

高效液相色谱法测定鸡蛋中的三聚氰胺

吴彩梅, 白洁, 贾刚, 张克英*, 丁雪梅, 白世平, 陈代文, 吴秀群
(四川农业大学动物营养研究所, 教育部抗病营养重点实验室, 四川雅安 625014)

摘要: 建立采用固相萃取净化, 高效液相色谱法测定鸡蛋中三聚氰胺含量的方法。样品采用三氯乙酸和乙酸铅溶液提取, 优化样品提取时间、色谱柱及固相萃取柱, 最终确定为样品提取 20min、采用 TC-C₁₈(4.6mm × 150mm, 5μm)色谱柱和 PCX 固相萃取柱。采用紫外检测器, 检测波长为 240nm, 流动相为乙腈:辛酸磺酸钠-柠檬酸缓冲液(10:90, V/V), 流速 1.0mL/min, 进样量 20μL, 外标法定量。三聚氰胺在 1~50μg/mL 范围内, 具有良好的线性关系($R^2=1$), 在添加质量浓度为 5~20mg/kg 范围内, 三聚氰胺添加回收率在 72.8%~87.6%, RSD($n=6$)为 1.5%~4.0%, 最低检测限为 0.54mg/kg。

关键词: 三聚氰胺; 高效液相色谱; 固相萃取; 鸡蛋

Determination of Melamine in Chicken Eggs by High Performance Liquid Chromatography

WU Cai-mei, BAI Jie, JIA Gang, ZHANG Ke-ying*, DING Xue-mei, BAI Shi-ping, CHEN Dai-wen, WU Xiu-qun
(Key Laboratory for Animal Disease-resistance Nutrition, Ministry of Education, Institute of Animal Nutrition,
Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography method was developed for the quantitative analysis of melamine in chicken eggs based on solid phase extraction. Samples were extracted with mixed trichloroacetic acid/lead acetate solution for 20 min, followed by clean up on a PCX solid phase extraction column. The chromatographic separation was achieved on a TC-C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) using a mobile phase composed of perfluorooctane sulfonate and citric acid buffer (10:90, V/V) at a flow rate of 1.0 mL/min. Melamine was detected at 240 nm and quantitatively determined using an external calibration method. The injection volume was 20 μL. The linear range of the developed method was between 5 mg/kg and 20 mg/kg ($R^2=1$). The average recoveries for melamine were ranged from 72.8% to 87.6% with a relative standard deviation between 1.5% and 4.0% ($n=6$) at the spiked levels of 5, 10 mg/kg and 20 mg/kg. The limit of detection for melamine was 0.54 mg/kg.

Key words: melamine; high performance liquid chromatography (HPLC); solid phase extraction; chicken egg

中图分类号: TS207.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)08-0212-07

三聚氰胺(melamine)简称三胺, 学名三氨基三嗪, 别名蜜氨、氰尿酸、三聚酰胺, 微溶于水及乙醇, 不溶于醚、苯和四氯化碳。在一般情况下较稳定, 但在高温下可能会分解放出氰化物^[1]。三聚氰胺的含氮量为 66.6%, 折合粗蛋白含量为 416.27%, 因此, 不法商贩将其掺入蛋白性饲料或食品中提高蛋白质测定含量, 降低成本。有人估算在植物蛋白粉和饲料中使测试蛋白质含量增加一个百分点, 用三聚氰胺的花费只有真实蛋白原料的 1/5。三聚氰胺对哺乳动物低毒, 但长期吸收到

体内, 会导致体重降低、膀胱结石、结晶尿症。世界卫生组织(WHO)^[2]报道, 因为三聚氰胺容易和人体内氰尿酸(即三聚氰酸)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。2007 年 3 月中旬以来, 美国发生了宠物食品三聚氰胺污染事件, 2008 年国内发生了三鹿奶粉事件, 且在出口香港的鸡蛋中也检测出了三聚氰胺, 因此, 建立和完善饲料和食品中的三聚氰胺的检测方法, 势在必行。目前针对饲料和牛奶中三聚氰胺的测定我国农业部和国家质检总局先后于 2007 年

