

ICS 67.040
C 53

DB33

浙 江 省 地 方 标 准

DB33/T 703-2008

食品和农产品中多种碱性工业染料的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of multiple basic dyes in food and farm products
LC/MS/MS method

2008-07-07 发布

2008-08-07 实施

浙江省质量技术监督局 发布

前 言

本标准附录A为资料性附录。

本标准由浙江省质量技术监督局提出并归口。

本标准起草单位：浙江方圆检测集团股份有限公司。

本标准主要起草人：廖上富、何乔桑、黄丽英、刘敏芳。

食品和农产品中多种碱性工业染料的测定

液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了食品和农产品中四种碱性工业染料碱性嫩黄O、碱性橙、碱性紫5BN和碱性玫瑰精B的液相色谱-串联质谱的测定方法。

本标准适用于食品和农产品中碱性嫩黄O、碱性橙、碱性紫5BN和碱性玫瑰精B的测定。

本标准规定碱性嫩黄O、碱性橙、碱性紫5BN和碱性玫瑰精B的检出限分别为 0.5 μ g/kg、0.5 μ g/kg、5 μ g/kg、0.1 μ g/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法。

3 原理

样品经无水乙醇提取，固相萃取柱净化，用液相色谱串联质谱法测定。

4 试剂

除非另有说明，所用试剂均为分析纯。

- 4.1 水：GB/T 6682 规定的一级水。
- 4.2 无水硫酸钠：650 $^{\circ}$ C灼烧 4h,冷却后储于密封容器中备用。
- 4.3 无水乙醇。
- 4.4 甲醇：色谱纯。
- 4.5 甲酸：色谱纯。
- 4.6 氨水：优级纯。
- 4.7 洗脱液：吸取 4mL 氨水（4.6）用甲醇定容到 100mL。
- 4.8 0.1%甲酸甲醇溶液：吸取 0.5mL 甲酸（4.5）加入至 500mL 甲醇中。
- 4.9 0.1%甲酸水溶液：吸取 0.5mL 甲酸（4.5）加入至 500mL 水中。
- 4.10 定溶液：甲醇+水=70+30（V/V）。
- 4.11 标准储备溶液：0.10 mg/mL。分别准确称取四种碱性工业染料标准物质，用定溶液(4.10)配成 0.10 mg/mL 的标准储备溶液。
- 4.12 混合标准溶液：根据每种碱性染料的灵敏度和仪器线性范围，用定溶液(4.10)配成混合标准溶液，各碱性染料浓度见表 1。

表 1 混合标准溶液中各碱性染料浓度

标准物质名称	碱性嫩黄O	碱性橙	碱性紫5BN	碱性玫瑰精B
浓度, μ g/mL	0.50	0.50	5.0	0.10

- 4.13 混合标准使用溶液：临用前吸取一定量的混合标准储备溶液（4.12）用定溶液(4.10)根据需要稀释配制适当浓度的系列混合标准使用溶液。

4.14 固相萃取柱：Oasis HLB 6mL，500mg 或相当者。使用前分别用 10mL 甲醇和 10mL 水预处理，保持柱体湿润。

5 仪器和设备

- 5.1 液相色谱串联四极杆质谱仪，配有电喷雾（ESI）离子源。
- 5.2 分析天平：感量 0.1mg 和 0.01g 各一台。
- 5.3 涡旋混合器。
- 5.4 超声波清洗器。
- 5.5 高速台式离心机：转速 \geq 8000 r/min。
- 5.6 氮吹仪。
- 5.7 固相萃取装置。
- 5.8 旋转蒸发仪器。

6 测定步骤

6.1 提取

称取 5g 样品（精确到 0.01 g）于 50mL 聚丙烯离心管中，加入 5g 无水硫酸钠（4.2），搅拌均匀，加入 25mL 无水乙醇（4.3），涡旋混合 1min，超声提取 20min，以 8000r/min 离心 5min，上清液转移至鸡心瓶中，再加入 25mL 无水乙醇，重复上述操作，合并全部上清液于鸡心瓶中，在 45℃ 旋转蒸发至近干，待净化。

