

Nachweis von 2,4,6-Triamino-1,3,5-triazin (Melamin) in Kartoffelproteinen = Determination of 2,4,6-Triamino-1,3,5-triazine (Melamine) in potatoe proteins

Autor(en): **Bisaz, R. / Kummer, A.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und
Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **74 (1983)**

Heft 1

PDF erstellt am: **09.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983000>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Nachweis von 2,4,6-Triamino-1,3,5-triazin (Melamin) in Kartoffelproteinen

Determination of 2,4,6-Triamino-1,3,5-triazine (Melamine) in Potatoe Proteins

R. Bisaz und *A. Kummer*
Eidg. Oberzolldirektion, Bern

Einleitung

Der Wert eines Futtermittels ist meistens durch dessen Proteingehalt gegeben. Dieser wird üblicherweise durch Ermittlung des Stickstoffgehaltes nach Kjeldahl, multipliziert mit 6,25*, bestimmt. Durch diese Methode werden aber auch alle NPN-Stoffe (NPN = nichtproteinischer Stickstoff) miterfaßt, deren Stickstoff unter Kjeldahlbedingung in die Ammoniakform übergeführt werden kann, wie einige in Tabelle 1 angegebene Beispiele zeigen.

Tabelle 1. Bekannte Verfälschungsmittel

	Summenformel	Stickstoffgehalt %	Vorgetäuschter «Protein»-Gehalt (N x 6,25) %
Harnstoff	$\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$	46,7	291,7
Biuret	$\text{C}_2\text{H}_5\text{N}_3\text{O}_2$	40,7	254,4
Triuret	$\text{C}_3\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_3$	38,3	239,5
Cyanursäure	$\text{C}_3\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_3$	32,5	203,4

Die Erfassung solcher Zusätze ist von Bedeutung, da diese Stoffe ernährungsphysiologisch minderwertig sind und durch ihre Anwesenheit zu hohe Proteingehalte vorgetäuscht werden. Neben den in Tabelle 1 erwähnten Verfälschungsmitteln wurde neuerdings auch Melamin in Fischmehlen angetroffen (1, 2). Melamin enthält 66,6% Stickstoff und täuscht somit bei der Proteinbestimmung nach Kjeldahl ($\text{N} \times 6,25$) 416% Protein vor. So bewirkt z. B. ein Zusatz von 1% Melamin eine Erhöhung des Rohproteingehaltes um 4,16%.

* Umrechnungsfaktor N → Protein

Zur Analytik von Melamin wurde von *Stokes* und *Schwartz* (3) eine gaschromatographische Bestimmungsmethode ausgearbeitet, die nach Derivatisierung der s-Triazine mit N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluor-acetamid die Bestimmung von Melamin im Nanogrammbereich gestattet. *Beilstein* et al. (4) bestimmten s-Triazine mit Hilfe der Hochdruckflüssigchromatographie unter Verwendung einer Reversed-phase-Kolonnen und Gradientenelution bei 2° C.

Nachfolgend wird eine Methode angegeben, mit welcher eine Verfälschung von Futtermitteln mit Melamin nachgewiesen werden kann und eine einfache HPLC-Bestimmungsmethode vorgestellt, die eine rasche quantitative Erfassung von Melamin in Kartoffelproteinen erlaubt.

Experimenteller Teil

Prinzip

Das Vorhandensein von NPN-Stoffen kann anhand der großen Differenz zwischen den Roheiweiß- und des Reineiweißgehaltes sowie des zu hohen Stickstoffgehaltes des Wasserextraktes bewiesen werden.

Zur Identifizierung des Melamins wurde der Trockenrückstand des Wasserextraktes sublimiert und das Sublimat umkristallisiert. Die Identifikation erfolgte mit Hilfe der Infrarotspektroskopie sowie der Elementaranalyse.

Zur quantitativen Bestimmung wurde das Melamin aus dem Untersuchungsmaterial mit 0,005 n Schwefelsäure herausgelöst und die Lösung mit Hochdruckflüssigkeitschromatographie analysiert. Die Detektion erfolgte mit einem UV-Detektor, die Auswertung mittels eines Integrators.

