

食品（奶粉）中三聚氰胺检测方法包

方法包组件清单	1
固相萃取（SPE）方法	2
含量测定 LC-UV 方法	3
含量测定 LC-MS 参考方法	5
联系我们	6

北京艾杰尔科技有限公司

技术支持热线：

张俊燕：15801041922, junyan_zhang@agela.com.cn

杨定忠：13601052087, dz_yang@agela.com.cn

三聚氰胺分析方法包组件清单

包括：

1 Venusil ASB-C18 或 ASB-C8 色谱柱或 XBP-C8 色谱柱 (4.6*250mm, 5 μ m, 150Å)
任选 1 支

2 混合型的阳离子交换柱(Cleanert PCX 60mg/3mL)50 支/盒，3 盒

3 真空固相萃取装置 (12 位)

4 0.22 μ m，13mm Nylon 针式过滤器过滤 200 个/包

5 三聚氰胺标准品 1 瓶 (250mg, $\geq 99.5\%$)

6 三聚氰胺分析方法手册 1 份

7 庚烷磺酸钠 (10g/瓶)，高纯甲醇、乙腈

* 试剂规格请以签订合同时为准，艾杰尔科技拥有最终解释权。

三聚氰胺理化性质

三聚氰胺：英文名“melamine”，简称三胺，学名三氨三嗪，别名蜜胺、氰尿酸胺、三聚酰胺。分子式：C₃N₆H₆、C₃N₃(NH₂)₃；分子量：126.12

物理性能：白色结晶粉末，无毒，无味；相对密度：1570kg/m³；熔点：在常压下，354℃分解；升华温度：300℃；溶解性：能溶于甲醇、甲醛、乙酸、热乙二醇、甘油、吡啶；微溶于水、乙醇；不溶于乙醚、苯和四氯化碳，水溶液呈弱碱性

化学性能：三聚氰胺是一种重要的氮杂环有机化工原料，显弱碱性，能够与各种酸反应生成三聚氰胺盐；在强酸或强碱液中，三聚氰胺发生水解，胺基逐步被羟基取代，生成三聚氰酸二酰胺、三聚氰酸一酰胺和三聚氰酸；三聚氰胺与醛类反应生成加成化合物；三聚氰胺与甲醛反应制成树脂，三聚氰胺树脂是一种多种用途的材料，防火耐热且有很高的稳定性，用于生产塑料、地板砖，厨房用具，防火纤维，商业滤膜，胶水和阻燃剂。

固相萃取(SPE)方法

1 固相萃取(SPE)柱的选择:

三聚氰胺呈弱碱性(弱阳离子化合物), 净化过程一般选择阳离子交换柱。混合型的阳离子交换柱(PCX)通过将磺酸基团($-\text{SO}_3\text{H}$)键合在极性高聚物聚苯乙烯/二乙烯苯 (PEP) 吸附剂上, 具有阳离子和反相两种吸附机理, 并具有以下优点:

- 1) 可通过两种不同溶液的洗涤(水/一定 pH 值的缓冲溶液和有机溶剂),使样品更干净,提高检测的灵敏度。
- 2) 批次重复性好。
- 3) 回收率高,重现性好,即使小柱跑干也可以得到较高回收率。

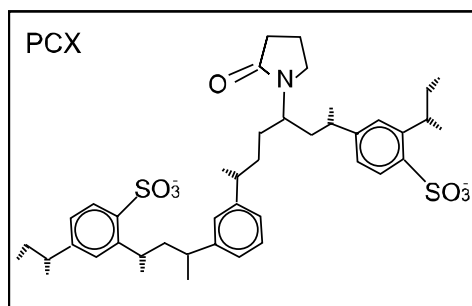


图 1 PCX 结构式

2 样品前处理步骤:

2.1 标准样品配制:

取 50mg三聚氰胺标准品，以 20%甲醇溶解定容至 50mL得到 1000ppm的标准溶液，使用时，以提取液(1%三氯乙酸)稀释至所要的浓度。

2.2 提取:

称取饲料/奶粉样品 5g (或牛奶 10mL)，加入 50mL 1%三氯乙酸提取液，充分混匀，加入 2mL 2%乙酸铅溶液，超声 20min。然后取部分溶液转移至 10mL 离心管中，8000rpm/min离心 10min，取上清液 3mL过混合型阳离子交换小柱(PCX)，同时处理多个样品，需要用[真空固相萃取装置（12 位）](#)，可达到方便、快速、高通量分析样品的目的。

2.3 净化(PCX小柱, 60mg/3mL) :

