

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定辣椒中的罗丹明B

LCMSMS-005

摘要： 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A和三重四极杆质谱仪LCMS-8030联用测定辣椒中的罗丹明B的方法。样品经提取后，用超高效液相色谱LC-30A快速分离，三重四极杆质谱仪LCMS-8030进行定量分析。罗丹明B在0.25 ~ 500 μg/L浓度范围内线性良好，标准曲线的相关系数为0.999以上；对10 μg/L、100 μg/L和1000μg/L标准溶液进行精密度实验，连续6次进样保留时间和峰面积相对标准偏差分别在0.337%和1.164%以下，系统精密度良好；方法定量限为0.5 μg/kg，满足SN/T 2430-2010中5 μg/kg的要求。

关键词： 罗丹明B 辣椒 超高效液相色谱 三重四极杆质谱

玫瑰红B，也称罗丹明B，俗称花粉红，是一种碱性荧光染料。其作为荧光试剂已被广泛用于环保、矿业和钢铁等领域，是荧光分析常用的试剂，但是由于其具有潜在的致癌和致突变性，我国和欧盟等都不允许在食品中使用。其分子结构见图1。

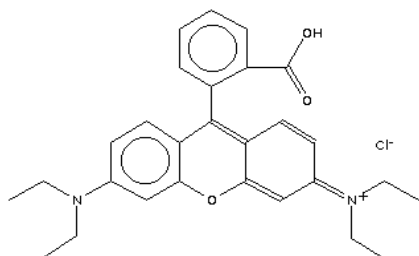


图1 罗丹明B的化学结构式

一直以来我国没有检验食品中罗丹明B的国家标准及行业标准，直到2010年，中华人民共和国出入境检验检疫行业标准《进出口食品中罗丹明B的检测方法》(SN/T 2430-2010)才制定并实施。本文利用岛津超高效液相色谱仪LC-30A和三重四极杆质谱仪LCMS-8030联用，建立了快速准确测定辣椒中的罗丹明B的方法，供相关检测人员参考。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A与三重四极杆质谱仪LCMS-8030联用系统。具体配置为LC-30AD×2输液泵，DGU-20A5在线脱气机，SIL-30AC自动进样器，CTO-30AC柱温箱，CBM-20A系统控制器，LCMS-8030三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.41色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：LC-30A

色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS III 2.0 mm×50 mm，1.6 μm

流动相：，A - 0.1%甲酸水；B - 0.1%甲酸乙腈

流速：0.3 mL/min

进样体积：4 μL

柱温：40°C

洗脱方式：梯度洗脱，B初始浓度为30%，时间程序见表1。

表1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	90
3.00	Pumps	Pump B Conc.	90
3.10	Pumps	Pump B Conc.	30
4.00	Controller	Stop	

质谱条件	脱溶剂管温度: 250℃
分析仪器: LCMS-8030	加热模块温度: 400℃
离子源: ESI(+)	扫描模式: 多反应监测(MRM)
离子源接口电压: 4.5 kV	驻留时间: 20 ms
雾化气: 氮气 3.0 L/min	延迟时间: 3 ms
干燥气: 氮气 15 L/min	MRM参数: 见表2
碰撞气: 氩气	

表2 罗丹明B MRM参数

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
罗丹明 B	443.25	399.20	-30.0	-45.0	-29.0
		355.10*	-30.0	-50.0	-26.0

*表示定性离子

1.3 样品制备

标准溶液配制: 用甲醇配制10 mg/L的混合标准中间溶液, 用水稀释成浓度为0.25, 0.5, 5, 10, 50, 100, 500 µg/L的标准工作液。

样品前处理方法: 同中华人民共和国出入境检验检疫行业标准《进出口食品中罗丹明B的检测方法》(SN/T 2430-2010)。

结果讨论

2.1 标准样品的MRM色谱图

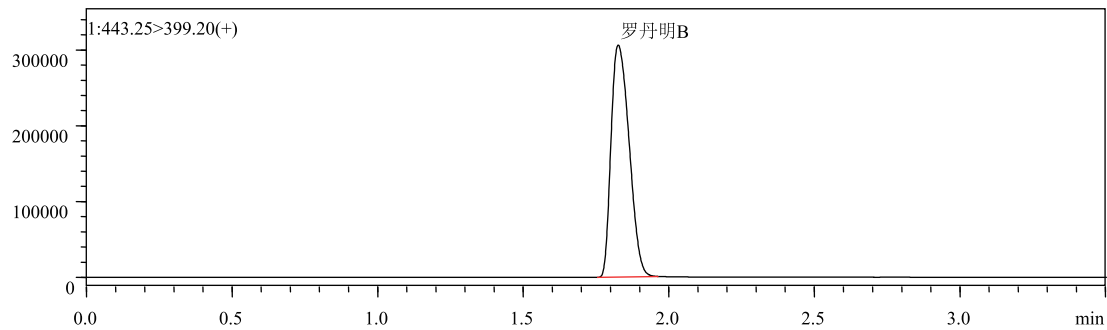


图2 100 mg/L标准样品的MRM色谱图(443.25>399.20)

