

乳粉中三聚氰胺标准物质的制备

袁磊*, 林芳, 王松, 李涛, 王一欣

(陕西省食品药品监督检验研究院, 西安 710065)

摘要: **目的** 制备乳粉中的三聚氰胺标准物质。**方法** 将三聚氰胺标准溶液与乳粉复溶液通过均质、冷冻干燥、粉碎、过筛、混合等步骤制得标准物质, 经均匀性与稳定性研究, 由 8 家实验室进行协同定值, 并进行不确定度评估。**结果** 制得的标准物质的特性值为(5.19±0.37) mg/kg, 均匀性良好, 稳定性大于 12 个月。**结论** 通过该方法制得的标准物质, 均匀性与稳定性良好。可用于检测方法的开发、检测过程的质量控制、实验室能力验证、实验室间比对等领域。

关键词: 三聚氰胺; 标准物质; 乳粉; 制备方法

Preparation of melamine reference material in milk powder

YUAN Lei*, LIN Fang, WANG Song, LI Tao, WANG Yi-Xin

(Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710065, China)

ABSTRACT: Objective To prepare the melamine reference material in milk powder. **Methods** The standard material was prepared by homogenizing, freeze-drying, pulverizing, sieving, mixing and other steps of the melamine standard solution and the milk powder complex solution. After homogeneity and stability studies, coordinated values were determined by 8 laboratories, and the uncertainty was evaluated. **Results** The characteristic value of the reference material was (5.19±0.37) mg/kg, the homogeneity was good and the stability was more than 12 months. **Conclusion** The reference material prepared by this method has good uniformity and stability, which can be used in the development of testing methods, quality control of testing processes, laboratory proficiency testing, inter-laboratory comparison, etc.

KEY WORDS: melamine; reference material; milk powder; preparation

1 引言

三聚氰胺(melamine), 是一种三嗪类含氮杂环有机化合物, 常用作化工原料生产塑料制品、粘合剂、金属抗老化剂、着色剂等^[1,2], 因其有较高的氮含量, 也被称为蛋白精。它并非食品原料^[3,4], 然而有不法分子为谋取利益, 将

三聚氰胺加入到乳品中, 增加蛋白质的含量测量值^[5,6], 人(特别是婴幼儿)食用过多含有三聚氰胺的乳品后, 会超出人体肾脏所承受的排泄能力, 引发人体的肾衰竭甚至死亡现象。在 2007 年、2008 年与三聚氰胺相关的食物中毒事件之中, 出现有大面积的婴幼儿因食用含有三聚氰胺的奶粉或奶制品而引发肾管道阻塞、肾结石甚至死亡的案

基金项目: 2019 年陕西省重点产业链(群)项目(2019ZDLSF07-08)、食品安全检测质控样品制备关键技术研究与应用(2020SF-372)

Fund: Supported by 2019 Shaanxi Provincial Key Industrial Chain (Group) Projects (2019ZDLSF07-08), Research and Application of Key Techniques for Sample Preparation of Food Safety Testing Quality Control (2020SF-372)

*通讯作者: 袁磊, 助理工程师, 主要研究为食品、保健食品检测与快速检测方法研究。E-mail: 529685582@qq.com

*Corresponding author: YUAN Lei, Assistant Engineer, Shaanxi Institute for Food and Drug Control, No.21, Kejiwu Road, Gaoxin District, Xi'an 710065, China. E-mail: 529685582@qq.com

例^[7,8]。自 2008 年以来, 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会先后公布了 6 批食品非法添加物质目录, 三聚氰胺被列入第一批食品非法添加物质目录中, 2008 年卫生部发布了《关于乳与乳制品中三聚氰胺》^[9]临时管理限量规定的公告, 规定婴幼儿配方乳粉中三聚氰胺的限量值为 1 mg/kg, 液态奶(包括原料乳)、奶粉、其他配方乳粉中三聚氰胺的限量值为 2.5 mg/kg, 含乳 15% 以上的其他食品中三聚氰胺的限量值为 2.5 mg/kg^[10]。2011 年卫生部发布了《关于三聚氰胺在食品中的限量值公告》^[11], 将食品种类由乳品及含乳制品扩大到所有食品。

对于乳品中三聚氰胺的检测, 国家发布了多个检测标准, 对三聚氰胺的快速检测方法也出台了相关标准, 这些标准所用的标准物质均为纯品标准品, 且检测过程的质量控制主要是通过向样品中加入纯品三聚氰胺标准品后进行检测分析, 由于乳制品组成较复杂, 基体的干扰, 使得在分析检测时不能简单的采用纯品标准品来检测校准或进行质量控制, 这种方法无法代表目标物在食品中真实的存在状态, 由于目标物与基体的结合方式与真实检测样品不一致导致前处理结果不一致, 从而影响结果的准确性与可靠性, 因此需要带基体的标准物质协助检测才能保证检测结果的准确性或满足要求。

