

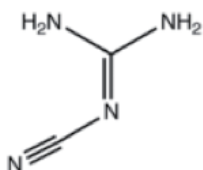
同时检测乳品中双氰胺和三聚氰胺的沃特世解决方案

丁娟娟 纪英华 赵嘉胤 庄淑真
沃特世科技（上海）有限公司

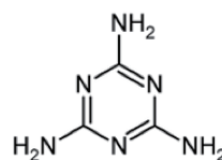
摘要：2008年，三鹿奶粉被爆检出对人体有害的三聚氰胺，一时间震惊全国。自此，国家一直在加强对奶粉中三聚氰胺的监管。2013年初，新西兰牛奶及奶制品被检测出含有低含量的有毒物质双氰胺，新西兰政府已经下令禁售含有双氰胺的奶类产品。

沃特世（Waters®）公司一直致力于保障人类的健康生活，第一时间开发了奶粉中双氰胺和三聚氰胺同时检测的方法，以提高检测分析的有效性。

二氰二氨（双氰胺），缩写DICY或DCD。是氰胺的二聚体，也是胍的氰基衍生物。化学式 $C_2H_4N_4$ 。白色结晶粉末。可溶于水、醇、乙二醇和二甲基甲酰胺，几乎不溶于醚和苯。



三聚氰胺，俗称密胺、蛋白精，是一种三嗪类含氮杂环有机化合物，被用作化工原料。微溶于水，可溶于甲醇、甲醛、乙酸、热乙二醇、甘油、吡啶等，不溶于丙酮、醚类，对身体有害，不可用于食品加工或食品添加物。



分析难点：

对于同时分析奶粉中双氰胺和三聚氰胺，其主要难点在于虽然两者均为极性物质，都需要使用HILIC色谱分离模式，但根据之前的经验，三聚氰胺在BEH HILIC色谱柱上保留和峰形较好，而双氰胺在BEH Amide色谱柱上保留和峰形更佳。因此需要建立一个统一的LCMSMS方法用于分析双氰胺和三聚氰胺，并获得更好的峰形和灵敏度。

另一方面，传统的三聚氰胺方法是采用Oasis® MCX这种反相和阳离子交换的复合SPE模式，然而这种方法完全不适用于双氰胺；而Sep-Pak® AC2小柱虽然可以用于双氰胺的净化和富集，但仍需开发一个更为快速的前处理方法。

实验方法：

仪器：Waters ACQUITY UPLC® with Xevo® TQ-S
 色谱柱：ACQUITY BEH Amide column, 1.7μm, 2.1*150mm
 流动相A：5mM甲酸铵 0.1%甲酸水溶液
 流动相B：乙腈
 流速：0.4mL/min
 柱温：35°C
 进样体积：5μL
 梯度曲线：

	流动相A	流动相B	曲线
0 min	3	97	
2 min	3	97	6
3.2 min	20	80	6
4.2 min	30	70	6
4.5 min	3	97	6
7 min	3	97	6

[应用纪要]

质谱参数:

毛细管电压: 2.5kv

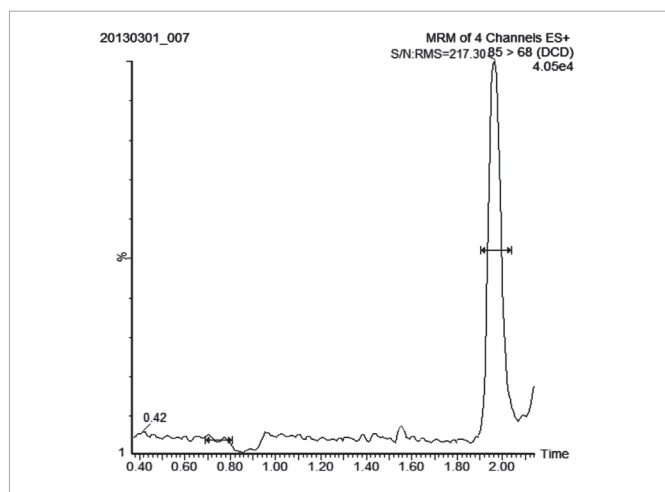
脱溶剂气温度: 500度

脱溶剂气流速: 800 L/Hr

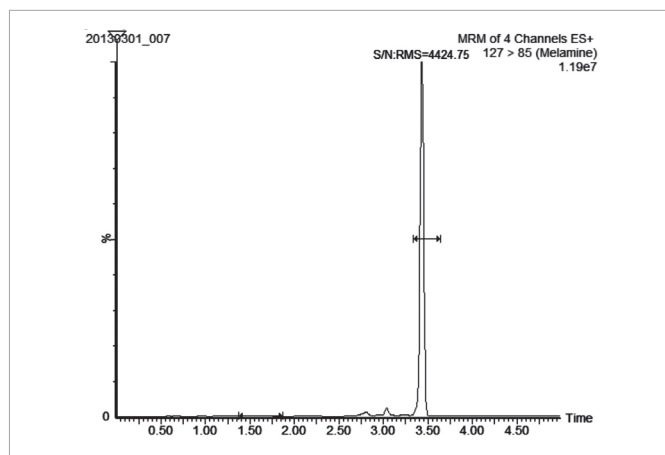
碰撞气流速: 0.15mL/min

目标物	电离模式	MRM	Dwell(s)	碰撞能量 (eV)	锥孔电压 (v)
双氰胺	ESI+	85>43	0.25	20	25
		85>68	0.25	12	25
三聚氰胺	ESI+	127>68	0.25	25	40
		127>85	0.25	17	40

