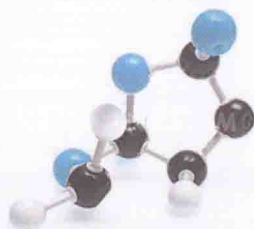


检测方法及其迁移转化研究
SAN JU QING AN



肥料中三聚氰胺的 检测方法及其迁移转化研究

孙明星 周 辉 沈国清 李 晨 等编著

THE STUDY OF MELAMINE DETECTION METHODS
AND MIGRATION AND
TRANSFORMATION IN FERTILIZER



复旦大学出版社

THE STUDY OF MELAMINE DETECTION METHODS
AND MIGRATION AND
TRANSFORMATION IN FERTILIZER

肥料中三聚氰胺的 检测方法及其迁移转化研究

孙明星 周 辉 沈国清 李 晨 等编著



图书在版编目(CIP)数据

肥料中三聚氰胺的检测方法及其迁移转化研究/孙明星等编著. —上海:
复旦大学出版社, 2014. 3
ISBN 978-7-309-10326-7

I. 肥… II. 孙… III. ①肥料-检测-研究②肥料-转化-研究 IV. S14-3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 027625 号

肥料中三聚氰胺的检测方法及其迁移转化研究

孙明星 周 辉 沈国清 李 晨 等 编著
责任编辑/范仁梅

复旦大学出版社有限公司出版发行
上海市国权路 579 号 邮编:200433
网址:fupnet@fudanpress.com <http://www.fudanpress.com>
门市零售:86-21-65642857 团体订购:86-21-65118853
外埠邮购:86-21-65109143
江苏凤凰数码印务有限公司

开本 890 × 1240 1/32 印张 4.5 字数 103 千
2014 年 3 月第 1 版第 1 次印刷

ISBN 978-7-309-10326-7/S · 07
定价:18.00 元

如有印装质量问题, 请向复旦大学出版社有限公司发行部调换。
版权所有 侵权必究

内容提要

肥料是土壤-作物系统中农作物生长最基本的营养来源,其中,增加氮肥投入是发展农业生产的主要途径之一。三聚氰胺是一种广泛使用的高含氮杂环有机化合物,国内外对三聚氰胺废渣资源化利用的肥效已有大量的研究报道。2008年,在我国三聚氰胺食品污染事件发生后,肥料中三聚氰胺在土壤-作物系统中的环境行为正越来越受到广泛关注。但目前有关土壤-作物系统中三聚氰胺检测方法及其迁移转化机制的研究十分缺乏。本书在总结多年来从事肥料分析与土壤环境污染物迁移转化研究工作经验的基础上,系统阐述国内外有关肥料和土壤-作物中三聚氰胺检测方法及其迁移转化概况,汇集了作者在三聚氰胺HPLC, LC-MS/MS和电导离子色谱检测方法,肥料中阴离子检测方法以及在土壤-青菜、小麦和马铃薯系统中三聚氰胺迁移转化机制的最新研究成果,并在编著内容上力求详细、完整和实用。

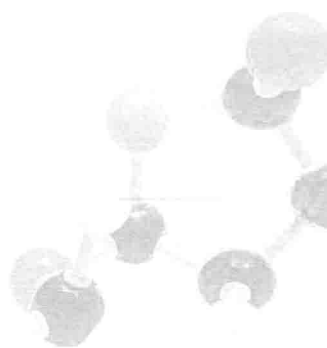
本书主要供从事农业、肥料、土壤等分析的检测者参考,也可作为从事农业土壤肥料、农业环境安全风险研究学者的参考资料。



编写人员

孙明星 沈国清 周 辉

李 晨 王亭亭 曹林奎 闵 红



前 言

肥料是土壤-作物系统中农作物生长最基本的营养来源,其中,增加氮肥投入是发展农业生产的主要途径之一。三聚氰胺是一种广泛使用的高含氮杂环有机化合物,国内外对三聚氰胺废渣资源化利用的肥效已有大量的研究报道。2008年,我国三聚氰胺食品污染事件发生后,肥料中三聚氰胺在土壤-作物系统中的环境行为正越来越受到广泛关注。然而,目前有关土壤-作物系统中三聚氰胺检测方法及其迁移转化机制的研究十分缺乏。为此,在上海市农委、上海出入境检验检疫局工业品与原材料中心和上海交通大学农业与生物学院的大力支持下,我们在总结多年来从事肥料分析与土壤环境污染物迁移转化研究工作经验的基础上,吸收了国内外较为先进的方法,编著了这本《肥料中三聚氰胺的检测方法及其迁移转化研究》,期望对从事肥料中三聚氰胺风险评价、污染控制及其资源化利用的广大科技工作者有所裨益。

