



SCX-C18混合填料色谱柱 分析奶粉中三聚氰胺

No.LC-017

摘要：三聚氰胺（melamine）含氮量为66.6%，折合成粗蛋白含量为416.27%，加入宠物饲料和牛奶中可以大幅提高蛋白质测定表现含量，但食用后可诱发肾衰竭并导致死亡，因此一直禁止在饲料和食品中使用。2007年，国内外发生多起宠物因食用添加了三聚氰胺的宠物食品而致死的例子，大量相关产品被召回。2008年9月，国内发生奶粉中三聚氰胺导致婴幼儿肾结石和肾功能衰竭甚至死亡的恶性事件。

关键词：SCX-C18 三聚氰胺 奶粉

目前对于三聚氰胺的检测，最常规的方法为LC方法。但由于该化合物含有三个有机氮基团，极性很强，在普通C18反相柱上难以保留，无法达到分离效果。文献报导的HPLC方法基本都须加入离子对试剂以增加三聚氰胺的保留，但辛烷磺酸钠等离子对试剂恰恰限制了LC-MS的应用。本文采用新型的SCX-C18混合填料色谱柱测定三聚氰胺，该柱内填充的是均匀混合的SCX和普通C18填料颗粒，兼具离子交换和反相分离的特点，检测中不需加入离子对试剂，还可应用与LC-MS联机，操作简便，灵敏度高。

仪器概况

本实验使用岛津Prominence LC-20A高效液相色谱仪系统。LC-20A是岛津制作所投入整体力量开发的新一代高效液相色谱仪，具有以下特点：优越的基本性能，轻松满足客户对仪器严格的要求；全自动化操作，实现了分析的高效率；高度对应网络要求的综合管理系统，改善分析工作环境。

本次实验所用仪器的具体配置为LC-20AD输液泵，DGU-20A3在线脱气，SIL-20A自动进样器，CTO-20AC柱温箱，SPD-20A紫外可见检测器，CBM-20A控制器和LCSolution色谱工作站。

分析方法

色谱柱：CAPcell Pak CR(1:4) 4.6 × 150mm 5 μm

检测波长：243nm

流动相：15mM醋酸铵缓冲液(pH3.0):乙腈=7:3

流速：1.2mL/min

柱温：30℃

进样量：10 μl

洗脱方式：等度洗脱。

样品前处理方法

取奶粉样品0.5g，准确加入5mL三氯乙酸溶液和0.2mL乙酸铅溶液，摇匀，超声提取20min。转入离心管，在10000r/min离心机上离心5min，取上清液，0.45 μm滤膜过滤，上机测定。

分析结果

1. 保留时间与峰形

图1为本方法检测三聚氰胺标样的典型色谱图（样品浓度为5 μg/mL）

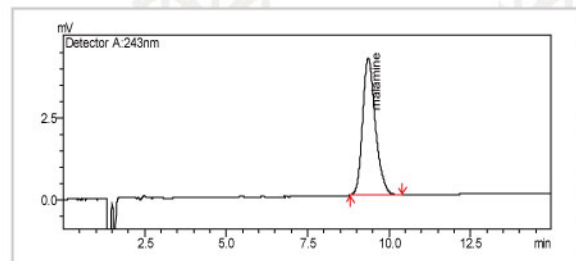


图1 三聚氰胺标样图谱

由图1可见，本方法所测三聚氰胺保留时间为9.38min，峰形尖锐，对称性好。

2. 精密度

取浓度为 $5\mu\text{g/mL}$ 三聚氰胺标样，连续进样5次，结果如表1所示。

表1 保留时间与峰面积的重现性

编号	保留时间(min)	峰面积(uV·S)
1	9.378	113178
2	9.388	112902
3	9.397	112677
4	9.397	112874
5	9.409	112909
Average	9.394	112908
%RSD	0.12	0.16

3. 标准曲线

取标准品，用缓冲液稀释成浓度为 $0.5\mu\text{g/mL}$ 、 $1.0\mu\text{g/mL}$ 、 $5.0\mu\text{g/mL}$ 、 $50\mu\text{g/mL}$ 、 $100\mu\text{g/mL}$ 的标准工作液，分别进样，得到校准曲线(见图2)。

