

高效液相色谱法同时测定土壤中环丙氨嗪和三聚氰胺^①

唐玲丽^{1,2,3}, 王辉^{2,3}, 董元华^{2,3*}, 刘德辉¹, 赵玲^{2,3}, 张劲强^{2,3}, 刘新程^{2,3}, 安琼^{2,3}

(1 南京农业大学, 南京 210095; 2 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008;

3 南京土壤研究所-香港浸会大学土壤与环境联合开放实验室, 南京 210008)

摘要: 本试验研究建立了同时测定土壤中环丙氨嗪和三聚氰胺残留量的高效液相色谱法。红壤、潮土等 5 种土壤样品经氨水/甲醇 (5/95,v/v) 超声提取 3 次, 浓缩处理后上机检测。环丙氨嗪和三聚氰胺的标准曲线在 0.1~15.0 μg/ml 浓度范围内线性关系良好, 绝对系数 (R^2) 分别为 1.0000 和 0.9998; 在 0.5~5 mg/kg 添加范围内, 环丙氨嗪和三聚氰胺在土壤中的平均回收率分别为 87.2%~101.1% 和 75.3%~101.6%, 变异系数分别为 3.3%~8.1%、1.6%~9.9%, 最低检测限分别为 0.05 mg/kg、0.07 mg/kg。与国际上气相/液相色谱-质谱连用法相比, 操作简单, 经济方便易于普及。

关键词: 高效液相色谱法; 土壤; 环丙氨嗪; 三聚氰胺

中图分类号: X53

环丙氨嗪 (Cyromazine) 又名灭蝇胺、灭蛆灵, 是一种高效的昆虫生长抑制剂类杀虫剂, 其分子式为 $C_6H_{10}N_6$, 化学名为 2-环丙氨基-4,6-二氨基-1,3,5-三嗪, 对双翅目及部分鞘翅目昆虫幼虫的发育有很强的抑制作用, 2002 年农业部将环丙氨嗪批准为三类新兽药, 国内目前广泛用于畜禽养殖业中作为饲料添加剂以控制动物厩舍内蝇蛆的生长发育^[1]。三聚氰胺 (Melamine) 简称二胺、蜜胺、氰尿酰胺, 其分子式为 $C_3H_6N_6$, 化学名为 2,4,6-三氨基-1,3,5-三嗪, 是一种重要的化工原料, 由于含 N 量很高 (66%), 三聚氰胺被广泛添加到饲料中用以“增加”产品的表观蛋白质含量^[1-2]。动物口服的环丙氨嗪约 99% 以原药或代谢物三聚氰胺的形式通过畜禽粪便排泄的方式进入环境中^[3], 环丙氨嗪在水体、土壤及大气中均有检出^[4]。美国 EPA 和 PCR 在 1993 年将环丙氨嗪的危险性调整为“C”类化合物, 即具有潜在致癌性化合物^[5]。2005 年, 康奈尔大学在对环丙氨嗪做的评估报告中写到: 考虑到环丙氨嗪的结构与其他已被证实具有致癌性的化合物具有类似的结构, 向纽约州州政府建议将环丙氨嗪列为“限制使用”的化合物^[6]。环丙氨嗪在动植物体内和环境中易发生光降解, 其主要的代谢产物为三聚氰胺, Erol Yildrin 等^[7]研究表明三聚氰胺有致癌作用。

环丙氨嗪和三聚氰胺的化学结构式见图 1。有关提取样品中环丙氨嗪、三聚氰胺微量残留的方法, 目前国外报道的多是混合溶剂法。Shin-Shou Chou 等^[8]报道了用乙腈/氨水 (80/20,v/v) 提取禽肉和蛋中环丙氨嗪残留的方法; 在 FDA 采用的提取方法中, 鸡肝脏和蛋中的环丙氨嗪、三聚氰胺用乙腈-水 (95/5,v/v) 提取^[9]; Yokley RA 等^[10]用乙腈/0.05 mol/L 碳酸铵 (70/30, v/v) 提取土壤样品中的环丙氨嗪、三聚氰胺。目前国内文献报道的环丙氨嗪的提取溶剂通常为甲醇、乙腈、氨水/乙腈 (25/75,v/v)^[11-14]; 而关于三聚氰胺的提取方法还没有报道。