全书在系统阐述国内外有关肥料、土壤-作物中三聚氰胺检测方法及其迁移转化研究的基础上,汇集了作者采用 HPLC, LC-MS/MS 和电导离子色谱法,测定肥料或土壤中三聚氰胺

含量的检测方法以及土壤-青菜、小麦和马铃薯系统中三聚氰胺迁移转化机制的最新研究成果,并在编著内容上力求详细、完整和实用。

鉴于编著者水平有限,本书尚有不足之处,恳请读者批评指正。

编著者

2013年8月

目 录

第一章	肥料中的三聚氰胺及其迁移风险	1
1.1	肥料中的三聚氰胺	1
1.2	三聚氰胺	2
1.2.1	三聚氰胺的理化性质	2
1.2.2	三聚氰胺的毒性	3
1.3	土壤-作物系统中三聚氰胺的迁移转化	6
1.3.1	土壤中的三聚氰胺	6
1.3.2	肥料中的三聚氰胺	7
1.3.3	三聚氰胺的迁移转化	10
第二章	国内外三聚氰胺检测方法研究现状	15
2.1	化肥中三聚氰胺的检测方法概述	15
2.2	三聚氰胺检测的前处理技术	18
2.2.1	超临界流体萃取	19
2.2.2	加速溶剂萃取	20
2.2.3	固相微萃取	21
2.3	三聚氰胺的检测方法	22
2.3.1	重量法	22
2.3.2	电位滴定法	23
2.3.3	光谱法	24

2.3.4 酶联免疫吸附法	25
2.4 三聚氰胺的色谱检测法	26
2.4.1 高效液相色谱法	26
2.4.2 液相色谱-质谱联用分析法	27
2.4.3 气相色谱-质谱联用法	28

第三章

肥料及土壤中三聚氰胺 HPLC 和 LC-MS/MS 检测方法研究	29
3.1 材料与方法	30
3.1.1 仪器	30
3.1.2 试剂	30
3.1.3 方法	30
3.2 结果与分析	31
3.2.1 三聚氰胺 HPLC 分析方法	31
3.2.2 三聚氰胺 LC-MS/MS 分析方法	35
3.3 小结	38

第四章

三聚氰胺的样品前处理技术研究	39
4.1 材料与方法	39
4.1.1 仪器	39
4.1.2 试剂	39
4.1.3 供试材料	40
4.1.4 样品前处理	40
4.1.5 方法回收率试验	41
4.2 结果与分析	41
4.2.1 土壤中三聚氰胺测定的前处理方法	41
4.2.2 蔬菜中三聚氰胺测定的前处理方法	43
4.2.3 肥料中三聚氰胺测定的前处理方法	46
4.3 小结	48

第五章

电导离子色谱法检测肥料与土壤中的

三聚氰胺	50
5.1 材料与方法	50
5.1.1 仪器与设备	50
5.1.2 材料与试剂	51
5.1.3 色谱条件	51
5.1.4 样品测定	51
5.2 结果与讨论	51
5.2.1 检测器的选择	51
5.2.2 化肥中的干扰离子	52
5.2.3 淋洗液的选择	53
5.2.4 样品的前处理方法的选择	57
5.2.5 线性范围和仪器最低检出限	57
5.2.6 回收率试验以及方法检测范围的确定	58
5.2.7 实际样品测定	59
5.2.8 与高效液相色谱测定结果对照	59
5.2.9 两个实际样品(1 [#] , 15 [#])的回收率试验	60
5.3 小结	62

第六章

肥料中三聚氰胺的降解动态与作物吸收效应

研究	64
6.1 材料与方法	64
6.1.1 仪器	64
6.1.2 试剂	65
6.1.3 供试材料	65
6.1.4 试验方法	65
6.2 结果与分析	67
6.2.1 不同质量比的三聚氰胺在土壤中的 降解动态	67

