

Praxis nah: HPLC-Bestimmung von Melamin in Düngemitteln

Isabelle Spinner

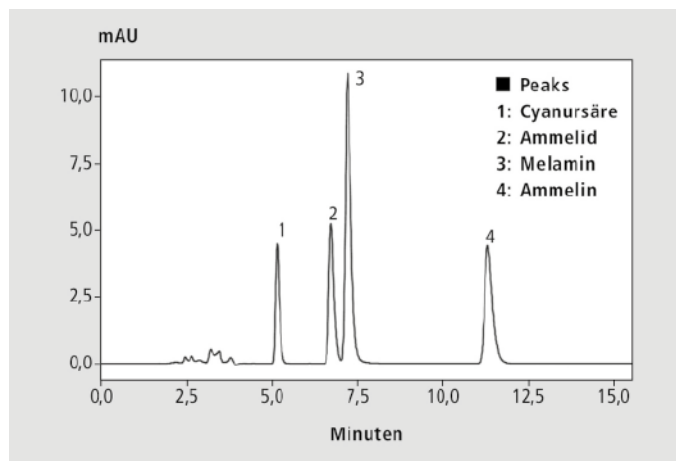
Melamin in Lebensmitteln ist spätestens seit dem Milchskandal in 2008 in das Bewusstsein der breiten Öffentlichkeit gelangt. Einerseits vielgenutzte Ausgangssubstanz für zahlreiche Anwendungen, andererseits gesundheitsschädlicher Stoff, kann Melamin auch über Düngemittel den Weg in die Nahrungsmittelversorgung finden. Für die Analyse von Melamin und verwandten Substanzen in Düngemitteln kann dabei die Flüssigchromatographie mit UV-Detektion genutzt werden.

Melamin ist ein mannigfaltiger Ausgangsstoff für vielseitige chemische Produkte, wie etwa Holzleim, Harze oder Schäume. Die stickstoffhaltige aromatische Verbindung wird zum Beispiel für die Herstellung von Spanplatten oder Camping-Geschirr eingesetzt.

Toxizität

In China wurde 2006 Weizen gluten mit Melamin gestreckt, um einen höheren Proteingehalt vorzutäuschen. Dieses Gluten wurde in den USA zu Tierfutter verarbeitet und führte bei zahlreichen Haustieren zum Tod durch Nierenversagen [1]. Im Jahr 2008 starben sechs chinesische Säuglinge durch mit Melamin gestrecktem Milchpulver. Ca. 300.000 Kinder erkrankten an Nierensteinen. Auch in Deutschland gelangten mit Melamin belastete Lebensmittel aus China auf den Markt [2].

2010 erließ die Weltgesundheitsorganisation WHO daher einen maximalen Grenzwert von



Chromatogramm von Standardlösungen (Konzentration 1 mg/L)

System	Shimadzu Prominence HPLC
Säule	TOSOH, TSKgel Amide-80 (250 mm L x 4,6 mm ID, 5 µm)
Vorsäule	TOSOH, TSKgel guardgel Amide-80 (15 mm L x 3,2 mm ID)
Mobile Phase	Natriumphosphatpuffer pH 6,7 ± 0,2 : Acetonitril 1:4 (v:v)
Flussrate	1,0 ml/min
Säulentemperatur	40° C
Injektionsvolumen	10 µl
Detektion	UV-Vis Detektion mit SPD-20A bei 214 nm

Tab. 1: Analytische Trennbedingungen

2,5 mg/kg Melamin in Lebensmitteln und Tiernahrung und von 1 mg/kg für Kindernahrung, wie Milchpulver. Zusätzlich zur akut nierenschädigenden Wirkung nimmt die Internationale Agentur für Krebsforschung seit 2017 eine potenziell krebserregende Wirkung von Melamin an. Das macht Kontrollen und die Einhaltung dieser Grenzwerte umso wichtiger für den Schutz von Verbrauchern.

Melamin in pflanzlichen Lebensmitteln

Doch nicht nur durch das aktive Zugeben von Melamin zu Lebensmitteln, um diese zu stre-

cken, kann die Substanz Eintrag in die Nahrungsmittelkette finden. Das CVUA Stuttgart (Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt) fand in einer Untersuchung zwischen 2013 bis 2016 in 12% der insgesamt 6.100 untersuchten Proben pflanzlicher Lebensmittel Rückstände von Melamin [3]. Die höchste Belastung wies man vor allem in Gemüse, Kartoffeln und Pilzen nach. Trauriger Spitzenreiter blieb eine Kartoffelprobe aus Deutschland mit einem Melamingehalt von 17 mg/kg, was einer fast 7-fachen Überschreitung des Grenzwerts entspricht.

Als potenzielle Melaminquellen stellten sich dabei Düngemittel und Gießwasser her-

aus. Besonders Kalkstickstoff und Cyanamid-Dünger weisen teilweise hohe Anteile an Melamin und verwandten Substanzen auf. Alternativ zu der vom CVUA Stuttgart eingesetzten LCMS-Methode wird hier der Nachweis mittels HPLC gezeigt.

