



反相离子对色谱法分析奶粉中三聚氰胺

No.LC-018

摘要：三聚氰胺（melamine）简称三胺，学名三氨三嗪，别名蜜胺、氰尿酸胺、三聚酰胺。三聚氰胺含氮量为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观含量，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。

本文参考农业部NY/T1372-2007饲料中三聚氰胺测定方法中的样品提取纯化过程，采用反相离子对色谱法测定奶粉中三聚氰胺含量，重现性好，灵敏度高。

关键词：反相离子对色谱 三聚氰胺 奶粉

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：Inertsil C8 4.6 × 250mm 5 μm

检测波长：235nm

流动相：含10mM柠檬酸和10mM辛烷磺酸钠的缓冲液(pH3.0):甲醇=7:3

流速：1mL/min

柱温：40℃

进样量：10 μl

洗脱方式：等度洗脱。

样品前处理方法

参考农业部NY/T1372-2007饲料中三聚氰胺测定方法中的样品提取纯化过程，并进行适当修改，具体步骤如图1所示。

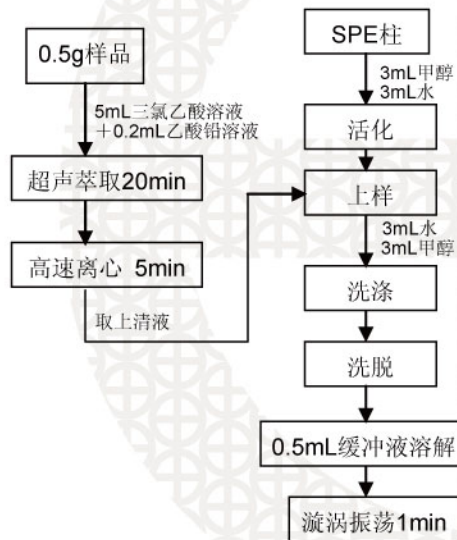


图1 前处理步骤

分析结果

1. 保留时间与峰形

图2为本方法检测三聚氰胺标样的典型色谱图（样品浓度为1 μg/mL）

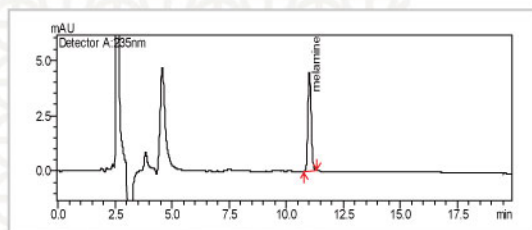


图2 三聚氰胺标样图谱

由图2可见，本方法所测三聚氰胺保留时间为11.02min，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($\mu\text{V}\cdot\text{S}$)
1	11.016	214256
2	11.014	214205
3	11.014	214183
4	11.014	214292
5	11.013	214189
Average	11.014	214225
%RSD	0.01	0.022

由表1结果可见，本方法测定三聚氰胺具有很好的精密度和重现性。

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3)。

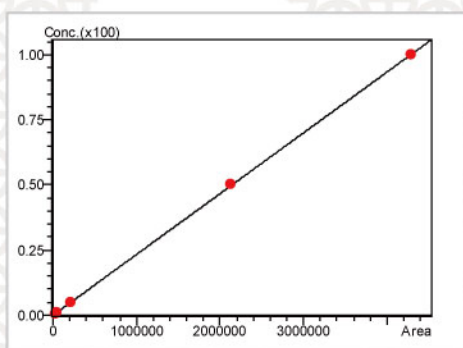


图3 校准曲线

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，分别加入不同浓度的三聚氰胺标准工作液，使其三聚氰胺最终含量分别为0.5mg/kg，5mg/kg，结果如下：

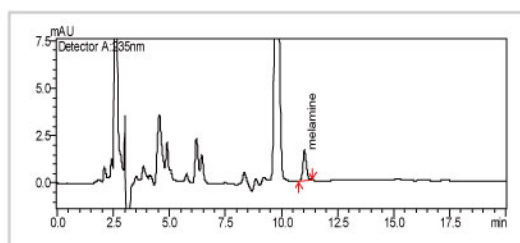


图4 空白奶粉

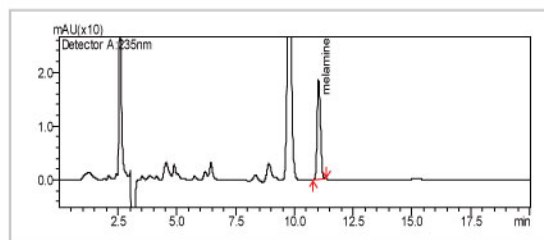


图5 空白奶粉添加0.5mg/kg三聚氰胺

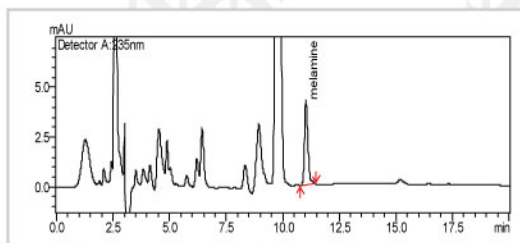


图6 空白奶粉添加5mg/kg三聚氰胺

扣除空白奶粉后的加样回收率结果如表2所示。

表2 2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	0.64	114.	122
	0.73	131	
5	4.33	86.6	82.0
	3.87	77.3	

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0.026mg/kg，定量限为0.079mg/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19.1和19.2mg/kg，重现性良好。

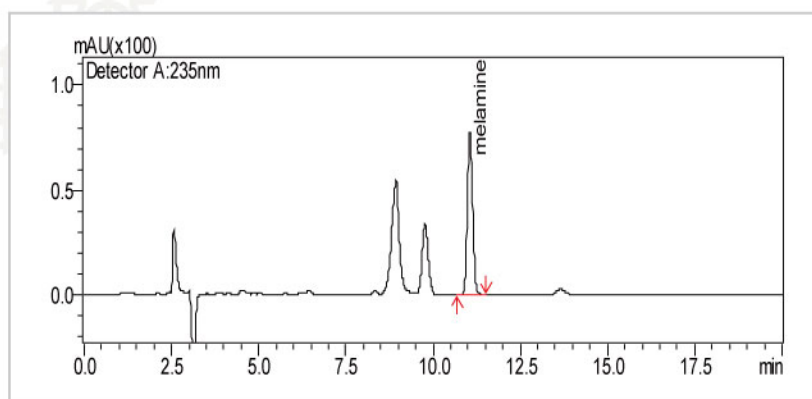


图7 某品牌阳性样品检测结果

■ 结论

本方法定量限为0.079mg/kg，具有仪器成本低，灵敏度高和重现性好等优点，适用于奶粉中三聚氰胺含量的准确测定，特别是低含量样品的检测。