了超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法快速测定面包、橙汁、卤豆干等食品中 8 种碱性色素的方法。样品用乙酸乙酯提取后, 以 C18 (3.0 mm×100 mm, 1.8 μm) 色谱柱分离, 乙腈和 10 mmol/L 乙酸铵水溶液为流动相梯度洗脱, 在正负离子切换模式下检测 8 种碱性色素。在全扫描模式下提取 8 种碱性色素的保留时间和一级母离子精确质量数以及同位素丰度比, 实现对食品中 8 种碱性色素的快速测定; 以自动触发采集的二级碎片离子精确质量数进行确证。8 种碱性线性关系较好, 相关系数( $R^2$ ) 大于 0.99, 回收率在 82.2%~105.3% 之间, 相对标准偏差在 6.0%~9.9% 之间。该方法简单、快速、可靠, 可定性筛查和定量分析食品中 8 种碱性色素。

**关键词:** 超高效液相色谱; 静电场轨道阱高分辨质谱; 食品; 碱性色素; 快速筛查

文章编号: 1673-9078(2019)11-285-292

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.11.039

## Screening of 8 Basic Dyes in Food by Ultra Performance Liquid

## Chromatography-quadrupole / Electrostatic Field Orbitrap

## High-resolution Mass Spectrometry

ZHANG Hui-min<sup>1</sup>, YAN Pei-ao<sup>1</sup>, MA Xiang-jun<sup>1</sup>, WANG Jing<sup>2</sup>, JU Ling-yan<sup>2</sup>

(1. Department of Marine Biology and Medicine, Weihai Ocean Vocational College, Weihai 264300, China)

(2. Weihai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Weihai 264205, China)

**Abstract:** A fast and easy method for the quantification of 8 basic dyes in food (bread, orange juice and stewed bean curd) was investigated by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry. The sample was extracted by ethyl acetate, C<sub>18</sub> (3.0 mm×100 mm, 1.8 μm) was used as chromatography column to separate the basic dyes with a gradient elution of acetonitrile and 10mmol/L ammonium acetate aqueous solution as the mobile phase. The 8 basic dyes were analyzed in positive and negative mode. The retention time, accurate mass of parent ion and relative isotope abundance were used for fast screening in full scan mode, while accurate mass of fragment ions was used for confirmation in two-stage threshold-triggered full mass scan mode. Under the optimal conditions, good linearities ( $R^2 > 0.99$ ) were obtained in their respective linear ranges. The recoveries were in the range of 82.2%~105.3% and the relative standard deviation was 6.0%~9.9%. The method was simple, sensitive, accurate and suitable for the rapid screening and confirmation of 8 basic dyes in food.

**Key words:** ultra high performance liquid chromatography; orbitrap high-resolution mass spectrometry; food; basic dyes; rapid screening

《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》GB 2760-2014<sup>[1]</sup>中明确规定食品中可以使用的色素种类, 如苋菜红、胭脂红、赤藓红、日落黄等。工业色素可分为中性色素、酸性色素、碱性色素等<sup>[2]</sup>。碱性色素

收稿日期: 2019-06-21

基金项目: 国家质检总局科技计划项目 (2016IK201)

作者简介: 张慧敏 (1988-), 女, 工程师, 硕士研究生, 研究方向: 食品安全与检测

通讯作者: 王静 (1975-), 女, 研究员, 研究生, 研究方向: 食品安全

通常价格低廉、不易褪色, 主要用来对油漆、鞋油等工业用品染色<sup>[3]</sup>, 禁止用于食品。据报道, 添加到食品中的工业色素主要是碱性色素 (如罗丹明 B、碱性橙、孔雀石绿、碱性黄、对位红)<sup>[4]</sup>。英国食品标准局在食品中发现了对位红, 在鲑鱼中发现了孔雀石绿<sup>[5]</sup>; 我国在豆腐中发现了碱性橙 2, 火锅底料中发现了罗丹明 B<sup>[6]</sup>。为防止一些不法分子节约成本, 在食品中添加碱性色素, 亟需建立高灵敏、精确、快速的筛查检测方法。

碱性色素的检测方法多为液相色谱法<sup>[7,8]</sup>和液质联用法<sup>[9-11]</sup>,采用高分辨质谱测定食品中碱性色素的方法还鲜有报道,静电场轨道阱高分辨质谱是在 Full MS/ddMS2 模式下同时进行一级质谱全扫描和数据依赖的二级质谱扫描,其以母离子作为定量离子,简化质谱参数的优化,消除基质干扰,可进行食品的快速筛查和定量。而且静电场轨道阱高分辨质谱具备基于数据库的多种未知物的筛查功能,较普通串联质谱分辨率更高,适用于食品中多种有害物的快速筛查<sup>[12]</sup>。

