奶粉中三聚氰胺等伪蛋白的危害和新检测方法

梁华正[1] 刘清[2] 杨水平[1] 李建强[1] 张兴磊[1] 陈焕文[1,3*]
(1 东华理工大学应用化学系 江西抚州 344000; 2 北京市理化分析测试中心 北京 100089;
3 吉林大学化学学院 吉林长春 130021)

2008年9月,中国爆发了"三鹿"婴幼儿奶粉受污染事件,导致不少食用受污染奶粉的婴幼儿产生肾结石病症,甚至引发了危及生命的严重并发症。国家质检总局对此事进行了系统的调查,结果表明,事件的主要原因在于奶粉中含有三聚氰胺,长期食用这些高含量三聚氰胺的奶粉危害了婴幼儿的健康,这就是震惊中外的"三聚氰胺事件"。其实在此之前,三聚氰胺已经作为动物饲料的非法添加剂为人们所知,如2007年3月中国出口美国的宠物饲料被检测出三聚氰胺超标;2007年深圳检验检疫局在从台湾地区进口的3批观赏鱼饲料中检出高含量三聚氰胺;2007年福建、天津、山东等检验检疫局从来自马来西亚、泰国、秘鲁的鱼粉中检出三聚氰胺;2007年北京检验检疫局在从澳大利亚进口的宠物食品中检出三聚氰胺。而在2008年9月份的乳制品"三聚氰胺事件"之后,又发现部分地区的鸡蛋、奶糖和冰淇淋等食品中含有三聚氰胺。这一连串的食品三聚氰胺事件,使普通群众谈三聚氰胺色变。

1 三聚氰胺、三聚氰酸与尿素

三聚氰胺(melamine)是一种三嗪类含氮杂环有机物,是重要的有机化工原料,其最重要的用途是与甲醛缩合合成三聚氰胺树脂。三聚氰胺进入人体后,在胃的强酸性环境中会有部分水解成为三聚氰酸。三聚氰胺和三聚氰酸结构式见图1。三聚氰酸也是一种常用的化工原料,用于合成氯代衍生物、三氯异氰尿酸、氰尿酸-甲醛树脂、环氧树脂、抗氧化剂、涂料、粘合剂、农药除草剂等。三聚氰酸为白色结晶,约在330℃解聚为氰酸和异氰酸。三聚氰酸易溶于热水、热醇、吡啶等,也易溶于氢氧化钠和氢氧化钾水溶液,不溶于冷醇、醚、丙酮、苯和氯仿等有机溶剂。2008年11月28日,美国食品药品管理局(FDA)公布最新的婴儿配方奶粉测试结果,显示美赞臣、雀巢的两款产品出现较严重的质量问题。在美赞臣的问题产品中发现三聚氰酸,而雅培则在自查中发现产品含有微量的三聚氰胺。香港立法会为此公开呼吁政府增加对三聚氰酸的检测,因为这种物质一旦与三聚氰胺发生化学反应,就容易产生不溶于水的结晶,也就是结石,增加食用受污染食品患者结石形成的风险。

在"三聚氰胺事件"发生时,曾有人认为,奶粉中添加的不是三聚氰胺而是尿素,理由在于尿素易溶于水,且可以在高温下发生聚合反应产生三聚氰胺。尿素亦称脲(结构式见图1),是碳酸(即二氧化碳水溶液)的二酰氨,在人体蛋白质分解代谢最终产物中占有相当大的比例。正常人在采用普通膳食后,每日尿中可排出25~30g尿素,接近尿中总氮量的87%。尿素外观为白色晶体或粉末,通常用作植物的氮肥。事实上,工业上生产三聚氰胺的确是采用尿素为