收稿日期: 2010-07-06

基金项目: 农业部饲料中三聚氰胺限量制定专项

作者简介: 吴彩梅(1979—), 女, 实验师, 硕士, 研究方向为饲料安全与检测技术。E-mail: zhuomuniao278@163.com

* 通信作者: 张克英(1962—), 女, 教授, 硕士, 研究方向为禽的营养。E-mail: zkeying@yahoo.com

和2008年相继发布了农业行业标准和国家标准^[3-4],方法包括高效液相色谱法、气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS/MS)等。但是饲料和食品的其他不同基质的相应测试方法的国家标准和地方标准还没有出台,鸡蛋中三聚氰胺的测定方法,亦未见标准出台。目前,针对饲料和食品不同基质的测定方法已见报道。Wang等^[5]采用酶联免疫法测定猪、鸡组织及体液中的三聚氰胺,针对液态奶、奶粉、饮料等食品以及鱼、鸡、猪组织等动物性食品,人尿液、小鼠血浆、组织中的三聚氰胺的测定不同学者^[6-11]建立了LC-MS/MS法,对于鸡蛋中三聚氰胺的检测方法,陈义强等^[12]建立了气相色谱-质谱法;Xia等^[13]建立GC-MS/MS与UPLC-MS/MS(ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry)法,Xu等^[14]通过应用新型离子交换树脂净化鸡蛋建立了LC-MS/MS法,Chou等^[15]采用高效液相色谱法测定了禽肉、蛋中的杀虫剂及其代谢物三聚氰胺,并采用GC-MS法确证。GC-MS/MS、LC-MS/MS与HPLC相比灵敏度高、选择性好,但GC-MS需要衍生化,过程比较繁琐,且前两种方法成本高仪器设备昂贵,一般作为确证的方法,而高效液相色谱法由于无需衍生化成本低且仪器设备较普及是目前最为常用的检测方法和初筛方法。本实验主要在农业部行业标准NY/T1372—2007《饲料中三聚氰胺的测定》^[3]的基础上,通过比较不同类型的色谱柱、固相萃取柱和样品提取时间建立鸡蛋中三聚氰胺的高效液相色谱检测方法,并采用LC-MS/MS法确证。同时,应用紫外光谱对不同浓度的三聚氰胺标准品进行最大波长扫描,并测定三聚氰胺的总能,为全面了解三聚氰胺的性质提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鸡蛋 四川农业大学实验基地。

三聚氰胺对照品(纯度 $\geq 99\%$) 美国Sigma公司;三聚氰胺内标($^{15}\text{N}_3$ -三聚氰胺)对照品(纯度 $\geq 98\%$) 美国CIL公司;乙腈(色谱纯)、甲醇(色谱纯) 美国Fisher公司;正己烷(分析纯)、乙酸铵(色谱纯)、氨水(分析纯) 成都科龙公司;所用水为Millipore仪器制得的超纯水。

1.2 仪器与设备

1200L液相色谱-三重四级杆质谱仪(配备410自动进样器) 美国瓦里安公司;HP1100高效液相色谱仪配备VWD紫外检测器 美国安捷伦公司;HK6200超声波提取仪 上海汉克科学仪器有限公司;Biofuge Primo R台

式高速冷冻离心机 美国Kendro公司;Legend Micro 17R台式高速冷冻离心机 美国Thermo公司;T25匀质器、MS3涡旋混合器 德国IKA公司;112氮吹仪 美国N-EVAP公司;混合阳离子固相萃取柱(PCX, HR-XC, 60mg, 3mL);24DL固相萃取装置 Visiprep公司;1281能量测定仪 美国Parr公司;Beckman II紫外分光光度计 美国Beckman公司;康氏振荡器 金坛市双捷实验仪器厂。

1.3 溶液的配制

三氯乙酸溶液10g/L、氨水甲醇溶液(量取5mL氨水,溶解于95mL甲醇中);乙酸铅溶液22g/L;体积分数20%的甲醇溶液;流动相1:称取2.16g辛酸磺酸钠和2.10g柠檬酸于1L容量瓶中,用水溶解并稀释至刻度。取该溶液900mL加入100mL乙腈;流动相2:称取2.02g庚烷磺酸钠和2.10g柠檬酸于1L容量瓶中,用水溶解并稀释至刻度。取该溶液900mL加入100mL乙腈。

