

高效液相色谱法测定乳制品中三聚氰胺的含量

作者
邓春波
珀金埃尔默公司



PerkinElmer Series 275 高效液相色谱仪

自 2007 年 2 月 22 日美国出现第一例宠物饲料导致死亡的病例起，三聚氰胺就为大家所熟知。为了增加蛋白质的表观分析含量，在饲料、原料奶、奶粉等奶制品中人为添加的三聚氰胺，但食物中只要同时氰尿酸（cyanuric acid，类似三聚氢胺的成分）时，即使是极微量的三聚氰胺也会与氰尿酸立刻形成结晶，沉淀在肾脏的肾小管，造成急性肾衰竭与死亡。这正是造成美国宠物饲料导致死亡的原因，也是 2008 年 9 月份三鹿婴幼儿奶粉事件的罪魁祸首。

本文参考《原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法》(GB/T22388-2008)，用三氯乙酸溶液提取试样中的三聚氰胺，经过冷冻离心，过滤后经混合型阳离子交换固相微萃取小柱净化，洗脱液用氮气浓缩并吹干，用流动相溶解后，用高效液相色谱仪进行定性和定量分析。方法检出限为 1mg/kg。回收率在 95%左右。

1. 实验部分

1.1 仪器型号

高效液相色谱仪（美国 PerkinElmer 公司）：Series 275 型自动进样器，Series 275 型二元微泵，Series 200 型柱温箱，Series 200 型紫外检测器。

色谱柱：Brownlee C8 250mm*4.6mm*5um

固相微萃取小柱：阳离子交换柱(Cleanert PCX 60mg/3ml)

1.2 试剂

三聚氰胺，CAS 108-78-1, Cat. 240818-5G, Aldrich

流动相：辛烷基磺酸钠-柠檬酸缓冲溶液（pH=3）-乙腈（85+15，体积比）

1.3 实验步骤

1.3.1 提取

5.0100ml 容量瓶中，用 1%三氯乙酸水溶液溶解并定容，漩涡震荡 30s 混匀，超声提取 20min，静置 2min，冷冻离心，取上清液过滤，待用。

1.3.2 净化

混合型阳离子交换固相萃取柱依次用 3.0ml 甲醇和 3.0ml 蒸馏水活化后，加入样品提取液 2ml，依次用 3.0ml 蒸馏水和 3.0ml 甲醇洗柱，再用 3.0ml 5%氨水甲醇溶液洗脱，收集洗脱液，50℃氮气吹干，待用。

1.3.3 分析

取净化所得样品加入 1ml 流动相，用 0.22um 的滤膜过滤，置于自动进样器小瓶中，上高效液相色谱仪进行分离，于 240nm 处测定。

2. 数据结果分析

2.1 系统干扰

试剂空白，方法过程空白

整个系统及分析操作没有带入系统干扰，见图 1。

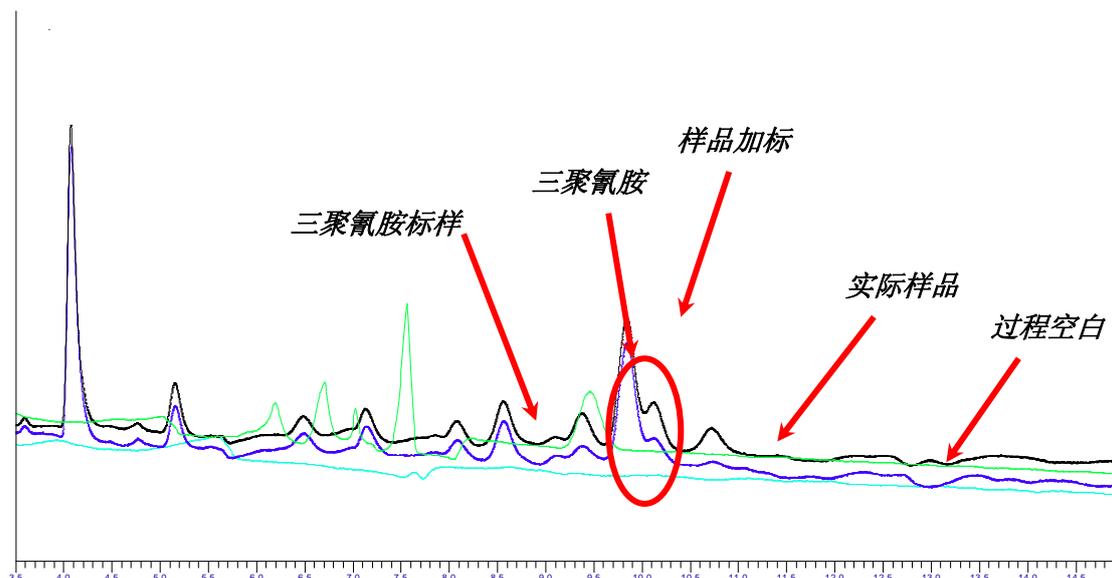


图 1 三聚氰胺过程空白，样品及样品加标图谱

2.2 标准工作曲线

取适量三聚氰胺标准品用乙腈水溶液稀释成浓度为 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 、0.4 $\mu\text{g/ml}$ 、0.8 $\mu\text{g/ml}$ 、1.5 $\mu\text{g/ml}$ 、2.0 $\mu\text{g/ml}$ 的标准工作液，直接上仪器测定。

