

高效液相色谱法 (HPLC)测定饲料中三聚氰胺的含量

倪沁颜

(福建省测试技术研究所,福州 350003)

摘要: 本文建立了饲料中三聚氰胺的 HPLC测定方法。该法采用 Symmetry C₁₈柱为分离柱,二极管阵列紫外检测器进行样品检测 ($\lambda_{\max}=236\text{nm}$)。方法简单、快速、重现性好,平均回收率大于 90%,RSD 小于 3.0%,线性范围为 1mg/L - 100mg/L。

关键词: 高效液相色谱;饲料;三聚氰胺

中图分类号: O657.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-8143(2008)01-0057-03

Analytical Method for the Determination of Melamine in feedstuff By HPLC

Ni Qinyan

(Fujian Institute of Testing Technology, Fuzhou, Fujian 350003, China)

Abstract: A method is reported for the determination of melamine in feedstuff. Final analysis is accomplished using Symmetry C₁₈ stainless column and liquid chromatography-ultraviolet detection at a wavelength of 236nm. the method is accurate, rapid and convenient. the results indicate that the recovery is more than 90%, RSD is less than 3.0% and the working curves of melamine was in the linear range 1mg/L - 100mg/L.

Key words: HPLC; feedstuff; Melamine

1 前言

三聚氰胺是一种重要的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、电气、医药等行业,目前是重要的尿素后加工产品。此外三聚氰胺还可以作阻燃剂、减水剂、甲醛清洁剂等。这种化学品含有氮元素,蛋白含量的传统测定方法是通过测定产品中总氮的含量,因此一些饲料厂通过在饲料中添加三聚氰胺提高产品中总氮的含量从而导致蛋白含量测定值偏高。2007年3月中旬以来,美国发生多起猫、狗宠物中毒死亡事件。美国食品药品监督管理局调查发现从江苏徐州某公司和山东滨州某公司进口的部分小麦蛋白粉和大米蛋白粉中含有三聚氰胺,初步认为宠物食品中含有的三聚氰胺是导致猫、狗中毒死亡的原因。因此对我国三聚氰

胺含量的监测是十分必要的。

三聚氰胺(含量: >98%)的传统测量方法是间接测定,往往是在测定其它杂质如水分、灰分、碱溶物后以差减方法求得其含量。近年来开始采用直接的测试方法:如升华法、重量法等。GB 9567-1988中采用重量法测定三聚氰胺的含量。该方法的缺点是操作繁琐,分析时间长(约为8h),测定低含量三聚氰胺时误差大^[1]。本文采用 HPLC法测定饲料中三聚氰胺的含量,利用了 HPLC中紫外-可见检测器的高灵敏度的特点测定低含量成份,测定时间约为10分钟,操作简便、灵敏、结果准确。

2 实验部分

2.1 试剂

三聚氰胺标准(分析纯):中国医药(集团)上海化学试剂公司,纯度 99.0%。

收稿日期:2007-5-28

作者简介:倪沁颜(1977~),女,助工,从事化学分析工作。Email: niqinyan@tom.com

柠檬酸(分析纯);辛烷磺酸钠(分析纯);乙腈(色谱纯);磷酸二氢钾(分析纯)。

文中所用水均为超纯水。

样品提取液:乙腈:水(1:1)

2.2 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪; Waters 2996 二极管阵列检测器; MILLIPORE 超纯水机; SK1200H 型数控超声波清洗器; TDL-40B 离心机。

2.3 色谱条件

色谱柱: Symmetry C₁₈, 5 μ m, 150mm \times 3.9mm; 缓冲液: 称取 1.05g 柠檬酸, 1.08g 辛烷磺酸钠, 超纯水定容至 500mL, 调 pH = 3.0;

流动相: 乙腈: 缓冲液 = 10: 90 (使用前经 0.45 μ m 滤膜过滤)。

流速: 1.0mL/min; 进样量: 10 μ L; 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 检测波长: 236nm。