Ausführung der Bestimmungen

Bestimmung des Proteingehaltes des Wasserextraktes

Ca. 10 g Untersuchungsmaterial werden in einem 250-ml-Becherglas genau eingewogen, mit 70 ml Wasser versetzt, aufgekocht und heiß filtriert. Der Rückstand wird dreimal mit je 40 ml heißem Wasser gewaschen.

Das Filtrat wird in einem 200-ml-Meßkolben gesammelt und mit Wasser aufgefüllt. Davon werden 20 ml in einem Kjeldahlkolben abpipetiert, mit 10 ml konzentrierter Schwefelsäure und 3 g Katalysator versetzt, verascht und destilliert, wie es in der Methode 22B/11 des Schweizerischen Lebensmittelbuches beschrieben ist.

100 ml des Filtrates werden in Portionen à 20 ml in ein tariertes Sublimationsrohr am Rotationsverdampfer eingedampft, im Vakuumtrockenschrank bei 70 °C getrocknet und ausgewogen.

$$\text{Berechnung: Rohproteingehalt in \%} = \frac{4,3775 \cdot a \cdot f}{b}$$

- a = Verbrauch an 0,1 n HCl, in ml
 f = Faktor der 0,1 n HCl
 b = Trockenrückstand von 100 ml Wasserextrakt, in g.

Identifikation

Das Melamin wird aus dem getrockneten Wasserextrakt bei einer Ölbadtemperatur von 250 °C und bei einem Vakuum unter 1 Torr sublimiert. Das Sublimat wird mit möglichst wenig heißem Eisessig vom Kühler gewaschen. Das beim Abkühlen auskristallisierte Melamin wird abgenutscht, mit kaltem Eisessig gewaschen und während 12 Stunden im Vakuumtrockenschrank bei 100 °C getrocknet.

Die Identifikation erfolgte durch Aufnahme von IR-Spektren und Bestimmung des C-, H- und N-Gehaltes mittels Elementaranalyse.

Quantitative Bestimmung

Apparate

Pumpe:	Tracor 950
Einspritzventil:	Rheodyne 7125
Trennsäule:	Silica Gel Si 100; 5 μ m; 250 x 4,6 mm (Serva, D-6900 Heidelberg)
Detektor:	UV-LC, Pye Unicam
Integrator:	Perkin-Elmer, M 2

Elutionsmittel

0,005 n Schwefelsäure

Standardlösungen

Das käufliche Melamin (2,4,6-Triamino-1,3,5-triazin, Merck, Art. 808614) wird in 0,005 n Schwefelsäure gelöst. Stammlösungen: 2–10 mg/100 ml.

Arbeitsvorschrift

200 mg Untersuchungsmaterial werden in einem 100-ml-Meßkolben genau eingewogen; mit ca. 70 ml 0,005 n Schwefelsäure versetzt und 20 Minuten unter gelegentlichem Schütteln in einem Wasserbad bei 40 °C gehalten. Nach dem Auffüllen mit 0,005 n Schwefelsäure wird die Lösung filtriert und das Filtrat für die Einspritzung auf die HPLC-Säule verwendet.

Trennbedingungen

Durchflußgeschwindigkeit:	1,5 ml/min
Temperatur:	Raumtemperatur
UV-Detektor-Wellenlänge:	236 nm
Einspritzmenge:	20 μ l
Retentionszeit:	230 s

Berechnung

Die Berechnung erfolgt mit Hilfe eines externen Standards.

$$\text{Melamingehalt in \%} = \frac{A_p \cdot C_s}{A_s \cdot E} \cdot 100$$

wobei A_p = Meßwert der Probelösung (Peakfläche)

A_s = Meßwert der Standardlösung

C_s = Konzentration der Standardlösung in mg/100 ml

E = Einwaage in mg

Bemerkungen

Abbildung 1 zeigt das Chromatogramm eines mit Melamin verfälschten Kartoffelproteins. Die Chromatogramme von unverfälschten Kartoffelproteinen weisen keine Signale auf.

Mit der vorgestellten Analysenmethode, aber mit einer Detektion bei 200 nm, kann Melamin von Cyanursäure, welche ebenfalls ein mögliches Verfälschungsmittel darstellt (vgl. Tabelle 1) getrennt werden (vgl. Abbildung 2).