表 1 8 种碱性色素信息表

Table 1 The information of 8 Basic dyes

序号	目标物	英文名	分子式	CAS
1	罗丹明 B	Rhodamine B	C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	81-88-9
2	碱性橙 2	Basic Orange 2	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>4</sub>	532-82-1
3	碱性橙 21	Basic Orange 21	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> ClN <sub>2</sub>	3056-93-7
4	碱性橙 22	Basic Orange 22	C <sub>28</sub> H <sub>27</sub> ClN <sub>2</sub>	4657-00-5
5	孔雀石绿	Basic Green 4	C <sub>32</sub> H <sub>34</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub>	2437-29-8
6	碱性嫩黄	Auramine O	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> N <sub>3</sub> Cl	2465-27-2
7	对位红	Pigment Red 1	C <sub>16</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	6410-10-2
8	丽春红 2R	Ponceau 2R	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub> S <sub>2</sub> Na <sub>2</sub>	3761-53-3

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器、材料与试剂

超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱仪(Q-Exactive),美国 ThermoFisher 公司;高速离心机(CR22G II),日立公司。超声波提取仪(SB5200),必能信超声(上海)有限公司。

### 1.2 色谱质谱条件

#### 1.2.1 色谱条件

色谱柱: ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub>(3.0 mm×100 mm, 1.8 μm); 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 25 °C; 进样体积: 20 μL; 流动相: A 为乙腈, B 为 10 mmol/L 乙酸铵水溶液。梯度洗脱程序: 0~1 min, 5% A; 1~2 min, 5% A~10% A; 2~3 min, 10%~40% A; 3~5 min, 40% A~95% A; 5~13 min, 95% A; 13.1~15 min, 10% A; 15.1~17 min, 5% A; 分析时间: 17 min。

#### 1.2.2 质谱条件

喷雾电压: 正离子模式 3.5 kV, 负离子模式 2.8 kV; 离子源温度: 300 °C; 传输金属毛细管温度: 350 °C; 鞘气压力: 35 kPa; 辅助气压力: 15 kPa; 扫描范围(*m/z*): 150 u~750 u; 一级质谱全扫描(Full scan)分辨率: R=70000; 自动增益控制进入轨道阱中的离子数(AGC target): 3e<sup>6</sup>; 最大注入时间: 100 ms;

本研究选择 8 种易被违法添加的碱性色素为研究对象,采用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法对 8 种碱性色素进行快速筛查和定量。方法采用 Q-Exactive 的正负离子切换模式获得一级数据,通过提取目标化合物的一级质谱精确质量数获得定性和定量结果,通过自动触发获得的二级碎片离子数据进一步确认。该方法快捷、方便、高通量,可用于食品中 8 种碱性色素的快速筛查和确证。

数据依赖二级离子全扫描分辨率: R=17500; 归一化碰撞能: 40eV±50%; AGC target: 2e<sup>5</sup>; 最大注入时间: 50 ms; 动态排除: 10 s。

### 1.3 样品前处理

准确称取 5.00 g 样品于 50 mL 离心管中,加入 20 mL 乙酸乙酯和 5 g 氯化钠,涡旋,超声提取 10 min, 8000 r/min 离心 5 min, 将上层乙酸乙酯转移至旋转蒸发瓶中, 剩余残渣再加入 20 mL 乙酸乙酯, 重复提取 1 次, 合并乙酸乙酯层清液, 40 °C 旋转浓缩至干。准确加入 2.0 mL 乙腈和 0.1% 甲酸水溶液(1:1, V:V)涡旋 30 s, 过 0.45 μm 滤膜, 上机检测。

### 1.4 数据统计分析

通过全扫描获得 8 种碱性色素的质谱图, 得到保留时间和精确质量数等信息, 同时载入相应的二级碎片离子数据信息, 利用 Trace finder 软件建立目标化合物的数据库, 对目标检测物进行定性筛查, 确定化学成分。以母离子作为定量离子, 采用外标法定量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 提取溶剂的优化

在提取溶剂的选择中, 实验比较了甲醇、正己烷、乙腈、乙酸乙酯 4 种溶剂的提取效果(如图 1 所示),

乙腈和乙酸乙酯对 8 种碱性色素的提取效率优于正己烷和甲醇，其提取回收率均在 85%以上。但由于乙腈提取液含有少量水分，不利于旋蒸，因此，选择乙酸乙酯作为提取溶剂。