目前, 国外报道的环丙氨嗪或三聚氰胺残留检测方法有早期的气相色谱法^[15], 高效液相色谱法^[17]和气相色谱-质谱连用法^[18-19]; 目前大多数研究均采用气相色谱-质谱连用法^[18-19]。近年来国内陆续开展了高效液相色谱法检测环丙氨嗪或三聚氰胺残留的研究^[11-15]。环丙氨嗪和三聚氰胺的化学结构非常相似, 在气相和液相色谱中的出峰时间和检测波长很接近, 两个物质的出峰极易交叉重叠, 很难达到基线分离, 在目前的报道中, 国际上只有采用气相或液相色谱与质谱连用技术才能同时检测环丙氨嗪和三聚氰胺^[8,10,17-18], 而国内还没有同时检测环丙氨嗪和三聚氰胺

①基金项目: 江苏省自然科学基金项目 (BK2006254)、中国科学院创新领域前沿项目 (ISSASIP0606) 和国家“十一”科技支撑计划项目 (2006BAD07A/3) 资助。

* 通讯作者 (yhdong@issas.ac.cn)

作者简介: 唐玲丽 (1984—), 女, 湖南郴州人, 硕士研究生, 主要从事土壤生态环境研究。E-mail: amyface@163.com

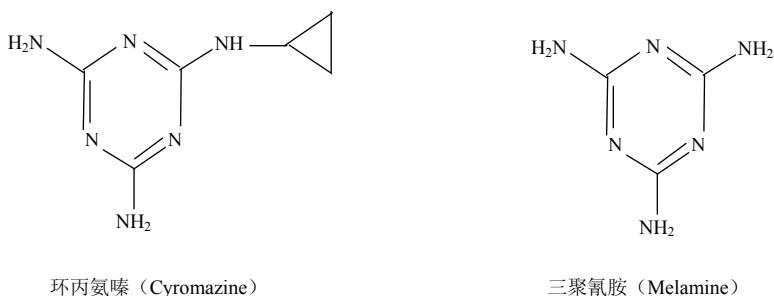


图1 环丙氨嗪和三聚氰胺的结构式

Fig. 1 Structures of cyromazine and melamine

方法的报道。本研究尝试建立同时检测土壤中环丙氨嗪和三聚氰胺残留的高效液相色谱检测方法,与国外的气相/液相色谱-质谱连用法相比,为国内提供一种操作上更简单,经济方便,易于普及的检测方法。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

(1) 仪器: Waters Alliance 高效液相色谱仪(2695分离单元, 2996 紫外检测器, Millinium³² 色谱工作站), Gemini C18 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm), Gemini C18 保护柱 (4.0 mm × 3.0 mm I.D.), 离心机, 旋转挥发器, 氮吹仪, 超声清洗仪, Milli-Q 超纯水仪。

(2) 试剂: 环丙氨嗪、三聚氰胺标准品: 纯度 99.0%, 美国 Chem Service 公司提供; 甲醇, 氨水, 磷酸, Milli-Q 超纯水。

表 1 供试土壤的理化性质
Table 1 Physic-chemical properties of the five tested soils

土壤类型	有机质 (g/kg)	pH (CaCl ₂)	阳离子交换量 (cmol/kg)	质地含量 (g/kg)			全 Fe (g/kg)	游离 Fe (g/kg)
				黏粒	粉粒	砂粒		
潮土	9.93	7.45	10.44	134	242	624	33.78	10.0
黄棕壤	5.36	7.38	17.89	221	416	363	50.59	23.26
水稻土	26.41	5.56	17.50	155	465	38.0	42.53	14.58
黑土	45.89	5.57	47.66	169	410	421	38.29	10.94
红壤	8.88	7.05	24.08	282	378	340	61.05	50.22

1.2 实验方法

1.2.1 样品预处理 准确称取 2.000 g 土壤样品(过 20 目筛), 置于 50 ml 具塞聚丙烯离心管中, 加入 10 ml 氨水甲醇溶液, 涡旋 1 min, 超声提取 20 min, 4000 r/min 离心 10 min, 分离上清液至锥形瓶, 残渣用 20 ml 甲醇分 2 次超声提取, 每次 10 min。每次超声提取前, 涡旋 1 min。合并所有提取液并转移至锥形瓶中, 60℃下在旋转挥发器上浓缩至约 1 ml, N₂ 吹干。用 1 ml 甲醇溶解残渣, 过 0.45 μm 有机滤膜, 清液供液相色谱测定。