本研究采用冷冻干燥技术建立乳粉中三聚氰胺标准物质的制备方法, 以期用于检测方法的开发、检测过程的质量控制、实验室能力验证、实验室间比对、快速检测领域、快速检测过程中对快检产品进行质量控制等多个领域。

2 材料与方 法

2.1 仪器与试剂

QtrapTM5500 液相色谱 - 串联质谱 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS) 系统(美国 SCIEX 公司); XPE105 型电子分析天平(德国赛多利斯公司); LYNX4000 型离心机(美国 Thermo 公司); IKA MS3 型涡旋振荡器(艾卡广州仪器设备有限公司); KQ-500DE 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); TTL-DCII 型氮吹仪(北京同泰联科技发展有限公司); B30 型混合机(广东力丰机械制造有限公司); GJJ-0.03/100 型均质机(上海诺尼轻工机械有限公司); ALPHA 2-4LD 型冷冻干燥机(德国 CHRIST 公司); SYH-5 型三维混合机(常州海尧干燥设备有限公司); RS-6B 型真空包装机(安华机械有限公司); 固相萃取装置、Cleanert PCX 型固相萃取小柱(天津博纳艾杰尔科技有限公司); Synergy 型超纯水仪(美国密理博公司)。

甲醇、乙腈、乙酸铵(色谱纯, 美国 Sigma-Aldrich 公司); 三氯乙酸、氨水、乙酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 三聚氰胺(工业级, 苏州三石邨化工有限公司)。

三聚氰胺(纯度 99.9%, 美国 SUPELCO 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 标准物质的制备流程