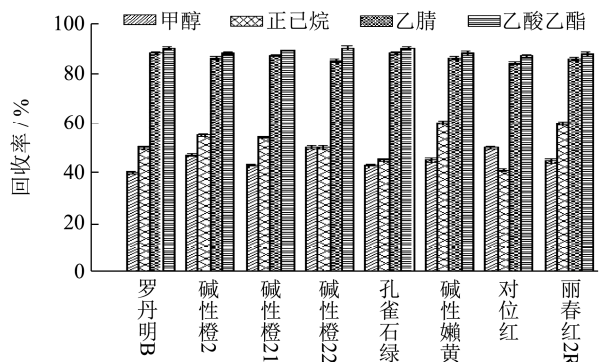
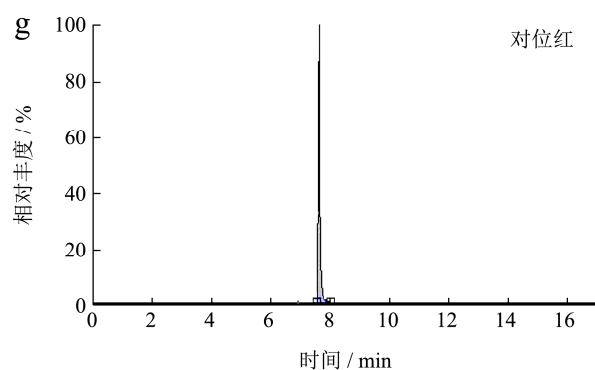
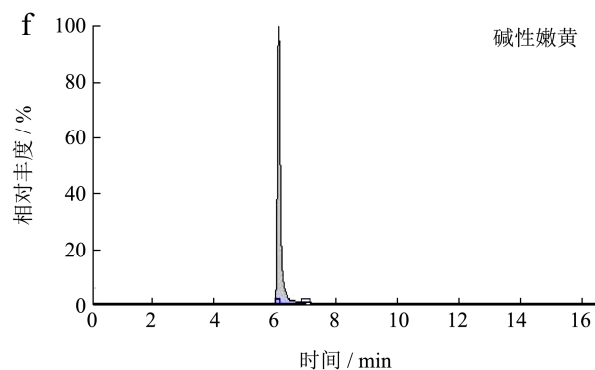
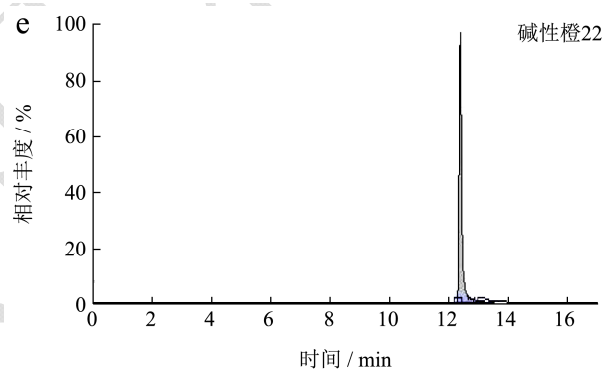
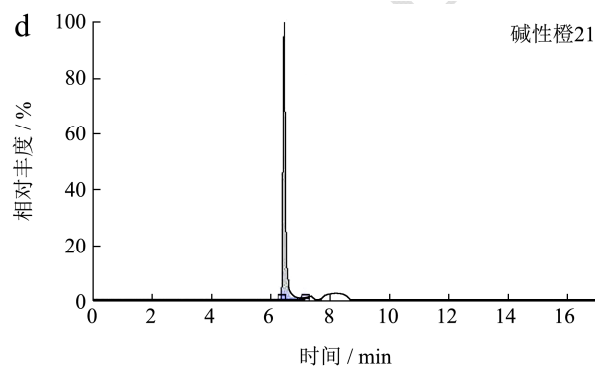
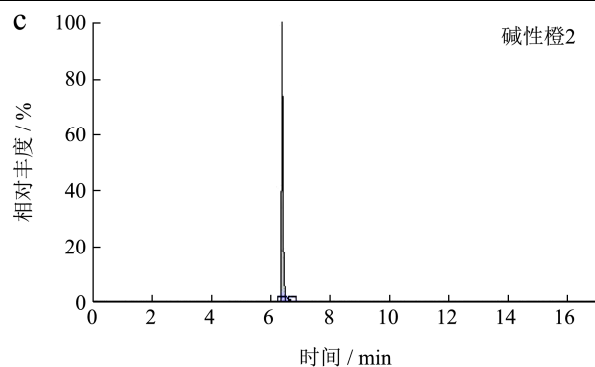
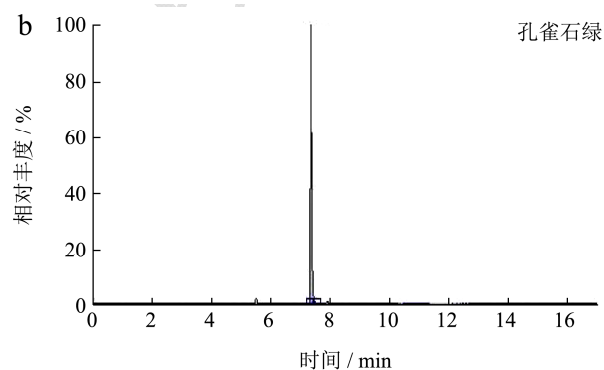
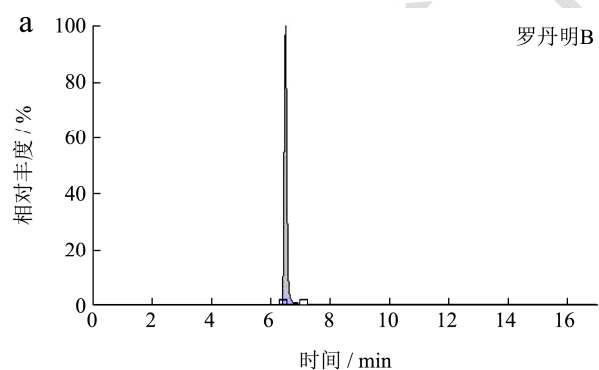