标准储备液:称取100mg(精确到0.1mg)的三聚氰胺标准品,用体积分数20%的甲醇溶液溶解并定容于100mL容量瓶中,该溶液质量浓度为1mg/mL,于4℃冰箱内贮存,有效期3个月。标准中间液:吸取标准储备液5.00mL于50mL容量瓶内,用体积分数20%甲醇溶液定容至50mL,该溶液三聚氰胺质量浓度为100 $\mu\text{g/mL}$,于4℃冰箱内贮存,有效期1个月。标准工作液:用移液管分别移取标准中间液1、5、10、15、20mL于容量瓶内,用体积分数20%的甲醇溶液定容,该溶液三聚氰胺质量浓度为1.0、5.0、10、15、20 $\mu\text{g/mL}$ 。于4℃冰箱内贮存,有效期1周。

1.4 样品前处理

1.4.1 提取

取鸡蛋一枚,打入小烧杯中,用高速匀质器将鸡蛋搅匀。称取5.00g试样(精确至0.01g)于带盖塑料离心管中,准确加入28mL三氯乙酸溶液,2mL乙酸铅溶液,在涡旋混合器上涡旋1min,超声提取20min。在10000r/min离心机上离心10min,取上清液净化。

1.4.2 净化

分别用3mL甲醇,3mL水活化混合型阳离子交换固相萃取柱,准确移取3mL(具体上样量由样品含量高低来确定)离心上清液分次上PCX固相萃取柱,控制过柱速度在1mL/min以内。再用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5mL洗脱。洗脱液50℃氮气吹干,准确加入1.00mL甲醇溶液,涡旋振荡1min,过0.22 μm 滤膜,上机测定。

1.5 色谱条件

色谱柱: C_{18} 柱(4.6mm \times 150mm, 5 μm), 柱温: 30℃, 流速: 1.0mL/min, 检测波长: 240nm, 流动

相: 乙腈: 辛烷磺酸钠-柠檬酸缓冲液(10:90, V/V), 进样量: 20 μ L, 方法运行时间: 20 min。

1.6 添加回收及精密度实验

将三聚氰胺标准溶液添加于空白鸡蛋匀浆样品中, 添加量分别为 5、10 mg/kg 和 20 mg/kg。添加样品室温静置 30 min 后按照 1.4、1.5 节方法提取净化, 测定三聚氰胺含量, 计算回收率和 RSD, 每个添加水平 6 个平行。在选定的色谱条件下, 质量浓度 10 μ g/mL 的标准品连续测定 5 次, 计算保留时间和峰面积的 RSD。

1.7 LC-MS/MS 确证方法

1.7.1 色谱条件

色谱柱: ZORBAX RX-SiL (2.1 mm \times 150 mm, 5 μ m); 流动相: A: 乙腈; B: 5 mmol/L 乙酸铵溶液(含乙酸 0.1%); 梯度洗脱: 0~3 min, 95% A; 4 min, 线性变化至 10% A; 7 min, 线性变回至 95% A; 7~12 min, 95% A, 分析全部总时间为 12 min; 流速: 0~3 min, 0.3 mL/min; 4~12 min, 0.35 mL/min; 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 μ L, 自动进样。

1.7.2 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源(ESI); 扫描方式: 正离子扫描; 检测方式: 多反应监测(MRM); 电离电压: 5.85 kV; 检测器电压: 1500 V; 干燥气 N_2 : 20 psi; 雾化气(N_2): 50 psi; 碰撞气 Ar: 2.0 Torr; 干燥气温度: 350 $^{\circ}$ C; 定性离子对: m/z 127.0 > 85.0, m/z 127.0 > 68.0, 毛细管锥孔电压: 55 V, 碰撞能量: 分别为 15 eV 和 25 eV, 定量离子对: m/z 127.0 > 85.0。采用同位素内标 $^{15}N_3$ -melamine 校正, 定性定量离子对: m/z 130.0 > 87.0, 毛细管锥孔电压: 55 V, 碰撞能量: 25 eV。

1.7.3 样品处理

称取需确证的鸡蛋样品 2 g(精确至 0.0001 g)于 50 mL 离心管中, 加入 14 mL 乙腈水(70:30, V/V), 漩涡震荡混匀 30 s, 摇床振荡 20 min, 超声波提取 15 min, 然后于 7000 r/min 离心 5 min。取上清液 0.5 mL, 于 2 mL 离心管中, 加入 496 μ L 乙腈, 加入三聚氰胺内标($^{15}N_3$ -melamine) 4 μ L(10 μ g/mL), 漩涡混匀 30 s, 于 10000 r/min 离心 10 min, 上清液经 0.22 μ m 滤膜过滤后上机。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的选择