本研究建立了采用冷冻干燥法制备乳粉中三聚氰胺标准物质的方法, 流程见图 1。

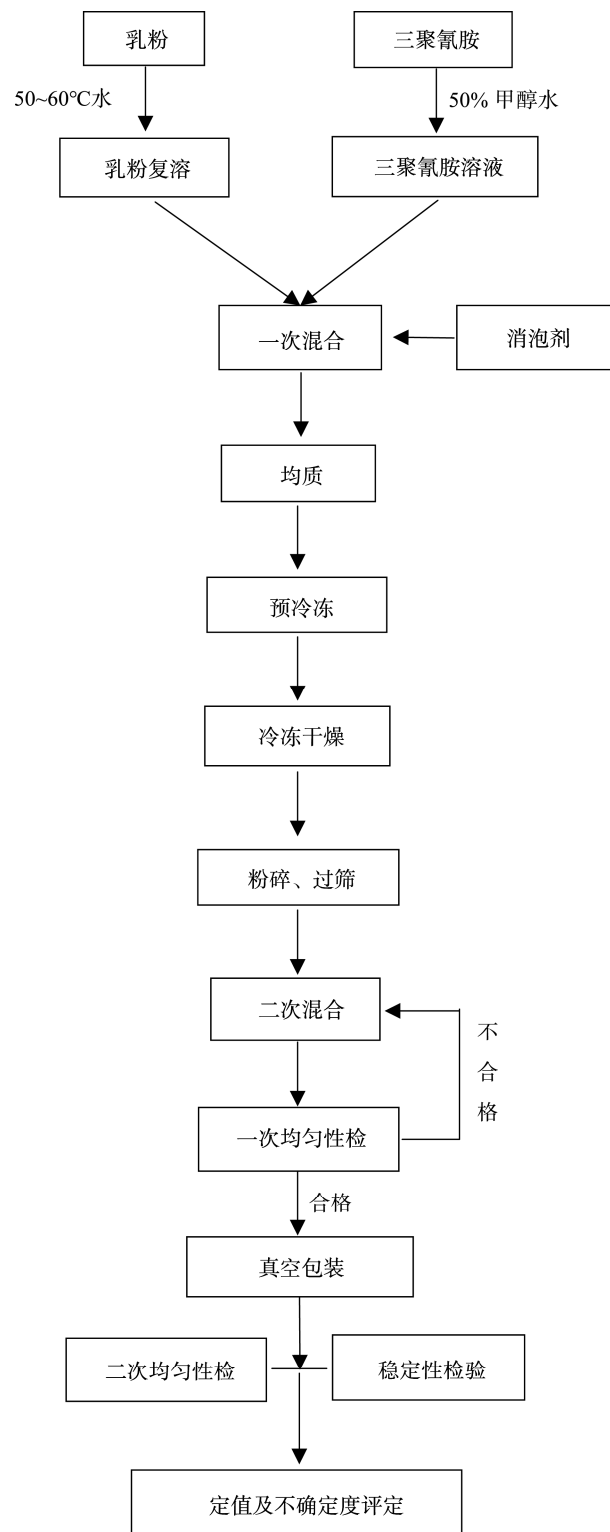


图 1 标准物质制备工艺流程图

Fig.1 Reference material preparation process flow chart

(1) 基质样品的选择

根据食品中可能违法添加的非食用物质名单中三聚氰胺可能添加的食品类别,选择的基质样品主要为液态乳与乳粉。由于以液态乳为基质制备的标准物质需高温灭菌且保存条件较苛刻,无法大量生产,而采用乳粉为基质制备的标准物质可在常温下长期保存,制备过程更简单,且制备的乳粉样品用水复溶后即可作为液态乳标准物质。

乳粉为市场上购置的同一批次的全脂乳粉、调制乳粉或婴幼儿乳粉,要求色泽均一,无肉眼可见杂质,无结块,冲调性良好。

(2) 混合溶液的制备与均质

称取 4 kg 符合要求的乳粉,将其倒入质量比为 1:1 的 50~60 °C 的热水,充分溶解,为乳粉复溶液;称取三聚氰胺 22 mg,用 50% 的甲醇水溶解后加入到乳粉复溶液中,再按 0.05~0.1 g/kg 的比例加入消泡剂聚二甲基硅氧烷,机械搅拌混合,转速为 30 r/min,混合时间为 30~60 min,使其混合均匀。

将混合均匀的物料进行均质,均质方法为:单柱塞或双柱塞高压均质,流量为 30 L/h,工作压力 4 Mpa。

(3) 冷冻干燥

对均质后的样品进行预冷冻,冷冻条件为:温度 -40 °C,时间为 45~60 min。将预冷冻后的样品放入冷冻干燥机进行干燥,干燥条件为:在温度为 -44 °C,压力 0.08 Mpa 时,干燥 1 kg 物料所用时间为不少于 24 h。干燥后样品中水分含量应控制在 5% 以下。

(4) 二次混合

将冷冻干燥后的样品粉碎,过 40 目筛后进行二次混合,混合条件为:三维混合,转速 40 r/min,混合时间不少于 45 min。

(5) 一次均匀性检验与分装

将混合后的标准物质在不同部位抽取 10 个样品,按照 GB/T 22388-2008 中液相色谱串联质谱法^[12]的方法对样品中三聚氰胺的含量进行检测,每个样品检测三次,采用单因素方差分析方法对数据进行统计分析,确定样品是否混合均匀。样品混合均匀后,采用铝箔袋真空包装,每袋装 20 g,阴凉、干燥处保存,总数为 190 瓶。

2.2.2 标准物质中三聚氰胺的检测

(1) 样品前处理

按照 GB/T 22388-2008《原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法》^[12]方法对标准物质中三聚氰胺的含量进行检

测。采用三氯乙酸-乙腈溶液提取,经阳离子交换固相萃取柱净化,液相色谱串联质谱法定性,外标法定量。

(2) 液相色谱条件

色谱柱: Agilent EC-C₁₈(100 mm×2.1 mm, 2.7 μm),柱温: 35 °C,流速: 0.2 mL/min,进样量: 5 μL,流动相 A: 乙腈,流动相 B: 10 mmol/L 乙酸铵溶液,梯度洗脱,洗脱时间 9 min,梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱条件
Table 1 Conditions of gradient elution

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	50	50
5	50	50
5.5	90	10
7.0	90	10
8.0	50	50
9	50	50

(3) 质谱条件

电离模式: ESI⁺,扫描方式: 多反应监测(multiple-reaction monitoring, MRM),毛细管电压: 5500 V,脱溶剂气温度: 550 °C,喷雾器流速 55 psi,定性、定量离子对和碰撞电压及去簇电压(declustering potential, DP)见表 2。

2.2.3 标准物质均匀性与稳定性检验

按照 CNAS-GL 003:2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》^[13]标准对标准物质进行均匀性检验。本次样本数量共 190 个,顺序编号后随机抽取 10 个具有代表性的样品,检验方法按照 2.2.2,每个样品在重复条件下检测 3 次为一组,共 10 组数据,采用单因素方差分析方法对数据进行统计分析,确定样品的均匀性。