图 1 不同提取试剂对 8 种碱性色素提取效率的影响

Fig.1 Effect of different reagents on extraction efficiencies of 8 basic dyes

## 2.2 流动相的优化

在流动相的选择中，对比了乙腈-0.1%甲酸、甲醇-0.1%甲酸、10 mmol/L 乙酸铵-甲醇、10 mmol/L 乙酸铵-乙腈作为流动相对待测物色谱分离的影响。结果表明，10 mmol/L 乙酸铵-甲醇和 10 mmol/L 乙酸铵-乙腈作为流动相均能使 8 种碱性色素得到良好分离，但 10 mmol/L 乙酸铵-甲醇作为流动相对对位红的色谱峰形不佳。因此，选择 10 mmol/L 乙酸铵-乙腈作为流动相，采用梯度洗脱的方式可以实现 8 种碱性色素的良好分离，如图 2 所示。



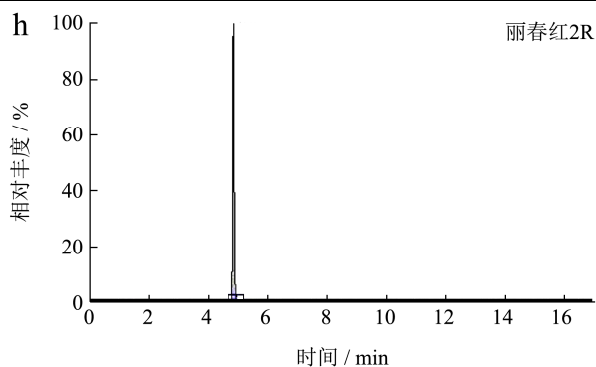


图 2 8 种碱性色素的提取离子色谱图

Fig.2 Extracted ion chromatograms of 8 basic dyes

表 2 8 种碱性色素的精确质量数、保留时间、相对质量偏差及碎片离子信息

Table 2 Accurate masses, retention time, relative mass deviations and fragment ions of 8 basic dyes

序号	化合物	离子峰类型	理论精确质量数/(m/z)	测量精确质量数/(m/z)	相对质量偏差*/10 <sup>-6</sup>	保留时间/min	二级碎片离子信息
1	罗丹明 B	[M+H] <sup>+</sup>	443.23292	443.23257	-0.79	6.49	C <sub>25</sub> H <sub>23</sub> O <sub>3</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> (399.17032); C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> N <sup>+</sup> (316.13321)
2	碱性橙 2	[M+H] <sup>+</sup>	213.11347	213.11330	-0.80	6.39	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> <sup>+</sup> (121.06345); C <sub>2</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> <sup>+</sup> (88.07435); C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> (105.04472)
3	碱性橙 21	[M+H] <sup>+</sup>	315.18558	315.18536	-0.70	6.46	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> (300.16210); C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> (285.13863); C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sup>+</sup> (144.08078)
4	碱性橙 22	[M+H] <sup>+</sup>	391.21688	391.21667	-0.54	12.35	C <sub>27</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> (376.19340); C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> N <sup>+</sup> (220.11208); C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> (284.13080); C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sup>+</sup> (158.09643)
5	孔雀石绿	[M+H] <sup>+</sup>	329.20123	329.20090	-1.00	7.37	C <sub>22</sub> H <sub>21</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> (313.16993); C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> N <sup>+</sup> (208.11208)
6	碱性嫩黄	[M+H] <sup>+</sup>	268.18082	268.18063	-0.71	6.10	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> N <sub>2</sub> <sup>+</sup> (147.09167); C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> N <sup>+</sup> (122.09643)
7	对位红	[M-H] <sup>-</sup>	292.07276	292.07288	0.41	7.60	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> N <sup>-</sup> (122.02475); C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub> N <sup>-</sup> (138.01967); C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> <sup>-</sup> (108.02168); C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub> N <sup>-</sup> (264.06662)
8	丽春红 2R	[M-2Na+2H-H] <sup>-</sup>	435.03262	435.01712	0.51	4.89	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> S <sup>-</sup> (194.00431); C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>6</sub> NS <sup>-</sup> (218.98431); C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> O <sub>6</sub> N <sub>12</sub> <sup>-</sup> (271.09356)

