

食品中未知色素定性分析

LCMS-IT-TOF-032

摘要：使用 LCMS-IT-TOF 对食品中的未知添加色素进行分析，根据其多级质谱数据进行结构分析，确定添加的未知色素为一种偶氮类染料。

关键词：食品安全 未知色素 定性分析

目前食品安全问题层出不穷，非法色素添加为其中之一，对消费者的身心健康产生极大的危害。色素种类极多，食品中的未知色素的快速定性分析具有较高的难度。本文采用高效液相色谱 - 离子阱飞行时间质谱对未知色素进行快速准确的定性鉴别。

仪器及实验过程

液相色谱条件

分析仪器： Prominence UFLC_{XR} 系统，包括 LC-20AD_{XR} × 2(输液泵)，SIL-20AC_{XR} (自动进样器)，CTO-20AC (柱温箱)，CBM-20A(系统控制器)，DGU-20A₃(在线脱气机)，SPD-M20A(二极管阵列检测器)，LCMS-IT-TOF (离子阱 - 飞行时间质谱) 和 LCMSsolution(工作站)。

流速： 0.3 mL/min

色谱柱： Shim-pack XR-ODS (75 × 2.0 i.d mm, 2.2 μm)

柱温： 35°C

进样量： 未知色素提取液 2 μL

流动相： A 水 +0.1% 甲酸 B 乙腈

洗脱方式： 等度洗脱 A/B=50/50(v/v)

检测波长： 190-800 nm

质谱条件：

分析仪器： LCMS-IT-TOF

离子源： ESI(+)

离子源接口电压： 4.5 kV

雾化气： 氮气 1.5 L/min

干燥气： 氮气 10 L/min

碰撞气： 氩气

脱溶剂管温度： 200°C

加热模块温度： 200°C

结果与讨论

含未知色素的提取液经液相色谱分离后结果如图 1 所示，其中峰 1 为待鉴别未知色素成分。

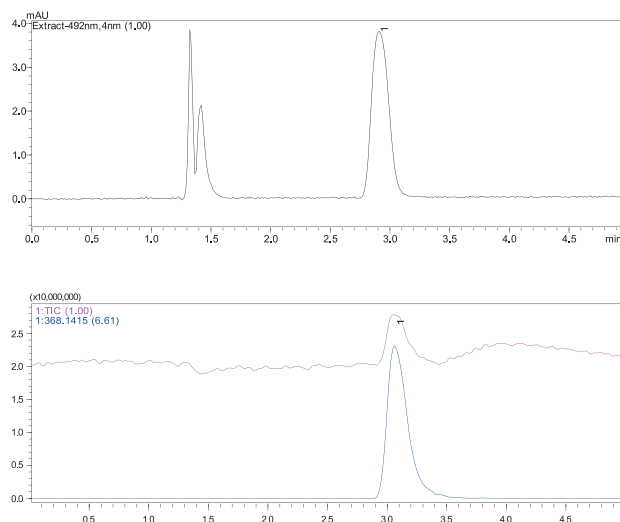


图 1 492 nm 紫外色谱图和正离子模式总离子流图及提取离子流图

使用正、负离子模式切换对峰 1 进行分析，同时获得其正、负离子模式的质谱图，如图 2 所示，判断其正、负离子模式的准分子离子峰分别为 m/z 368.1396 和 m/z 366.1270，分子式预测结果分别如图 3 所示。根据分子式预测结果，判断未知色素的分子式为 $C_{23}H_{17}N_3O_2$ ，误差为 0.54 ppm。

