

知识与经验

高效液相色谱法测定蛋制品中三聚氰胺

杨兴龙, 周 玮, 丁红梅, 张 霞

(江苏省南通市产品质量监督检验所, 南通 226005)

中图分类号: O 657.7

文献标志码: B

文章编号: 1001-4020(2011)01-0097-02

三聚氰胺简称三胺, 又叫蜜胺、三聚氰酰胺, 低毒, 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, 广泛应用于塑料、涂料、造纸、木材加工、医药和电器等工业。动物试验结果表明: 动物长期摄入三聚氰胺会造成生殖、泌尿系统的损害, 产生膀胱、肾部结石, 并可进一步诱发膀胱癌^[1]。

蛋白质主要由氨基酸组成。常用的蛋白质测定方法“凯氏定氮法”是通过测出含氮量再乘以换算成蛋白质的平均系数 6.25 估算蛋白质含量。由于三聚氰胺比蛋白质含有更多的氮原子, 因此, 在食品、饲料中添加三聚氰胺会造成蛋白质测定含量较高的假象, 因而被不法商贩利用^[2]。

测定三聚氰胺含量的国家标准方法已相继出台, 其中主要有液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS)、高效液相色谱法 (HPLC)、气相色谱-质谱联用法 (GC-MS)。但是还没有专门针对蛋制品中三聚氰胺测定的相关标准。本工作采用高效液相色谱法对蛋制品中三聚氰胺进行了测定^[3]。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent LC1200 高效液相色谱仪, 附二极管阵列检测器。

三聚氰胺标准储备溶液: 称取三聚氰胺标准品 0.100 0 g 于 100 mL 容量瓶中, 用甲醇 (1+1) 溶液溶解定容, 配成 1.000 g·L⁻¹ 标准储备溶液, 于 4℃ 冰箱中保存, 有效期为一年。

离子对试剂缓冲溶液: 称取庚烷磺酸钠 2.02 g 和柠檬酸 2.10 g 于 1 L 容量瓶中, 用水溶解并稀释至刻度。

庚烷磺酸钠为色谱用离子对试剂, 乙腈和甲醇

为色谱纯, 其余试剂为分析纯, 试验用水为超纯水。

1.2 高效液相色谱条件

Agilent XDB-C₈ 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 检测波长 240 nm, 流量 0.8 mL·min⁻¹, 柱温 40℃, 进样量 10 μL, 流动相为离子对试剂缓冲溶液-乙腈 (85+15) 混合溶液。

1.3 试验方法

称取蛋制品粉碎样品 10.000 g, 分 3 次加入 10 g·L⁻¹ 三氯乙酸-甲醇 (3+1) 混合溶液 50 mL (每次取 20, 15, 15 mL), 加 21.6 g·L⁻¹ 乙酸铅溶液 1 mL 和 10.6 g·L⁻¹ 亚铁氰化钾溶液 1 mL, 混匀, 超声提取 10 min, 以不低于 5 000 r·min⁻¹ 转速离心 10 min, 收集上层清液, 留下的沉淀物继续加提取剂混匀超声提取, 离心过滤, 反复提取 3 次。合并所有的过滤清液, 全部转移至固相萃取柱中, 分别用水和甲醇各 3 mL 洗涤, 抽近干后, 用氨化甲醇溶液 9 mL 洗脱, 洗脱液于 50℃ 下用氮气吹干, 残留物用 1 mL 流动相定容, 漩涡混匀 1 min, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 按色谱条件进行分析。

2 结果与讨论

2.1 沉淀剂的选择

蛋制品中蛋白质含量很高, 常用的蛋白质沉淀剂为乙酸铅、亚铁氰化钾、三氯乙酸等, 结果表明: 乙酸铅、亚铁氰化钾、三氯乙酸三种试剂混合使用效果最好, 其次是单用三氯乙酸, 最后是乙酸铅与亚铁氰化钾混合使用。试验选择 3 种试剂混合使用沉淀蛋白质。

2.2 提取方法的选择

三聚氰胺能溶于甲醇、甲醛, 微溶于水, 甲醇和水可以有效地将三聚氰胺提取出来。分别考察了常温下漩涡提取 4 min、手摇振荡提取 10 min、超声提取 15 min 三种方式, 结果表明三种方式提取效果基本相同。试验选择超声提取方式, 用甲醇、水提

