

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定奶粉中的三聚氰胺

LCMSMS-001

摘要：本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪LCMS-8030测定奶粉中三聚氰胺的方法。样品经提取后，用超高效液相色谱LC-30A进行分离，三重四极杆质谱仪LCMS-8030进行定性和定量分析。三聚氰胺在0.01~0.5 mg/L浓度范围内线性良好，标准曲线的相关系数为0.9998；对0.01 mg/L、0.1 mg/L和0.5 mg/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0.64%和4.34%以下，系统精密度良好；0.01 mg/kg样品添加回收率测试结果为104.0%；方法定量限为0.005 mg/kg。

关键词：奶粉 三聚氰胺 三重四极杆质谱

三聚氰胺(melamine)，简称三胺，学名三氨三嗪，是一种重要的氮杂环有机化工原料，常被用于生产塑料、胶水和阻燃剂。近来屡见新闻报道不法分子将含有三聚氰胺的原料用于乳制品生产。由于三重四极杆质谱仪具有多反应监测(MRM)的扫描模式，能够很好地去掉基质干扰，因此能够对微量的三聚氰胺进行定量检测。国标《原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法》(GB/T 22388-2008)中规定了采用LC-MS/MS法测定乳及乳制品中的三聚氰胺，且该方法的定量限能到0.01 mg/kg。本文使用岛津三重四极杆质谱仪LCMS-8030定量检测了奶粉中三聚氰胺的含量。

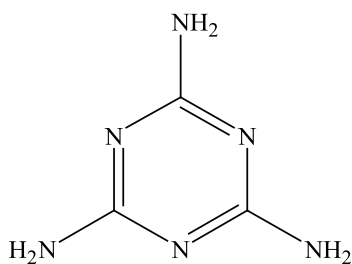


图1 三聚氰胺的化学结构式

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

液相条件

色谱柱：CAPCELL PAK CR (1:4) 2.0 mm I.D.×150 mm L., 5 μm

流动相A：500 mL 10 mM乙酸铵水溶液与2 mL乙酸混合。

流动相B：乙腈

洗脱方式：等度，A/B = 40/60 (v/v)

流速：0.2 mL/min

柱温：40℃

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℃

加热模块温度：400℃

扫描模式：多反应监测(MRM),前体离子m/z

127.10, 定量产物离子m/z 85.05, 定性产物离子m/z 68.00。

驻留时间: 300 msec

延迟时间: 3 msec

MRM参数: 见表1。

表1 三聚氰胺的MRM参数

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
三聚氰胺	127.10	85.05	-12.0	-20.0	-18.0
		68.00*	-12.0	-30.0	-27.0

*表示定性离子

1.3 标准品溶液的配制及样品前处理

样品前处理方法按照国标《原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法》(GB/T 22388-2008 第二部分液相色谱质谱法)进行处理。

取空白样品处理, 用所得的样品溶液将10 mg/L三聚氰胺储备液逐级稀释成浓度为0.01、0.05、0.1、0.2、0.5 mg/L的标准工作液。

结果与讨论

2.1 三聚氰胺标样的色谱图

0.1 mg/L三聚氰胺标样的色谱图如图2所示, 保留时间为5.62 min的色谱峰为三聚氰胺。

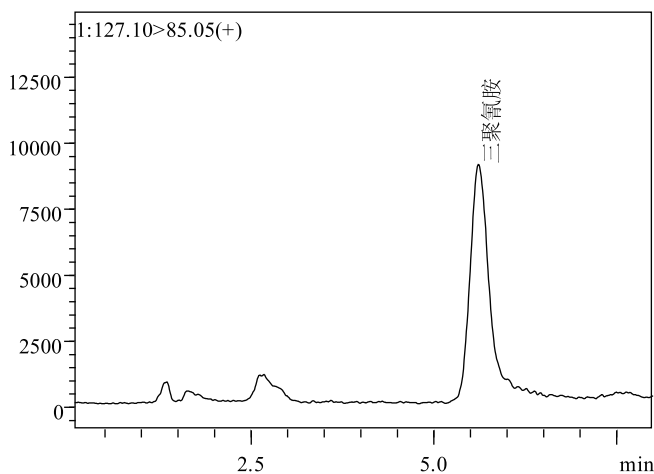


图2 0.1 mg/L的标准品色谱图

2.2 线性关系

将浓度为0.01、0.05、0.1、0.2、0.5 mg/L的标准工作液按1.2中的分析条件进行测定, 以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标绘制工作曲线 $Y = (1568.71)X + (-1426.24)$ (见图3), 所得曲线线性关系良好, 相关系数R为0.9998。标准品的浓度及峰面积结果见表2。

