

目录

(DB 31/2010—2012)火锅底料中罂粟碱类物质的残留量测.....	2
奶粉中香兰素的测定.....	7
不同基质中 16 种邻苯二甲酸酯类检测系统解决方案.....	11
植物油中 16 种邻苯二甲酸酯类化合物的测定(SPE-GC/MS 法)*.....	19
白酒中 16 种邻苯二甲酸酯类物质检测整体解决方案 (GC/MS 法、HPLC 法)*.....	25
婴幼儿奶粉中双氰胺的检测 HPLC-UV 法和 LC-MS/MS 法.....	29
鸡蛋中三聚氰胺的检测 (HPLC 法).....	36
食品中苏丹红染料的检测(HPLC 法)——升级版方法.....	41
食品中甲醛的测定 HPLC 法.....	46
食品中苏丹红染料的检测 Cleanert® Sudan 专用柱, 升级方法.....	50
花生油中 16 种邻苯二甲酸酯的分析方法.....	55
辣椒油中罗丹明 B 的分析方法.....	62
鸭血中苏丹红的分析方法.....	66
婴幼儿奶粉中双氰胺的分析方法.....	70
乳制品中 L-羟脯氨酸的测定方法学验证—2,4-二硝基氟苯法.....	77
辣椒油中罗丹明 B 的检测方法高效液相色谱法.....	84
(GB/T 22388-2008)原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法.....	86

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

(DB 31/2010—2012)火锅底料中罂粟碱类物质的残留量测

案例来源：博纳艾杰尔；应用编号：CU1005

事件背景

2016年1月晚，据新华网报道，近期国家食品药品监督管理总局在组织开展打击食品违法添加执法行动中，发现35家餐饮服务单位经营的食物中含有罂粟碱、吗啡、可待因、那可丁、蒂巴因等罂粟壳成分，存在涉嫌违法添加行为。

罂粟壳俗称大烟，罂粟科植物罂粟的干燥果壳，含有吗啡、可待因、罂粟碱、那可丁、蒂巴因等20多种活性生物碱。这些生物碱具有一定的药用价值，但其副作用亦不可低估。罂粟壳的生物碱能使人体产生快感，处于一种特殊的愉悦状态，并逐渐产生依赖性进而成瘾。不法分子正是利用这一点招揽回头客，在食品中非法掺入罂粟壳或其粉碎物、浸提物，诱发食客上瘾，具有潜在的吸食毒品的倾向，社会危害很大。

博纳艾杰尔早在2014年已经将成熟的“食品中罂粟壳生物碱成分残留量的测定(LC-MS/MS法)”方法编纂入《食品安全解决方案》，以供探讨。考虑到食品中香料成分的多样性，而且这些香料也有可能给罂粟壳残留成分的检测带来干扰。文中采用QuChERS-HPLC法建立一种快速、灵敏、特异的检测方法定量测定罂粟壳的生物碱成分。

1.样品提取

称取2g试样(精确至0.01g)于50mL聚四氟乙烯具塞离心管中，加入5mL水，混匀，加入15mL乙腈提取，再加入MS-MG5052提取管中提取，振荡1min后放入离心机中，离心1min(5000r/min)，取出后待净化。

2.净化

2.1 乙二胺-N-丙基硅烷(PSA)净化法

用1mL微量移液器将上述的上清液1mL移入MS-PA0252净化管中，涡旋混合器涡旋1min，以5000r/min离心1min，移取上清液于进样小瓶中。

2.2 C18小柱净化法

吸取上述的上清液通过C18小柱，收集适量洗脱液至进样器小瓶中。在实际操作时，根据样品中色素的含量选择不同的净化方式，每一净化方法对应各自的基质空白和加样样品。

3.检测条件

3.1 液相色谱条件

色谱柱：Venusil HILIC 色谱柱 2.1mm×100mm，3μm

流动相：A：0.1%甲酸乙腈；

B：100mmol/L甲酸铵水溶液-乙腈(体积比为1:1，以甲酸调节pH为3.0)

流动相按表1进行梯度洗脱；流速：0.3mL/min；进样体积：1μL。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



表 1 流动相的梯度洗脱程序(%)

时间(min)	流动相 A	流动相 B
0.00~0.30	90	10
0.31~2.50	80	20
2.51~5.00	90	10

3.2 质谱条件

经过对毛细管出口去簇电压(DP)、碰撞池能量(CE)等质谱参数的优化,最终确定吗啡、可待因、罂粟碱、那可丁、蒂巴因质谱条件,见表 2。

表 2 吗啡、可待因、罂粟碱、那可丁、蒂巴因检测的质谱参数

			定量离子		定性离子	
生物碱	去簇电压(V)	母离子相对分子质量	相对分子质量	碰撞能量(V)	相对分子质量	碰撞能量(V)
那可丁	95	414.4	220.5	30	353.3	34
罂粟碱	92	340.4	202.2	38	171.1	49
蒂巴因	52	312.3	58.3	38	249.1	22
可待因	90	300.4	215.2	34	165.4	55
吗啡	97	286	181.3	50	165.3	50

4. 结果:

图 1 从上至下分别为:重庆鸡公褒酱样品中吗啡、罂粟碱、蒂巴因、可待因、那可丁的 LC-MS-MS-MRM 色谱图。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

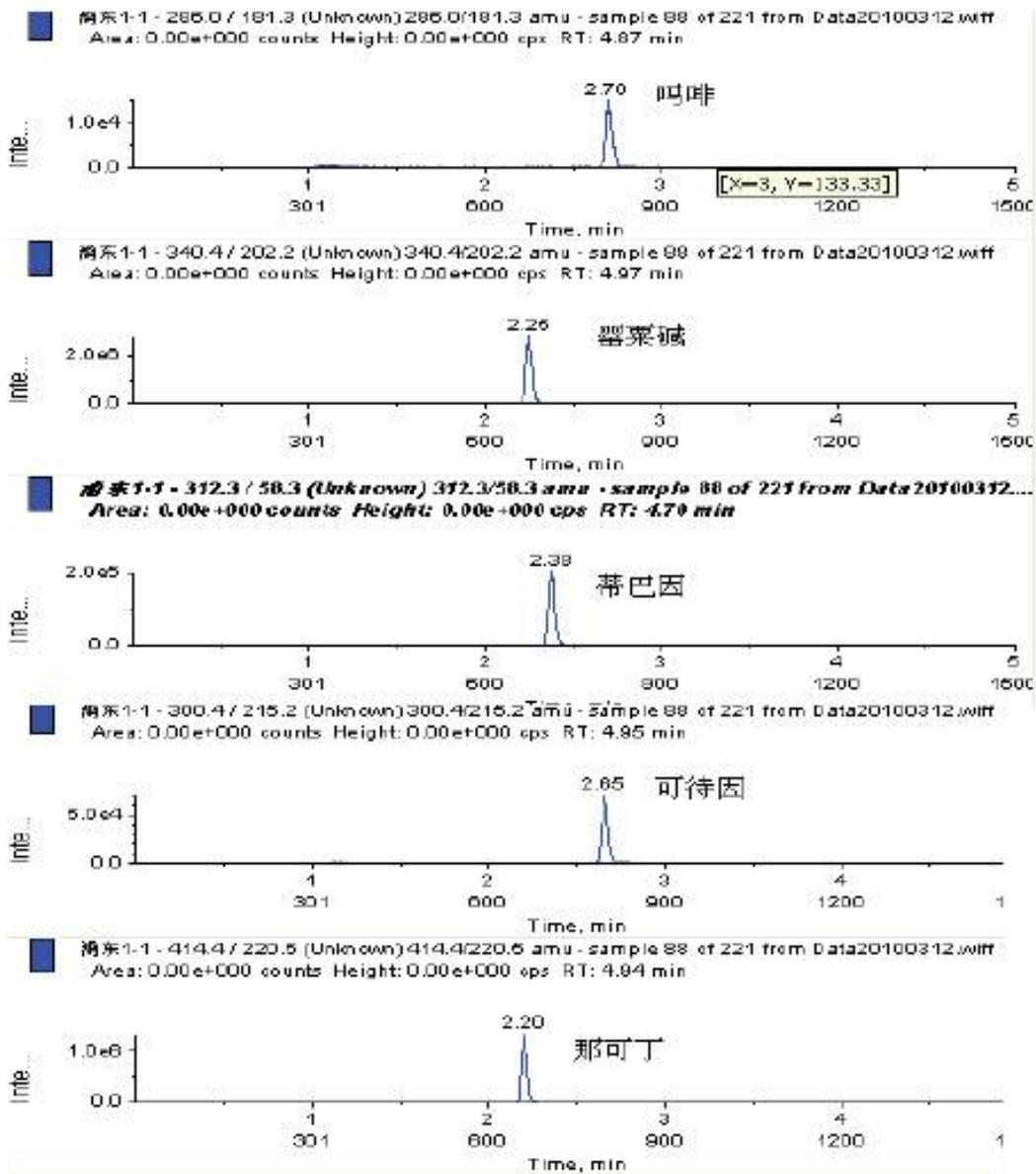
邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



4.1 线性范围、回归方程和检出限

表 3 5 种罂粟壳生物碱成分 LC-MS/MS 法的线性范围、回归方程和检出限

生物碱	线性范围 (ng/mL)	回归方程	相关系数	检出限 (ng/mL)
吗啡	1~20	$y=1.61 \times 10^3x + 431$	0.9999	1.3
磷酸可待因	1~20	$y=4.75 \times 10^3x + 0.409$	0.9999	1.3

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

盐酸罂粟碱	1~20	$y=1.18 \times 105x + 1.17 \times 105$	0.9982	0.7
那可丁	1~20	$y=3.44 \times 104x + 1.17 \times 104$	0.9992	0.7
蒂巴因	1~20	$y=6.68 \times 104x + 3.82 \times 104$	0.9992	1.3

由表 3 可见, 在 1~20 ng/mL 范围内, 吗啡、可待因、罂粟碱、那可丁、蒂巴因在线性关系良好, $r > 0.999$, 检出限分别为 1.3 ng/mL、1.3 ng/mL、0.7 ng/mL、0.7 ng/mL、1.3 ng/mL。

4.2 加标回收试验

向沙茶酱(未检出吗啡、可待因、罂粟碱、那可丁、蒂巴因)中分别加入低(20 $\mu\text{g/kg}$)、中(50 $\mu\text{g/kg}$)、高(100 $\mu\text{g/kg}$)水平的吗啡、可待因、罂粟碱、那可丁、蒂巴因标准品进行加标回收试验, 结果见表 4。

表 4 火锅食品中的罂粟壳生物碱成分残留 LC-MS/MS 法的加标回收试验(n=6)

生物碱	低水平加		中水平加		高水平加标	
	平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
吗啡	75.6	1.6	80.6	2.3	78.8	1.2
可待因	78.2	2.1	76.6	1.5	76.9	2.3
罂粟碱	89.3	1	95.7	0.8	90.6	0.5
那可丁	80.5	1.3	73.1	1	76.8	1.9
蒂巴因	76.8	0.7	81.9	1.1	83.3	1.3

表 4 可见, 该方法的平均回收率为 73.1%~95.7%, RSD 为 0.5%~2.3%。

5. 相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST10130*	吗啡	Morphine	57-27-2
1ST10087	可待因	Codeine	76-57-3
1ST10304*	罂粟碱	papaverine	58-74-2
1ST10431	那可丁	Narcotine	128-62-1
1ST40061	蒂巴因	Thebaine	115-37-7

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

6. 订货信息

订货号	产品名称	规格包装
MS-MG5052	样品提取管(50mL)	50 支/pk
MS-PA0252	样品净化管(2mL)	50 支/pk
VH931002-0	Venusil HILIC 色谱柱	2.1 mm×100 mm, 3 μm
AS021320	针式过滤器(Nylon)	0.22 μm,直径 13 mm,200/pk
ZSQ-5ML	一次性无针头注射器	5 mL, 100/pk
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写 32×11.6 mm, 100/pk
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫,45. Shore A 1.0 mm,100/pk
AH015-4	乙腈	4×4 L/箱

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

奶粉中香兰素的测定

案例来源: 博纳艾杰尔; 应用编号: AF10021

参考方法

博纳艾杰尔内部方法。

香兰素亦称香草素、香草醛等, 学名为 3-甲氧基-4-羟基苯甲醛, 根据欧盟专家委员会 2000 年 2 月 24 日报道, 大剂量可导致头痛, 恶心, 呕吐, 呼吸困难, 甚至损伤肝肾功能。

限量标准

中华人民共和国国家标准《食品添加剂使用标准》(GB2760-2011) 规定, 较大婴儿和幼儿配方食品中香兰素最大使用量为 5mg / 100mL, 其中 100 mL 以即食食品计, 生产企业应按照冲调比例折算成配方食品中的使用量; 婴幼儿谷类辅助食品中可以使用香兰素, 最大使用量为 7 mg / 100g, 其中 100 g 以即食食品计; 凡使用范围涵盖 0 至 6 个月婴幼儿配方食品不得添加任何食用香料。国家标准中只规定了限值, 未有检测方法。本实验使用天津博纳艾杰尔科技有限公司的 Cleanert® PAX 固相萃取小柱和 Venusil® XBP C18(L) 液相色谱柱, 建立了一种奶粉中香兰素的检测方法, 经实验验证, 该方法简单、快速、准确度高。

实验材料

水(pH=4.5): 取 100 mL 水, 用乙酸调节 pH 至 4.5;

2% 乙酸铅溶液: 称取乙酸铅 2 g, 加水稀释并定容至 100 mL;

5% 氨水溶液: 取氨水溶液 5 mL, 加水稀释并定容至 100 mL;

5% 酸化甲醇: 取甲酸 5 mL, 加甲醇 95 mL 混匀;

香兰素储备液(1mg / mL): 准确称取香兰素标准 10 mg, 加水稀释并定容至 10 mL;

固相萃取柱: Cleanert® PAX (规格为 60mg / 3mL), 使用前分别用 3 mL 甲醇和 3 mL 水活化;

液相色谱柱: Venusil® XBP C18(L) 5 μm, 150 Å, 4.6×150 mm;

针式过滤器: 亲水型 PTFE (0.45 μm, 13 mm)。

LC-10F 高效液相色谱系统;

Qdaura® 卓睿全自动固相萃取仪;

高速离心机 (转子 50 mL×6);

氮吹仪;

12 位固相萃取装置。

实验步骤

准确称取奶粉试样 1 g(精确至 0.01 g)于 50 mL 离心管中, 加入 pH=4.5 的水溶液 5 mL, 混匀超声提取 5 min, 加 2% 乙酸铅溶液 2 mL, 混匀后静置 2 min, 8000 r/min 离心 10min;

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



取上清液用 5% 氨水溶液调节 pH 至中性；将上清液全部加样至活化好的 Cleanert® PAX 小柱，然后分别用 3 mL 5% 氨水溶液和 3 mL 甲醇淋洗小柱，弃去淋洗液；用 3 mL 5% 酸化甲醇洗脱(以上固相萃取操作通过 Qdaura®卓睿全自动固相萃取仪完成)，收集洗脱液于 30°C 下氮气吹干，用 1mL 流动相重新溶解，过滤，待测。

色谱条件

色谱柱：Venusil® XBP C18(L)，5 μm，150 Å，4.6×150 mm；
流动相：A (0.02 mol/L 的磷酸二氢钾溶液，磷酸调节 pH=4.0):B (乙腈) = 90:10；
流速：1.0 mL/min；进样量：20 μL；
波长：276 nm；柱温：30°C。

实验结果及谱图

量取一定量香兰素标准储备液，分别用水稀释至 1 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、25 μg/mL 和 50 μg/mL，按照 4 检测条件依次进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，拟合标准曲线方程，结果见表 1；表 2，3 为回收率结果实验。

表 1 香兰素标准曲线和检出限

标准曲线方程	相关系数	检出限(S/N>3)
Y=86.443X+36.907	0.9998	1μg/g

表 2. 5 μg/g 添加回收实验结果

回收率	平行 1	平行 2	平行 3	平均回收率	RSD
	89.03%	94.30%	90.67%	91.33%	2.70%

表 3. 25 μg/g 添加回收实验结果

回收率	平行 1	平行 2	平行 3	平均回收率	RSD
	85.08%	87.85%	83.59%	85.51%	2.16%

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室
邮编：300457
电话：(0086) 22-6537-8550
QQ: 2850791073
邮箱：sales@altascientific.com
网址：www.altascientific.com.cn

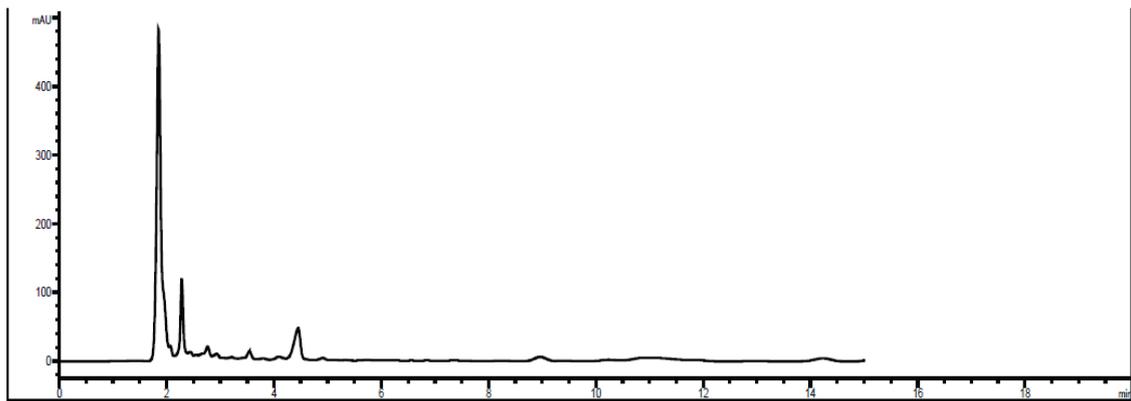


图 1 奶粉空白谱图

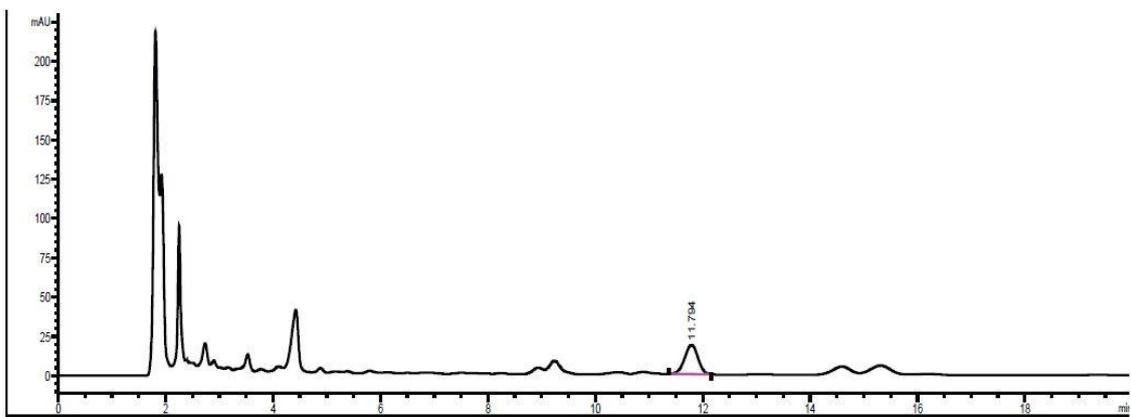


图 2. 5 µg/g 添加谱图

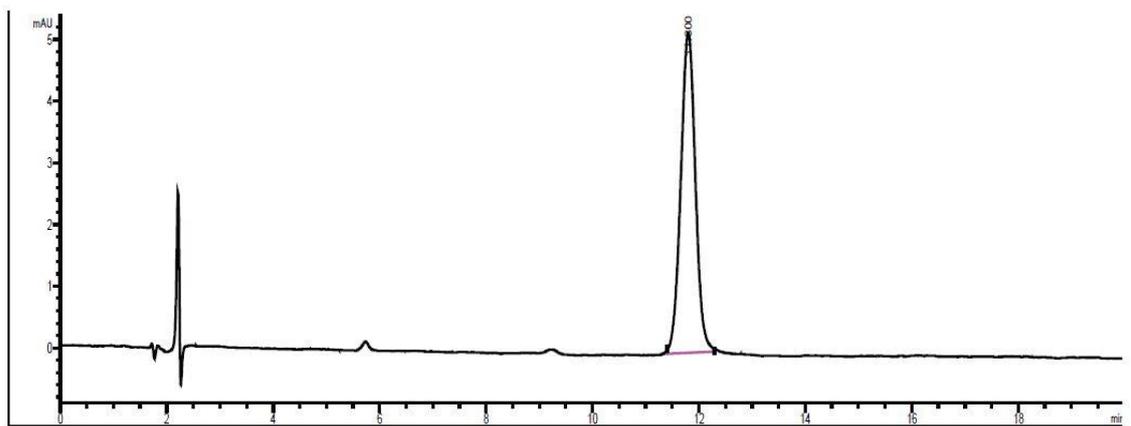


图 3. 1 µg/g 标准溶液谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST3337	香兰素(香草醛)	Vanillin	121-33-5

订货信息

订货号	名称	规格
FL-LC010	分析型高效液相色谱仪	10 mL/min, 等度系统,
CC-100-T	分析型色谱柱温箱	200-400 nm 双波长检测器
SPE-40	Qdaura® 卓睿全自动固相萃取仪	4 通道 24 位连续处理
AH230-4	甲醇	色谱纯, 4×4 L/箱
AH015-4	乙腈	色谱纯, 4×4 L/箱
AX0603	Cleanert® PAX 固相色谱柱	60 mg / 3 mL, 50 支/盒
VX951505-L	Venusil® XBP C18(L) 液相色谱柱	5 μm, 150 Å, 4.6×150 mm
VX950105-L	保护柱芯	4.6×10 mm, 4/pk
CH-100	保护柱套	适用于 4.6×10 mm 的保护柱芯
As081345	针式过滤器	PTFE(亲水), 0.45 μm, 13 mm, 200/pk
LZSQ-2ML	一次性注射器	2 mL 无针头, 两件式, 100 支/pk
AM3100	溶剂过滤器	1 L
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹, 透明, 带书写处, 100/pk
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	预组装: 9 mm 中心孔, 螺纹盖; 红色
1509-1657	12 样品瓶	PTFE 隔垫, 100/pk
1515-1748	12 mL 样品瓶盖	透明, 螺纹口, 100/pk
AM015045	微孔滤膜 (MCM)	预组装: 15 mm 黑色实心盖; 红色丁
AM025045	微孔滤膜 (Nylon)	隔垫, 100/pk
TGL-10B	离心机	50 mm, 0.45 μm, 100 片/pk
NV15-G	氮吹仪	50 mm, 0.45 μm, 100 片/pk
VM12	真空固相萃取缸	最大转速 10000 r/min
A81213	流速调节阀	15 位
A80100	穿板导流针	12 位
A01003	无油隔膜真空泵	12 个/包

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

不同基质中 16 种邻苯二甲酸酯类检测系统解决方案

案例来源：博纳艾杰尔；应用编号：MF10012

一、 样品前处理方法

1. 水性样品 (水、饮料、果汁等)

固相萃取柱：Cleanert® DEHP 玻璃柱，500 mg / 6 mL，(P/N: DEHP5006)

1.1 样品处理

此类样品包括瓶装纯净水、矿泉水、茶、果汁和功能饮料等；液体样品可直接上样；某些可水溶解的固体样品可以先制成水溶液，然后全部作为待处理液，如无脂糖果。

1.2 固相萃取法

净化活化：5 mL 乙酸乙酯、5 mL 甲醇、5 mL 水

上样：10 mL 水性样品

淋洗：5 mL 5% 甲醇水，真空抽干 20 min。

洗脱：加入 2 mL 甲醇浸泡柱床约 1 min，再用 10 mL 乙酸乙酯进行洗脱。

检测：将洗脱液用氮气吹干后，以 1 mL 甲醇定容，然后用液相色谱法检测。

备注：此法多适用于配套液相色谱检测，当样品中邻苯二甲酸酯类的含量较低时，需要采用固相萃取富集才能检测的情况。一般来说，对于此类样品，可以采用正己烷液液萃取的办法，用 GC/MS (灵敏度较高)直接检测。

注：所使用乙酸乙酯必须是农残级。

2. 白酒

固相萃取材料：Cleanert® DEHP 玻璃柱，500mg / 6mL (P/N: DEHP5006)

2.1 样品制备

将白酒用去离子水稀释，使其中的乙醇的含量为 5%，作为上样液；取 1 mL 甲醇加入 19 mL 去离子水，混匀，得到 5% 甲醇-水溶液，作为淋洗液。

2.2 净化

用玻璃移液管分别取 5 mL 乙酸乙酯、5 mL 甲醇，5 mL 水，在重力状态下依次过柱；用玻璃移液管取 100 mL 上样液加到小柱上；用玻璃移液管取 5 mL 5% 甲醇-水溶液淋洗固相萃取柱；淋洗结束之后，开启真空泵抽 20 min，抽干之后，加入 2 mL 甲醇浸泡柱床约 1 min；用 10 mL 乙酸乙酯洗脱固相萃取柱，收集洗脱液。将洗脱液于 35°C 氮吹至干，用 1 mL 甲醇定容，将溶液转移至样品瓶中，进行 GC/MS 或 HPLC 检测。

注：所使用乙酸乙酯必须是农残级。

3. 乳品及乳制品饮料等含蛋白基质样品

固相萃取材料：Cleanert® MAS-PAE，40 mL 玻璃散装填料 (P/N: MS-PAE40)

纯牛奶样品：

样品净化：向玻璃离心管中加入 2 mL 样品，然后加入 4 mL 乙腈：甲基叔丁基醚 (9:1, V/V)，将离心管涡旋 2 min，最后加入 Cleanert® MAS-PAE 填料，再将离心管涡旋振荡 2 min 后，

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

以 7000 rpm/min 的转速离心 5 min, 取上清液, 以邻苯二甲酸酯检测专用针式过滤器过滤后, 待检。

酸奶样品:

样品净化: 向玻璃离心管中加入 1 mL 酸奶和 1 mL 去离子水, 混匀, 然后加入 4 mL 乙腈: 甲基叔丁基醚 (9:1, V/V), 将离心管涡旋 2 min, 最后加入 Cleanert® MAS-PAE 填料, 再将离心管涡旋振荡 2 min 后, 以 7000 rpm/min 的转速离心 5 min, 取上清液, 以邻苯二甲酸酯检测专用针式过滤器过滤后, 待检。

4. 低脂固态样品

如奶粉、饼干、果冻、糖果等, 使用固相萃取材料: Cleanert® MAS-PAE, 40 mL 玻璃散装填料 (P/N: MSPAE40) 取 1 g 已制成粉末状的样品, 2 mL 水, 加入到 Cleanert® MAS-PAE 离心管中, 然后加入 4 mL 乙腈: 甲基叔丁基醚 (9:1, V/V), 将离心管涡旋 2 min, 最后加入 Cleanert® MAS-PAE 料, 再将离心管涡旋振荡 2 min 后, 以 7000 r/m 的转速离心 5 min, 移取全部上清液至带刻度离心管中, 用乙腈: 甲基叔丁基醚 (9:1, V/V) 将溶液定容为 5 mL, 以 PAEs 专用过滤头过滤后, 待检测。

5. 酱油

固相萃取材料: Cleanert® MAS-PAE-C, 40 mL 玻璃散装填料 (P/N: MS-PAE40-C)

样品净化:

向玻璃离心管中加入 2 mL 样品, 然后加入 4 mL 乙腈: 甲基叔丁基醚 (9:1, V/V), 将离心管涡旋 2 min, 最后加入 Cleanert® MAS-PAE-C 填料, 再将离心管涡旋振荡 2 min 后, 以 4000 rpm 的转速离心 5 min, 取上清液, 以邻苯二甲酸酯检测专用针式过滤器过滤后, 待检。

6. 油性样品

方法一: 内部方法

固相萃取柱: Cleanert® PAE-G 玻璃柱, 3 g/6 mL (P/N: PAE30006-G)

(1) 样品制备

用万分之一天平称取 0.1 g 油, 置于玻璃离心管中, 然后加入 3 mL 乙腈, 涡旋 2 min, 超声 2 min, 以 4000 rpm 离心 2 min, 将上清液转移至另一玻璃管中, 在 40°C 下以氮气吹干, 加入 2 mL 正己烷, 轻轻振荡摇匀, 作为待净化液。

(2) 固相萃取方法

活化: 5 mL 正己烷

上样: 将待净化液全部加到固相萃取柱中

淋洗: 用 10 mL 1% 乙酸乙酯的正己烷

洗脱: 用 5 mL 50% 乙酸乙酯的正己烷

收集洗脱液, 在 40°C 下以氮气吹干, 加入 1 mL 乙腈, 涡旋 1 min, 超声 1 min, 以 4000 rpm 离心 2 min, 取上清液进 GC/MS 检测。