标准物质的稳定性检验包括长期稳定性检验与短期稳定性检验(运输条件下和极限条件下的稳定性),长期稳定性检验方法为:在分装完后 0、2、4、6、8、10、12 个月,每个时间点随机抽取 3 个样品,每个样品平行测定 3 次,以 3 瓶样品的总平均值为该时间稳定性检验结果,0 个月检验结果使用均匀性检验结果的总平均值;检测方法均匀性研究检验方法一致。数据统计方法采用 GB/T 15000.3-2008《标准样品工作导则(3)标准样品定值的一般原则和统计方法》^[14]中性拟合方程模型,根据统计结果,确定样品的稳定性。

表 2 三聚氰胺质谱参数

Table 2 Mass spectrometry parameters of melamine

化合物	母离子	子离子	去簇电压/V	碰撞电压/V
三聚氰胺	127.1	85.1*	90	25
		67.9		35

注: *为定量离子,其他为定性离子。

短期稳定性主要考察在运输与极端条件下的稳定, 其检验分为 3 组: (1) 随机抽取 3 个样品, 于 45 °C 条件下放置 7 d 后测定样品中目标物的含量; (2) 随机抽取 3 个样品于 60 °C 条件下放置 7 d 后测定样品中目标物的含量; (3) 随机抽取 6 个样品, 通过快递的方式由西安寄送至广州与武汉(每个地点 3 个样品), 后又寄回至西安, 总共为 7 d 时间。不同时间点的检测结果均与 0 d(均匀性检测)的结果进行比较, 采用 t 检验法对数据进行统计分析, 确定样品的稳定性。每个样品平行测定 2 次。

2.2.4 标准物质的定值

标准物质的定值由 8 个通过资质认定的实验室协作完成, 检测数据通过柯克伦检验^[15]、格拉布斯检验^[15]后取各实验室结果的总平均值与不确定度共同组成标准物质的指定值。

(1) 柯克伦检验

其主要目的是检验实验室内部的变异。对各实验室的检测结果计算标准偏差, 并对所有数据进行统计分析, 柯克伦统计量的计算方法为:

$$C = \frac{S_{\max}^2}{\sum_{i=1}^P S_i^2}$$

其中 S_{\max}^2 为标准偏差中的最大值, S_i^2 为各实验室标准偏差。结果判定规则为: 若 $C \leq C_{(5\%)}$, 表明各实验室通过了柯克伦检验, 则接受所有数据均为正确值, 可纳入下一阶段的统计; 若 $C_{(5\%)} \leq C \leq C_{(1\%)}$ 或 $C \geq C_{(1\%)}$, 表明检测结果标准偏差最大实验室未通过了柯克伦检验, 为统计离群值, 需剔除该组数据后, 重新进行柯克伦检验, 直到剩下数据通过检验后, 才能进行格拉布斯检验。

(2) 格拉布斯检验

利用单格拉布斯检验分析各个实验室检验结果平均值之间的变异, 格拉布斯检验统计量计算公式为:

$$G_{1P} = |X_{(P)} - \bar{X}| / s \text{ 或 } G_{11} = |X_{(1)} - \bar{X}| / s$$

其中: $G_{1P}(G_{11})$ 为各实验室检测结果平均值中最大值(最小值)统计量; $X_{(P)}(X_{(1)})$ 为各实验室检测结果平均值最大值(最小值); \bar{X} 为各实验室检测结果的总平均值; s 为平均值标准偏差。结果判定规则为: 若 $G_{1P}(G_{11}) \leq G_{(5\%)}$, 表明检测结果平均值最大值(最小值)的实验室通过了单格拉布斯检验, 则接受所有数据均为正确值; 若 $G_{(5\%)} \leq G_{1P}(G_{11}) \leq G_{(1\%)}$ 或 $G_{1P}(G_{11}) \geq G_{(1\%)}$, 表明检测结果平均值最大值(最小值)实验室未通过单格拉布斯检验, 为统计离群值, 需剔除该组数据后, 重新进行单格拉布斯检验, 直到剩下数据通过检验后, 则接受剩下数据为正确值。

2.2.5 标准物质不确定度评估

由于标准物质采用的定值方式是由 8 家实验室协同定值的方案, 因此不确定度主要包括短期稳定性引入的不

确定度、测定值的标准不确定度、瓶间差引入的不确定度与长期稳定性引入的不确定度^[16, 17]。短期稳定性引入的不确定度已包含在实验室检测值中故可忽略不计, 最终的不确定度由以上不确定度的合成不确定度表示。

(1) 测定值的标准不确定度

测定值的标准不确定度的计算方式为:

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^P (Y_i - \bar{Y})^2}{P-1}$$

$$u_{\text{char}} = \frac{S}{\sqrt{P}}$$

其中, \bar{Y} 为各实验室检测结果总平均值; Y_i 为各实验室检测结果平均值; P 为实验室数; S 为平均值标准偏差。

(2) 瓶间差异引入的不确定度

在对标准物质均匀性研究中, 瓶间均匀性已被验证, 统计方法采用单因素方差分析, 由下列公式计算瓶间差异引入的不确定度:

$$\text{瓶间方差计算: } S_A = \frac{MS_{\text{among}} - MS_{\text{within}}}{n_0}$$

$$\text{瓶间标准偏差: } S_{\text{bb}} = \sqrt{S_A^2}$$

$$\text{重复性标准偏差: } S_r = \sqrt{MS_{\text{within}}}$$

$$\text{由瓶间均匀度引入的不确定度: } u_{\text{bb}} = \sqrt{\frac{S_{\text{bb}}^2}{P} + \frac{S_r^2}{n_0 P}}$$

(3) 长期稳定性引入的不确定度

稳定性数据统计采用线性拟合方程模型, 由稳定性研究结果表明, 在 12 个月期间样品是稳定均匀的, 故由长期稳定性引入的不确定度 u_{ts} 可按下式计算:

$$u_{\text{ts}} = S_b \times t$$

由稳定性计算的 S_b 带入公式计算。

(4) 合成不确定度

合成不确定度是通过标准物质的定值、均匀性和稳定性对特性值对总不确定度的贡献来计算的, 计算方式见下表:

$$u_{\text{CRM}} = k \times \sqrt{u_{\text{char}}^2 + u_{\text{bb}}^2 + u_{\text{ts}}^2 + u_{\text{sts}}^2}$$

其中, u_{sts} 为短期稳定性引入的不确定度; u_{char} 为测定值的标准不确定度; u_{bb} 瓶间差异引入的不确定度; u_{ts} 为长期稳定性引入的不确定度。

3 结果与分析

3.1 标准物质均匀性研究

均匀性检验结果见表 3。其中, 组间自由度为 9, 组内自由度为 20, $F_{0.05}(9, 20) = 2.94$, 由表可以看出, 样品的统计量 F 值小于 $F_{0.05}(9, 20)$, 表明样品间不存在显著性差异, 所得的样品是均匀的。

表 3 样品均匀性检测结果
Table 3 Detection results of uniformity for sample

样品编号	均匀性检测结果/(mg/kg)			平均值 (mg/kg)
	1	2	3	
1	5.33	5.02	5.17	5.17
2	5.18	5.01	2.21	5.13
3	5.11	5.33	5.22	5.22
4	5.00	4.98	5.05	5.01
5	5.01	5.22	5.04	5.09
6	5.11	5.00	4.98	5.03
7	5.03	5.22	5.12	5.12
8	5.09	5.11	5.15	5.12
9	5.04	4.98	5.11	5.04
10	5.05	5.20	5.11	5.12
总平均值/(mg/kg)	5.11			
方差	平方和	自由度	<i>F</i>	
组内	0.1735	20	0.487	
组间	0.03806	9		

3.2 样品稳定性

3.2.1 长期稳定性

对长期稳定性研究的检测结果进行统计分析, 检测统计结果见表 4, 其中自由度为 5, 置信水平为 0.95 的因子

表 4 样品长期稳定性测试结果

Table 4 Detection results of long-term stability for sample

时间/月	检测结果/(mg/kg)	b_1	b_0	$S(b_1)$	$t_{0.95, 5}$	$t_{0.95, 5} \times S(b_1)$
0	5.02					
2	5.01					
4	5.33					
6	4.98					
8	5.22	0.0123	5.053	0.01257	2.57	0.0323
10	5.00					
12	5.22					
平均值	5.13					

表 5 样品短期稳定性测试结果

Table 5 Detection results of short-term stability for sample

温度/°C	时间/d	检测结果/(mg/kg)	平均值/(mg/kg)	<i>t</i> 值	$t_{0.05(34)}$
45	7	5.03、5.1、5.07、5.01、5.03、5.04	5.04	0.15	2.04
60	7	5.09、5.14、5.17、5.08、5.11、5.14	5.12	0.04	