6.2 净化

样品提取浓缩液用 10mL 水少量多次溶解，上固相萃取柱（4.11），调节流速小于等于 2 mL/min，用 6 mL 洗脱液（4.7）洗脱，40℃ 氮气吹干，准确加入 1ml 定容液（4.10），过 0.22 μ m 滤膜，待测。

6.3 测定

6.3.1 色谱条件

- 6.3.1.1 色谱柱：C18 柱（100 mm \times 2.1 mm，1.7 μ m）或相当者；
- 6.3.1.2 柱温：30℃；
- 6.3.1.3 进样量：10 μ L；
- 6.3.1.4 流动相及流速见表 2。

表 2 液相色谱梯度洗脱条件

时间 (min)	流速 (μ L/min)	0.1%甲酸甲醇溶液 (%)	0.1%甲酸水溶液 (%)
0.00	200	70	30
3.00	200	70	30
3.50	200	10	90
5.50	200	10	90
6.00	200	70	30
8.00	200	70	30

6.3.2 质谱条件

- 6.3.2.1 离子源：电喷雾离子源（ESI）；
- 6.3.2.2 扫描方式：正离子扫描；
- 6.3.2.3 检测方式：多反应监测（MRM）；
- 6.3.2.4 雾化气、锥孔气为高纯氮气，碰撞气为高纯氩气；使用前应调节各气体流量以使质谱灵敏度达到检测要求；喷雾电压、去簇电压、碰撞能等电压值应优化至最优灵敏度；
- 6.3.2.5 定性离子对、定量离子对、采集时间、锥孔电压、碰撞能量见表 3。

表 3 四种碱性工业染料的监测离子对

碱性工业染料名称	定量离子对 (m/z)	定性离子对 (m/z)	采集时间 (s)	锥孔电压 (V)	碰撞能量
碱性嫩黄 O	268/147	268/107	0.200; 0.100	18	30; 30
碱性橙	213/ 77	213/121	0.200; 0.100	25	20; 20
碱性紫 5BN	372/357	372/341	0.200; 0.100	24	40; 55
碱性玫瑰精 B	443/399	443/355	0.200; 0.100	28	45; 55

6.3.3 液相色谱-串联质谱测定

6.3.3.1 定性测定

在相同试验条件下，样品中待测物与同时检测的标准物质具有相同的保留时间，且样品图谱中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的混合基质标准校准溶液谱图中对应的定性离子的相对丰度进行比较，若偏差不得超过表 4 规定的范围，则可判定为样品中存在对应的待测物。

表 4 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的最大偏差	±20	±25	±30	±50

6.3.3.2 定量测定

外标法定量：对样品和混合标准使用溶液进样，以峰面积为纵坐标，标准溶液浓度为横坐标绘制标准工作曲线，用标准工作曲线对样品进行定量，样品溶液中待测物的响应值均应在仪器测定的线性范围内。在上述色谱条件下标准溶液的提取离子流图参见附录A.1。

7 结果计算

样品中四种碱性工业染料含量按式（1）计算：

$$X = \frac{c \times V \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots (1)$$

式中：

- X ——样品中被测组分残留量，单位为微克每千克（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）；
- c ——从标准工作曲线得到的被测组分溶液浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g}/\text{L}$ ）；
- V ——试样溶液定容体积，单位为毫升（ mL ）；
- m ——样品的质量，单位为克（ g ）。