(3) 环丙氨嗪、三聚氰胺标准溶液: 准确称取 25 mg 环丙氨嗪标准品(纯度 99.0%), 用甲醇溶解并定容至 50 ml 棕色容量瓶, 配制成环丙氨嗪的标准贮备液 (500 mg/kg)。准确称取 25 mg 三聚氰胺标准品(纯度 99.0%), 用甲醇溶液 (50/50, v/v) 的溶液超声溶解并定容至 50 ml, 配制成三聚氰胺标准贮备液 (500 mg/kg)。4℃冷藏。分别吸取 5 ml 环丙氨嗪、三聚氰胺标准贮备液至 50 ml 棕色容量瓶, 甲醇稀释定容, 配制环丙氨嗪、三聚氰胺混合标准工作液。4℃冷藏。系列混合标准溶液按需要逐级稀释, 现用现配。

(4) 流动相为: pH = 3.0 的磷酸水溶液; 样品提取液为: 氨水甲醇溶液 (5/95, v/v)。

(5) 土壤供试土壤的理化性质见表 1。

1.2.2 色谱条件 色谱柱: Gemini C18 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm), Gemini C18 保护柱 (4.0 mm × 3.0 mm I.D.); 流速 0.3 ml/min; 柱温 35℃; UVD 检测器, 检测波长 214 nm; 进样量 10 μl; 流动相 A 为甲醇, B 为 pH = 3.0 的磷酸水溶液。梯度淋洗程序见表 2。每个样品运行 12 min, 三聚氰胺的保留时间约为 4.1 min, 环丙氨嗪的保留时间约为 6.9 min, 色谱峰型较好, 三聚氰胺和环丙氨嗪的分离度较好, 样品的色谱图如图 1 所示。

表 2 梯度淋洗程序

Table 2 Gradient elution process of HPLC

时间(min)	0	4.8	6.5	7.8	11	12
甲醇 (%)	0	0	4	4	0	0
pH=3.0 磷酸水溶液 (%)	100	100	96	96	100	100

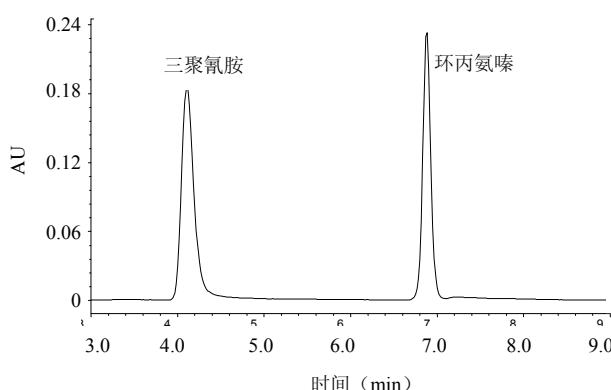


图 1 环丙氨嗪、三聚氰胺标准溶液色谱图

Fig. 1 Representative LC-UV chromatograms of cyromazine and melamine

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的选择

本实验比较了 4 种提取溶剂对土壤样品中残留环丙氨嗪和三聚氰胺的提取效果, 结果见表 3。其提取效率为: 氨水甲醇溶液 (5/95, v/v) > 氨水乙腈溶液 (5/95, v/v) > 甲醇 > 乙腈。以氨水甲醇溶液 (5/95, v/v) 作为萃取液提取土壤中残留环丙氨嗪, 其回收率均高于甲醇提取的回收率。郭筠等^[14]检测土壤中环丙氨嗪残留时采用甲醇作为提取溶剂, 经 4 次超声后平均回收率为 88.1%, 本实验研究所选用的氨水甲醇溶液 (5/95, v/v), 萃取土壤中残留环丙氨嗪的回收率, 除黑土 (回收率为 87.61%) 外, 其余 4 种类型土壤均超过了 88.1%。同时考虑到用氨水乙腈溶液 (5/95, v/v) 作为提取溶剂, 在旋转挥发过程所需时间较长,

