

婴幼儿奶粉中双氰胺的测定

摘要：本文建立了利用我公司高效液相色谱 LC-5500 测定婴幼儿奶粉中双氰胺含量的方法：试样用水、乙腈溶解，离心，样品溶液经双氰胺净化管净化后，进高效液相色谱仪，根据保留时间和峰面积进行定性和定量。该方法在 0.1 ~ 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好，回收率在 95.1% ~ 98.7% 之间，精密度良好，检出限完全满足检测分析要求。

关键词：LC-5500 高效液相色谱；双氰胺；奶粉

目前中国市场上进口的新西兰大包奶(包括脱脂奶粉、全脂奶粉)占到了中国总进口量的 80%，而新西兰乳制品占到了中国全进口婴幼儿食品的 40% 左右。近日，媒体爆出新西兰出产的部分牛奶和奶粉中检测出少量双氰胺化学残留物，引起了很多人的关注。双氰胺化学名称为二氰二氨、二聚氰胺，白色结晶粉末。

本文建立了婴幼儿奶粉中双氰胺高效液相色谱分析方法，样品前处理过程简单、快速，方法定性定量准确，灵敏度高，完全满足检测要求。

1 实验部分

1.1 主要仪器和试剂

LC 5500 高效液相色谱仪：配有紫外检测器

DM-100 在线脱气机

超声波水浴

离心机

乙腈

乙酸铵溶液（0.01mol/L）

乙酸

双氰胺净化管

双氰胺标准品（含量 $\geq 99.0\%$ ）

1.2 色谱条件

色谱柱：Venusil HILIC，250 mm×4.6mm，5μm。

流动相：乙腈+乙酸铵溶液（0.01mol/L，PH=4.20）=90+10，0.45 μm 滤膜过滤。

流速：1.0 mL/min。

检测波长：220 nm。

柱温：30℃。

进样量：20 μL。

1.3 试样处理

称取 1g 奶粉样品于 50mL 具塞离心管中，加 2mL 水，涡旋 30s，加 2ml 乙腈涡旋 30s。再加入 2mL 乙腈，重复上述提取步骤。将该提取步骤重复 2 次，得到共计约 10mL 的提取液。以 4000r/min 离心 5min，取 2mL 上清液加入双氰胺净化管上下晃动 30s，然后涡旋 30s 后，4000r/min 离心 10min，取全部上清液(约 10mL) 于玻璃试管中，50℃下氮气吹干，加入 50%乙腈水溶液，摇匀，过 0.22μm 微孔滤膜，待测。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线的绘制

2.1.1 标准溶液配制

双氰胺标准储备液：准确称取双氰胺标准品 10mg 于 10mL 容量瓶中，加水溶解并稀释至刻度，此标准储备液浓度为 1mg/mL。

双氰胺标准工作液：吸取双氰胺标准储备液 1mL 于 100mL 容量瓶中，用乙腈定容配成标准溶液浓度为 10μg/mL。再分别吸取 10μg/mL 双氰胺标准溶液 5.0、2.0、1.0、0.5、0.1mL 于 10mL 容量瓶中，用乙腈定容至刻度，此标准工作液浓度为 5.0、2.0、1.0、0.5、0.1μg/mL。

2.1.2 标准曲线

将双氰胺标准工作液依次按上述色谱条件上机测定，记录色谱峰面积。以峰面积为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线。