据文献资料显示^[16], 三聚氰胺应用液相色谱 DAD 检测器在线扫描, 236 nm 波长处有最大紫外吸收峰, 如图 1 所示, 王浩等^[17]应用紫外吸收光谱对三聚氰胺标准溶液进行波长扫描, 发现在 240 nm 波长处有最大吸收峰, 但是本实验应用具有波长扫描功能的美国贝克曼核酸蛋白仪对不同浓度的标准品进行最大波长扫描, 却没有得到这样的结果, 如图 2 所示。分析原因, 可能是

样品经过带有辛烷磺酸钠(或庚烷磺酸钠)的流动相作用后, 经 DAD 检测器扫描能得到三聚氰胺的最大吸收峰, 而普通的紫外分光光度计没有这个功能, 具体原因如何有待于进一步研究。因此, 结合其他文献资料报道, 本实验选择检测波长为 240 nm。

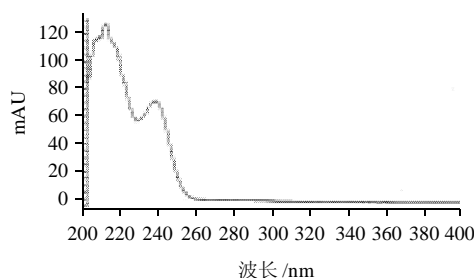


图 1 DAD 在线扫描三聚氰胺最大吸收波长

Fig.1 UV absorption spectrum of melamine measured using DAD equipped to HPLC

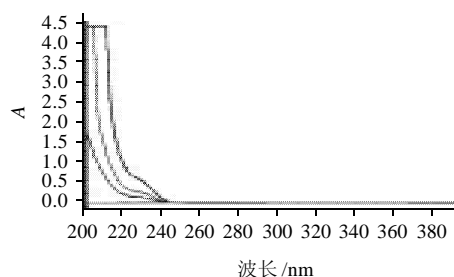


图 2 紫外分光光度计扫描三聚氰胺的最大吸收波长

Fig.2 UV absorption spectrum of melamine measured using UV spectrophotometer

本实验采用 TC-C₁₈(4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m) 色谱柱、ZORBAX SB-C₁₈(4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m) 色谱柱、HC-C₈(4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m) 色谱柱, 对三聚氰胺添加量为 5 mg/kg 的鸡蛋进行测试, C₁₈ 色谱柱采用辛烷磺酸钠流动相, C₈ 色谱柱采用庚烷磺酸钠流动相, 结果 C₁₈ 柱的三聚氰胺保留时间在 12 min 左右, 峰型对称, C₈ 色谱柱的三聚氰胺保留时间在 8 min 左右, 峰型对称, 测定的结果分别为 4.868、4.858 mg/kg 和 4.916 mg/kg, CV=0.63%。因此, 3 种类型色谱柱对三聚氰胺的测定影响不大, 本实验样品的测定采用 TC-C₁₈ 色谱柱。

2.2 固相萃取柱的选择

因为三聚氰胺是碱性化合物, 所以应采用阳离子固相萃取柱净化。本实验比较 PCX 固相萃取柱和 HR-XC 固相萃取柱的净化效果。两种 SPE 柱均能有效的去除鸡蛋样品中的杂质, 使三聚氰胺的色谱峰不受干扰。应用此两种类型的 SPE 小柱对添加了 5 mg/kg 的空白鸡蛋进行测试, 结果分别为 4.834 mg/kg 和 4.841 mg/kg, CV=0.1%。应用 PCX 固相萃取柱净化比 HR-XC 固相萃取柱净化得到的杂质峰少, 因此, 本实验样品测定采用 PCX 固相萃取柱对鸡蛋样品进行净化。

混合型阳离子交换柱的规格决定了上柱的样品量,如果上样量过大,萃取柱不能完全保留,会导致部分鸡蛋中三聚氰胺损失,使测定结果偏小。尤其是饲喂了添加高剂量三聚氰胺饲料的鸡所产的蛋,三聚氰胺的含量可能会比较高,测定这样的鸡蛋样品时,更要慎重选择样品的上样量,最好选用500mg、3mL规格的萃取柱。测定市售鸡蛋中三聚氰胺的残留,一般选用60mg、3mL规格的萃取柱。本实验选用60mg、3mL的萃取柱,上样量为3mL,测定5、10、20mg/kg的添加水平的鸡蛋样品回收率达到了87.5%。

