

奶及乳制品中三聚氰胺的检测研究

侯冬岩, 刘晓媛, 刁全平, 李铁纯, 回瑞华

(鞍山师范学院化学系, 辽宁 鞍山 114007)

摘要: 用高效液相色谱法测定奶及乳制品中三聚氰胺的含量。色谱条件为: 色谱柱: C₁₈ 柱(150mm × 4.6mm, 5 μm); 流动相: 乙腈:0.202% 庚烷磺酸钠-0.210% 柠檬酸水溶液(10:90, V/V); 检测波长: 235.8nm; 柱温: 30℃。结果表明: 在0.1~1.6 μg/ml 范围内三聚氰胺与峰面积呈良好线性关系, 相关系数为0.9973, 回归方程为 $A = 59746C + 183.48$, 回收率为98.3%~99.2%, 相对标准偏差小于1.52%。

关键词: 奶; 乳制品; 三聚氰胺; 高效液相色谱法

HPLC Determination of Melamine in Milk and Dairy Products

HOU Dong-yan, LIU Xiao-yuan, DIAO Quan-ping, LI Tie-chun, HUI Rui-hua

(Department of Chemistry, Anshan Normal University, Anshan 114007, China)

Abstract: A HPLC method was developed for determining melamine in milk and dairy products. The analysis was carried out using the Waters HPLC system equipped with a C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) and a diode array detector set at 235.8 nm. The mobile phase consisted of 0.202% heptane sodium sulphate acetonitrile solution and 0.210% citric acid aqueous solution (10:90, V/V) with a flow rate of 1.0 ml/min, and the column temperature was set at 30 °C. A good linear correlation (the regression equation: $A = 59746C + 183.48$) between the peak area and the melamine determination was found in the range between 0.1 and 1.6 μg/ml with a correlation coefficient of 0.9973. The recoveries for melamine in three spiked dairy products ranged 98.3% — 99.2% with a RSD of less than 1.52 %.

Key words: milk; dairy products; melamine; HPLC

中图分类号: S859.84

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)14-0210-03

三聚氰胺(melamine)化学名为2,4,6-三氨基-1,3,5-三嗪、1,3,5-三嗪-2,4,6-三胺、2,4,6-三氨基脲, 又称为蜜胺、三聚氰酰胺、氰脲三酰胺, 简称三胺, 是一种三嗪类含氮杂环有机化合物, 重要的氮杂环有机化工原料。三聚氰胺性状为纯白色单斜棱晶体, 无味, 密度1.573g/cm³(16℃)。常压熔点354℃(分解); 快速加热升华, 升华温度300℃。溶于热水, 微溶于冷水, 极微溶于热乙醇, 不溶于醚、苯和四氯化碳, 可溶于甲醇、甲醛、乙酸、热乙二醇、甘油、吡啶等。在一般情况下较稳定, 但在高温下可能会分解放出氰化物。三聚氰胺作为一种用途广泛的基本有机化工中间产品, 最主要的用途是作为生产三聚氰胺甲醛树脂的原料, 作为塑料、涂料等行业的改性剂^[1-3]。一些违法企业为提高产品的蛋白质含量将其作为伪蛋白质非法添加到食品或饲料等产品中。2006年美国FDA报道^[4], 其

作为宠物食品的伪蛋白质使用, 使宠物死亡或生病, 并且因为其容易和人体内氰尿酸反应生成晶体状聚合物而引起结石等病状, 严重影响人类健康。

本实验拟采用高压液相色谱法测定奶及乳制品中三聚氰胺的含量^[5-6], 以期为食品安全提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

奶及乳制品(规格为450ml/瓶, 优格乳), 不同批次, 共19份, 编号为1~19。

混合型阳离子交换固相萃取柱(60mg); 甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)、氨水、三氯乙酸、乙酸铅、甲醇均为分析纯; 二次蒸馏水; 三聚氰胺标准品 鞍山市质监局。

三聚氰胺标准溶液配制: 准确称取三聚氰胺标准品

收稿日期: 2008-11-05

基金项目: 辽宁省教育厅科学技术基金资助课题(20331079)