注: 所使用乙酸乙酯必须是农残级。

方法二、SN/T 3147-2012

固相萃取柱: Cleanert® PSA 玻璃柱, 1g / 6mL (P/N: PA00006-G)

(1) 样品制备

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



称取 1.0 g 样品于玻璃离心管中, 加入 2 mL 正己烷和 10 mL 乙腈, 涡旋 2 min, 以 4000 r/m 离心 2 min, 转移下层清液转移至另一样品瓶中, 以 10 mL 乙腈重复提取样品一次, 合并提取液, 40°C 氮气吹至近干, 加入 2 mL 正己烷复溶作为待净化液。

(2) 净化

活化: 将 Cleanert® PSA 玻璃固相萃取柱用 5 mL 丙酮、5 mL 正己烷活化

上样: 将待净化液全部加到固相萃取柱中;

洗脱: 用 5 mL 正己烷, 然后用 5 mL 4% 丙酮—正己烷溶剂洗脱, 合并洗脱液收集洗脱液, 在 40°C 下以氮气吹干, 加入 1 mL 乙腈溶解, 进 HPLC 检测。

7. 复杂基质样品 (如方便面填料包)

固相萃取柱: Cleanert® PAE-C 玻璃柱, 1g / 6 mL (P/N: PAE30006-C)

7.1 样品制备

用万分之一天平取 0.5 g 调料, 置于玻璃样品瓶中, 加入 3 mL 乙腈/甲基叔丁基醚 (9:1, v/v), 涡旋 2 min, 超声 2 min, 以 4000 r/m 离心 2 min, 将上清液转移至另一干净样品瓶中, 往装调料的样品瓶中再加入 3 mL 乙腈/甲基叔丁基醚 (9:1, v/v), 涡旋 2 min, 超声 2 min, 以 4000 r/m 离心 2 min, 将上清液合并, 于 40°C 氮气吹干, 加入 1 mL 正己烷, 摇匀, 作为待净化液。

7.2 样品净化

活化: 5 mL 正己烷

上样: 全部待净化液

淋洗: 10 mL 1% 乙酸乙酯/正己烷 (v/v)

洗脱: 5 mL 乙酸乙酯: 正己烷 (50:50, v/v)

将洗脱液于 40°C 下氮气吹干, 加入 1 mL 乙腈, 涡旋混合 1 min, 超声 1 min, 4000 r/m 离心 3 min, 转移上清液至进样样品瓶中, 待检测。

注: 所使用乙酸乙酯必须是农残级。

8. 保健品 (粉末状样品)

固相萃取材料: Cleanert® MAS-PAE, 40 mL ;

玻璃散装填料 (P/N: MS-PAE40);

用万分之一天平取样品 0.5 g, 置于 12 mL 玻璃样品瓶中, 加入 4 mL 乙腈/甲基叔丁基醚 (9:1, v/v), 涡旋 2 min, 加入 Cleanert MAS-PAE 填料, 涡旋 2 min, 超声 2 min, 以 7000 r/m 离心 5 min, 用 PAEs 专用滤头过滤上清液, 待检测。

9. 保健品 (胶囊等样品)

固相萃取材料: Cleanert® MAS-PAE-C, 40 mL;

玻璃散装填料 (P/N: MS-PAE40-C);

以内装液体的胶囊为例, 用干净针将胶囊挑破, 将胶囊中的液体挤出, 用万分之一天平称取样品 0.1 g, 置于 12 mL 玻璃样品瓶中, 加入 4 mL 乙腈/甲基叔丁基醚 (9:1, v/v), 涡旋 2 min, 加入 Cleanert MAS-PAE-C 填料, 涡旋 2 min, 超声 2 min, 以 7000 r/m 离心 5 min, 用 PAEs 专用滤头过滤上清液, 待检测。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

二、检测方法

1. 高效液相色谱法

色谱条件

色谱柱: Venusil® XBP C18-L , 4.6×250 mm, 5 μm, 150Å (P/N: VX952505-L);

流动相: A 相-水, B 相-甲醇:乙腈 = 50:50 (v/v)

流速: 1.0 mL/min;

波长: 242 nm 进样量: 5 μL (样品浓度 100 ppm), 50 μL (样品浓度 10 ppm);

溶 剂: 正己烷/流动相 A + 流动相 B (40+60);

柱 温: 30°C

梯度洗脱: 见表 1

表 1. 液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	A/%	B/%
0	60	40
2	50	50
10	40	60
12	30	70
20	30	70
31	0	100
40	0	100
40.01	60	40

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

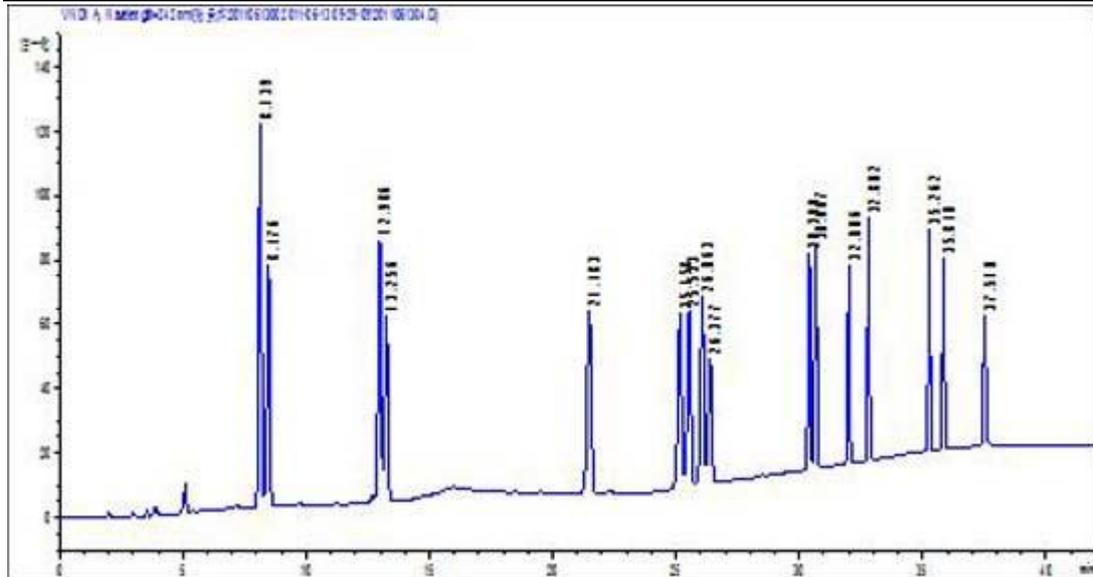


图 1.16 种邻苯二甲酸酯类标准品 HPLC 色谱图(样品浓度为 25 ppm)

(邻苯二甲酸二甲酯 DMP, 邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯 DMEP, 邻苯二甲酸二乙氧基乙基酯 DEEP, 邻苯二甲酸二乙酯 DEP, 邻苯二甲酸二苯酯, 邻苯二甲酸丁苄酯 BBP, 邻苯二甲酸二异丁酯 DIBP, 邻苯二甲酸二正丁酯 DBP, 邻苯二甲酸二丁氧基乙酯 DBEP, 邻苯二甲酸二戊酯 DPP, 邻苯二甲酸二环己酯 DCHP, 邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯 BMPP, 邻苯二甲酸二己酯 DHXP, 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 DEHP, 邻苯二甲酸二辛酯 DNOP, 邻苯二甲酸二壬酯 DNP)

2. 气相色谱质谱法

2.1 气相色谱条件

色谱柱: DA-5MS, 30 m×0.25 mm×0.25 μm;

进样口: 250°C, 不分流进样; 进样量: 1 μL;

程序升温: 50°C (1 min) 20°C/min 220°C (1 min) 5°C/min 280°C (4 min); 流速: 1 mL/min

2.2 质谱条件

接口温度: 280°C; 电离方式: EI; 电离能量: 70 eV; 溶剂延迟: 7 min; 监测方式: SIM 模式, 监测离子见表 2。

表 2.16 种邻苯二甲酸酯类化合物定量离子及定性离子

编号	保留时间/min	中文名称	英文缩写	SIM 离子	辅助定性离子
1	8.258	邻苯二甲酸二甲酯	DMP	163、77	77
2	9.128	邻苯二甲酸二乙酯	DEP	149、177	177
3	10.889	邻苯二甲酸二异丁酯	DIBP	149、223	223

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



4	11.637	邻苯二甲酸二丁酯	DBP	149、223	223
5	11.97	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	DMEP	59、149、193	149、193
6	12.728	邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯	BMPP	149、251	251
7	13.051	邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯	DEEP	45、72	72
8	13.418	邻苯二甲酸二戊酯	DPP	149、237	237
9	15.568	邻苯二甲酸二己酯	DHXP	104、149、76	104、76
10	15.726	邻苯二甲酸丁基苄基酯	BBP	149、91	91
11	17.169	邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	DBEP	149、223	223
12	17.843	邻苯二甲酸二环己酯	DCHP	149、167	167
13	18.073	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	DEHP	149、167	167
14	18.207	邻苯二甲酸二苯酯	—	225、77	77
15	20.481	邻苯二甲酸二正辛酯	DNOP	149、279	279
16	23.023	邻苯二甲酸二壬酯	DNP	57、149、71	57、71

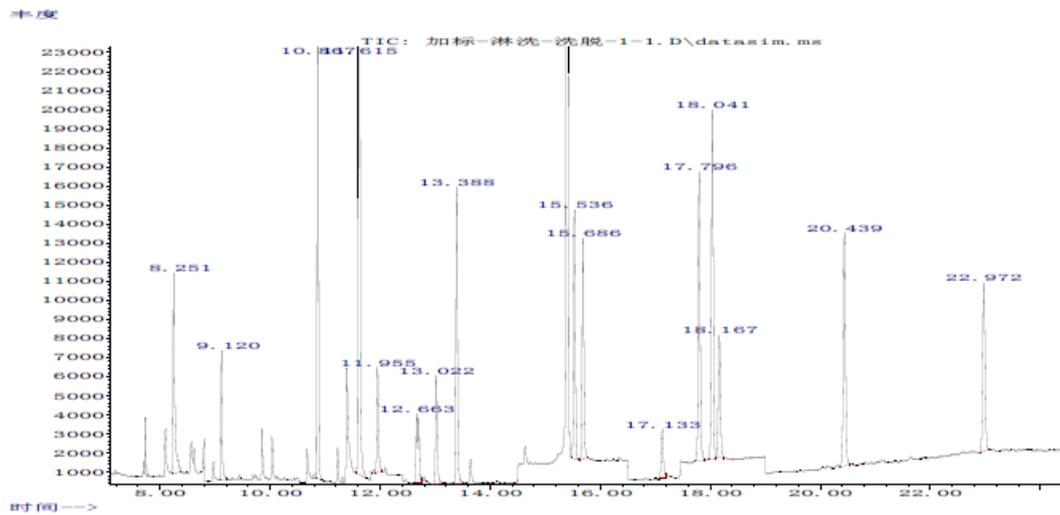


图 1.16 种邻苯二甲酸酯类标准品 HPLC 色谱图 (样品浓度为 25 ppm)

(邻苯二甲酸二甲酯 DMP, 邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯 DMEP, 邻苯二甲酸二乙氧基乙基酯 DEEP, 邻苯二甲酸二乙酯 DEP, 邻苯二甲酸二苯酯, 邻苯二甲酸丁苄基酯 BBP, 邻苯二甲酸二异丁酯 DIBP, 邻苯二甲酸二正丁酯 DBP, 邻苯二甲酸二丁氧基乙酯 DBEP, 邻苯二甲酸二戊酯 DPP, 邻苯二甲酸二环己

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

酯 DCHP, 邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯 BMPP, 邻苯二甲酸二己酯 DHXP, 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 DEHP, 邻苯二甲酸二辛酯 DNOP, 邻苯二甲酸二壬酯 DNP)

三、相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST1116	邻苯二甲酸二甲酯	Dimethyl phthalate	131-11-3
1ST1118	邻苯二甲酸二乙酯(DEP)	Diethyl phthalate	84-66-2
1ST1119	邻苯二甲酸二异丁酯(DIBP)	Diisobutyl phthalate	84-69-5
1ST1114	邻苯二甲酸二丁酯	Di-n-butyl phthalate	84-74-2
1ST1122	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	Bis(2-methoxyethyl) phthalate	117-82-8
1ST1124	邻苯二甲酸双(4-甲基-2-戊)酯	Bis(4-methyl-2-pentyl) Phthalate	146-50-9
1ST1123	邻苯二甲酸双(2-乙氧基乙)酯	Bis(2-ethoxyethyl) phthalate	605-54-9
1ST1117	邻苯二甲酸二戊酯(DPP)	Di-n-pentyl phthalate	131-18-0
1ST1120	邻苯二甲酸二正己酯(DNHP)	Di-n-hexyl phthalate	84-75-3
1ST1111	邻苯二甲酸丁基苄基酯	Benzyl n-butyl phthalate	85-68-7
1ST1113	邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	Bis(2-butoxyethyl) phthalate	117-83-9
1ST1115	邻苯二甲酸二环己酯	Dicyclohexyl phthalate	84-61-7
1ST1125	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	117-81-7
1ST1112	邻苯二甲酸二苯酯	Diphenyl phthalate	84-62-8
1ST1121	邻苯二甲酸二正辛酯	Di-n-octyl phthalate	117-84-0
1ST1126	邻苯二甲酸二壬酯	Di-n-nonyl phthalate	84-76-4

四、订货信息

产品名称	订货号	说明	规格	包装 (支/ 盒)	价格 (元)
Cleanert® PAE 增塑剂 系列专用柱	DEHP5006	用于水、饮料等样品	500 mg/6 mL	30	1140
	MS-PAE40	乳品及乳制品饮料等	40 mL 玻璃样品瓶	15	300
	MS-PAE40-C	酱油等复杂水性样品	40 mL 玻璃样品瓶	15	390
	PAE30006-G	油性样品	3 g/6 mL	30	1200

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



	PAE30006-C	复杂油性样品如方便面调料包、火锅底料等	3 g/6 mL	30	1440
	PA0006-G	适用于 SN/T 3147-2012	1 g/6 mL	30	1380
邻苯二甲酸酯检测专用针式过滤器	—	适用于增塑剂类	定制	—	询价
乙酸乙酯	100-4	农残级	4 L/瓶	4×4 L/箱	1600

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

植物油中 16 种邻苯二甲酸酯类化合物的测定(SPE-GC/MS 法)*

案例来源：博纳艾杰尔

1. 样品提取

用万分之一天平取 0.1 g 食用植物油，置于玻璃样品瓶中，加入 3 mL 乙腈，涡旋 2 min，超声 2 min，以 4000 r/m 离心 2 min，将上清液转移至另一干净样品瓶中，于 40°C 氮气吹干，加入 1 mL 正己烷，摇匀，作为待净化液。

2. 固相萃取净化

固相萃取操作在玻璃固相萃取装置上进行，在重力状态下操作，过程如下：

活化：用 5 mL 正己烷活化 Cleanert® PAE 柱；

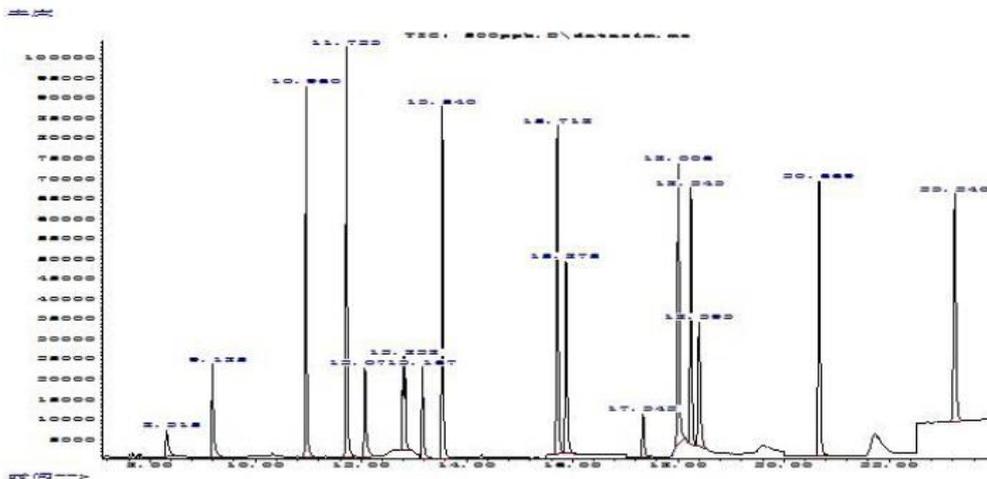
上样：将待净化液全部上样；

淋洗：10 mL 乙酸乙酯(进口农残级)/正己烷(1:99,v/v)；

洗脱：5 mL 乙酸乙酯(进口农残级)/正己烷(1:1,v/v)；

将洗脱液于 40°C 下氮气吹干，加入 1 mL 乙腈，涡旋混合 1 min，超声 1 min，4000 r/m 离心 2 min，取上清液进 GC/MS 测定。

图 1. 16 种邻苯二甲酸酯类化合物选择离子色谱图 (500ppb)



出峰顺序依次为：邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、邻苯二甲酸二乙酯(DEP)、邻苯二甲酸二异丁酯(DIBP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯(DMEP)、邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯(BMPP)、邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯(DEEP)、邻苯二甲酸二戊酯

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



(DPP)、邻苯二甲酸二己酯(DHXP)、邻苯二甲酸丁基苄基酯(BBP)、邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯(DBEP)、邻苯二甲酸二环己酯(DCHP)、邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)、邻苯二甲酸二苯酯、邻苯二甲酸二正辛酯(DNOP)、邻苯二甲酸二壬酯(DNP)

3 加标回收率、精密度及色谱图

从市场上购置食用油 A, 取 5 份样品, 向其中加入一定量的标准品, 按照上述样品处理方法平行处理 5 份样品, 同时处理两份空白油样, 回收率及方法精密度见表 1, 所得色谱图见图 2-5。

图 2 溶剂空白色谱图(按照上述样品净化方法操作, 收集洗脱液浓缩定容后进样)

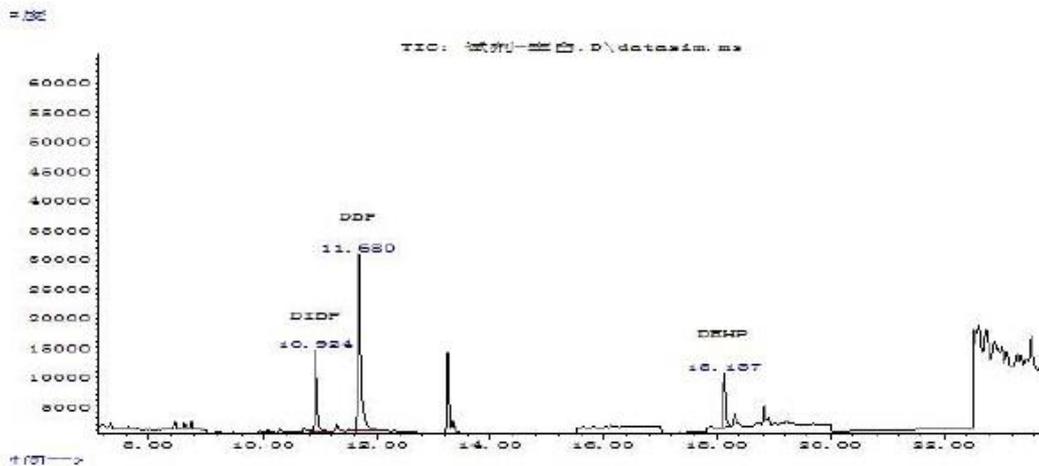
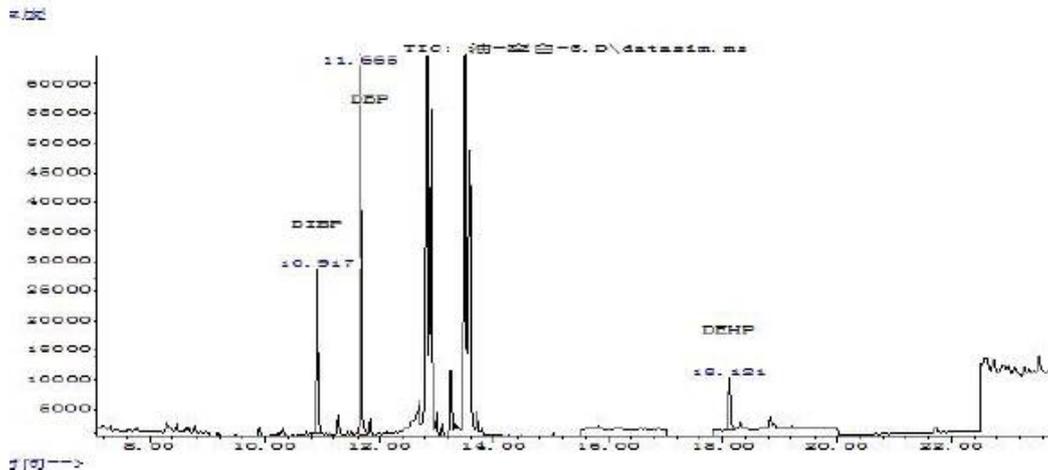


图 3 食用油 A 空白色谱图



天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

图 4 食用油 A 中加标色谱图(最后定容浓度为 100ppb)

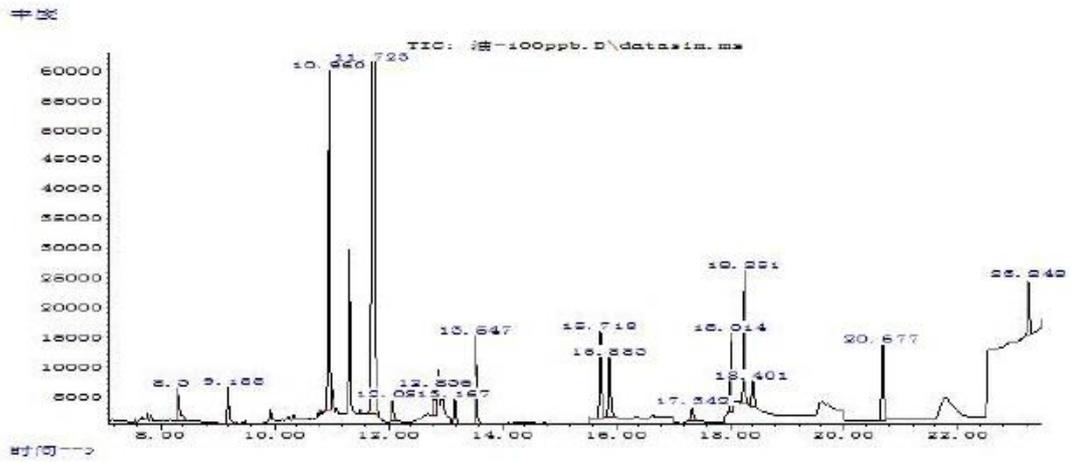


图 5 食用油 A 中加标色谱图(最后定容浓度为 500ppb)

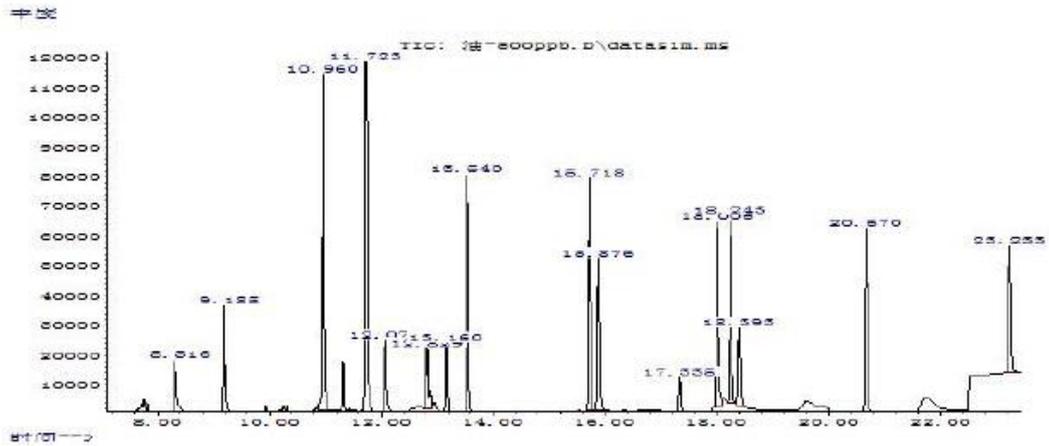


表 1 食用油 A 中 16 种邻苯二甲酸酯类化合物的添加回收率及精密度

峰号	化合物	简称	保留时间	加标浓度 100ppb		加标浓度 500ppb	
				平均回收率	RSD(n=5)	平均回收率	RSD(n=5)
1	邻苯二甲酸二甲酯	DMP	8.315	150.35%	15.19%	165.61%	3.72%
2	邻苯二甲酸二乙酯	DEP	9.185	141.48%	15.09%	109.62%	2.99%

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



3	邻苯二甲酸二异丁酯	DIBP	10.96	121.48%	8.11%	70.87%	6.94%
4	邻苯二甲酸二丁酯	DBP	11.723	80.13%	15.75%	91.53%	5.75%
5	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	DMEP	12.073	111.25%	10.09%	98.52%	5.55%
6	邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯	BMPP	12.828	102.90%	8.50%	82.96%	3.85%
7	邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯	DEEP	13.167	104.08%	7.08%	95.11%	3.73%
8	邻苯二甲酸二戊酯	DPP	13.54	92.05%	6.62%	88.51%	4.17%
9	邻苯二甲酸二己酯	DHXP	15.718	91.04%	5.48%	89.17%	4.95%
10	邻苯二甲酸丁基苄基酯	BBP	15.875	100.67%	5.69%	97.01%	5.20%
11	邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	DBEP	17.342	89.50%	5.72%	96.64%	5.34%
12	邻苯二甲酸二环己酯	DCHP	18.006	84.37%	6.96%	88.87%	5.52%
13	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	DEHP	18.243	79.39%	5.31%	80.02%	8.67%
14	邻苯二甲酸二苯酯	—	18.393	70.02%	9.31%	66.12%	3.96%
15	邻苯二甲酸二正辛酯	DNOP	20.669	79.56%	7.48%	82.41%	5.88%
16	邻苯二甲酸二壬酯	DNP	23.24	77.41%	13.90%	74.98%	5.95%

说明：由于邻苯二甲酸二异丁酯、邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯是常见的增塑剂，在溶剂、油脂中会有些残留，容易在检测时造成它们的回收率和 RSD 不理想。建议计算时扣除空白。表 1 的数据是扣除了空白油样的测量值得到的结果。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

4. 实际样品测试结果

另从市场上购买了某品牌的食用油 B，按照前述方法进行测试，结果如下

图 6. 某品牌食用油 B 测试邻苯二甲酸酯色谱图

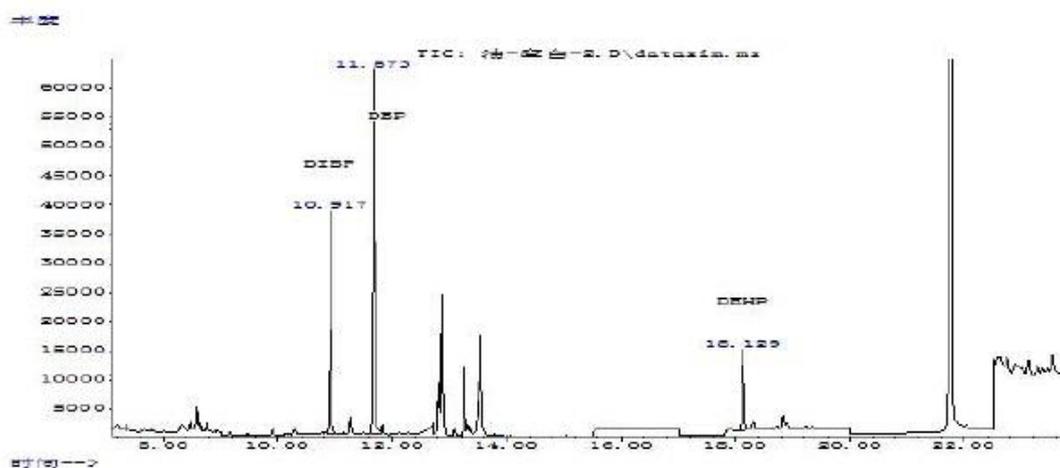


表 2. 食用油 A、B 中邻苯二甲酸酯含量

峰号	化合物	简称	含量(ppb)	
			A	B
1	邻苯二甲酸二异丁酯	DIBP	25.27	54.79
2	邻苯二甲酸二丁酯	DBP	59.53	25.68
3	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	DEHP	0	30.52