- 1) 活化及平衡: 3mL 甲醇, 3mL 水
- 2) 上样: 加入提取液 3mL

- 3) 淋洗：3mL 水；3mL 甲醇；弃去淋洗液并将小柱抽干。
- 4) 洗脱：5mL 5%氨化甲醇(v/v)洗脱。(5%氨化甲醇的配制：5mL 氨水+95mL 甲醇)。
- 5) 浓缩：50℃，氮气吹干，20%甲醇/水定容至 2mL。

2.4 检测：

用 HPLC-UV 中国农业部颁标准检测方法分析，测得 PCX 柱的回收率结果如下：

添加水平 (mg/L)	回收率
空白	
0.01	116%
0.1	108%
0.5	92%
2	96%

由上表可以看出：用 PCX 柱净化样品，可以得到满意的回收率。

HPLC-UV 检测方法

三聚氰胺在传统的 C18 柱上保留很差，需要用离子对试剂色谱方法才能有好的保留与分离，按照美国食品药品监督管理局（FDA）的三聚氰胺检测方法和中国农业部颁部的三聚氰胺检测方法，采用艾杰尔(Agela) Venusil ASB 系列和 Venusil XBP 色谱柱，均能得到良好的结果，分析色谱图如下：

1、三聚氰胺的 FDA 检测方法

色谱柱：[Venusil ASB C8 4.6×250mm](#)

缓冲液：10mM 柠檬酸，10mM 辛烷磺酸钠，调 pH 为 3.0。

流动相：缓冲液：[乙腈](#)=85：15

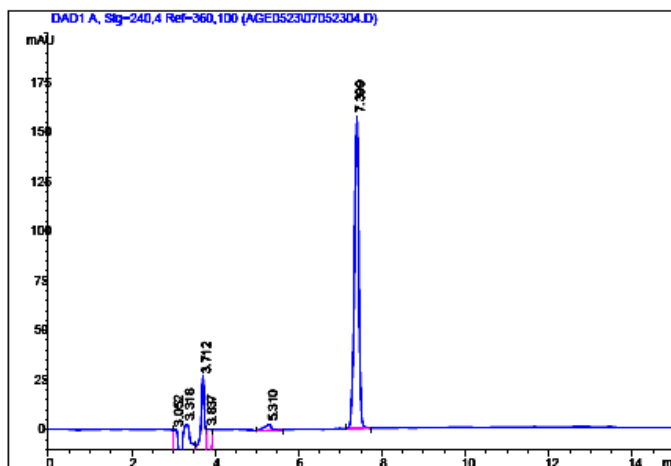
进样量：样品用缓冲液溶解成约 0.1mg/mL，进 10μL，

进样前用[0.22μm 针式过滤器过滤](#)

流 速：1.0mL/min

柱 温：40 ℃

波 长：240nm



2、三聚氰胺的中国农业部颁标准检测方法

(1) 色谱柱: [Venusil ASB-C18 4.6×250mm](#)

缓冲液: 10mM柠檬酸, 10mM[庚烷磺酸钠](#)

流动相: 缓冲溶液:乙腈=85:15

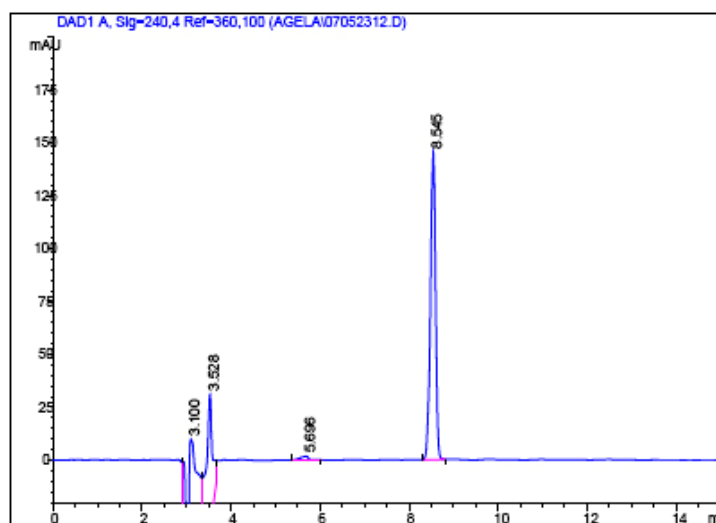
进样量: 样品用缓冲液溶解成约0.1mg/mL, 进10uL

进样前用[0.22μm针式过滤器过滤](#)

流 速: 1.0mL/min

柱 温: 40℃

波 长: 240nm



(2) 色谱柱: [Venusil XBP-C8 4.6×250mm](#)

缓冲液: 10mM柠檬酸, 10mM[庚烷磺酸钠](#)