所以选择氨水甲醇溶液 (5/95, v/v) 作为样品提取溶剂。

2.2 色谱条件的优化

2.2.1 检测波长的选择 在一定色谱条件下, 检测环丙氨嗪和三聚氰胺的混合标准溶液, 用 W2996 可调波长紫外检测器在 190 ~ 400 nm 波长范围内进行扫描测定。结果显示, 环丙氨嗪在波长为 215 nm 时响应值最大, 三聚氰胺在波长为 210 nm 时响应值最大, 结果表明在 214 nm 处环丙氨嗪和三聚氰胺均有较大响应值。研究确定同时检测环丙氨嗪和三聚氰胺的最佳紫外波长为 214 nm, 与文献报道的紫外检测波长一致^[10,20]。

2.2.2 流动相的选择 在其他色谱条件同等的情况下, 以甲醇/水为流动相, 调节不同的甲醇比例, 检测环丙氨嗪和三聚氰胺的混合标准溶液。结果表明, 当甲醇比例 > 50% 时, 环丙氨嗪与三聚氰胺的保留时间交叉重合, 不能达到基线分离。图 2 为甲醇比例 = 55% 时, 三聚氰胺和环丙氨嗪的色谱图, 三聚氰胺的保留时间约为 6.1 min, 环丙氨嗪的保留时间约为 7.2 min, 二者不能达到基线分离的分析要求。图 3 为甲醇比例 = 10% 时, 三聚氰胺和环丙氨嗪的色谱图。当甲醇比例 < 50% 时, 三聚氰胺的保留时间提前, 与环丙氨嗪达到基线分离, 且三聚氰胺的峰型尖锐, 灵敏度提高, 但环丙氨嗪的保留时间显著延长, 且峰型较钝, 不够锐利, 检测的灵敏度较低。用 pH = 3.0 磷酸水溶液代替纯水, 结果见图 4, 三聚氰胺和环丙氨嗪的检测灵敏度都有所提高, 峰型尖锐对称, 三聚氰胺的保留时间约为 4.1 min, 环丙氨嗪的保留时间约为 6.9 min, 达到很好的基线分离。所以选用甲醇 + pH = 3.0 磷酸水溶液为最佳流动相组合。

表 3 不同溶剂提取土壤样品的回收率 (%) (n=4)

Table 3 The recoveries of cyromazine and melamine by different extraction solvents from soils

土壤类型	潮土		黄棕壤		水稻土		红壤		黑土	
	环丙氨嗪	三聚氰胺	环丙氨嗪	三聚氰胺	环丙氨嗪	三聚氰胺	环丙氨嗪	三聚氰胺	环丙氨嗪	三聚氰胺
甲醇	92.34	74.40	90.46	49.96	79.57	50.71	32.17	17.79	41.23	0.00
乙腈	8.54	2.93	3.74	0.00	3.86	1.24	0.51	0.00	17.12	0.60
氨水甲醇	98.29	84.37	100.87	88.74	90.31	79.20	100.77	87.42	87.61	51.86
氨水乙腈	98.85	77.94	100.70	80.23	83.17	53.37	100.44	73.35	88.41	48.7

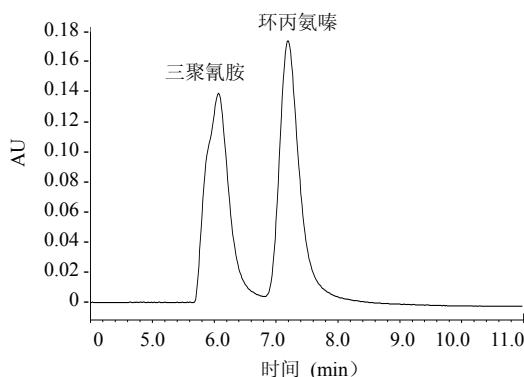


图2 三聚氰胺和环丙氨嗪色谱图(甲醇/水 = 55/45)

