

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定奶粉中的双氰胺残留

LCMSMS-089

摘要: 本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 测定奶粉中双氰胺的方法。奶粉样品经提取和净化后, 用超高效液相色谱 LC-30A 进行分离, 三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行定性和定量分析。双氰胺在 1 μg/L~100 μg/L 浓度范围内线性良好, 标准曲线的相关系数为 0.9997; 对 5 μg/L、10 μg/L 和 50 μg/L 低中高不同浓度的混合标准工作液连续测定 6 次, 保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.11%~0.12% 和 0.93%~2.78% 之间, 仪器精密度良好。

关键词: 奶粉双氰胺三重四极杆质谱

双氰胺 (dicyandiamide, 缩写 DCD) 也称二聚氰胺, 或者二氰二胺, 常用作化工原料, 医药及染料中间体。近年来, 双氰胺的应用领域还在不断地扩展。2013 年 1 月 24 日, 新西兰初级产业部 (MPI) 宣布, 该国牛奶和奶粉中发现存在低毒的化学物质双氰胺残留, 新西兰政府已经下令禁止含有双氰胺的奶制品销售和出口。MPI 表示, 为了保持草场的肥沃, 农民会在牧场喷洒双氰胺,

以防止因人工施用的肥料中对人体有害物质硝酸盐流入河流和湖泊。由于牧草含有双氰胺, 导致牛奶中双氰胺的残留。

高效液相色谱 - 串联质谱联用技术灵敏度高, 适合于复杂基体中的有机物痕量分析。本文建立了一种用于检测奶粉中双氰胺的方法, 包括样品前处理和 LC-MS/MS 方法, 可实现乳制品中双氰胺残留快速准确检测。

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-8040 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-8040 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.50 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱: InertsilAmide 2.1 mm I.D. × 150 mm L., 3 μm

流动相 A: 含 0.2% 乙酸和 10 mM 乙酸铵的水溶液

流动相 B: 含 0.2% 乙酸的乙腈

洗脱方式: 梯度洗脱, 初始浓度为 B 相 97%, 时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.20	Pumps	Pump B Conc.	97
2.70	Pumps	Pump B Conc.	70
2.90	Pumps	Pump B Conc.	70
2.91	Pumps	Pump B Conc.	97
5.00	Controller	Stop	

流速: 0.4 mL/min

柱温: 40°C

进样量: 10 µL

质谱条件

离子化模式: ESI(+)

离子喷雾电压: 4.5 kV

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 15 L/min

碰撞气: 氩气

DL 温度: 250°C

加热模块温度: 450°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

驻留时间: 100 msec

延迟时间: 3 msec

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数

化合物名称	前体离子	产物离子	DL Bais(V)	Qarray Bais(V)	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
双氰胺	85.2	68.1*	25	25	-17	-18	-28
		43.1	25	25	-17	-16	-16

*表示定量离子

1.3 标准品溶液的配制及样品前处理

标准工作溶液配制:

用乙腈配制 20 mg/L 的混合标准中间溶液, 再用乙腈稀释成 1 µg/L、2 µg/L、5 µg/L、10 µg/L、50 µg/L 和 100 µg/L 不同浓度的混合标准工作液。

奶粉样品前处理:

准确称取 1 g 奶粉, 用 2 mL 热水溶解, 加入约 8 mL 乙腈定容到 10 mL, 漩涡混合 2 min, 于 4000 rpm 离心 10 min。取 4 mL 上清液, 加入 dSPE 双氰胺净化管中, 漩涡混合 30 秒。静置 2 min, 取上清液旋转蒸发至近干, 用乙腈定容至 1 mL。在混合器上混匀后, 用 0.22 µm 滤膜过滤, 待测。

结果与讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

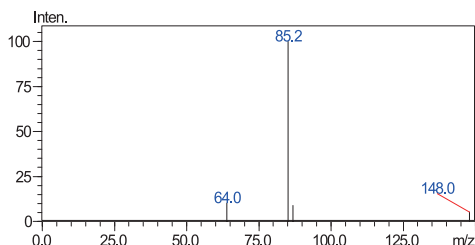


图1 双氰胺的一级质谱图

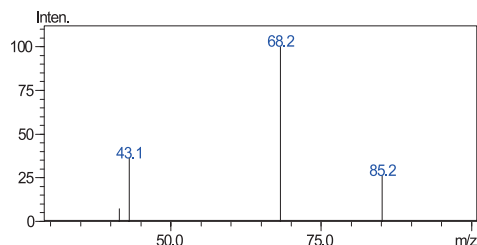
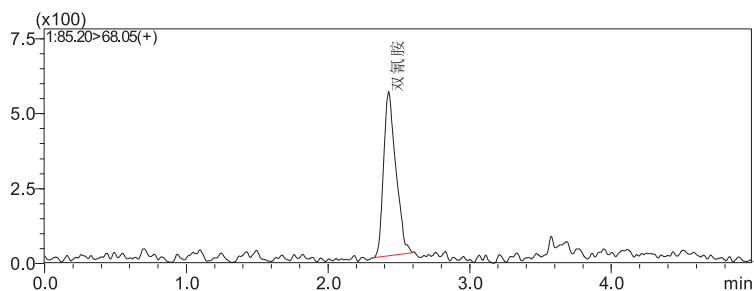