5. 结论

利用 Cleanert PAE 固相萃取柱和 GC/MS，可以建立对油脂中 16 种邻苯二甲酸酯的检测方法，方法具有较好的回收率和重现性。需要注意的是，在实验操作过程中，不可以使用塑料制品来接触样品或者溶剂，同时一定要事先考察溶剂空白。

6. 相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST1116	邻苯二甲酸二甲酯	Dimethyl phthalate	131-11-3
1ST1118	邻苯二甲酸二乙酯(DEP)	Diethyl phthalate	84-66-2
1ST1119	邻苯二甲酸二异丁酯(DIBP)	Diisobutyl phthalate	84-69-5

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

1ST1114	邻苯二甲酸二丁酯	Di-n-butyl phthalate	84-74-2
1ST1122	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	Bis(2-methoxyethyl) phthalate	117-82-8
1ST1124	邻苯二甲酸双(4-甲基-2-戊)酯	Bis(4-methyl-2-pentyl) Phthalate	146-50-9
1ST1123	邻苯二甲酸双(2-乙氧基)乙酯	Bis(2-ethoxyethyl) phthalate	605-54-9
1ST1117	邻苯二甲酸二戊酯(DPP)	Di-n-pentyl phthalate	131-18-0
1ST1120	邻苯二甲酸二正己酯(DNHP)	Di-n-hexyl phthalate	84-75-3
1ST1111	邻苯二甲酸丁基苄基酯	Benzyl n-butyl phthalate	85-68-7
1ST1113	邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	Bis(2-butoxyethyl) phthalate	117-83-9
1ST1115	邻苯二甲酸二环己酯	Dicyclohexyl phthalate	84-61-7
1ST1125	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	117-81-7
1ST1112	邻苯二甲酸二苯酯	Diphenyl phthalate	84-62-8
1ST1121	邻苯二甲酸二正辛酯	Di-n-octyl phthalate	117-84-0
1ST1126	邻苯二甲酸二壬酯	Di-n-nonyl phthalate	84-76-4

7. 订货信息

订货号	产品名称	规格包装
116767-01	邻苯二甲酸酯 16 种混标	1000 µg/mL(正己烷), 1 mL/pk
PAE30006-G	Cleanert PAE 净化柱(高脂样品)	3 g/6 mL, 30/PK
1525-3002	DA-5MS 气相色谱柱	30 m×0.25 mm×0.25 µm
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写 32×11.6 mm, 100/pk
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫, 45. Shore A 1.0 mm, 100/pk
AH015-4	乙腈	4×4 L/箱
AH100-4	乙酸乙酯	4×4 L/箱
AH216-4	正己烷	4×4 L/箱

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



白酒中 16 种邻苯二甲酸酯类物质检测整体解决方案 (GC/MS 法、HPLC 法)*

案例来源：博纳艾杰尔

1 样品制备

- 将白酒用去离子水稀释，使其中的乙醇的含量为 5%。例如：某种白酒含酒精 52%，那么取 9.6 mL 白酒，用去离子水稀释定容至 100mL，即可得 5% 的酒精含量的样品液。
- 取 1 mL 甲醇加入 19 mL 去离子水，混匀，得到 5% 甲醇水溶液，为淋洗液。

2 固相萃取柱净化

SPE 柱：Cleanert DEHP 玻璃固相萃取柱

活化：用玻璃移液管分别取 5 mL 乙酸乙酯、5 mL 甲醇，5 mL 水，在重力状态下依次过柱；

上样：用玻璃移液管取 100 mL 样品液加到柱上；

淋洗：用玻璃移液管取 5 mL 5% 甲醇/水溶液淋洗固相萃取柱。淋洗结束之后，开启真空泵，抽 20 min，抽干之后，加入 2 mL 甲醇浸泡柱床约 1 min；

洗脱：用 10 mL 乙酸乙酯洗脱固相萃取柱，收集洗脱液。

将洗脱液分别于 35°C 氮吹至干，用 1 mL 甲醇定容，将溶液转移至进样样品瓶，进行 GC/MS 或 HPLC 检测，检测方法请参见上篇。

注意事项：实验过程中，试剂及容器必须为玻璃，尽量避免接触塑料制品。甲醇必须是进口色谱纯，乙酸乙酯必须是进口农残级。

3 实验结果及结果分析

取 2 份 10 mL 含 5% 酒精的白酒样品溶液，各加入 1 ppm 邻苯二甲酸酯类混标 100 μ L，按照上述方法进行的操作和 GC/MS 检测，得到的色谱图见图 1，回收率数据见表 1。

3.1 实验谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街 80 号天大科技园 C5 楼 405 室

邮编：300457

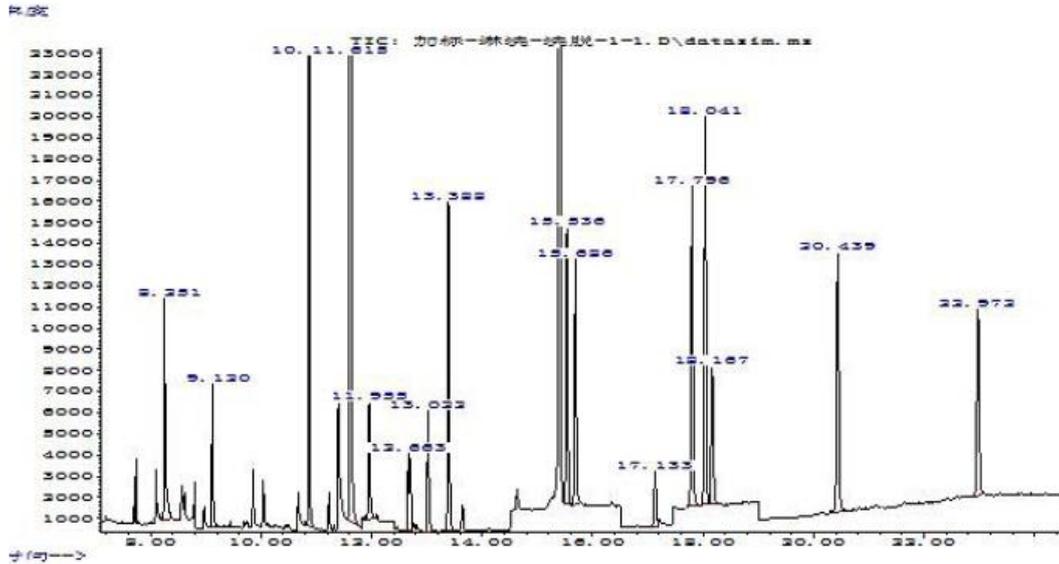
电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

图 1 加标样品气相色谱图(定容浓度为 100 ppb)



3.2 实验数据

取 2 份 10 mL 含 5%酒精的白酒样品溶液, 各加入 1 ppm 邻苯二甲酸酯类混标 100 μ L, 按照上述方法进行的操作和 GC/MS 检测, 得到的色谱图见图 1, 回收率数据见表 1。

化合物	保留时间/min	样品 1	样品 2
邻苯二甲酸二甲酯	8.258	139.38%	122.06%
邻苯二甲酸二乙酯	9.128	121.19%	138.34%
邻苯二甲酸二异丁酯	10.889	171.77%	159.59%
邻苯二甲酸二丁酯	11.637	176.37%	137.97%
邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	11.97	131.02%	99.47%
邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯	12.728	97.79%	83.94%
邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯	13.051	130.83%	102.72%
邻苯二甲酸二戊酯	13.418	105.87%	66.29%
邻苯二甲酸二己酯	15.568	87.54%	62.29%
邻苯二甲酸丁基苄基酯	15.726	129.39%	95.98%
邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	17.169	164.31%	125.40%

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

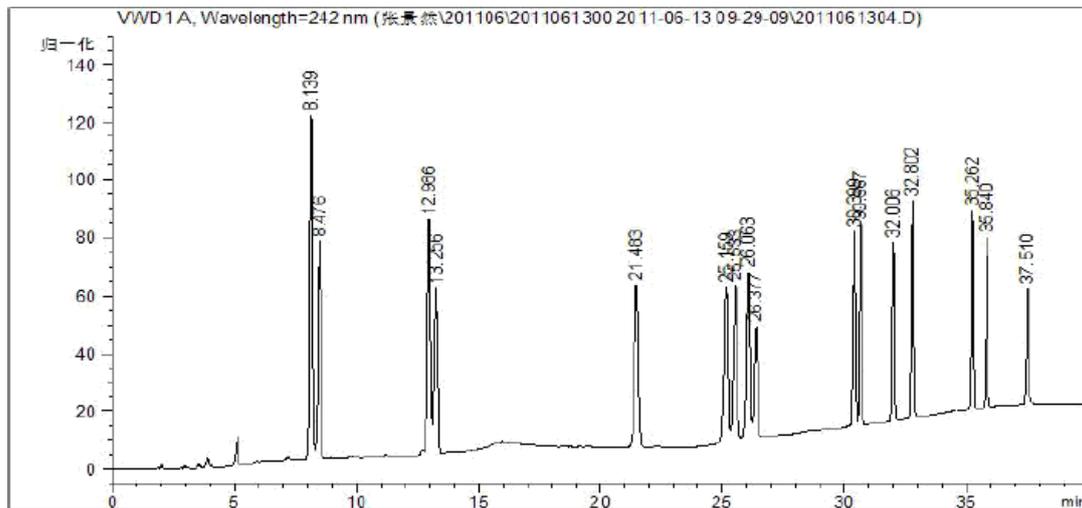
邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

邻苯二甲酸二环己酯	17.843	111.14%	86.31%
邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	18.073	105.94%	89.61%
邻苯二甲酸二苯酯	18.207	170.57%	117.68%
邻苯二甲酸二正辛酯	20.481	123.82%	99.88%
邻苯二甲酸二壬酯	23.023	121.05%	97.86%

注意：邻苯二甲酸二甲酯、邻苯二甲酸二乙酯、邻苯二甲酸二异丁酯、邻苯二甲酸二丁酯是使用非常普遍的增塑剂，广泛的存在于环境中，因而测试时十分容易造成背景过高的干扰问题。尤其需要注意的是氮吹时，使用的氮吹仪，应该是专用的仪器，而且必须定期用进口色谱纯的乙酸乙酯清洗氮吹的针头。

图 2 16 种邻苯二甲酸酯标准品 HPLC 色谱图(样品浓度: 25 ppm)



邻苯二甲酸二甲酯 DMP, 邻苯二甲酸二乙酯 DEP, 邻苯二甲酸二正丁酯 DBP, 邻苯二甲酸二辛酯 DNOP, 邻苯二甲酸二苯酯, 邻苯二甲酸丁苄酯 BBP, 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 DEHP, 邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯 DMEP, 邻苯二甲酸二丁氧基乙酯 DBEP, 邻苯二甲酸二戊酯 DPP, 邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯 BMPP, 邻苯二甲酸二乙氧基乙基酯 DEEP, 邻苯二甲酸二环己酯 DCHP, 邻苯二甲酸二异丁酯 DIBP, 邻苯二甲酸二己酯 DNP, 邻苯二甲酸二壬酯 DINP

4 相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST1116	邻苯二甲酸二甲酯	Dimethyl phthalate	131-11-3
1ST1118	邻苯二甲酸二乙酯(DEP)	Diethyl phthalate	84-66-2

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

1ST1119	邻苯二甲酸二异丁酯(DIBP)	Diisobutyl phthalate	84-69-5
1ST1114	邻苯二甲酸二丁酯	Di-n-butyl phthalate	84-74-2
1ST1122	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	Bis(2-methoxyethyl) phthalate	117-82-8
1ST1124	邻苯二甲酸双(4-甲基-2-戊)酯	Bis(4-methyl-2-pentyl) Phthalate	146-50-9
1ST1123	邻苯二甲酸双(2-乙氧基乙)酯	Bis(2-ethoxyethyl) phthalate	605-54-9
1ST1117	邻苯二甲酸二戊酯(DPP)	Di-n-pentyl phthalate	131-18-0
1ST1120	邻苯二甲酸二正己酯(DNHP)	Di-n-hexyl phthalate	84-75-3
1ST1111	邻苯二甲酸丁基苄基酯	Benzyl n-butyl phthalate	85-68-7
1ST1113	邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	Bis(2-butoxyethyl) phthalate	117-83-9
1ST1115	邻苯二甲酸二环己酯	Dicyclohexyl phthalate	84-61-7
1ST1125	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	117-81-7
1ST1112	邻苯二甲酸二苯酯	Diphenyl phthalate	84-62-8
1ST1121	邻苯二甲酸二正辛酯	Di-n-octyl phthalate	117-84-0
1ST1126	邻苯二甲酸二壬酯	Di-n-nonyl phthalate	84-76-4

5 订货信息

订货号	产品名称	规格包装
FL-LC010GS	LC-10F 高效液相色谱仪	10 ml/min, 梯度系统, 200-800 nm 双波长检测器
116767-01	邻苯二甲酸酯 16 种混标	1000 µg/mL(1 mL 正己烷), 1 mL/pk
DEHP5006	Cleanert DEHP 玻璃固相萃取柱(水性样品)	500 g/6 mL, 30 支/pk
1525-3002	DA-5MS 气相色谱柱	30 m×0.25 mm×0.25 µm
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写 32×11.6 mm, 100/pk
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫, 45. Shore A 1.0 mm, 100/pk
AH230-4	甲醇	4×4 L/瓶
AH100-4	乙酸乙酯	4×4 L/箱

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

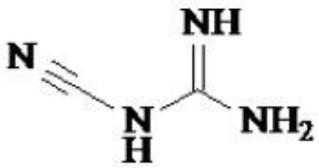
婴幼儿奶粉中双氰胺的检测 HPLC-UV 法和 LC-MS/MS 法

案例来源：博纳艾杰尔；应用编号：AF10045

1 样品

新西兰婴儿配方奶粉(0~6个月)

表 1 双氰胺的信息

名称	结构式	分子量	CAS
双氰胺		84.08	461-58-5

2 样品提取及净化

称取 1 g 试样于 50 mL 具塞离心管中，加 2 mL 水，涡旋 30 s，加 2 mL 乙腈涡旋 30 s。再往现有的提取液中加 2 mL 乙腈，重复上述提取步骤。再将该提取步骤重复 2 次，得到共计约 10 mL 的提取液。以 4000 r/min 离心 5 min，将全部上清液加入新一代 Cleanert MAS-QuChERS 管中(500 mg/15 mL)，将 MAS 管上下晃动 30 s，然后涡旋 30 s 后，8000 r/min 离心 5 min，取全部上清液(约 10 mL)于玻璃试管中，50°C 下氮气吹干，加入 1 mL 乙腈-水混合溶液(97: 3)复溶，过 0.22 μm 滤器，待测。

注：

- 做基质加标实验时的标准溶液建议选择以水为溶剂，防止加标瞬间发生蛋白沉淀；
- 乙腈提取分 4 次，为防止乙腈体积过多时沉淀蛋白速度过快，影响提取效果；
- 净化液氮气吹干后，如发现有少量油脂，可采用 1 mL 乙腈：水(97：3)混合溶液复溶，之后加入 1 mL 正己烷(色谱纯)液液萃取，取下层溶液过 0.22 μm 针式过滤器，进样检测。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



图 1 净化液氮吹后

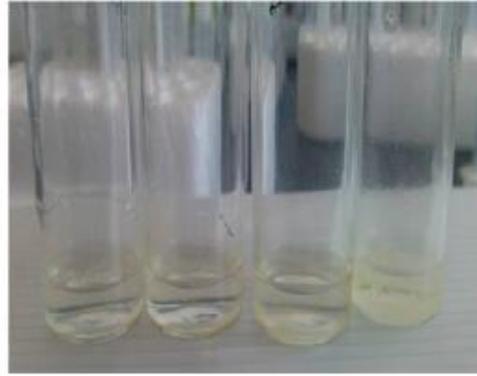


图 2 乙腈复溶

3 检测方法

3.1 高效液相色谱法

色谱柱: Venusil HILIC(5 μm , 100 \AA , 4.6 \times 250 mm);

流动相: 10 mmol/L 乙酸铵(pH 为 4.0): 乙腈=3: 97;

波长: 220 nm; 进样量: 10 μL ; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 流速: 0.8 mL/min。

注: 本实验选用的奶粉经过净化后, 按 10 mmol/L 乙酸铵(pH 为 4.0): 乙腈=15: 85 液相条件, 有一个杂质与双氰胺完全重合, 经实验条件优化后, 确定流动相条件为 10 mmol/L 乙酸铵(pH 为 4.0): 乙腈=3: 97, 双氰胺保留时间为 9.3 min, 可以和杂质完全分离。

3.2 液相色谱串联质谱法

色谱柱: Venusil HILIC(5 μm , 100 \AA , 2.1 \times 150 mm);

流动相: A: 0.5 mmol/L 乙酸铵(pH 为 4.0) B: 乙腈;

进样量: 10 μL ; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 流速: 0.3 mL/min。

表 2 流动相梯度程序

时间(min)	A%	B%
0	10	90
0.4	50	50
1.8	50	50
1.9	10	90
7	10	90

*备注: 本文曾尝试过多种 C18 色谱柱, 对双氰胺没有保留, 需要使用离子对试剂, 但是无法用于 LC-MS/MS; 也曾尝试过 MERCK ZIC-HILIC 柱, 但是得到双氰胺的峰面积偏差较大, 分析原因是其具有阳离子交换基团, 对双氰胺有不稳定的死吸附。最后确定使用键合丙

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

基酰胺的 Venusil HILIC 柱，以亲水作用色谱机理对双氰胺进行保留。

3.3 质谱条件

质谱仪：API 4000+；离子源：电喷雾离子源；扫描方式：正离子扫描；

检测方式：多反应监测；CAD：8.00；

CUR：20.00；GS1：60.00；GS2：50.00；IS：5500.00；TEM：600.00。

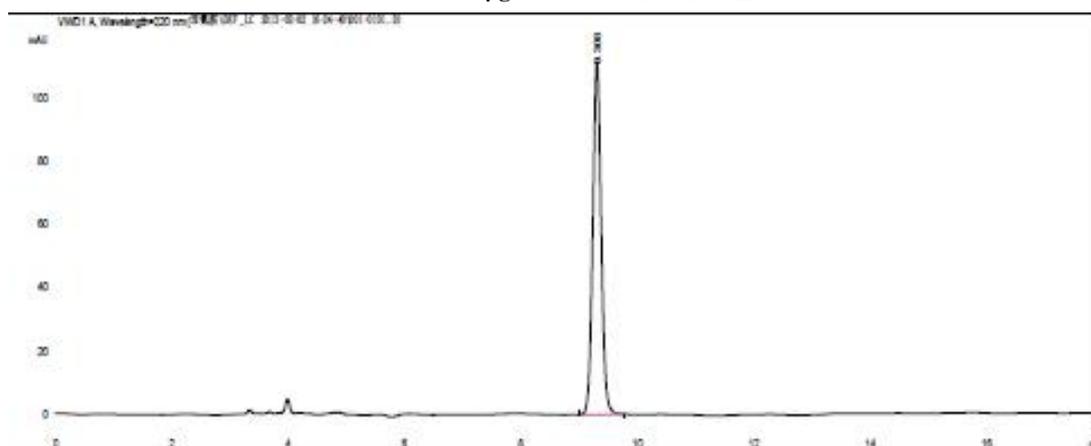
表 3 双氰胺质谱信息

药物名称	监测离子对	DP	EP	CE	CXP
双氰胺	85.1/68.1	71	10	41	6
	85.1/43.1	71	10	41	6

4. 结果与讨论

4.1 高效液相色谱法

图 3 双氰胺 10 μ g/mL 标准溶液的液相色谱图



实际样品基质加标的线性关系和检出限

准确称取双氰胺标准品 50 mg 于 50 mL 容量瓶中，加水溶解并稀释至刻度，作为标准贮备液；分别称取 1 g 奶粉试样，添加一定量标准溶液，配制成含双氰胺为 0.5 μ g/g, 1 μ g/g, 2 μ g/g, 5.0 μ g/mL 和 10 μ g/g 的添加样品，按照上述提取、净化方法操作，所得净化液按照上述色谱条件，依次进样检测。以双氰胺含量为横坐标，峰面积为纵坐标，拟合线性方程，结果见表 4。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

表 4 双氰胺线性方程和定量限(HPLC 法)

名称	保留时间	线性方程	相关系数	最低定量限(S/N=10)
双氰胺	5.57min	$Y=108.16X+27.827$	0.9971	0.5 μ g/g

准确度和精密度

选取市售某品牌婴幼儿奶粉试样, 进行添加回收实验, 结果见表 5

表 5 0.5 μ g/g 添加回收实验结果(HPLC 法)

平行 1	平行 2	平行 3	平均值	RSD
82.30%	85.50%	89.10%	85.63%	3.97%

图 4 奶粉 0.5 μ g/g 添加谱图

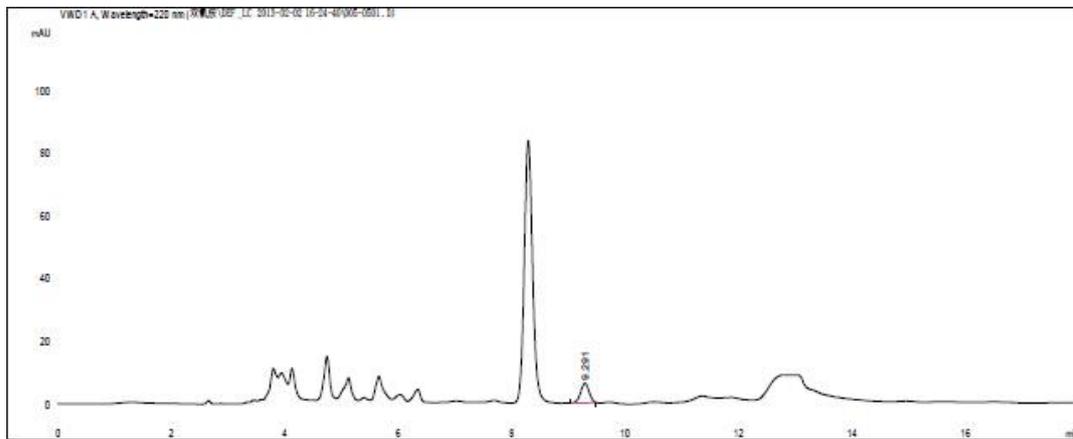
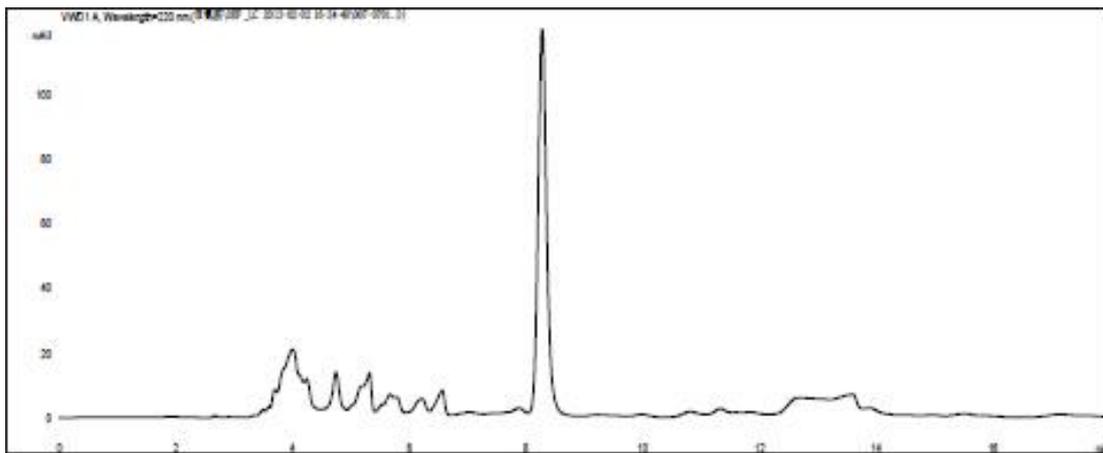


图 5 奶粉空白谱图



天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

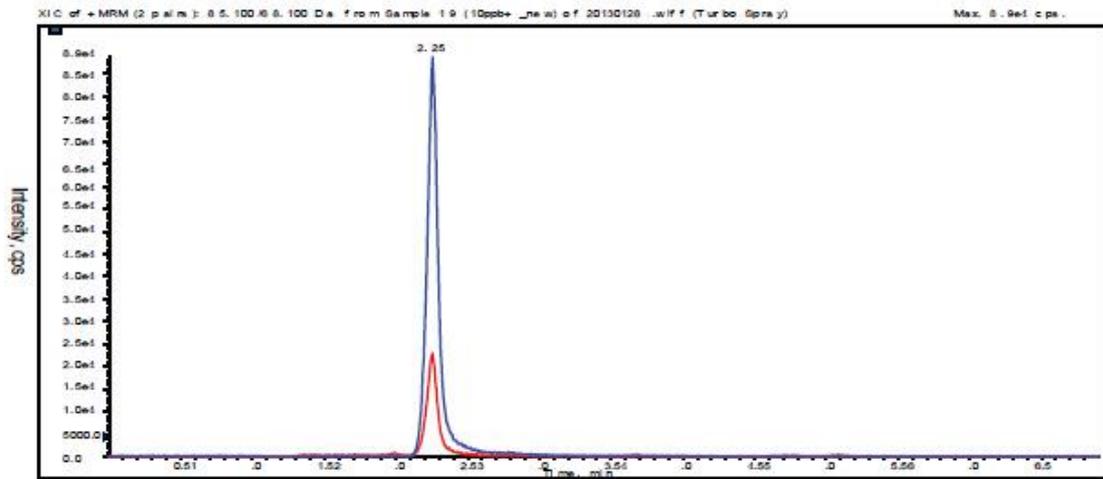
邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



4.2 LC-MS/MS 法

图 6 双氰胺 10ng/mL 标准溶液质谱图



实际样品基质加标的线性关系和检出限

准确称取双氰胺标准品 50 mg 于 50 mL 容量瓶中，加水溶液并稀释至刻度，作为标准贮备液；分别称取 1 g 奶粉试样，添加一定量标准溶液，配制成含双氰胺为 5 ng/mL, 10 ng/mL, 50 ng/mL, 100 ng/mL 和 200 ng/mL 的添加样品，按照上述提取、净化方法操作，所得净化液按照上述液质条件，依次进样检测。以双氰胺含量为横坐标，峰面积为纵坐标，拟合线性方程，结果见表 6。

表 6 双氰胺线性方程和定量限(LC-MS/MS 法)

名称	保留时间	线性方程	相关系数	最低定量限(S/N=10)
双氰胺	3.15min	$Y=3859.1X+23694$	0.99	2ng/g

准确度和精密度

选取市售某婴幼儿奶粉试样，进行添加回收实验，结果见表 7。采用空白样品稀释法判断检测方法的基质效应影响。空白净化液稀释和乙腈稀释的标准溶液，双氰胺峰面积和相对丰度比无明显变化，故判断该方法无基质效应的影响。

表 7 10 ng/g 添加回收实验结果

平行 1	平行 2	平行 3	平均值	RSD
82.50%	83.50%	89.30%	85.20%	4.31%

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

图 7 婴幼儿奶粉空白质谱图

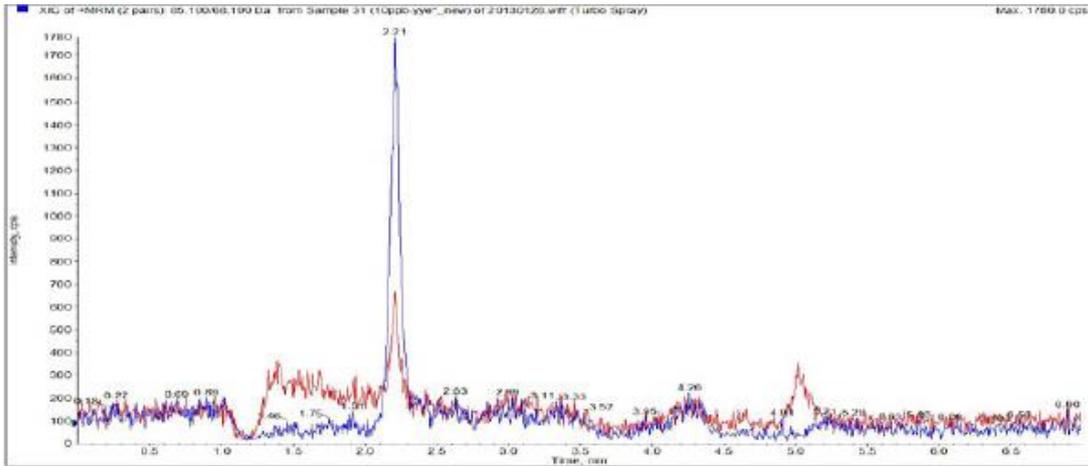
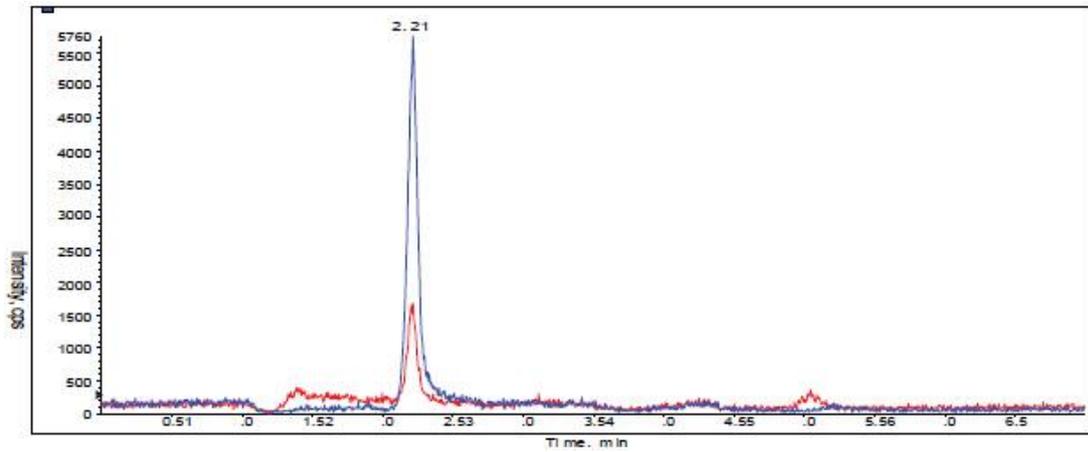


