

乳制品中三聚氰胺的高效液相色谱检测法

三聚氰胺（Melamine）是一种重要的三嗪类含氮杂环有机化工原料，主要用于生产三聚氰胺-甲醛树脂，广泛用于木材加工、塑料、涂料、造纸、纺织、皮革等行业，为白色晶体。三鹿奶粉事件引发了对三聚氰胺检测的广泛关注，国家质量监督检验检疫总局和国家标准化管理委员会相继发布了《原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法》（GB/T22388-2008）和《原料乳中三聚氰胺快速检测 液相色谱法》（GB/T22400-2008）的国家标准。本文参考了以上标准并进行配制条件优化，建立了液相色谱检测法，前处理简单，检测限、精密度、重现性以及回收率均符合国家标准。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC1620 高效液相色谱仪（含 UV1620 紫外-可见检测器 1 台，P1620 高压恒流泵 1 台，上海舜宇恒平科学仪器有限公司）；AT-330 色谱柱温箱（天津奥特赛恩斯仪器有限公司）；FA2004 分析天平（上海舜宇恒平科学仪器有限公司）；TGL-16G-A 离心机（上海安亭科学仪器厂）；三聚氰胺标准品(>99%，上海安谱)；辛酸磺酸钠(色谱纯，北京百灵威)；磷酸(分析纯)、乙腈(色谱纯，美国 Tedia)、纯净水(杭州娃哈哈)。

1.2 标准品溶液配制

精密称取三聚氰胺标准品，溶于 50% 的甲醇水溶液，配制称 1.422mg/ml 的标准储备液，于 4℃ 避光保存。根据实验需要，用流动相逐级稀释成适当浓度的标准工作液。

1.3 样品前处理

称取 2g 酸奶样品与 50ml 具塞离心管中，加入乙腈：水=50：50 混合溶液 15ml，充分混匀后超声提取 15min。取提取液 250ul，加入 0.1mol/l 盐酸 750ul，混匀，以 12000r/min 离心 5min，取上清液，0.22um 滤膜过滤，作为 HPLC 测定溶液。

1.4 色谱条件：

色谱柱: Globalsil C18 5 μ m(ID4.6mm \times 250mm)

流动相: 乙腈/缓冲盐=15/85 (缓冲盐: 10mM 辛酸磺酸钠水溶液, 含 0.1%磷酸)

流速: 1.0ml/min

波长: 240nm

温度: 40 $^{\circ}$ C

进样量: 20 μ l

2 实验结果

2.1 精密度实验

取浓度为 0.569 μ g/ml 三聚氰胺标准工作液, 按上述色谱条件, 连续进样 5 次, 以各成分峰面积计算 RSD(%), 所得结果如表 1 所示: 保留时间相对标准偏差 (RSD) 为 0.23%, 峰面积 RSD 为 0.57%。

表 1 精密度实验

NO.	Retention time (min)	Peak High	Peak Area
1	11.933	289	4216.8
2	11.990	290	4264.2
3	11.928	287	4246.0
4	11.927	287	4242.8
5	11.923	284	4218.6
RSD(%)	0.23	0.82	0.57