作者简介: 侯冬岩(1962—), 男, 教授, 硕士, 主要从事天然功能食品科学研究。E-mail: HDY_1112@mail.asnc.edu.cn

0.0010g 于 10ml 容量瓶中, 用甲醇溶液溶解并定容至刻度, 稀释 10 倍, 作为储备液备用。

1.2 仪器与设备

Waters 510 型高效液相色谱仪(配有二极管阵列检测器) 美国 Waters 公司; LG10-2.4A 离心机(10000r/min) 北京医用离心机厂; 8B 涡旋混合器 江苏海门其林医用仪器厂; KQ-250B 超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司。

1.3 样品预处理

准确称取 10g 样品, 加入 50ml 三氯乙酸溶液, 加入 2ml 乙酸铅溶液。摇匀, 超声提取 20min。静止 2min, 取上层提取液约 30ml 转入离心管, 在 10000r/min 离心机上离心 5min。再用 3ml 甲醇, 3ml 水活化混合型阳离子交换固相萃取柱, 准确移取 10ml 离心液分次上柱, 控制过柱速度在 1ml/min 以内。之后用 3ml 水和 3ml 甲醇洗涤混合型阳离子交换固相萃取柱, 抽近干后用氨水甲醇溶液 3ml 洗脱。洗脱液用氮气吹干, 加入甲醇溶液, 涡旋振荡 1min 使其充分溶解, 并定容至 10ml, 过 0.45 μ m 滤膜, 待做 HPLC 分析。

1.4 色谱条件

色谱柱: Kromasil C₁₈(150mm \times 4.6mm, 5 μ m); 柱温: 30℃; 流动相: 乙腈:0.202% 庚烷磺酸钠 -0.210% 柠檬酸水溶液(10:90, V/V); 流速: 1.0ml/min; 检测波长: 235.8nm; 进样量: 10 μ l。

1.5 测定方法

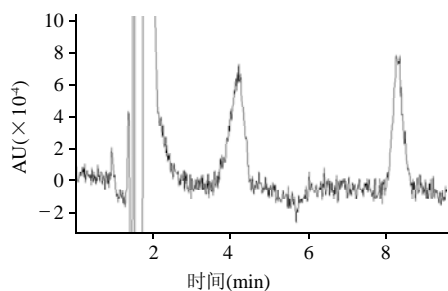


图1 样品的 HPLC 色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of milk and dairy product sample

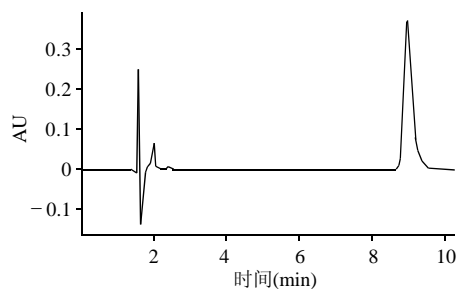


图2 三聚氰胺的 HPLC 色谱图

Fig.2 HPLC chromatogram of melamine standard

准确称取 1.3 节处理的奶及乳制品样品 10 μ l, 按 1.4 节色谱条件进样, 得到奶及乳制品样品色谱图见图 1。

精密称取经 1.1 节处理的三聚氰胺储备液 1.0ml, 于 10ml 容量瓶中, 用甲醇溶液定容至刻度, 得到浓度为 1.0 μ g/ml 的标准品溶液, 取 10 μ l 进样得到三聚氰胺的色谱图如图 2。由图 1~2 可知, 在上述实验条件下, 样品中三聚氰胺可被检出, 不受杂质干扰。

1.6 标准曲线的绘制

精确移取经 1.1 节配制的三聚氰胺储备液 0.1、0.4、0.7、1.0、1.3、1.6ml 于 10ml 容量瓶中, 用甲醇溶液定容至刻度, 得到浓度分别为 0.1、0.4、0.7、1.0、1.3、1.6 μ g/ml 的标准品溶液, 分别进样 10 μ l, 每个样品进样 3 次, 测量峰面积, 并计算其平均值。

2 结果与分析

2.1 方法的精密度实验及标准曲线绘制

根据 1.4 节色谱条件, 配制不同浓度的标准品溶液, 在波长 235.8nm 测定峰面积, 求得其标准偏差和相对标准偏差, 结果如表 1。由表 1 可知相对标准偏差小于 1.52%, 表明该方法的精密度较好。三聚氰胺浓度与色谱峰面积之间的回归方程为 $A = 59746C + 183.48$, $r = 0.9973$ 。线性范围为 0.1~1.6 μ g/ml。