注：测定结果保留一位小数。

8 方法准确度和精密度

8.1 准确度

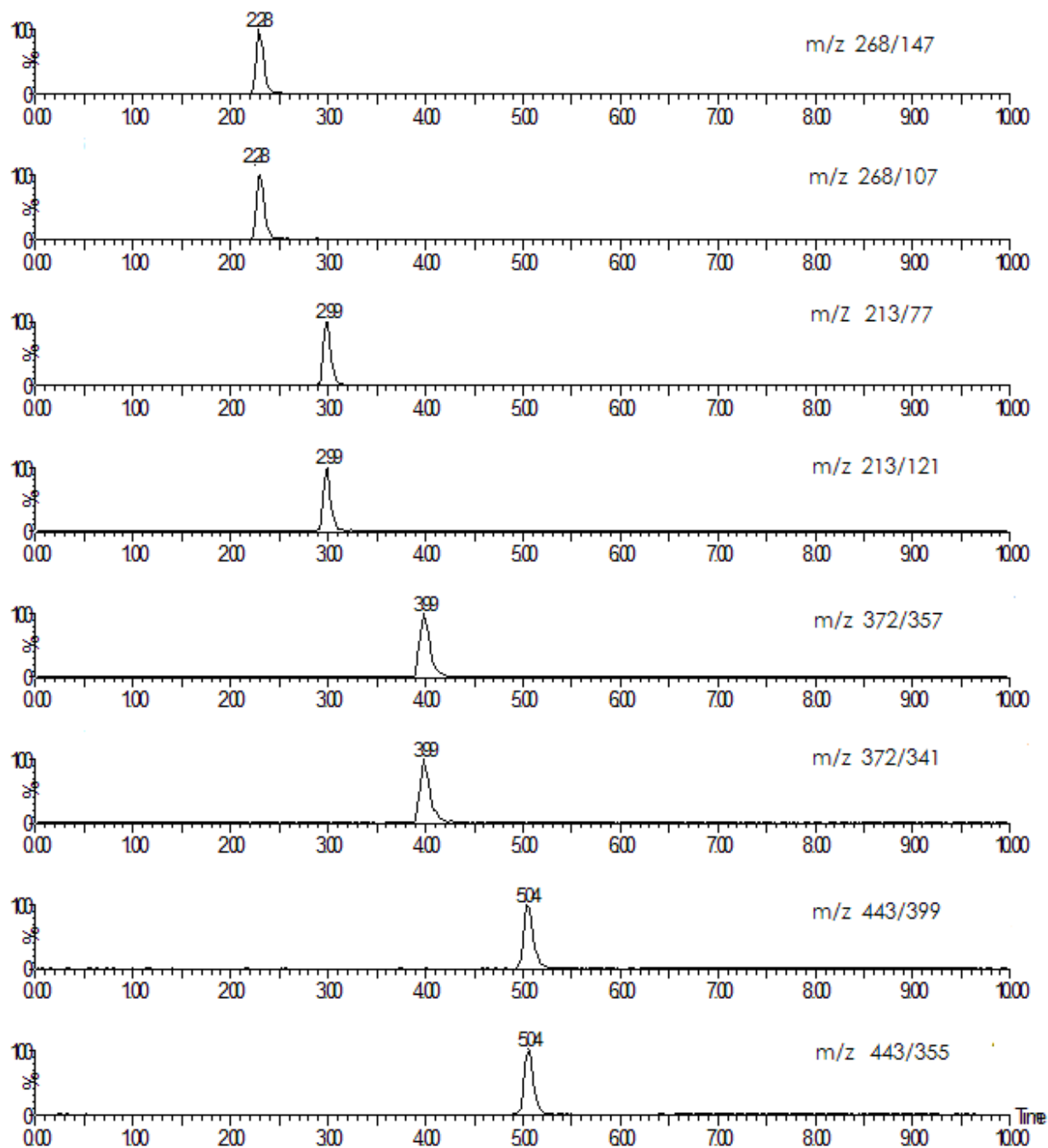
本方法在线性范围内添加浓度的回收率在70%~120%之间。

8.2 精密度

本方法的相对标准偏差RSD小于15%。

附录 A
(资料性附录)

碱性嫩黄 O、碱性橙、碱性紫 5BN 和碱性玫瑰精 B 标准物质的 MRM 图



A.1 碱性嫩黄 O、碱性橙、碱性紫 5BN 和碱性玫瑰精 B 标准物质的 MRM 图