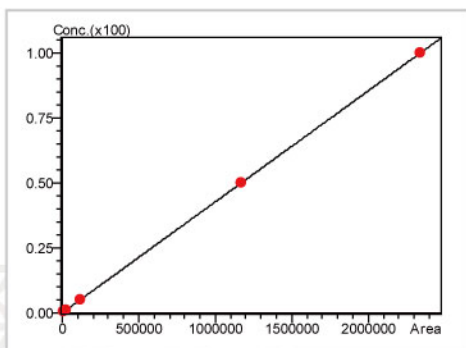


图2 校准曲线

结果表明，该方法线性良好，相关系数为0.9999。

4. 加标回收率

取奶粉空白样品，加入不同浓度的三聚氰胺标准工作液，使奶粉中最终含量分别为 0.5mg/kg 、 5mg/kg 和 50mg/kg ，结果如下

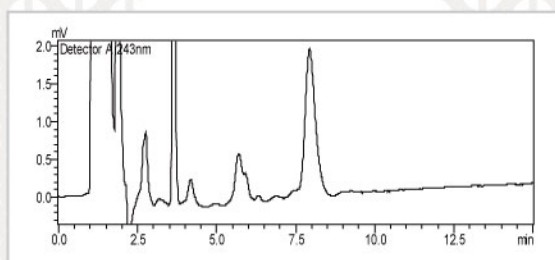


图3 空白奶粉

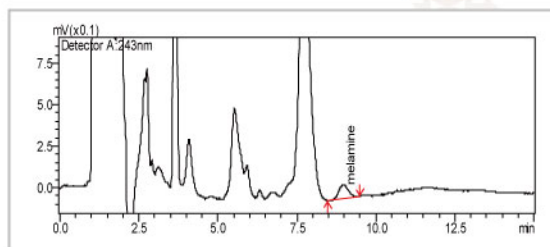


图4 空白奶粉添加0.5mg/kg三聚氰胺

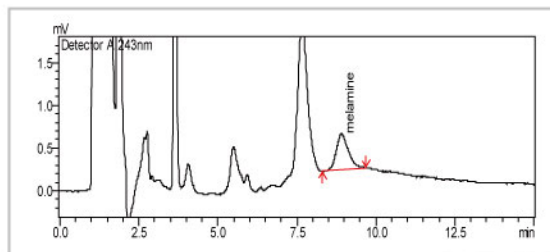


图5 空白奶粉添加5mg/kg三聚氰胺

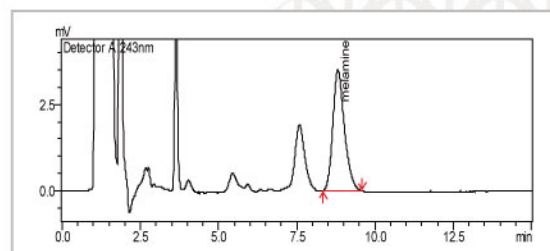


图6 空白奶粉添加50mg/kg三聚氰胺

加样回收率结果如表2所示。

表2 3个不同浓度样品回收率

加样量 (mg/kg)	计算结果 (mg/kg)	回收率 %	平均回收 率%
0.5	0.55	109.3	120.7
	0.66	132.1	
5	4.56	91.2	87.9
	4.22	84.5	
50	40.6	81.2	82.9
	42.2	84.5	

5. 检测限和定量限

用软件计算出奶粉中三聚氰胺含量检测限为 0.43mg/kg ，定量限为 1.31mg/kg 。

6. 实际样品分析结果

按本方法测定某品牌的奶粉，得到的图谱如图7所示。两份重复样品中测得三聚氰胺的浓度分别为19.7和19.8mg/kg，重现性良好。(用反相离子对色谱法测得的两次结果分别为19.1和19.2 mg/kg)

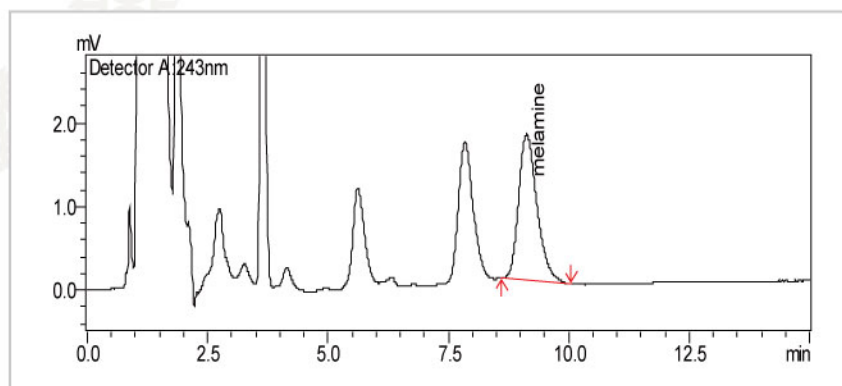


图7 某品牌阳性样品检测结果

■ 结论

本方法定量限为1.31mg/kg，具有操作简单方便，灵敏度较高和重现性好等优点。流动相中不用加入离子对试剂，为LCMS的分析提供了可能。且样品经提取后可不用经过SPE步骤即可进样，大大简化了分析过程，节省了分析成本。本方法适合奶粉中三聚氰胺含量的测定，特别是大批量样品的低成本快速检测。