原料，但一般以氨气为载体，硅胶为催化剂，在 380 ~ 400℃ 高温下沸腾反应，尿素先分解生成氰酸，并进一步缩合生成三聚氰胺。具体反应式如下：

$$6(NH_2)_2CO \longrightarrow C_3H_6N_6 + 6NH_3 + 3CO_2 \quad (1)$$

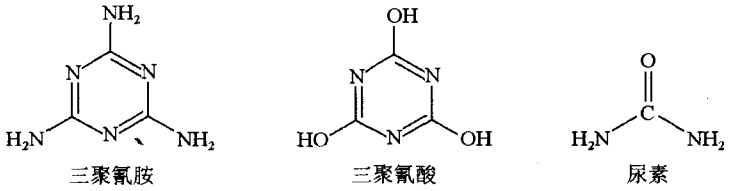

图 1　三聚氰胺、三聚氰酸和尿素分子的化学结构式

用尿素法生产三聚氰胺，每吨产品需消耗尿素约 3800kg、液氨 500kg。按照反应条件不同，尿素法生产三聚氰胺的合成工艺又可分为高压法（7 ~ 10MPa，370 ~ 450℃，液相）、低压法（0.5 ~ 1MPa，380 ~ 440℃，液相）和常压法（ <0.3MPa，390℃，气相）3 种。目前世界上技术先进、竞争力较强的主要有日本新日产 Nissan 法和意大利 Allied-Eurotechnica 的高压法、荷兰 DSM 低压法和德国 BASF 的常压法。我国三聚氰胺生产企业多采用常压法工艺，该方法是以尿素为原料，在 0.1MPa、390℃ 条件下，以硅胶做催化剂合成三聚氰胺，并使三聚氰胺在凝华器中结晶，再经溶解、过滤、结晶后制成三聚氰胺成品。奶粉是由鲜奶经浓缩、均质处理后，在 100℃ 左右喷雾干燥而制得。因此，在正常奶粉生产工艺条件下，尿素难以转化生成三聚氰胺。因此，在鲜奶中添加尿素生成三聚氰胺的可能性很小。

2　三聚氰胺有毒吗？

三聚氰胺是一种低毒的化工原料，目前发现的主要毒害作用是影响动物的泌尿系统。根据美国食品药品管理局的标准，三聚氰胺可容忍摄入量为每天 0.63 毫克/公斤（体重），但他们又强调，由于三聚氰胺对人体有害，因此不应在食品中出现。三聚氰胺的剂量与临床疾病之间存在明显的量效关系。三聚氰胺在婴儿体内最大耐受量为每公斤奶粉 15 毫克。专家对受污染婴幼儿配方奶粉进行的风险评估显示，以体重 7 公斤的婴儿为例，假设每日摄入奶粉 150 克，其最大耐受量为 15 毫克/公斤奶粉。我国卫生部于 2008 年 9 月 12 日发布了“与食用受污染三鹿牌婴幼儿配方奶粉相关的婴幼儿泌尿系统结石诊疗方案”，该方案指出，患者结石绝大部分累及双侧集合系统及双侧输尿管。由于患儿大多为婴幼儿，不具备症状主诉能力，家长需要加强对患儿的观察，同时依靠腹部 B 超和（或）CT 检查，可以帮助早期确诊。在治疗方面，目前没有针对三聚氰胺的特效解毒剂，临床上主要依靠对症支持治疗，必要时可以考虑外科手术干预，解除患儿肾功能长期损害的风险。早期诊断、早期治疗，是使三聚氰胺结石患儿早日康复的关键。

另一方面，美国食品药品管理局食品安全高官史蒂芬·桑德洛夫表示，研究发现，在食品中同时含有三聚氰胺和三聚氰酸时才会对婴儿健康构成显著威胁。原因在于目前认为三聚氰胺和三聚氰酸共同作用时才会导致形成肾结石；但由于合成三聚氰胺时会产生副产物三聚氢酸，而且三聚氰胺在胃的酸性环境中也会有部分水解成为三聚氰酸。因此，对于人体而言，只要食用了含三聚氰胺的食品，就相当于食用了同时含有三聚氰胺和三聚氰酸的食品。长期摄入高含量的三聚氰胺食品，将显著增加罹患结石症的可能性，尤其是对于婴幼儿危害更为严