为 2.57。由结果可以看出 $|b_1| < t_{0.95, 5} \times S(b_1)$, 故斜率不显著, 说明样品在 12 个月内稳定。

3.2.2 短期稳定性

对短稳定性研究的检测结果采用 *t* 检验进行统计分析, 检测统计结果见表 5 与表 6。由结果可以看出, 统计量 *t* 值均小于 *t* 临界值, 表明样品在 45 °C 与 60 °C 条件下放置 7 d 稳定性均良好, 经 7 d 的运输样品也能保持良好的稳定性, 因此标准物质在不超过 60 °C 的条件下保存与极端条件下短暂运输对样品稳定性均无影响。

3.3 方法间差异性比较

乳粉中常用的实验室检测方法为 GB/T 22388-2008 《原料乳与乳制品中三聚氰胺的检测方法》^[18], 其中包含了液相色谱法、液相色谱-串联质谱法、气相色谱-串联质谱法, 由于气相色谱-串联质谱法在样品前处理过程中需要进行衍生化, 操作较复杂, 在实际检测应用较少, 因此本研究仅比较了前两种方法检测结果的差异性。随机选取 10 个样品, 分别用两种方法进行检测, 检测结果采用配对 *t* 检验法进行统计分析, 结果见表 7 与表 8。统计量 $P > 0.05$, 表明两种方法检测结果无显著差异。

3.4 标准物质的定值

标准物质的定值由 8 个通过资质认定的实验室协作完成, 定值的方法采用 GB/T 22388-2008^[18] 中规定液相色谱法或液相色谱串联质谱法, 其中每个实验室发放 2 份样品, 每个样品检测 2 次, 并取 4 个检测数据的平均值, 检测数据见表 9。

表 6 样品运输条件稳定性测试结果
Table 6 Detection results of transport condition stability for sample

地点	时间/d	检测结果/(mg/kg)	平均值/(mg/kg)	t 值	$t_{0.05(34)}$
西安↔广州	7	5.23、5.17、5.27、5.11、5.33、5.14	5.21	0.23	2.04
西安↔武汉	7	5.29、5.17、5.25、5.33、5.21、5.19	5.24	0.30	

表 7 两种方法检测结果比较
Table 7 Comparison of the results of the two methods

样品序号	液相色谱法检测结果/(mg/kg)	液相色谱-串联质谱法检测结果/(mg/kg)
1	4.98	5.16
2	4.96	5.21
3	5.07	5.17
4	5.12	5.09
5	4.90	5.08
6	5.14	5.21
7	5.06	5.18
8	5.09	5.19
9	5.12	5.24
10	5.10	5.20
平均值	5.05	5.17

表 8 配对 t 检验统计结果
Table 8 Statistical results for paired t test

检测方法	检测结果平均值/(mg/kg)	标准差/%	样品个数	df	t	$t_{0.05(9)}$	$P_{(双尾)}$
液相色谱法	5.05	8.02	10	9	6.25	2.26	>0.05
液相色谱-串联质谱法	5.17	5.17	10				

表 9 标准物质的定值结果
Table 9 Calibration results of reference materials

实验室编号	检测结果/(mg/kg)				平均值/(mg/kg)	相对标准偏差/%
	1	2	3	4		
1	5.21	5.11	5.23	5.35	5.23	9.85
2	5.29	5.1	5.22	5.13	5.19	8.66
3	5.13	4.98	5.1	5.01	5.06	7.14
4	5.22	5.12	5.3	5.21	5.21	7.37
5	5.22	5.11	5.07	5.09	5.12	6.70
6	5.33	5.42	5.2	5.32	5.32	9.03
7	5.4	5.32	5.28	5.26	5.32	6.79
8	5.13	5.08	5.19	5.08	5.12	5.23
	总平均值/(mg/kg)				5.19	
	总平均值标准偏差/%				9.35	

3.4.1 柯克伦检验

首先对各实验室的检测结果计算标准偏差,并对所有数据进行柯克伦检验,计算统计量 C ,其中,实验室数 $P=8$,每个实验室测定数 $n=4$,查柯克伦检验 $C_{(5\%)}$ 的临界值为 0.438, $C_{(1\%)}$ 的临界值为 0.521。由表 7 可知,1 号实验室的标准偏差最大,柯克伦检验统计量 $C=0.2033$, $C \leq C_{(5\%)}$,则 8 个实验室的检验结果全部通过柯克伦检验。

3.4.2 格拉布斯检验

对所有数据进行格拉布斯检验,计算统计量 $G_{1P}(G_{11})$,其中,实验室数 $P=8$,每个实验室测定数 $n=4$,查格拉布斯检验 $G_{(5\%)}$ 的临界值为 2.126, $G_{(1\%)}$ 的临界值为 2.274。由表 7 可知,6、7 号实验室的检测结果平均值最大,3 号实验室检测结果平均值最小,格拉布斯检验统计量 $G_{11}=1.32$, $G_{1P}=1.32$, G_{11} 与 G_{1P} 均小于 $G_{(5\%)}$,则 8 个实验室的检验结果全部通过格拉布斯检验。

