

用伍丰 LC-100PLUS 液相色谱仪检测液态奶中的三聚氰胺

摘要：本文采用上海市伍丰科学仪器有限公司生产的 LC-100PLUS 高效液相色谱仪，按照 2 种国标分别对液态奶中的三聚氰胺进行了检测，三聚氰胺出峰与其它杂质峰分离效果良好，两种国标的峰面积 RSD 分别为 0.2% 和，R 分别为 0.9999 和 0.999，线性关系良好，具有快速、准确、高效的特点。

关键词：三聚氰胺；液相色谱；牛奶。

三聚氰胺，简称三胺，分子式 $C_3N_6H_6$ ，是一种重要的氮杂环有机化工原料。由于三聚氰胺分子中含有大量氮元素，而普通的全氮测定法测奶粉和食品中的蛋白质含量时不能排除这类伪蛋白氮的干扰，因而一些厂商为了低成本而添加这种化工原料，以提高产品中蛋白质含量。《国际化学品安全手册》第三卷和国际化学品安全卡片说明：长期或反复大量摄入三聚氰胺可能对肾与膀胱产生影响，导致产生结石。近期的“三鹿奶粉”事件，就是因为不法分子掺卖混有三聚氰胺的奶粉，导致许多婴儿肾结石，造成了严重的后果。

为了保证我国奶制品的质量，国家质量监督检验检疫总局分别于 2008 年 10 月 7 日和 2008 年 10 月 15 日发表了《GB/T 22388-2008 原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法》和《GB/T 22400-2008 原料乳中三聚氰胺快速检测液相色谱法》。本文采用上海伍丰公司科学仪器有限公司生产的 LC-100PLUS 高效液相色谱仪，按照上述两种国标方法，使用液相色谱法分别对液态奶样品进行了检测。

I、国标 GB/T 22388-2008 原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法

1、实验部分

1.1 主要仪器和试剂

伍丰公司 LC-100PLUS 高效液相色谱仪，配有紫外检测器；

高速离心机；

超声波震荡仪；

涡旋混合器；

氮气吹干仪；

固相萃取装置；

分析天平（万分之一）；

溶剂过滤器（带 0.45um 有机、水系过滤膜和真空泵）；

超声波水浴；

甲醇（色谱纯）；

乙腈（色谱纯）；

氨水；

三氯乙酸；

三聚氰胺；

柠檬酸（分析纯）

辛酸磺酸钠（色谱级）

水（二次蒸馏水以上）

1.2 色谱条件：

色谱柱 EXFORMA AQ-C18 4.6*150mm 5um

流动相 乙腈: 10mM/L 柠檬酸+10mM/L 辛烷磺酸钠缓冲液=10: 90 (pH=3)

检测波长 240nm

柱温 40℃

流速 1ml/min

1.3 三聚氰胺标准溶液的配制

称取三聚氰胺标样 10.0mg，加稀释液（稀释液为甲醇：水=50：50）溶解定容 100ml，即得浓度为 1mg/mL 三聚氰胺标准储备液。将浓度为 1mg/mL 的三聚氰胺标准储备液分别用水稀释成浓度为 0.8ug/mL、2 ug/mL、20 ug/mL、40 ug/mL、80 ug/mL 的标准工作液，过 0.45um 过滤头过滤，保存待测。

1.4 牛奶样品预处理

本实验选用某品牌液态盒装奶，按照国标方法进行预处理。

2、结果与讨论

2.1 标样测定

2.1.1 精密度试验

取浓度为 20 ug/mL 的标准溶液，重复进样 6 次，可得如下图，峰面积的相对标准偏差为 0.2%。

三聚氰胺 20a	A: 109286.3	三聚氰胺 20b	A: 109435.5
	H: 7438		H: 7491
	C: 19.3868		C: 19.4135
	Rt: 6.718		Rt: 6.713
三聚氰胺 20c	A: 109468.7	三聚氰胺 20d	A: 109362.1
	H: 7506		H: 7534
	C: 19.4194		C: 19.4003
	Rt: 6.711		Rt: 6.707
三聚氰胺 20e	A: 109448.5	三聚氰胺 20f	A: 108891.1
	H: 7538		H: 7510
	C: 19.4158		C: 19.3160
	Rt: 6.710		Rt: 6.713
相对标准偏...	A: 0.20 %		
	H: 0.48 %		
	C: 0.20 %		
	Rt: 0.06 %		