重。

然而，三聚氰胺的生物效应和病理作用还不完全清楚。我们现有的数据表明，三聚氰胺与蛋白质有特殊的亲和力，能够形成有多个作用位点的配合物。有生理活性的蛋白质一般具有四维结构，而蛋白质的功能与结构之间有密切的联系。当蛋白质的特定空间结构被破坏时，即使蛋白质分子本身没有被分解，其功能也会受到影响，甚至严重破坏。当蛋白与少量的三聚氰胺作用后，由于三聚氰胺能够与多个位点形成氢键，从而可以更好地增加蛋白质空间结构的稳定性，即增强该蛋白质抵抗恶劣环境下结构分解的趋势。由于不同蛋白质有不同的结构，因此，不同蛋白对三聚氰胺的亲和力存在显著差异。目前的体外实验表明，三聚氰胺能够与一些抵抗人体衰老的重要蛋白选择性地相互作用。但具体的作用机理、效果和生物安全性等，还有待于进行系统、深入的研究。

3 为什么三聚氰胺会被人为添加到食品中？

由于食品和饲料工业蛋白质含量测试方法的缺陷，三聚氰胺被不法商人用作食品添加剂，以提升食品检测中的蛋白质含量指标，因此三聚氰胺也被人称为“蛋白精”。食品和饲料工业中通用的蛋白质测试方法为凯氏定氮法，该方法是通过测定食品或饲料中的含氮量来估算蛋白质含量。凯氏定氮法原理和主要方法为，将食品或饲料与硫酸和催化剂一起加热消化，使蛋白质分解，蛋白质分解生成的氨与硫酸结合生成硫酸铵，反应式如下：

$$2NH_2X + H_2SO_4 + 2H^+ = (NH_4)_2SO_4 + 2X^+ \quad (2)$$

式中 NH_2X 表示含氮的有机化合物。然后再经碱化、蒸馏使氨游离，如反应式(3)所示，再用硼酸吸收(如反应式(4))后，以硫酸或盐酸标准溶液滴定(如反应式(5)和(6))，根据酸的消耗量乘以换算系数，即可得到蛋白质含量。

$$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH = 2NH_3 + 2H_2O + Na_2SO_4 \quad (3)$$

$$2NH_3 + 4H_3BO_3 = (NH_4)_2B_4O_7 + 5H_2O \quad (4)$$

$$(NH_4)_2B_4O_7 + H_2SO_4 + 5H_2O = (NH_4)_2SO_4 + 4H_3BO_3 \quad (5)$$

$$(NH_4)_2B_4O_7 + 2HCl + 5H_2O = 2NH_4Cl + 4H_3BO_3 \quad (6)$$

凯氏定氮法的本质是测出样品中氮的含量，并以此估算蛋白质含量。实际上，只有在被测样品中的含氮化合物全部是蛋白质时，该方法才能用于准确估算蛋白质含量；而当待测样品中添加了其他含氮有机物时，测试结果将高于蛋白质含量的真实数值。因此，采用凯氏定氮法进行检测，如果样品中添加有三聚氰胺或其他含氮化合物，都会使样品的蛋白质测试含量偏高，从而使蛋白质含量偏低的劣质食品能够通过食品检验机构的检测。

4 三聚氰胺的检测方法

三聚氰胺的检测方法主要有气相色谱法(GC)、液相色谱法(LC)[1]、气相色谱-质谱法(GC-MS)[2]和液相色谱-质谱法(LC-MS)[3-4]等，目前权威的检测方法是我国国家标准规定的原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法[5]，即高效液相色谱法(HPLC)、液相色谱-质谱/质谱法(LPLC-MS/MS)和气相色谱-质谱联用法(GC-MS)。由于 GC、LC 分析前需要对样品进行预处理，如萃取、衍生等，导致整个过程耗时较长，难以实现对样品的快速检测。2008 年 10 月 1 日，科技部面向社会征集快速检测液态奶和奶粉中三聚氰胺的技术及产品，并提出 3 项要求：对三聚氰胺的检测准确，检测限小于或等于 2mg/L，重现性好；适合现场快速检测，平均每个样