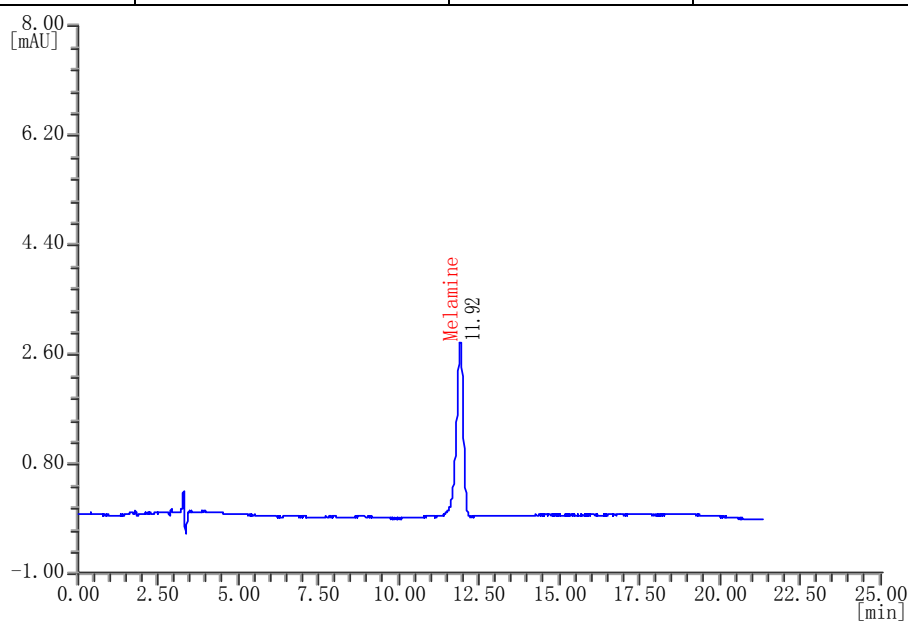
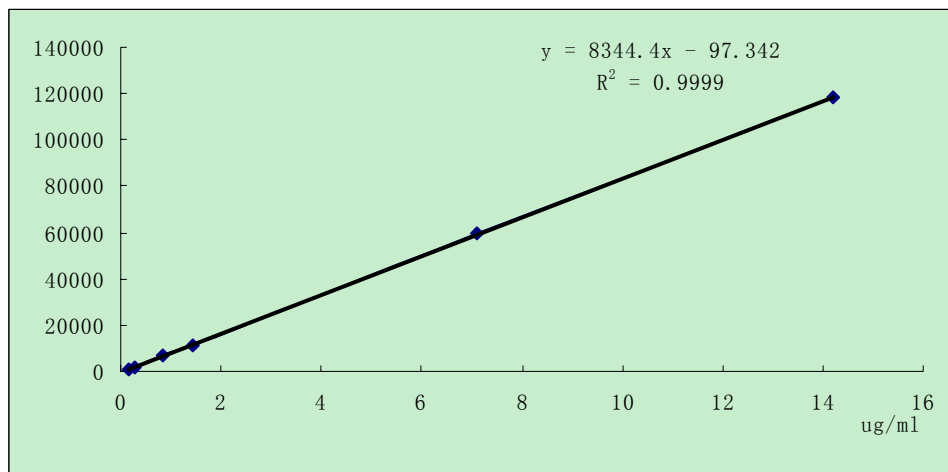


图 1 三聚氰胺标准品

2.2 标准曲线

配置浓度分别为 0.142、0.284、0.853、1.422、7.110、14.220 $\mu\text{g/mL}$ 的三聚氰胺标准工作液。将以上 6 种标准工作液在上述色谱条件下按浓度由低至高进样。用最小二乘法以对照品浓度(横坐标 X 轴, $\mu\text{g/mL}$)对峰面积(纵坐标 Y 轴)进行线性回归, 求算标准曲线。



2.3 加样回收率和重现性实验

取已知三聚氰胺含量的酸奶样品, 加入一定量的标准储备液, 按“样品前处理”操作, 平行制备 3 份, 得到样品溶液后按上述色谱条件进样分析, 得到加样回收率及重现性结果, 见表 2。

表 2 加样回收率和重现性 (n=3)