2.4 标准溶液配制

称取 0.0105g 三聚氰胺标准品于 100mL 容量瓶中, 75% 乙腈溶解定容至刻度, 配制成 105mg/L 的标准储备液, 使用时用水稀释至所需浓度。

2.5 样品制备

称取 2.000g 饲料样品于 10mL 容量瓶中, 提取液定容至刻度, 超声提取 30min, 提取液离心, 经 0.45 μ m 滤膜过滤得样品溶液。

3 结果与讨论

3.1 色谱图

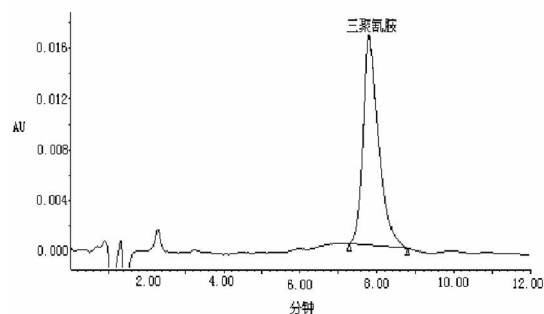


图 1 标样谱图

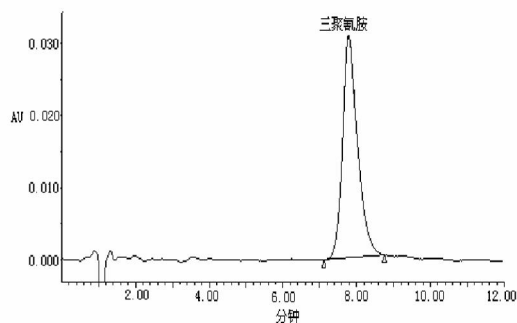


图 2 加标样品谱图

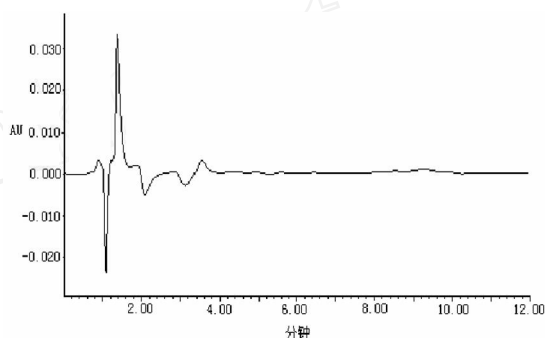


图 3 样品谱图

3.2 检测波长的选择

经二极管阵列检测器的波长扫描, 三聚氰胺在 215nm、236nm 处均有特征吸收, 但以 215nm 处最大, 且杂质峰少, 基线稳定, 因此选择 236nm 作为检测波长。

3.3 流动相的选择

因三聚氰胺结构中含有胺根, 具有较强的极性, 使其在反相键合相上保留值很低, 接近于死时间流出, 不能进行分析^[2]。因此必须将一定量的离子对试剂加入到流动相中, 使其与样品离子结合生成弱极性的离子对。本文分别以磷酸二氢钾和辛烷磺酸钠为离子对试剂进行测定^[3], 实验结果如图 4 所示:

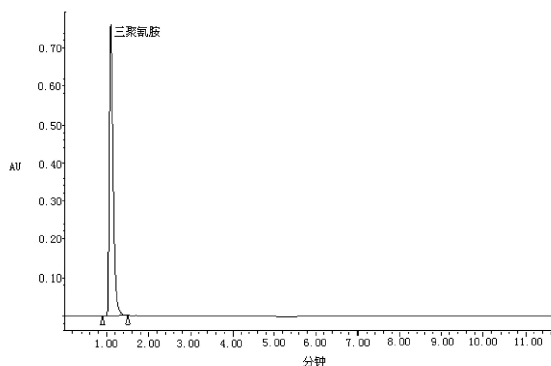


图 4 标样谱图 (磷酸二氢钾为离子对试剂)

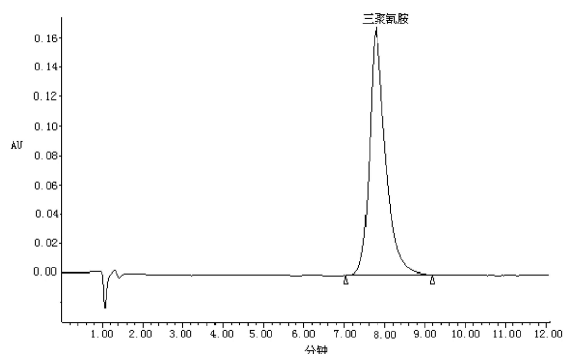


图 5 标样谱图 (辛烷磺酸钠为离子对试剂)

表 1 浓度与峰面积的线性关系

C (mg/L)	1.0	2.0	5.0	10	50	100
峰面积	43650	87686	229140	458614	2460012	4632960

线性回归后得线性方程: $y = 46768x + 9327.1$
 $R^2 = 0.9991$

结果表明,三聚氰胺在 1.0 mg/L - 100 mg/L 的浓度范围呈良好的线性内关系。结合称样量和最终定容体积求得检出限为 5mg/kg。

图 5表明当用辛烷磺酸钠为离子对试剂时,三聚氰胺在 Symmetry C₁₈柱上的保留值有明显提高,有效排除干扰峰的影响,因此选用辛烷磺酸钠作为离子对试剂。

3.4 线性范围和检出限

分别移取 1.0ml、2.0ml、5.0ml、10ml、50ml,超纯水定容至 100ml容量瓶中,色谱进样量 10 μ l,结果见表 1。

3.5 精密度与回收率实验

在样品中分别加入使样品溶液浓度为 5.0mg/L、10mg/L (结合称样量和最终定容体积计为 25mg/kg、50mg/kg)的标准物质,每个称取六个平行样,以测定值计算回收率和精密度,结果见表 2。

表 2 回收率和精密度试验结果 (n=6)

样品空白 (mg/kg)	0	0
加标量 (mg/kg)	25.0	50.0
检测结果 (mg/kg)	23.2	47.5
	24.3	48.6
	24.5	48.0
	23.0	47.0
	23.3	46.9
回收率 (%)	94.5	95.1
相对标准偏差 (%)	2.62	1.36

4 结论

本文建立了高效液相色谱法测定饲料中三聚氰胺的含量,该法同国标所定的重量法相比,操作简便、灵敏、检测线性范围宽,具有较强的实用性。

参考文献

[1] 吴明礼,陈彩虹. 高效液相色谱法 (HPLC)测定单氰胺

中三聚氰胺的含量 [J]. 宁夏石油化工, 2005, 2: 24 - 26

[2] 于世林. 高效液相色谱方法及应用 [M], 第 1 版. 化学工业出版社, 2000: 91.

[3] Robert A. Yokley, * Louis C. Mayer, Ruhi Rezaaiyan, Myra E. Manuli Analytical Method for the Determination of Cyromazine and Melamine Residues in Soil Using LC - UV and GC - MSD. Agric. Food Chem., 48 (8), 3352 - 3358, 2000.