2.3 鸡蛋样品提取时间的确定

为了确定NY/T1372—2007《饲料中三聚氰胺的测定》^[3]中设定的提取时间20min是否能将鸡蛋中的三聚氰胺提取完全,本实验将3份添加了5mg/kg的空白鸡蛋置于超声波提取器中,分别提取20、25min和30min,测定鸡蛋中三聚氰胺含量,最终测定结果分别为4.86、4.88mg/kg和4.65mg/kg, CV=2.7%。测定结果表明提取时间增加并未显著增加提取效果,甚至会有下降趋势,因此超声提取20min已可以将鸡蛋样品中三聚氰胺提取完全。

2.4 线性关系和检出限

在1.5节色谱条件下进样20μL,测定1、5、10、25、50μg/mL 5个水平的标准工作液,以三聚氰胺的质量浓度(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标,回归方程为 $Y=76.832679X+3.87297$,相关系数 $R^2=1.00000$ 。说明三聚氰胺在1~50μg/mL范围内线性关系良好。标准品图谱与鸡蛋样品图谱分别如3、4所示。从图4可以看出,应用本实验条件测定鸡蛋中三聚氰胺,三聚氰胺可与其他杂质分开,峰形对称。

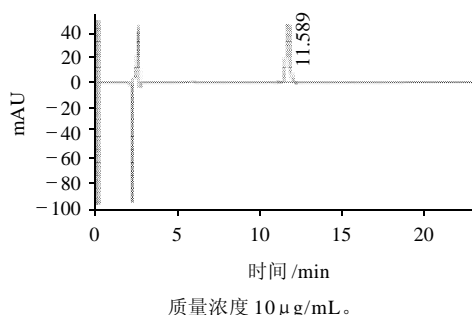


图3 标准品图谱
Fig.3 Chromatogram of melamine standard

本方法的检出限的确定是将质量浓度为1μg/mL的三聚氰胺标准品上机测定,测定其信噪比为11.7,最低检测限为0.25μg/mL。因样品处理时,上SPE小柱样品量为3mL,氮气吹干后应用上机溶液定容到1mL,故转换成实际样品的最低检测限量为0.54mg/kg。

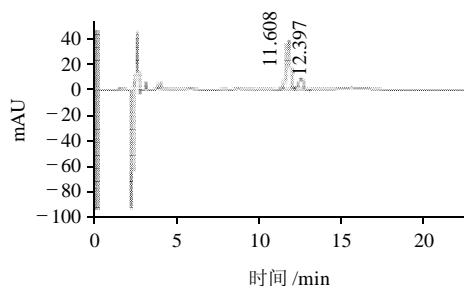


图4 样品图谱
Fig.4 Chromatogram of egg sample

2.5 方法的精密度和回收率

在选定的色谱条件下进行添加回收实验,3个添加水平分别为5、10、20mg/kg,按照样品处理方法进行提取净化,测定三聚氰胺含量,计算回收率,结果见表1。三聚氰胺添加回收率在72.8%~87.6%, RSD(n=6)为1.5%~4.0%,方法的回收率和标准偏差符合国内外有关标准和法规的要求。在选定的色谱条件下,质量浓度10μg/mL的标准品连续测定5次,保留时间和峰面积的RSD分别为0.12%和2.98%(n=5)。因此,本方法具有很高的灵敏度与精密度,重复性好,回收率稳定,可以为鸡蛋样品中三聚氰胺的测定和初筛提供参考方法。运用本实验建立的方法对实验所得的上百个鸡蛋样品进行测定,数据稳定可靠。

表1 鸡蛋样品中三聚氰胺的添加回收率(n=6)
Table 1 Spike recoveries of melamine from egg sample (n=6)