收稿日期: 2009-10-29

取三聚氰胺。

2.3 色谱条件的选择

三聚氰胺极性相对较大, 故选择极性相对较大的 Agilent XDB-C₈ 色谱柱, 使得该物质能很好地保留, 在流动相中使用庚烷磺酸钠离子对试剂缓冲溶液进一步加强其保留特性, 以保证较好的分析效果。

标准品和样品的色谱图见图 1。

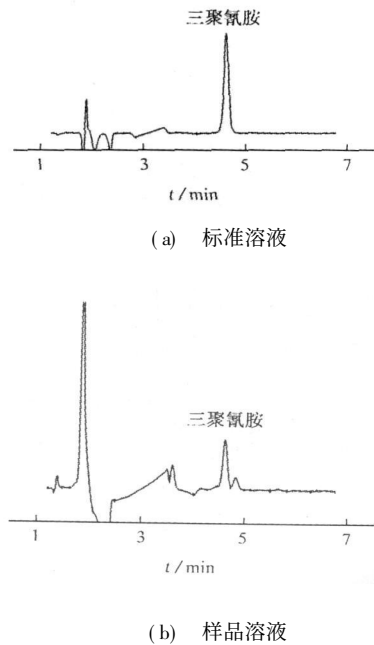


图 1 标准溶液(a)和样品溶液(b)的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of standard solution (a) and sample solution (b)

2.4 标准曲线和检出限

用流动相将三聚氰胺标准储备液稀释为 5.0, 10.0, 25.0, 50.0 mg · L⁻¹ 标准溶液系列, 按色谱条件进行测定, 以峰面积对其质量浓度作图, 标准曲线

的线性回归方程 $y = 48.106x + 8.259$, 相关系数为 0.999 9。根据信噪比 3 倍计算方法的检出限为 1.0 mg · kg⁻¹。

2.5 回收率和精密度试验

在空白蛋制品中加 1.0, 10.0, 50.0 mg · kg⁻¹ 三聚氰胺标准品, 按试验方法进行样品处理, 并按色谱条件进行测定, 回收率和相对标准偏差见表 1。

表 1 回收率和精密度试验结果(n= 6)
Tab. 1 Results of tests for recovery and precision

样品	加标量 /(mg · kg ⁻¹)	回收量 /(mg · kg ⁻¹)	回收率 /%	RSD /%
卤鸡蛋	1.0	0.95	95.0	0.55
	10.0	9.71	97.1	1.05
	50.0	48.85	97.7	3.73
蛋黄粉	1.0	0.96	96.0	1.21
	10.0	10.18	101.8	1.61
	50.0	50.87	101.7	3.62

2.6 样品分析

按试验方法对蛋挞、咸鸭蛋、卤鸡蛋和蛋黄粉等 4 种样品进行处理后, 在色谱条件下进行测定, 测得卤鸡蛋中含有 12.52 mg · kg⁻¹ 三聚氰胺, 其余样品中未检出三聚氰胺含量。

参考文献:

[1] 王亚吨, 林海丹, 邓国东, 等. 反相高效液相色谱测定饲料中三聚氰胺的含量[J]. 广东饲料, 2008, 17(3): 41-43.
[2] NY/T 1372- 2007 饲料中三聚氰胺的测定[S].
[3] GB/T 22388- 2008 原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法[S].

(上接第 96 页)

2.4 精密度试验

按试验方法分别对 2, 8, 10 mg · L⁻¹ 砷标准溶液连续测定 8 次, 砷的相对标准偏差分别为 1.98%, 0.85%, 0.64%。

2.5 回收试验

称取牦牛肉干, 加入 2.00, 8.00 mg · L⁻¹ 砷标准溶液, 按试验方法进行消解并测定, 测得试样中砷的结果为 3.56 mg · L⁻¹, 测定总量分别为 5.21, 11.28 mg · L⁻¹, 回收率分别为 82.5%, 96.5%。

本法采用氢化物发生-原子荧光光谱法测定牦牛肉干中砷的含量, 方法操作简单、污染少、节省试

剂、灵敏度高。

参考文献:

[1] 凌文华. 营养与食品卫生学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 146.
[2] GB/T 5009.11- 2003 食品中总砷及无机砷的测定[S].
[3] 马名扬. 微波消解样品 蒸气发生 原子荧光光谱法测定石油中砷和汞[J]. 理化检验 化学分册, 2008, 44(12): 1184-1185.
[4] 鲁丹, 姜建民. 同时测定保健食品中微量铅和汞的方法研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(1): 36-37.