

اندازه‌گیری ملامین در مواد غذایی توسط کروماتوگرافی یونی

چکیده:

ملامین یک ماده شیمیایی صنعتی است که در تهیه لمینیت، چسب مایع و پلاستیک کاربرد دارد. اخیراً این ماده توسط سودجویان به مواد غذایی اضافه می‌شود تا درصد پروتئین به صورت کاذب افزایش یابد. روش جدید اندازه‌گیری ملامین در صنایع غذایی توسط دستگاه کروماتوگراف یونی فشرده مدل 844 UV/VIS حساسیت بالا و صحت بالای نتایج را سبب می‌شود. آماده‌سازی نمونه توسط روش دیالیز که از اختراعات به‌ثبت رسیده کمپانی Metrohm سوییس می‌باشد، انجام می‌پذیرد. این نوع آماده‌سازی نمونه که به صورت خطی (Inline) انجام می‌شود، به‌طور موثر بافت آلی نمونه را حذف می‌کند.

واژه‌های کلیدی: ملامین، محصولات غذایی، کروماتوگرافی یونی، سیستم دیالیز با جریان متوقف

۱- مقدمه:

ملامین ترکیبی آلی با فرمول $C_3H_6N_6$ و به شکل پودر کریستالی سفیدرنگ است که به مقدار بسیار کمی در آب محلول می‌باشد. ملامین در صنایع شیمیایی از جمله تولید رزین‌های پلیمری و در صنایع پلاستیک‌سازی کاربرد دارد. درصد جرمی بالای نیتروژن (۶۶٪) در ملامین کاهش خاصیت آتش‌گیری رزین‌های پلیمری را سبب می‌شود. از طرف دیگر درصد بالای نیتروژن موجبات سوءاستفاده از این ماده شیمیایی را نیز فراهم آورده است، زیرا این مقدار نیتروژن خواص تجزیه‌ای مولکول‌های پروتئین را به این ماده می‌بخشد، در نتیجه افزایش ملامین به شیر سبب افزایش مقدار نیتروژن می‌شود. بدین‌روشن مقدار پروتئین شیر به صورت کاذب بیشتر از مقدار واقعی آن استنباط می‌شود. با ورود ملامین به بدن انسان این کریستال نامحلول و غیرقابل هضم که نهایتاً باید توسط کلیه‌ها دفع شود، عوارض جبران‌ناپذیری از جمله نارسایی کلیه و سنگ کلیه را سبب می‌شود. با توجه به موارد ذکر شده اندازه‌گیری ملامین در شیر، ماست و سایر محصولات لبنی و فرآورده‌های غذایی که در تهیه آنها از شیرخشک استفاده می‌شود بسیار حائز اهمیت است.

۲- بخش تجربی:

۲-۱- دستگاهوری

از سیستم کروماتوگرافی یونی فشرده مدل 844 UV/VIS جهت اندازه‌گیری ملامین، از نمونه‌بردار خودکار مدل 863 برای تزریق نمونه و از سیستم دیالیز به صورت خطی (Inline) برای حذف بافت آلی نمونه استفاده می‌شود.

دستگاه کروماتوگراف یونی فشرده مدل 844 UV/VIS شامل آشکارساز بسیار حساس آرایه دیودی، پمپ کروماتوگرافی یونی دوپیستونه، مسیر جریان عاری از فلز، ستون کروماتوگرافی یونی C4-150 و نرم افزار IC Net 2.3 می باشد.

نمونه بردار خودکار مدل 863 که دربر گیرنده محفظه ظروف نمونه و پمپ پرستالتیک می باشد، نمونه عاری از هر نوع ذره آلاینده ای را به دستگاه کروماتوگراف یونی تزریق می کند.



۲-۲- معرفها

معرفهای استفاده شده جهت تهیه حلال، اسید سولفوریک (H_2SO_4) و یا اسیدنیتریک (HNO_3) می باشد. از آب دیونیزه (با مقاومت ۱۸ مگا اهم) جهت تهیه حلال استفاده می گردد.