Analyse

Die aromatische Struktur von Melamin und verwandten Substanzen (Abb. 1) macht diese zugänglich für eine Analyse mit HPLC mit UV-Detektion. Zunächst wurde dafür ein Standardgemisch aus Melamin, Cyanursäure, Ammelid und Ammelin, mit den in Tabelle 1 angegebenen analytischen Bedingungen analysiert. Die vier Verbindungen konnten dabei erfolgreich innerhalb von 12 Minuten getrennt werden. Das Chromatogramm der Trennung ist im Aufmacherbild des Artikels dargestellt.

Die anschließende Kalibrierung wurde im Bereich von 0,05 mg/L bis 5 mg/L durchgeführt und lieferte für alle vier Analyten eine sehr gute Linearität mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 > 0,9999$. Auch die relative Standardabweichung der Peakflächen einer Sechsfachmessung des Kalibrationspunkts bei 0,1 mg/L konnte mit RSD-Werten von kleiner 0,56% bestimmt werden.

Melamingehalt in Düngemittelproben

Die entwickelte chromatographische Methode wurde anschließend auf verschiedene Proben von Düngemitteln übertragen. Dazu wurden die Proben anhand



Woher kamen das Melamin?:
<http://bit.ly/GIT-Mel>



Chemgappedia-Lerneinheit zu
Melamin: <http://bit.ly/Chem-Mel>

[1]

Referenzen unter:
<http://bit.ly/GIT-Spinner>

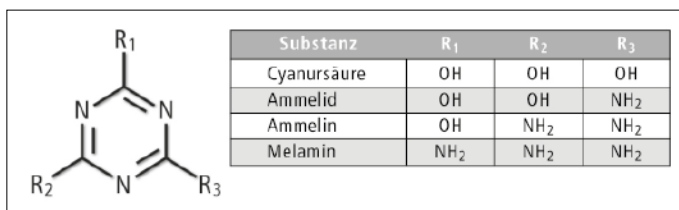


Abb. 1: Strukturformel von Melamin und verwandten Verbindungen

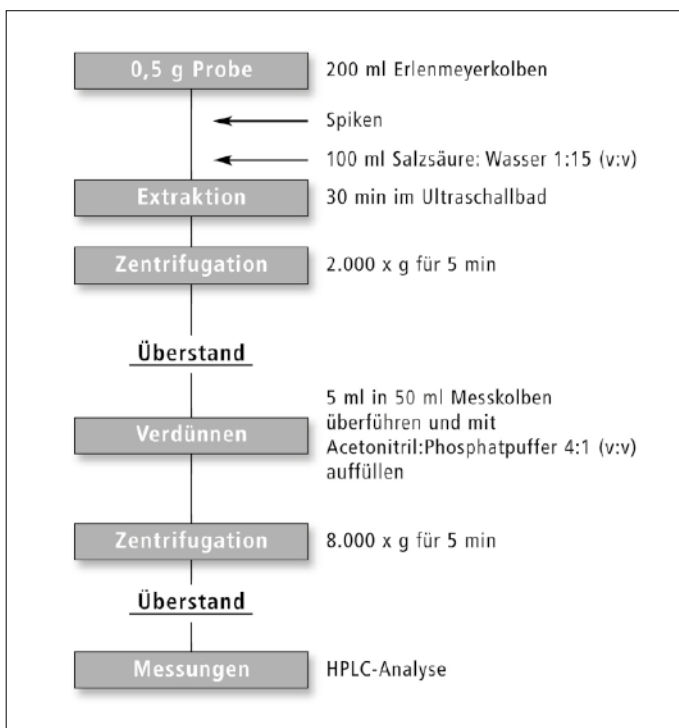


Abb. 2: Schematische Probenvorbereitung

der in Abbildung 2 angegebenen Probenvorbereitungsschritte aufbereitet, bevor die HPLC-Analyse durchgeführt wurde. Den Düngemittelproben wurden zusätzlich Standards zugegeben. Ein beispielhaftes Chromatogramm der Trennung der Realproben ist in Abbildung 4 dargestellt.

Alle vier Analyten konnten auch direkt aus der Matrix ausreichend für eine Quantifizierung getrennt werden. Die Nachweisgrenzen lagen im Bereich von 0,35 mg/kg. Somit ist die Methode geeignet, um Düngemittel auf ihren Melamingehalt zu überprüfen und auf diese Art eine mögliche Einbringung von Melamin zu verhindern.

belastet sein, sondern auch in pflanzlichen Lebensmitteln sind immer häufiger Belastungen nachzuweisen. Um bereits den Eintrag von Melamin in Böden und damit in zum Verzehr vorgesehene Pflanzen zu verringern, kann das Düngemittel mittels HPLC mit UV-Detektion auf den Melamingehalt getestet werden. Die gezeigte Methode bietet eine sichere und reproduzierbare Analyse von Melamin und verwandten Substanzen in Düngemitteln bis in den ng/kg-Bereich.

Fazit

Nicht nur tierische Produkte, wie Milchpulver oder Weizen-gluten, können mit Melamin

KONTAKT |

Dr. Isabelle Spenner
Produktspezialistin HPLC
Shimadzu Deutschland GmbH
Duisburg, Deutschland