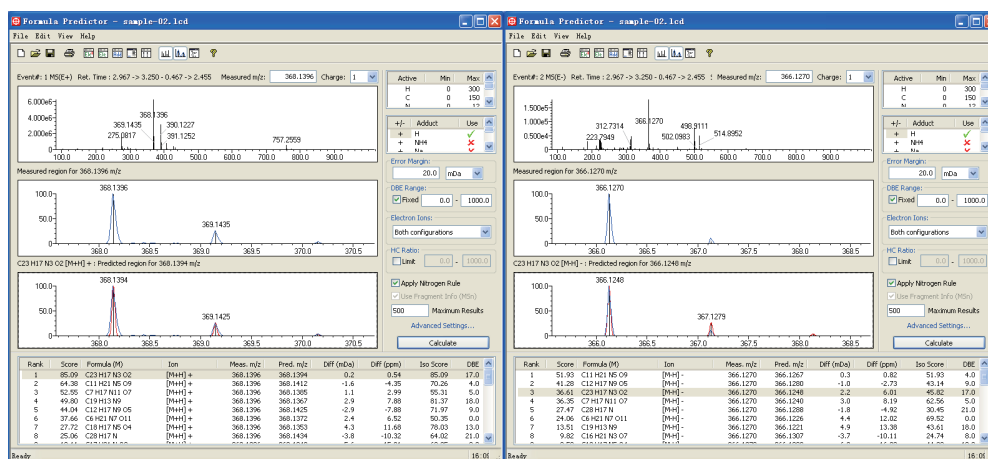


图 3 m/z 368.1396 和 m/z 366.1270 离子的分子式预测结果

分别对峰 1 进行正、负离子模式的多级质谱分析，获得正、负模式的多级质谱数据，如图 4 所示。

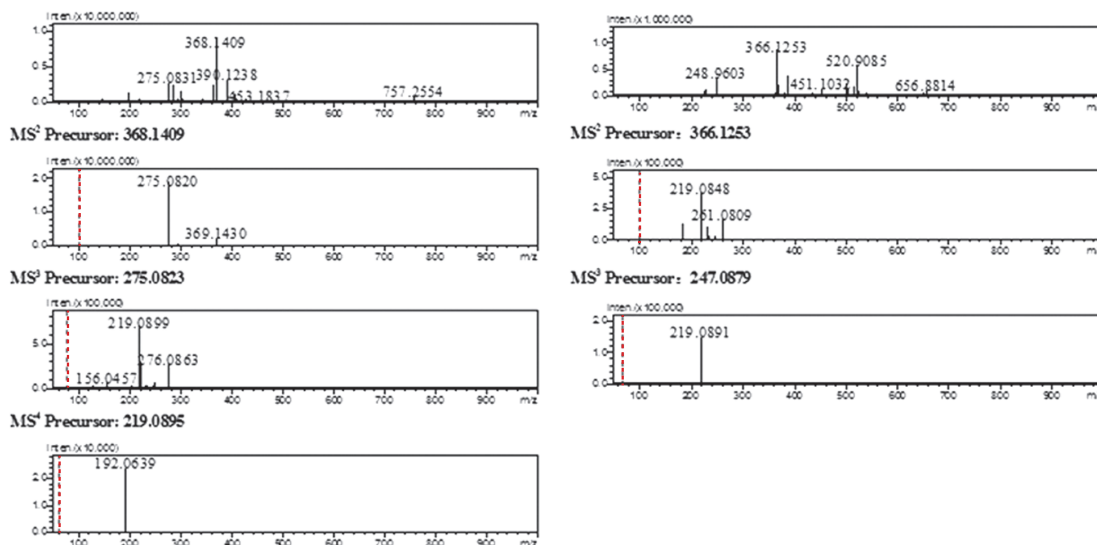


图 4 正、负离子模式的多级质谱数据

未知色素正离子模式 MS¹-MS⁴ 主要碎片离子如图 5 所示。

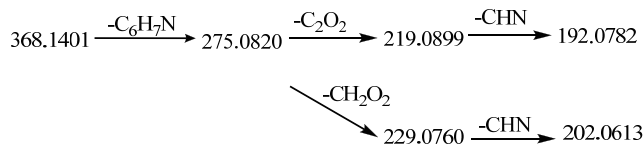


图 5 未知色素正离子模式 MS¹-MS⁴ 主要碎片离子

MS¹ 至 MS² 质量数为 93 的中性丢失推测为 C₆H₇N，可能具有如图 6 所示的结构：

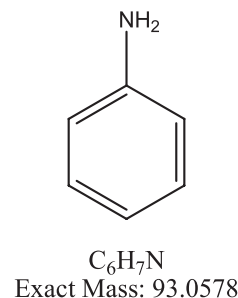
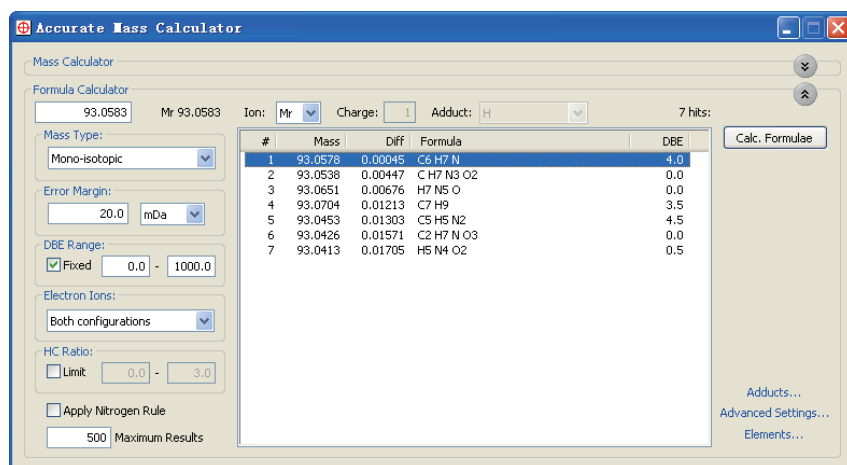


图 6 MS¹ 至 MS² 中性丢失预测结果及可能的结构

MS² 至 MS³ 产生 C₂O₂ 以及 CH₂O₂ 的中性丢失, 判断其中含有 2 个含氧基团, 如 -OH 或 -C=O。MS³ 至 MS⁴ 的碎裂过程中出现 CHN 的中性丢失, 推测其中可能含有 -N=N- 双键的结构