۲-۳- استانداردهای کالیبراسیون

۱- دوسری از استانداردها بنابر محدوده غلظت ملامین (واحد میلی گرم بر لیتر، ppm) مطابق سری ۱ و ۲ تهیه می گردد. (حلال: ۱/۵ میلی مولار از H_2SO_4 در آب فوق خالص)

۲- سری سوم و سری چهارم از استانداردها نیز بنابر محدوده غلظت ملامین تهیه می گردد. (حلال: ۳/۵ میلی مولار از HNO_3 در آب فوق خالص)

ارزیابی استانداردها از طریق منحنی کالیبراسیون صورت می گیرد.

سری ۱		سری ۲		سری ۳		سری ۴	
سطح کالیبراسیون	غلظت ملامین (ppm)	سطح کالیبراسیون	غلظت ملامین (ppm)	سطح کالیبراسیون	غلظت ملامین (ppm)	سطح کالیبراسیون	غلظت ملامین (ppm)
1	0.02	1	1.00	1	0.05	1	1.0
2	0.05	2	2.00	2	0.1	2	2.0
3	0.08	3	5.00	3	0.2	3	5.0
4	0.10	4	10.0	4	0.5	4	10.0
5	0.20	5	50.0	5	1.0	5	20.0
6	0.50	6	80.0			6	50.0
7	0.80	7	100.0				
8	1.00	8	120.0				
		9	150.0				

۲-۴- شرایط کروماتوگرافی یونی

در جدول ۱ شرایط آزمایش کروماتوگرافی یونی جهت اندازه‌گیری ملامین نشان داده شده است.

جدول ۱- شرایط آزمایش کروماتوگرافی یونی جهت اندازه‌گیری ملامین در صنایع غذایی	
Metrosep C4- 150	ستون جداسازی
Metrosep C4 Guard Column	پیش ستون (محافظ ستون)
1.5mM H ₂ SO ₄ in UP Water or 3.5mM HNO ₃ in UP Water	حلال (فاز متحرک)
0.9 mL/min	سرعت جریان حلال
0.0 MPa	حداقل فشار
25 MPa	حداکثر فشار
30 °C	دما
Ch1: 240 nm, Bunching 11 nm Ch2: 256 nm, Bunching 11 nm Ch3: 316 nm, Bunching 11 nm	طول موج آشکارساز آرایه دیودی

۲-۵- روش آماده‌سازی نمونه‌ها برای آنالیز ملامین

از سیستم دیالیز به‌صورت خطی (Inline) کمپانی Metrohm جهت آماده‌سازی نمونه‌های شیر خشک و تخم‌مرغ استفاده شده‌است.

۲-۶- بحث و بررسی نتایج:

با افزایش ملامین به نمونه‌های شیر خشک و تخم‌مرغ بازیابی بین ۹۵ تا ۱۰۵٪ مشاهده شده است. جدول ۲ به مقایسه دو حلال به‌کار رفته (۱/۵ میلی مولار از H_2SO_4 و ۳/۵ میلی مولار از HNO_3) می‌پردازد.

3.5mM HNO_3	1.5mM H_2SO_4	جدول ۲ (مقایسه دو حلال)
0.174	0.0498	نویز
23.97	95.59	نسبت سیگنال به نویز (S/N) از 1ppm ملامین
0.05 ppm	0.02 ppm	کمترین حد تشخیص

۲-۷- نکات قابل توجه

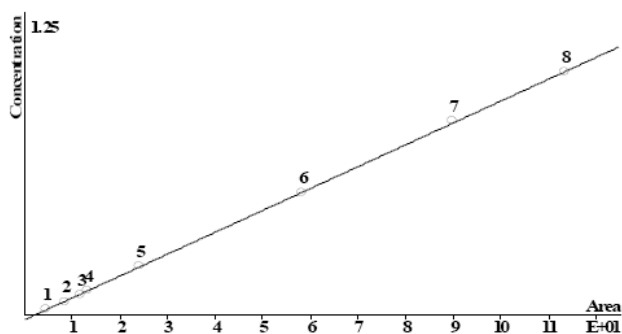
بنابر برخی پارامترها (از قبیل مقدار نویز، S/N برای ۱ ppm از ملامین و کمترین حد تشخیص) حلال ۱/۵ میلی مولار از H_2SO_4 به حلال دیگر ارجحیت دارد.