图 8 婴幼儿奶粉 10 ng/g 添加水平的质谱图



5 相关标准品

订货信息	中文名称	英文名称	CAS#
1ST6601	(双氰胺) 二聚氰胺	Dicyandiamide	461-58-5

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

6 订货信息

订货	产品名称	规格包装
MS-SQA02	新一代 MAS-QuChERS-双氰胺净化管(填料量加大, 更适合婴幼儿奶粉等复杂样品)	500 mg/15 mL,50 支/包
MS-SQA01	MAS-QuChERS-双氰胺净化管	100 mg/2 mL,50 支/包
VH952505-0	Venusil®HILIC	4.6×250 mm,5 μm,100 Å
VH951502-0	液相色谱柱	2.1×150 mm,5 μm,100 Å
AS021320	针式过滤器(Nylon)	0.22 μm,直径 13 mm, 200/pk
ZSQ-5ML	一次性注射器, 无针头	5 mL,100/pk
DCD-0001	双氰胺对照品	500 mg /瓶,含量≥99.0%
DCD-0002		1 g/瓶,含量≥99.0%
LXG0050	离心管	50 mL,带螺纹盖,25 个/包
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写 32×11.6 mm,100/pk
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫,45. Shore A 1.0 mm,100/pk
AH015-4	乙腈	4×4 L/箱

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

鸡蛋中三聚氰胺的检测 (HPLC 法)

案例来源：博纳艾杰尔；应用编号：AF10048

1 三聚氰胺标准溶液配制

称取三聚氰胺标样 10.0 mg，加流动相溶解定容至 100 mL，即得浓度为 100 mg/L 的三聚氰胺标样溶液。将浓度为 100 mg/L 的三聚氰胺标准溶液分别用水稀释成浓度为 1 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、15 mg/L、20 mg/L 的标准品溶液，用 0.45 μm 滤膜过滤后进液相色谱检测。

2 样品提取

将鸡蛋打开搅匀，分别称取 1.00 g 鸡蛋样本置于 10 mL 具塞离心管中，分别加入 100 mg/L 三聚氰胺标样溶液 10 μL 、20 μL 、100 μL ，分别得到添加浓度为 1.0 mg/kg、2.0 mg/kg、10.0 mg/kg 的样本。往装有上述样本的具塞离心管中分别加入 10 mL 1% 三氯乙酸溶液，2 mL 5% 醋酸铅溶液，摇匀，超声 20 分钟，8000 rpm 离心 10 分钟，全部上清液转入固相萃取仪上样管中。

Cleanert PCX 混合型阳离子交换固相萃取柱，标记序号依次放入 QdauraTM 卓睿全自动固相萃取仪中，上样管中放置对应样品，设定操作程序如下：3 mL 甲醇，3 mL 水依次活化，加样，3 mL 水，3 mL 甲醇淋洗，抽干，最后用 5 mL 5% 的氨化甲醇洗脱(V/V)，接收洗脱液(以上操作流速均为 1 mL/min)，取出收集管于 50°C 氮气吹干，用 1 mL 流动相定容，0.45 μm 滤器过滤后进液相色谱检测。

3. 色谱条件

色谱柱：Venusil ASB C8，4.6×250 mm，5 μm ；

流动相：乙腈：10 mM/L 柠檬酸+10 mM/L 庚烷磺酸钠，缓冲液=7：93(pH 为 3.0)

波长：240 nm；流速：1 mL/min；进样：20 μL 。

4 实验结果

4.1 峰型与分离度

分别移取浓度为 1.0 mg/L、5.0 mg/L 的三聚氰胺标准溶液，分别连续进样 6 次，结果如表 1 所示。由表 1 结果可见，本方法具有很好的精密度和重现性。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

图 1 鸡蛋空白样品和鸡蛋添加 10 ppm 的样品图谱

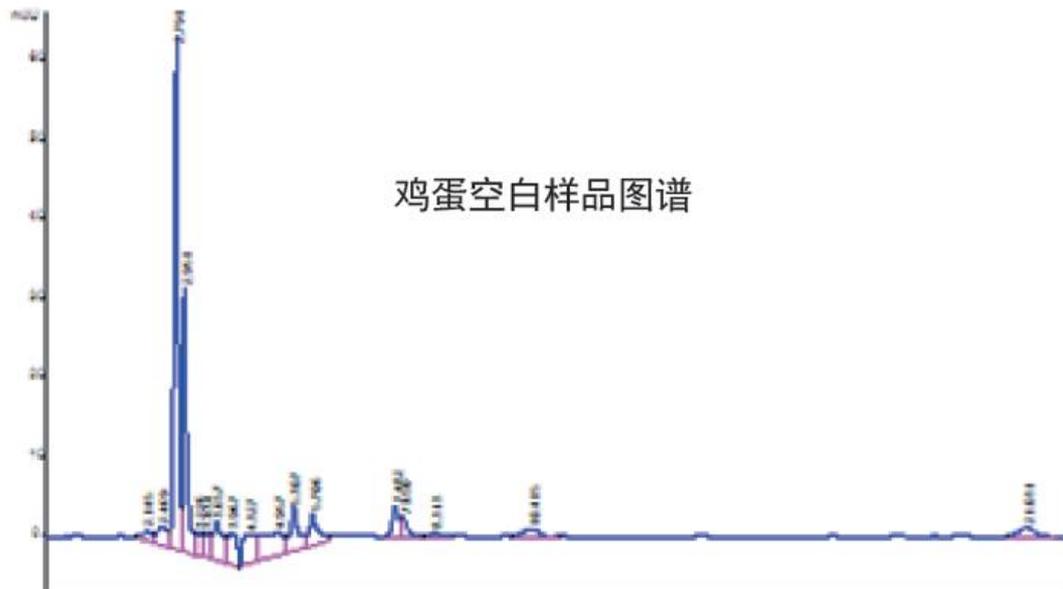


表 1 保留时间与峰面积的稳定性数据

浓度 mg/ mL	指标	1#	2#	3#	4#	5#	6#	平均值	RSD%
1	保留时间 (min)	18.83	18.829	18.829	18.838	18.84	18.834	18.833	0.026
	峰面积	89	81	84	88	84	80	84	4.286
5	保留时间 (min)	18.949	18.952	18.947	18.949	18.95	18.946	18.949	0.011
	峰面积	423	440	438	439	437	438	436	1.461

4.2 标准校正曲线

根据表 2 数据计算线性方程为： $y = 87.43x - 13.67$ ， $R^2 = 0.999$ ，相关曲线见图 2。结果显示，该方法在 1~20mg/kg 范围内线性关系良好。

表 2 标准校正曲线实验数据

浓度 mg/kg	峰面积第 1 次进样	峰面积第 2 次进样	峰面积均值
1	89	79	84
5	423	440	431
10	832	844	838
15	1265	1299	1282
20	1689	1823	1756

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

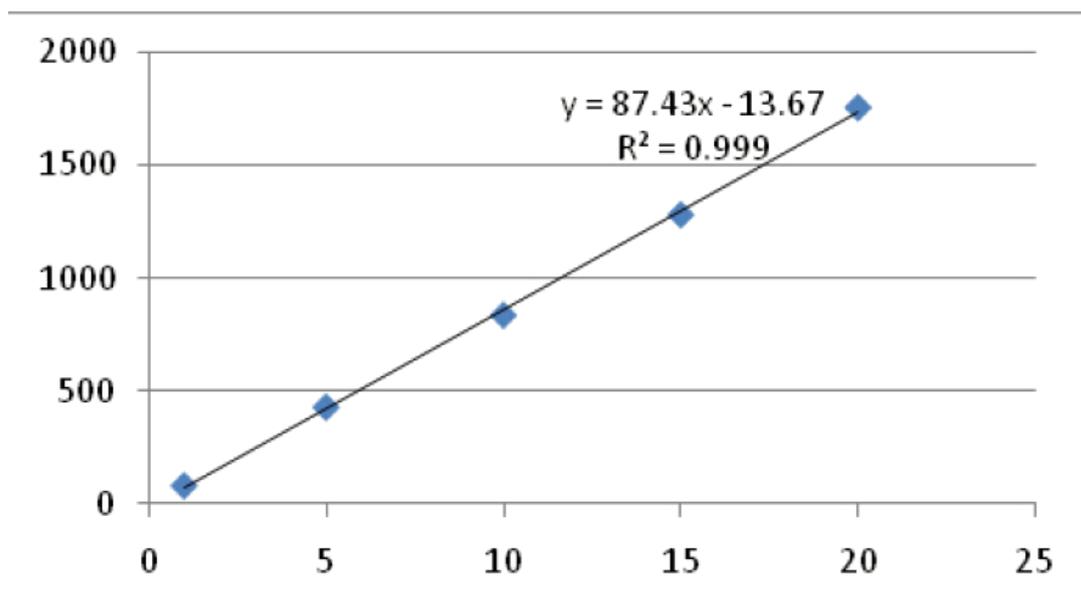
电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

图 2 浓度与峰面积的回归曲线



结果显示，该方法在 1~20 mg/kg 范围内线性关系良好。

4.3 添加回收率

由表 3 可见，本方法检测鸡蛋中三聚氰胺回收率较好

表 3 添加浓度与回收率数据

添加浓度 (mg/kg)	峰面积	计算含量	回收率(%)
1	19.9	1.158892	115.89
1	21	1.214532	121.45
2	41.7	2.261587	113.08
2	40.8	2.216062	110.8
10	188.8	9.702247	97.02
10	219.6	11.26018	112.6

5 结论

通过上述实验可见，运用本方法测定鸡蛋中三聚氰胺，基质净化效果好，杂质干扰小，色谱峰型良好对称度高，操作简单方便，和准确度高等优点，非常适用于鸡蛋中三聚氰胺的检测。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

6 相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST6602	三聚氰胺	Melamine	108-78-1

附：订货信息

订货号	产品名称	规格包装
SJ-SJQA-100	三聚氰胺标准品(≥99.0%)	100 g/pk
ION-Q7-25	庚烷磺酸钠(色谱级)	25g
FL-LC010GS	LC-10F 高效液相色谱仪	10 mL/min, 梯度系统,200-800 nm 双波长检测器
CC-100	CC-100 分析型色谱柱温箱	温控范围: 5~70°C; 可安装 1-2 支 300 mm 色谱柱
SPE-40	Qdaura 卓睿全自动固相萃取仪	4 通道 24 位
CX0603	Cleanert PCX	60 mg/3 mL, 50/pk
VS852505-0	Venusil ASB C8 液相色谱柱	4.6×250 mm, 5 μm
AS021345	针式过滤器(Nylon)	0.45 μm,直径 13 mm,200/pk
ZSQ-5ML	一次性无针头注射器	5 mL, 100/pk
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写 32×11.6 mm, 100/pk
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫,45. Shore A 1.0 mm,100/pk
AH230-4	甲醇	4×4 L/瓶

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

食品中苏丹红染料的检测(HPLC 法)——升级版方法

案例来源：博纳艾杰尔：

应用简介

本实验利用装填具有芳香性功能基团的聚合物材料的 Cleanert Sudan 固相萃取柱萃取辣椒油、辣椒粉等食品中 4 种苏丹红，然后再用二氯甲烷洗脱，开发了一套食品中 4 种苏丹红检测的新方法，与国标方法相比，可获得更稳定的回收率，溶剂用量更少更环保，方法也更简便。

前言

GB/T 19681-2005《食品中苏丹红染料的检测方法 高效液相色谱法》中采用正己烷作为萃取溶剂，用氧化铝固相萃取柱净化样品。该方法样品处理过程复杂，且氧化铝的活性不易控制，回收率难以得到保证。

本实验利用装填具有芳香性功能基团的聚合物材料的 Cleanert Sudan 固相萃取柱萃取辣椒油、辣椒粉等食品中 4 种苏丹红，然后再用二氯甲烷洗脱，开发了一套食品中 4 种苏丹红检测的新方法，与国标方法相比，可获得更稳定的回收率，溶剂用量更少更环保，方法也更简便。

1 样品提取及净化

1.1 辣椒粉等粉状样品

称取 0.5 g(准确至 0.001 g)样品于三角瓶中，加入 5 mL 正己烷，超声 10 min，过滤，将滤液于 5000 r/min 下离心 5 min 后取上清液 3 mL，待净化。

加标样品的处理：向 0.5 g(准确至 0.001 g)辣椒粉中加入 2 mL 的 4 μg/mL 苏丹红混标以及 4 mL 正己烷，然后按照上述方法进行预处理。

1.2 辣椒油等油状样品

称取 0.5 g(准确至 0.001 g)样品于小烧杯中，加入 3 mL 正己烷溶解，涡旋 1 分钟混匀，待净化。

加标样品的处理：向 0.5 g(准确至 0.001 g)辣椒油样品中加入 1 mL 的 4 μg/mL 苏丹红混标，然后按照上述方法进行处理。

1.3 火腿肠类样品

将火腿肠切成小丁，称取 3.0 g(准确至 0.001 g)，放入 10 mL 离心管中，加入 5 mL 正己烷，超声 10 min，5000 r/min 离心 5 min 后取上清液 3 mL，待净化。

加标样品的处理：将火腿肠切成小丁，称取 3.0 g(准确至 0.001 g)，放入 10 mL 离心管中，加入 2 mL 的 4 μg/mL 苏丹红混标以及 4 mL 正己烷，然后按照上述方法进行处理。

1.4 火锅底料等酱类样品

称取火锅底料 1.0 g(准确至 0.001 g)，加入 1 mL 水，再加 5 mL 正己烷，涡旋 3 分钟，

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



超声 10 分钟，接着以转速 6000 r/min 离心 5 分钟，取上层有机相 3mL，加入无水硫酸钠 0.5 g，涡旋 0.5 分钟，静置取上清液作为上样液。

加标样品的处理: 向 1.0 g(准确至 0.001 g)火锅底料中加入 1mL 水, 再加 2 mL 的 4 µg/mL 苏丹红混标及 4 mL 正己烷, 然后按照上述方法进行处理。

2 净化方法

净化样品所用固相萃取柱为 Cleanert Sudan 苏丹红专用柱(500 mg/6 mL)

1. 活化: 在 Cleanert Sudan 苏丹红专用柱中依次加入 5 mL 二氯甲烷, 5 mL 正己烷。
2. 萃取: 将 3.1 中的待净化液加入 Cleanert Sudan 柱中, 再用 1mL 正己烷洗涤样品瓶, 一并加入 SPE 柱中, 流出液弃去。
3. 淋洗: 待上样液完全流出后, 用 3 mL 3% 异丙醇-正己烷溶液淋洗, 淋洗液弃去, 开启真空泵, 将小柱抽干。
4. 洗脱: 3 mL 二氯甲烷洗脱, 收集洗脱液。
5. 吹干与定容: 将洗脱液于 50°C 下氮气吹干, 加入 1 mL 乙腈溶解, 使用 0.45 µm PTFE 有机滤膜过滤后, 进行 HPLC 分析。

3 色谱条件

色谱柱: Venusil MP C18, 5 µm 100Å, 4.6×150 mm

流动相: 乙腈: 水=97: 3(v/v)

流速: 1.0 mL/min

进样量: 20 µL

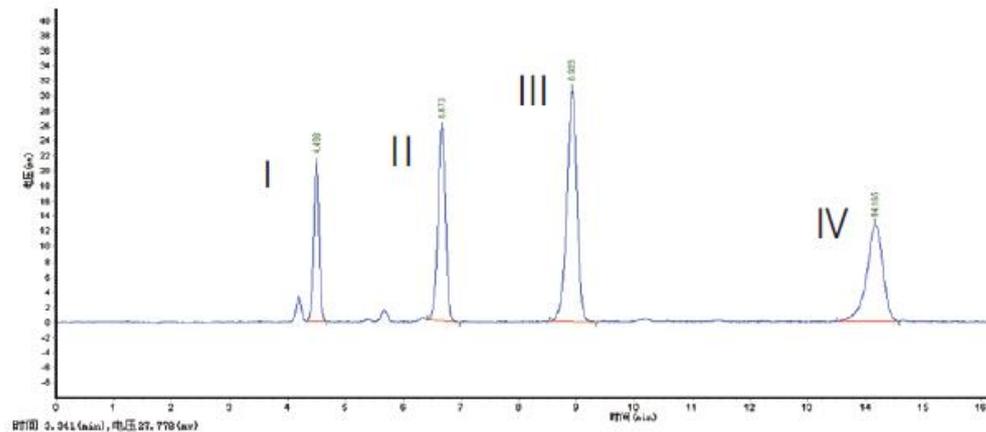
柱温: 35°C

检测波长: 520 nm

4 实验结果

液相色谱条件下, 将浓度为 4 µg/mL 的标准溶液进行 HPLC 分析, 得到 4 种苏丹红标准溶液色谱图如图 1 所示。

图 1 4 种苏丹红标准溶液液相色谱图



苏丹红I、II、III、IV保留时间分别为: 4.498 min、6.673 min、8.923 min、14.165 min。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



经由上述样品处理方法处理的辣椒粉、辣椒油、火腿肠、火锅底料及其加标样品，经 HPLC 分析，得到色谱图见图 2~图 9。

图 2 辣椒粉样品的液相色谱图

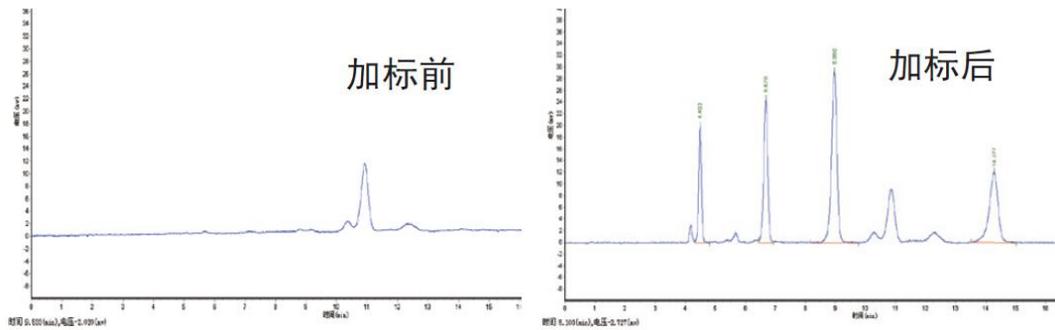


图 3 辣椒油样品的液相色谱图

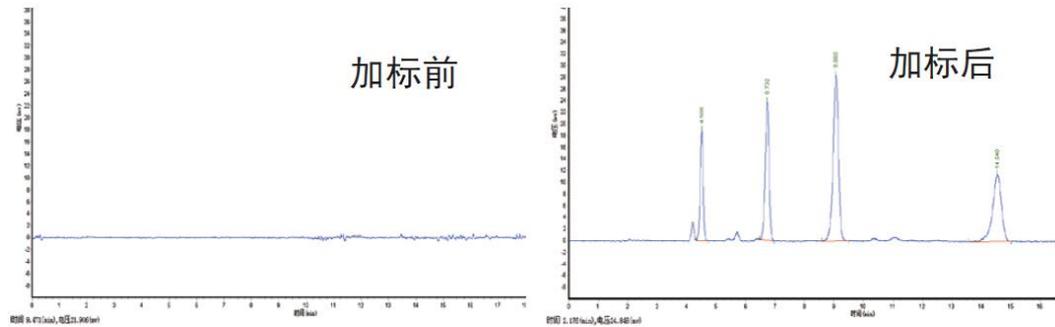
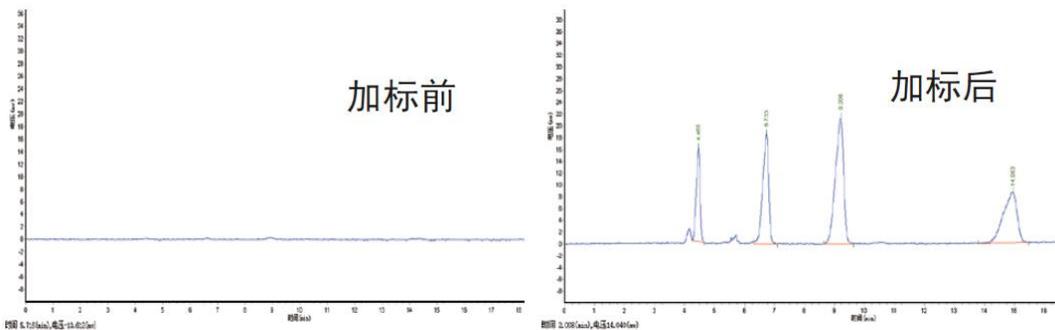


图 4 火腿肠样品的液相色谱图



天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

图 5 火锅底料样品的液相色谱图

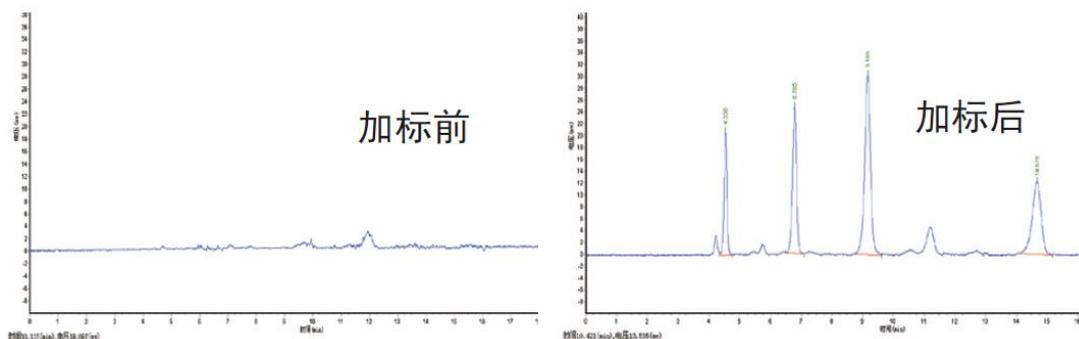


表 2 4 种样品中苏丹红的平均加标回收率及 RSD 值:

样品名	组分	低浓度(0.4mg/L)		高浓度(4mg/L)	
		平均回收率/%	RSD(n=5)/%	平均回收率/%	RSD(n=5)/%
辣椒粉	苏丹红I	96.00%	5.02	96.00%	5.02
	苏丹红II	95.19%	1.42	95.19%	1.42
	苏丹红III	98.82%	1.62	98.82%	1.62
	苏丹红IV	97.16%	3.73	97.16%	3.73
辣椒油	苏丹红I	93.42%	4.35	93.42%	4.35
	苏丹红II	91.67%	8.46	91.67%	8.46
	苏丹红III	100.29%	4.43	100.29%	4.43
	苏丹红IV	100.01%	3.83	100.01%	3.83
火腿肠	苏丹红I	90.63%	3.89	90.63%	3.89
	苏丹红II	87.60%	6.1	87.60%	6.1
	苏丹红III	101.29%	3.89	101.29%	3.89
	苏丹红IV	92.68%	8.19	92.68%	8.19
火锅底料	苏丹红I	99.67%	5.53	99.67%	5.53
	苏丹红II	87.95%	4.67	87.95%	4.67
	苏丹红III	99.02%	5.56	99.02%	5.56

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

	苏丹红IV	91.05%	7.4	91.05%	7.4
--	-------	--------	-----	--------	-----

5 结论

Cleanert Sudan 能很好去除油脂中的杂质,可获得稳定的苏丹红加标回收率,样品前处理的操作过程简单,所需耗材少。辣椒粉、辣椒油、火腿肠和火锅底料这四种不同的实验样品中4种苏丹红的加标回收率都较理想。

6 相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST2401	苏丹红 1 号	Sudan 1	842-07-9
1ST2402	苏丹红 2 号	Sudan 2	3118-97-6
1ST2403	苏丹红 3 号	Sudan 3	85-86-9
1ST2404	苏丹红 4 号	Sudan 4	85-83-6

7 订货信息

订货号	产品名称	规格包装
SD5006	Cleanert Sudan	500 mg/6 mL,30/pk
VA951505-0	Venusil MP C18	5 μ m,100 \AA ,4.6 mm \times 150 mm
NV-15G	氮吹仪	15 位
1109-0519 和 AV2100-0	1.5 mL 样品瓶	1.5 mL, 100/pk
AV7100-7 和 AV7920-0	20 mL 玻璃瓶	20 mL, 100/pk
1509-1800 和 1515-1748	12 mL 样品瓶	20 mL, 100/pk
AS041345	PTFE 滤头	0.45 μ m,直径 13 mm,200/pk
AH216	正己烷	4 \times 4 L/瓶
AH300	二氯甲烷	4 \times 4 L/瓶
AH015-4	乙腈	4 \times 4 L/瓶

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

食品中甲醛的测定 HPLC 法

案例来源: 博纳艾杰尔; 应用编号: AF10053

应用简介

国家纺织产品基本安全技术规范《GB 18401-2010》中规定纺织品中甲醛含量不得大于 20 mg/kg, 对于食品, 甲醛更是非法添加物质, 啤酒和白菜规定不得人为添加, 啤酒中规定不大于 2 mg/L。本实验采用水提取法, 最低检测限可到 1.0 mg/L, 经实验证明该方法检测效率高, 检测限低, 适合做甲醛的检测。

前言

社会上先后报道存在用甲醛溶液喷洒白菜保鲜的现象, 甲醛之所以能保鲜是能够延缓白菜的腐烂和霉变, 其可以使蛋白质变性, 同时也能溶解脂肪, 故有杀菌和保鲜作用。此外, 甲醛还是一种重要的工业有机原料, 广泛用于合成纤维、皮革工业、医药、染料等工业等。

但是甲醛是一种破坏生物细胞蛋白质的原生质毒素对人体有很大的危害。吸入甲醛可以引起食欲减退、厌食、体重减轻、衰弱、失眠症。甲醛对中枢神经系统有麻醉作用, 此外甲醛还能损伤细胞内的遗传物质是可疑的致癌物质。

国家纺织产品基本安全技术规范《GB 18401-2010》中规定纺织品中甲醛含量不得大于 20 mg/kg, 对于食品, 甲醛更是非法添加物质, 啤酒和白菜规定不得人为添加, 啤酒中规定不大于 2 mg/L。本实验采用水提取法, 最低检测限可到 1.0 mg/L, 经实验证明该方法检测效率高, 检测限低, 适合做甲醛的检测。

1 实验试剂

- a) 样品: 市售白菜; 市售啤酒
- b) DNPH 标准溶液: 称取 6 mg DNPH 固体, 溶于 20 mL 乙腈, 摇匀;
- c) DNPH 衍生剂溶液: 移取 0.3 mL DNPH 标准溶液, 用乙腈稀释至 30 mL;
- d) 甲醛溶液: 分析纯, 含量 37%~40%
- e) 甲醛储备液: 准确移取 38 μ L 甲醛溶液, 加水稀释至 10 mL;
- f) 甲醛标准稀释液: 准确移取甲醛储备液 1 mL, 加水稀释至 20 mL;

2 样品处理

2.1 白菜样品前处理

准确称取 1 g 白菜试样两份, 分别置于 60 mL 样品瓶中, 并分别加入 50 μ L 和 100 μ L 甲醛溶液, 混匀, 再分别加入 50 mL 水, 摇匀, 40°C 加热提取 30 min。取 1 mL 提取液, 加入 1 mL DNPH 衍生剂溶液, 混合均匀, 60°C 衍生 30 min, 即为试样溶液。试样溶液通过 0.45 μ m Nylon 针式过滤器过滤, 待测。

