

离子阱飞行时间串联质谱定性分析禽肉中的罗丹明 B

LCMS-IT-TOF-034

摘要： 本文使用离子阱飞行时间串联质谱 (LCMS-IT-TOF) 快速检测了禽肉中的非法添加物罗丹明 B。对加标样品进行了液质联用多级质谱分析，分别进行了 MS¹ 和 MS³ 两种模式下的分子式预测，结果表明 MS³ 模式下分子式预测能减少候选化合物数量，增加预测结果准确性。推测出了罗丹明 B 可能的五级质谱裂解规律。对加标样品和实际样品分别进行了 MS⁴ 分析，两者谱图一致，表明实际样品中存在罗丹明 B。

关键词： 离子阱飞行时间串联质谱仪，禽肉，罗丹明 B

前言

罗丹明 B，也称玫瑰红 B，或碱性玫瑰精，是一种碱性荧光染料。一般用作实验室中细胞荧光染色剂，或者用在有色玻璃、特色烟花爆竹等行业，是工业染料，而非食用物质。我国和欧盟等都不允许在食品中使用。其分子结构见图 1。

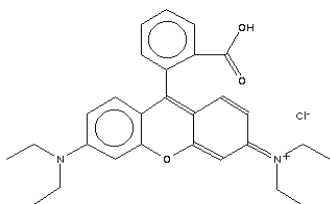


图 1 罗丹明 B 的化学结构式

目前，一些不法分子将罗丹明 B 用在辣椒制品中，让辣椒制品看起来红艳，它也和苏丹红一样，会直接危害人体健康，具有潜在的致癌、致突变性和心脏毒性。国标 SN/T2430-2010《进出口食品中罗丹明 B 的检测方法》采用了三重四极杆串联液质检测了辣椒、腊肉等食品的罗丹明 B，该方法中定性的判断依据是保留时间和定性离子对丰度比。本文使用岛津 LCMS-IT-TOF 离子阱-飞行时间质谱仪建立了禽肉中罗丹明 B 的定性检测方法。与国标相比，该方法具有高分辨率、高质量准确度的优点，定性更准确。供相关检测人员参考。

实验部分

2.1 仪器

岛津超快速液相色谱仪 (UFLCXR) 和离子阱飞行时间串联质谱仪 (LCMS-IT-TOF)。具体配置为：LC-20ADXR×2 输液泵，DGU-20A3 在线脱气机，SIL-20ACXR 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CBM-20A 控制器，LCMS-IT-TOF 质谱仪，工作站 LCMSsolution

V3.50。

2.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱 Shimadzu Shim-pack XR-ODS, 2.0 mm I.D.

× 75 mm L., 2.2 μm

流动相: A 相, 含 0.1% 甲酸的水溶液; B 相, 含 0.1% 甲酸的甲醇溶液

洗脱方式: 梯度洗脱

时间(min)	B相(%)
0.00	10
7.00	40
7.01-20.00	95
20.01-23.00	10

流速: 0.3 mL/min

进样量: 4 μL

质谱条件

离子化模式: ESI 源

分析模式: 正离子模式

雾化气流速: 1.50 L/min

干燥气流速: 10 L/min

CDL 温度: 200°C

加热模块温度: 200°C

检测器电压: 1.70 kV

离子源电压: 4.5 kV

采集范围: MS¹ m/z150-1000,

MS² - MS⁵ m/z100-500

校准方法: 自动调谐优化电压,

外标法校准质量数

结果讨论

3.1 MS1 定性分析结果

样品为加标的禽肉提取液，图 2 是其提取离子流色谱图。

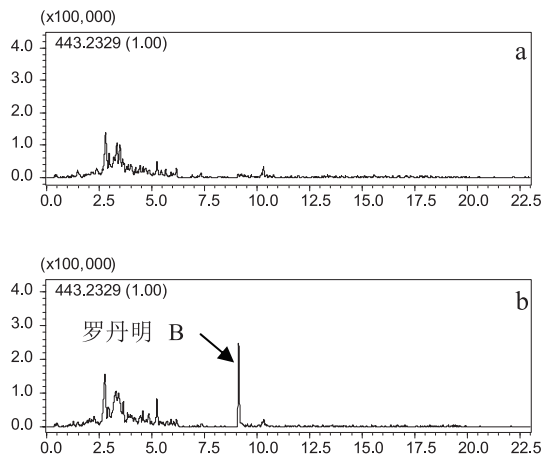


图 2 样品的 EIC 图

(a 为空白对照 ; b 为罗丹明 B 加标样品 .)