实验结果:



基质加标1ppb时双氰胺信噪比 (S/N)



基质加标1ppb时三聚氰胺信噪比 (S/N)

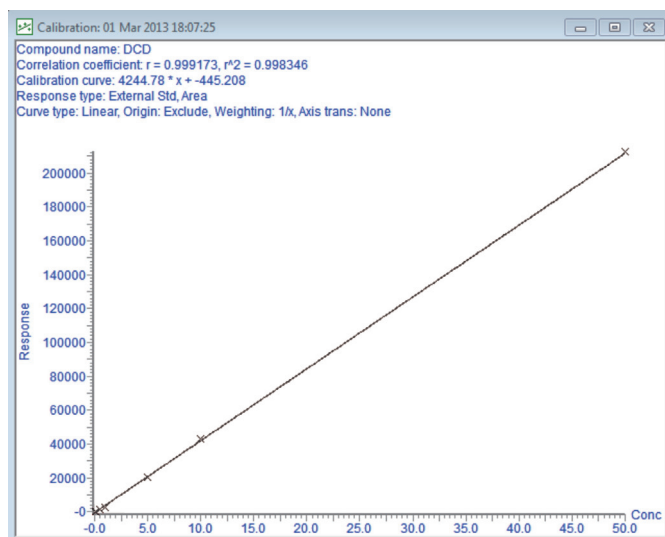
样品前处理方法:

为达到快速、高效的检测目的, 本实验采用Waters DisQuE样品制备试剂盒。

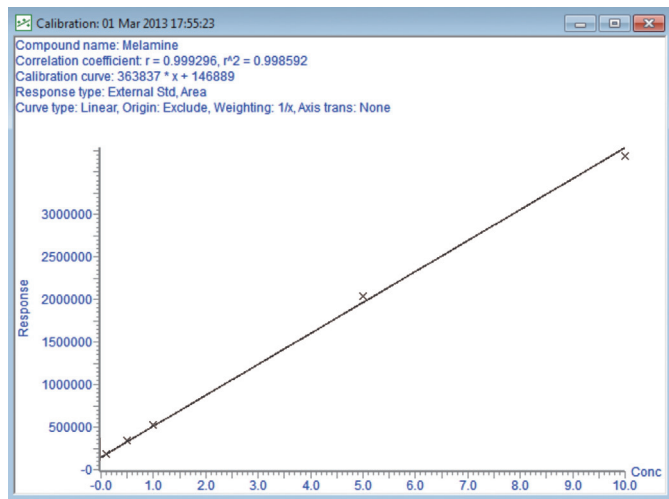
Waters DisQuE样品制备流程如下:



本实验在未添加同位素内标的情况下, 空白基质添加1ppb样品浓度, 测得双氰胺平均回收率为83%, 三聚氰胺平均回收率为71%。



双氰胺线性范围0.5ppb~50ppb



三聚氰胺线性范围0.1ppb ~ 10ppb

结论:

本文采用沃特世超高效液相色谱UPLC®与高灵敏度三重四极杆Xevo TQ-S, 开发了同时分析奶粉中双氰胺和三聚氰胺的检测方法, 此方法建立在HILIC机理的BEH Amide色谱柱上。对于基质中添加1ppb的待测物, 经过DisQuE基质分散样品制备盒净化后进样, 不但峰形良好、不受基质干扰影响, 灵敏度也完全满足检测要求。

为了达到快速、高效的分析目的, 本文采用DisQuE基质分散样品制备盒, 样品经简单的蛋白沉淀后加入到DisQuE试剂盒中净化, 之后直接进样即可, 无需挥干复溶。方法简单、快速, 尤其对于大批量样品的检测, 该方法可以大大提高分析效率。

在LCMSMS方法开发中, 杂化颗粒的HILIC模式色谱柱起到了很大作用, 首先两种待测物均为极性化合物, 反相色谱

无法保留, HILIC提供了一个互补的选择。其次在众多HILIC模式色谱柱中, BEH Amide色谱柱为杂化颗粒技术, pH耐受范围广 (pH 1-10), 为方法开发提供了更大的空间, 且BEH Amide在此应用中具有更好的选择性和峰形。

订购信息:

方法包	订货号	描述
乳品中双氰胺和三聚氰胺UPLC分析方法包, 包括:	186004802	BEH Amide, 1.7µm, 2.1x150mm
	186004830	DisQuE 2mL基质分散净化管
乳品中双氰胺和三聚氰胺HPLC分析方法包, 包括:	186006724	XBridge Amide XP, 2.5µm, 2.1x150mm
	186004830	DisQuE 2mL基质分散净化管
过滤膜和样品瓶:	WAT097962	GHP过滤膜
	186000307C	LCMS 认证样品瓶



Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

©2013年 沃特世公司。印制于中国。
2013年03月

沃特世中国有限公司
沃特世科技(上海)有限公司

北京: 010-5209 3866
上海: 021-6156 2666
广州: 020-2829 6555
成都: 028-6554 5999
香港: 852-2964 1800

免费售后服务热线: 800 (400) 820 2676
www.waters.com