

乳制品中三聚氰胺的 GC-MS 分析

摘要：本文建立了乳制品中三聚氰胺的 GC-MS 分析方法；试样经超声提取、固相萃取净化后，进行硅烷化衍生，衍生产物采用选择离子监测模式扫描，外标法定量。该方法回收率在 80-108% 之间，相对标准偏差小于 6%，在 0.05ug/mL ~ 2ug/mL 之间保持良好的线性，相关系数大于 0.999，最低检测限为 0.01mg/kg。

关键词：GC-MS，乳制品，三聚氰胺，外标法

1 前言

三聚氰胺(Melamine) 化学式 :C₃H₆N₆) ,俗称密胺、蛋白精 ,IUPAC 命名为“1,3,5-三嗪-2,4,6-三氨基” ,是一种三嗪类含氮杂环有机化合物 ,被用作化工原料。它是白色单斜晶体 ,几乎无味 ,微溶于水 (3.1g/L 常温) ,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。目前 ,工业原料三聚氰胺在饲料及原料乳中被人为添加引发了一场食品安全危机 ,三聚氰胺检测已成为非常热点的问题 ,目前国家标准^[1]和地方标准^[2]将近有数十种。本文参考国家标准 ,利用北京东西分析仪器有限公司生产的 GC-MS3100 建立了乳制品中三聚氰胺含量的检测方法。通过三氯乙酸水溶液超声提取乳制品中的三聚氰胺 ,离心、固相萃取净化 ,硅烷化衍生 ,最后由气相色谱-质谱联用仪检测。选择离子监测 (SIM) 的质谱扫描模式、外标法定量。总结出了在实际试验过程中 ,影响分析结果偏差的因素 ,改善了方法的精密度。

2 实验部分

2.1 仪器及材料

仪器：北京东西分析仪器有限公司 GC-MS 3100 联用仪；电子轰击源 (EI)

试剂：方法中所用试剂，除非另有说明，所有试剂均为分析纯，水为去离子水。衍生化试剂：N，O-双三甲基硅基三氟乙酰胺 (BSTFA) + 1% 三甲基氯硅烷 (TMCS) (SUPELCO 公司) , 吡啶 (优级纯 , 天津市津科精细化工研究所) , 甲醇 (色谱纯 , 天津四友精细化学品有限公司) , 氨水 , 三氯乙酸 (北京金龙化学试剂有限公司) , 乙酸铅 (北京益利精细化学品有限公司) , 三聚氰胺标准品 (已知含量 ≥ 99% , 中国计量科学研究院) 甲醇溶液 (1 : 4) 。

三聚氰胺标准储备液：准确称取三聚氰胺标准品 0.1000 g 于 100 mL 的容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度（借助超声波仪使其溶解）。此溶液浓度为 1000ug/mL，于 4 °C 冰箱内保存，有效期 3 个月。

三聚氰胺标准中间液：吸取标准储备液 1mL 于 100 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度。此溶液浓度为 10 ug/mL，于 4 °C 冰箱内保存，有效期 3 个月。

2.2 仪器条件

2.2.1 气相色谱部分

色谱柱：Equity-5 弹性石英毛细管柱，30 m×0.25 mm×0.25 μm；程序升温，初始温度75°C保持1 min，以20°C/min 的速率升温至300°C，保持5 min。进样口温度 250°C，传输线温度280°C，进样方式，不分流进样，柱流速：1.0 mL/min，进样量：1 μL，溶剂峰时间4 min。

2.2.2 质谱部分

EI源，电子能量：70 eV，离子源温度：250°C，选择离子扫描（SIM），全扫描质量范围40-450u，扫描速度：690u/s，电子倍增器高压：1000V

表 1 三聚氰胺衍生物的选择离子表

组分名称	开始扫描时间 (min)	定性离子 (m/z)	定量离子 (m/z)
三聚氰胺衍生物	5	99 171 327	342

2.3 样品前处理

2.3.1 提取

试样充分混匀，称取2 g（精确至0.01 g）样品于50 mL具塞比色管，加入25 mL1% 三氯乙酸溶液，加入适量乙酸铅，漩涡振荡30 s，超声提取30 min，4000 r/min离心5 min，用1%三氯乙酸定容至刻度。充分混匀后，静置，过滤，滤液待净化。