流动相: 缓冲液: 乙腈=85: 15

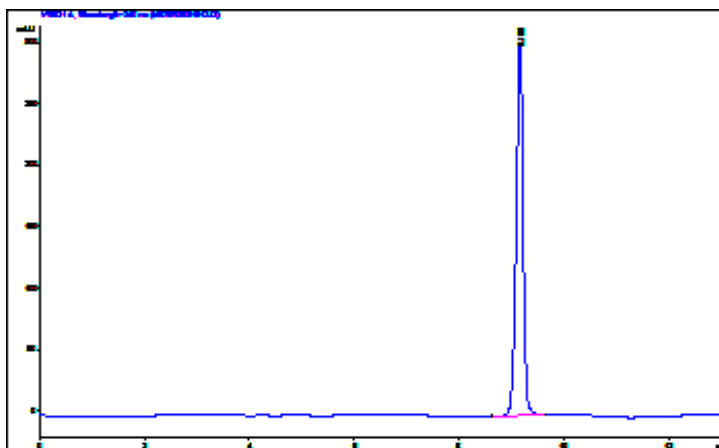
进样量: 样品用缓冲溶液溶解成约 0.1mg/ml, 进 10μL

进样前用[0.22μm针式过滤器过滤](#)

流 速: 1.0mL/min

柱 温: 20℃

波 长: 240nm



Rt<10min

LC-MS 参考方法

由于 HPLC-UV 方法中，流动相添加了离子对试剂，限制了液质联用方法的使用；但不用离子对试剂色谱方法，三聚氰胺在传统的 C18 柱上保留很差，没有良好的保留与分离。

源于此问题，艾杰尔科技公司自主开发了新的方法，采用艾杰尔(Agela) Venusil ASB 系列亲水色谱柱，不用离子对试剂也能得到有效的保留与分离，参考方法如下：

缓冲液：10mM NH₄AC

流动相：缓冲液：ACN=95：5

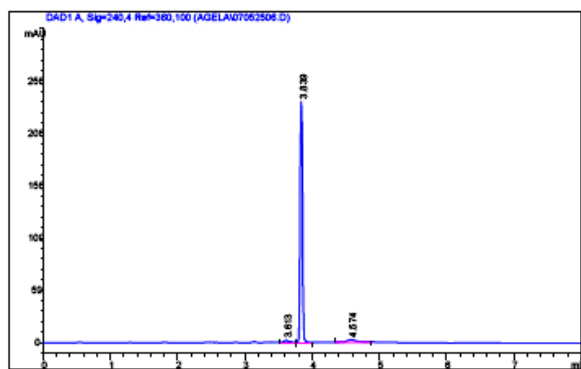
流 速：1.0mL/min

进样量：先用 70%ACN 溶解成约 1mg/mL，用 ACN 稀释成 0.1mg/mL，进 10μL

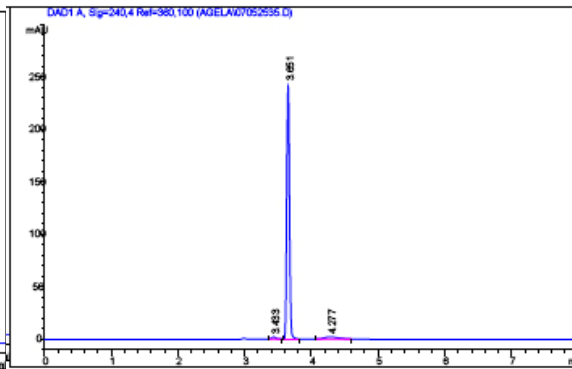
进样前用 0.22μm 针式过滤器过滤

柱 温：40℃

波 长：240nm



ASB-C8 4.6×250mm (Rt=3.839min;TF(5%)=1.00



ASB-C18 4.6×250mm (Rt=3.651min;TF(5%)=1.05)

联系我们

北京

地址：北京市海淀区上地三街 9 号嘉华大厦D座 811A ,邮编：100085

电话：010-62968031/32/33 ;传真：010-62968700

联系人：李倩 E-mail: qian_li@agela.com.cn ,13811078938

上海

地址：上海市浦东新区浦建路 47 号东源大厦 401 室 ,邮编：200127

电话：021-58703303 传真：021-58703323

联系人：乔雨 E-mail: yu_qiao@agela.com.cn, 15801770619

南京

地址：江苏南京市中山北路 200 号南京工业大学图书馆 7 楼 702 室,邮编：210009

电话：025-66662178/025-66891190 ;传真：025-66662177

联系人：黄敏敏 13770789407

天津

地址：天津市河西区友谊路环友里 5-15 ,邮编：300074

电话：022-28372210;传真：022- 28372210

联系人：范培瑜 ;E-mail: peiyu_fan@agela.com.cn,13821082978