Spiked(mg/kg)	Recovery(%)	RSD(%)
35.0	87.2	1.37

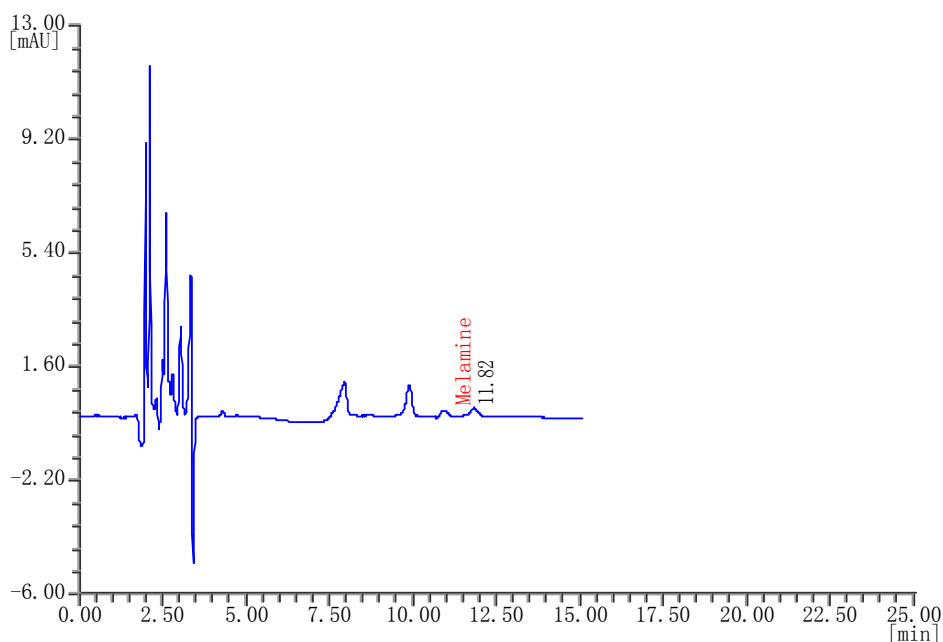


图 2 空白酸奶样品

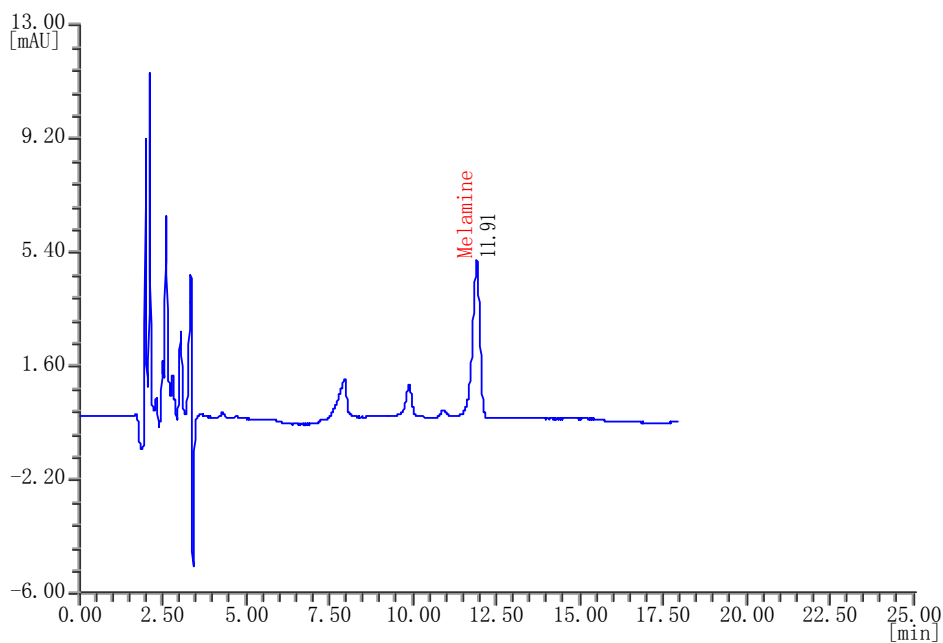


图3 加标酸奶样品

2.4 检测限及定量限

依据噪声值，按 3 倍信噪比，计算其理论检出限，为 0.221 mg/kg；按 10 倍信噪比，计算其定量限，为 0.738 mg/kg。

3 结论

本方法优化了高效液相色谱法检测乳制品中三聚氰胺测定方法，该方法简化了前处理步骤，易于操作，线性关系良好，有较好的精密度和重现性，回收率满足国家标准的要求，检出限和定量限也符合目前三聚氰胺的检测要求。

LC1620 系列液相色谱仪介绍

LC1620 系列液相色谱仪立足自主开发，采用世界先进的结构设计和精密的机械加工，为您展现良好的稳定性和可靠性。整套仪器采用模块式设计和数字化智能控制，更增加了实验的灵活性和自由性，是一款真正的高性价比仪器。

仪器特点：

- * 模块式设计，灵活组合，方便配置的多样性
- * 高精度结构设计，性能稳定，指标优异，适于连续运行
- * 数字化智能控制，系统所有设定均可由电脑完成
- * 强大的数据处理功能，满足您的多种数据分析和报告输出需求



仪器配置表

等度系统	高压二元梯度系统
P1620 高压恒流泵	P1620 高压恒流泵（2 台）
UV1620 紫外检测器	UV1620 紫外检测器
7725i 手动进样阀	7725i 手动进样阀
5 μ m, C18 色谱柱	1500 μ L 混合器
LC WorkStation 工作站	5 μ m, C18 色谱柱
附件包	LC WorkStation 工作站
	附件包

您可以针对不同需要，选配多种检测器：如示差折光检测器（RID）、蒸发光散射检测器（ELSD）等。

主要部件技术指标

P1620 高压恒流泵
流量范围：0.001~9.999mL/min
工作压力：0~42MPa
流量设定值误差：Ss \leq 1%(1mL/min, 水, 室温)
流量稳定性误差：RSD \leq 0.1% (1mL/min, 水, 室温)
密封性：压降< 0.5MPa/10min (42 MPa)

UV1620 紫外检测器
波长范围：190~680nm
光谱带宽：8nm
基线噪音： $\leq \pm 1 \times 10^{-5}$ AU
基线漂移： $\leq 2 \times 10^{-4}$ AU/h
波长示值误差： ± 1 nm
最小检测浓度： $\leq 1 \times 10^{-8}$ g/mL（萘/甲醇溶液）
线性范围： $\geq 10^4$