2.2 啤酒样品前处理

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

移取 5 mL 啤酒试样两份，分别置于 60 mL 样品瓶中，并分别加入 50 μ L 和 100 μ L 甲醛溶液，混匀后取出 1 mL，加入 1 mL DNPH 衍生剂溶液，常温衍生 30 min，即为试样溶液。试样溶液通过 0.45 μ m Nylon 针式过滤器过滤，待测。

3 实验试剂

色谱柱：Venusil XBP C18(L)(5 μ m 150 \AA 4.6 \times 250 mm)；

流动相：乙腈：水=1:1 流速：1.0 mL/min

进样量：10 μ L 波长：360 nm 柱温：30 $^{\circ}$ C

4 实验结果

4.1 线性关系和检出限

量取一定量甲醛标准稀释液，分别加水稀释至 0.4 μ g/mL、0.8 μ g/mL、2 μ g/mL、4 μ g/mL 和 8 μ g/mL，依次进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，拟合标准曲线方程并计算的最低检测限，结果见表 1。

表 1 甲醛标准曲线、精密度和检出限

标准曲线方程	相关系数	保留时间 RSD6	峰面积 RSD6	检出限(S/N>3)
$y=53273x-56929$	0.9903	0.28%	5.24%	1.2mg/L

4.2 添加回收率

表 2 白菜、啤酒样品的添加回收率(50 μ L, 100 μ L 添加水平)

添加水平	回收率	
	啤酒	白菜
50 μ L	94%	102%
100 μ L	91%	99%

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



图 1 50 μ L 添加白菜样品谱图

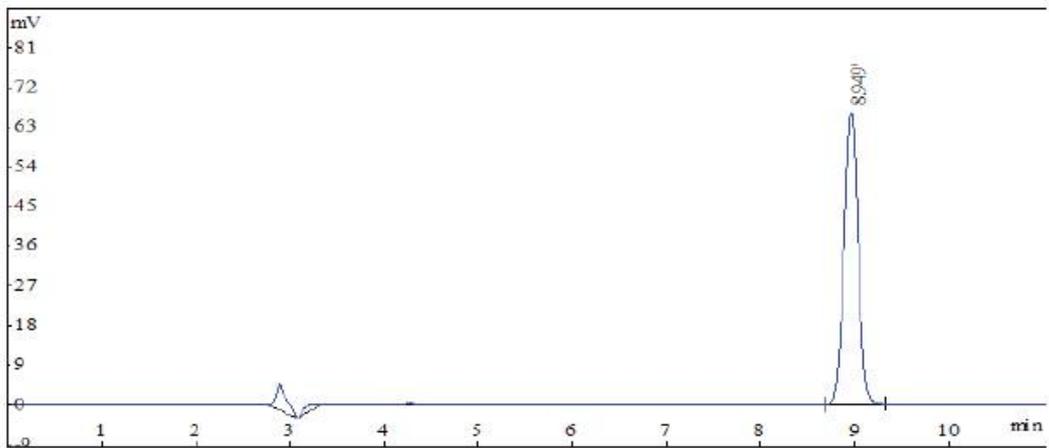
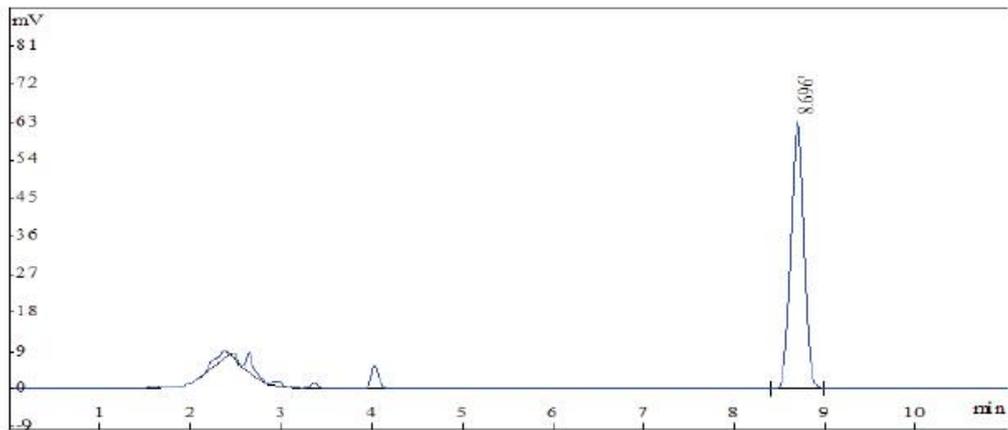


图 2 50 μ L 添加啤酒样品谱图



5 相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST000546	甲醛	Formaldehyde	50-00-0

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

6 订货信息

订货号	产品名称	规格包装
FL-LC010GS	LC-10F 高效液相色谱仪	10 mL/min, 梯度系统, 200-800 nm 双波长检测器
CC-100	CC-100 分析型色谱柱温箱	温控范围: 5-70°C;可安装 1-2 支 300 mm 色谱柱
VX952505-L	Venusil® XBP C18(L) 液相色谱柱	4.6×250 mm, 5 μm, 150Å
AS021345	针式过滤器(Nylon)	0.45 μm, 直径 13 mm, 200/pk
AM025045	微孔过滤膜(Nylon)	0.45 μm, 直径 50 mm, 100/pk
ZSQ-5ML	一次性无针头注射器	5 mL, 100/pk
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写 32×11.6 mm, 100/pk
0915-1819	1.5 mL 样品瓶, 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫, 45. Shore A 1.0 mm, 100/pk
1509-1800	12 mL 样品瓶	螺纹棕色, 100/盒
1515-1748	12 mL 样品瓶盖	100/包
2409-0923	30 mL 样品瓶	螺纹棕色, 100/盒
2415-1395	30 mL 样品瓶盖	100/包
2409-1089	60 mL 样品瓶	螺纹透明, 100/盒
2415-1395	60 mL 样品瓶盖	100/盒
AH230-4	甲醇	4×4 L/瓶
AH015-4	乙腈	4×4 L/箱

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

食品中苏丹红染料的检测 Cleanert® Sudan 专用柱，升级方法

案例来源：博纳艾杰尔；应用编号：RF10006

应用简介

GB/T 19681-2005《食品中苏丹红染料的检测方法 高效液相色谱法》中采用正己烷作为萃取溶剂，用氧化铝固相萃取柱净化样品。该方法样品处理过程复杂，且氧化铝的活性不易控制，回收率难以得到保证。本实验利用装填具有芳香性功能基团的聚合物材料的 Cleanert® Sudan 固相萃取柱萃取辣椒油、辣椒粉等食品中 4 种苏丹红，用二氯甲烷洗脱，开发了一套食品中 4 种苏丹红检测的新方法，与国标方法相比，可获得更稳定的回收率，溶剂用量更少更环保，方法也更简便。

1 样品提取及净化

1.1 辣椒粉等粉状样品

称取 0.5 g (准确至 0.001 g) 样品于三角瓶中，加入 5 mL 正己烷，超声 10 min，过滤，将滤液于 5000 r/min 下离心 5 min 后取上清液 3 mL，待净化。加标样品的处理：向 0.5 g (准确至 0.001 g) 辣椒粉中加入 2 mL 的 4 µg/mL 苏丹红混标以及 4 mL 正己烷，然后按照上述方法进行预处理。

1.2 辣椒油等油状样品

称取 0.5 g (准确至 0.001 g) 样品于小烧杯中，加入 3 mL 正己烷溶解，涡旋 1 分钟混匀，待净化。

加标样品的处理：向 0.5 g (准确至 0.001 g) 辣椒油样品中加入 1 mL 的 4 µg/mL 苏丹红混标，然后按照上述方法进行处理。

1.3 火腿肠类样品

将火腿肠切成小丁，称取 3.0 g (准确至 0.001 g)，放入 10 mL 离心管中，加入 5 mL 正己烷，超声 10 min，5000 r/min 离心 5 min 后取上清液 3 mL，待净化。

加标样品的处理：将火腿肠切成小丁，称取 3.0 g (准确至 0.001 g)，放入 10 mL 离心管中，加入 2 mL 的 4 µg/mL 苏丹红混标以及 4 mL 正己烷，然后按照上述方法进行处理。

1.4 火锅底料等酱类样品

称取火锅底料 1.0 g (准确至 0.001 g)，加入 1 mL 水，再加 5 mL 正己烷，涡旋 3 min，超声 10 min，接着以转速 6000 r/min 离心 5 min，取上层有机相 3 mL，加入无水硫酸钠 0.5 g，涡旋 0.5 min，静置取上清液作为上样液。加标样品的处理：向 1.0 g (准确至 0.001 g) 火锅底料中加入 1 mL 水，再加 2 mL 的 4 µg/mL 苏丹红混标及 4 mL 正己烷，然后按照上述方法进行处理。

2. 净化方法

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



净化样品所用固相萃取柱为 Cleanert® Sudan 苏丹红专用柱(500 mg/6 mL)

1. 活化：在 Cleanert® Sudan 苏丹红专用柱中依次加入 5 mL 二氯甲烷，5 mL 正己烷。
2. 萃取：将上述中的待净化液加入 Cleanert® Sudan 柱中，再用 1 mL 正己烷洗涤样品瓶，一并加入 SPE 柱中，流出液弃去。
3. 淋洗：待上样液完全流出后，用 3 mL 3%异丙醇-正己烷溶液淋洗，淋洗液弃去，开启真空泵，将小柱抽干。
4. 洗脱：3 mL 二氯甲烷洗脱，收集洗脱液。
5. 吹干与定容：将洗脱液于 50°C下氮气吹干，加入 1 mL 乙腈溶解，使用 0.45 μm PTFE 有机滤膜过滤后，进行 HPLC 分析。

3. 色谱条件

色谱柱：Venusil® MP C18 5 μm，100 Å，4.6 × 150 mm

流动相：乙腈：水=97：3(v/v)，流速：1.0 mL/min

进样量：20 μL，柱温：35°C，检测波长：520 nm

4. 实验结果

液相色谱条件下，将浓度为 4 μg/mL 的标准溶液进行 HPLC 分析，得到 4 种苏丹红标准溶液色谱图如图 1 所示。

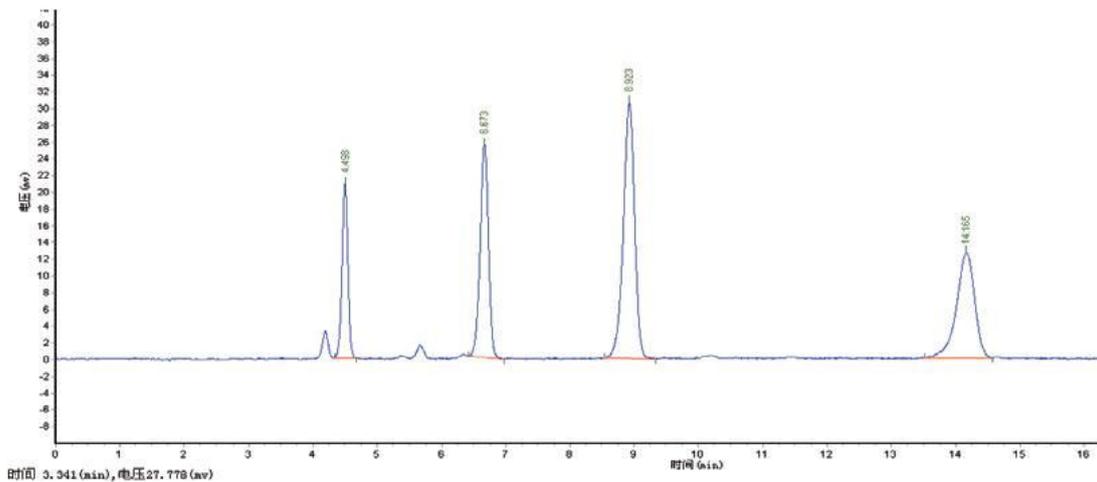


图 1 4 种苏丹红标准溶液液相色谱图

苏丹红I、II、III、IV保留时间分别为：4.498 min、6.673 min、8.923 min、14.165 min。经由上述样品处理方法处理的辣椒粉、辣椒油、火腿肠、火锅底料及其加标样品，经 HPLC 分析，得到色谱图见图 2~图 9。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

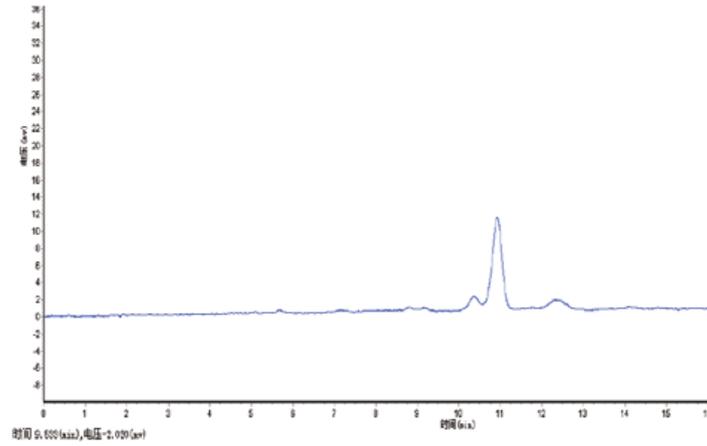
邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

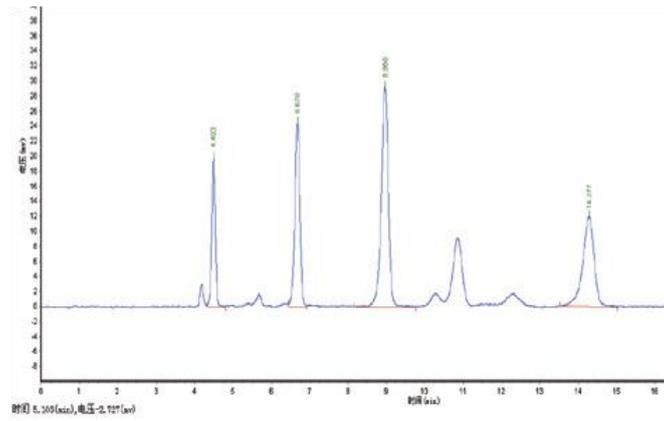
QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

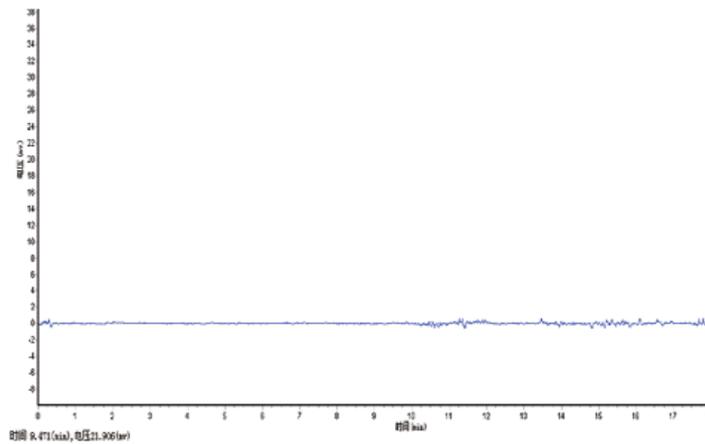


(a) 加标前



(b) 加标后

图 2 辣椒粉样品的液相色谱图



(a) 加标前

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

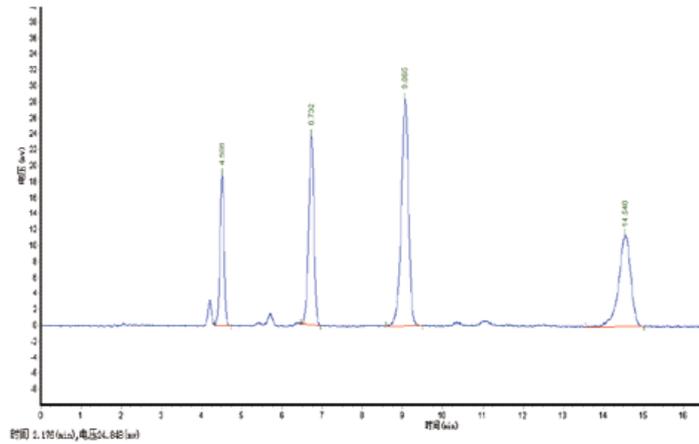
邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



(b) 加标后

图3 辣椒油样品的液相色谱图

结论

Cleanert® Sudan 能很好去除油脂中的杂质，针对辣椒粉、辣椒油、火腿肠和火锅底料等四种不同的样品，4种苏丹红的加标回收率都较理想。样品前处理的操作过程简单，所需耗材少，更经济、环保。

相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST2401	苏丹红 1 号	Sudan 1	842-07-9
1ST2402	苏丹红 2 号	Sudan 2	3118-97-6
1ST2403	苏丹红 3 号	Sudan 3	85-86-9
1ST2404	苏丹红 4 号	Sudan 4	85-83-6

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



订货信息

产品名称	规格包装	订货号
Cleanert® Sudan	500 mg/6 mL, 30/pk	SD5006
Venusil® MP C18	5 µm, 100 Å, 4.6 mm × 150 mm	VA951505-0
氮吹仪	15 位	NV-15G
1.5mL 样品瓶	1.5 mL, 100/pk	1109-0519和 AV2100-0
20mL 玻璃瓶	20 mL, 100/pk	AV7100-7 和 AV7920-0
12mL 样品瓶	20 mL, 100/pk	1509-1800和 1515-1748
PTFE 滤头	0.45 µm, 直径13 mm, 200/pk	AS041345

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

花生油中 16 种邻苯二甲酸酯的分析方法

案例来源：博纳艾杰尔；应用编号：AF10069

前言

邻苯二甲酸酯类是指邻苯二甲酸（Phthalate acid）的酯化衍生物，是塑胶工业中最为常见的塑化剂。在日常及工业上被广泛添加于高分子塑胶产品的生产，如聚氯乙烯（PVC）、聚丙烯（PP）、泡棉，亦可添加于胶合剂、涂料、油墨中。此外应用于地毯衬垫、驱虫剂、头发喷雾剂、指甲油与火箭燃料等，对人类健康有严重危害。人们对儿童用品中的邻苯二甲酸酯最为重视。欧盟于 1999 年就正式作出决定，在欧盟成员国内，对 3 岁以下儿童使用的与口接触的玩具(如婴儿奶嘴)以及其他儿童用品中邻苯二甲酸酯的含量进行严格限制。2005 年 12 月 27 日，欧盟发布新的指令 2005/84/EC 要求：所有玩具及育儿物品中，DEHP、DBP 及 BBP 的含量不得超过 0.1%，所有可以放入儿童嘴中的玩具及育儿物品，DINP、DIDP 及 DNOP 的含量不得超过 0.1%。

实验材料

主要仪器设备

Agilent 气相色谱串连质谱仪。

试剂材料

乙腈、二氯甲烷均为色谱纯；正己烷为农残级；30%二氯甲烷/正己烷溶液：量取 30 mL 二氯甲烷，用正己烷稀释至 100 mL。

16 种邻苯二甲酸酯标准品（纯度 99%）：正己烷溶解；

Cleanert® PSA 玻璃柱：1 g/6 mL。

样品制备

样品提取

方法一：称取花生油样品 1 g 于 40 mL 玻璃样品瓶中，加入 2 mL 正己烷，10 mL 乙腈，涡旋 2 min，4000 r/min 离心 2 min，取上层清液转移至另一干净样品瓶中。剩余液体加入 10 mL 乙腈重复提取一次，合并两次上清液，于 40°C 氮吹至干，加入 2 mL 正己烷溶解，作为待净化液。

方法二：称取花生油样品 1 g 于 40 mL 玻璃样品瓶中，加入 2 mL 正己烷，10 mL 乙腈，涡旋 2 min，4000 r/min 离心 2 min，取上层清液转移至另一干净样品瓶中。剩余液体加入 10 mL 乙腈重复提取一次，合并两次上清液，于 40°C 氮吹至剩余 5 mL 左右，作为待净化液。

样品净化

方法一：将 Cleanert PSA 玻璃柱依次用 5 mL 二氯甲烷，5 mL 正己烷活化平衡，将上述提取方法一中的待净化液全部上样于小柱上并收集流出液，然后用 5 mL 正己烷清洗装上样液的样品瓶，将洗涤液全部上于小柱上，收集流出液，最后用 5 mL 30%二氯甲烷/正己烷溶液洗脱小柱，合并三次流出液，于 40°C 下氮吹至近干，正己烷定容至 1 mL，待检测。

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

方法二：将 Cleanert PSA 玻璃柱依次用 5 mL 二氯甲烷，5 mL 乙腈活化平衡，将上述提取方法二中的待净化液全部上样于小柱上并收集流出液，然后用 5 mL 乙腈清洗装上样液的样品瓶，将洗涤液全部上于小柱上，收集流出液，合并两次流出液，于 40°C 下氮吹至近干，正己烷定容至 1 mL，待检测。

注：上述操作步骤均可在 Qdaura® 卓睿全自动固相萃取仪上完成。

实验条件

色谱柱：DA-5MS 色谱柱，30 m × 0.25 mm × 0.25 μm；

进样口温度：250°C；

载气：氦气，纯度 ≥ 99.999%；

流速：1 mL/min；

电离方式：EI 源；

离子源温度：230°C；

溶剂延迟：7 min；

进样方式：不分流进样；

样量：1 μL；

程序升温：50°C 保持 1 min，以 20°C/min 升至 220°C 保持 1 min，再以 5°C/min 升至 280°C 保持 4 min。

表 1 16 种邻苯二甲酸酯类化合物定量离子及辅助定量离子

序号	中文名称	英文缩写	定量离子	辅助定量离子
1	邻苯二甲酸二甲酯	DMP	163	163、77
2	邻苯二甲酸二乙酯	DEP	149	149、177
3	邻苯二甲酸二异丁酯	DIBP	149	149、223
4	邻苯二甲酸二丁酯	DBP	149	149、223
5	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	DMEP	59	59、149、193
6	邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯	BMPP	149	149、251
7	邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯	DEEP	45	45、72
8	邻苯二甲酸二戊酯	DPP	149	149、237
9	邻苯二甲酸二己酯	DHXP	149	104、149、76
10	邻苯二甲酸丁基苄基酯	BBP	149	149、91
11	邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	DBEP	149	149、223
12	邻苯二甲酸二环己酯	DCHP	149	149、167
13	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	DEHP	149	149、167
14	邻苯二甲酸二苯酯	—	225	225、77
15	邻苯二甲酸二正辛酯	DNOP	149	149、279
16	邻苯二甲酸二壬酯	DNP	149	57、149、71

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

结果与讨论

实验结果

由表 2 可知, 采用 SN/T 3137-2012 方法处理花生油中的邻苯二甲酸酯, 邻苯二甲酸二(2-甲氧基) 乙酯和邻苯二甲酸二苯酯的回收率不能满足要求, 而优化的两种前处理方法, 所有目标物的回收率均能够满足要求, 在 70% ~ 120% 之间, 方法二的回收率要比方法一的回收率稍好。

表 2 16 种邻苯二甲酸酯前处理方法加标实验结果(n=3, 添加水平 2 mg/kg)

峰号	化合物	简称	保留时间	SN/T 3137-2012		方法一		方法二	
				平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%
1	邻苯二甲酸二甲酯	DMP	8.347	71.5	7.7	95.5	1.4	75.0	6.2
2	邻苯二甲酸二乙酯	DEP	9.213	99.3	8.3	98.7	1.6	85.6	4.8
3	邻苯二甲酸二异丁酯	DIBP	11.009	104.9	2.9	92.5	2.4	89.9	4.5
4	邻苯二甲酸二丁酯	DBP	11.796	106.1	3.8	89.1	2.8	90.2	4.0
5	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	DMEP	12.106	60.8	7.9	87.4	5.2	112.9	2.7
6	邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯	BMPP	12.84	107.0	3.4	88.8	2.6	83.3	1.4
7	邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯	DEEP	13.21	23.6	3.1	86.8	6.8	99.6	2.7
8	邻苯二甲酸二戊酯	DPP	13.653	105.1	4.4	88.8	2.0	87.6	2.4
9	邻苯二甲酸二己酯	DHXP	15.882	104.9	5.4	87.7	1.7	87.1	1.8
10	邻苯二甲酸丁基苄基酯	BBP	16.007	92.8	8.7	87.7	0.3	91.6	1.6
11	邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	DBEP	17.482	92.6	10.6	88.1	1.6	95.4	2.3
12	邻苯二甲酸二环己酯	DCHP	18.16	104.3	4.3	87.1	1.6	87.5	2.1
13	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	DEHP	18.35	105.4	9.5	97.8	3.6	82.9	4.2
14	邻苯二甲酸二苯酯	—	18.482	未检出	未检出	70.0	0.5	106.3	2.2
15	邻苯二甲酸二正辛酯	DNOP	20.925	104.7	4.9	84.5	2.4	97.1	0.9
16	邻苯二甲酸二壬酯	DNP	21.595 97.2		6.8	103.8	3.4	116.4	2.8