表1 方法的精密度
Table 1 RSD of precision

实验号	标准品浓度 (μ g/ml)	测定值(n=9, μ g/ml)	测定平均值 (μ g/ml)	标准偏差 (μ g/ml)	相对标准偏差 (%)
1	0.100	0.098~0.101	0.099	0.00150	1.520
2	0.400	0.392~0.406	0.397	0.00534	1.350
3	0.700	0.689~0.701	0.698	0.00373	0.534
4	1.00	0.902~1.05	0.905	0.00592	0.654
5	1.30	1.28~1.31	1.29	0.0182	1.410
6	1.60	1.58~1.62	1.60	0.00966	0.604

2.2 加标回收率实验

根据 1.4 节的测试条件, 分别称取 9.00、10.00、11.00g 2 号样品, 依次加入浓度为 0.01mg/ml 的三聚氰胺标准品溶液 1.2ml, 按照样品的前处理方法进行处理, 实验的加标回收率结果如表 2。

表2 方法的加标回收率实验
Table 2 Recoveries for melamine in three spiked dairy products

实验号	样品质量(g)	三聚氰胺含量 (mg/kg)	加入标准品量 (mg/kg)	应测值 (mg/kg)	实测值 (mg/kg)	回收率 (%)
1	9.00	1.27	1.20	2.47	2.46	99.2
2	10.00	1.14	1.20	2.34	2.32	98.3
3	11.00	1.03	1.20	2.23	2.21	98.3

2.3 最低检出限

将已知浓度标准品溶液不断稀释, 当 S/N 为 3 时, 最低检出限为 0.1 μ g/ml。

2.4 样品的测定

取 19 种奶及乳制品按 1.4 节色谱测定条件, 与 1.3 节样品的预处理过程相同, 得奶及乳制品中三聚氰胺的含量测定结果列于表 3。

表 3 奶及乳制品中三聚氰胺的含量测定结果

Table 3 Determination results of melamine in milk and dairy products by the HPLC method developed

样品号	取样量(g)	峰面积平均值	三聚氰胺含量(mg/kg)
1	9.99	14582.5	1.50
2	10.01	11121.5	1.14
3	10.00	9713.5	0.989
4	9.99	13504.5	1.38
5	10.00	16257	1.67
6	10.00	16092	1.65
7	9.99	11967	1.22
8	10.04	14457.5	1.48
9	10.01	14189	1.45
10	10.02	8360.5	0.848
11	10.00	11440.5	1.17
12	10.01	13898	1.42
13	10.01	9922.5	1.01
14	10.01	12248.5	1.25
15	10.00	10961.5	1.12
16	9.99	10599.5	1.08
17	10.00	11843	1.21
18	10.00	11881.5	1.21
19	10.01	9588	0.976

按照以上方法进行样品处理和色谱测定, 检出三聚氰胺的含量低于 1.67mg/kg, 即低于国家限量标准 2.5mg/kg。

3 讨 论

采用高效液相色谱法测定奶及乳制品中的三聚氰胺含量, 样品预处理简单、萃取柱净化效果良好、精密度和回收率完全符合分析要求、分离速度较快、高效液相色谱法灵敏度高, 能满足对奶及乳制品中三聚氰胺检测要求。

参考文献:

- [1] 童兴龙, 朱瑞芬, 邵卫勤, 等. 超低醛高稳定性改性三聚氰胺树脂整理剂的研制[J]. 印染助剂, 1997, 14(3): 6-9.
- [2] 王汉清, 殷树梅, 武玉民. 三聚氰胺发展现状及其改性合成机理探讨[J]. 化工中间体, 2007(2): 7-9.
- [3] 辜雪英, 吴小花, 仇满珍. 饲料中三聚氰胺残留量高效液相色谱测定的研究[J]. 江西化工, 2007, 6(2): 70-72.
- [4] US Food and Drug Administration. Interim melamine and analogues safety/risk assessment[EB/OL]. (2007-05-25)[2008-11-05]. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/melamra.html>.
- [5] 侯艳丽, 张惠茹, 刘来亭, 等. 三聚氰胺的检测方法[J]. 河南畜牧兽医, 2007, 28(9): 32-33.
- [6] 占春瑞, 郭平, 温志海, 等. 液相色谱检测饲料中三聚氰胺残留量的方法研究[J]. 饲料检测与品质控制, 2007(11): 18-23.