

DB34

安 徽 省 地 方 标 准

DB 34/T 1375—2011

鸡蛋中三聚氰胺的残留测定 ——气相色谱质谱法

Determination of melamine residues in eggs by GC-MS method

2011 - 03 - 16 发布

2011 - 04 - 16 实施

安徽省质量技术监督局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

本标准由安徽省畜牧兽医局提出。

本标准由安徽省农业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：安徽省兽药饲料监察所(安徽省畜产品质量安全检测中心)。

本标准主要起草人：李琤、许世富、汤春莲、陶小平、丁作坤、陈文帮。

鸡蛋中三聚氰胺的残留测定—气相色谱质谱法

1 范围

本标准规定了鸡蛋中三聚氰胺的残留检测的气相色谱质谱（GC-MS）测定方法。
本标准适用于鸡蛋中三聚氰胺残留的定性定量检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 14699.1 饲料 采样

3 试样制备

按 GB/T 14699.1 抽取有代表性的不少于 500 g 的鸡蛋样品，经过匀浆后装入磨口瓶中在-18℃冰箱保存备用。

4 原理

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质谱扫描模式（SIM），用化合物保留时间和质谱碎片的丰度比定性，外标法定量。

5 试剂和材料

5.1 除非另有说明，本法所用试剂均为分析纯，水为符合 GB/T 6682 规定的二级水。

5.2 吡啶：优级纯。

5.3 乙酸铅。

5.4 衍生化试剂：N, O-双三甲基硅基三氯乙酰胺（BSTFA）+三甲基氯硅烷（TMCS）（99+1），色谱纯。

5.5 乙酸铅溶液：称取 22 g 乙酸铅用水溶解后定容至 1 L。

5.6 甲醇水溶液：准确量取 50 mL 甲醇和 50 mL 水，混匀后备用。

5.7 三氯乙酸溶液：称取 10 g 三氯乙酸，用水溶解并定容至 1 L，备用。

5.8 固相萃取柱（SPE）：混合型阳离子交换固相萃取柱，基质为苯磺酸化的聚苯乙烯-二乙烯基苯高聚物，60 mg/3 mL，或相当者。使用前依次用 3 mL 甲醇、5 mL 水活化。

5.9 氨化甲醇溶液：准确量取 5 mL 氨水和 95 mL 甲醇，混匀后备用。

5.10 微孔滤膜：0.22 μm，有机相。

5.11 氮气：纯度 ≥99.99%。

5.12 三聚氰胺标准品：纯度 ≥99.0%。

5.13 三聚氰胺标准储备液（1 mg/mL）：准确称取 100 mg（精确到 0.1 mg）三聚氰胺标准品，用甲醇水溶液（5.5）溶解并稀释至 100 mL，摇匀，4℃ 保存，有效期 90 d。

5.14 三聚氰胺工作液（10 μg/mL）：准确吸取三聚氰胺标准储备液（5.8）1 mL 于 100 mL 容量瓶中，用甲醇水溶液（5.5）定容至刻度，摇匀，4℃ 保存，有效期 30 d。

5.15 三聚氰胺标准溶液：准确移取三聚氰胺工作液（5.13）适量，分别用甲醇水溶液（5.5）稀释为 0.00、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、2.00 μg/mL 的标准溶液，摇匀，4℃ 保存，有效期 7 d。

6 仪器和设备

6.1 气相色谱-质谱仪（GC-MS）：配有电子轰击电离离子源（EI）。

6.2 电热恒温箱。

6.3 分析天平：感量为 0.0001 g 和 0.01 g。

6.4 离心机：转速不低于 4000 r/min。

6.5 超声波清洗器。

6.6 涡旋混合器。

6.7 氮气吹干仪。

6.8 固相萃取装置。

7 测定步骤

7.1 试样提取

称取匀浆后的鸡蛋 5 g（精确至 0.01 g），于 50 mL 具塞塑料离心管中，加入 25 mL 三氯乙酸溶液（5.6），涡旋振荡 30 s，再加入 15 mL 三氯乙酸溶液（5.6），超声提取 15 min，加入 2 mL 乙酸铅溶液（5.4），用三氯乙酸溶液（5.6）定容至刻度，充分混匀后，转移上层提取液至 50 mL 离心管中，4000 r/min 离心 10 min，备用。

7.2 试样净化

准确移取 7.1 项下上清液 5 mL，至活化好的固相萃取柱（5.7）中，依次用 3 mL 水、3 mL 甲醇淋洗，弃去淋洗液，抽近干后用 3 mL 氨化甲醇溶液（5.8）洗脱，收集洗脱液，50℃ 水浴氮气吹干。

7.3 衍生化

取 7.2 项下氮气吹干残留物，加入 600 μL 的吡啶（5.1）和 200 μL 衍生化试剂（5.3），混匀，70℃ 下反应 30 min 后，放冷后供 GC-MS 法定性定量检测，同时分别取三聚氰胺标准溶液（5.14）800 μL，氮气吹干，做同步衍生。

7.4 气相色谱-质谱测定

7.4.1 GC-MS 参考条件

- 色谱柱：5% 苯基二甲基聚硅氧烷石英毛细管柱，30 m×0.25 mm（i.d.）×0.25 μm，或相当者；
- 流速：10 mL/min；
- 程序升温：70℃ 保持 1 min，以 10℃/min 的速率升温至 200℃，保持 10 min；
- 传输线温度：200℃；