注: \*相对质量偏差=(测量精确质量数-理论精确质量数)/理论精确质量。

### 2.4 质谱条件的优化

当一级全扫描的分辨率 R=70000, 8 种碱性色素可与基质中干扰物实现基线分离。碰撞能量设为 40 eV, 并在此基础上加减 50%, 最终加和获得丰富的碎片离子。本研究采用高分辨质谱的一级质谱全扫描加数据依赖的二级质谱扫描方式, 通过全扫描确定 8 种

### 2.3 色谱柱的优化

考察 ACQUITY UPLC@BEN C<sub>18</sub> (2.1 mm×50 mm, 1.7 μm)超高效色谱柱、ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub> (3.0 mm×100 mm, 1.8 μm)超高效色谱柱和 Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (2.1 mm×100 mm, 3.5 μm)色谱柱对待测物的分析效果。结果表明, 在相同流动相的前提下, ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub> (3.0 mm×100 mm, 1.8 μm)可以得到 8 种碱性色素良好的分离效果。本试验选择 ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub> (3.0 mm×100 mm, 1.8 μm)作为色谱柱。

碱性色素的保留时间和精确质量数, 同时载入相应的二级碎片离子信息, 建立目标化合物的筛查数据库, 对目标检测物进行定性筛查和确证, 如表 2 所示。使用高分辨质谱检测目标化合物的精确质量数对于定性和定量非常重要, 因此质谱数据必须具备良好的质量准确度, 8 种碱性色素的质量准确度误差均小于 2×10<sup>-3</sup> mg/kg, 可见检测物的质量准确度均很好, 可以满足

定性需求<sup>[12]</sup>。欧盟 EC 2002/657 号文件对质谱确证时的碎片类型和识别点有明确规定，食品禁用物质确证须有 4 个识别点，在高分辨质谱中，母离子的识别点为 2.0，子离子的识别点为 2.5，因此只需一个母离子和一个子离子即可对目标物确证<sup>[13,14]</sup>，本研究满足这一规定，通过 8 种碱性色素的二级质谱全扫描获得碎片离子信息，提高定性的准确性，如图 3。

