

## 摘要

依据《GB/T 22388-2008 原料乳与乳制品中三聚氰胺的检测》建立基于 Fotector-06 固相萃取分析奶粉中三聚氰胺的检测方法，试样用三氯乙酸溶液提取，使用 Fotector-06 进行阳离子交换固相萃取柱净化后，用液相色谱-质谱/质谱法测定和确证，外标法定量，回收率于 87%-97% 之间，RSD=4.7 (n=3)。

## 简介

三聚氰胺 (Melamine) (化学式: C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>N<sub>6</sub>)，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；其中常混合有结构类似的三聚氰酸，在摄入人体进入肾细胞后，三聚氰胺会与三聚氰酸结合形成结晶沉积，从而造成肾结石并堵塞肾小管，并有可能导致肾衰竭。2008 年 6 月震惊全国的“三鹿事件”主要是由于食用了含有大量三聚氰胺的三鹿牌婴幼儿配方奶粉引起的。

我国自“三鹿事件”后对食品中三聚氰胺的残留量进行了严格的控制，Reeko 作为专业的全自动固相萃取，拥有雄厚的技术能力，利用 Fotector-06 全自动固相萃取仪，根据《GB/T 22388-2008 原料乳与乳制品中三聚氰胺的检测》建立三聚氰胺分析方法。

## 仪器与耗材

Reeko Fotector-06 全自动固相萃取仪，液质联用仪 Agilent 1260+Agilent 6410 ESI，氮气吹干装置。

Waters MCX 固相萃取柱 (60mg/3mL)，氨水、三氯乙酸，甲醇、乙腈均为 TEDIA 的色谱纯试剂。三聚氰胺标准样品 1mg/mL。

## 实验方法

称取 1 g (精确至 0.01 g) 试样于 50 mL 具塞塑料离心管中，加入 4mL 1% 的三氯乙酸与 1mL 乙腈，超声 10min 后用 4000r/min 离心 10min，上清液经

三氯乙酸溶液润湿的滤纸过滤后 (或者以高于 10000r/min 速度离心)，重复提取一次，合并提取液，待净化。

将 MCX 固相萃取小柱安装在 Fotector-06 上，按照图 1 程序运行，浓缩至近干后用 1% 甲酸水+1% 甲酸乙腈=50+50 溶液定容至 1mL，供 LC/MS 检测。

No.	操作命令	溶剂	流速 (ml/min)	体积 (mL)	时间 (min)	排出
1	活化	甲醇	2.0	3	1.8	废液1
2	活化	水	2.0	5	3.0	废液2
3	上样		1.0	10	11.0	废液2
4	清洗样品瓶	1%的三氯乙酸	80.0	5	6.1	废液2
5	淋洗	水	2.0	3	1.8	废液2
6	淋洗	甲醇	2.0	3	1.8	废液1
7	干燥				5.0	
8	洗脱	5%氯化甲醇	0.5	6	12.6	收集试管
9	气推		10.0	3	1.0	收集试管
10	结束				44.1	

图 1 Fotector-06 运行程序

## 实验结果与讨论

### 1. 三聚氰胺标准品的 MRM 图谱 (图 2)

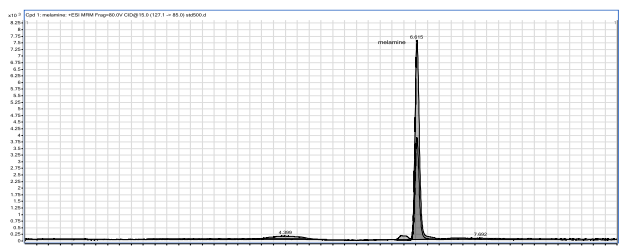


图 2 三聚氰胺标准品的 MRM 图谱 (500ng/mL)

### 2. 在 500ng/mL 的加标水平下，样品经过前处理提取后，用 Fotector-06 净化，使用 R/R<sub>4</sub> (R<sub>4</sub> 基底加标，排除基底效应的影响) 来计算整体回收率，整体回收率在 87%~97% 之间，RSD=4.7 (n=3)，满足标准对回收率的要求，在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值为 10.2%，符合 GB/T 22388-2008 的允许差要求，回收率如表 1 所示。

表 1 加标回收率 (%)

样品	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
检测浓度 (ppb)	505.70	537.85	559.81	575.88
回收率 R/R <sub>4</sub> (%)	87.81	93.40	97.21	100
平均回收	92.81			
RSD	4.7			

- 按照标准，固相萃取整个过程流速不能超过 1mL/min，可以对洗脱流速进行适当的优化，可以适当的节省时间。
- 用三氯乙酸提取进行提取时，用少量 1%三氯乙酸的重复提取一次，可以提高回收率
- Fotector-06 能够自动的完成整个固相萃取流程，从活化到上样，清洗样品瓶，洗脱，浓缩一步到位，省时省事；
- Fotector-06 采用全自动操作，固相萃取过程中可以排除操作带来的误差，能够获得手动固相萃取无法达到的 RSD 水平。

## 结论

利用 Reeko Fotector-06 自动固相萃取系统能够很好的重现《GB/T 22388-2008 原料乳与乳制品中三聚氰胺的检测》，回收率于 87%-97% 之间，RSD=4.7 (n=3)，在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值为 10.2%，符合 GB/T 22388-2008 的允许差要求，符合 GB/T 22388-2008 中对分析结果的质量控制的要求。