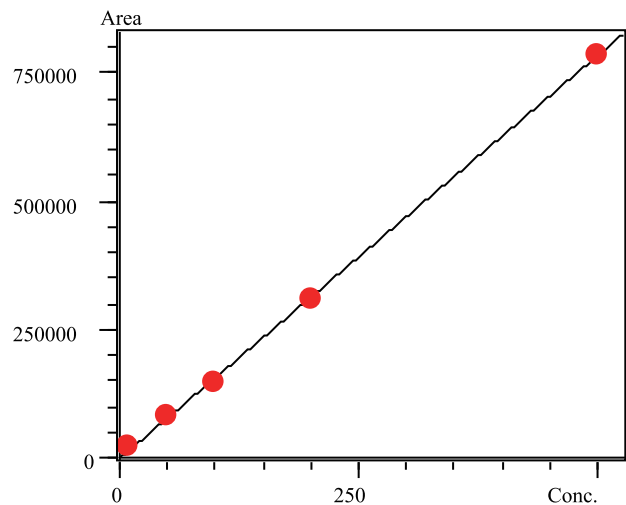


图3 三聚氰胺的标准曲线

表2 标准品的浓度及峰面积

Conc. (mg/L)	Area
0.01	19666
0.05	81499
0.1	148105
0.2	786149
0.5	306538

2.3 精密度试验

对0.01 mg/L、0.1 mg/L和0.5 mg/L的标样分别连续测定6次, 考察方法的精密度, 保留时间和峰面积的RSD%结果如表3所示。

表3 三聚氰胺的重现性数据(n=6)

Conc.(mg/L)	RSD% (RT)	RSD% (Area)
0.01	0.64	4.34
0.1	0.18	3.80
0.5	0.34	3.18

2.4 准确度实验

为考察方法的准确度，采用加标0.01 mg/kg的样品进行加标回收率测定，评价方法的准确度。空白样品的色谱图如图4所示，样品中含有微量的三聚氰胺，浓度为2.736 μg/kg；加标0.01 mg/kg样品的色谱图如图5所示，结果显示两份加标0.01 mg/kg样品的平均回收率为104.0%。加标3 mg/kg样品平行处理两份，在固相萃取这一步取过滤液的五分之一进行净化，计算得到平均回收率为99.9%。满足国标规定的“在添加浓度0.01 mg/kg ~ 0.5 mg/kg浓度范围内，回收率在80% ~ 110%之间”的要求。

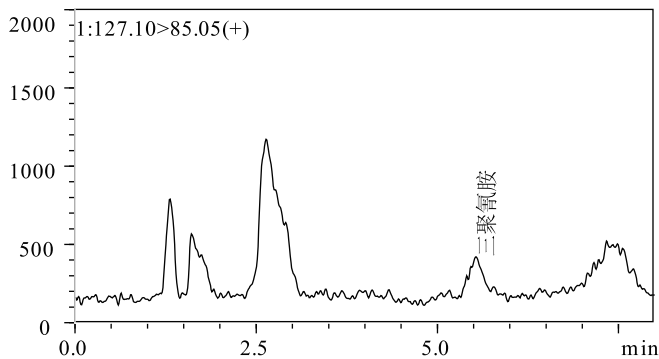


图4 空白样品的色谱图

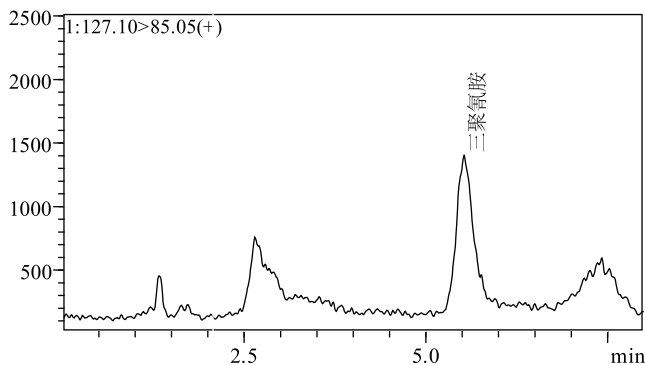


图5 加标0.01 mg/kg样品的色谱图

2.5 灵敏度实验

分析三聚氰胺(0.01, 0.05, 0.1, 0.2和0.5 mg/L)标准工作液，利用工作站软件计算三聚氰胺的检测限(S/N=3)为0.0017 mg/L，定量限(S/N=10)为0.0052 mg/L。配制浓度为0.005 mg/L的三聚氰胺进样，如图6所示，S/N(ASTM)=14.04，所以可认为定量限为0.005 mg/L，根据前处理条件换算成方法定量限为0.005 mg/kg。

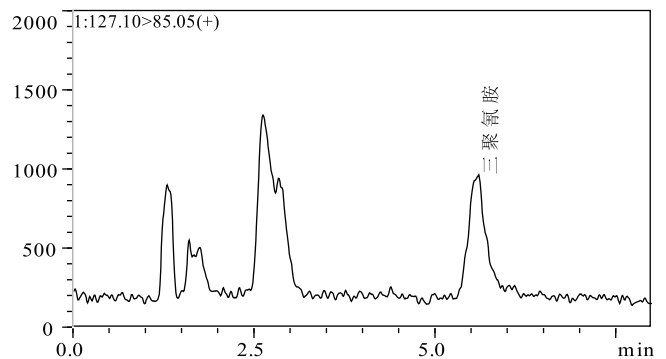


图6 0.005 mg/L的三聚氰胺色谱图

结论

建立了使用岛津三重四极杆质谱仪LCMS-8030测定奶粉中的三聚氰胺的方法，该方法满足国标的要求。校准曲线的相关系数在0.999以上，3个不同浓度标准工作液的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在0.64%和4.34%以下，方法定量限0.005 mg/kg，0.01 mg/kg样品的加标回收率为104.0%。岛津LCMS-8030三重四极杆质谱仪完全可以满足乳制品中三聚氰胺的检测要求。