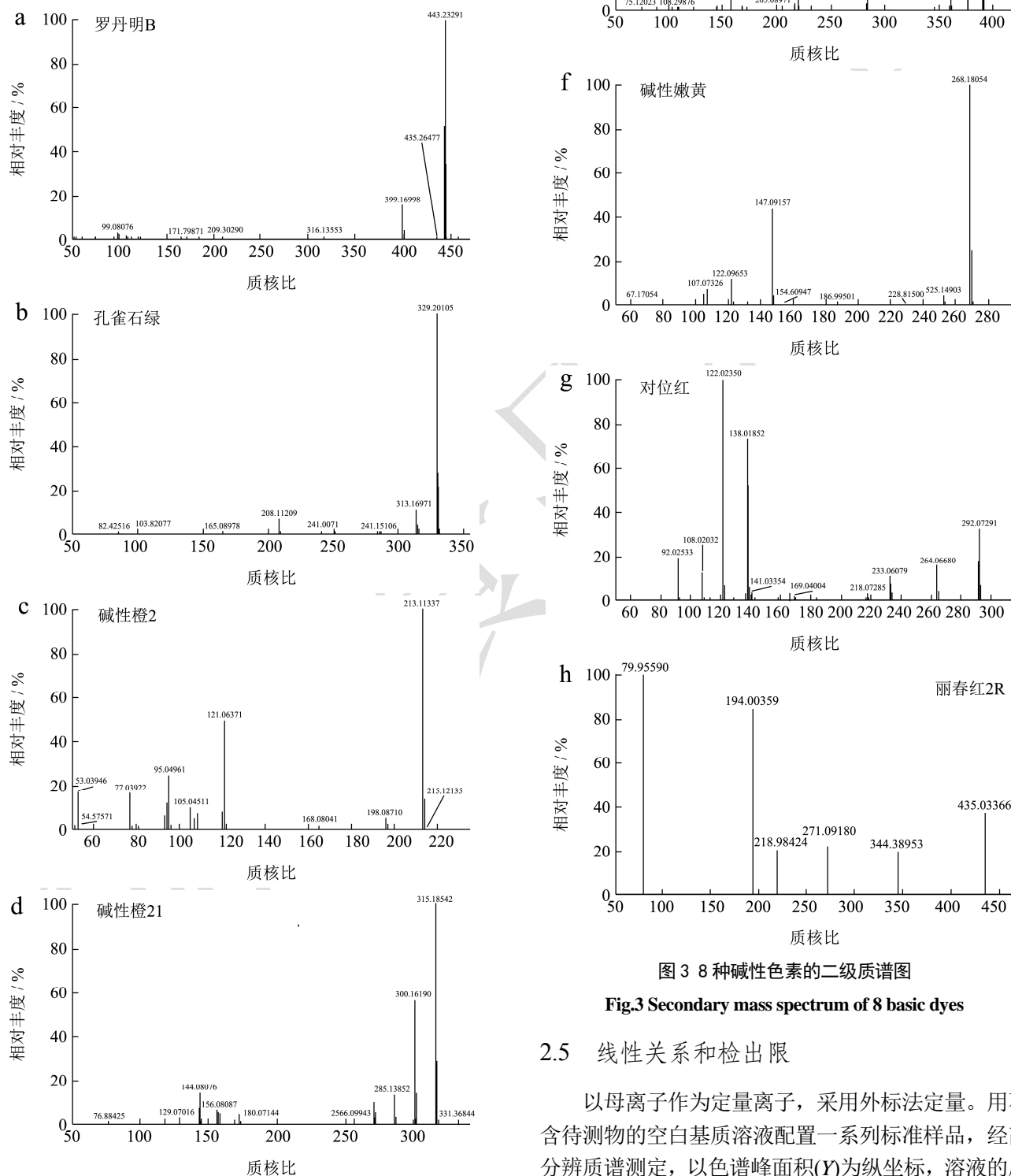


图 3 8 种碱性色素的二级质谱图

Fig.3 Secondary mass spectrum of 8 basic dyes

### 2.5 线性关系和检出限

以母离子作为定量离子，采用外标法定量。用不含待测物的空白基质溶液配置一系列标准样品，经高分辨质谱测定，以色谱峰面积(Y)为纵坐标，溶液的质

量浓度(X)为横坐标绘制标准曲线,用基质空白溶液逐级稀释标准溶液至仪器所能检出的最低浓度确定为检出限(limit of detection, LOD),8种碱性色素在相应浓度范围内呈良好的线性关系,可满足检测要求。如表3所示。

### 2.6 回收率及精密度

选取面包、橙汁、卤豆干为空白样品,分别添加3个不同浓度水平的混合标准溶液,每个水平重复测定6次,计算其回收率和相对标准偏差(relative standard deviation, RSD),结果表明,8种碱性色素测定的平均回收率为82.2%~105.3%,RSD为6.0%~9.9%,如表4所示。回收率和精密度较好,可以满足食品中8种碱性色素检测要求。

表3 8种碱性色素的线性回归方程、相关系数、线性范围和检出限

**Table 3 Linear regression equations, correlation coefficients, linear ranges and LODs of 8 Basic dyes**

序号	化合物	线性回归方程	相关系数	线性范围/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	检出限/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
1	罗丹明 B	$Y=3005580X+3065500$	0.9991	1.0~200	0.3
2	碱性橙 2	$Y=714084X+2233470$	0.9992	5.0~200	1.7
3	碱性橙 21	$Y=2528000X+4286760$	0.9986	5.0~200	1.7
4	碱性橙 22	$Y=8305800X-6786020$	0.9991	5.0~200	1.7
5	孔雀石绿	$Y=650991X-290424$	0.9997	2.0~100	0.7
6	碱性嫩黄	$Y=2586400X+4820870$	0.9990	2.0~100	0.7
7	对位红	$Y=9789820+119316 X$	0.9999	50~1000	16.7
8	丽春红 2R	$Y=6736.16X-375776$	0.9981	500~5000	167

表4 食品中8种碱性色素的平均回收率和相对标准偏差

**Table 4 Average recovery and relative standard deviation of 8 basic dyes(n=6)**

化合物	添加量/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	面包	
		回收率/%	RSD/%
罗丹明 B	1.0、2.0、10.0	88.1、84.4、92.6	9.0、8.0、8.1
碱性橙 2	5.0、10.0、50.0	83.5、94.0、91.1	8.1、7.2、7.3
碱性橙 21	5.0、10.0、50.0	82.3、85.5、90.6	8.1、8.2、6.0
碱性橙 22	5.0、10.0、50.0	82.2、84.3、95.6	9.9、7.8、6.0
孔雀石绿	2.0、4.0、20.0	89.0、89.4、98.8	8.7、6.6、6.6
碱性嫩黄	2.0、4.0、20.0	89.2、90.4、90.8	8.5、8.5、8.3
对位红	50、100、500	84.2、86.4、92.4	7.2、8.2、7.0
丽春红 2R	500、1000、5000	85.9、88.6、90.2	8.9、6.8、6.7