3.2 质谱图和分子式预测结果

对于分子式预测，元素组成是非常重要的。考虑到化合物元素组成是未知的，因此将元素组成设为 C,H,N,O,S,Cl,F。多种元素组成将大大增加预测出来的候选化合物数量。因此，MS¹ 结果可能有多个候选化合物是正常现象。可以通过 MSⁿ 的分析来减少候选化合物的数量。

所有离子的质量数偏差均小于 5 ppm，仪器具备良好的质量数准确度。

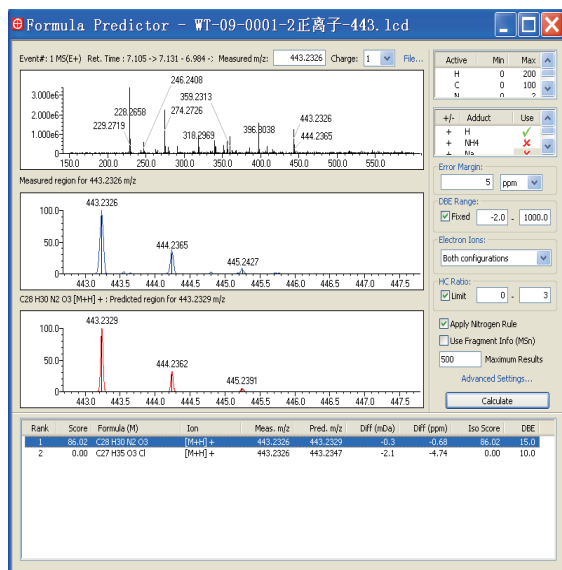
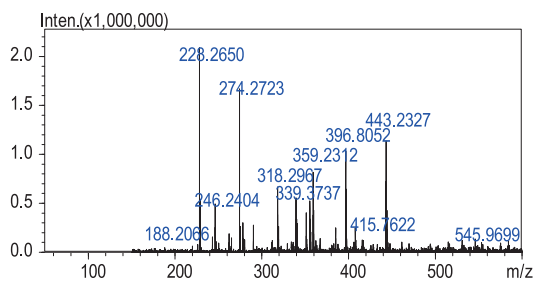


图 3 罗丹明 B 加标样品的 MS¹ 预测结果



3.3 MS3 质谱分析结果

为了给出更加可靠的定性结果，使用仪器多级质谱功能对目标离子进行分析，以减少分子式预测结果中候选化合物的数量。三级质谱图、分子式预测结果和推测的裂解规律如下。(注：元素组成仍旧是 C,H,N,O,S,Cl,F)

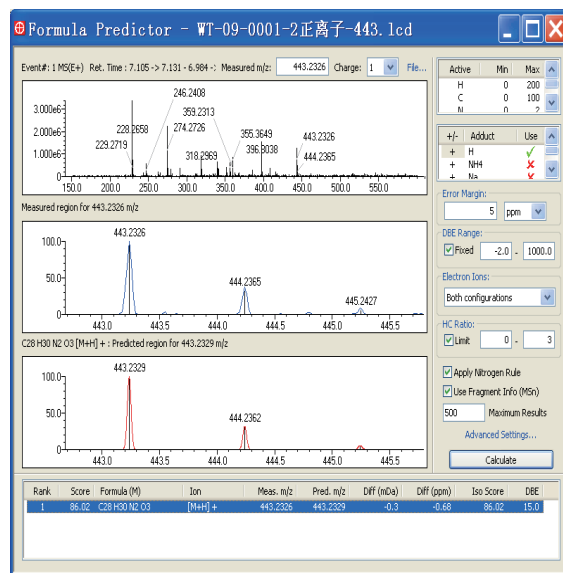
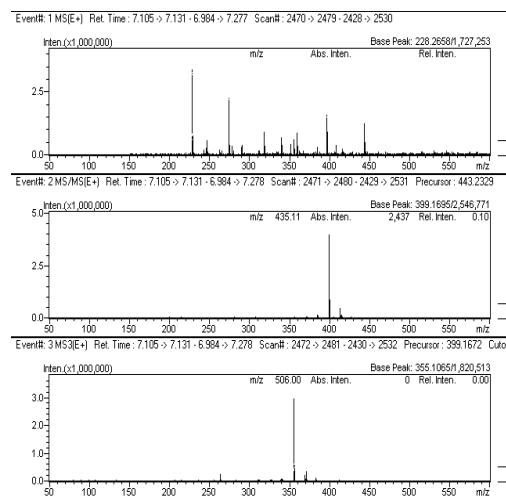


图 4 罗丹明 B 加标样品的 MS³ 预测结果

MS¹ 结果中有 2 个候选化合物，MS³ 结果中仅有唯一的候选化合物。

3.4 裂解规律推测

对于复杂结构的化合物，多级质谱的综合预测能够大大减少候选化合物的数量，增加预测结果的准确性；对于未知物的结构鉴定，多级质谱就显得十分有必要。本文对罗丹明 B 进行了五级质谱分析并给出其可能的裂解规律，各级质谱图如下：

