

原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法

（1）执行标准：《GB/T 22388-2008 原料乳及乳制品中三聚氰胺检测方法》

（2）方法及谱图

1 液相色谱检测方法

样品前处理：

称取 2g 试样于 50ml 具塞离心管中，加入 15ml 三氯乙酸溶液、5ml 乙腈溶液和 5%醋酸铅溶液（质量比）2ml，超声提取 10min，再震荡提取 10min 后，以 5000r/min 离心 10min。

上清液经三氯乙酸溶液润湿的滤纸过滤后，用三氯乙酸溶液定容到25ml，移取 5ml 滤液，加入 5ml 水混合均匀后，全部上样。

净化处理：

活化：5ml 甲醇、5ml 水依次活化固相萃取小柱

上样：将全部待净化液以 1ml/min 的流速通过固相萃取小柱

淋洗：依次用 3ml 水和 3ml 甲醇淋洗固相萃取小柱，淋洗完毕后，抽至近干

洗脱：用 6ml5%氨化甲醇(v/v)(5%氨化甲醇： 5mL 氨水+95mL 甲醇)溶液以 1ml/min，

洗脱液于 50℃下氮气吹干，残渣用 1ml 流动相定容，涡旋混合 1min，0.45μm 过滤。

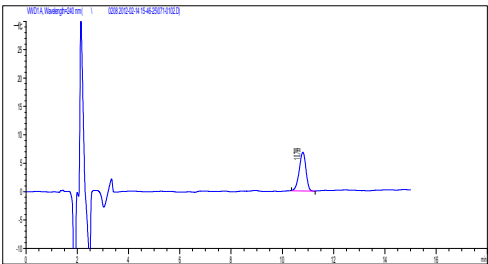
色谱条件：

色谱柱：Venusil™ XBP C8(L) 4.6×250mm，5μm

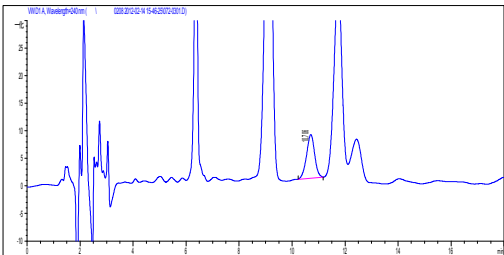
流动相：缓冲盐溶液-乙腈=85:15

缓冲盐配制：准确称柠檬酸 2.10g 和辛酸碘酸钠 2.16g，加入约 980ml 水溶解，调节 pH 到 3.0 后，定容至 1L

紫外检测器波长：240nm； 流速：1ml/min； 进样量：20μL



三聚氰胺标准品



牛奶中的三聚氰胺

2 液相色谱-质谱/质谱法（LC-MS/MS）

样品前处理：

称取 1g 试样于 50ml 具塞离心管中，加入 8ml 三氯乙酸溶液、2ml 乙腈溶液和 5%醋酸铅溶液（质量比）2ml，超声提取 10min，再震荡提取 10min 后，以 5000r/min 离心 10min。

上清液经三氯乙酸溶液润湿的滤纸过滤后，做待净化液。

净化处理：

活化：5ml 甲醇、5ml 水依次活化固相萃取小柱

上样：将全部待净化液以 1ml/min 的流速通过固相萃取小柱

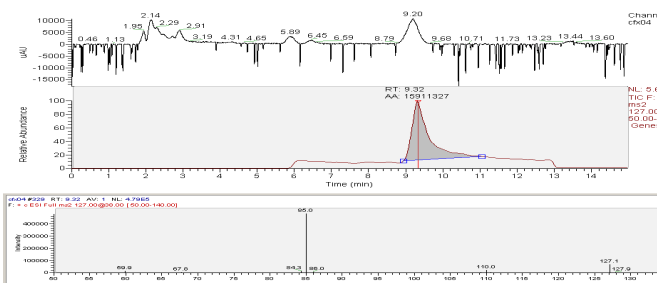
淋洗：依次用 3ml 水和 3ml 甲醇淋洗固相萃取小柱，淋洗完毕后，抽至近干

洗脱：用 6ml5%氨化甲醇(v/v)(5%氨化甲醇： 5mL 氨水+95mL 甲醇)溶液以 1ml/min，洗脱液于 50℃下氮气吹干，残渣用 1ml 流动相定容，涡旋混合 1min，0.45μm 过滤。