2.3.2 净化

依次加入3 mL甲醇、3 mL水活化固相萃取柱，准确移取适当体积的待净化滤液上固相萃取柱，控制过柱速度在1 mL/min以内，再依次加入3 mL水和3 mL甲醇淋洗固相萃取柱，

抽近干，用3 mL氨化甲醇溶液洗脱，收集洗脱液于50℃氮气吹干。

2.3.3 衍生化

取上述氮气吹干残留物，加入600 μ L的吡啶和200 μ L衍生化试剂，混匀，70℃反应30 min后，供GC-MS分析检测。

3 结果与讨论

3.1 提取和净化

用三氯乙酸水溶液作为提取液，能够很好的溶解试样中的三聚氰胺；同时采用甲醇氨水溶液作为洗脱液，由于三聚氰胺属于弱碱性化合物，微溶于甲醇，加入氨水后增加了目标物的溶解度，能够较充分的将萃取柱上的三聚氰胺洗脱下来，洗脱效率高，有利于待测物和基质的分离，消除了背景化学噪音的影响。

3.2 衍生化处理

衍生化的作用是将硅烷基引入到三聚氰胺分子中，取代其胺基上的活性氢。降低了三聚氰胺的极性，减少了氢键的束缚，形成的三聚氰胺衍生物沸点降低，更容易挥发。同时衍生化过程中，要注意防潮防湿，衍生试剂对水的敏感性，极易造成衍生试剂的失效，因此需要在浓缩时，尽可能吹干。同时三聚氰胺衍生产物不稳定，易分解，故衍生化后的样品最好尽快上机测试。

3.3 标准物质谱图



图1 三聚氰胺衍生物总离子流图 (1 μ g/mL)

