

液相色谱串联质谱法 (LC - MS/MS) 分析宠物食品中三聚氰胺

栾 伟

(安捷伦科技(上海)有限公司, 上海 200131)

三聚氰胺 (melamine) 为白色或无色结晶, 通常用于塑料制品中合成树脂的生产中, 高温和酸性条件下能引起三聚氰胺转移到食品中。三嗪类农药环丙氨嗪 (cyanazine) 在极端的 pH 条件下或者光降解的条件下也能生成三聚氰胺。

近来, 不法厂商将三聚氰胺违法添加到宠物食品中导致宠物死亡, 引起广泛的关注。因此, 如何快速准确地分析食品中的三聚氰胺成为食品企业, 食品监管机构和广大民众密切关注的问题。

本文建立了液相色谱 - 串联质谱 (LC - MS/MS) 用于宠物食品中三聚氰胺检测的方法, 并将其与美国食品药品监督管理局 (US FDA) 公布的气相色谱 - 质谱 (GC - MS) 和液相色谱 (LC) 方法进行了对比, 结果发现 LC - MS/MS 的方法, 前处理过程简单, 是一种高灵敏度、高选择性的分析方法。

1 实验部分

1.1 试剂

所有试剂均为色谱纯。三聚氰胺标准品购自美国 Sigma - Aldrich 公司 (纯度 99%), TDFHA (tridecafluorheptanoic acid, 美国 Sigma - Aldrich 公司), 三聚氰胺纯品和实际样品由江苏出入境检验检疫局提供。

1.2 仪器与操作条件

分析系统由美国 Agilent 公司的 1200SL 型快速高分离液相色谱和 6410 型三重四极杆串联质谱组成; 安捷伦 MassHunter 工作站 B. 01.00。

1.2.1 色谱条件 见结果与讨论部分 “2.2” 和 “2.3” 节。

1.2.2 质谱条件 离子源为电喷雾电离 (ESI) 源, 采用正离子检测模式, 干燥气温度为 350, 干燥气流速为 10 L/min, 雾化气压力为 45 psi, 毛细管电压为 4 000 V, 源内裂解电压 120 V, 采用多反应离子监测模式 (MRM), 定量离子对为 127/85, 碰撞池电压为 20V, 定性离子对为 127/68, 碰撞池电压为 35V。

1.3 样品的制备

称取 1 g 样品, 用去离子水定容到 100 mL, 超声提取 30 min, 用 0.20 μm 滤膜过滤, 将滤液用去离子水稀释到合适的浓度。

2 结果与讨论

三重四极杆串联质谱能够进行多反应离子监测, 最大程度上减小基质的干扰, 为目标化合物的分析提供高选择性和高灵敏度的方法。

2.1 质谱条件的优化

在本项目中, 我们首先研究了三聚氰胺的一级质谱, 选择其 $[M + H]^+$ 离子 127 为母离子, 优化的源内裂解电压为 120 V, 然后在碰撞池施加 20 V 的电压, 进行产物离子扫描, 其产物离子质谱见图 1。经过选择的 MRM 离子对为 127/85 和 127/68,

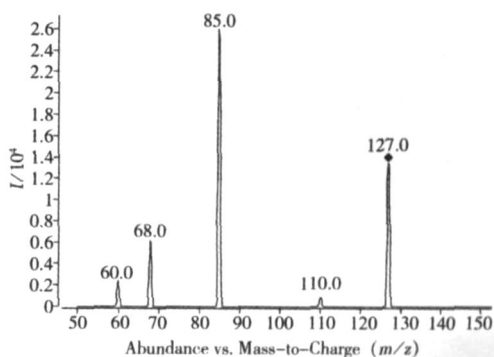


图 1 m/z 127 离子的产物离子扫描质谱图 (碰撞电压: 20 V)

作者简介: 栾 伟 (1982 -), 男, 河南人, Tel: 021 - 50644658, E - mail: wei_luan@agilent.com

在分别对其碰撞电压进行优化, 其中离子对 127/85 的碰撞池电压为 20 V, 离子对 127/68 的碰撞池电压为 35 V。

2.2 色谱条件优化

三聚氰胺为小分子极性化合物, 在反相 C18 色谱柱上基本没有保留, 单纯使用反相色谱的方法时, 三聚氰胺会和基质共流出, 无法进行分析, 我们利用三重四极杆质谱的特点, 直接进行三聚氰胺标准品和实际样品的分析, 得到很好的结果。色谱条件为: Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 RRHT 柱 2.1 mm \times 50 mm, 1.8 μ m, 柱温 40 $^{\circ}$ C, 流动相为 10% 甲醇和 90% 水 (含有 20 mol/L 的乙酸胺, pH 值为 5.1), 流速为 0.2 mL/min, 分析时间为 3 min, 进样体积为 5 μ L。

2.3 反相离子对色谱

本实验还研究了反相离子对色谱 - 液相色谱串联质谱的方法, 通过添加全氟代羧酸 TDFHA, 使得三聚氰胺在反相 C18 色谱柱上得到很好的保留, 其保留时间为 9.0 min。其色谱条件为: Agilent Zorbax Eclipse XDB C18 RRHT 柱 2.1 mm \times 50 mm, 1.8 μ m, 柱温 40 $^{\circ}$ C, 流动相为水 (A) 和甲醇 (B), 均含有 0.5 mol/L 的 TDFHA, 洗脱梯度为 0 min, 5% B; 3 min, 5% B; 6 min, 50% B; 7 min, 50% B; 8 min, 95% B; 12 min, 5% B, 流速为 0.3 mL/min, 分析时间为 12 min, 进样体积为 5 μ L。

对于标准样品没有发现明显的离子抑制效应。对于实际样品, 为了减少样品基体的干扰, 在稀释后的溶液中添加 TDFHA, 添加比率为 50 μ L 250 mol/L TDFHA 到 1 mL 样品中。

3 结 论

本文建立了两种液相色谱串联质谱分析宠物食品中三聚氰胺的方法, 由于三重四极杆的特性, 在基本没有保留情况下, 没有发现基质对于三聚氰胺的干扰, 其灵敏度达到了 50 pg/mL。当使用 TDFHA 作为反相离子对试剂时, 三聚氰胺的保留时间为 9.0 min。

使用本方法, 不需要进行衍生化, 简化了样品处理的步骤, 与气相色谱质谱联用和液相色谱相比, 本方法具有高灵敏度和高选择性的特点, 适合于宠物食品中三聚氰胺的快速筛查和定量分析。

参考文献:

- [1] SANCHO J V, BAN E Z M, GR MALT S, et al [J]. Anal Chim Acta, 2005, 30 (5): 237 - 243.

Rapid Determination of Melamine in Pet Food by LC - MS/MS

LUAN Wei

(Agilent Technologies Shanghai, Shanghai 200131, China)

Abstract: Rapid and sensitive LC - MS/MS method was established to analyze melamine in pet food, comparison was made with USFDA recognized GC - MS and LC methods, it turned out that the current technique is superior with easy sample preparation, the sensitivity and selectivity was found satisfactory.

Key words: Melamine; Pet food; LC - MS/MS