۲-۸- پیوست :

پیوست ۱ منحنی‌های کالیبراسیون استانداردها و پیوست ۲ کروماتوگرام‌های مربوط به آزمایش را نشان می‌دهد.

پیوست ۱:

منحنی کالیبراسیون مربوط به سری اول از استانداردها (حلال : ۱/۵ میلی مولار از H_2SO_4 در آب فوق خالص)

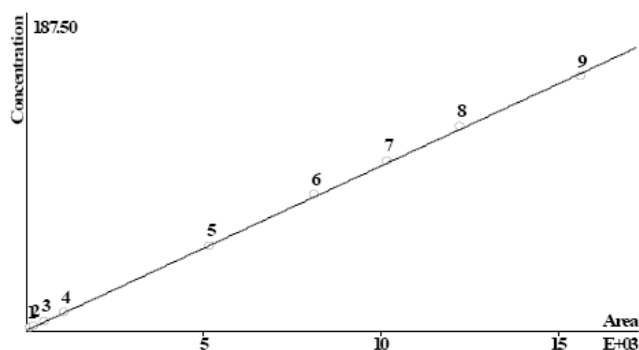


تابع $Q=0.18119E- 0.441838$

انحراف استاندارد نسبی (RSD) 1.690%

ضریب همبستگی : 0.99990

منحنی کالیبراسیون مربوط به سری دوم از استانداردها (حلال : ۱/۵ میلی مولار از H_2SO_4 در آب فوق خالص)

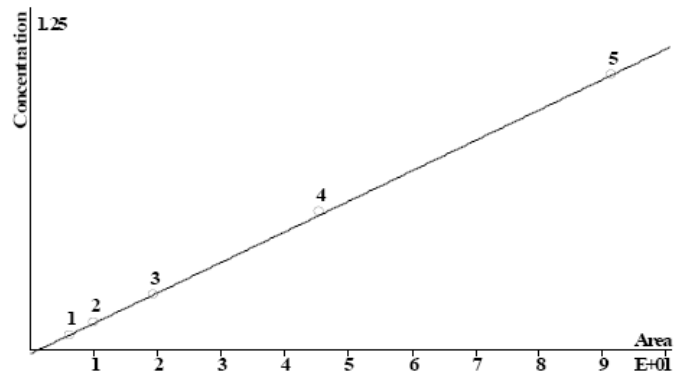


تابع $Q=0.193754E +0.935122$

انحراف استاندارد نسبی (RSD) 1.817%

ضریب همبستگی : 0.99985

منحنی کالیبراسیون مربوط به سری سوم از استانداردها (حلال ۳/۵ میلی مولار از HNO₃ در آب فوق خالص)

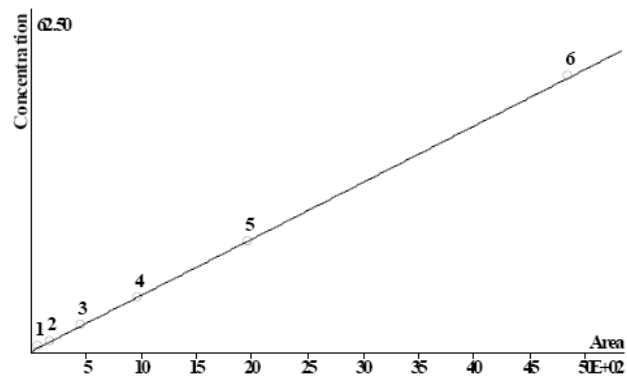


تابع $Q=0.222912E-0.313137$

انحراف استاندارد نسبی (RSD) 1.786%

ضریب همبستگی: 0.99989

منحنی کالیبراسیون مربوط به سری چهارم از استانداردها (حلال ۳/۵ میلی مولار از HNO₃ در آب فوق خالص)