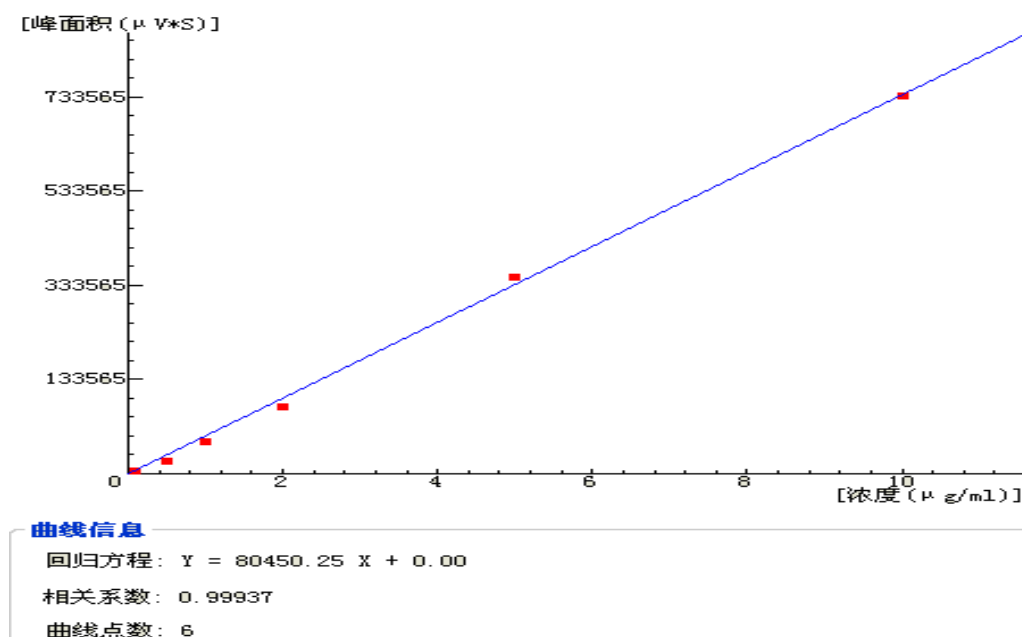


图 1 双氰胺标准曲线谱图

2.2 样品分析

将样品溶液按上述色谱条件上机测定，记录色谱峰面积，计算含量。

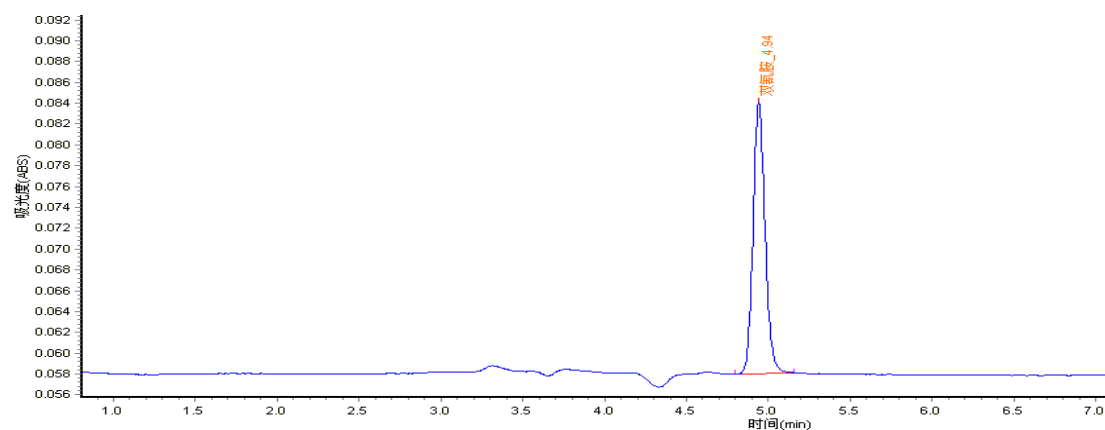


图 2 1.0 μ g/mL 标样谱图

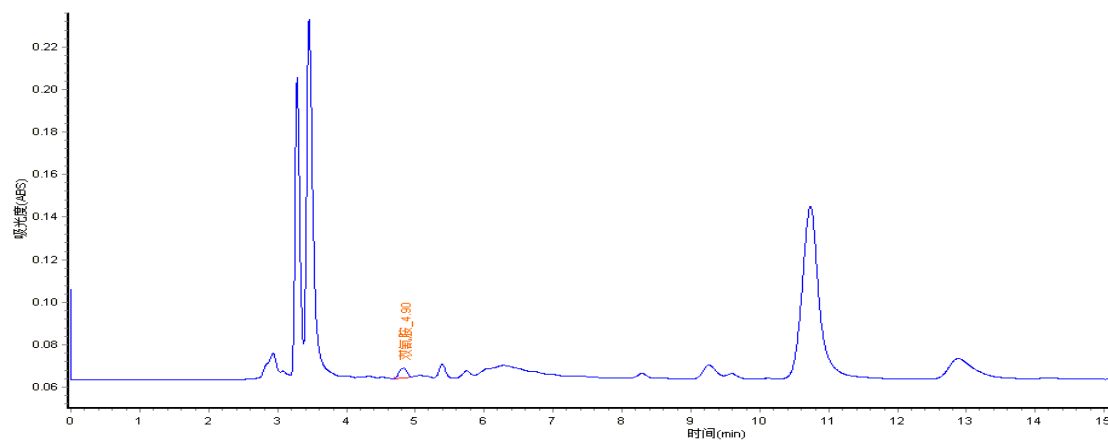


图 3 某品牌奶粉添加 1.0 μ g/g 双氰胺谱图

2.3 回收率实验

在样品中分别加入 0.1、0.5、1.0mL 的 10 μ g/mL 的标准溶液，按上述方法进行样品处理，得到回收率如下表所示。

序号	加标量（10 μ g/mL 标准溶液） （mL）	回收率（%）
1	0.1	98.7
2	0.5	95.5
3	1.0	95.1

表 1 回收率实验

2.4 精密度实验

相同的条件下，取三份样品，分别加入 0.5mL 的 10 μ g/mL 的标准溶液，结果如下：

组分名称	第一次测定 结果（mg/kg）	第二次测定 结果（mg/kg）	第三次测定 结果（mg/kg）	RSD（%）
双氰胺	4.9	5.1	5.3	3.92

2.5 最小检出限

以 3 倍的基线噪声计算出检出限为 0.4mg/kg。

3 结论

用 LC-5500 高效液相色谱分析婴幼儿奶粉中双氰胺的含量，峰形良好，重复性良好，该方法在 0.1~10.0 μ g/mL 浓度范围内线性关系良好，回收率在 95.1%~98.7%之间，满足分析要求。