添加量/(mg/kg)	5	10	20
回收率/%	86.68	78.23	75.67
RSD/%	1.5	2.2	4.0

另外,是样品测定过程中,污染常会导致假阳性结果。由于三聚氰胺是制造塑料的原材料之一,使用塑料材料的实验器皿如离心管、枪头、固相萃取柱等,必须确保该器皿在制造的时候没有添加三聚氰胺。否则,在样品处理的时候,塑料中的三聚氰胺会被溶解出来,导致假阳性的结果。根据目前的国标和农业部标准方法,要特别注意塑料离心管和固相萃取小柱的柱管、筛板的材料。交叉污染也是假阳性结果的一个重要原因。一切重新使用的实验器皿都要用乙腈和水溶液清洗过,避免交叉污染。还有进样针在检测下一个样品的时候确保已经清洗干净。由于三聚氰胺的黏性很强,容易粘在实验器皿上,塑料器皿则更容易,会导致回收率偏低。避免这种干扰的最好办法是彻底清洗。对于避免假阳性结果的方法,除了减少污染还应采用LC-MS或者GC-MS的方法进行确证。

2.6 LC-MS/MS 方法的确证

LC-MS/MS 作为确证方法需要满足以下条件:1)试

剂空白和样品空白不能出现与阳性对照相同的离子峰; 2) 特征离子色谱峰的信噪比(R_{SN})应在 3 以上; 3) 试样色谱峰的保留时间应与标准溶液的保留时间一致, 容许偏差为 $\pm 2.5\%$; 4) 在扣除背景后的样品质谱图中, 所选择的定性离子均出现, 而且所选择的离子的相对丰度与浓度相当的标准溶液的对应离子的相对丰度相差不大于 20%。在同时满足上述 4 个条件时, 可判断鸡蛋样品中存在三聚氰胺。

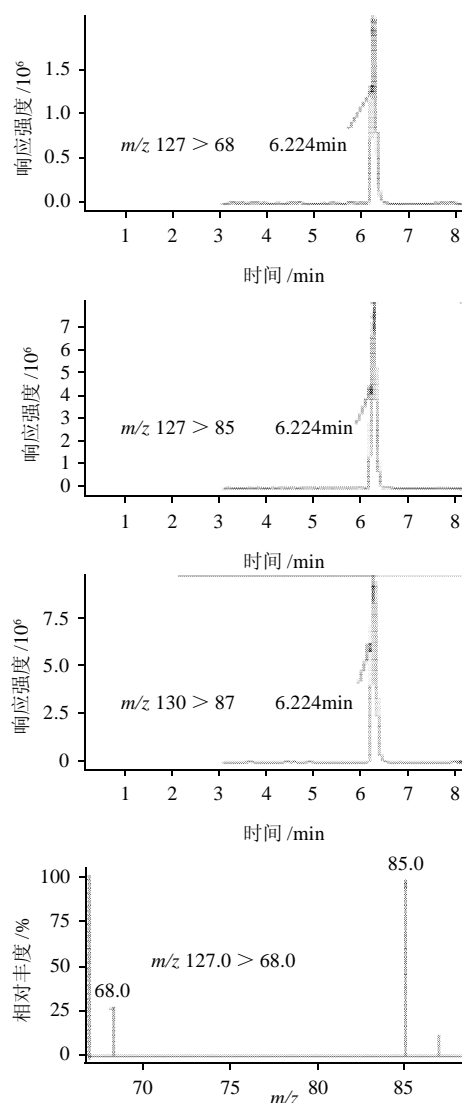


图5 50ng/mL 三聚氰胺标准品的MRM图

Fig.5 Multiple reaction monitoring (MRM) chromatogram and MS spectrum of 50 ng/mL melamine