3.5 标准物质不确定度评估

标准物质的不确定度 u_{CRM} 是通过对标物质的定值、均匀性和稳定性对特性值不确定度的贡献来计算的,其中置信水平为 95% 时, $k=2$,计算结果见表 10。

表 10 不确定度评定结果表
Table 10 The table of uncertainty evaluation result

名称	u_{char}	u_{bb}	u_{its}	u_{sts}	u_{CRM}
三聚氰胺	0.066	0.048	0.251	0	0.37

三聚氰胺的含量由定值的总平均值与不确定度组成,含量为 (5.19 ± 0.37) mg/kg。

4 结 论

本研究建立了一种乳粉中三聚氰胺标准物质的制备方法。整个制备工艺模拟了工业生产中三聚氰胺的加入方式,采用了冷冻干燥技术,该方法干燥时间短,且能很好地保持基质材料的原始状态,避免了乳粉的热处理导致过多蛋白变性的问题,使得制备的标准物质复溶性较好,可通过加入一定比例的水成为液态乳的标准物质。乳粉复水后加入三聚氰胺并通过均质,最大化的保证了样品的均匀性;拮抗剂的加入,可以防止标准物质因长期储存聚集结块,保持其松散或自由流动状态,且不影响三聚氰胺的检测;定值由 8 家通过资质认定的实验室协作完成,结果量值可靠,均匀性与稳定性良好,保存时间不少于 12 个月。利用该方法制备的标准物质可用于检测过程的质量控制、检测方法开发、实验室能力验证等领域应用,填补了市场空白。

本标准物质在均匀性、稳定性、定值过程中采用的方法为 GB/T 22388-2008^[18]液相色谱法与液相色谱-串联质谱法,在进行前处理时称样量分别为 2 g 与 1 g,因此,在应

用标准物质时其称样量应保证不少于 2 g 与 1 g,若采用除 GB/T 22388-2008 外的其他方法对标物质进行检测时,应考虑方法间的差异性。

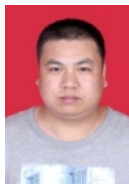
参考文献

- [1] 单艺,马微,王象欣,等. HPLC-PAD 外标法及 UPLC-MS/MS 内标法测定乳及乳制品中三聚氰胺的含量[J]. 食品科学, 2012, 33(20): 171-175.
Shan Y, Ma W, Wang XX, et al. HPLC-PAD with external standard quantification and UPLC-MS/MS with internal standard quantification for the determination of melamine in milk and milk products [J]. Food Sci, 2012, 33(20): 171-175.
- [2] 丁杨,邓美荣,聂晶,等. 固相萃取-高效液相色谱法测定乳制品中三聚氰胺的含量[J]. 中国卫生工程学, 2016, 15(1): 41-45.
Ding Y, Deng MR, Nie J, et al. Determination of melamine in milk products by solid phase extraction-high performance liquid chromatography [J]. Chin J Public Health Eng, 2016, 15(1): 41-45.
- [3] 陈小曼,雷皓宇,胡玉玲,等. 固相萃取-表面增强拉曼光谱法测定奶粉中三聚氰胺[J]. 分析测试学报, 2016, 35(10): 1343-1346.
Chen XM, Lei HY, Hu YL, et al. Determination of melamine in milk powder by solid-phase extraction coupled with surface-enhanced raman spectroscopy [J]. J Instrum Anal, 2016, 35(10): 1343-1346.
- [4] 张霞文,牟国法,王晓明,等. 高效液相色谱-串联质谱法测定生鲜乳中三聚氰胺的含量[J]. 宁夏农林科技, 2013, 54(1): 125-126.
Zhang XW, Mou GF, Wang XM, et al. The detection limit determination of melamine in infant milk powder by high performance liquid chromatography [J]. Ningxia J Agric Forestry Sci Technol, 2013, 54(1): 125-126.
- [5] 倪峥飞,沈海丽,王琴,等. HPLC 法测定乳制品中三聚氰胺的质量控制图的应用[J]. 中国乳品工业, 2016, 44(9): 58-60.
Ni ZF, Shen HL, Wang Q, et al. Application of quality control chart to the detection of melamine in dairy products by HPLC [J]. China Dairy Ind, 2016, 44(9): 58-60.
- [6] 程国栋,吴小慧,张宇,等. 胶体金免疫层析法快速检测乳制品中三聚氰胺[J]. 中国乳品工业, 2015, 43(9): 40-43.
Cheng GD, Wu XH, Zhang Y, et al. Colloidal gold immunochromatographic assay for rapid determination of melamine in dairy products [J]. China Dairy Ind, 2015, 43(9): 40-43.
- [7] 林晓珊,吴惠勤,黄晓兰,等. 气相色谱-串联质谱法快速测定乳制品中三聚氰胺及其 3 种类似物[J]. 质谱学报, 2014, 35(6): 537-543.
Lin X SH, Wu XQ, Huang XL, et al. Determination of melamine and its three analogues in dairy product by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chin Mass Spectrom Soc, 2014, 35(6): 537-543.
- [8] 刘锦,丁铁聪. 液相色谱-串联质谱内标法测定乳及乳制品中的三聚氰胺[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(4): 49-52.
Liu J, Ding YC. Determination of melamine in milk and dairy products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry internal standard method [J]. J Chin Mass Spectrom Soc, 2015, 25(4): 49-52.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 卫生部等 5 部门关于乳与乳制品中三聚氰胺临时管理限量值规定的公告(2008 年 第 25 号)[EB/OL]. [2008-10-08]. <http://www.nhc.gov.cn/sps/s7891/200810/43078c83f83845a1862d8d55bc6ee7f6.shtml>.
Ministry of Health of the People's Republic of China. Announcement of