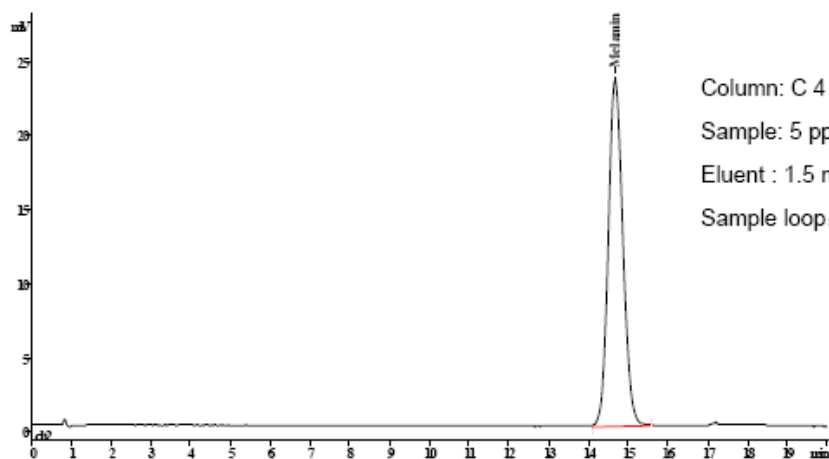
تابع $Q=0.205276E + 2.5285$

انحراف استاندارد نسبی (RSD) 1.018%

ضریب همبستگی: 0.99997

پیوست ۲:

کروماتوگرام محلول استاندارد ملامین



Column: C 4 – 150

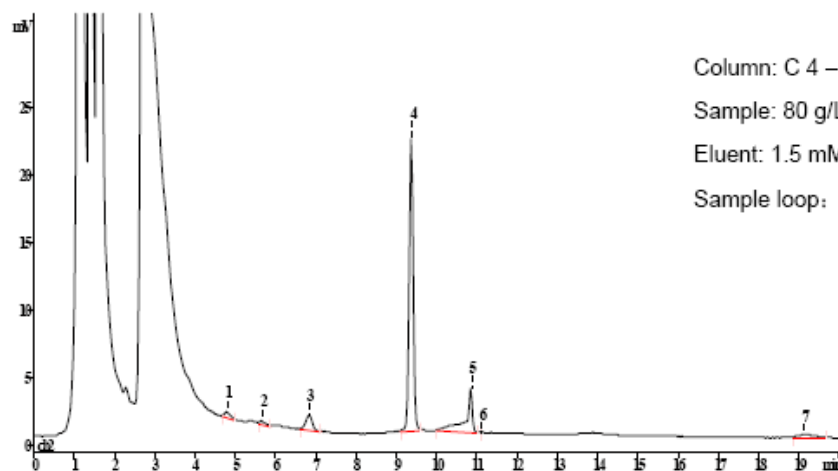
Sample: 5 ppm Standard Melamine

Eluent : 1.5 mM H₂SO₄ in ultra pure water

Sample loop: 20 μL

No	Retention min	Height mAu	Area mAu*sec	Conc. mg/L	Name
1	14.67	23.47	595.286	5.00	Melamine