化合物	橙汁		卤豆干	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
罗丹明 B	80.8、88.5、95.6	8.3、8.2、6.9	85.5、88.4、92.2	9.8、7.5、7.4
碱性橙 2	84.2、88.4、90.4	9.3、7.0、6.0	105.1、105.3、100.5	9.2、9.0、7.5
碱性橙 21	85.0、81.4、95.5	8.3、6.2、6.1	83.2、81.4、90.9	9.3、8.2、8.1
碱性橙 22	85.2、88.4、98.9	8.3、8.2、8.1	84.2、88.4、90.9	8.3、8.8、7.3
孔雀石绿	88.2、85.4、99.9	7.3、8.2、7.1	83.2、81.4、90.9	9.3、8.2、8.1
碱性嫩黄	82.3、81.9、92.2	8.3、6.2、6.2	88.5、90.4、95.6	8.8、7.6、7.2
对位红	89.0、90.4、95.9	8.3、7.2、6.1	80.8、88.5、95.6	8.3、8.2、6.9
丽春红 2R	88.6、88.1、92.3	6.9、8.8、8.7	85.6、87.6、95.1	7.9、7.8、7.7

### 2.7 筛查数据库的建立

首先,整理所需筛查的化合物信息,包括化合物名称、分子式、保留时间和化合物带电情况,同时载

入相应的二级碎片离子信息,Trace finder 软件可以利用所输入的分子式计算出精确质量数,建立目标化合物的筛查数据库,如表5所示。

表 5 碱性色素筛查数据库

Table 5 Screening database of Basic dyes

Index	Compound Name	Elemental Composition	Polarity	Expected RT	Intensity Threshold
1	Rhodamine B	C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	+	6.49	5000
2	Basic Orange 2	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>4</sub>	+	6.39	5000
3	Basic Orange 21	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> ClN <sub>2</sub>	+	6.46	5000
4	Basic Orange 22	C <sub>28</sub> H <sub>27</sub> ClN <sub>2</sub>	+	12.35	5000
5	Basic Green 4	C <sub>52</sub> H <sub>54</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub>	+	7.37	5000
6	Auramine O	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> N <sub>3</sub> Cl	+	6.10	5000
7	Pigment Red 1	C <sub>16</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	-	7.60	5000
8	Ponceau 2R	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub> S <sub>2</sub> Na <sub>2</sub>	-	4.89	5000

Index	Adduct 1	Adduct 2	Adduct 3	Fragment 1	Fragment 2	Fragment 3
1	1	1	1	399.17032	316.13321	
2	1	1	1	121.06345	88.07435	105.04472
3	1	1	1	300.16210	285.13863	144.08078
4	1	1	1	376.19340	220.11208	284.13080
5	1	1	1	313.16993	208.11208	
6	1	1	1	147.09167	122.09643	
7	1	1	1	122.02475	138.01967	108.02168
8	1	1	1	194.00431	218.98431	271.09356

### 2.8 实际样品的筛查

应用数据库对 10 份面包样品, 10 份橙汁样品, 10 份卤豆干样品进行筛查, 结果未发现碱性色素的阳性样品。下一步将扩大筛查范围和样品种类。

### 3 结论

本研究利用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱, 建立了快速定性筛查和定量分析食品中 8 种碱性色素的方法。

3.1 建立碱性色素的一级筛查谱库。从中提取出碱性色素的保留时间; 欧盟 2002/657/EC 增加的 LC/MS 目标标准, 要求质量精度在±50 mu 之间, 8 种碱性色素的质量数相对偏差全部小于 2×10<sup>-3</sup> mg/kg, 因此可以根据一级筛查谱库进行定性筛查<sup>[13,14]</sup>。

3.2 建立碱性色素的二级确证谱库。优化质谱参数, 获得碱性色素的二级质谱全扫描碎片离子信息, 通过碎片离子信息, 可以提高定性的准确性。

3.3 建立定性筛查方法。优化前处理提取条件, 建立前处理方法, 利用一级筛查谱库和二级确证谱库, 建立食品中定性筛查方法。

3.4 建立定量筛查方法。以母离子作为定量离子, 采用外标法定量, 建立食品中碱性色素的定量检测方法。

### 参考文献

[1] GB 2760-2014 食品安全国家标准食品添加剂使用标准[S]  
GB 2760-2014 National Food Safety Standard-standard for Uses of Food Additives [S]

[2] 洪红, 戚平, 刘冬豪, 等. 食品中违禁色素种类及高通量检测技术进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(8): 2448-2456  
HONG Hong, QI Ping, LIU Dong-hao, et al. Progress on high throughput detection technology for banned dyes in food [J]. Food Safety and Quality Detection Technology, 2014, 8(5): 2448-2456

[3] 冯月超, 贾丽, 何亚荟. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定粮食及肉制品中的 24 种工业染料[J]. 色谱, 2013, 31(10): 1021-1027  
FENG Yue-chao, JIA Li, HE Ya-hui. Simultaneous determination of 24 industrial dyes in grain and meat products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2013, 31(10): 1021-1027

[4] 黄丽英, 张晓波, 陈小珍, 等. 液相色谱-离子阱-飞行时间质谱法测定调味品中 9 种酸性工业染料[J]. 分析测试学报, 2013, 32(6): 687-692  
HUANG Li-ying, ZHANG Xiao-bo, CHEN Xiao-Zhen, et al. Determination of 9 acidic dyes in condiment by liquid chromatography-ion trap-time of flight mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2013, 32(6): 687-692

