

液相色谱法测定三聚氰胺定性方法研究

刘 伟

(山西省长治市质量技术监督检验检测所,长治 046000)

自从三鹿婴幼儿乳粉中查出三聚氰胺事件以来,国家相继颁布了检测三聚氰胺的标准 GB/T 22388 - 2008^[1]和 GB/T 22400 - 2008^[2],全国各地质监机构和具有资质的检验机构对市场流通及企业生产的乳制品进行了全面检查。

GB/T 22388 - 2008 第一法和 GB/T 22400 - 2008 均利用高效液相色谱仪检测原料乳及乳制品中三聚氰胺的含量^[3]。液相色谱分析方法是一种分离效能很高的分离技术,特别是近代,液相色谱分离技术发展很快,使得极其复杂的混合物在短时间内得到分离。液相色谱仪对各组分定量较准确,但在定性方面就只能靠组分保留时间来确定。在三聚氰胺的液相色谱法分析中,由于乳制品组分复杂,乳中所含维生素 B 族类、核酸类物质都有可能和三聚氰胺同时出峰;由于乳制品品种繁杂,其中添加物质多种多样,使得其基质大不相同;此外,样液中三聚氰胺浓度高低等因素都可能使其色谱峰保留时间出现较大的波动,操作人员难以对其准确定性。笔者通过对乳制品中三聚氰胺的大量检测,总结出以下几种常用的定性方法。

1 直接利用三聚氰胺标准物质对照定性

用已知物质直接和未知样品对照定性是液相色谱定性分析中最简便、可行的定性方法。在一定的色谱条件(固定相、操作条件等)下,各种物质均有确定不变的保留时间,故保留时间可作为定性指标。GB/T 22388 - 2008 第一法和 GB/T 22400 - 2008 均用保留时间对试样中的三聚氰胺进行定性的。此法简单方便,不需要其它仪器,是最常用的液相色谱定性方法;缺点是由于不同化合物在相同的色谱条件下有时会具有近似或相同的保留时间及其它原因带来的组分保留时间波动,即使做了基质匹配也会遇到保留时间不确定而难以准确定性的情况,故这种方法的应用有一定的局限性。

2 与其它仪器结合进行定性

液相色谱法对未知物直接进行定性有一定难度,而某些仪器,如质谱、红外光谱、核磁共振等是鉴

定未知物结构的有效工具。通过将色谱与质谱等联用,互相取长补短,使较复杂的混合物先经色谱分离成单个组分后,再通过组分特定碎片离子组成的质谱图对其进行准确定性。常见的联用仪器有色谱-质谱联用仪,色谱-红外联用仪等,该类仪器较昂贵,一般实验室难以配备。

3 组分保留时间结合光谱图定性

配备有光电二极管阵列检测器的液相色谱仪,可利用色谱保留时间规律及光谱特征吸收曲线综合进行定性分析。配备紫外光度检测器的液相色谱仪也可获得分离组分的紫外吸收光谱。当试样组分通过流通池时,短时间中断液流,进行快速扫描(停机扫描),以得到紫外吸收光谱特征吸收曲线,但是该光谱特征吸收曲线不能完整输出,只能为定性分析提供信息或据此选择最佳检测波长。

图 1 为标准三聚氰胺光谱特征吸收曲线与色谱图。图 2 为含有三聚氰胺的样品光谱特征吸收曲线与色谱图,该样品中含有三聚氰胺,但在三聚氰胺保留时间范围内还有其它干扰色谱峰。图 2 的光谱特征吸收曲线与标准三聚氰胺光谱特征吸收曲线完全相同,可准确定性为该样品中含有三聚氰胺并对此进行定量。

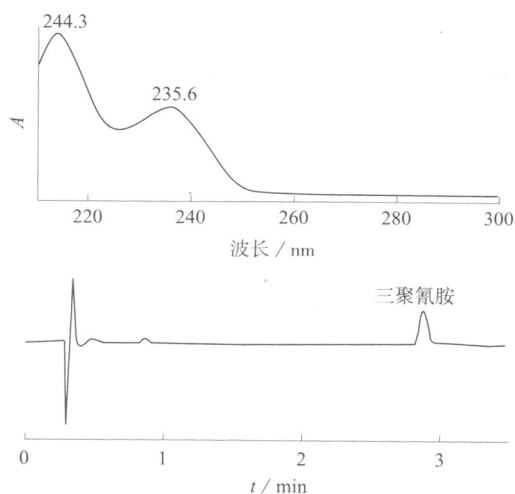


图 1 标准三聚氰胺光谱特征吸收曲线(a)与色谱图(b)