色谱条件：

正离子模式，离子喷雾电压：4KV

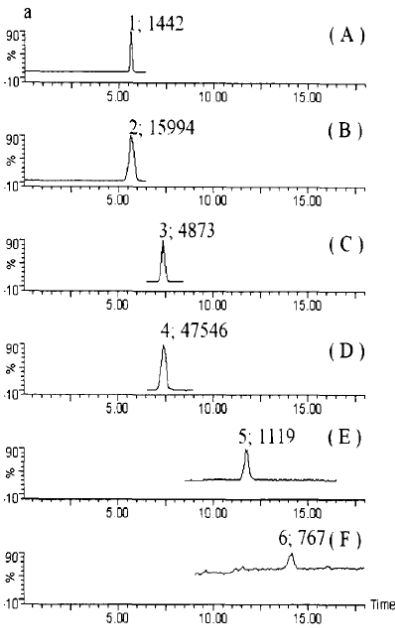
雾化器：氮气，40psi；干燥气：氮气，流速 10L/min，温度 35℃；裂解电压：100V



三聚氰胺牛奶样品色谱图

用 Venusil™ HILIC 还可以将三聚氰胺及其手性异构体和其类似物:三聚氰酸二酰胺、三聚氰酸一酰胺和三聚氰酸分开，实验条件及谱图如下：

液相条件	质谱条件
色谱柱： Venusil™ HILIC 4.6×250mm， 5μm	正离子模式： 0-6.5 ； 9-20
流动相： 10mM 甲酸铵缓冲盐溶液（pH 3.5）-乙腈=12:88	正离子模式下毛细管电压： 3.5KV
流速： 1ml/min	负离子模式： 6.5-9
进样量： 20μL	负离子模式下毛细管电压： 3.0KV
	源温度： 105℃； 洗脱温度： 300℃
	萃取电压： 4V； RF 透镜电压： 0.5V
	锥孔电压： 50 l/min



色谱峰: 1, 三聚氰酸; 2, ¹³C3-三聚氰酸;3, 三聚氰胺;4, ¹⁵N3-三聚氰胺;5, 三聚氰酸一酰胺; 6, 三聚氰酸二酰胺。

3 气相色谱-质谱联用法（GC-MS 和 GC-MS/MS）

样品前处理：

称取 5g 试样于 50ml 具塞比色管中，加入 25ml 三氯乙酸溶液，涡旋震荡 30s，再加入 15ml 三氯乙酸溶液，超声提取 15min，加入 2ml 乙酸铅溶液，用三氯乙酸溶液定容到刻度。充分混合后转移上层溶液约 30ml 到 50ml 离心管中，以 5000r/min 离心 10min。上清液待净化。

净化处理：

活化：5ml 甲醇、5ml 水依次活化固相萃取小柱

上样：取 5ml 待净化液以 1ml/min 的流速通过固相萃取小柱

淋洗：依次用 3ml 水和 3ml 甲醇淋洗固相萃取小柱，淋洗完毕后，抽至近干

洗脱：用 6ml 5%氨化甲醇(v/v)(5%氨化甲醇：5mL 氨水+95mL 甲醇)溶液以 1ml/min，洗脱液于 50℃ 下氮气吹干，残渣用 1ml 流动相定容，涡旋混合 1min，0.45μm 过滤。

色谱条件：

5%苯基二甲基聚硅氧烷石英毛细管色谱柱，30×0.25mm，0.25μm

流速：1.0ml/min

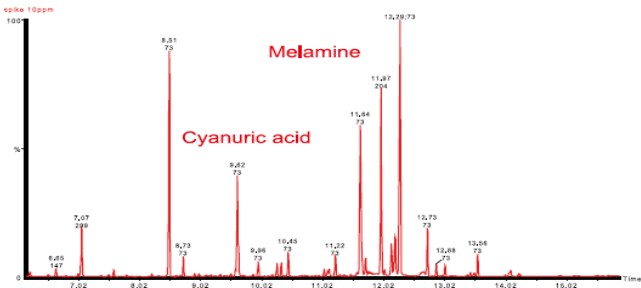
升温程序：70℃保持 1min，以 10℃/min 的速率升温至 200℃，保持 10min

传输线温度：280℃；进样口温度：250℃；进样方式：不分流进样

进样量：1μL；电离方式：电子轰击电离（EI）

电离能量：70eV；离子源温度：230℃

扫描模式：选择离子扫描，定性离子 m/z99、171、327、342，定量离子 m/z327



三聚氰胺牛奶样品色谱图

（3）注意事项

- 1、处理不同的样品，离心的效果是不同的，有时离心后上清液仍然浑浊，若直接上样会导致固相萃取柱堵塞，这时可以适当的提高离心的转速或离心的时间，如果还不能该问题，可以用滤纸先过滤一下上清液再用固相萃取柱处理样品。
- 2、样品处理过程中注意交叉污染，影响检测结果。
- 3、在做三聚氰胺的重复性实验中，注意取样和最终的定量、定容的准确性。

（4）订货指南

产品名称	订货号	报价（元）
Venusil™ XBP C8（L）（LC 法）	VX52505-L	3200.00
Venusil™ XBP C18（L）（LC 法）	VX952505-L	3200.00
Venusil™ AS-T C18（LC-MS 法）	VAS951502-T	4200.00
DA-50+	5025-3002	4700.00
Cleanert™PCX 60mg/3mL,50	CX0603	1150.00