对 MS³ 的 m/z 219 离子进行分析, m/z 219 离子的化学式为 C₁₅H₁₁N₂⁺, 其不饱和度为 11.5, 不饱和度较大, 因此考虑芳香环类结构。结合 -N=N- 结构, 推测 m/z 219 离子可能具有以下的结构 (见图 7):

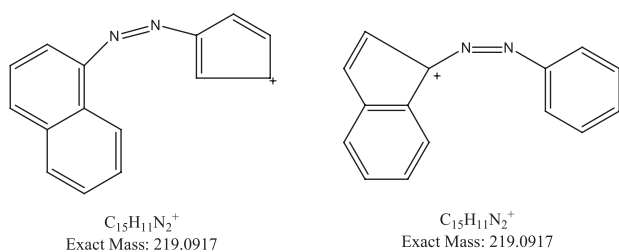


图 7 m/z 219.0899 离子可能的结构

结合对含氧取代基以及 C₆H₇N 结构的推测, 未知色素可能具有与图 8 所示近似的结构:

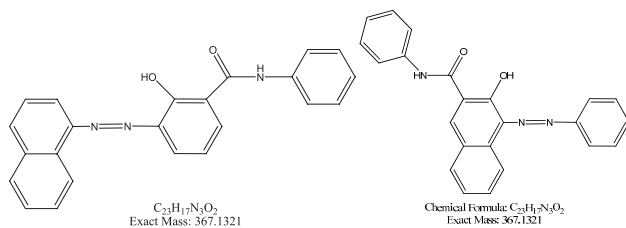


图 8 未知色素可能的结构

图 9 大红粉结构式

以上推测的结构中含有偶氮键、羟基及酰胺的取代基, 但其取代位点不确定, 可能在萘环或苯环, 或在苯环、萘环上的不同位置。

根据上述分析进行相关物质的检索, 推测未知色素可能为大红粉, 是用途广泛的一种偶氮类染料, 主要应用于涂料、油墨、油漆、橡胶、塑料、乳胶制品、建材、印泥、文教用品及化妆品着色, 具有如图 9 所示的结构。