- e) 进样口温度: 250℃;
- f) 进样方式: 不分流进样;
- g) 进样量: 1 μL;
- h) 电离方式: 电子轰击电离 (EI);
- i) 电离能量: 70 eV;
- j) 离子源温度: 230℃;
- k) 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。

7.4.2 定量测定

待测样液中三聚氰胺的响应值应在标准曲线线性范围内, 超过线性范围则应对净化液稀释, 重新衍生化后再进样分析。

7.4.3 定性判定

以标准样品的保留时间和监测离子 (m/z99、171 和 342) 定性, 待测样品中 4 个离子 (m/z99、171、327 和 342) 丰度比与标准品的相对离子丰度比相差不大于 20%。

8 结果计算

按照下式计算试样中各种药物的含量:

$$X = \frac{A \times C_s \times V \times 1000}{A_s \times m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X —— 试样中各种药物的含量, 单位为毫克每千克 (mg/kg);
- A —— 试样溶液对应的色谱峰面积响应值;
- A_s —— 标准溶液对应的色谱峰面积响应值;
- V —— 定容体积, 单位为毫升 (mL);
- C_s —— 标准溶液的浓度, 单位为微克每毫升 (μg/mL);
- m —— 试样质量, 单位为克 (g)。

平行测定结果用算术平均值表示, 结果保留三位有效数字。

9 检测方法灵敏度、准确度、精密度

9.1 灵敏度

本方法在生鲜乳中的检出限为 0.05 mg/kg。

9.2 准确度

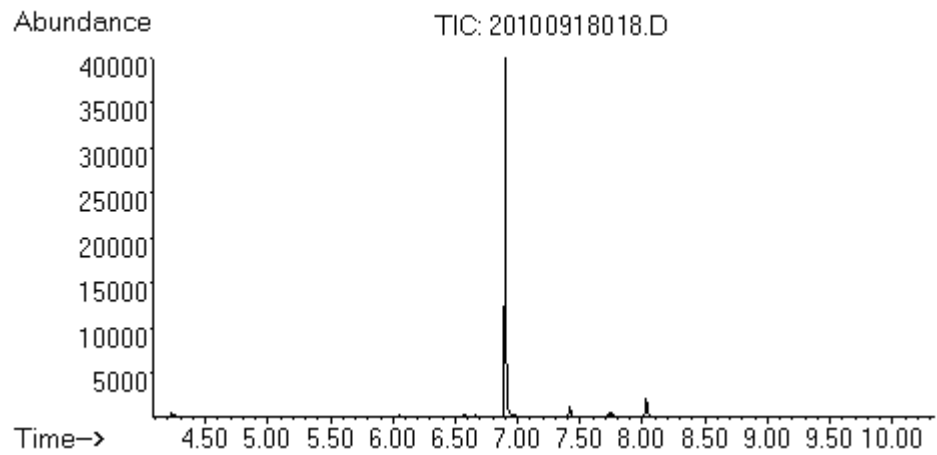
本方法在添加浓度为 0.2 mg/kg 时回收率均为 70%~110%。

9.3 精密度

本方法的批内变异系数 CV%≤10%, 批间变异系数 CV%≤15%。

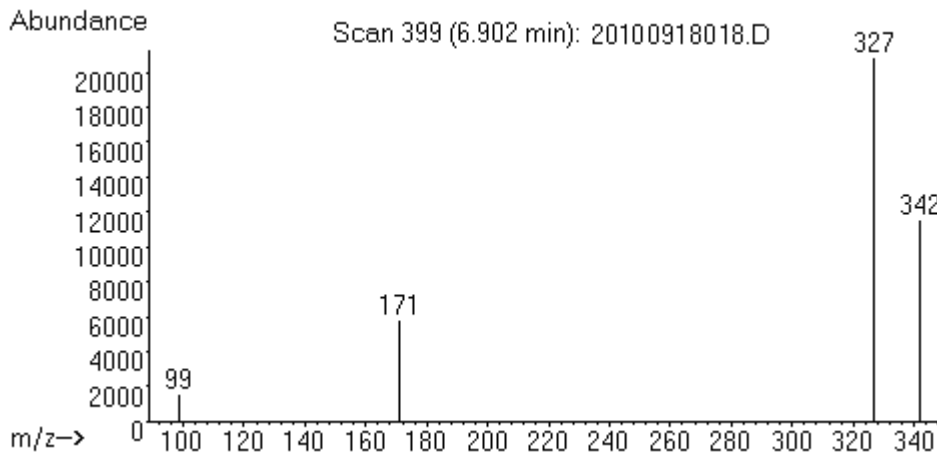
附 录 A
(资料性附录)
色谱图

A. 1 三聚氰胺标准溶液衍生物选择离子色谱图



图A. 1 三聚氰胺标准溶液衍生物选择离子色谱图

A. 2 三聚氰胺标准溶液衍生物选择离子质谱图



图A. 2 三聚氰胺标准溶液衍生物选择离子质谱图

(定性离子: m/z99、171、327 和 342)