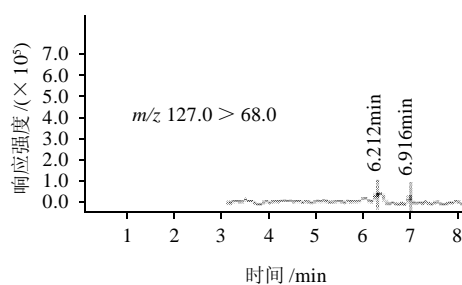


图6 试剂空白液相色谱图

Fig.6 MRM chromatogram and MS spectrum of reagent blank

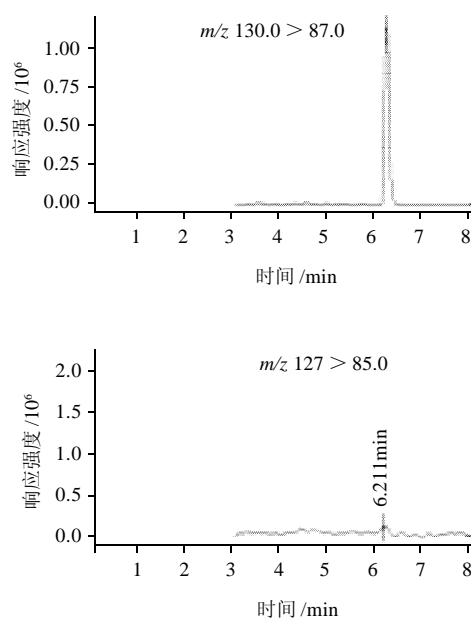


图7 鸡蛋样品空白液相色谱图

Fig.7 MRM chromatogram and MS spectrum of egg sample blank

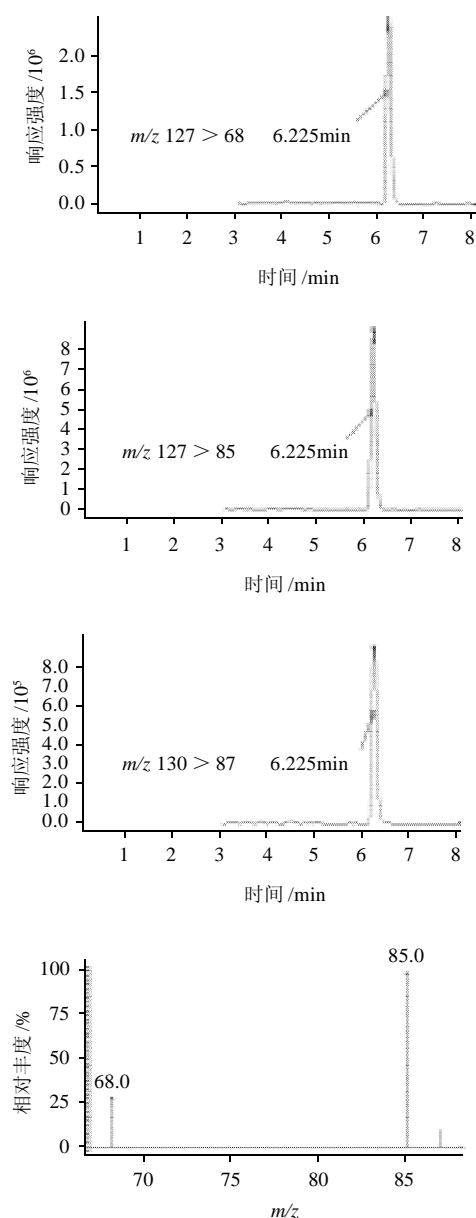


图8 待确证鸡蛋样品MRM图

Fig.8 MRM chromatogram and MS spectrum of real egg sample

图5为50ng/mL三聚氰胺标准品的MRM图。试剂空白和样品空白MRM图如图6和图7所示,由图可看出试剂空白和空白鸡蛋样品只出现了校正内标 $^{15}\text{N}_3\text{-melamine}130.0 > 87.0$ 离子峰,未出现 $m/z\ 127.0 > 85.0$ 、 $m/z\ 127.0 > 68.0$ 的定性离子峰。待确证鸡蛋样品MRM图如图8所示,定性离子 $m/z\ 127.0 > 85.0$ 、 $m/z\ 127.0 > 68.0$ 离子峰均出现,且信噪比(R_{SN})分别为3393和1504,均大于3。 $m/z\ 127.0 > 85.0$ 、 $m/z\ 127.0 > 68.0$ 离子峰保留时间为6.225min,与标准品保留时间相差0.016%。离子丰度与标准品基本一致。该鸡蛋中三聚氰胺定量测定含量为1.023mg/kg,与高效液相色谱方法

测定的结果(1.018mg/kg)基本一致。除了满足以上4个条件外,已经另有实验证明该LC-MS/MS方法灵敏度高,检测限低,采用同位素内标定量准确,因此,本实验的LC-MS/MS法能够作为HPLC测定鸡蛋中三聚氰胺的确证方法,并证实HPLC的准确性。