对大红粉对照品进行测试获得完全相同的保留时间及正、负离子模式多级质谱数据, 最终确认未知色素为大红粉, 以下为大红粉对照品的紫外色谱图、总离子流图及多级质谱图。

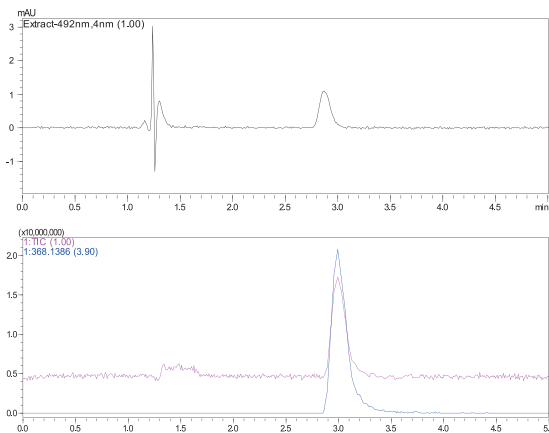


图 10 大红粉对照品 492 nm 紫外色谱图和正离子模式总离子流图及提取离子流图

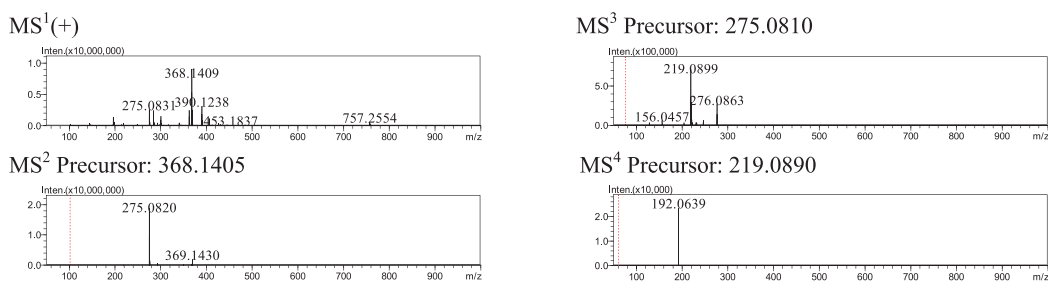


图 11 大红粉对照品正离子模式多级质谱数据

根据正离子模式多级质谱数据，推测大红粉可能有以下的裂解途径

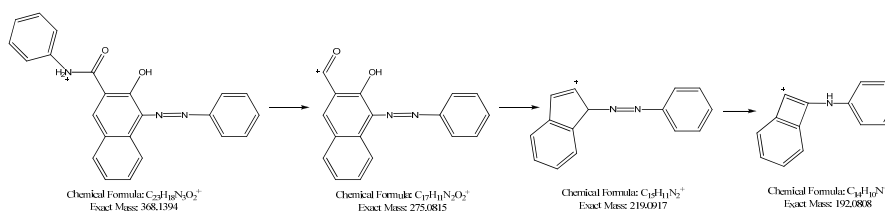


图 12 大红粉正离子模式可能的裂解途径示意图

结论

使用 LCMS-IT-TOF 对未知色素进行分析，通过多级质谱数据对未知化合物的结构进行推测，最终通过与标准品的比较确认未知色素的种类。LCMS-IT-TOF 所提供的高分辨率、高质量准确度的多级质谱数据为未知化合物的鉴定提供丰富的信息，是食品安全领域非法添加物质检测的有力技术。