

# 液相色谱串联四极杆质谱法检测饲料及奶粉中的三聚氰胺

明红 王勇为  
赛默飞世尔科技(上海)公司色谱质谱部

## Key Words

• TSQ Quantum

Access

• 三聚氰胺

• LC/MS/MS

## 1. 前言

三聚氰胺(melamine)是一种三嗪类含氮杂环有机化合物,作为一种重要的化工原料通常被用于生产塑料、胶水和阻燃剂,是严格被禁止用做食品或动物饲料添加剂。2007年美国发生了猫狗因食用了被三聚氰胺污染的宠物食品而导致大批死亡的现象,而2008年9月爆发的三鹿奶粉事件也是由于在婴儿奶粉生产过程中非法添加三聚氰胺而导致的结果。

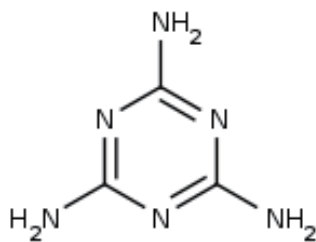


图1: 三聚氰胺的结构

目前国家要求对奶粉中的三聚氰胺进行严格的检测和控制,由于三聚氰胺化合物极性很强,在普通的反相C18柱上很难保留,容易受到基质的干扰和影响。本方法采用了离子交换与C18反相填料混合型色谱柱,通过四级杆串联质谱分析了饲料和奶粉中的三聚氰胺含量,获得了满意的结果。

## 2. 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

TSQ Quantum Access三重四极串联质谱仪(赛默飞世尔科技Thermo Fisher Scientific公司)。配置有ESI源, Surveyor HPLC液相色谱系统。色谱柱为爱杰尔离子交换与C18反相填料混合型色谱: Agela Technologies Optimix C18/SCX 2.1mm x 150mm; 粒径5um, 300A, 样品净化使用的为爱杰尔Agela Technologies Cleanert PCX-SPE混合型阳离子交换固相萃取柱。三聚氰胺标准品由上海光明乳业技术中心提供,标准品用2:8(v/v)的甲醇/水溶液配成1g/ml(1000ppm)的储备液。分析时用流动相稀释成相应浓度的标准溶液用于制作标准工作曲线。乙腈、甲醇和醋酸试剂为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

### 2.2 样品制备

#### 2.2.1 提取

准确称取0.5g奶粉或饲料样品,加入10mL乙腈/水溶剂(1:1体积比),置于40℃的超声波水浴超声提取30

分钟,然后以6500rpm转速离心10分钟。上清液备用。

#### 2.2.2 净化

PCX固相萃取柱依次用3mL甲醇和3mL水活化,然后准确加入3.0mL上清液,控制流速约每分钟1ml。依次用3mL水和3mL甲醇淋洗固相萃取柱,最后用3.0mL氨化甲醇(5:95 v/v 氨水/甲醇混合溶液)洗脱并收集洗脱液。洗脱液用50℃水浴氮气吹干,用流动相溶解后用0.45um微孔滤膜过滤后上质谱分析。

#### 2.3 仪器条件

2.3.1 色谱条件: 流动相为 A: 乙腈; B: 10mM 醋酸铵/醋酸(pH=3)

流动相比例: A:B=85:15, 流速:250ul/min

质谱条件: ESI源, 正离子模式, 雾化气(N<sub>2</sub>): 35 arb;

辅助气(N<sub>2</sub>): 15 arb; 碰撞气(Ar): 1.5 mtor, MRM采集方式, 条件为:

母离子	子离子	碰撞能量
127.1	→ 68.2	28
127.1	→ 85.2	19

其中127.1→68.2 为定量离子

## 3. 实验结果

### 3.1 出峰时间

采用C18与阳离子交换混合型色谱柱可以有效提高三聚氰胺的保留能力,出峰时间在3.2分钟。

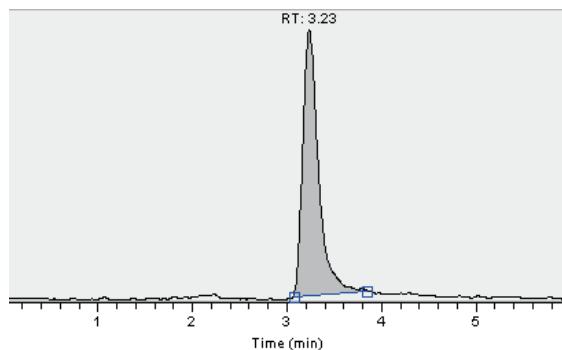


图2. 奶粉样品中三聚氰胺的色谱分离结果

### 3.2 灵敏度

图2显示的是三聚氰胺0.1 ng/ml的SRM色谱图。显示该方法有很高的灵敏度。

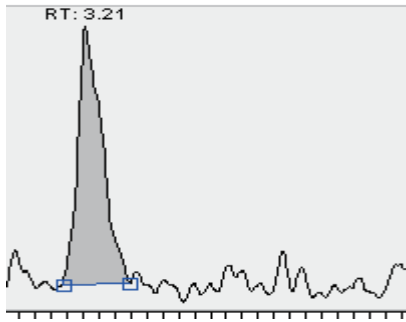


图3. 0.1 ng/ml (ppb) 的标样

### 3.3 方法的线性

图4是三聚氰胺的工作曲线，在0.1 ng/ml到2000 ng/ml之间显示了良好的线性关系（R2为0.9968）。

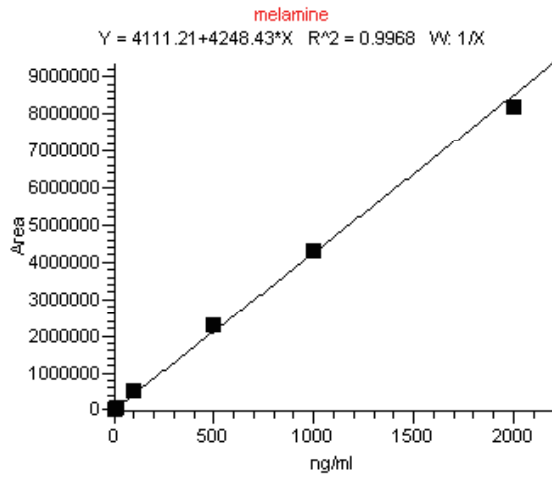


图4: 三聚氰胺的标准工作曲线 (0.1 ng/ml-2000 ng/ml)

### 3.4 实际样品的分析

分别对对阳性饲料样品和奶粉样品进行提取净化分析后结果如下:

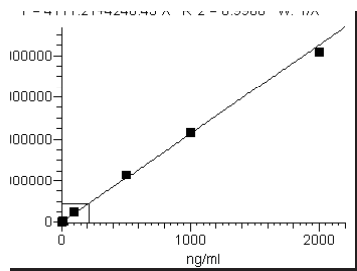


图5. 饲料样品的定量分析结果

RT: 0.00 - 6.00 SM: 78

图6. 奶粉样品的定量分析结果

### 3.4 阳性样品的定量/确证同时完成—QED的作用

TSQ Quantum Access 串联四极杆质谱所独有的QED功能 (Data Dependent Scan)能在进行SRM分析的同时触发该母离子的二级质谱，从而可以在采集到SRM信号的同时获得该化合物的子离子全扫描质谱图，并可以与标样的二级质谱图进行谱库检索，因此可以在定量的同时进行准确的定性。以下是饲料样品和奶粉样品采用QED的方法在定量同时可以获得准确的定性结果:

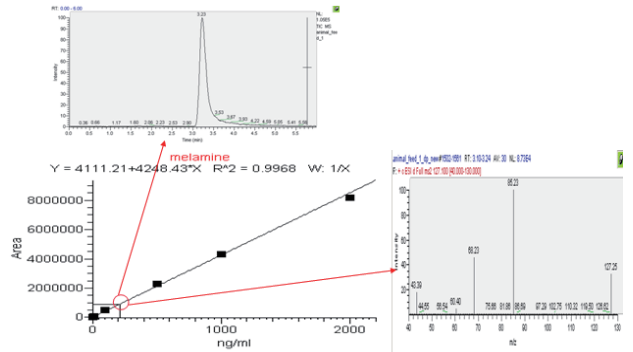


图7. 饲料样品的QED采集的数据

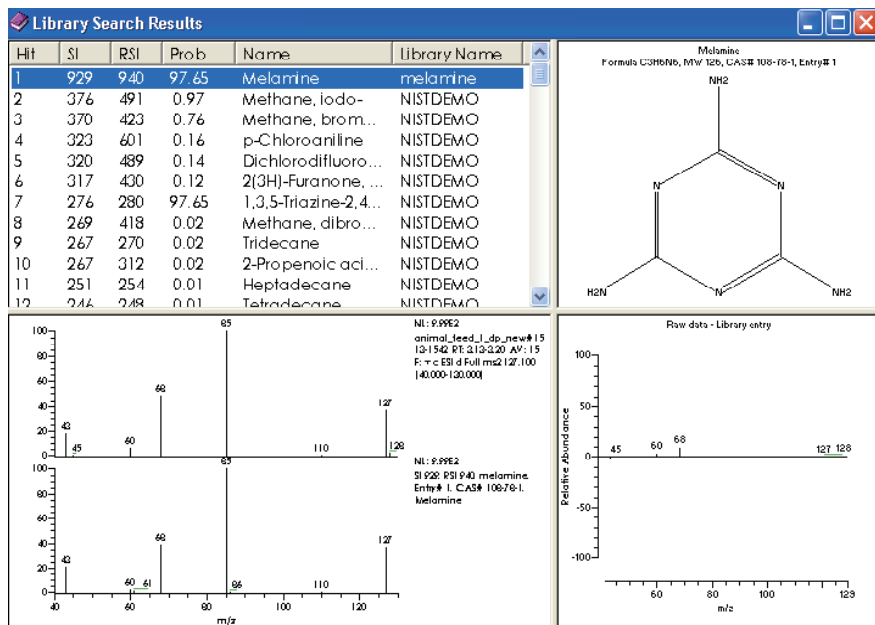


图8. 饲料样品的QED采集二级全扫描质谱图的谱库检索结果

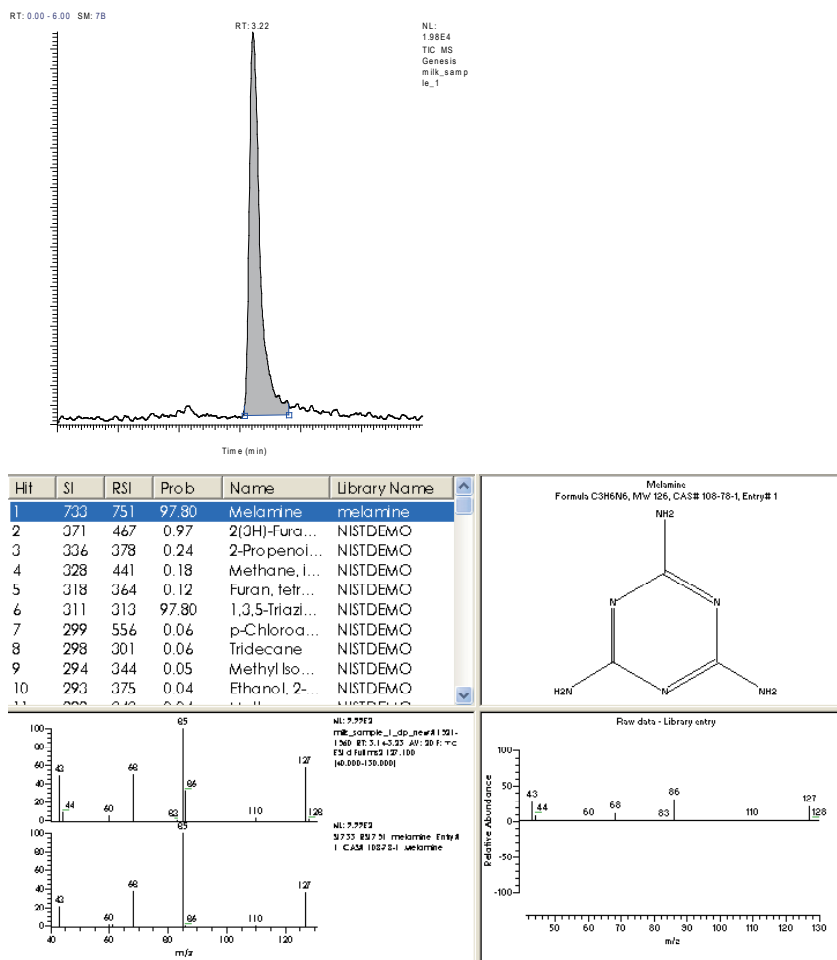


图9. 奶粉样品的QED采集二级全扫描质谱图的谱库检索结果

结论: 通过采用反相C18与阳离子交换混合型色谱柱,可以有效地提高三聚氰胺的在色谱柱上的保留能力,从而减小样品的干扰影响,实验结果表明本方法灵敏度高、线性范围宽,结合TSQ Quantum 串联四极杆质谱独特的QED功能,实现了精确量化的同时完成准确的定性分析,是分析饲料和奶粉样品中三聚氰胺的有效工具。

In addition to these offices, Thermo Fisher Scientific maintains a network of representative organizations throughout the world.

### 赛默飞世尔科技

上海  
上海浦东新金桥路27号6号楼  
电话: 86-21-6865 4588  
传真: 86-21-6445 7830

北京  
北京市东城区安定门东大街28号  
雍和大厦西楼702-715室  
电话: 86-10-8419 3588  
传真: 86-10-8419 3589

广州  
广州东风中路410-412号  
健力宝大厦3003-3004室  
电话: 86-20-8348 7138  
传真: 86-20-8348 6621

服务热线:  
800 810 5118 400 650 5118

[www.thermo.com](http://www.thermo.com)  
[analyze.cn@thermofisher.com](mailto:analyze.cn@thermofisher.com)



Thermo Fisher Scientific,  
San Jose, CA USA is ISO Certified.