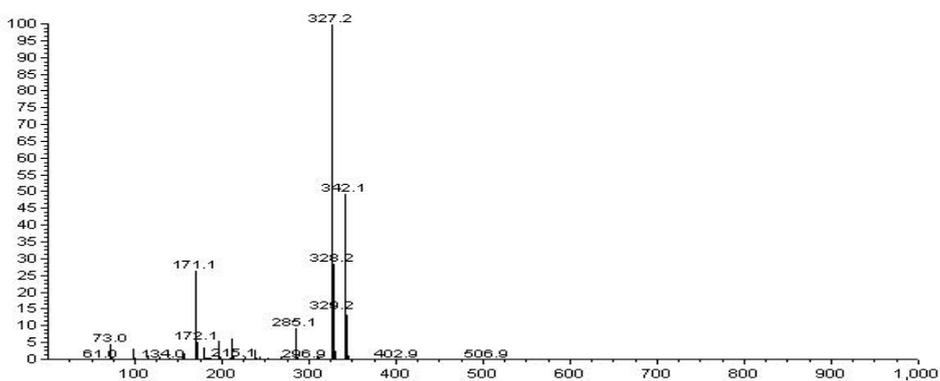


图2 三聚氰胺标样衍生物质谱图

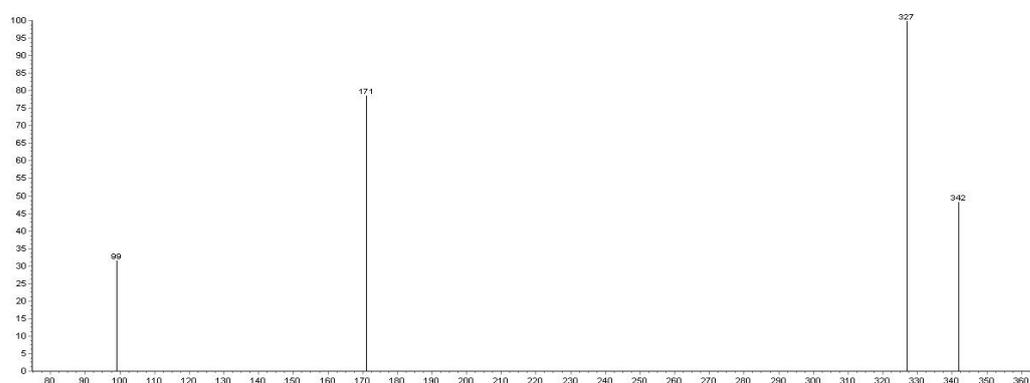


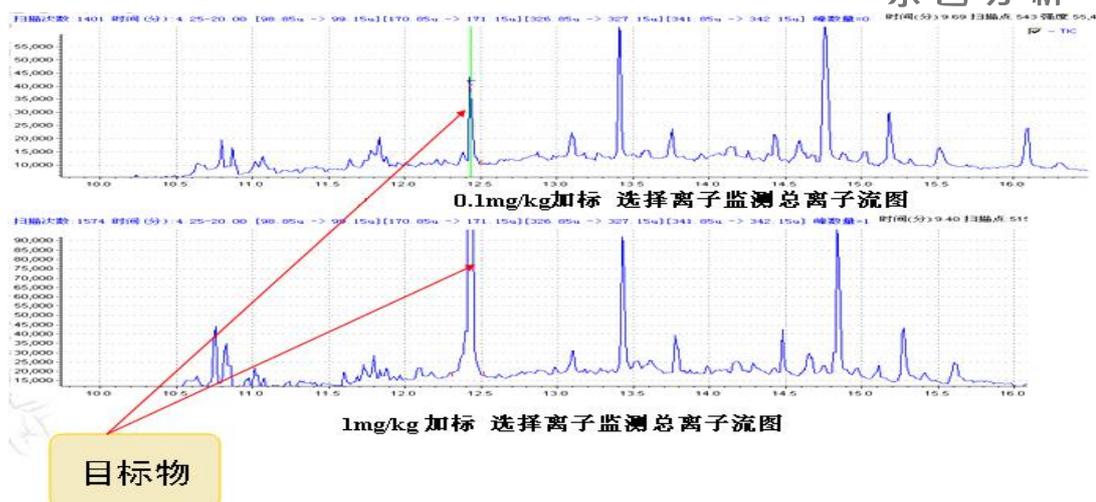
图3 三聚氰胺标样衍生物SIM扫描质谱图

3.4 标准曲线的绘制

准确吸取三聚氰胺标准溶液 ($10\mu\text{g}/\text{mL}$) 0、0.4、0.8、1.6、4、8、16 mL 于7 个 100 mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度。各取1 mL 用氮气吹干,按照2.3.3 步骤衍生化。配制成衍生产物浓度分别为0、0.05、0.1、0.2、0.5、1、2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液。反应液供GC-MS 测定。以标准工作溶液浓度为横坐标,定量离子质量色谱峰面积为纵坐标,绘制标准工作曲线。

3.5 添加回收试验

在空白奶粉中分别添加 0.1mg/kg 、1mg/kg、 10mg/kg 三个浓度水平的标准溶液进行试验,每个浓度水平进行三个平行试验,依照前面的样品处理方法进行提取、萃取和检测,然后计算平均回收率和相对标准偏差。以考察方法的精密度。由表 3 数据可发现,三个浓度水平的回收处于 80-108%之间,且相对标准偏差不超过 6%。说明使用本方法得到的分析数据比较可靠的。添加标准的选择离子扫描谱图见下图。



3.6 线性与精密度

以定量离子峰面积为纵坐标，标准样品浓度为横坐标绘制标准工作曲线，三聚氰胺在测定浓度范围内线性良好 线性回归方程为 $y = 1E+06x - 49273$ 线性相关系数为 0.9993。精密度良好，相对标准偏差 $\leq 6\%$ 。

4 结论

采用国产 GC-MS3100 分析检测乳制品中的三聚氰胺，取得令人比较满意的结果。试样经超声提取、固相萃取净化后，进行硅烷化衍生，有效地去除了基质所带来的干扰。该方法回收率在 80-108%之间，相对标准偏差小于 6%，在 0.05ug/mL ~ 2ug/mL 之间保持良好的线性，相关系数大于 0.999，最低检测限为 0.01mg/kg。本方法满足乳制品及涉乳产品中三聚氰胺检测的国标要求。