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

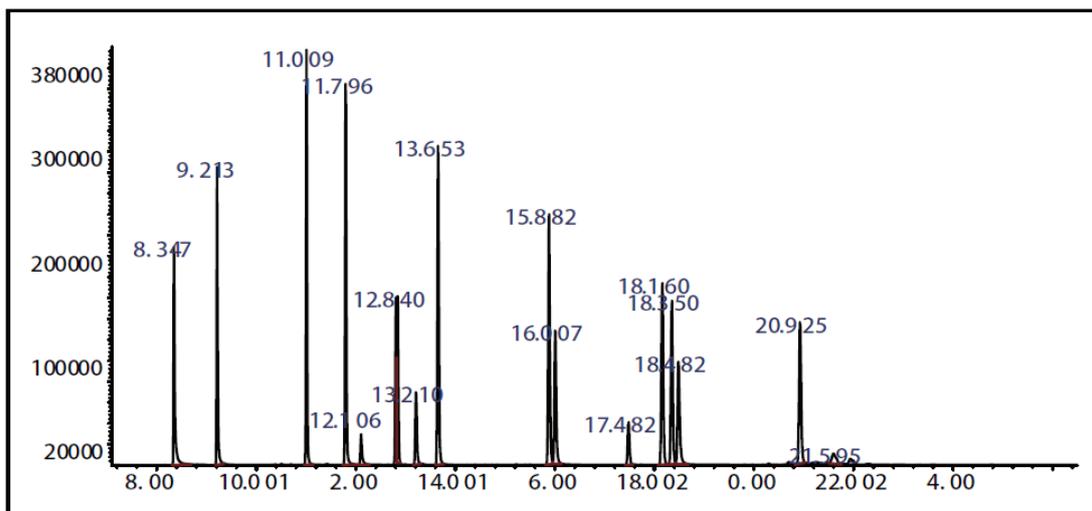


图 1. 2 µg/mL 16 种邻苯二甲酸酯标准溶液色谱图

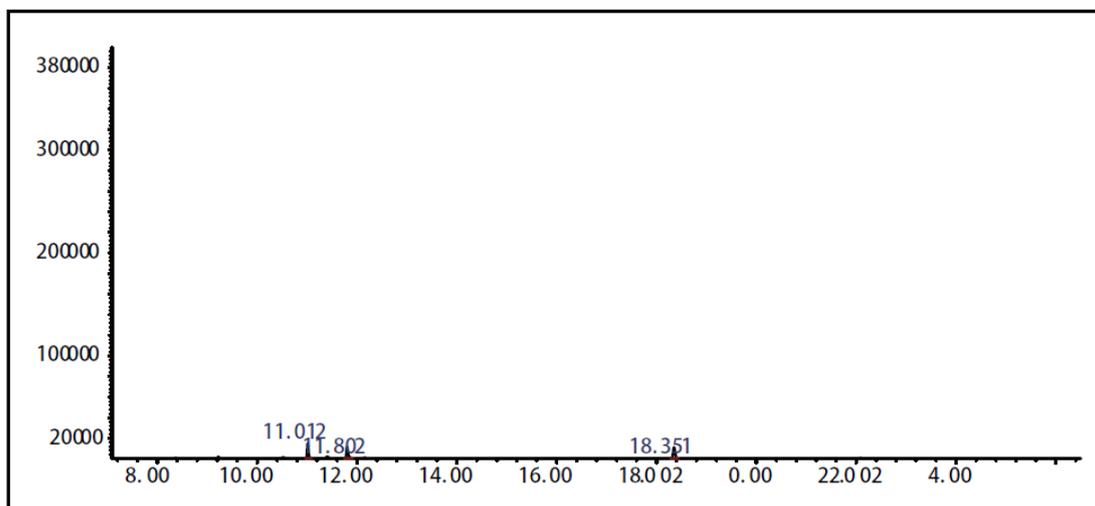


图 2. 花生油基质空白色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

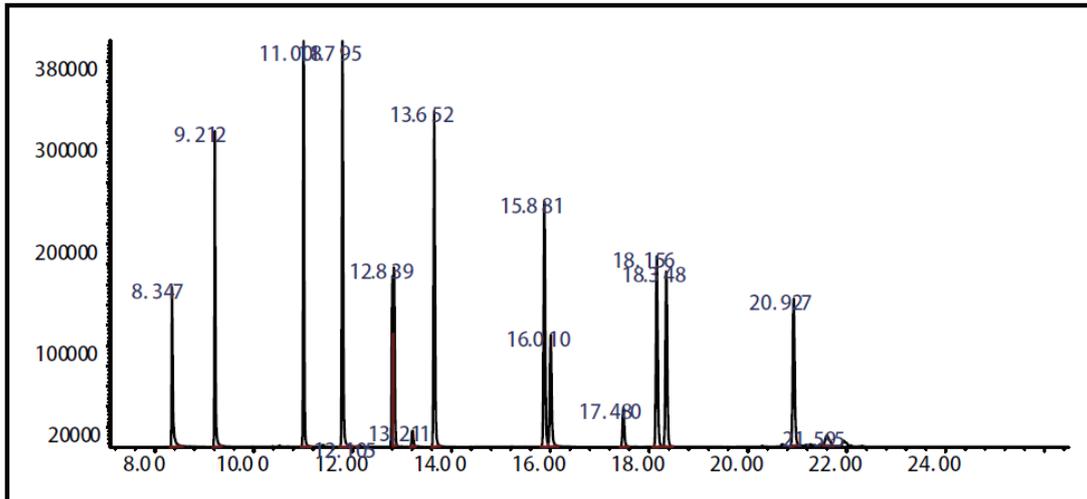


图 3. 花生油基质 SN/T 3137-2012 方法处理 2 mg/kg 加标色谱图

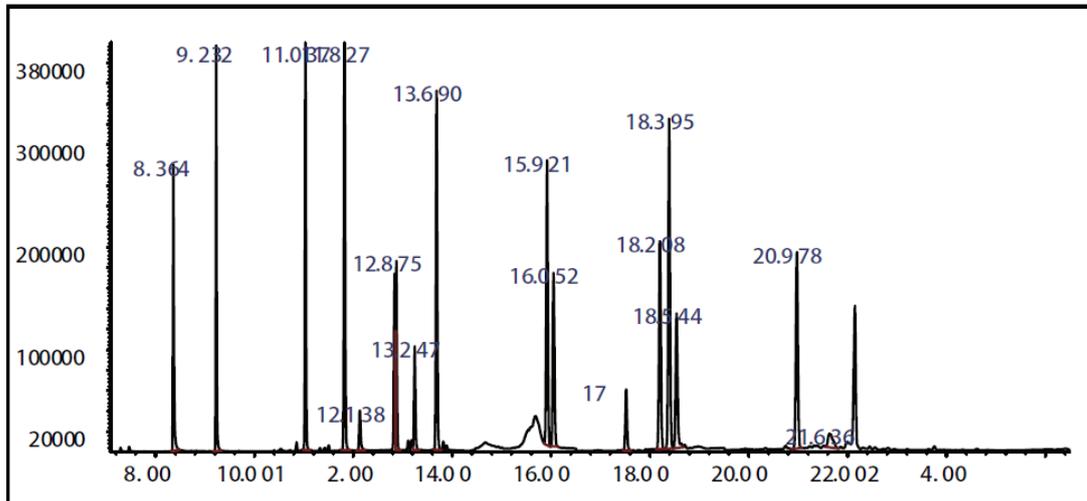


图 4. 花生油基质方法一处理 2 mg/kg 加标色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

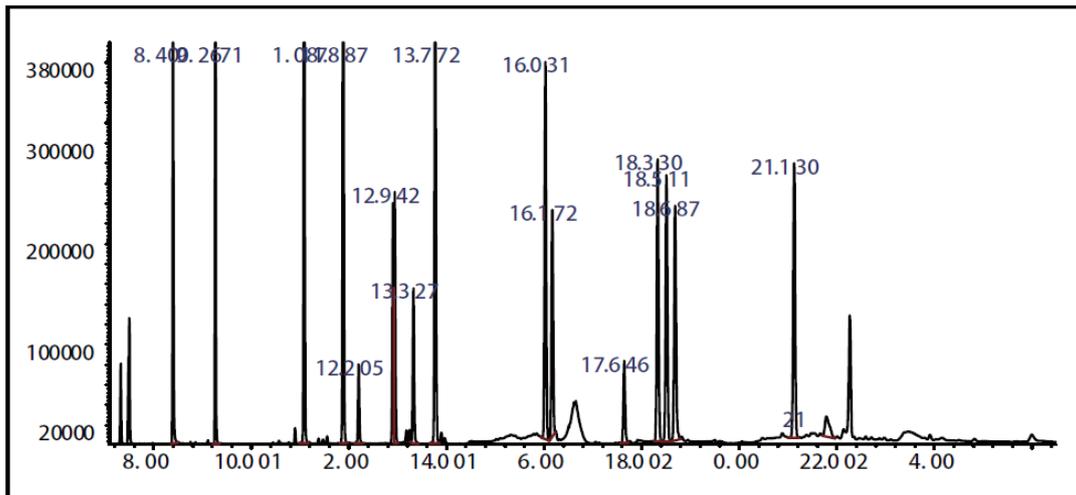


图 5. 花生油基质方法二处理 2 mg/kg 加标色谱图

结论

本实验依据 SN/T 3137-2012, 优化出两种处理 16 种邻苯二甲酸酯的 SPE 方法, 并结合 GC/MS 对加标量为 2 mg/kg 的样品进行了测定。结果在 70% ~ 120%之间, 且稳定性良好。方法二的回收率要优于方法一的回收率, 但是除油效果是方法一最佳。说明两种方法均可用于测定植物油中 16 种邻苯二甲酸酯的残留。

相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST1116	邻苯二甲酸二甲酯	Dimethyl phthalate	131-11-3
1ST1118	邻苯二甲酸二乙酯(DEP)	Diethyl phthalate	84-66-2
1ST1119	邻苯二甲酸二异丁酯(DIBP)	Diisobutyl phthalate	84-69-5
1ST1114	邻苯二甲酸二丁酯	Di-n-butyl phthalate	84-74-2
1ST1122	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯	Bis(2-methoxyethyl) phthalate	117-82-8
1ST1124	邻苯二甲酸双(4-甲基-2-戊)酯	Bis(4-methyl-2-pentyl) Phthalate	146-50-9
1ST1123	邻苯二甲酸双(2-乙氧基乙)酯	Bis(2-ethoxyethyl) phthalate	605-54-9
1ST1117	邻苯二甲酸二戊酯(DPP)	Di-n-pentyl phthalate	131-18-0
1ST1120	邻苯二甲酸二正己酯(DNHP)	Di-n-hexyl phthalate	84-75-3
1ST1111	邻苯二甲酸丁基苄基酯	Benzyl n-butyl phthalate	85-68-7
1ST1113	邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯	Bis(2-butoxyethyl) phthalate	117-83-9
1ST1115	邻苯二甲酸二环己酯	Dicyclohexyl phthalate	84-61-7
1ST1125	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	117-81-7
1ST1112	邻苯二甲酸二苯酯	Diphenyl phthalate	84-62-8

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



First Standard
Analytical Reference Standards
分析检测标准品

1ST1121	邻苯二甲酸二正辛酯	Di-n-octyl phthalate	117-84-0
1ST1126	邻苯二甲酸二壬酯	Di-n-nonyl phthalate	84-76-4

订货信息

订货号	名称	规格
PA0006-G	Cleanert® PSA 玻璃柱	1 g/6 mL, 30/pk
1525-3002	DA-5MS	30 m × 0.25 mm × 0.25 μm
SPE-40	Qdaura® 卓睿全自动固相萃取仪	24 位, 无本底
NV15-M	氮吹仪	15 位
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写处 32 × 11.6 mm, 100/pk
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫 45°Shore A; 1.0 mm, 100/pk

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

辣椒油中罗丹明 B 的分析方法

案例来源: 博纳艾杰尔; 应用编号: AF10029

应用简介

本实验采用固相萃取结合高效液相色谱的方法,建立了辣椒油中罗丹明 B 的检测方法。样品经 20%丙酮的正己烷溶液 (V/V) 提取, Cleanert Alumina-N 固相萃取柱净化, Venusil MPC18 色谱柱 (4.6 × 150 mm, 5 μm, 100 Å) 分离, 水和甲醇为流动相进行洗脱, 外标法进行定量。结果表明, 罗丹明 B 添加量为 0.05 mg/kg 时, 回收率在 90% ~ 100% 之间, 能够满足检测要求。

前言

罗丹明 B (Rhodamine B) 又称玫瑰红 B, 或碱性玫瑰精, 俗称花粉红, 是一种具有鲜桃红色的人工合成的染料。经老鼠试验发现, 罗丹明 B 会引致皮下组织生肉瘤, 被怀疑是致癌物质。罗丹明 B 在溶液中有强烈的荧光, 用作实验室中细胞荧光染色剂、有色玻璃、特色烟花爆竹等行业。曾经用作食品添加剂, 但后来实验证明罗丹明 B 会致癌, 现在已不允许用作食品染色。

因此通过有效的实验技术手段, 对辣椒油中的有关罗丹明 B 残留进行监控, 以确保消费者对辣椒油消费的安全具有重要意义。

本实验通过优化前处理方法建立了罗丹明 B 在辣椒油中的高效液相色谱的检测方法。

实验部分

仪器、试剂与材料

主要仪器设备

高效液相色谱仪 (紫外检测器);
博纳艾杰尔 12 位负压 SPE 装置。

试剂材料

丙酮、甲醇、正己烷为色谱纯; 实验用水为超纯水; 罗丹明 B 标准品 (纯度 99%);
一次性无菌注射器; Nylon 针式过滤器 (0.45 μm, 直径 13 mm);
Cleanert Alumina-N 固相萃取柱: 2000 mg/6 mL

样品制备

样品提取

称取 1 g 辣椒油于 40 mL 玻璃瓶中, 加入 10 mL 20% 丙酮的正己烷溶液 (V/V), 振荡摇匀后待净化。

样品净化

先将小柱用 6 mL 正己烷活化平衡, 然后将待净化液过柱, 弃去全部流出液, 然后用 10 mL 20% 丙酮的正己烷溶液 (V/V) 进行淋洗, 最后用 10 mL 2% 氨化甲醇 (V/V) 洗脱。收

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室
邮编: 300457
电话: (0086) 22-6537-8550
QQ: 2850791073
邮箱: sales@altascientific.com
网址: www.altascientific.com.cn

集洗脱液于 40°C 氮气吹干, 用 1 mL 甲醇溶解残留物, 过 0.45 μm Nylon 针式过滤器后待测。以上净化步骤可用卓睿全自动固相萃取仪完成。

实验条件

液相条件

色谱柱: Venusil MP C18, 5 μm , 100 \AA , 4.6 \times 150 mm

流动相: 甲醇: 水=75: 25 (V/V)

柱温: 30°C

进样量: 20 μL

检测波长: 550 nm

结果与讨论

实验结果

由表 1 可知, 采用固相萃取结合液相色谱法检测罗丹明 B, 辣椒油基质加标回收率在 90% 以上, 能够满足标准要求。

表 1. 辣椒油中罗丹明 B 加标回收实验结果

物质名称	保留时间	添加水平/mg/kg	平均回收率/%	RSD/%
罗丹明 B	5.578	0.05	95.7	1.3

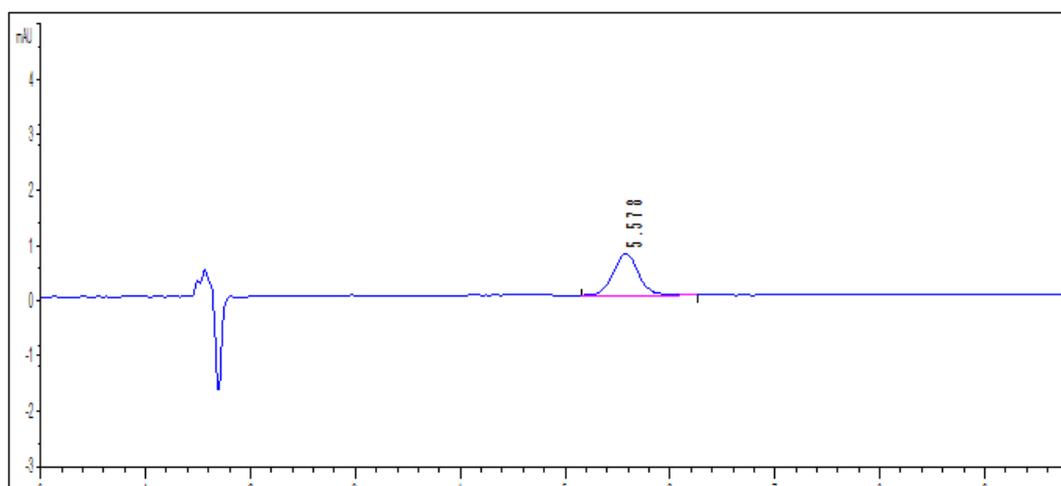


图 1. 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 罗丹明 B 标准溶液液相色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

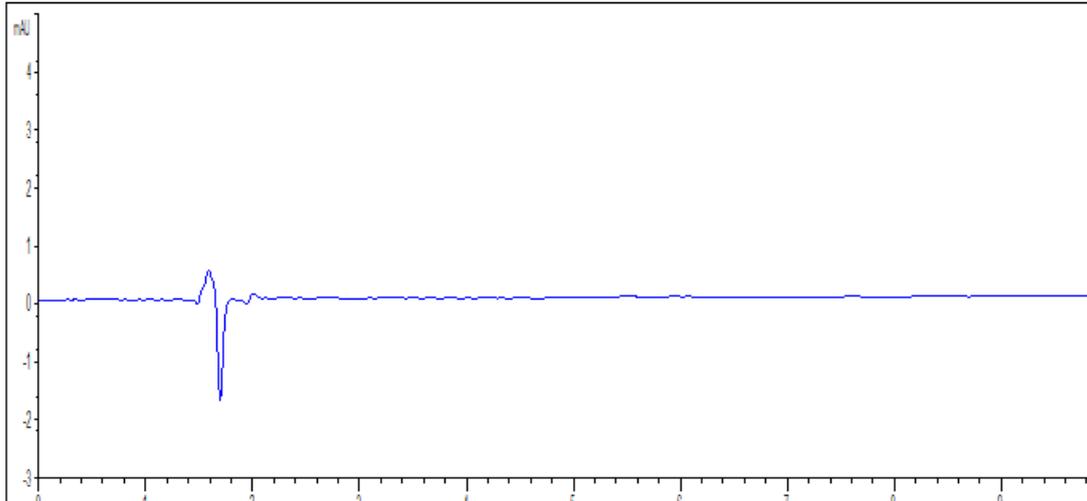


图 2. 辣椒油基质空白液相色谱图

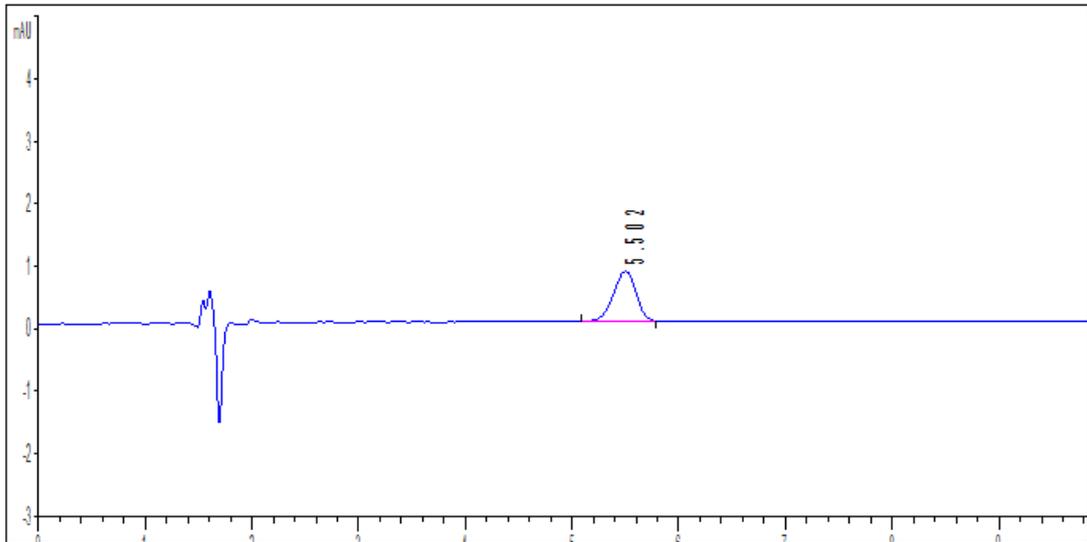


图 3. 0.05 mg/kg 辣椒油基质加标液相色谱图

结论

本实验建立了辣椒油中罗丹明 B 残留量的检测方法，并结合高效液相色谱对辣椒油中罗丹明 B 的含量进行了测定。对于加标量为 0.05 mg/kg 的辣椒油样品，回收率在 90% ~ 100% 之间，符合实验要求。

相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST2432	罗丹明 B	Rhodamine B chloride	81-88-9

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

附：相关产品

订货号	产品名称	规格描述	包装数量
VA951505-0	Venusil MP C18	5 μm , 100 \AA , 4.6 \times 150 mm	1 支
AL20006N	Cleanert Alumina-N	2000 mg/6 mL	30 支/包
SPE-40	Qdaura [®] 卓睿全自动固相萃取系统	4 通道	1 台
NV15-M	15 位氮吹仪	15 位	1 台
SH-100	保护柱套	适用于 4.6 \times 10 mm 和 2.1 \times 10 mm	1 支
VA950105-0S	直联式保护柱芯	5 μm , 100 \AA ; 4.6 \times 10 mm	4 支/包
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写处 32 \times 11.6 mm	100/pk
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫 45 $^{\circ}$ Shore A; 1.0 mm	100/pk
AS021345	Nylon 针式过滤器	单膜, 13 mm, 0.45 μm	200 个/包
LZSQ-2ML	一次性注射器	2 mL 无针头	100 支/包

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

鸭血中苏丹红的分析方法

案例来源: 博纳艾杰尔; 应用编号: AF10120

应用简介

本实验建立了鸭血中苏丹红的前处理方法, 采用 Cleanert® Sudan 小柱结合液相色谱的检测方法, 对鸭血中的苏丹红进行了测定。样品经正己烷提取, Cleanert® Sudan 小柱净化, 二氯甲烷洗脱, 以 97% 的乙腈水溶液为流动相, Venusil MP C18 (5 μm, 100 Å, 4.6 × 150 mm) 色谱柱进行检测, 外标法定量。结果表明, 当苏丹红加标量为 12 mg/kg 时, 回收率在 85% ~ 95% 之间, 能够满足检测要求。

前言

苏丹红是一种化学染色剂, 并非食品添加剂。它的化学成份中含有一种叫萘的化合物, 该物质具有偶氮结构, 由于这种化学结构的性质决定了它具有致癌性, 对人体的肝肾器官具有明显的毒性作用。苏丹红属于化工染色剂, 主要是用于石油、机油和其他的一些工业溶剂中, 目的是使其增色, 也用于鞋、地板等的增光, 又名“苏丹”。苏丹红共分为苏丹红 I、苏丹红 II、苏丹红 III 和苏丹红 IV, 为亲脂性偶氮染料, 由于用苏丹红染色后的食品颜色非常鲜艳且不易褪色, 能引起人们强烈的食欲, 一些不法食品企业把苏丹红添加到食品中。常见的添加苏丹红的食品有辣椒粉、辣椒油、红豆腐, 红心禽蛋等。1995 年欧盟(EU)等国家已禁止其作为色素在食品中进行添加, 对此我国也明文禁止。本文建立了鸭血中苏丹红残留量的前处理方法, 回收率能够满足检测要求, 且方法简单、稳定。

实验部分

仪器、试剂与材料

主要仪器设备

Agilent 1100 液相色谱仪;

卓睿全自动固相萃取仪。

试剂材料

正己烷、二氯甲烷、异丙醇、乙腈均为色谱纯; 实验用水为超纯水;

四种苏丹红混合标准溶液: 正己烷溶解;

Cleanert® Sudan 固相萃取小柱: 500 mg/6 mL。

样品制备

样品提取

称取均质好的鸭血样品 1 g, 置于 50 mL 离心管中, 加入 1 mL 水, 再加入 5 mL 正己烷, 涡旋 3 min, 超声提取 10 min, 以 8000 r/min 离心 10 min, 取上层有机相 3 mL, 加入无水硫酸钠 0.5 g, 涡旋 0.5 min, 静置, 取上层清液作为待净化液。

样品净化

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

将 Cleanert® Sudan 小柱依次用 5 mL 二氯甲烷, 5 mL 正己烷活化平衡, 将上述待净化液全部上样于小柱上, 再用 1 mL 正己烷洗涤装待净化液的容器, 全部上样于小柱上, 弃去流出液, 用 3 mL 3% 异丙醇/正己烷 (V/V) 溶液洗涤小柱, 弃去流出液, 将小柱抽干, 再用 3 mL 二氯甲烷洗脱小柱, 收集流出液, 于 40°C 下氮吹至干, 用乙腈定容至 1 mL, 过 PTFE 针式过滤器, 待检测。

以上净化步骤可用卓睿全自动固相萃取仪完成。

实验条件

色谱条件

色谱柱: Venusil MP C18, 5 μm , 100 \AA , 4.6 \times 150 mm;

流动相: 97% 乙腈水 (V/V);

柱温: 35°C;

进样量: 20 μL ;

流速: 1 mL/min;

波长: 520 nm

结果与讨论

实验结果

由表 1 可知, 采用 SPE 结合液相色谱的方法检测鸭血中 4 种苏丹红, 加标回收率在 85% ~ 95% 之间, 能够满足检测要求。由图 1 ~ 图 3 可知, 用 Venusil MP C18 色谱柱检测 4 种苏丹红, 分离度和峰形良好, 且保留时间稳定。

表 1. 鸭血中苏丹红加标回收实验结果(添加水平 12 mg/kg)

物质名称	保留时间/min	平均回收率/%	变异系数/%
苏丹红 I	4.174	90.5	3.8
苏丹红 II	5.783	88.5	3.1
苏丹红 III	7.242	86.4	4.6
苏丹红 IV	10.696	86.5	5.3

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



实验谱图

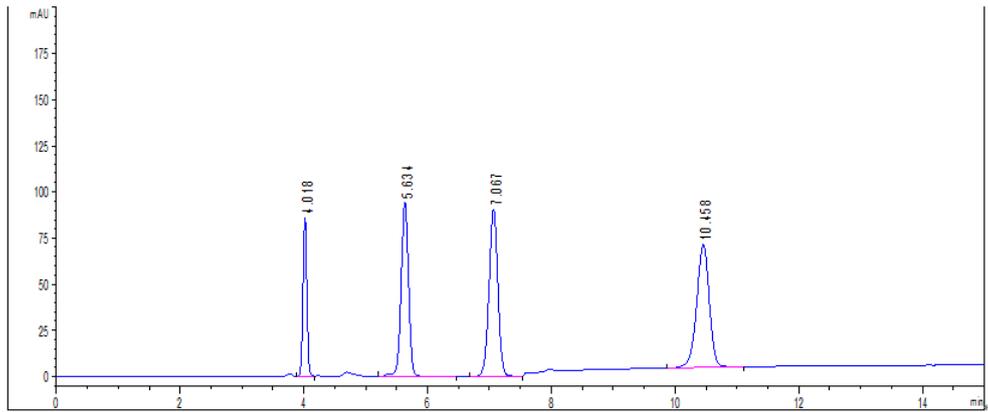


图 1. 12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 4 种苏丹红标样色谱图

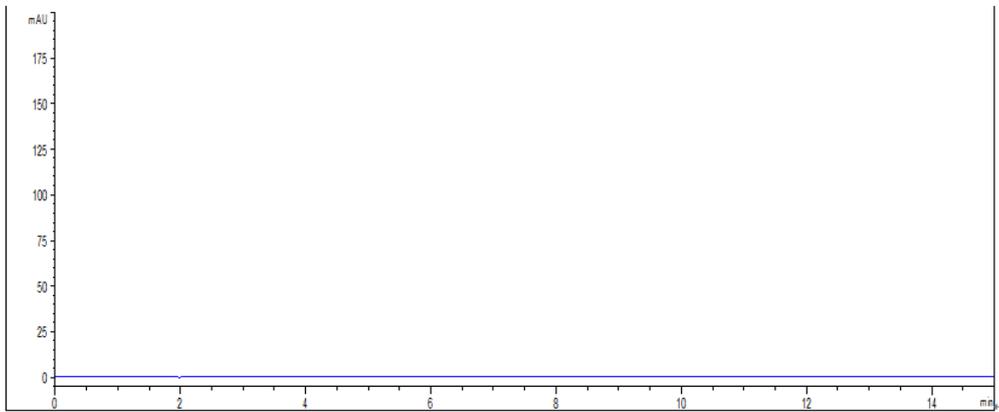


图 2. 鸭血基质空白色谱图

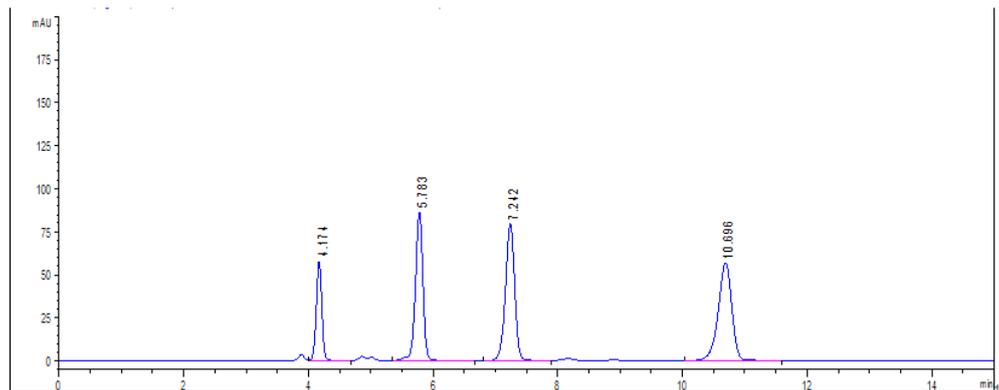


图 3. 鸭血基质 12 mg/kg 加标色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

结论

本实验建立了鸭血中苏丹红的前处理方法，并结合液相色谱对加标量为 12 mg/kg 的样品进行了检测。实验结果表明，对于加标量为 12 mg/kg 的样品，四种苏丹红的回收率均在 85% ~ 95% 之间，且变异系数小于 10%，能够满足检测要求。说明 Cleanert Sudan 小柱可以用于鸭血中苏丹红的检测，且稳定性良好。

相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST2401	苏丹红 1 号	Sudan 1	842-07-9
1ST2402	苏丹红 2 号	Sudan 2	3118-97-6
1ST2403	苏丹红 3 号	Sudan 3	85-86-9
1ST2404	苏丹红 4 号	Sudan 4	85-83-6

附：相关产品

订货号	产品名称	规格描述	包装数量
SD5006	Cleanert® Sudan	500 mg/6 mL	30 支/包
VA951505-0	Venusil MP C18	5 μm, 100 Å, 4.6 × 150mm	1 支
SH-100	保护柱套	适用于 4.6 × 10 mm 和 2.1 × 10 mm	1 支
VA950105-0S	直联式保护柱芯	5 μm, 150 Å; 4.6 × 10 mm	4支/包
SPE-40	卓睿全自动固相萃取仪	4 通道, 24 位	1 台
1109-0519	1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写处 32 × 11.6 mm	100/pk
NV15-M	氮吹仪	15 位	1 台
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫 45° Shore A; 1.0 mm	100/pk
AS041345	PTFE 针式过滤器	单膜, 13 mm, 0.45 μm	200个/包
LZSQ-2ML	一次性注射器	2 mL 无针头	100 支/包

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

婴幼儿奶粉中双氰胺的分析方法

案例来源: 博纳艾杰尔; 应用编号: AF10045

前言

北京时间 1 月 25 日凌晨消息, 新西兰牛奶中发现了有害物质——双氰胺。双氰胺又名二氰二胺, 缩写 DICY 或 DCD。虽然国际标准未对食品中的双氰胺限量, 但高剂量的双氰胺对人体是有毒的。