6.2.2 不同处理 50 天后两种蔬菜对三聚氰胺的吸收效应	69
6.2.3 青菜吸收三聚氰胺的生物效应	71
6.2.4 作物吸收三聚氰胺的影响因素	72
6.3 小结	77

第七章

化肥中微量阴离子的测定方法研究	79
7.1 国内外方法概述	81
7.2 氢氧根梯度淋洗分析条件的选择和优化	83
7.2.1 试验安排	83
7.2.2 离子色谱分析条件研究	83
7.2.3 化肥中的共存离子干扰和净化	86
7.2.4 方法的线性关系	90
7.2.5 方法的检测限	91
7.2.6 方法的精密度及回收率	92
7.2.7 方法的验证及再现性比较	94
7.2.8 实际样品测定	96
7.2.9 碳酸根等度淋洗分析方法比较	96
7.3 结论	98

附录 1 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准 化肥中三聚氰胺含量的测定——高效液相色谱法和离子色谱法	99
附录 2 中华人民共和国国家标准 化肥中微量阴离子的测定 离子色谱法	110
参考文献	122

第一章

肥料中的三聚氰胺及其迁移风险

1.1 肥料中的三聚氰胺

三聚氰胺是一种用途十分广泛的三嗪类含氮杂环有机化工中间产品,广泛用于涂料、塑料、纺织、造纸等工业生产中。自2008年“三鹿”奶粉中发现含有三聚氰胺以后,在中国乃至世界范围内引起了极大的恐慌^[1],三聚氰胺已经成为一种出乎意料的新型环境污染物^[2, 3]。事实上,工业生产中大量使用三聚氰胺制造的产品,无论以何种方式降解、转化和迁移,其中的三聚氰胺及其同系物不可避免地要进入土壤环境中^[3, 4]。

土壤是农作物生产的重要载体,其质量状况不仅直接影响到农作物的产量,而且与农产品安全和人体健康密切相关,目前,已有报道表明,除了牛奶、鸡蛋等动物产品受到三聚氰胺蓄意污染以外,蘑菇、芹菜、茼蒿、西红柿、苋菜和油菜等蔬菜中也受到来自环境中的三聚氰胺的无意污染,其中,在蘑菇中的残留最高达 17 mg/kg ^[4, 5]。国内外对环境中三聚氰胺污染途径研究表明,三聚氰胺“联产”技术生产的化工产品及其兽药环丙胺嗪药物的使用、聚合树脂中三聚氰胺的迁移等是导致土壤环境中三聚氰胺污染的主要途

径^[6, 7]。早在 2007 年,联合国粮农组织就曾指出,作为农药或动物杀虫剂使用的环丙胺嗪,在分解后可能会产生三聚氰胺。除此之外,由于三聚氰胺的含氮量高达 66.6%,有报道指出,我国每年生产的 50 万吨三聚氰胺的废渣全氮含量为 50.01%,可以制成肥料,为植物提供氮素营养,实现资源化利用^[8, 9]。然而,土壤中的三聚氰胺是否会被植物吸收,是否对作物产生毒害?至今,国内外尚存争论。有关三聚氰胺的检测方法也大多集中在乳制品方面。因此,无论是从环境中三聚氰胺污染控制,还是从三聚氰胺的资源化利用的角度,开展土壤-作物系统中三聚氰胺的检测及其迁移转化机制研究,对于控制土壤三聚氰胺进入食物链,保障农产品质量安全具有十分重要的理论和实践意义。

1.2 三聚氰胺

1.2.1 三聚氰胺的理化性质

三聚氰胺(melamine)化学名为 2,4,6-三氨-1,3,5 三嗪,俗称蜜胺、氰尿酸胺、三聚酰胺,分子式为 $C_3N_3(NH_2)_3$, 分子结构如图 1-1 所示。