Fig. 2 Chromatograms of cyromazine and melamine

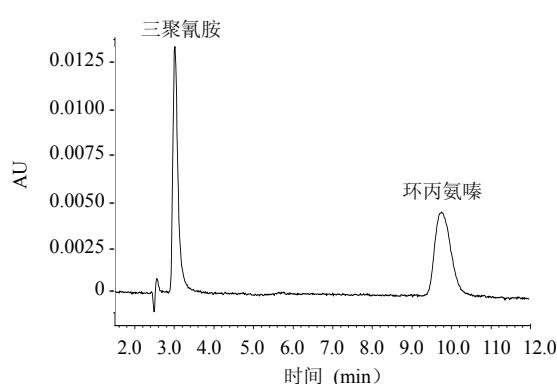
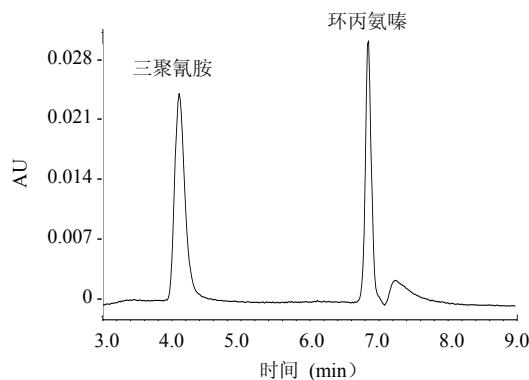
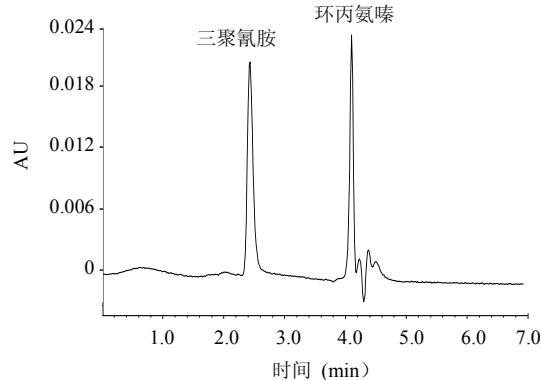


图3 三聚氰胺和环丙氨嗪色谱图(甲醇/水 = 10/90)

Fig. 3 Chromatograms of cyromazine and melamine

图4 三聚氰胺和环丙氨嗪色谱图(甲醇/磷酸溶液)
Fig. 4 Chromatograms of cyromazine and melamine图5 三聚氰胺和环丙氨嗪色谱图(v=0.5 ml/min)
Fig. 5 Chromatograms of cyromazine and melamine

2.2.3 流速的选择 在其他色谱条件同等的情况下,以甲醇/磷酸水溶液为流动相,改变流速为0.3~0.8 ml/min,检测环丙氨嗪和三聚氰胺的混合标准溶液。图5和图6分别是流速为0.5 ml/min和0.3 ml/min时三聚氰胺和环丙氨嗪的色谱图。结果显示,随着流速的减小,三聚氰胺和环丙氨嗪的保留时间延长,灵敏度和峰面积都有明显的增加。考虑到三聚氰胺、环丙氨嗪样品峰与杂质峰的分离,最终选择流动相的流速为0.3 ml/min。该结果与郭筠等^[15]检测土壤和黄瓜样品中残留环丙氨嗪的报道一致。

2.2.4 梯度洗脱条件的选择 实际上,采用等度洗脱方式,三聚氰胺和环丙氨嗪完全可以达到基线分离,但由于环丙氨嗪的保留时间与溶剂峰的保留时间冲突(图7),且色谱峰较宽,不尖锐,环丙氨嗪的检测限不能达到检测要求,为此采用梯度洗脱方式。经多次试验,选择梯度洗脱程序见表2。在该梯度洗脱程序下,三聚氰胺和环丙氨嗪的色谱检测结果如图8所示。

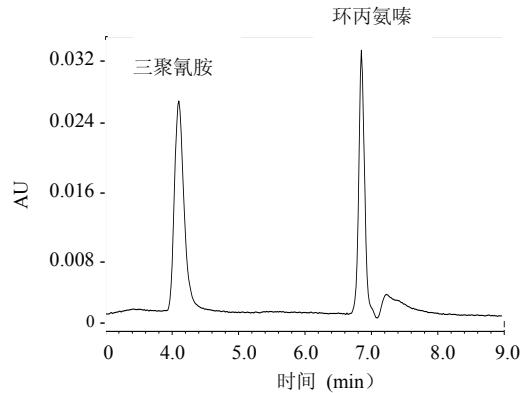


图6 三聚氰胺和环丙氨嗪色谱图(v=0.3 ml/min)

