

基于气相色谱-质谱联用技术的三聚氰胺衍生化分析方法研究

盛 开, 刘俊亭, 王声祥

(中国医科大学药学院, 辽宁 沈阳 110001)

Research on Analytical Method for Melamine Derivatization Based on Gas Chromatography-Mass Spectrometry

SHENG Kai, LIU Jun-ting, WANG Sheng-xiang

(College of Pharmacy, China Medical University, Shenyang 110001, China)

Abstract: Recently, at the global level occurred in the animal feed or added to infant formula milk powder of melamine, resulting in the baby and pets suffering from kidney stones or events, which result that the problem of melamine cause for concerns. Melamine in samples with GC/MS derivatization method and application of different reagents for the derivatization reaction of melamine derivative methods were mentioned in this paper. Different derivatization reagents for derivatizations of the reaction of melamine are mad, and the merits and demerits of these methods to be summarized.

Key words: melamine; derivatization

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2009) 增刊-0172-02

三聚氰胺 (melamine) 是三嗪类含氮杂环有机化合物, 重要的氮杂环有机化工原料, 因奶制品或者宠物饲料被添加三聚氰胺以提高蛋白质含量引起全社会关注。本研究采用 3 种衍生化试剂 (BSTFA、五氟丙酸酐、七氟丁酰氯) 通过硅烷化、烷基化反应和酰基化反应, 分别对所生成的衍生化产物进行系统研究, 解析若干个未知化合物, 对其衍生化产物的化学稳定性进行了系统筛查。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

GC/MS-QP2010 气相色谱-质谱联用仪: 日本岛津公司产品; 浓缩挥发装置。三聚氰胺标准品, 2-氨基-4, 6-二氯嘧啶 (CAS:56-05-3) 作为内标。衍生化试剂: BSTFA+TMCS, 99:1, 五氟丙酸酐, 七氟丁酰氯。

1.2 样品前处理

取 5 g 奶粉样品于锥形瓶中, 加入 25 mL 三氯乙酸溶液 (1%) 混匀, 超声提取加入乙酸铅溶液 ($22 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) 混匀, 取上层提取液于阳离子交换固相萃取柱中, 分别用水甲醇淋洗, 弃淋洗液, 近干后用 3 mL 氨化甲醇 (5%) 洗脱, 收集洗脱液, 氮气吹干。取上述氮气吹干残留物, 加入 20 μL 衍生化试剂和 20 μL 吡啶, 微波衍生化, 每次 3 min, 重复 3 次, 冷却至室温, 氮气吹去衍生化试剂, 加入 50 μL 乙酸乙酯, 供 GC/MS 分析。

作者简介: 盛 开 (1984~), 女, 辽宁沈阳人, 硕士研究生, 从事药物毒物分析研究。

通信作者: 刘俊亭, 男, 教授。E-mail: liujunting8@163.com

1.3 分析条件

Rtx-5 毛细管色谱柱 (聚二甲基硅氧烷), 膜厚为 $10\text{ m} \times 0.18\text{ mm} \times 0.2\text{ }\mu\text{m}$; 流速 $1.01\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 柱温程序: 柱初始温度 $60\text{ }^\circ\text{C}$, 保持 1 min , 以 $15\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 $270\text{ }^\circ\text{C}$, 保持 8 min ; 进样口 $250\text{ }^\circ\text{C}$ 。不分流, 进样 $1\text{ }\mu\text{L}$; 获得的质谱数据用美国 NIST 谱库检索。

2 结果与讨论

2.1 BSTFA 衍生化

以 BSTFA 作为衍生化试剂进行衍生化反应, 三聚氰胺生成了 3 种衍生化产物。3 种取代物都具有一定的线性关系, 但是三取代物的线性关系优于一取代物和二取代物, 因此建议以三取代物的标准曲线进行定量计算。

表 1 三聚氰胺经 BSTFA 衍生化试剂生成衍生化物的概况

| 衍生化产物 | 保留时间/min | 特征离子/ (m/z) | 2005 年 NIST 谱库 |
|-------|----------|---------------------------|----------------|
| 一取代物 | 8.442 | 198, <u>183</u> , 141, 99 | 无对应结构 |
| 二取代物 | 9.258 | 270, <u>255</u> , 171, 99 | 无对应结构 |
| 三取代物 | 10.017 | 342, <u>327</u> , 171, 99 | 无对应结构 |

注: 带下划线的离子用来定量, 定量离子均为基峰, 以下同

2.2 五氟丙酸酐衍生化

以 PFPA (五氟丙酸酐) 作为衍生化试剂进行衍生化反应, 三聚氰胺生成了 2 种衍生化产物。2 种取代物都具有一定的线性关系, 但是一取代物的线性关系优于二取代物, 在对样品的定量计算上能更加准确, 因此建议以五氟丙酸酐为衍生化试剂, 实验以一取代物的标准曲线进行定量。

表 2 三聚氰胺经 PFPA 衍生化试剂生成衍生化物的概况

| 衍生化产物 | 保留时间/min | 特征离子/ (m/z) | 2005 年 NIST 谱库 |
|-------|----------|-----------------------|----------------|
| 一取代物 | 8.676 | 272, <u>153</u> , 119 | 无对应结构 |
| 二取代物 | 9.008 | 418, <u>299</u> , 119 | 无对应结构 |

2.3 七氟丁酰氯衍生化

七氟丁酰氯微波衍生化反应产物并不单一, 分别为三聚氰胺的中 1 个氨基上的氢被取代和 2 个氨基上的氢全部被取代。2 种取代物都具有一定的线性关系, 但是一取代物的线性关系良好, 优于二取代物, 在对样品的定量计算上能更加准确, 因此建议以七氟丁酰氯作为衍生化试剂, 实验以一取代物的标准曲线进行定量计算较好。

表 3 三聚氰胺经七氟丁酰氯衍生化试剂实验生成衍生化物的概况

| 衍生化产物 | 保留时间/min | 特征离子/ (m/z) | 2005 年 NIST 谱库 |
|-------|----------|-----------------------|----------------|
| 一取代物 | 8.942 | 322, 169, <u>153</u> | 无对应结构 |
| 二取代物 | 9.292 | 518, <u>349</u> , 169 | 无对应结构 |

3 结论

本工作应用 GC/MS 测定样品 (奶粉) 中三聚氰胺成分, 并应用多种衍生化试剂对三聚氰胺进行衍生化, 衍生化产物的结构在所应用的美国 NIST 检索谱库中均没有对应结构。本实验丰富了质谱数据库的数据, 对三聚氰胺不同衍生化产物的定量效果进行筛查, 为相关实验提供了宝贵经验。