图2 双氰胺的产物离子扫描质谱图(CE值-18V)

2.2 标准样品的 MRM 色谱图



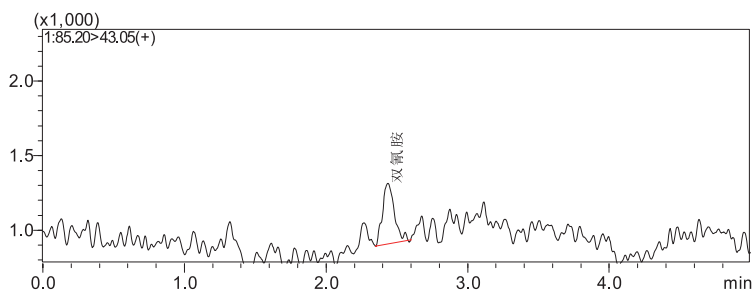


图 3 1 µg/L 双氰胺标准样品的色谱图

2.3 线性关系

1 µg/L、2 µg/L、5 µg/L、10 µg/L、50 µg/L 和 100 µg/L 不同浓度的混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 4 所示；所得校准曲线线性关系良好，线性方程为 $Y = (4985.44)X$ ；相关系数 $R=0.9997$ 。

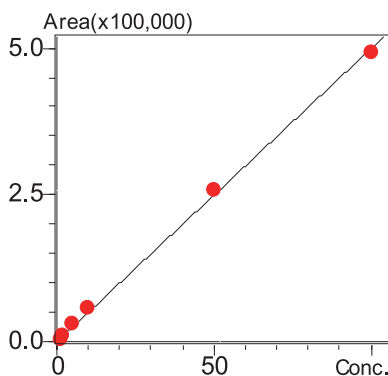


图 4 双氰胺校准曲线

2.4 精密度试验

对 5 µg/L、10 µg/L 和 50 µg/L 不同浓度混合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：不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.11%~0.12% 和 0.93%~2.78% 之间，仪器精密度良好。

表 3 双氰胺保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

Conc.(µg/L)	RSD % (R.T.)	RSD % (Area)
5	0.12	2.78
10	0.11	1.35
50	0.12	0.93

2.5 灵敏度实验

为了考察仪器灵敏度，配制浓度为 1.0 µg/L 测试样品 7 份，平行进样 7 次分析结果。由 7 次进样测定的标准偏差 (S) 计算出检测限和最低定量浓度，此时检出限 $MDL = 3.14 \times S$ ，定量下限 $LOQ=4 \times MDL$ 。测定结果如表 4 所示。

表 4 双氰胺的检出限和定量下限

名称	标准偏差 (S)	检出限 (µg/L)	定量下限 (µg/L)
双氰胺	0.08	0.24	0.96

2.6 回收率实验

取空白奶粉样品 1 g，加入少量双氰胺标准溶液，使加标浓度均为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，样品经提取与净化后，按照按 1.2 中的分析条件进行测定双氰胺的加标回收率。空白奶粉样 MRM 色谱图如 5 所示，加标样品 MRM 色谱图如 6 所示，回收率为 71%。

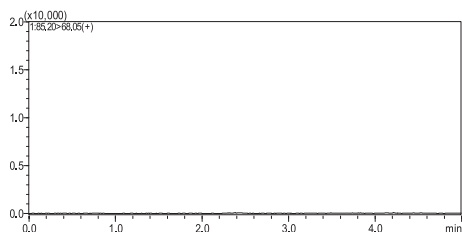


图 5 空白奶粉样品 MRM 色谱图

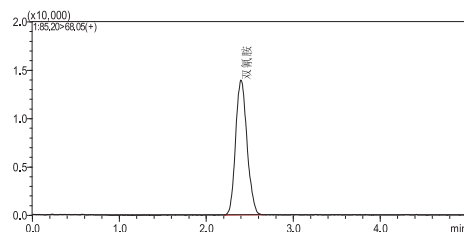


图 6 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标样品 MRM 色谱图

结论

建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 测定奶粉中双氰胺的方法。奶粉样品经提取和净化后，用超高效液相色谱 LC-30A 进行分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行定性和定量分析。双氰胺在 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ ~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性良好，对低中高不同浓度混合标准工作液连续测定 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.12% 和 2.78% 以下。本方法操作简单，可用于乳制品中双氰胺的快速准确检测，实现高通量的产品筛查。