婴幼儿配方乳粉和液态奶中三聚氰胺的测定

根据《企业生产乳制品许可条件审查细则(2010版)》和《企业生产婴幼儿配方乳粉许可条件审查细则(2010版)》征求意见稿中的要求，三聚氰胺是乳制品和婴幼儿配方乳粉中出厂前的必检项目并且要求批批检验。沃特世公司为您提供了全方位的解决方案，包括仪器(ACQUITY UPLC® TUV/TQD系统、ACQUITY UPLC H-Class或Alliance® 系统)， 样品制备(Oasis® MCX 3cc/60mg)，色谱柱(ACQUITY UPLC BEH HILIC或Atlantis® HILIC或XBridge™ BEH HILIC)，方法简单快捷稳定，大大节省了样品分析时间，降低了分析成本，保证了分析检验结果的可靠性，为提高您的品牌效应锦上添花。

婴幼儿配方奶粉和液态奶中三聚氰胺的测定

1. 样品预处理

称取2g(精确至0.01g)试样于50mL具塞塑料离心管中，加入15mL 1%三氯乙酸溶液和5mL乙腈，超声提取10min，再振荡提取10min后，以8000r/min离心10min。取上清液用1%三氯乙酸溶液定容至25mL，移取5mL滤液，加入5mL水混匀后做待净化液。

2. 固相提取过程(Oasis MCX 3cc/60mg)

活化
A 3 ml 甲醇，B 3 ml 水

↓

上样
10mL 样品上清液

↓

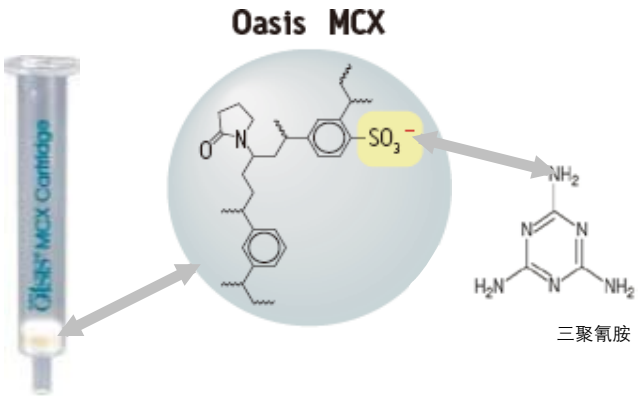
清洗
A 3mL水，B 3mL 甲醇

↓

洗脱
6mL5%氨水甲醇(V/V)

↓

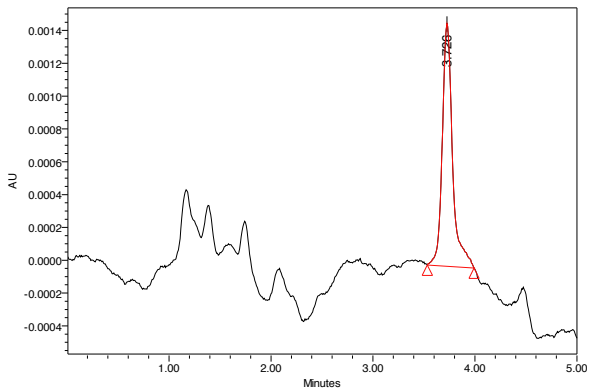
洗脱液于50℃下用N2吹干，残留物用流动相定容至1mL，涡旋混合1min，过0.2 μm微孔滤膜后上机测试



3. 样品分析

A 沃特世Alliance HPLC系统

HPLC:	Waters Alliance HPLC 2695 分离单元
检测器:	Waters 2998 PDA 二极管阵列检测器
色谱柱:	Atlantis HILIC Silica column, 4.6 x150mm,5μm 或XBridge BEH HILIC column, 4.6 x 150mm,5μm
流动相:	10mM 醋酸铵：乙腈=1:4
流速:	1ml/min(等度)
柱温:	30 ℃
进样体积:	10 μL
检测波长:	240 nm



1 PPM三聚氰胺标准样品

B 沃特世ACQUITY UPLC/TUV/TQD质谱系统

色谱条件

仪器： Waters ACQUITY UPLC 超高效液相色谱系统
检测器： Waters UPLC TUV 紫外检测器/TQD串联四极杆质谱
色谱柱： ACQUITY UPLC BEH HILIC 2.1 X 50mm, 1.7 µm
流动相： A 10mM 醋酸铵 B 乙腈
进样体积： 5 µL
检测波长： 240nm
柱温： 35°C
梯度方法：