Fig. 6 Chromatograms of cyromazine and melamine

2.2.5 柱温的选择 温度的变化可以引起待测物在流动相和固定相间分配系数的变化,改变柱温可以改善待测物之间的分离情况^[21]。在流动相为甲醇/pH=3.0 磷酸水溶液(4/96,v/v),流速为0.3 ml/min的条件下,改变柱温为20~40℃,对三聚氰胺和环丙氨嗪混

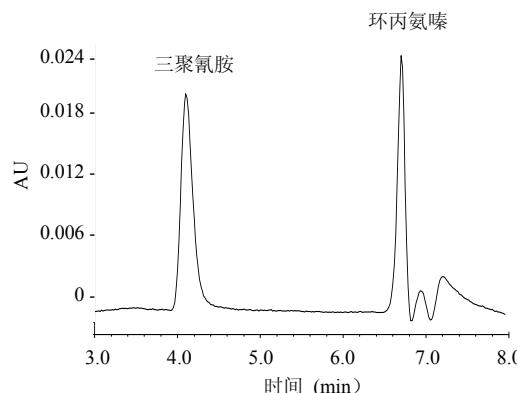


图 7 三聚氰胺和环丙氨嗪色谱图(等度洗脱)

Fig. 7 Chromatograms of cyromazine and melamine

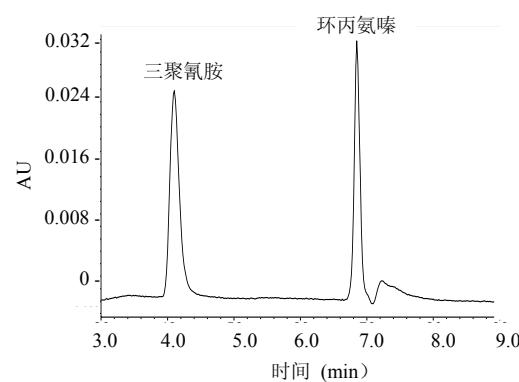


图 8 三聚氰胺和环丙氨嗪色谱图(梯度洗脱)

Fig. 8 Chromatograms of cyromazine and melamine

合标准溶液进行色谱分析,结果表明,随着柱温的升高,三聚氰胺色谱峰和环丙氨嗪色谱峰的峰面积增加,与其周围杂质峰的分离可以得到改善。但柱温在40℃时,三聚氰胺色谱峰和环丙氨嗪色谱峰的峰面积增加已不显著,同时考虑到柱温的升高会影响色谱柱的使用寿命,因此最终选择柱温为35℃。

2.3 线性关系和检测限

配制浓度分别为0.1、0.2、0.5、1.0、5.0、10.0、15.0 μg/ml的环丙氨嗪、三聚氰胺混合标准溶液,在1.2.2节所述色谱条件下进行色谱分析,以峰面积定量,对所测数据在Excel中进行线性回归,环丙氨嗪和三聚氰胺在0.1~15.0 μg/ml浓度范围内线性关系良好,环丙氨嗪的线性回归方程: $Y = 318324X - 24010$, $R^2 = 1.0000$;三聚氰胺的线性回归方程: $Y = 429871X - 21746$, $R^2 = 0.9998$ 。

2.4 方法回收率

准确称取2.00 g土壤,分别添加适量的环丙氨嗪、三聚氰胺标准溶液于土壤样品中,涡旋1 min,静置过夜,待甲醇完全挥发后,按1.2.1节所述样品预处理方法制备样品,1.2.2节所述色谱条件的分析程序操作,测定环丙氨嗪和三聚氰胺的回收率。每个添加浓度做3个重复,不同类型土壤分别做2个空白对照,结果如表4所示。在0.5~5 mg/kg添加范围内,环丙氨嗪在土壤中的添加回收率为87.2%~101.1%,变异系数为3.3%~8.1%,三聚氰胺在土壤中的添加回收率为75.3%~101.6%,变异系数为1.6%~9.9%。本方法测定土壤中环丙氨嗪和三聚氰胺最低检测限分别为0.05 mg/kg、0.07 mg/kg。