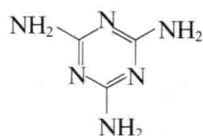


图 1-1 三聚氰胺结构式

三聚氰胺为纯白色单斜棱晶体,无味,密度为 1.573 g/cm^3 (16°C), 相对分子质量为 126.12。常压下熔点为 354°C , 升华温度为 300°C 。水中溶解度为 3.1 g/L (21°C), 溶于热水, 微溶于冷水。不溶于醚、苯和四氯化碳, 可溶于甲醇、甲醛、乙酸、热乙二醇、甘油和吡啶等。

通常情况下三聚氰胺性质较稳定,但在高温下会分解,释放出氰化物。由于其呈弱碱性($\text{pH}=8$),故能与大多数酸反应,形成三聚氰胺盐。在中性或微碱性情况下,与甲醛发生缩合反应,生成羟

甲基三聚氰胺;在微酸性条件下(pH 值 5.5~6.5),与羟甲基的衍生物发生缩聚反应,生成树脂产物。三聚氰胺遇到强酸或强碱水溶液,会发生水解反应^[10],胺基逐步被羟基取代,先生成三聚氰酸二酰胺,进一步生成三聚氰酸一酰胺,最终生成三聚氰酸,这三者均为三聚氰胺的同系物^[11]。

1.2.2 三聚氰胺的毒性

三聚氰胺本身为低毒物质^[12, 13],但在有三聚氰酸存在的条件下,毒性会增强^[12]。美国食品和药品管理局(FDA)于 2007 年 5 月 25 日发布的风险评估报告指出,人体的三聚氰胺可容忍日摄入量(tolerable daily intake, TDI)为 0.63 mg/(kg·d)^[14],而且 FDA 于 2008 年 10 月 3 日把 TDI 值调整为 0.063 mg/(kg·d)^[15]。我国卫生部于 2011 年 4 月 6 日规定的三聚氰胺在食品中的限量值:婴儿配方食品中三聚氰胺的限量值为 1.0 mg/kg,其他食品中三聚氰胺的限量值为 2.5 mg/kg,高于上述限量值的食品一律不得销售^[16, 17]。

(1) 急性毒性:大鼠连续 2 h 吸入三聚氰胺粉尘 200 mg/m³,未见明显的中毒症状。大鼠经口喂食的半数致死量(LD₅₀)为 3.16 g/kg,小鼠经口喂食的半数致死量(LD₅₀)为 4.55 g/kg^[13]或大于 5 000 mg/kg^[18]。

(2) 亚慢性及慢性毒性:大鼠吸入 80~100 mg/m³,2 次/天,6 次/周,连续 4 个月以上,出现体重增加迟滞,中枢神经系统及肾功能紊乱,肺内炎性改变等,长时间反复接触可对肾脏造成损伤,但是对眼及皮肤无刺激作用^[13]。王玉燕(2010)等^[19]发现大鼠染毒 25 mg/kg 体重,5 周后,肾脏由于受到结晶体的挤压而严重缺血,呈现出黄色沙石样改变。此外,对狗的慢性毒理研究发现,三聚氰胺能导致肾脏纤维化、远曲小管以及集合管上皮的增生好扩张、甲

状腺萎缩、淋巴细胞浸润,钙质沉着等症状^[20]。

(3) 生殖发育毒性:研究表明,三聚氰胺具有一定的生殖发育毒性。在大鼠实验中得出的最敏感的经口摄入生殖发育毒性的无可见有害作用水平(NOAEI)为 400 mg/(kg·g)(雌鼠)、1 060 mg/(kg·g)(雄鼠)^[14]。

(4) 致癌性:目前国际癌症研究机构(IARC)评估三聚氰胺对人类致癌性属于三级。高剂量三聚氰胺具有致癌性。Okumura M(1992)等^[21]的研究证明,饲喂含 30 g/kg 三聚氰胺饲料能诱发 344 只鼠的膀胱肿瘤和输尿管肿瘤,而且这两个疾病发病率高度相关,他们认为三聚氰胺诱发膀胱癌和泌尿道增生性疾病归因于结石的形成。此外,Cremonezzi(2001)等^[22]利用三聚氰胺处理一种有免疫缺陷的小鼠(BALB/C),小鼠成功复制出泌尿道肿瘤模型。