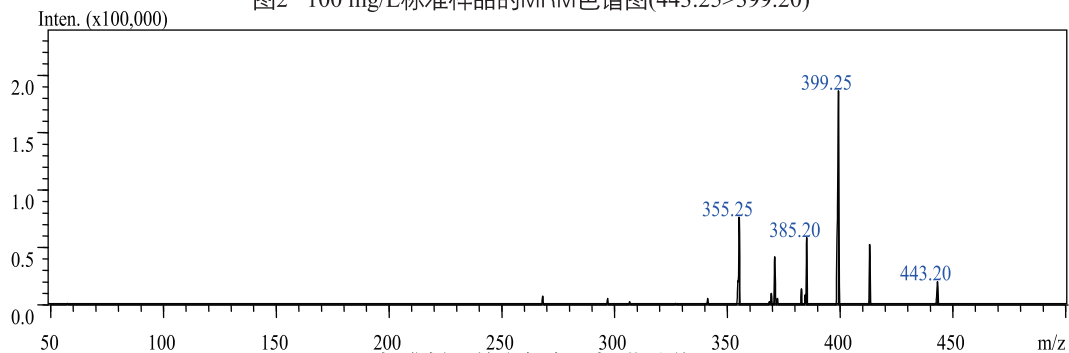


图3 100 µg/L标准样品的产物离子扫描质谱图(CE, -50 V)

2.2线性关系

将浓度为0.25, 0.5, 5, 10, 50, 100, 500 $\mu\text{g/L}$ 的标准工作液按1.2中的分析条件进行测定, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制校准曲线(见图4, 图5为图4放大图)。所得校准曲线线性关系良好, 线性方程为 $Y = (14945)X + (0)$, 相关系数 $r = 0.9999$ 。

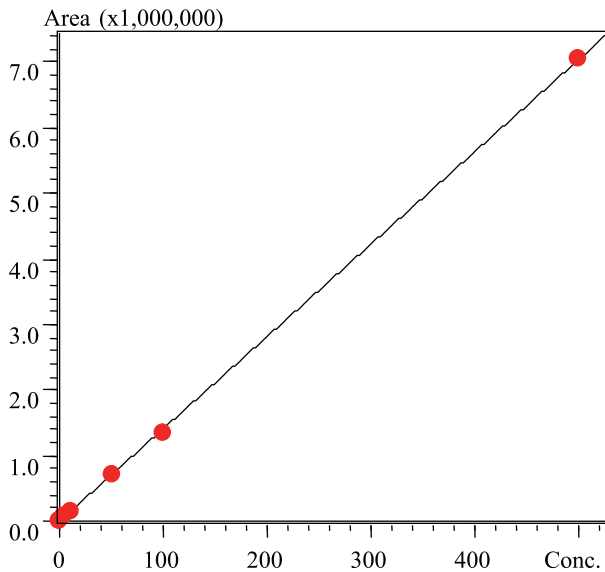


图4 罗丹明B的标准工作曲线1 (全浓度范围)

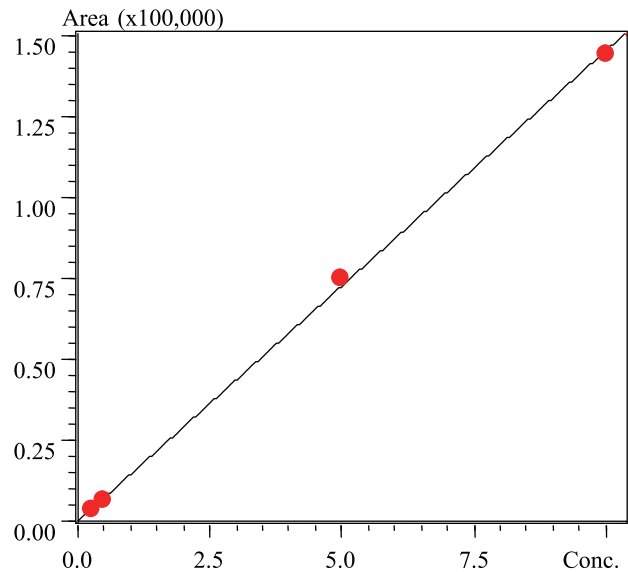


图5 罗丹明B的标准工作曲线2 (低浓度区域)