表 4 回收率试验测定结果

Table 4 The recoveries of cyromazine and melamine from soils

土壤类型	添加浓度 (mg/kg)	环丙氨嗪		三聚氰胺	
		平均回收率(%)	变异系数(%)	平均回收率(%)	变异系数(%)
潮土	0.5	91.4 ± 4.5	4.9	84.4 ± 1.4	1.6
	1.0	96.9 ± 4.3	4.4	89.8 ± 4.9	5.4
	5.0	97.4 ± 6.4	6.5	94.2 ± 7.5	7.9
黄棕壤	0.5	96.0 ± 5.5	5.7	81.0 ± 5.3	6.5
	1.0	99.5 ± 4.3	4.3	87.5 ± 4.5	5.1
	5.0	101.1 ± 4.1	4.0	97.4 ± 3.2	3.3
水稻土	0.5	88.3 ± 5.3	6.0	75.6 ± 4.0	5.3
	1.0	93.7 ± 4.0	4.2	80.2 ± 4.2	5.2
	5.0	93.7 ± 6.1	6.5	81.2 ± 5.9	7.2
红壤	0.5	100.1 ± 3.5	3.4	101.6 ± 6.4	6.3
	1.0	93.1 ± 5.6	5.6	87.8 ± 3.6	4.1
	5.0	98.5 ± 5.4	5.4	93.8 ± 5.3	5.6
黑土	0.5	92.7 ± 6.6	7.0	75.3 ± 6.0	7.9
	1.0	92.9 ± 3.1	3.3	93.2 ± 1.6	1.7
	5.0	87.2 ± 7.1	8.1	79.7 ± 7.9	9.9

3 结论

(1) 环丙氨嗪和三聚氰胺的结构中都带有氨基, 用碱性溶液提取效果较好, 回收率较高。试验结果显示: 用氨水甲醇溶液(5/95, v/v)做提取溶剂, 环丙氨嗪和三聚氰胺在5种供试土壤的3个添加水平上的回收率分别为87.2%~101.1% 和75.3%~101.6%, 而且重复性较好, 变异系数分别为: 3.3%~8.1%、1.6%~9.9%。

(2) 本试验采用梯度淋洗程序和改变流速调整样品和杂质的保留时间, 使样品和杂质峰达到基线分离。不采用常规固相萃取净化程序, 大大降低了检测成本, 且试验操作程序简化, 缩短了样品检测时间。

(3) 本试验研究建立了土壤中环丙氨嗪和三聚氰胺残留的检测方法, 本方法回收率、精密度都较好, 准确度高, 重复性好, 环丙氨嗪和三聚氰胺的最低检测限分别为0.05 mg/kg、0.07 mg/kg。本方法操作快速、简单, 易于普及。

(4) 环丙氨嗪和三聚氰胺在5种供试土壤中的回收率存在一定差异, 两种物质都是在黑土中的回收率最低, 研究比较5种供试土壤的理化性质后, 初步推测土壤中较高的有机质含量会影响环丙氨嗪和三聚氰胺的萃取效果及回收率, 笔者将通过环丙氨嗪和三聚氰胺在5种供试土壤中的吸附特征进一步研究影响萃取效果的因素。

参考文献:

- [1] 王辉, 董元华, 安琼. 环丙氨嗪的生物毒性与环境行为研究进展. *农业工程学报*, 2008, 24(1): 246~249
- [2] 刘泉雨. 从三聚氰胺事件看饲料产品质量控制. *新饲料*, 2007(7): 19~21
- [3] Roberts TR, Hutson DH. Metabolic Pathways of Agrochemicals. Part 2: Insecticides and Fungicides; Royal Society of Chemistry, MPG Books, Ltd.: Bodmin, Cornwall, U.K., 1998: 741~743
- [4] Armenta S, Quintás G, Garrigues S, Guardia M. Determination of cyromazine in pesticide commercial formulations by vibrational spectrometric procedures. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 524: 257~264
- [5] <http://www.epa.gov/fedrgstr/EPA-PEST/1993/>
- [6] Maureen P. Serafini. Cyromazine registration of the major change in labeling for cyromazine, contained in the pesticide product trigard insecticide 4/05(http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/insect-mite/cadusafos-cyromazine/cyromazine/cyromazine_let_405.html)
- [7] Erol Yildrin, Casey W. Hoyo. Interaction between cyromazine and the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar GPS11 for control of onion maggot, *Delia antiqua*. *Crop protection*, 2003, 22: 923~927
- [8] Chou SS. Determination of cyromazine and its derivative melamine in poultry meats and eggs. *Journal of Food and Analysis*, 2003, 11(4): 290~295
- [9] Washing DC. Pesticide analytical manual. *Food and Drug Administration*, 1988: 180, 414
- [10] Yokley RA. Maver LC. Rezaaivan R, et al. Analytical method for the determination of cyromazine and melamine residues in soil using LC-UV and GC-MAS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 8: 3352~3358
- [11] 王冉, 柳伟荣, 耿志明, 陈明, 刘铁铮. 高效液相色谱法测定饲料中环丙氨嗪. *中国饲料*, 2005(2): 34~36
- [12] 王冉, 刘铁铮, 柳伟荣. SPE-HPLC 法测定鸡蛋中灭蝇胺—环丙氨嗪. *浙江农业学报*, 2005, 17(6): 376~379
- [13] 卜仕金, 徐小艳. 鸡组织中环丙氨嗪残留的高效液相色谱检测方法. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2005, 26(4): 23~26
- [14] 郭筠, 莫汉宏, 安凤春, 李建中, 郑明辉. HPLC 法检测灭蝇胺在黄瓜和土壤中的残留. *环境化学*, 2004, 23(6): 700~703
- [15] 翁雪英, 吴小花, 仇满珍. 饲料中三聚氰胺残留量高效液相色谱测定的研究. *江西化工*, 2007(2): 70~73
- [16] Bardalaye PC, Wheeler WB, et al. Gas chromatographic determination of cyromazine and its degradation product-melamine in Chinese cabbage. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1987, 70: 455~457
- [17] Carbras P, Melini M, Spanedda L. High performance liquid chromatographic separation of cyromazine and its metabolite melamine. *J. Chromatogr.*, 1990, 505: 413~416
- [18] Toth JP, Bardalaye PC. Capillary gas chromatographic separation and mass spectrometric detection of cyromazine and its metabolite melamine. *J. Chromatogr.*, 1987, 408: 335~340
- [19] Varelis P, Beck J, Wang K, Ghosh D. Analysis of Melamine and Cyanuric Acid in Food Matrices by LC-MS/MS. Thermo Fisher Scientific Application Note, 2008: 424
- [20] 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. *宁夏石油化工*, 2005(2): 24~26
- [21] 王和兴, 黎源婧, 雍莉, 谷素英, 杨小琪, 李磊. 固相萃取—高效液相色谱法同时测定大豆和大米中的磺酰脲类和二苯醚类除草剂残留. *色谱*, 2007, 25(4): 536~540

Determination of Cyromazine and Melamine in Soils by High-performance Liquid Chromatographic Method

TANG Ling-li^{1,2,3}, WANG Hui^{2,3}, DONG Yuan-hua^{2,3}, LIU De-hui¹, ZHAO Ling^{2,3},
ZHANG Jing-qiang^{2,3}, LIU Xing-cheng^{2,3}, AN Qiong^{2,3}

(1 Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China; 3 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences – Hongkong Baptist University (ISSAS-HKBU)

Joint Laboratory on Soil and Environment, Nanjing 210008, China)

Abstract: An analytic method with HPLC was developed to determine the residues of cyromazine and melamine in soils. Soil samples were extracted thrice with ammonia/methanol (5/95,v/v) by ultrasonic and concentrated, and then analyzed by HPLC. The calibration curves for cyromazine and melamine were linear in concentration range of 0.1–15.0 µg/ml ($R^2=1.0000$ and 0.9998, respectively). In the concentration of 0.5–5 mg/kg, the average recoveries of cyromazine and melamine were 87.2%–101.1% and 75.3%–101.6% with the variation coefficient of 3.3%–8.1% and 1.6%–9.9% respectively. The limit of detection was 0.05 mg/kg and 0.07 mg/kg, respectively.

Key words: Cyromazine, Melamine, Soil, Residue analysis, HPLC