图 1 浓度为 20 ug/mL 的重复性



图 2 六次谱图叠加

2.1.2 线性实验

取浓度为 0.8ug/mL、2 ug/mL、20 ug/mL、40 ug/mL、80 ug/mL 的标准工作液分别作样，并计算线性范围。R=0.9999，线性良好。如图 3 所示：

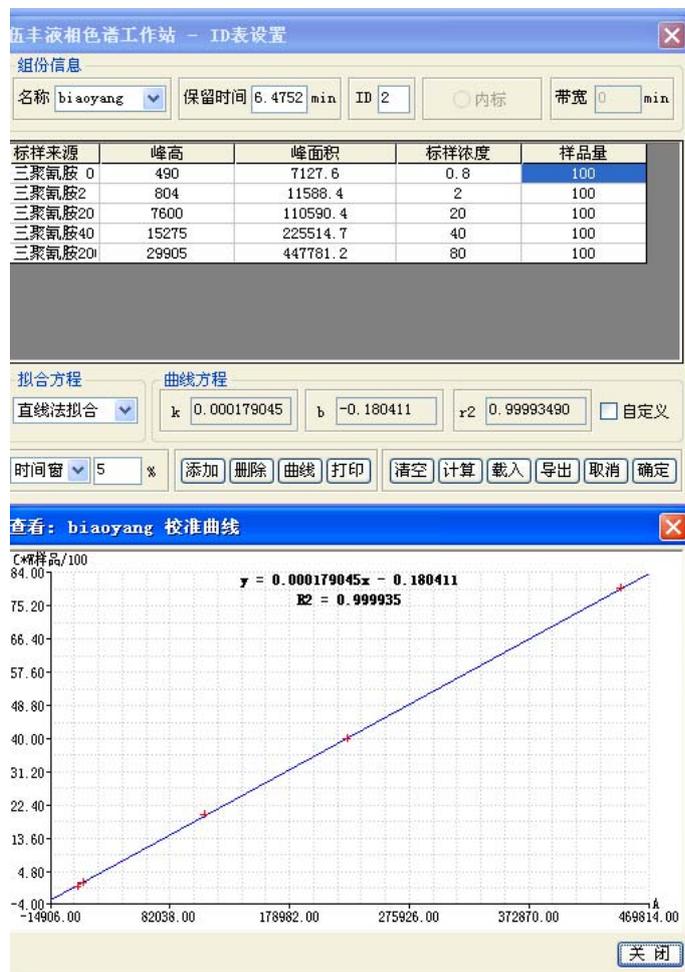


图 3 三聚氰胺标准样品工作曲线

2.2 牛奶样品中的三聚氰胺含量测定

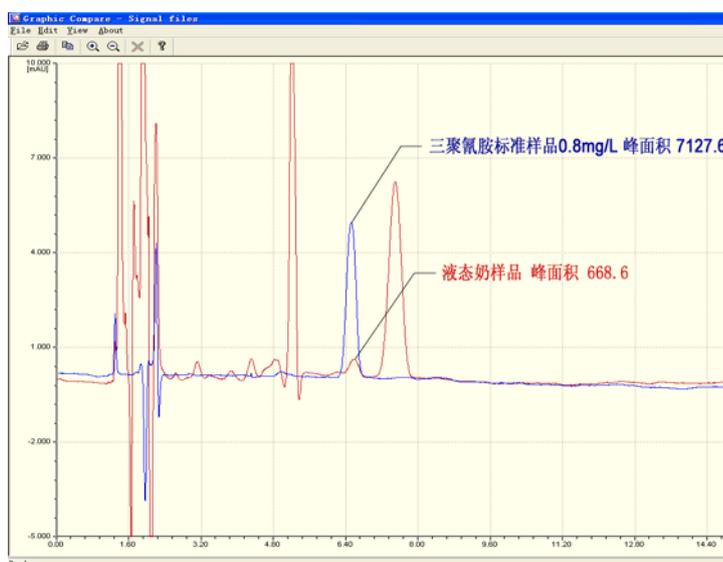


图 4 牛奶样品中的三聚氰胺含量与三聚氰胺标准品对比图

如上图所示，此次测定的牛奶样品中三聚氰胺峰面积大约为 0.8ug/mL 的三聚氰胺标准品出峰面积的 1/10，因此这份样品中的三聚氰胺含量远远低于国家规定的成人液态奶中含量低于 2.5mg/kg 的要求，符合标准。

II、国标 GB/T 22400-2008 原料乳中三聚氰胺快速检测液相色谱法

1、实验部分

1.1 主要仪器和试剂

LC-100PLUS 高效液相色谱仪；

高速离心机；

分析天平（万分之一）；

溶剂过滤器（带 0.45um 有机、水系过滤膜和真空泵）；

乙腈（HPLC 级）；

三聚氰胺；

磷酸二氢钾；

磷酸；

水（二次蒸馏水以上）

1.2 色谱条件：

色谱柱 Venusil M-SCX 4.6*250mm 5um 强阳离子交换柱

流动相 乙腈：磷酸盐缓冲液 =30：70（pH=3）

检测波长 240nm

柱温 室温

流速 1ml/min

1.3 标准溶液的配置

按照快速检测国标方法分别配置浓度为 1mg/mL 的三聚氰胺标准贮备液和浓度分别为 0.20、0.50、2.00、5.00、20.0、50.0 mg/mL 的三聚氰胺标准液待测。