2.7 三聚氰胺能量的测定

为了全面了解三聚氰胺的理化性质,为添加三聚氰胺的危害提供数据,本实验使用能量测定仪对三聚氰胺进行总能测定。测定结果三聚氰胺的平均能量为3593.81cal/g, RSD为0.30%($n=5$)。据资料显示^[18],蔗糖能量为3945cal/g,三聚氰胺的能量值只比蔗糖低351.19cal/g,因此三聚氰胺的能量较高。由于三聚氰胺中的氮为非蛋白氮,添加于饲料当中,进入动物体内并不能转化成可利用的能量,但是三聚氰胺如此高的能量,如果添加量高会给饲料总能的测定带来很大干扰,甚至会导致消化能、代谢能的计算错误,从而导致畜禽能量不足。

3 结 论

本实验通过确定检测波长、色谱柱、固相萃取柱和样品提取时间建立鸡蛋中三聚氰胺的HPLC检测方法,并采用LC-MS/MS法确证。方法具有灵敏度高、重复性好、准确度高特点,且方法简便、快速,适合鸡蛋中三聚氰胺的测定。另外,三聚氰胺按照总能的测定方法,总能较高,对于评估饲料中的总能等有较大干扰。

参考文献:

- [1] 李锋格,姚伟秦,苏敏,等.气相色谱法-质谱法快速测定牛奶中的三聚氰胺和三聚氰酸[J].色谱,2009,27(2):233-236.
- [2] WHO. Melamine and cyanuric acid: toxicity, preliminary risk assessment and guidance on levels in food. [2008-09-25]. http://www.who.int/entity/foodsafety/fs_management/infosan_events/en/index.html.
- [3] NY/T 1372—2007 饲料中三聚氰胺的测定[S].
- [4] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局和中国国家标准化管理委员会. GB/T 22388—2008 原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法[S].
- [5] WANG Zongyi, MA Xi, ZHANG Liying, et al. Screening and determination of melamine residues in tissue and body fluid samples[J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 662(1): 69-75.
- [6] SUN Hanwen, WANG Lixin, AI Lianfeng, et al. A sensitive and validated method for determination of melamine residue in liquid milk by reversed phase high-performance liquid chromatography with solid-phase extraction[J]. Food Control, 2010, 21(5): 686-691.
- [7] VACLAVIK L, ROSMUS J, POPPING B, et al. Rapid determination of melamine and cyanuric acid in milk powder using direct analysis in real time-time-of-flight mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(25): 4204-4211.
- [8] IBÁÑEZ M, SANCHO J V, HERNÁNDEZ F. Determination of

- melamine in milk-based products and other food and beverage products by ion-pair liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 649(1): 91-97.
- [9] ZHANG Mengqi, LI Shuijun, YU Chengyin, et al. Determination of melamine and cyanuric acid in human urine by a liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B*, 2010, 878 (8/9): 758-762.
- [10] WU Yutse, HUANG Chihmin, LIN Chiachun, et al. Determination of melamine in rat plasma, liver, kidney, spleen, bladder and brain by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216(44): 7595-7601.
- [11] SANCHO J V, IBEZ M, GRIMALT S, et al. Residue determination of cyromazine and its metabolite melamine in chard samples by ion-pair liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2005, 530(2): 237-243.
- [12] 陈义强, 王宗义, 张丽英, 等. 气相色谱 - 质谱法测定鸡蛋中三聚氰胺残留[J]. *中国畜牧杂志*, 2009, 45(5): 45-47.
- [13] XIA Xi, DING Shuangyang, LI Xiaowei, et al. Validation of a confirmatory method for the determination of melamine in egg by gas chromatography-mass spectrometry and ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 651(2): 196-200.
- [14] XU Yang, CHEN Ligang, WANG Hui, et al. Preparation of magnetic strong cation exchange resin for the extraction of melamine from egg samples followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 661(1): 35-41.
- [15] CHOU S S, HWANG D F, LEE H F. High performance liquid chromatographic determination of cyromazine and its derivative melamine in poultry[J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2003, 11 (4): 290-295.
- [16] 陈婷. 高效液相色谱法测定饲料中三聚氰胺[J]. *福建畜牧兽医*, 2007, 29(6): 10-12.
- [17] 王浩, 刘艳琴, 曹红, 等. 固相萃取与高效液相色谱联用测定宠物食品的三聚氰胺[J]. *分析化学*, 2008, 36(2): 273.
- [18] 张丽英. 饲料分析及饲料质量检测技术[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003: 90.