เมลามีน

คณิศร์รวี เตชะเอื้อย[1,]*
[1]ภาควิชาเทคนิคการสัตวแพทย์ คณะเทคนิคการสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900
**E-mail: cvtkwt@ku.ac.th*

บทคัดย่อ

เมลามีนเป็นสารเคมีที่มีไนโตรเจนสูง โครงสร้างคล้ายคลึงกับสารที่มีโปรตีน ทำให้มีการผสมเมลามีนลงไปในอาหารที่มีองค์ประกอบของโปรตีนเพื่อลดต้นทุนการผลิต เมื่อวิเคราะห์ค่าโปรตีนออกมาจะได้ผลเป็นค่าโปรตีนเสมือนจริง จึงเรียกสารเมลามีนว่าไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (Non-protein nitrogen - NPN) ซึ่งเมลามีนจัดเป็นสารปนเปื้อนที่ก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพที่ร้ายแรงในมนุษย์และสัตว์เลี้ยง จึงมีการศึกษาและพัฒนาการวิเคราะห์และพัฒนาวิธีวิเคราะห์สารตกค้างเมลามีนทั้งในอาหารคนและอาหารสัตว์อย่างแพร่หลาย โดยปัจจุบันการวิเคราะห์ผ่านเทคนิค HPLC-MS/MS เป็นหนึ่งในวิธีที่นิยมมากที่สุด บทความนี้จึงรวบรวมงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการวิเคราะห์เมลามีนต่อไป

คำสำคัญ : เมลามีน ปนเปื้อนอาหารสัตว์ วิธีวิเคราะห์ HPLC-MS/MS

Melamine

Kanidrawee Techauay[1,*]

[1]*Department of Vetterinary, Faculty of Veterinary Technology, Kasetsart University, Bangkhen, Bangkok 10900*

**E-mail: cvtkwt@ku.ac.th*

Abstract

Melamine is a chemical substance that has high nitrogen content and the structure similar to protein. This chemical is prohibit for the feed and food production. However, melanine was added to the raw materials, pet food and milk for increasing the protein content and to reduce production costs as Non-Protein Nitrogen. Therefore, Melamine is classified as a contaminant that causes health problems in humans and pets. The method for analysis of this contaminant on both of human and animal feed was study and development of analysis and development. Currently, HPLC/MS/MS or LC tandem is a most popular technique for detection of melamine and its analog. The toxicity, detection method was summarized.

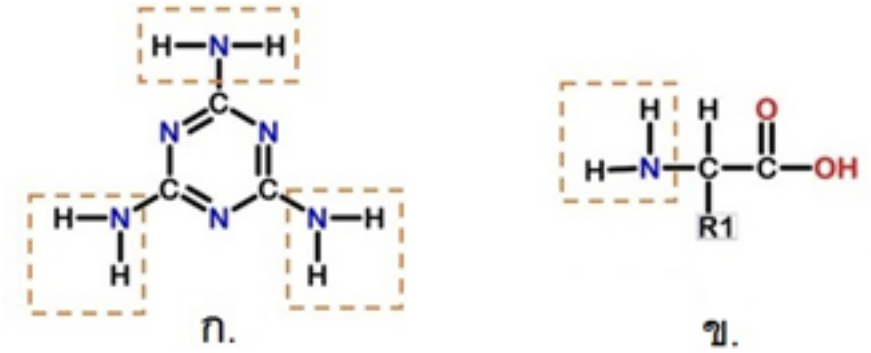
Keywords : melamine, contamination in animal feed, HPLC-MS/MS