[5] 聂雪梅, 储晓刚, 孙惠杰, 等. 欧盟食品中染料使用情况的研

- 究[J].食品工业科技,2010,31(4):392-394
- NIE Xue-mei, CHU Xiao-gang, SUN Hui-jie, et al. Study on the use of dyes in EU food [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(4): 392-394
- [6] 路勇,渠岩,冯楠,等. 超高效液相色谱-串联四极杆质谱法快速筛查食品中的 45 种工业染料[J].食品科学,2012,32(6): 176-180
- LU Yong, QU Yan, FENG Nan, et al. Rapid Screening of 45 industrial dyes in foods by ultra performance liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry [J]. Food Science, 2012, 32(6): 176-180
- [7] 郑月明,国伟,聂雪梅,等.食品中违禁添加的非食用色素检测技术综述[J].中国农学通报,2012,28(9):222-228
- ZHENG Yue-ming, GUO Wei, NIE Xue-mei, et al. Research on detection methods of inedible pigment illegally added to food [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(9): 222-228
- [8] 铁晓威,黄百芬,任一平.RP-HPLC 法测定染色黄鱼中的碱性橙含量[J].中国卫生检验杂志,2004,14(1): 59-60
- TIE Xiao-wei, HUANG Bai-fen, REN Yi-ping. Determination of alkaline orange in yellow croaker by RP-HPLC [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2004, 14(1): 59-60
- [9] 郭新东,洗燕萍,罗海英,等.凝胶净化/超高效液相色谱串联质谱法测定调味酱中 32 中工业染料[J].分析测试学报, 2012,31(6):658-663
- GUO Xin-dong, XIAN Yan-ping, LUO Hai-ying, et al. Determination of 32 industrial dyes in seasoning paste by gel permeation chromatography and ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2012, 31(6): 658-663
- [10] 曹鹏,乔旭光,娄喜山,等.固相萃取结合超高效液相色谱-串联质谱法同时检测食品中的 6 种工业染料[J].分析化学, 2011,39(11),1670-1675
- CAO Peng, QIAO Xu-guang, LOU Xi-shan, et al. Simultaneous determination of 6 industrial dyes in foods by solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2011, 39(11): 1670-1675
- [11] 陈勇,花锦,潘亚利,等.超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法同时测定调味品与熟肉制品中 6 种工业染料[J].中国调味品,2014,39(4):124-127
- CHEN Yong, HUA Jin, PAN Ya-li, et al. Simultaneous determination of 6 industrial dyes in condiments and cooked meat products by super high performance liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. China Condiment, 2014, 39(4): 124-127
- [12] 鞠玲燕,李兆杰,王骏,等.超高效液相色谱-高分辨质谱法快速筛查水产品中邻苯二甲酸酯和酚类环境雌激素[J].食品安全检测质量学报,2017,8(6):2171-2179
- JU Ling-yan, LI Zhao-jie, WANG Jun, et al. Rapid screening of phthalates and phenolic environmental estrogens in aquatic products by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. Food Safety and Quality Detection Technology, 2017, 8(6): 2171-2179
- [13] 桂茜雯,柳菡,许蔚,等.葡萄酒中 26 种添加剂的高效液相色谱-高分辨质谱筛查法[J].质谱学报,2015,36(2):148-155
- GUI Qian-wen, LIU Han, XU Wei, et al. Screening of 26 kinds of additives in wines by high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2015, 36(2): 148-155
- [14] 牛增元,罗忻,王凤美,等. UPLC-LTQ/Orbitrap MS 快速筛查确证化妆品中 89 种禁用物质[J].质谱学报,2016,3(37):201-210
- NIU Zeng-yuan, LUO Xin, WANG Feng-mei, et al. Fast screening and confirmation of 89 prohibited compounds in cosmetics using UPLC-LTQ/Orbitrap MS [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2016, 3(37): 201-210

(上接第 82 页)

- [15] 中华人民共和国国家食品药品监督管理局国家卫生和计划生育委员会,GB 4789.35-2016 食品安全国家标准食品微生物学检验乳酸菌检验[S].中国,2016
- State Health and Family Planning Commission of the State Food and Drug Administration of the People's Republic of China, GB4789.35- 2016, National Food Safety National Standard Food Microbiological Test [S]. China, 2016
- [16] 郝林,孔庆学,方祥.食品微生物学技术[M].北京:中国农业出版社.2016:184
- HAO Lin, KONG Qing-xue, FANG Xiang. Food Microbiology [M]. Beijing: China Agricultural University Press. 2016: 184
- [17] 杨文博.微生物学实验[M].北京:化学工业出版社,2004:222.
- YANG Wen-bo. Microbiology Experiment [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004: 222