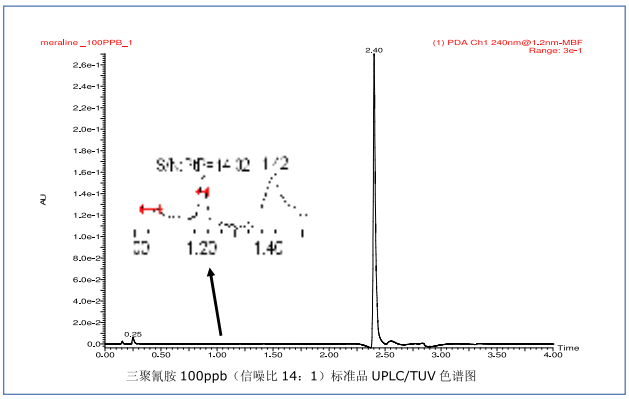
	时间(min)	流速	%A	%B	曲线
1.	0	0.600	5	95	6
2.	0.5	0.600	5	95	6
3.	2.0	0.600	20	80	6
4.	2.5	0.600	50	50	1
5.	4.0	0.600	5	95	1

TQD质谱方法

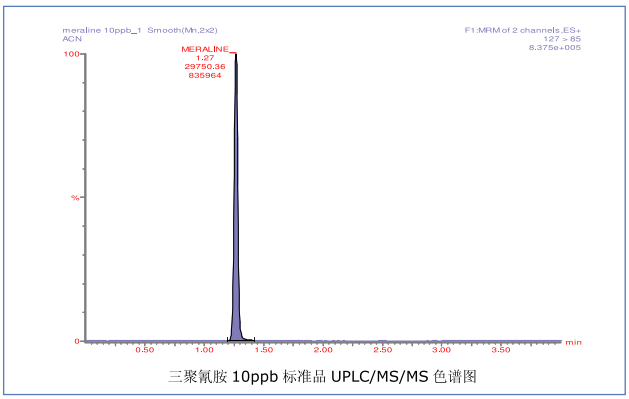
离子化方式：	ESI+
毛细管电压 (kV)：	3.0
脱溶剂气流量 (L/Hr)：	900
锥孔气 (L/Hr)：	50
离子源温度 (°C)：	150
脱溶剂气温度 (°C)：	400

MRM 条件

MRM Transitions	Dwell Time (sec)	Cone Voltage (V)	Collision Energy (eV)
127 › 85	0.05	40	17
127 › 68	0.05	40	25



三聚氰胺 100ppb（信噪比 14：1）标准品 UPLC/TUV 色谱图



三聚氰胺 10ppb 标准品 UPLC/MS/MS 色谱图

4. 溶液配制

三聚氰胺标准储备液：

准确称取100.0 mg (精确到0.1 mg) 三聚氰胺标准品于100mL容量瓶中，用50:50甲醇:水 (体积比) 溶解并定容至刻度，配制成浓度为1 mg/mL的标准储备液，于4°C避光保存。(使用时间为三个月)

三聚氰胺标准工作液：

a) 吸取100 µL标准储备液加入900 µL流动相稀释成100 µg/mL工作溶液，涡旋混匀。
b) 分别吸取20 µL、50 µL、100 µL配制好的100 µg/mL工作溶液，分别加入980 µL、950 µL、900 µL流动相将工作溶液稀释得到的浓度为2、5、10 µg/mL的标准工作溶液，涡旋混匀。
c) 分别吸取50 µL、100 µL配制好的10 µg/mL工作溶液，分别加入950 µL、900 µL流动相将工作溶液稀释得到的浓度为0.5、1 µg/mL的标准工作溶液，涡旋混匀。
d) 配制好的标准工作溶液0.5、1、2、5、10 µg/mL，浓度由低到高进样检测，以峰面积-浓度做图，得到标准曲线回归方程。

1%三氯乙酸溶液：

准确称取10.0g三氯乙酸于1L容量瓶中，用水溶解并定容至刻度，混匀后备用。

5%氨水甲醇溶液：

将氨水 (分析纯，浓度25 %) 和甲醇以5:95的体积比混合 (现用现配)。

10 mM醋酸铵水溶液：

准确称取0.770 g醋酸铵于1L容量瓶中，用水溶解并定容至刻度，混匀后备用，用0.22 µm水性滤膜过滤。

产品订购信息：

HPLC分析

描述	部件号
Atlantis HILIC, 5µm, 4.6 x 150mm	186002032
Atlantis HILIC, 保护柱芯, 5µm, 4.6 x 20mm, 2个/包	186002024
或 XBridge BEH HILIC, 5µm, 4.6 x 150mm	186004453
XBridge BEH HILIC 保护柱芯, 5µm, 4.6 x 20mm, 2个/包	186004449
保护柱套 Sentry Guard Holder Universal	WAT046910
Oasis MCX, 3cc, 60mg	186000254
LC/MS检验合格样品瓶	600000668CV
0.2µm针头式微孔滤膜	WAT200506

ACQUITY UPLC/TUV/TQD质谱分析

描述	部件号
ACQUITY UPLC BEH HILIC, 2.1 x 50mm,1.7µm	186003460
VanGuard 保护柱, ACQUITY UPLC BEH HILIC, 2.1 x 5mm,1.7µm, 3个/包	186003980
Oasis MCX, 3cc, 60mg	186000254
LC/MS检验合格样品瓶	600000668CV
0.2µm针头式微孔滤膜	WAT200506