品检测时间小于30分钟(包括样品前处理时间);技术产品或仪器设备成本较低,运行费用低。各科研单位相继提出了各种快速测定三聚氰胺的方法,如识别三聚氰胺的抗体试纸、紫外可见光度法、酶联免疫吸附测定法[6]等,但这些方法在灵敏度和特异性方面还有待实践检验。

表面解吸常压化学电离质谱(DAPCI-MS)[7-8]是近年来研制成功的新型质谱快速分析方法,能够在没有样品预处理的情况下对固体、粉末等复杂基体样品中的痕量待测物质进行快速检测。DAPCI-MS充分结合了常压化学电离(APCI)和电喷雾解吸电离源(DESI)的优点,可在相对湿度大于45%的空气中进行高效率的电晕放电,产生大量的试剂离子。比如在测定奶粉中的三聚氰胺时,首先设定适宜的实验条件(如高电压、距离、试剂气体种类和流速、角度等),在此条件下产生的试剂离子(H_3O^+)直接溅射到乳制品上,与乳制品中的各种待分析物相互作用(图2),使三聚氰胺、尿素等一些非法添加物产生解吸电离,形成质子化的待测物离子,从而进入质量分析器中被质谱仪检测。由于采用空气中的水蒸气作为电离试剂,无须使用高压气体、甲醇或甲苯等有毒试剂,分析过程清洁无害且不对样品造成污染,还具有分析速度快,灵敏度高、特异性好等特点。每分钟可以完成3~5个样品的分析;对三聚氰胺的检测灵敏度可以达到10^{-9}级,大大低于国家要求的10^{-6}级标准;由于采用了多级质谱定性分析技术,可以有效地排除各种干扰物质引起的假阳性。此外,质谱法能够同时检测多种非法添加的含氮化合物,如三聚氰胺、尿素等。

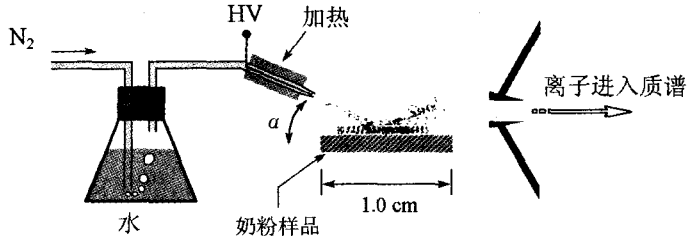

图2 DAPCI-MS测定奶粉中三聚氰胺装置图

如果采用某种方法将液态牛奶样品引入到质谱离子源中,也能够获得理想的检测效果。例如采用电喷雾萃取电离质谱(EESI-MS),能够同时测定牛奶中的多种组分而不需要对液态牛奶进行任何预处理[9-10]。最近*Chemical Communications*报道,我国研究人员及其合作者发明的超声辅助电喷雾萃取电离质谱法[10](图3),采用雾化进样,然后对雾化后的样品进行电喷雾萃取电离,能够对各种复杂液体样品如牛奶、蛋白质制品中微量的三聚氰胺进行直接检测。该方法获得的三聚氰胺的典型质谱图见图3,其中插入图为三聚氰胺的二级质谱图,显示了三聚氰胺的特征碎片离子如m/z 110、85、68,具有鲜明的特征性,从而可以排除样品中的假阳性。该方法对于单个样品的检测时间不到30秒,只是检测限为300×10^{-9},表明其灵敏度比DAPCI-MS低,但是已可以满足实际使用的需要。