针对婴幼儿奶粉中基质复杂的特点, 本方法加大了净化材料的用量, 以获得了更好的净化效果。采用天津博纳艾杰尔科技的新一代的 Cleanert®MAS-QuChERS-双氰胺净化管 (500 mg/15 mL, 货号: MS-SQA02) 和 Venusil® HILIC 液相色谱柱, 建立了奶粉中双氰胺的 MAS-QuEChERS 快速前处理方法和 LC-UV 以及 LC-MS/MS 检测方法。

1 实验部分

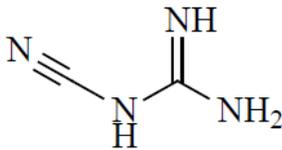
1.1 仪器、试剂与材料

高效液相色谱仪, 涡旋振荡器, 超声波清洗机, 氮吹仪。

双氰胺标准品 (CAS: 461-58-5; FW=84.08), 新一代 Cleanert® MAS-QuChERS-双氰胺净化管, Venusil® HILIC 液相色谱柱, 微孔滤膜, 乙酸铵、乙酸、乙腈为色谱纯, 实验用水为超纯水。

样品: 新西兰婴儿配方奶粉 (0~6 个月)

表 1 双氰胺的信息

名称	结构式	分子量	CAS
双氰胺		84.08	461-58-5

1.2 实验步骤

称取 1 g 试样于 50 mL 具塞离心管中, 加 2 mL 水, 涡旋 30 s, 加 2 mL 乙腈涡旋 30 s。再往现有的提取液中加 2 mL 乙腈, 重复上述提取步骤。再将该提取步骤重复 2 次, 得到共计约 10 mL 的提取液。以 4000 r/min 离心 5 min, 将全部上清液加入新一代 Cleanert® MAS-QuChERS 管中 (500 mg/15 mL), 将 MAS 管上下晃动 30 s, 然后涡旋 30 s 后, 8000 r/min 离心 5 min, 取全部上清液 (约 10 mL) 于玻璃试管中, 50°C 下氮气吹干, 加入 1 mL 乙腈-水混合溶液 (97:3) 复溶, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 待测。

注: 1. 做基质加标实验时的标准溶液建议选择以水为溶剂, 防止加标瞬间发生蛋白沉淀;

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



- 2.乙腈提取分 4 次，为防止乙腈体积过多时沉淀蛋白速度过快，影响提取效果；
- 3.净化液氮气吹干后，如发现有少量油脂，可采用 1 mL 乙腈：水（97:3）混合溶液复溶，之后加入 1 mL 正己烷（色谱纯）液液萃取，取下层溶液过 0.22 μm 微孔滤膜，进样检测。

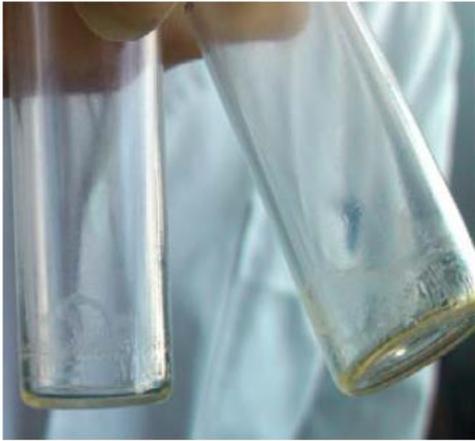


图 1 净化液氮吹后



图 2 乙腈复溶

1.3 实验条件

1.3.1 高效液相色谱法（HPLC 法）：

色谱柱：Venusil® HILIC（5 μm ，100 \AA ，4.6 \times 250mm）；

流动相：10 mmol/L 乙酸铵（pH=4.0）：乙腈=15: 85；

波长：220 nm；进样量：10 μL ；柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ ；流速：0.8 mL/min。

1.3.2 LC-MS/MS 法：

（1）色谱条件：

色谱柱：Venusil® HILIC（5 μm ，100 \AA ，2.1 \times 150mm）；

流动相：A：0.5 mmol/L 乙酸铵（pH=4.0）

B：乙腈；

进样量：10 μL ；柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ ；流速：0.3 mL/min。

表 2 流动相梯度程序

时间, min	A%	B%
0	10	90
0.4	50	50
1.8	50	50
1.9	10	90
7	10	90

*备注：本文曾尝试过多种 C18 色谱柱，对双氰胺没有保留，需要使用离子对试剂，但是无法用于 LC-MS/MS；也曾尝试过 MERCK ZIC-HILIC 柱，但是得到双氰胺的峰面积偏差较

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

大, 分析原因是其具有阳离子交换基团, 对双氰胺有不稳定的死吸附。最后确定使用键合丙基酰胺的 Venusil HILIC 柱, 以亲水作用色谱机理对双氰胺进行保留。

(2) 质谱条件:

质谱仪: AB SCIEX API 4000+; 离子源: 电喷雾离子源; 扫描方式: 正离子扫描; 检测方式: 多反应监测; CAD: 8.00; CUR: 20.00; GS1: 60.00; GS2: 50.00; IS: 5500.00; TEM: 600.00。

表 3 双氰胺质谱信息

药物名称	监测离子对	DP	EP	CE	CXP
双氰胺	85.1/68.1	71	10	41	6
	85.1/43.1	71	10	41	6

注: 带“___”的监测离子对为定量离子对。

2 结果与讨论

2.1 高效液相色谱法

2.1.1 双氰胺的液相色谱图

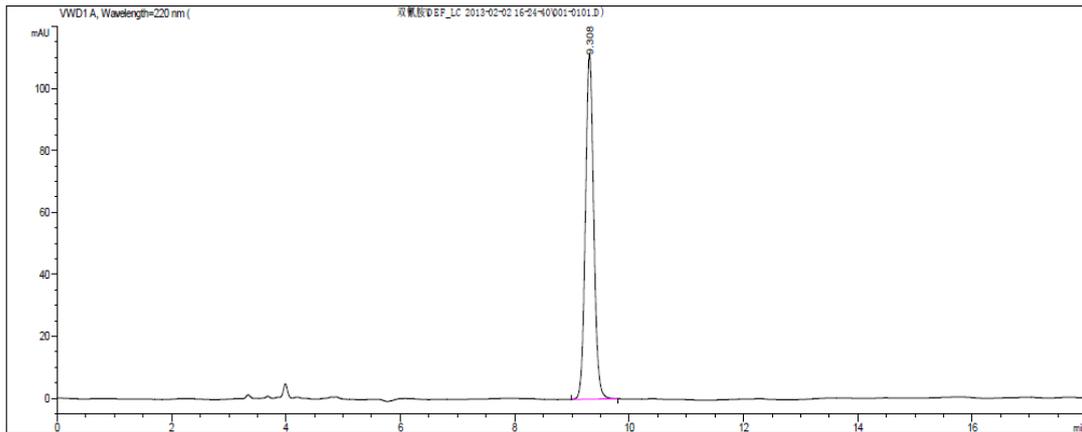


图 3 标准溶液 10µg/ml 谱图

2.1.2 实际样品基质加标的线性关系和检出限

准确称取双氰胺标准品 50mg 于 50mL 容量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 作为标准贮备液; 分别称取 1g 奶粉试样, 添加一定量标准溶液, 配制成含双氰胺为 0.5µg/g, 1µg/g, 2µg/g, 5.0µg/mL 和 10µg/g 的添加样品, 按照上述提取、净化方法操作, 所得净化液按照上述色谱条件, 依次进样检测。以双氰胺含量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 拟合线性方程, 结果见表 4:

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



表 4 双氰胺线性方程和定量限 (HPLC 法)

名称	保留时间	线性方程	相关系数	最低定量限 (S/N=10)
双氰胺	5.57min	$Y=108.16X+27.827$	0.9971	0.5 $\mu\text{g/g}$

2.1.3 准确度和精密度

选取市售某品牌婴幼儿奶粉试样, 进行添加回收实验, 结果见表 5。

表 5 0.5 $\mu\text{g/g}$ 添加回收实验结果 (HPLC 法)

平行 1	平行 2	平行 3	平均值	RSD
82.3%	85.5%	89.1%	85.63%	3.97%

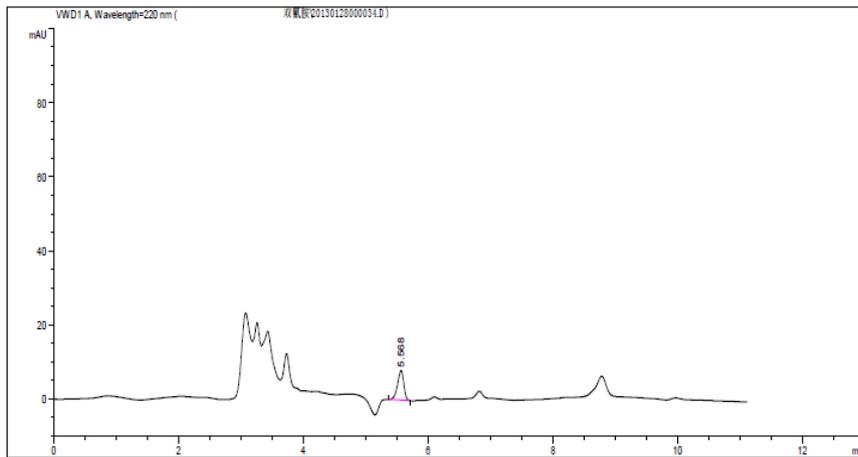


图 4 婴幼儿奶粉 0.5 $\mu\text{g/g}$ 添加双氰胺的液相色谱图

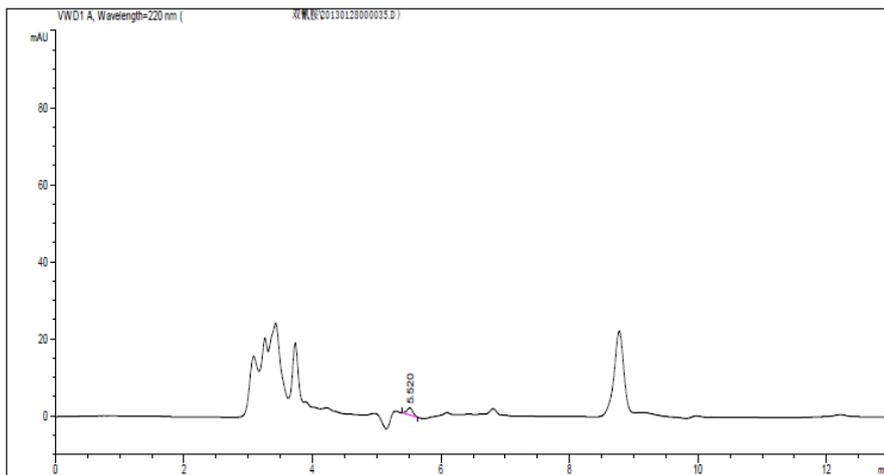


图 5 婴幼儿奶粉空白液相色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

2.2 LC-MS/MS 法

2.2.1 双氰胺的 LC-MS/MS 图

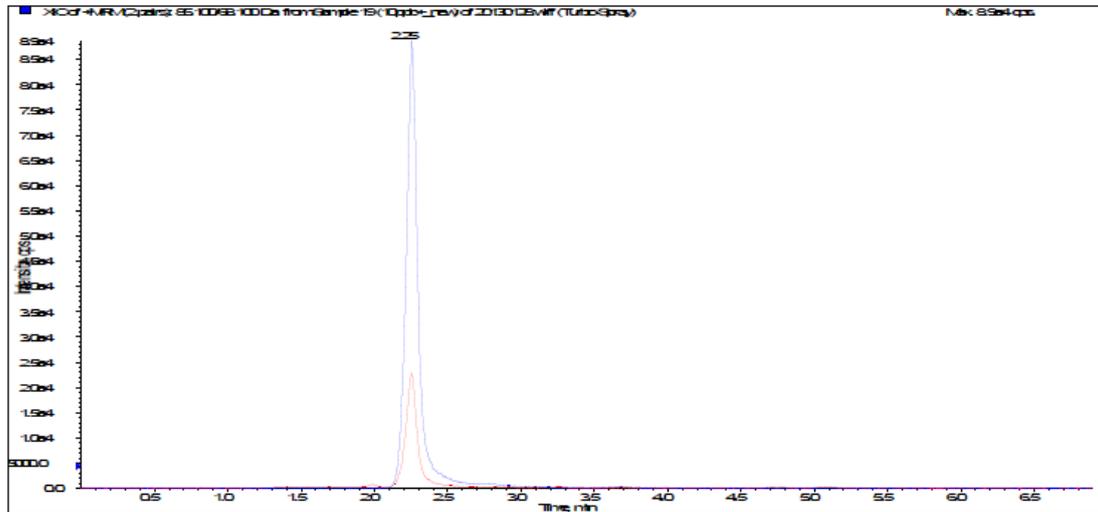


图 4 双氰胺 10 ng/mL 标准溶液质谱图

2.2.2 实际样品基质加标的线性关系和检出限

准确称取双氰胺标准品 50 mg 于 50 mL 容量瓶中，加水溶液并稀释至刻度，作为标准贮备液；分别称取 1 g 奶粉试样，添加一定量标准溶液，配制成含双氰胺为 5 ng/mL, 10 ng/mL, 50 ng/mL, 100 ng/mL 和 200 ng/mL 的添加样品，按照上述提取、净化方法操作，所得净化液按照上述液质条件，依次进样检测。以双氰胺含量为横坐标，峰面积为纵坐标，拟合线性方程，结果见表 6:

表 6 双氰胺线性方程和定量限 (LC-MS/MS 法)

名称	保留时间	线性方程	相关系数	最低定量限(S/N=10)
双氰胺	3.15min	$Y=3859.1X+23694$	0.9900	2ng/g

2.2.3 准确度和精密度

选取市售某婴幼儿奶粉试样，进行添加回收实验，结果见表 7。采用空白样品稀释法判断检测方法的基质效应影响。空白净化液稀释和乙腈稀释的标准溶液，双氰胺峰面积和相对丰度比无明显变化，故判断该方法无基质效应的影响。

表 7 10 ng/g 添加回收实验结果

平行 1	平行 2	平行 3	平均值	RSD
82.5%	83.5%	89.3%	85.2%	4.31%

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

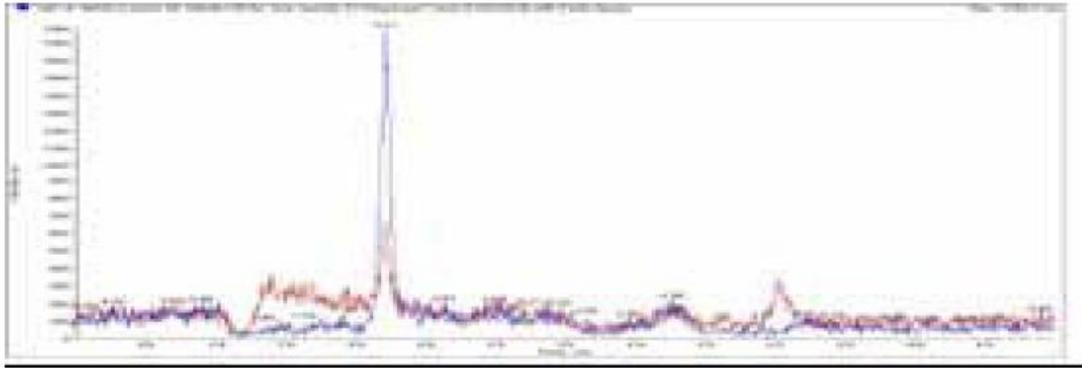


图 7 婴幼儿奶粉空白质谱图

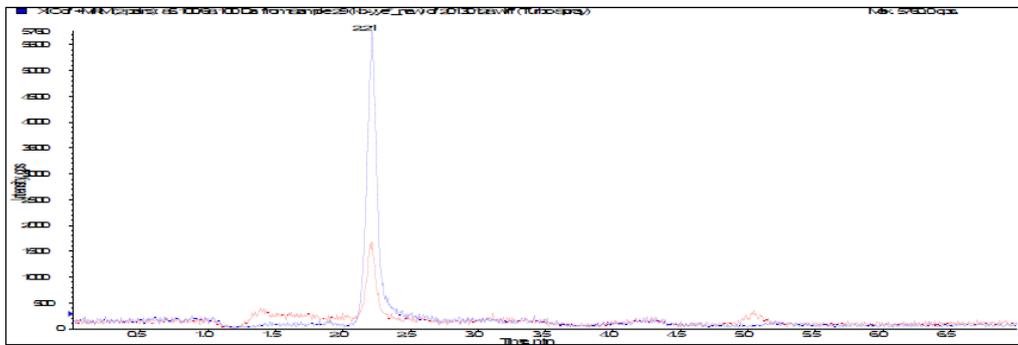


图 8 婴幼儿奶粉 10 ng/g 添加水平的质谱图

3. 相关标准品

订货信息	中文名称	英文名称	CAS#
1ST6601	(双氰胺) 二聚氰胺	Dicyanodiamide	461-58-5

4. 订货指南

货号	产品名称	规格型号
MS-SQA02	新一代 MAS-QuChERS-双氰胺净化管 (填料量加大, 更适合婴幼儿奶粉等复杂样品)	500 mg/15 mL, 50 支/包
MS-SQA01	MAS-QuChERS-双氰胺净化管	100 mg/2 mL, 50 支/包
VH952505-0	Venusil HILIC 液相色谱柱	4.6 × 250 mm, 5 μm, 100 Å
VH951502-0		2.1 × 150 mm, 5 μm, 100 Å
AS021320	针式过滤器	0.22 μm, 直径 13 mm, 200/Pk
DCD-0001	双氰胺对照品	500 mg /瓶, 含量≥99.0%

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



First Standard
Analytical Reference Standards
分析检测标准品

DCD-0002		1 g /瓶, 含量 \geq 99.0%
LXG0050	离心管	50 mL, 带螺纹盖, 25 个/包
ZSQ-5ML	一次性注射器	5 mL,100/pk
NV15-M	15 位氮吹仪	15 位

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

乳制品中 L-羟脯氨酸的测定方法学验证—2,4-二硝基氟苯法

案例来源：博纳艾杰尔；应用编号：AF10093

应用简介

本实验采用高效液相色谱(HPLC)法结合紫外检测器，使用 Venusil®AA 氨基酸专用分析柱，以 1% 的 2,4-二硝基氟苯乙腈溶液为柱前衍生剂，运用外标法，对部分市售乳制品中的 L-羟脯氨酸进行测试。实验结果表明，在波长 360 nm，0.02mol/L 磷酸盐缓冲液与乙腈、甲醇为流动相，于 1.0 mL/min 流速梯度洗脱下，L-羟脯氨酸线性范围为 0.125-6.25 mg/L，相关系数大于 0.999，平均回收率在 85-110%之间，平行样品的相对标准偏差小于 6.0%，方法检出限为 0.8 mg/kg。本方法的灵敏度、准确度和精密度较好，适用于乳制品中 L-羟脯氨酸的检测。

前言

皮革奶，是用皮革水解蛋白生产出来的乳制品，加入到乳制品中的目的是提高产品蛋白含量。皮革水解蛋白本身对人体无害，但由于皮革水解蛋白中混进了大量皮革鞣制、染色过程中添加进来的重铬酸钾和重铬酸钠等有毒物质，长期服用会导致重金属中毒。L-羟脯氨酸是胶原蛋白(皮革水解蛋白)特征性成份之一，而乳制品中的乳蛋白中不存在，故将 L-羟脯氨酸的检测作为判定乳及乳制品中是否含有水解蛋白的依据。

本实验采用 2,4-二硝基氟苯作为衍生剂，使用 Venusil® AA 氨基酸分析专用柱对 5 种市售乳制品中的 L-羟脯氨酸进行测试。

实验部分

仪器、试剂与材料

主要仪器设备

Agilent 1100 高效液相色谱仪、Agela Technology 15 位干式电模块氮吹仪；

试剂材料

色谱柱：Venusil®AA；5 μm；4.6 × 250 mm；

L-羟脯氨酸标准品：白色晶体，纯度≥98%；

2,4-二硝基氟苯：购自 Sigma 公司；

屈臣氏蒸馏水；甲醇、乙腈为色谱纯；

磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、四水合硼酸钠、苯酚、浓盐酸均为分析纯；

水解液：6.0 mol/L 盐酸溶液(含 1% 苯酚)；稀盐酸：0.1 mol/L 盐酸；

0.02mol/L 磷酸盐缓冲液：称取 2.72g 磷酸二氢钾与 4.56g 磷酸氢二钾，加 1000mL 水溶解，即得；

硼酸盐水溶液：准确称取 1.91 g 四水合硼酸钠，加 50 mL 水溶解，混匀；

2,4-二硝基氟苯溶液：1% 的 2,4-二硝基氟苯乙腈溶液；

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



标准储备液：准确称取 10 mg 标准品于 10 mL 容量瓶中，用 0.1 mol/L 盐酸溶解并定容至刻度，即得；

标准工作液：用 0.1mol/L 盐酸稀释标准储备液至 100 µg/mL；

测试对象：市售牛奶、乳品饮料、奶粉、原味酸奶及大果粒酸奶。

样品处理

样品水解

准确称取样品 1.0 g(奶粉样品称取 0.2 g) 样品，置于 12 mL 棕色蛋白水解瓶中，加入 8 mL 水解液，振摇使样品均匀分散于溶液中，然后将水解管置 110±1 °C 烘箱中水解 24 小时，取出冷却，打开水解管，将水解液全部转移至 20 mL 试管中，用 0.1 mol/L 盐酸定容到刻度，混匀，过滤，取续滤液，作为衍生用样品溶液。

样品衍生

准确量取衍生用样品溶液 1.0 mL，置一玻璃管中，至氮吹仪中以 50°C 氮吹至干，残渣加 1.0 mL 稀盐酸复溶，混匀，量取 0.5 mL 置于 5.0 mL 棕色瓶中，加入 0.5 mL 硼酸钠溶液，2,4 二硝基氟苯乙腈溶液 0.5 mL，摇匀，于 60°C 烘箱中加热 1 h，将试管于冷水浴中冷却，用 0.02 mol/L 的磷酸氢二钠与磷酸二氢钠混合溶液定容至 2.0 mL。

L-羟脯氨酸标准曲线的绘制

用 L-羟脯氨酸标准工作液分别制成 0.125、0.25、1.25、2.5、6.25 µg/mL 的系列浓度标准溶液，采用上述衍生方法，使用外标法定量，绘制标准曲线。

色谱条件

色谱柱：Venusil®AA；5 µm；4.6 × 250 mm；

流速：1.0 mL/min；

柱温：30 °C；

波长：360 nm；

进样量：20 µL；

流动相 A：0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液；

流动相 B：乙腈：甲醇=1：1 (v/v)；

梯度：

表 1.梯度洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0	83	17
14	85	15
20	85	15
22	70	30
26	83	17
30	83	17

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn

结果与讨论

方法学考察

标准曲线及检出限

按照上述色谱条件，分别对 L-羟脯氨酸系列标准溶液进样测试，L-羟脯氨酸在浓度 0.125-6.25mg/L 范围内有较好的线性关系，回归方程为 $y=35.962x-0.2802$ ；相关系数为 0.9998，检出限 (S/N=3) 为 0.8 mg/kg。

方法的精密度与回收率

精密度实验

在上述色谱条件下，使用 0.25 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液连续进样 6 次对仪器精密度进行测试，实验结果表明方法重复性好，结果见下表 2。

表 2. 重复性试验数据

	保留时间/min	峰面积
平均值	7.041	9.2
SD	0.04	0.15
RSD/%	0.58	1.61

市售乳制品检测及加标回收实验

按上述的处理方法，对 5 种市售乳制品(牛奶、乳品饮料、奶粉、原味酸奶及大果粒酸奶) 分别进行加标实验，并计算回收率，加标浓度及回收率结果见表 3，L-羟脯氨酸的加标平均回收率在 85-110%之间，相对标准偏差小于 6%，方法的回收率较好。

表 3. 市售乳制品中 L-羟脯氨酸的相关回收率

市售乳制品	加标浓度(mg/Kg)	平均回收率/%	RSD/%
奶粉	13	106.3	5.54
	25	100.0	3.41
	125	109.3	0.54
牛奶	2.6	94.4	3.37
	5	100.0	1.14
	25	95.7	1.31
乳品饮料	2.6	104.1	3.46
	5	103.0	1.27
	25	102.1	1.06
酸奶	2.6	85.4	3.76
	5	95.8	2.47
	25	101.9	2.16
大果粒酸奶	2.6	96.5	3.30

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



	5	95.5	2.38
	25	98.1	1.58

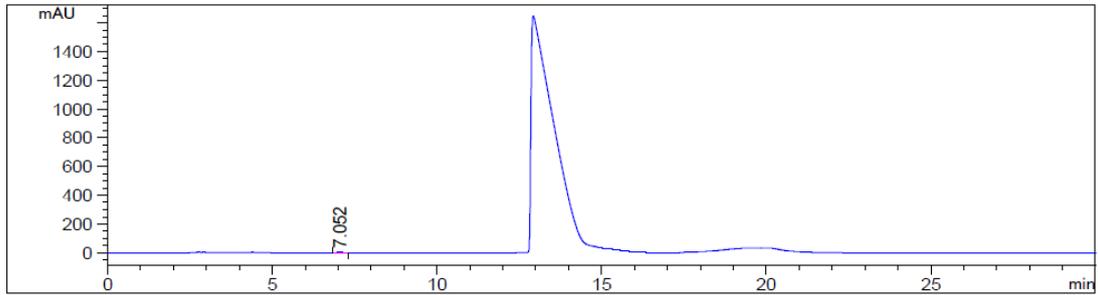


图 1.标准溶液 1.25 µg/mL 高效液相色谱图

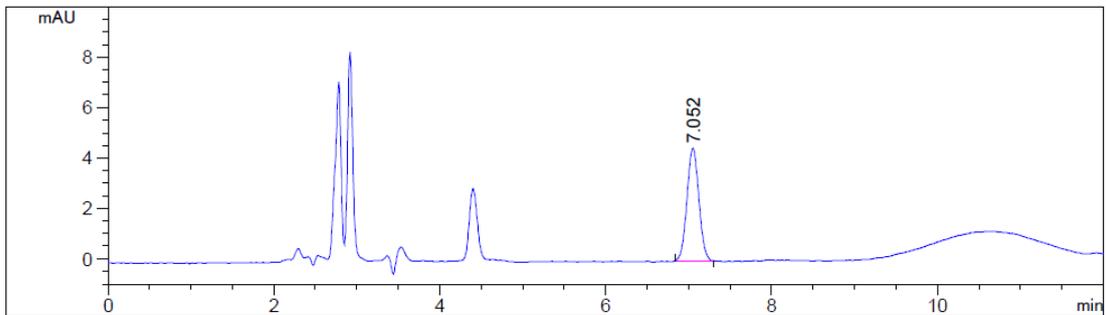


图 2.标准溶液 1.25 µg/mL 高效液相色谱图(纵坐标局部放大图)

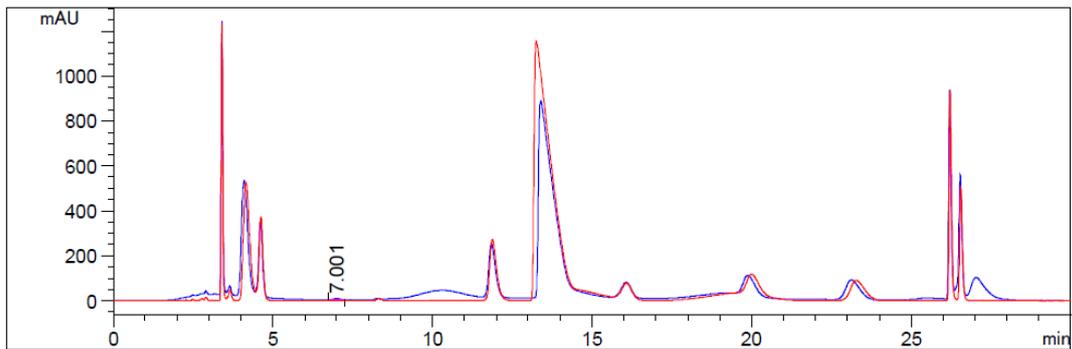


图 3.奶粉空白样品(红色)与加标 125 mg/Kg 样品(蓝色)高效液相色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