收稿日期: 2009-08-03

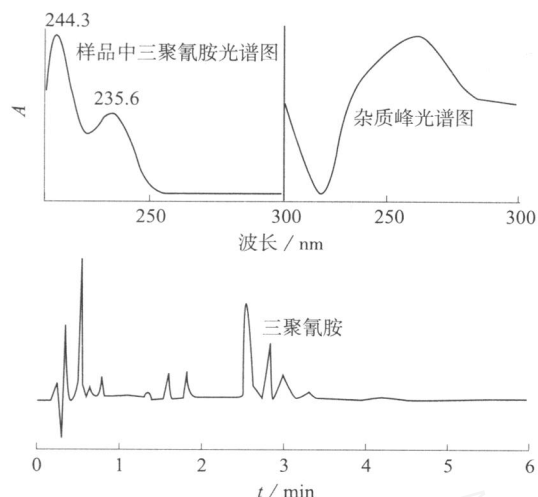


图2 含有三聚氰胺的样品光谱特征吸收曲线(a)与色谱图(b)

图3为不含三聚氰胺样品的光谱特征吸收曲线与色谱图,虽然色谱图中保留时间内有疑似三聚氰胺的色谱峰出现,但通过与图1标准三聚氰胺光谱特征吸收曲线对照,可排除其为三聚氰胺,避免了出现错误判定的情况。

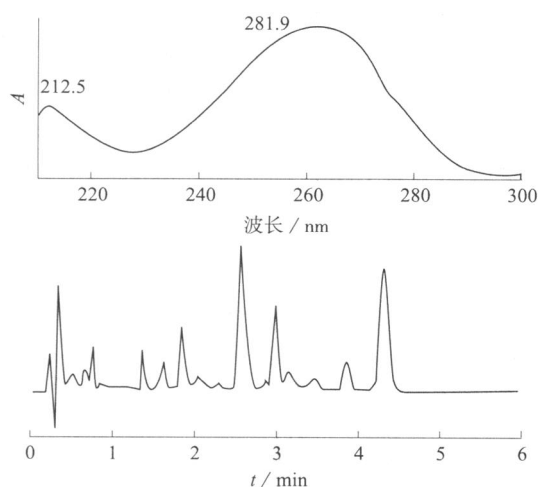


图3 不含三聚氰胺样品的光谱特征吸收曲线(a)与色谱图(b)

4 利用加入标准三聚氰胺增加峰高法定性

当样品组分比较复杂、色谱峰间距离过小、操作条件又不易控制、又无相关定性仪器、难以准确确定保留时间时,可用增加峰高法定性,即先作出未知样品的色谱图,对其中无法确认的色谱峰可以加入标准三聚氰胺进行核对,即在未知样品中加入标准三聚氰胺,再得到一色谱图,若待定性组分的峰比原

来增大,则表示待定组分为三聚氰胺,从而得以定性。

5 利用相对保留值定性

由于保留值受柱温、流速、固定液等多种因素的影响,要准确测定其绝对值,必须严格控制条件,否则重现性差。相对保留值 k_{r1} 定性也是一种使用广泛的定性方法, k_{r1} 是某组分2(待测物)与另一组分1(基准物)的调整保留值之比 ($k_{r1} = T_{r(2)} / T_{r(1)}$),它只受柱温和固定液的影响,与其它条件无关,所以用 k_{r1} 定性可以消除某些条件的影响。只要实验测出待测物的保留时间 $T_{r(2)}$ 和基准物保留时间 $T_{r(1)}$,就可以方便地求出基准物和待测物质的 k_{r1} 值以进行比较,若相对保留值 k_{r1} 相同,则可认为它们为同一物质。在选择基准物时应注意,基准物必须是容易得到的纯品,而且其保留值就在各待测组分的保留值之间。

6 利用双柱或多柱定性

有时不同物质在同一色谱柱上可能有相同的保留值,用同一根色谱柱难以对组分定性。为了确认,可用极性相差较大的双柱或多柱进行定性。若在两柱或多柱上待测组分和纯物质的保留值相同,则可确认为是同一物质。

7 与化学方法结合进行定性

将试样经过一些特殊试剂处理,发生物理变化或化学反应,其色谱峰将会提前、移后或完全消失。比较处理前后色谱图的差异,以及在柱后用化学试剂鉴定流出物,可初步定性鉴别试样中是否含有三聚氰胺。

以上是对乳制品中三聚氰胺进行定性判别的一些常用方法,也可用于高效液相法测定其它物质的定性研究,在气相色谱测定中也可使用其中的一些方法对待测组分进行定性鉴别。

参考文献

- [1] GB/T 22388 - 2008 原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法[S].
- [2] GB/T 22400 - 2008 原料乳中三聚氰胺快速检测 - 液相色谱法[S].
- [3] 刘珍. 化验员读本(下册)[M]. 北京:化学工业出版社, 2004: 411 - 498.

国家级气体流量仪表质检中心筹建

日前,安徽省申报的国家气体流量仪表质检中心获国家质检总局批准筹建。这是全国首家获准筹建从事气体流量仪表质量监督检验的国家级中心。该中心建成后,将承担全

国气体流量仪表检测任务,不仅为全国流量仪表的开发、利用和研究搭建技术平台,还将极大地促进安徽省流量仪表产业的快速发展和产业结构升级。(林)