5 结语

食品安全是关系到国计民生的大事,在三聚氰胺事件的教训中,我们应该看到,我国食品安全管理体制还存在漏洞。从发达国家食品安全的管理经验来看,设立一个独立机构对食品进行统一监管是一个较好的选择,如加拿大、丹麦和爱尔兰等国家。虽然有些国家(如美国和日本)食品安全管理机构依然分布在不同的部门,但却有很明确的分工,以避免机构间的扯皮

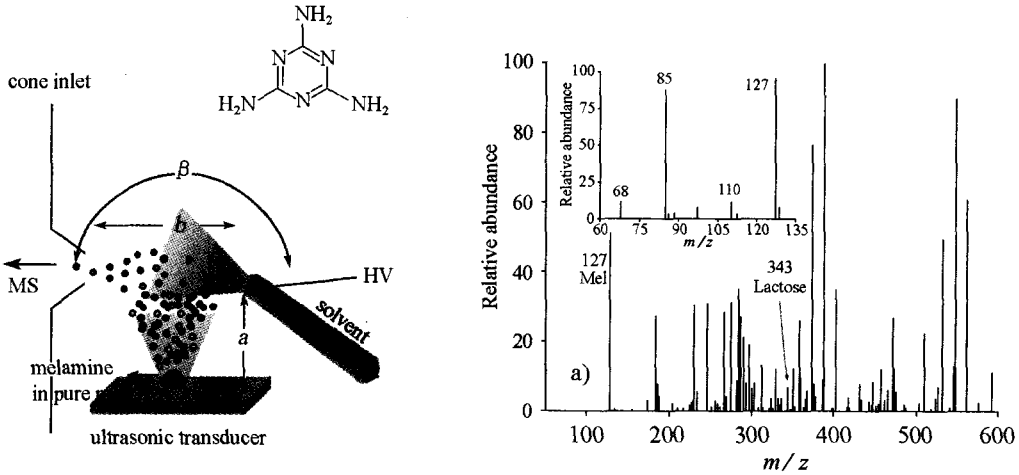

图 3　EESI-MS 测定液态奶中三聚氰胺的装置原理图与典型质谱图

问题，并通过加强食品管理各部门之间的协调，实现从“农田到餐桌”的全过程监管。另一方面，食品造假的科技含量正在日益增加，且呈现越来越隐蔽的趋势。所以，食品监管部门要采用先进的科技手段，制定合理的食品质量标准及各种规章制度，加强食品的抽查检验力度，保护国民健康。特别要提到的是，检测食品和饲料中蛋白质含量的凯氏定氮法存在较大的缺陷，开发新的检测手段势在必行。另外，对于食品掺假的检测，单一检测三聚氰胺的含量也存在不足，因为不法分子可能不添加三聚氰胺，而改用其他含氮化合物。因此，开发能同时检测多种含氮化合物的方法也显得十分重要。最后，还要重视对食品从业人员的宣传教育与技术培训工作，提高食品从业人员职业道德水平、守法意识和技术能力，确保食品安全。

参 考 文 献

[1] 王浩，刘艳琴，曹红，等. 分析化学，2008，36(2)：273

[2] 吴惠勤，黄芳，林晓珊，等. 分析测试学报，2008，27(10)：1044

[3] 蔡勤仁，欧阳颖瑜，钱振杰，等. 色谱，2008，26(3)：339

[4] 李爱军，张代辉，马书民，等. 分析化学，2008，36(5)：699

[5] GB/T 22388—2008　原料乳与乳制品中三聚氰胺检测方法

[6] 陈锡龙，黄瑾，钱莘莘. 饲料工业，2008，29(18)：53

[7] Chen H，Liang H，Ding J，*et al. J Agric Food Chem*，2007，55：10093

[8] 陈焕文，赖劲虎，周瑜芬，等. 分析化学，2007，35(8)：1233

[9] Zhu L，Gamez G，Chen H. *Chem Commun*，2009，DOI：10.1039/B818541G

[10] Chen H，Venter A，Cooks G. *Chem Commun*，2006，2042