บทนำ

จากเหตุการณ์การลักลอบเติมเมลามีนลงในอาหาร นม และอาหารสัตว์เมื่อปี 2007 ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเมลามีนในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว จึงตะหนักถึงอันตรายของสารเมลามีน เนื่องจากเมลามีนเป็นสารที่ใช้ในอุตสาหกรรมพลาสติก กาว ไม่ได้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตอาหาร หากปนเปื้อนในอาหารเมลามีนจะถูกดูดซึมเข้าร่างกายได้ง่าย เนื่องจากสารโมเลกุลขนาดเล็ก และสามารถทำให้เกิดโรคนิ่วได้ เนื่องจากร่างกายขับเมลามีนออกทางปัสสาวะ หากได้รับเมลามีนปริมาณมากจะเกิดเป็นผลึกเชิงซ้อนของสารเมลามีนในไต โดยปัจจุบันสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ได้กำหนดค่า TDI (tolerable dailyintake) ของเมลามีนสำหรับมนุษย์และสัตว์ ในระดับ 30 mg/kg body weight โดยครอบคลุมถึงอนุพันธ์ของเมลามีน ได้แก่ กรดซัยยานูริค (cyanuric acid) แอมมีไลด์ (ammeline) และ แอมมีลีน (ammelide) กล่าวคือ หากมนุษย์หรือสัตว์ น้ำหนัก 30 กิโลกรัม สามารถรับส่วนผสมของสารเมลามีนเข้าร่างกายได้ไม่เกิน วันละ 18.9 มิลลิกรัม อาหารสัตว์เป็นสิ่งที่ส่งผลกระทบโดยตรงกับสุขภาพสัตว์ให้มีผลผลิตที่มีคุณภาพ หากมีการปนเปื้อนของเมลามีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ เกิดการสะสมในร่างกายของสัตว์ และปนเปื้อนมาในเนื้อสัตว์ น้ำนม ไข่ ตลอดจนผลิตภัณฑ์สัตว์ต่างๆ เป็นสาเหตุให้เกิดโรคแก่ผู้บริโภค มีผลต่อเนื่องถึงสุขภาพของมนุษย์ ยิ่งกว่านั้นยังมีผลกระทบต่อเศรษฐกิจของประเทศในอุตสาหกรรมผลิตอาหารสัตว์ ในการส่งออกสินค้าปศุสัตว์อีกด้วย

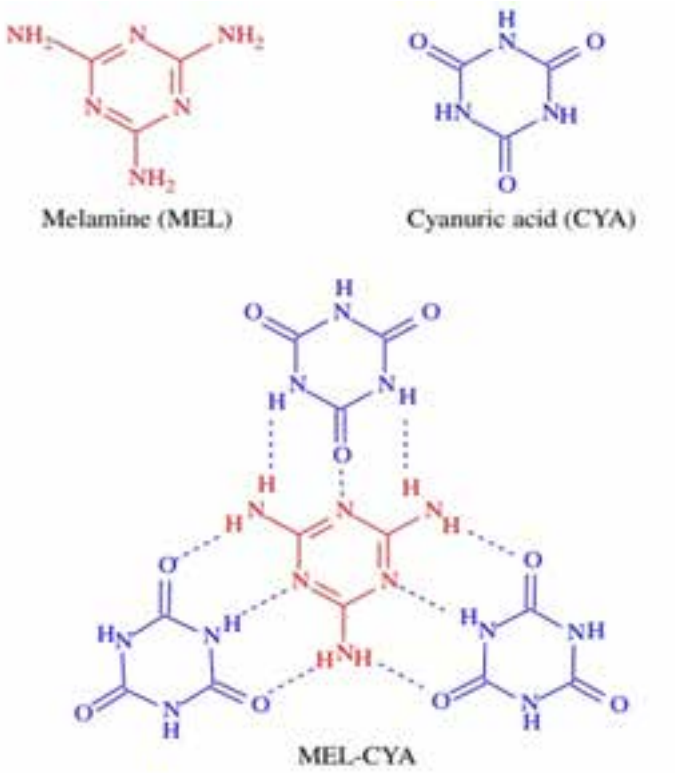
เมลามีนมีสูตรทางเคมี C3H6N6 มีมวลโมกุลเท่ากับ 126.12 กรัมต่อโมล ลักษณะทางกายภาพเป็นของแข็งสีขาว (รูปที่1) ความหนาแน่น 1574 kgm^{-3} จุดหลอมเหลว 350 °C ความสามารถละลายน้ำ 3.1กรัมต่อลิตรที่อุณหภูมิ 20 °C โดย 66% เป็นไนโตรเจนเนื่องจากมีปริมาณไนโตรเจนในปริมาณสูงมากทำให้เมลามีนจัดเป็นไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (Non-protein nitrogen - NPN) และมีการนำเมลามีนไปผสมในอาหารเนื่องจากเมลามีนมีโครงสร้างส่วนที่คล้ายกับกรดอะมิโนซึ่งเป็นหน่วยย่อยที่เล็กที่สุดของโปรตีน (รูปที่ 2 ก-ข) เพื่อให้อาหารมีค่าโปรตีนที่สูงขึ้นตามมาตรฐานของอาหารแต่ละชนิดกำหนด และลดต้นทุนการผลิตจากโปรตีนจริง เช่น เนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ การตรวจวัดทางห้องปฏิบัติการโดยวิธีเจลดาห์ล (Kjeldahl method) (1987; Dintzis *et al.*, 1988) และการทดสอบของ Dumas (Thompson et al., 2002) ไม่สามารถแยกไนโตรเจนจากกรดอะมิโนหรืออนุพันธ์ของไนโตรเจนอื่นๆได้ จึงทำให้พบค่าเปอร์เซ็นต์ของโปรตีนสูงเนื่องจากการเติมเมลามีน