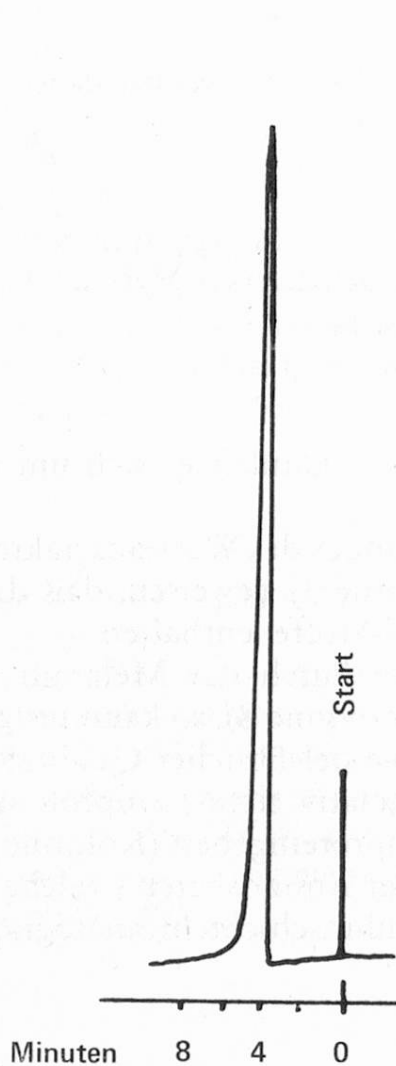


Abb. 1. Chromatogramm eines mit Melamin verfälschten Kartoffelproteins

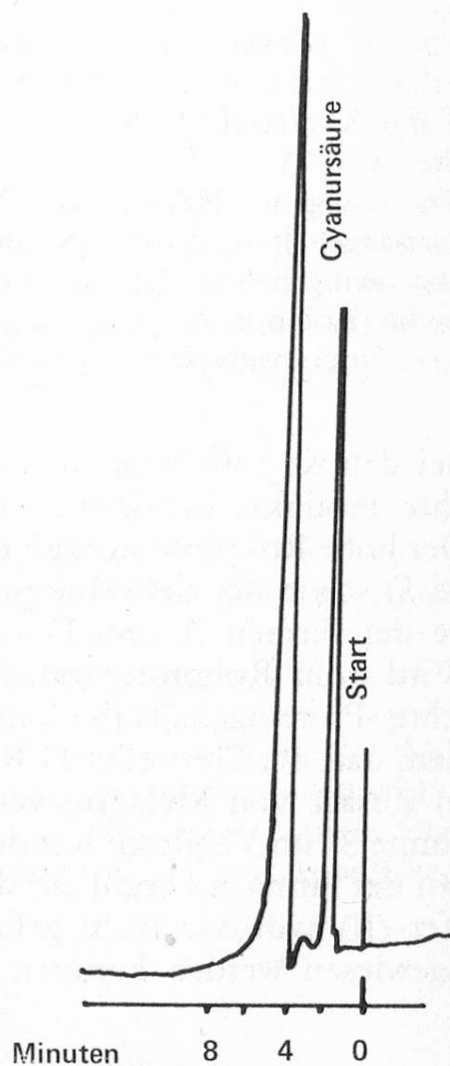


Abb. 2. Trennung von Melamin und Cyanursäure

Resultate

Tabelle 2. Analysenresultate von Kartoffelproteinen

1	2	3	4	5	6	7	8
Her- steller	Rohprotein in der TS* (N x 6,25) ¹ %	Reineiweiß in der TS* (N x 6,25) ² %	Trocken- rückstand des Wasser- extraktes ³ %	Rohprotein des Trocken- rückstandes des Wasser- extraktes ³ %	Melamin- gehalt in der TS* ⁴ %	«Protein- gehalt» von Melamin vorge- täuscht ⁵ %	Effektiver Rohprotein- gehalt in der TS* ⁶ %
A	94,7	76,6	9,6	144,7	2,7	11,2	83,5
A	96,6	69,7	23,3	121,6	5,2	21,6	75,0
B	85,4	83,4	4,0	35,6	0	0	85,4
C	82,8	80,1	6,0	34,3	0	0	82,8
D	94,0	80,5	10,3	169,5	2,8	11,6	82,3
D	92,9	81,4	8,2	162,8	2,5	10,5	82,4

¹ Methode: Schweiz. Lebensmittelbuch, 22B/11

² Methode: Schweiz. Lebensmittelbuch, Band 1, 522 (1964). Es werden dabei nur die mit Kupfer-(II)-hydroxid fällbaren Proteine erfaßt.