(5) 其他毒性:Cianciolo(2008)等^[23]用三聚氰胺污染过的猫食喂养 70 只猫,观察到其中 43 只出现体征,包括食欲不振、呕吐、多尿、烦渴和嗜睡等,喂养 7~11 d 后,38 只猫出现氮质血症。而三聚氰胺和三聚氰酸联合中毒的猪临床上还表现出渐进性消瘦,皮肤粗糙等症状^[24]。

三聚氰胺的生物毒性见表 1-1 所示。

表 1-1 三聚氰胺的生物毒性^[25~27]

类型	描述项目	实验材料	方法规程	结果
生态毒理效应	对陆生植物的毒性	大麦		EC _{50, 4d} = 530 mg/kg
		普通小麦		EC _{50, 4d} = 900 mg/kg
		萝卜		EC _{50, 4d} = 930 mg/kg
		水芹		EC _{50, 4d} = 1 100 mg/kg
		豌豆		EC _{50, 4d} = 1 680 mg/kg

续 表

类型	描述项目	实验材料	方法规程	结果
	对非土居微生物的毒性	活性淤泥	OECD 209 方法	$EC_0 > 1\,992\text{ mg/L}$
	对鱼类的急性毒性	圆腹雅罗鱼	德国国家标准 (DIN) 38412/L 20 方法	$LC_{50, 48h} > 500\text{ mg/L}$
	对鱼类的急性毒性	美国旗鱼	鱼类早期生活阶段毒性试验	$NOEC > 1\,000\text{ mg/L}$
	对水生植物的毒性	毯毛栅藻		$EC_{50, 4d} = 940\text{ mg/L}$ $NOEC_{4d} = 320\text{ mg/L}$
毒理效应	急性口服毒性	Fischer 344 大白鼠; B6C3F1 老鼠	美国国家毒物学计划 (NTP)方法	$LD_{50} = 3\,161\text{ mg/kg}$ $LD_{50} = 3\,296\text{ mg/kg}$
	急性吸入毒性	大鼠		$LC_{50} = 3\,248\text{ mg/m}^3$
	急性经皮毒性	兔子		$LD_{50} > 1\,000\text{ mg/kg}$
	致敏作用	成人;几内亚猪		无过敏反应
	重复剂量毒性	大老鼠	口服饲料 14 d, NTP方法	$NOEL = \text{ca. } 417\text{ mg/kg, bw}$
		大老鼠	口服饲料 28 d, 调查结石情况	$NOEL = \text{ca. } 240\text{ mg/kg, bw}$
		老鼠	口服饲料 13 周, NTP 方法	$NOEL = \text{ca. } 1\,600\text{ mg/kg, bw}$

续 表

类型	描述项目	实验材料	方法规程	结果
致癌性	大老鼠	口服饲料 13 周, 公鼠的处理浓度为 2 250 和 4 500 mg/kg, 母鼠为 4 500 和 9 000 mg/kg, NTP 方法	公鼠阳性反应, 母鼠呈阴性反应, NOEL = ca. 126 mg/(kg·d), bw	
	诱发扩散试验			三聚氰胺不是诱发因子
发育毒性/致畸性	大老鼠	OECD 414 方法	NOEL=ca. 400 mg/kg, bw(母体毒性), NOEL = ca. 1 060 mg/kg, bw(胎儿毒性), 无致畸性	
毒物代谢动力学实验	大老鼠			三聚氰胺在体内不被代谢, 随尿液直接排出体外

注: EC₅₀, 半数有效浓度; (EC₅₀)_r, 无反应浓度; LC₅₀, 半数致死浓度; NOEC, 无可见效应浓度; LD₅₀, 半数致死剂量; NOEL, 无可见作用剂量水平; bw, 体重; ca., 副词, 表示大约、大概; OECD, 经济合作与发展组织标准; DIN, 德国标准, 相当于中国国标 GB; NTP, 美国国家毒理学计划。

1.3 土壤-作物系统中三聚氰胺的迁移转化

1.3.1 土壤中的三聚氰胺

已有研究表明, 土壤中的三聚氰胺主要来源于农药环丙氨嗪 (cyromazine) 的大量使用以及添加三聚氰胺的化学肥料。环丙氨嗪又名灭蝇胺, 是一种高效的昆虫生长抑制剂类杀虫剂, 其分子式