1.4 牛奶样品预处理

本实验选用某品牌液态盒装奶，按照快速检测国标方法进行预处理。加入乙腈，剧烈震荡后加水定容、静置、移取上层清液待测。

2、结果与讨论

2.1 标准样品的测定

将上述标准工作液分别进样，得到工作曲线如图，相关系数 0.999，测定结果准确可靠。

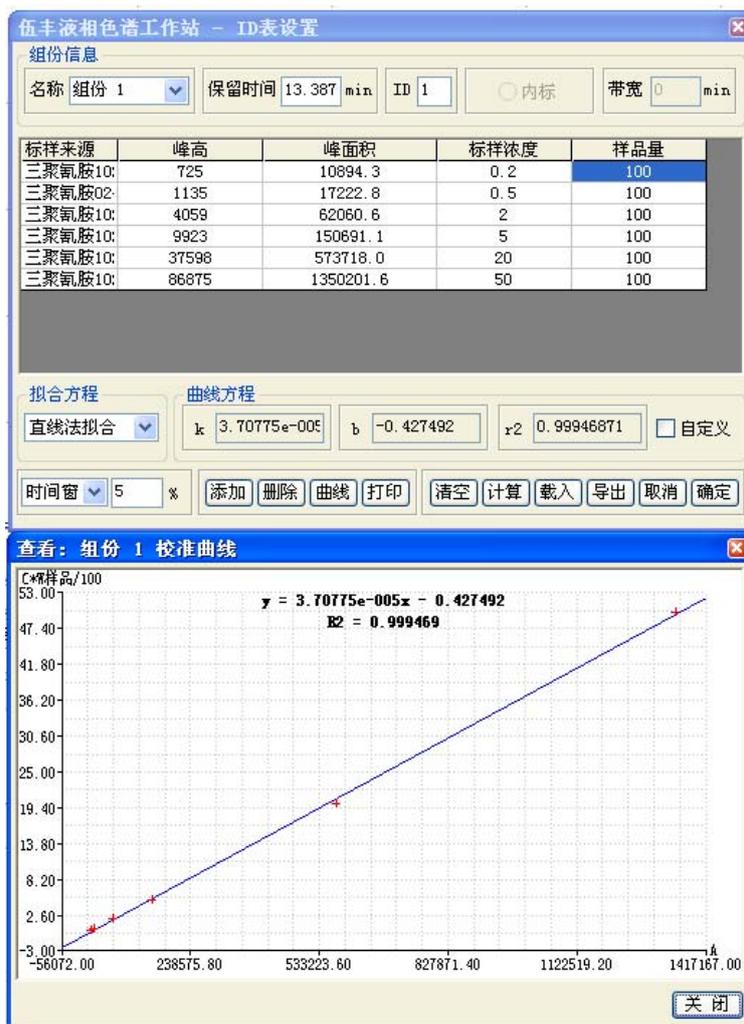


图 5 三聚氰胺标准样品工作曲线

2.2 牛奶样品的测定

下图为牛奶样品以及在牛奶样品中分别加入 1.00、2.50、10.0、25.0mg/mL 的三聚氰胺标准样品的谱图对比。

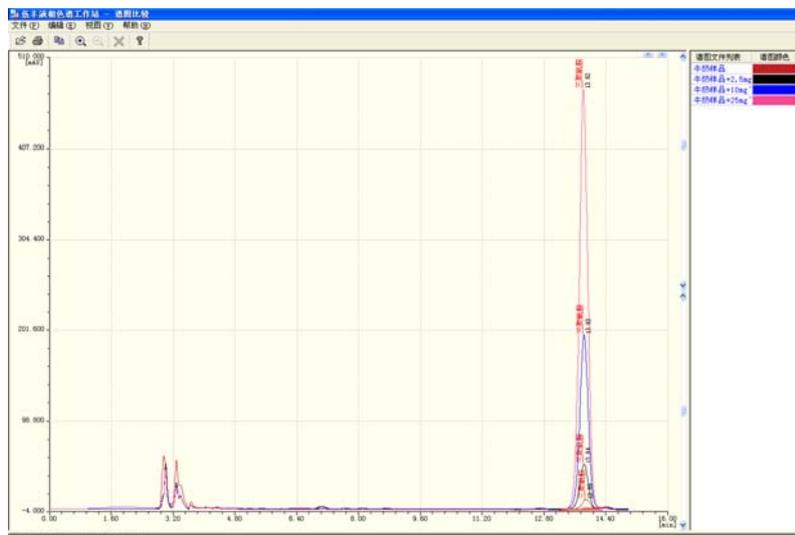


图 6 牛奶样品与加入不同浓度的三聚氰胺标准品的牛奶样品对比图

III、结论

通过使用两种国标提供的方法对三聚氰胺标准品和牛奶样品的检测，可以看出，国标 GB/T 22388-2008 与 GB/T 22400-2008 对三聚氰胺样品都能进行有效的分析。

国标 GB/T 22388-2008 对实际样品的前处理较为彻底，牛奶样品杂质峰少、样品杂质少，对仪器管路及色谱柱的污染较小。但是预处理耗时比较长，测定周期长，不适合快速检测。另外这个方法可以使用普通的 C18 柱，试验结果三聚氰胺出峰形状好、与杂质峰分离效果好。

国标 GB/T 22400-2008 采用快速的预处理方法，前处理大约只需要 15 分钟左右，大大节省了时间。但是此种方法得到的待测样品杂质多，在前处理中应尽量静置取上层清液。在配置流动相时，应准确调节 PH 值以保证三聚氰胺峰与杂质峰良好分离。此方法采用强阳离子交换柱，比普通 C18 柱略贵，但是省去了预处理中氮吹仪和固相萃取装置，因此大大节省了测定成本和时间，利于向广大基层推广。

俗语说：“民以食为天。”食品安全是关系到国计民生的大事。相信经此事件之后，举国上下，从政府到生产厂家、从经销商到消费者，都会对食品安全问题越来越重视。现代化的科学仪器将越来越多地被使用到对食品安全的检测中来。在这一领域里，液相色谱方法将会发挥越来越大的作用，以保障人民群众的利益。