- the Ministry of Health and other 5 departments on the provisional limit of melamine in milk and dairy products (2008 No. 25) [EB/OL]. [2008-10-08]. <http://www.nhc.gov.cn/sps/s7891/200810/43078c83f83845a1862d8d5bcb6ee7f6.shtml>.
- [10] 田洪芸, 田栋, 任雪梅, 等. 我国婴幼儿配方乳粉产品状况及潜在的风险分析[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(7): 200-203.
Tian HY, Tian D, Ren XM, *et al.* Infant formula powder product status of china and risk analysis [J]. Food Res Dev, 2016, 37(7): 200-203.
- [11] 中华人民共和国卫生部. 卫生部等 5 部门关于三聚氰胺在食品中的限量值的公告(2011 年 第 10 号)[EB/OL]. [2011-04-20]. <http://www.nhc.gov.cn/sps/s7891/201104/9f1311e1e97649f3a26a6b7f7b3d7ae3.shtml>.
Ministry of Health of the People's Republic of China. Announcement of the Ministry of Health and other 5 departments on the limit value of melamine in food (2011 No. 10) [EB/OL]. [2011-04-20]. <http://www.nhc.gov.cn/sps/s7891/201104/9f1311e1e97649f3a26a6b7f7b3d7ae3.shtml>.
- [12] GB/T 22388-2008 原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法[S].
GB/T 22388-2008 Determination of method melamine in raw milk and dairy products [S].
- [13] CNAS - GL 003: 2018 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S].
CNAS - GL 003: 2018 Guidance on evaluating the homogeneity and stability of samples used for proficiency testing [S].
- [14] GB/T 15000.3-2008 标准样品工作导则(3)标准样品定值的一般原则和统计方法[S].
GB/T 15000.3-2008 Directives for the work of reference materials (3) general and statistical principles for certification [S].
- [15] GB/T 6379. 2-2004 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度)第 2 部分: 确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法[S].
GB/T 6379. 2 - 2004 Accuracy(trueness and precision) of measurement methods and results-part2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method [S].
- [16] 余孔捷, 杨方, 刘正才, 等. 含氟甲喹残留的鳊鲮肉糜自然基体标准样品的制备[J]. 色谱, 2011, 29(7): 691-695.
Yu KJ, Yang F, Liu ZC, *et al.* Preparation of natural matrix standard sample of minced eel for quality control of flumequine residue [J]. Chin J Chromatogr, 2011, 29(7): 691-695.
- [17] 刘正才, 杨方, 吕小玲, 等. 鸡肉中金刚烷胺和利巴韦林残留基体标准物质的研制[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(8): 3327-3332.
Liu ZC, Yang F, Lv XL, *et al.* Preparation of matrix reference material of amantadine and ribavirin residues in chicken muscle [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(8): 3327-3332.
- [18] GB/T 22388-2008 原料乳与乳制品中三聚氰胺的检测方法[S].
GB/T 22388-2008 Determination of melamine in raw milk and dairy products [S].

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



袁 磊, 助理工程师, 主要研究方向为食品、保健食品检测与快速检测方法研究。
E-mail: 529685582@qq.com