³ siehe Seite 75

⁴ Bestimmung mit HPLC; siehe Seite 76

⁵ Melamingehalt in der TS (Kolonne 6) multipliziert mit 4,16 (vgl. auch Seite 74)

⁶ Rohproteingehalt in TS (Kolonne 2) minus «Proteingehalt» von Melamin vorge-
täuscht (Kolonne 7)

* TS = Trockensubstanz

Bei den Kartoffelproteinen der Firmen B und C handelt es sich um unverfälschte Produkte handelsüblicher Qualität.

Der hohe Rohproteingehalt des Trockenrückstandes des Wasserextraktes (Kolonne 5) sowie der tiefe Reinproteingehalt (Kolonne 3) beweisen, daß die Produkte der Firmen A und D wasserlösliche NPN-Stoffe enthalten.

Wird vom Rohproteingehalt (Kolonne 2) der durch das Melamin vorge-
täuschte «Proteingehalt» (Kolonne 7) abgezogen (Kolonne 8), so kann festgestellt werden, daß der Hersteller D Kartoffelproteine handelsüblicher Qualität durch einen Zusatz von Melamin verfälscht hat. Der relativ tiefe Reinproteingehalt (Kolonne 3) im Vergleich mit dem effektiven Rohproteingehalt (Kolonne 8) der Waren der Firma A beruht auf dem Vorliegen freier Aminosäuren (welche durch Kupfer-(II)-hydroxid nicht gefällt werden), die dünnschichtchromatographisch nachgewiesen werden konnten.

Dank

Herrn *D. Schöni* danken wir für seine Mitarbeit bei den praktischen Arbeiten.

Zusammenfassung

Es wird eine Methode zur Bestimmung von Melamin (Proteinverfälschungsmittel) in Kartoffelproteinen beschrieben. Das Melamin wird aus dem Untersuchungsmaterial mit heißem Wasser extrahiert. Der Wasserextrakt wird eingedampft und einer Sublimation unterworfen. Das sublimierte Melamin wird aus Eisessig umkristallisiert und kann durch IR-Diagramme, Bestimmung der C-, H- und N-Gehalte identifiziert werden. Die quantitative Bestimmung erfolgt mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie mit spektralphotometrischer Detektion eines schwach sauren, wässrigen Extraktes.

Résumé

Une méthode est décrite, permettant de déterminer la mélamine (additionnée afin de fausser l'analyse des protéines) dans des protéines de pommes de terre. La mélamine est extraite du produit à l'eau chaude. L'extrait aqueux est évaporé et le résidu soumis à sublimation. La mélamine sublimée est recristallisée dans l'acide acétique concentré et identifiée par spectroscopie IR ainsi que par l'analyse élémentaire (C, H, N). La détermination quantitative est faite par HPLC avec détection spectrophotométrique sur un extrait aqueux légèrement acide.

Summary

A method for determination of melamine (substance for falsification of proteins) in potatoe proteins is described. The melamine is extracted from the product with hot water. The water extract is evaporated and the residue sublimated. The sublimated melamine is recrystallised in conc. acetic acid and identified by means of IR-spectroscopy and ultimate analysis (C, H, N). The quantitative determination can be achieved by HPLC with spectrophotometrical detection of a slightly acidic water extract.

Literatur

1. *Cattaneo, P. e Cantoni, C.*: Presenza di melamina in farina di pesce. *Tecnica molitoria* 17–18 (1982).
2. *Cattaneo, P. e Cantoni, C.*: Determinazione della melamina aggiunta alle farine di origine animale. *Technica molitoria* 371–374 (1979).
3. *Stoks, P. G. and Schwartz, A. W.*: Determination of s-triazine derivatives at the nanogram level by gas-liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **168**, 455–460 (1979).
4. *Beilstein, P., Cook, A. M. and Hütter, R.*: Determination of seventeen s-triazine herbicides and derivatives by high-pressure liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* **29**, 1132–1135 (1981).

Dr. R. Bisaz
Dr. A. Kummer
Eidg. Oberzolldirektion
Monbijoustraße 40
CH-3003 Bern