以面积对浓度进行线性回归得回归方程为： $Y=(25.817038)+(92200.966942)X$

$R^2=0.999031$ ，在 0.1~2.0 $\mu\text{g/ml}$ 范围间，呈现良好的线性关系，见图 2。

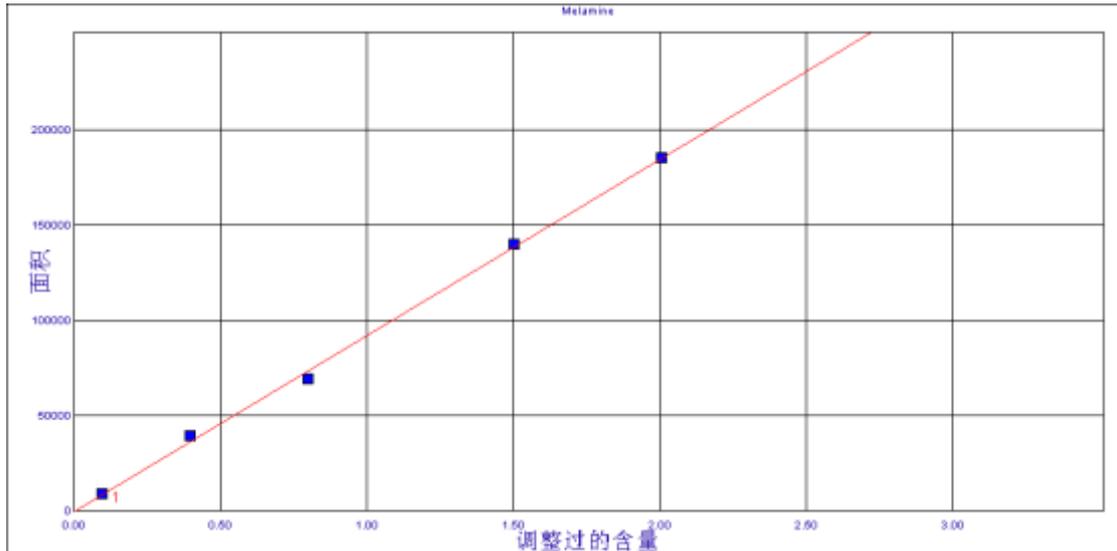


图 2 三聚氰胺标准曲线

2.3 回收率实验

对客户实际奶粉样品加标测定，计算加标回收率为 94.7%，见图 3。

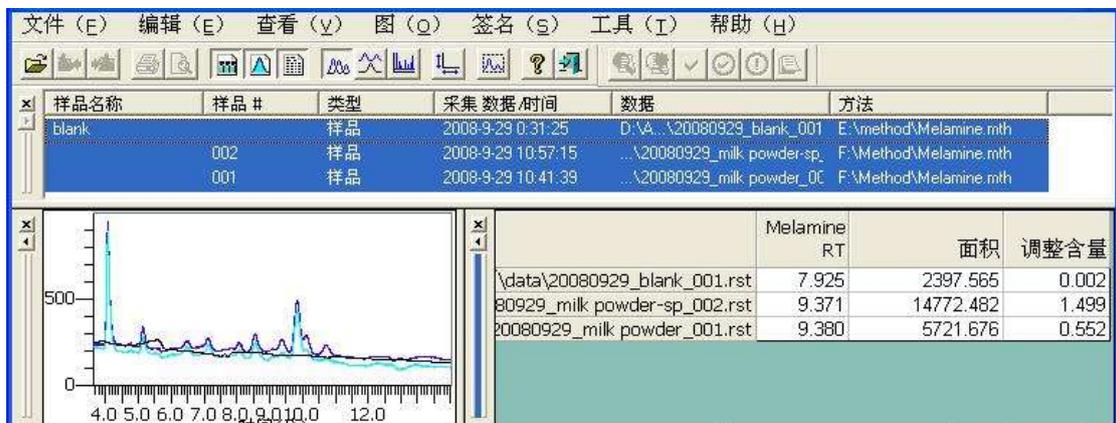


图 3 三聚氰胺过程空白，样品及样品加标结果

3. 结论

由于三聚氰胺具有高沸点和强极性的特点，高效液相色谱法就成为了简单而传统的测定方式。采用多点校正计算样品中含量，对复杂样品也能很好的确定三聚氰胺的含量。

珀金埃尔默仪器(上海)有限公司

地址：上海张江高科技园区李冰路 67 弄 4 号楼

电话：021-38769510

传真：021-50791316

电子邮件地址：CustomerCareCN@perkinelmer.com



要获取全球办事处的完整列表，请访问 www.perkinelmer.com.cn/lasoffices

©2008 PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。珀金埃尔默徽标和外观设计是珀金埃尔默有限公司的注册商标。TurboMatrix 是珀金埃尔默有限公司及其子公司在美国或其它国家和地区的商标，Clarus 和 PerkinElmer 是珀金埃尔默有限公司及其子公司在美国或其它国家和地区的注册商标。文中提及的其它非珀金埃尔默有限公司及其子公司所有的其它商标均为其各自所有者的财产。珀金埃尔默保留随时更改此文档的权利，恕不另行通知。对于编辑、图片或排版错误概不承担任何责任。