奶粉中双氰胺检测实验系统配置

（高效液相色谱）

LC5500 或 LC5510（单泵）（或升级为双泵，组成高压梯度系统）

DM-100 在线脱气机（选配）

AS-401 自动进样器（选配）

溶剂过滤器（配备真空泵）

超声波清洗器

分类	名称	规格	数量
试剂	乙腈	色谱纯（4L/瓶）	1 瓶
	乙酸铵	优级纯或更高级别 （500g/瓶）	1 瓶
	乙酸	优级纯或更高级别 （500mL/瓶）	1 瓶
基本器具	纯净水（有条件可 购纯水机）	HPLC 使用纯净水	1 桶
	电子天平	精确至 0.0001g	1 台
	PH 计	带控温，精确至 0.01	1 台
	漩涡混合器		1 台
	氮吹仪		1 台
	0.45μm 有机系 滤膜	100p/盒	1 盒

基 本 器 具	0.22μm（或 0.45μm）有机系过 滤头	配套一次性注射器使 用	1 包
	一次性注射器	1mL	10 支
	移液管	1mL	5 支
	移液管	2mL	5 支
	移液管	10mL	5 支
	具塞离心管	50mL	10 个
	具塞离心管	15 mL	10 个
	容量瓶	1000mL	1 个
	容量瓶	500 mL	1 个
	容量瓶	10 mL	10 个
	洗耳球		1 个
	移液器（选配）	1 mL	1 支
	移液器（选配）	5 mL	1 支
标品	双氰胺标准品	500mg/瓶	1 瓶
色谱 柱	Venusil HILIC	250 mm×4.6mm 5μm	1 根