کروماتوگرام نمونه شیر خشک



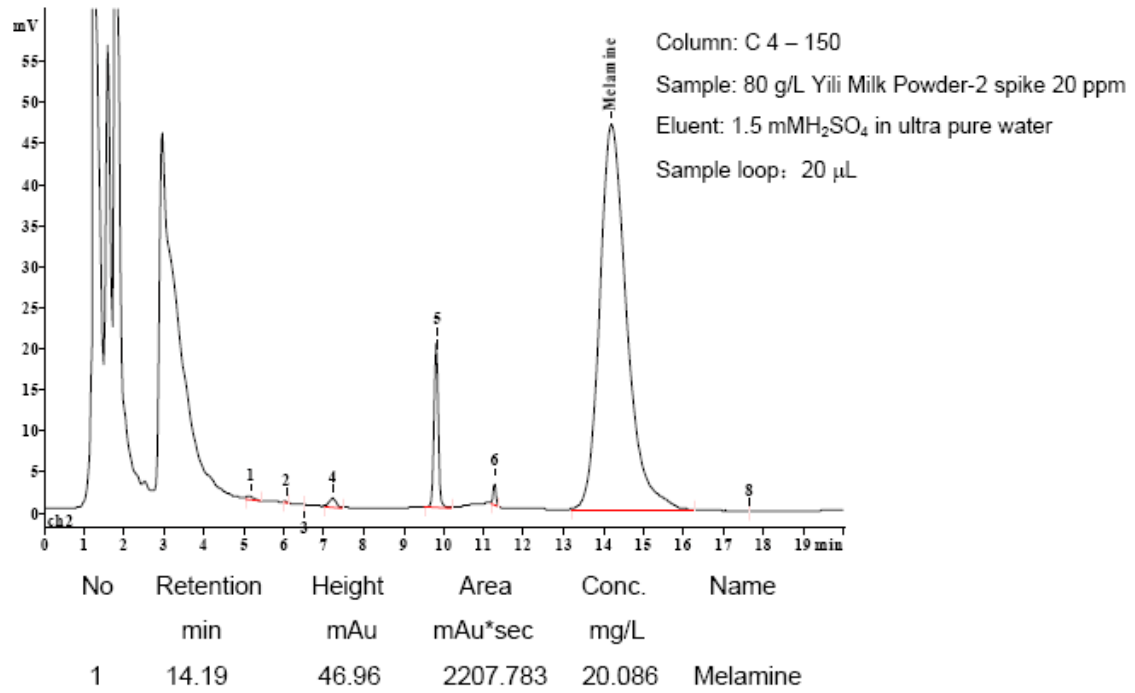
Column: C 4 – 150

Sample: 80 g/L Yili Milk Powder-2

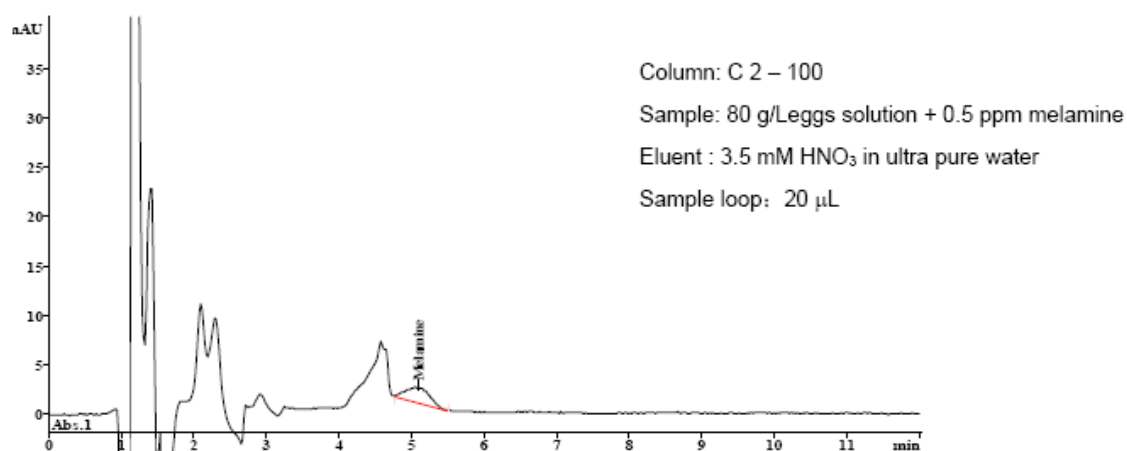
Eluent: 1.5 mM H₂SO₄ in ultra pure water

Sample loop: 20 μL

کروماتوگرام نمونه شیرخشک که ملامین به آن افزوده شده است.



کروماتوگرام نمونه تخم مرغ که ملامین به آن افزوده شده است.



No	Retention min	Height mAu	Area mAu*sec	Conc. mg/L	Name
1	5.08	1.59	38.746	0.525	Melamine

مراجع:

- 1- I. Blei, G. Odian, Organic and Biochemistry, (2000)
- 2- A. Seubert, Practical Ion Chromatography, (2001)
- 3- E. Löser, G. Stropp, Toxicology, (1999), Pages 919-936
- 4- M. Löubli, Metrohm Application Works (2009)