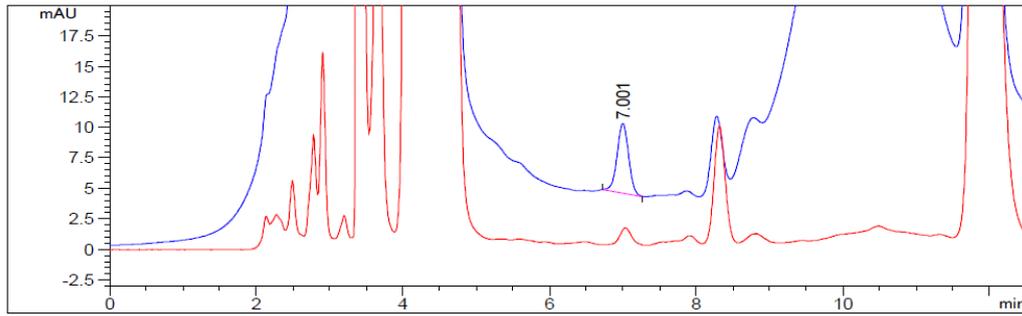


图 4.奶粉空白样品(红色)与加标 125 mg/Kg 样品(蓝色)高效液相色谱图(局部放大图)

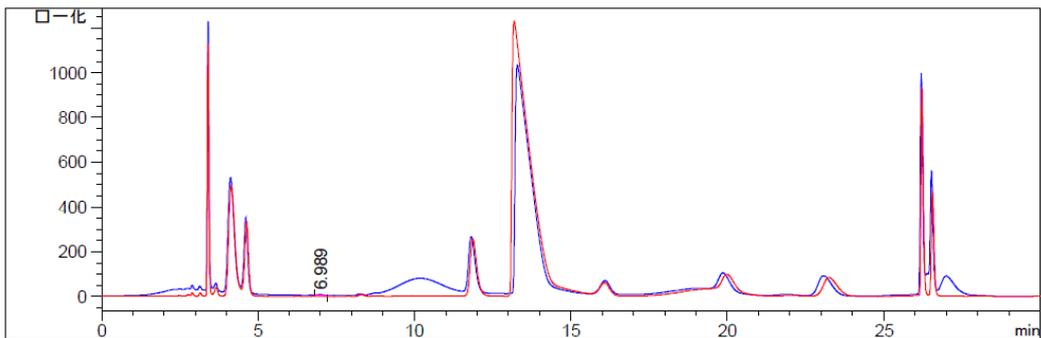


图 5.牛奶空白样品(红色)与加标 125 mg/Kg 样品(蓝色)高效液相色谱图

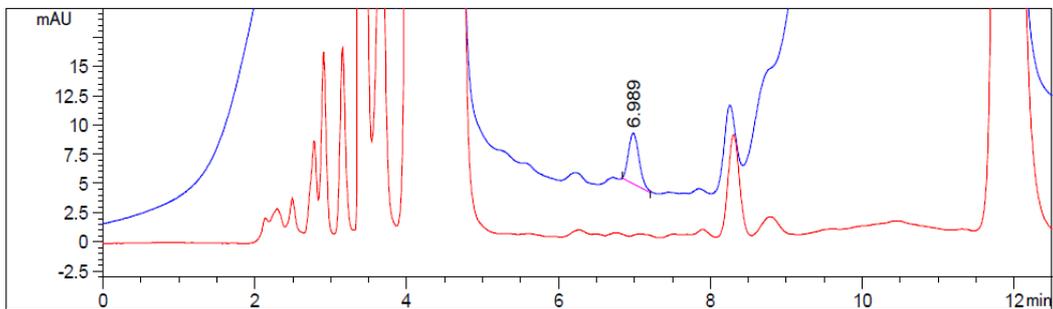


图 6.牛奶空白样品(红色)与加标 125 mg/Kg 样品(蓝色)高效液相色谱图(局部放大图)

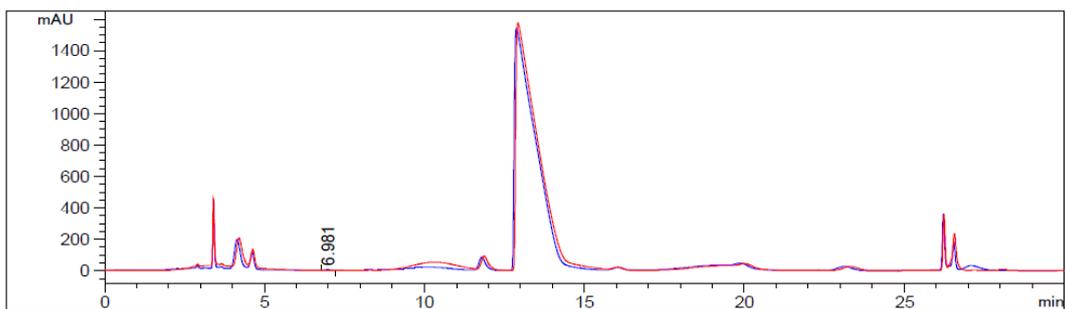


图 7.乳品饮料空白样品(红色)与加标 125 mg/Kg 样品(蓝色)高效液相色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

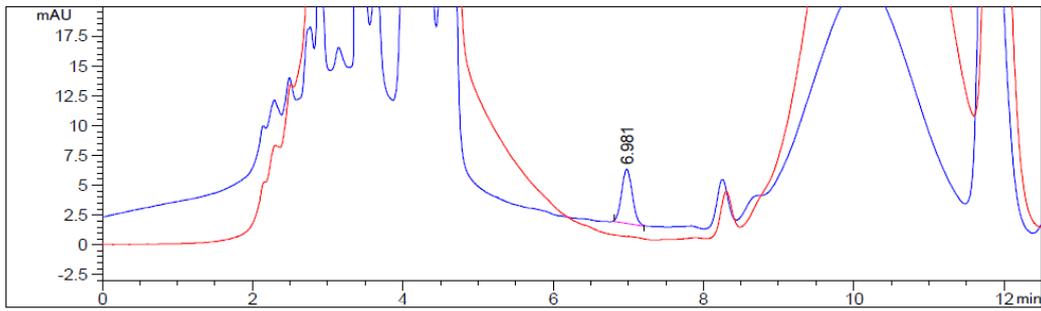


图 8.乳品饮料空白样品(红色)与加标 125 mg/Kg 样品(蓝色)高效液相色谱图(局部放大图)

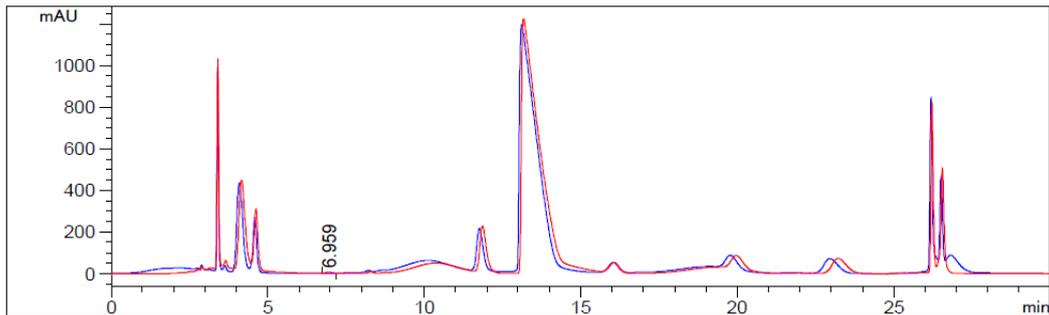


图 9.酸奶空白样品(红色)与加标 125 mg/Kg 样品(蓝色)高效液相色谱图

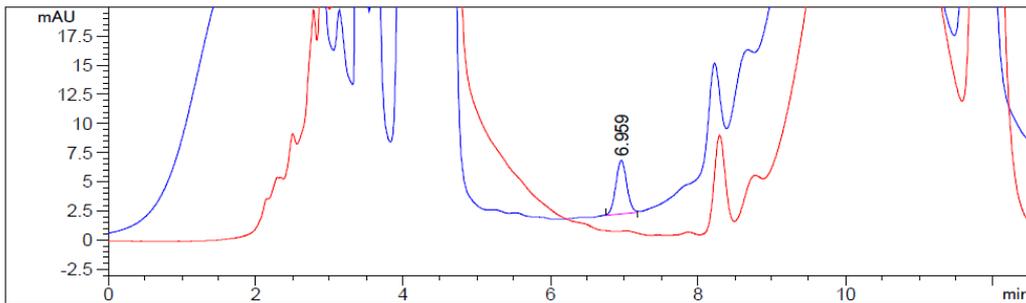


图 10.酸奶空白样品(红色)与加标 125 mg/Kg 样品(蓝色)高效液相色谱图(局部放大图)

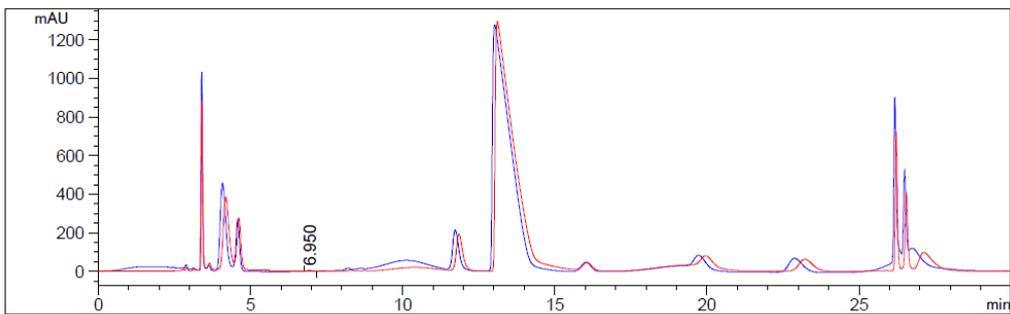


图 11.大果粒空白样品(红色)与加标 125 mg/Kg 样品(蓝色)高效液相色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

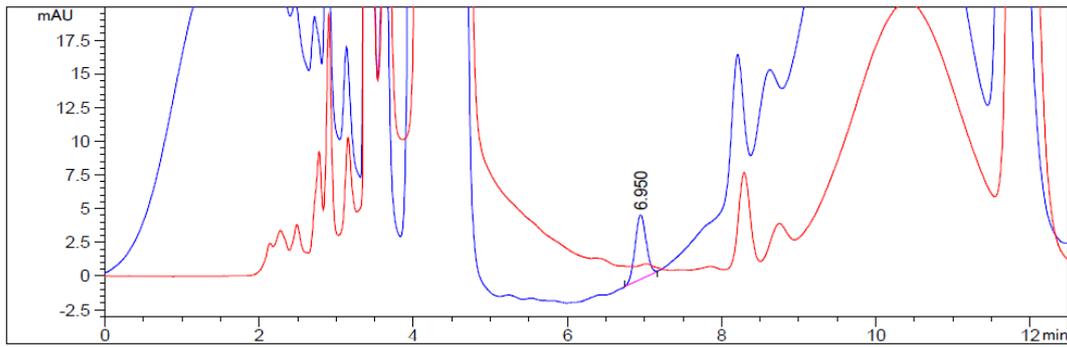


图 12.大果粒空白样品(红色)与加标 125 mg/Kg 样品(蓝色)高效液相色谱图(局部放大图)

结论

根据实验结果,采用 Venusil®AA 氨基酸分析专用柱,以 2,4-二硝基氟苯为衍生试剂测试乳制品中的 L-羟脯氨酸,方法灵敏度高、重现性好,可用于判定乳制品中是否添加皮革水解蛋白。

相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST1427	L-羟基脯氨酸	trans-4-Hydroxy-L-proline	51-35-4

附：相关产品

订货号	产品名称	规格描述	包装数量
AA952505-0	Venusil®AA 氨基酸分析专用柱	4.6 × 250 mm, 5 μm	1
1509-1800	12 mL 螺纹棕色样品瓶	66*18.5 mm	100/PK
AV1011-0	1.5 mL 棕色样品瓶	短螺纹棕色;带书写处 32 × 11.6 mm	100/PK
0915-1819	1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖,红色橡胶/米色 PTFE 隔垫 45°Shore A; 1.0 mm	100/PK
AS021345-T	微孔滤膜	单膜, 13 mm, 0.45 μm	100 个/包
LZSQ-2ML	一次性注射器	2 mL 无针头	100 支/包
AH230-4	甲醇	4 L/瓶, 色谱纯	4×4 L/箱
AH015-4	乙腈	4 L/瓶, 色谱纯	4×4 L/箱

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



辣椒油中罗丹明 B 的检测方法高效液相色谱法

案例来源：博纳艾杰尔；应用编号：AF10005

1、样品制备

1.1 辣椒油空白样

称取不含罗丹明的辣椒油 1 g,加入 10mL 含 20%丙酮的正己烷,振荡 2 分钟,混合均匀后,用移液管将上清液取出。

1.2 添加样

向 1 g 辣椒油中添加 1 mL 5 ppm 罗丹明标准品(溶于正己烷),其他步骤和空白样相同。

2、SPE 净化

SPE 柱: Cleanert Alumina-N (2 g/6 mL), P/N:AL20006-N

活化: 6 mL 正己烷

上样: 全部上清液

淋洗: 10 mL 20%丙酮正己烷

洗脱: 用 10 mL 2%氨水甲醇 (0.2 mL 浓氨水+9.8 mL 甲醇) 过柱, 收集

浓缩与定容: 将收集液用氮气吹干, 用 1 mL 甲醇定容, 上样

3、液相色谱条件

色谱柱: Venusil MP C18 (4.6*150 mm, 5 μ m), P/N: VA951505-0

流动相: 75% 甲醇水溶液

进样量: 5 μ L; 流速: 1 mL/min; 波长: 550 nm

4、实验结果

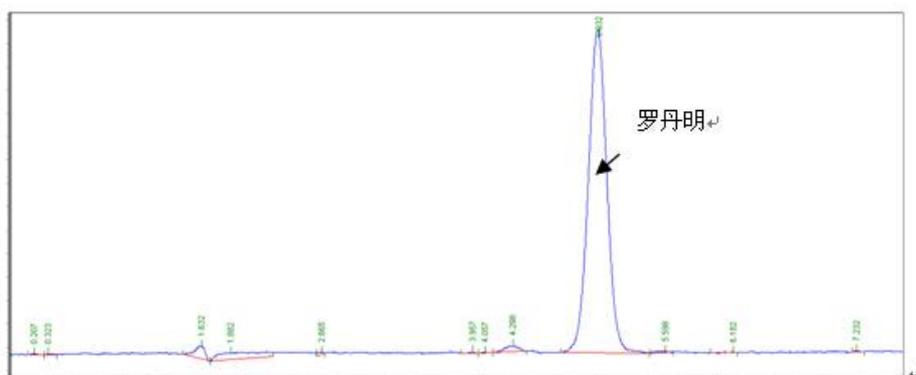


图 1 罗丹明标准品色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



表 1 罗丹明标样和加标样的回收率

	标品 1	标品 2	油样 1	油样 2
峰面积	157437	153221	148889	150175
回收率 (%)	97.73	95.11	92.42	93.22

5、相关标准品

订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST2432	罗丹明 B	Rhodamine B chloride	81-88-9

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn

(GB/T 22388-2008)原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法

案例来源：博纳艾杰尔；应用编号：AF10019

执行标准《GB/T 22388-2008 原料乳及乳制品中三聚氰胺检测方法》液相色谱检测方法

液相色谱检测方法

1. 样品前处理

称取 2g 试样于 50 mL 具塞离心管中，加入 15 mL 三氯乙酸溶液、5 mL 乙腈溶液和 5% 醋酸铅溶液(质量比)2mL，超声提取 10 min，再震荡提取 10 min 后，以 5000 r/min 离心 10 min。上清液经三氯乙酸溶液润湿的滤纸过滤后，用三氯乙酸溶液定容到 25 mL，移取 5 mL 滤液，加入 5 mL 水混合均匀后，全部上样。

净化处理

Cleanert® PCX 60mg/3mL

- 活化：5 mL 甲醇、5 mL 水依次活化固相萃取小柱；
- 上样：将全部待净化液以 1 mL/min 的流速通过固相萃取小柱；
- 淋洗：依次用 3 mL 水和 3 mL 甲醇淋洗固相萃取小柱，淋洗完毕后，抽至近干；
- 洗脱：用 6 mL 5% 氨化甲醇(v/v) (5% 氨化甲醇：5 mL 氨水 + 95 mL 甲醇)溶液以 1 mL/min 洗脱固相萃取小柱并收集，洗脱液于 50°C 下氮气吹干，残渣用 1 mL 流动相定容，涡旋混合 1min，0.45 μm 尼龙针式过滤器过滤。

(以上净化操作通过 Qdaura® 卓睿全自动固相萃取仪完成)

2. 色谱条件

色谱柱：Venusil® XBP C8(L)；250 mm×4.6 mm，5 μm；

流动相：缓冲盐溶液:乙腈 = 85:15；

紫外检测器波长：240 nm；

流速：1.0 mL/min；

进样量：10 μL；

缓冲盐配制：准确称柠檬酸 2.10 g 和辛烷磺酸钠 2.16 g，加入约 980 mL 水溶解，调节 pH 到 3.0 后，定容至 1 L；

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

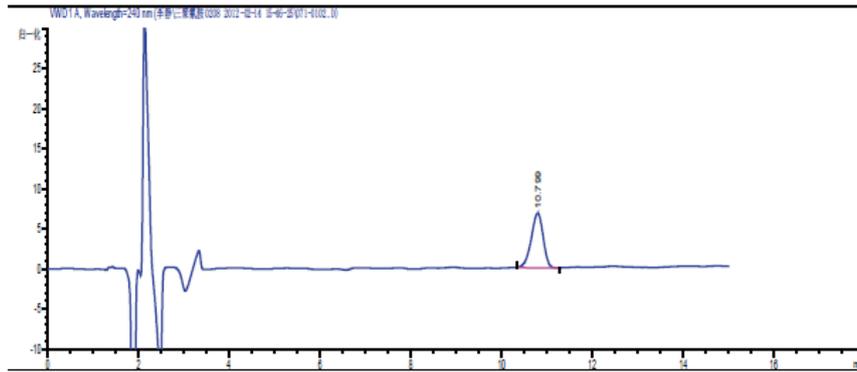
邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

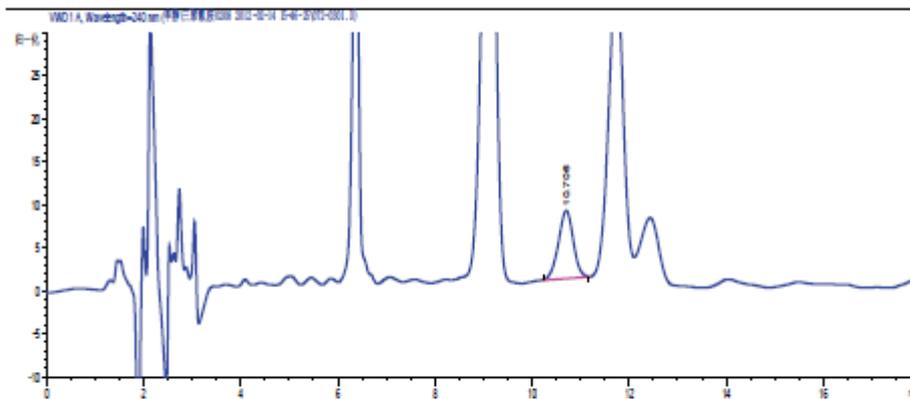
QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



三聚氰胺标准品



牛奶中的三聚氰胺

液相色谱-质谱/质谱法(LC-MS/MS)

1. 样品前处理

称取 1 g 试样于 50 mL 具塞离心管中，加入 8 mL 三氯乙酸溶液、2 mL 乙腈溶液和 5% 醋酸铅溶液(质量比) 2 mL，超声提取 10 min，再震荡提取 10 min 后，以 5000 r/min 离心 10 min。上清液经三氯乙酸溶液润湿的滤纸过滤后，做待净化液。

净化处理

Cleanert® PCX 60 mg/3 mL

- 活化：5 mL 甲醇、5 mL 水依次活化固相萃取小柱；
- 上样：将全部待净化液以 1 mL/min 的流速通过固相萃取小柱；
- 淋洗：依次用 3 mL 水和 3 mL 甲醇淋洗固相萃取小柱，淋洗完毕后，抽至近干；
- 洗脱：用 6 mL 5% 氨化甲醇(v/v) (5% 氨化甲醇：5 mL 氨水+95 mL 甲醇)溶液以 1 mL/min

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编：300457

电话：(0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱：sales@altascientific.com

网址：www.altascientific.com.cn



洗脱固相萃取小柱并收集，洗脱液于 50°C 下氮气吹干，残渣用 1 mL 流动相定容，涡旋混合 1min，0.45 μm 尼龙针式过滤器过滤。

(以上净化操作通过 Qdaura® 卓睿全自动固相萃取仪完成)

2. 色谱条件

色谱柱： Venusil® AS-T C18 2.1×150 mm， 5 μm

流动相： 10 mM 乙酸铵 (用乙酸调 pH 3.0):乙腈 = 50:50

流速： 0.2 mL/min

进样量： 10 μL

质谱条件： 正离子模式，离子喷雾电压： 4 KV；

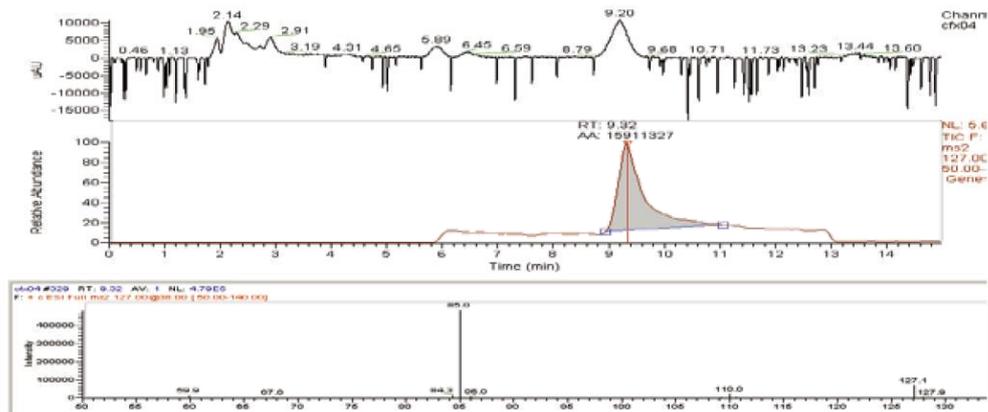
雾化器： 氮气， 40 psi；

干燥气： 氮气；

流速： 10 mL/min；

温度： 35°C；

裂解电压： 100 V；



三聚氰胺牛奶样品色谱图

用 Venusil® HILIC 还可以将三聚氰胺及其手性异构体和其类似物：三聚氰酸二酰胺、三聚氰酸一酰胺和三聚氰酸分开，

实验条件如下：

色谱柱： Venusil® HILIC 4.6×250 mm， 5 μm

流动相： 10 mM 甲酸铵缓冲盐溶液 (pH 3.5):乙腈 = 12:88

流速： 1 mL/min

进样量： 20 μL

质谱条件：

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编： 300457

电话： (0086) 22-6537-8550

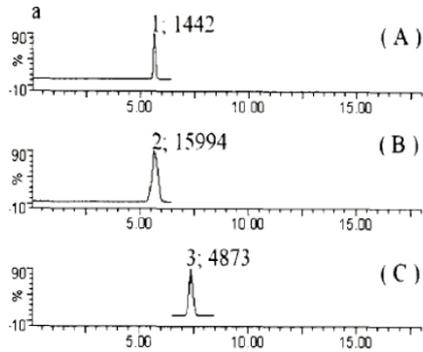
QQ: 2850791073

邮箱： sales@altascientific.com

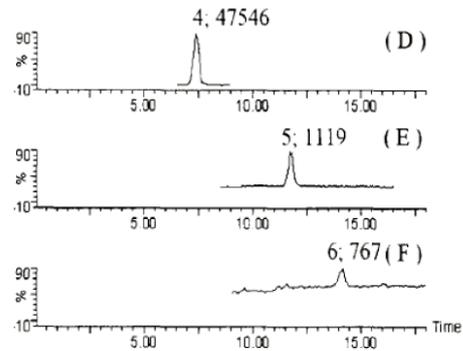
网址： www.altascientific.com.cn



正离子模式	0-6.5 ; 9-20	源温度(°C)	300
正离子模式下毛细管电压(KV)	3.5	萃取电压(V)	4
负离子模式	6.5-9	RF透镜电压(V)	0.5
负离子模式下毛细管电压(KV)	3.0	锥孔电压(min)	50.1



(A) 三聚氰酸
(B) 13C3-三聚氰酸
(C) 三聚氰胺



(D) 15N3-三聚氰胺
(E) 三聚氰酸一酰胺
(F) 三聚氰酸二酰胺

气相色谱-质谱联用法(GC-MS 和 GC-MS/MS)

1. 样品前处理

称取 5 g 试样于 50 mL 具塞比色管中, 加入 25 mL 三氯乙酸溶液, 涡旋震荡 30 s, 再加入 15 mL 三氯乙酸溶液, 超声提取 15 min., 加入 2 mL 乙酸铅溶液, 用三氯乙酸溶液定容到刻度。充分混合后转移上层溶液约 30 mL 到 50 mL 离心管中, 以 5000 r/min 离心 10 min。上清液待净化。

净化处理

Cleanert® PCX 60mg/3mL

- 活化: 5 mL 甲醇、5 mL 水依次活化固相萃取小柱;
- 上样: 取 5 mL 待净化液以 1 mL/min 的流速通过固相萃取小柱;
- 淋洗: 依次用 3 mL 水和 3 mL 甲醇淋洗固相萃取小柱, 淋洗完毕后, 抽至近干;
- 洗脱: 用 6 mL 5% 氨化甲醇(v/v) (5% 氨化甲醇: 5 mL 氨水 + 95 mL 甲醇)溶液以 1 mL/min, 洗脱液于 50°C 下氮气吹干, 残渣用 1 mL 流动相定容, 涡旋混合 1 min, 0.45 μm 过滤。

(以上净化操作通过 Qdaura® 卓睿全自动固相萃取仪完成)

2. 色谱条件

色谱柱: DA-50+ 5% 苯基二甲基聚硅氧烷石英毛细管

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn



色谱柱, 30×0.25 mm, 0.25 μm;
流速: 10 mL/min;
升温程序: 70°C 保持 1 min, 以 10°C/min 的速率升温至 200°C, 保持 10 min;
传输线温度: 280°C;
进样口温度: 250°C;
进样方式: 不分流进样;
进样量: 1 μL;
电离方式: 电子轰击电离(EI)
电离能量: 70 eV;
离子源温度: 230°C
扫描模式: 选择离子扫描,
定性离子 m/z 99、171、327、342,
定量离子 m/z 327;

3. 注意事项

- 处理不同的样品, 离心的效果是不同的, 有时离心后上清液仍然浑浊, 若直接上样会导致固相萃取柱堵塞, 这时可以适当提高离心的转速或离心的时间, 如果还不能解决该问题, 可以用滤纸先过滤一下上清液再用固相萃取柱处理样品。
- 样品处理过程中注意交叉污染, 影响检测结果。
- 在做三聚氰胺的重复性实验中, 注意取样和最终的定量、定容的准确性。

相关标准品

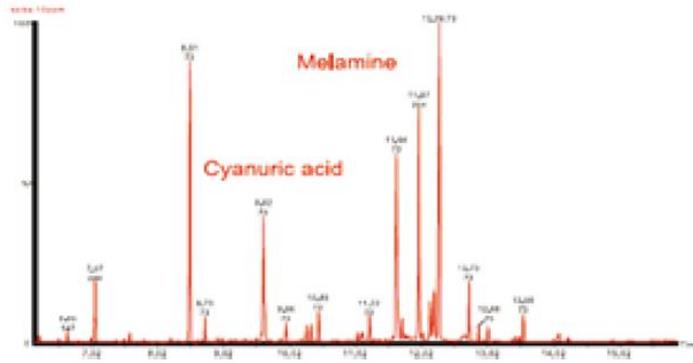
订货号	中文名称	英文名称	CAS#
1ST6602	三聚氰胺	Melamine	108-78-1

订货信息

产品名称	规格包装	订货号
Venusil® XBP C18(L)	4.6×250 mm, 5 μm, 100 Å	VX951502-L
Venusil® AS-T C18	2.1×150 mm, 5 μm, 100 Å	VAS951502-T
Venusil® HILIC	4.6×250 mm, 5 μm, 100 Å	VH952505-0
Cleanert® PCX	60mg/3mL, 50/PK	CX0603
Qdaura® 卓睿全自动固相萃取仪	4通道24位	SPE-40
DA-50+ 5%苯基二甲基聚硅氧烷石英毛细管色谱柱	30m×0.25 mm, 0.25 μm	5025-3002

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室
邮编: 300457
电话: (0086) 22-6537-8550
QQ: 2850791073
邮箱: sales@altascientific.com
网址: www.altascientific.com.cn



三聚氰胺牛奶样品色谱图

天津阿尔塔科技有限公司

天津经济技术开发区第四大街80号天大科技园 C5楼405室

邮编: 300457

电话: (0086) 22-6537-8550

QQ: 2850791073

邮箱: sales@altascientific.com

网址: www.altascientific.com.cn