

奶粉/牛奶中的三聚氰胺 LC-MS/MS 分析

三聚氰胺(melamine ,如图1所示)是作为塑料、涂料等行业的改性剂。一些违法企业为提高产品的蛋白质含量将其作为伪蛋白质非法添加到食品或饲料等产品中。2006年美国FDA有报道,其作为宠物食品的伪蛋白质使用,使宠物死亡或生病;并且因为其容易和人体内氰尿酸反应生成晶体状聚合物(如图2所示),而引起结石等病状,严重影响人类健康。

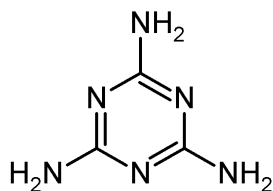


图1 三聚氰胺结构式

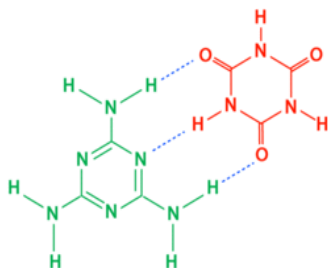


图2 三聚氰胺与氰尿酸结合示意图

标准品配制

取50mg三聚氰胺标准品,以20%甲醇溶解,定容至50mL,得到1000ppm的标准溶液。使用时以提取液稀释至所需的浓度。

样品前处理

1. 直接提取法:

称取奶粉样品5g (或牛奶10mL) ,加入24mL乙腈/水溶液 (50 : 50 , V/V) 和1mL 1.0mol/L 盐酸,剧烈振摇30s,在漩涡振荡器上涡旋 1min, 5 4000 r/min离心 5min ; 取上层清液过0.45 μ m滤膜上机测定。

2. SPE净化法

Bond Elut Plexa PCX
(200mg, 6mL, P/N.12108206)

活化 5mL 甲醇, 5mL 水
上样 上述上清液, 重力自流上样
淋洗 5mL 0.1mol/L HCl, 2mL甲醇, 真空抽1min
洗脱 5mL 5%氯化甲醇(v/v)洗脱 (5mL 氨水+95mL 甲醇)
50 氮吹干燥 20min, 95:5 乙腈:甲酸铵(20 mmol/L), 定容至 1mL, 涡旋 10s 或过 0.45 μ m 滤膜, 进行测定

液相色谱分析条件

VARIAN 212 HPLC 仪器

色谱柱: Pursuit C8 4.6 mm \times 50mm \times 5 μ m
(P/N:A3030030 \times 046)

流动相:

时间(min) 25mmol/L乙酸铵+25mmol/L乙酸水溶液/乙腈

0	90%	10%
2.5	5%	95%
4.5	5%	95%
5	90%	10%
7	90%	10%

流速: 200 μ L/min

进样量: 10 μ L

柱温: 35

MS/MS 条件

VARIAN 320-MS 串联四极杆 LC-MS/MS 仪器

离子源： ESI+
 Needle voltage： 3.6 kV
 Shield voltage： 225 V
 Dry gas： 22 psi@300
 雾化气： 55 psi
 碰撞气： 氦气，1.8Torr
 MRM 参数

母离子	子离子	碰撞能量 (V)
126.9	67.9	21.5
	84.9*	13.5

*为定量离子

结果与讨论

按照以上色谱和质谱条件，建立二级质谱MRM检测方法，并将三聚氰胺标准品添加到阴性牛奶中，建立1、5、10、50ppb和100ppb浓度范围内校正曲线。三聚氰胺外加标离子色谱图和标准曲线如图3和图4所示。

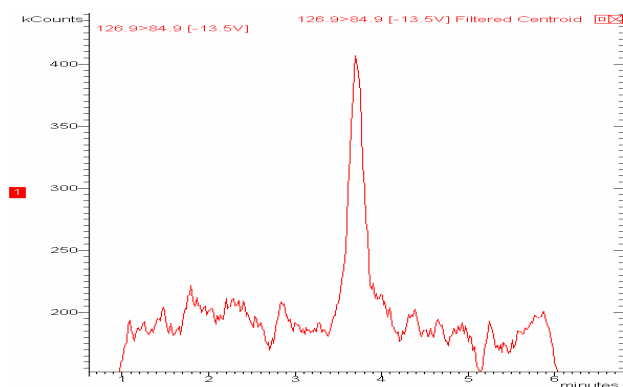


图3 阴性牛奶样品中加标1ppb三聚氰胺MRM离子流图

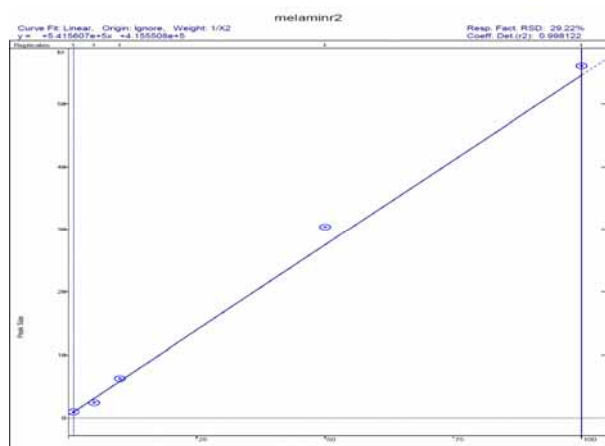


图4 三聚氰胺 (1、5、10、50ppb和100ppb) 浓度范围内校正曲线

结论

采用固相萃取-液相色谱-串联质谱方法检测牛奶中三聚氰胺，Bond Elut Plexa PCX萃取柱净化效果良好，串联质谱MRM方法可以大大提高检测方法的准确度，该方法可靠性好，灵敏度高，完全能搞满足对牛奶和奶制品中的三聚氰胺检测要求。