2.3精密度试验

对10、100、1000 $\mu\text{g/L}$ 标准工作液连续测定6次, 考察仪器的精密度, 保留时间和峰面积的重复性结果如表3所示。结果显示: 3个浓度标准品的峰面积和保留时间的相对标准偏差分别在0.556%~1.164%和0.134%~0.337%之间, 仪器精密度良好。

表3 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

No.	10 $\mu\text{g/L}$		100 $\mu\text{g/L}$		1000 $\mu\text{g/L}$	
	Area (RSD%)	R.T (RSD%)	Area (RSD%)	R.T (RSD%)	Area (RSD%)	R.T (RSD%)
1	4,942	1.836	68,430	1.837	224,177	1.828
2	4,977	1.841	68,741	1.838	224,699	1.831
3	4,828	1.824	69,283	1.826	225,902	1.830
4	4,953	1.833	68,513	1.836	225,709	1.828
5	4,898	1.826	68,694	1.835	220,357	1.829
6	4,865	1.834	68,148	1.835	220,217	1.824
Average	4,911	1.832	68,635	1.834	223,510	1.828
RSD%	1.164	0.337	0.556	0.227	1.153	0.134

2.4 灵敏度实验

辣椒空白基质检出罗丹明B，浓度为0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，得到如图6所示谱图。在辣椒空白样品中添加0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的罗丹明B，得到如图7所示谱图。对于罗丹明B方法定量限为0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，优于出入境检验检疫行业标准《进出口食品中罗丹明B的检测方法》(SN/T 2430-2010)所规定的5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 测定低限。

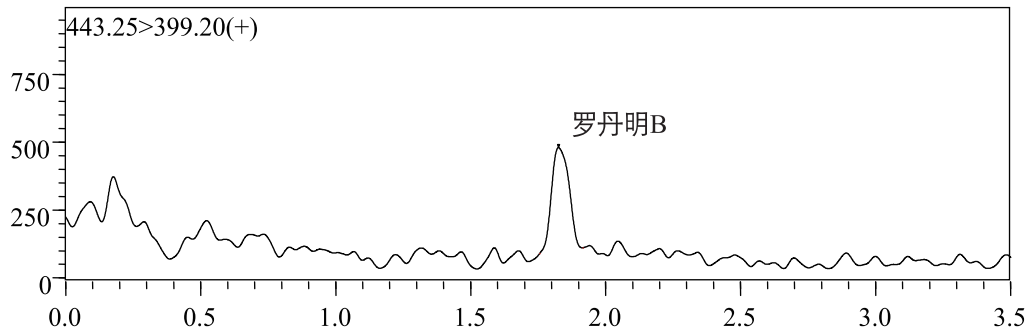


图6 辣椒空白样品罗丹明B的MRM色谱图(443.25>399.20)

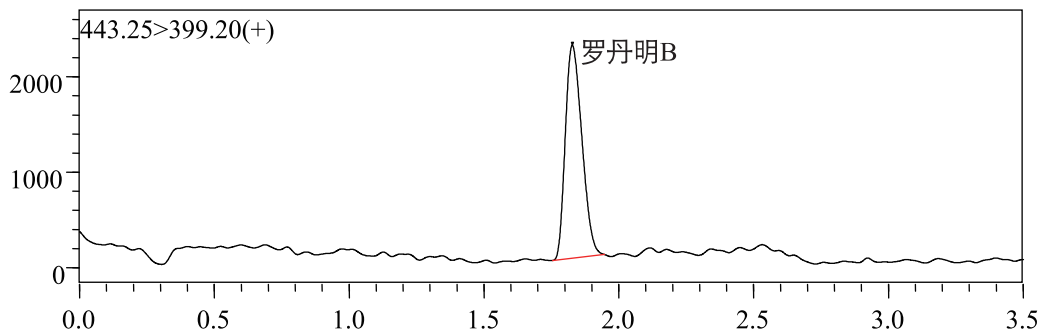


图7 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 辣椒加标样品罗丹明B的MRM色谱图(443.25>399.20)

结论

建立了使用岛津超高效液相色谱仪LC-30A和三重四极杆质谱仪LCMS-8030联用测定辣椒中罗丹明B的方法。该方法分析速度快，精密度良好，线性范围宽(0.25 ~ 500 $\mu\text{g}/\text{L}$)，校准曲线的相关系数在0.999以上。方法定量限满足出入境检验检疫行业标准5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的要求，对辣椒中罗丹明B的定量限可达0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。岛津超高效液相色谱串联质谱联用仪可以满足进出口食品中罗丹明B的检测要求。