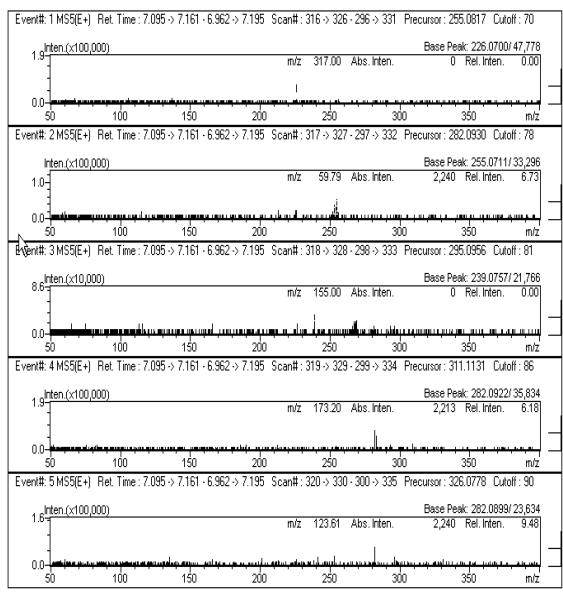


图 5 罗丹明 B 加标样品的 MS⁵ 结果

罗丹明 B 的裂解规律推测如下：

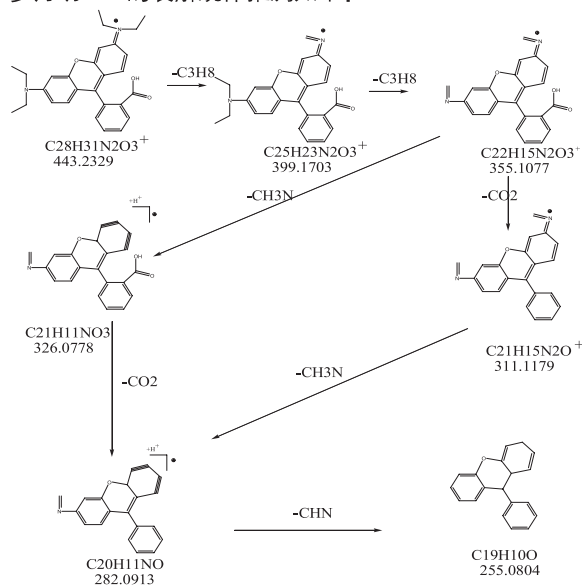


图 6 罗丹明 B 的裂解规律推测结果

3.5 实际样品分析结果

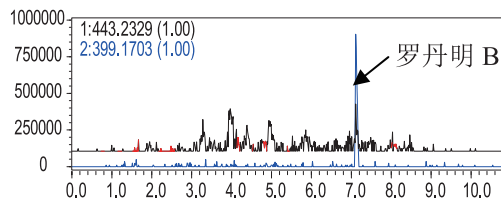


图 7 实际样品的 EIC 图

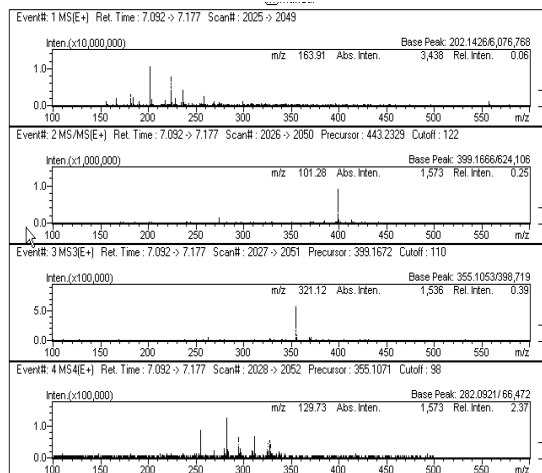


图 8 实际样品的 MS⁴ 质谱图

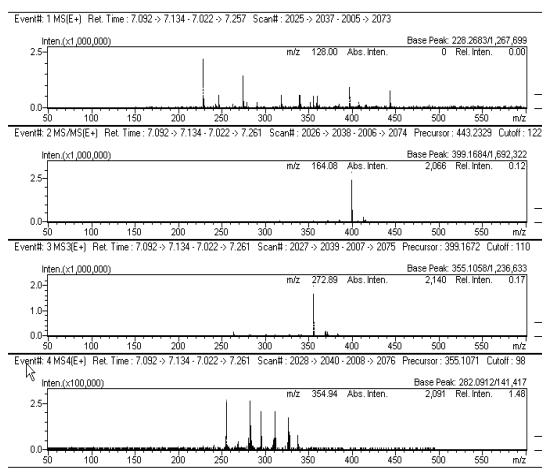


图 9 罗丹明 B 加标样品的 MS⁴ 质谱图

在实际样品分析中，由于基质的干扰，往往仅仅使用一级质谱图无法准确判断是否存在目标组分。本文样品的一级质谱同样受到基质的干扰，无法从一级质谱中准确判断是否存在罗丹明 B，但是 MS^2 到 MS^4 的质谱图信息清晰，与加标样品中罗丹明 B 的多级谱图信息完全相符，两者都具有二级特征碎片 m/z 399.1703 及三级特征碎片 m/z 355.1077，可以肯定实际样品中也含有该违禁添加剂——罗丹明 B。因此在实际样品的定性过程中，使用 MS_n 质谱图可大大降低基质干扰，从而增加定性准确性。

■ 结论

本文使用离子阱飞行时间串联质谱仪 LCMS-IT-TOF 定性检测了禽肉样品中的罗丹明 B，并对其进行了多级质谱分析。在实际样品的分析中，由于基质的干扰，往往不能通过一级质谱对目标物质做准确的定性。通过样品的多级质谱信息，能够极大地增加定性结果的准确性。