รูปที่ 1 ลักษณะของผงเมลามีน



รูปที่ 2 (ก) โครงสร้างเมลามีน (ข) โครงสร้างกรดอะมิโน

การศึกษาทางพิษวิทยาของเมลามีนเพียงชนิดเดียวไม่ก่อให้เกิดอันตรายแต่เมื่อรวมตัวกับกรดซัยยานูริค ซึ่งเป็นสารเชื่อมขวางที่เกิดพันธะไฮโดรเจนทำให้เกิดเป็นผลึกเมลามีนซัยยานูเรต (melamine cyanurate, MEL-CYA) (รูปที่3) (Fengxia Sun et al., 2010) ซึ่งไม่ละลายน้ำสะสมอุดตันเกิดเป็นนิ่วในไตทำให้ไตวายหรือเป็นมะเร็งในกระเพาะปัสสาวะ เนื่องจากผลึกเมลามีนซัยยานูเรต ไปอุดตันที่ท่อปัสสาวะและเกิดการระคายเคืองในกระเพาะปัสสาวะ



รูปที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของผลึกเมลามีนและกรดซัยยานูริกเกิดเป็นผลึกเมลามีนไซยานูเรต (Fengxia Sun et al., 2010)

สถานการณ์การปนเปื้อนของเมลามีน

กลูเตนข้าวสาลี (Wheat gluten) เป็นแหล่งอาหารสำคัญของสัตว์เลี้ยงและเป็นวัตถุดิบหลักในอาหารสัตว์ พบการปนเปื้อนของเมลามีนและสารประกอบที่เกี่ยวข้อง เช่น ซัยยานูริค แอมมีไลด์ และแอมมีลีน ทำให้สัตว์เลี้ยงเจ็บป่วยและตายเป็นจำนวนมาก ซึ่งเกิดจากการสะสมผลึกซัยยานูเรต ที่ไตของสัตว์เหล่านี้ (Puschner

et al, 2007 ; USFD 2007) ทำให้ประเทศต่างๆเริ่มให้ความสนใจเกี่ยวกับการปนเปื้อนของเมลามีนในอาหาร ต่อมาไม่นาน ในปี 2007 ผู้ผลิตอาหารสัตว์เลี้ยงแจ้งเตือน USFDA ถึงการเสียชีวิตของสัตว์เป็นจำนวนมาก โดยพบภาวะไตวายในสุนัขและแมวซึ่งอาจจะเกี่ยวข้องกับการปนเปื้อนในอาหารของสัตว์เลี้ยง ทำให้มีการเรียกเก็บผลิตภัณฑ์คืนเป็นจำนวนมาก (Cianciolo et al., 2008) จากการตรวจสอบพบเมลามีนและสารประกอบ Triazine ในอาหารสัตว์ (Nestle & Neshem 2007 ; Kim, Parkins & Bushway, 2008) การตรวจสอบเพิ่มเติมของ USFDA ระบุว่าแป้งสาลีและโปรตีนที่นำเข้าจากประเทศจีนถูกนำไปเป็นส่วนผสมของอาหารเลี้ยงสัตว์ที่ปนเปื้อนเมลามีนในอเมริกาเหนือ (Brown 2007 ; Burns 2007c ; Tefera & Ho 2007 ; Jama 2007) โดยที่เมลามีนจะถูกเติมเข้าไปในข้าวสาลีเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนทำให้แป้งมีปริมาณโปรตีนที่สูงขึ้น เช่น กลูเตนข้าวสาลี (Wheat gluten) (Brown 2007) มีซัยยานูริค แอมมีไลด์ และ แอมมีลีนเป็นสิ่งปนเปื้อนของเมลามีน ซึ่งอาจจะเกิดได้ในระหว่างการผลิตหรือกระบวนการย่อยเมลามีน (AJVR 2007 ; Burns 2007 ; Puschner et al, 2007 ; Cianciolo et al., 2008) และในปี 2008 พบเมลามีนในระดับสูงในอาหารเหลวของเด็กทารก และนมผงที่นำเข้าจากประเทศจีน ซึ่งนำไปสู่ผลกระทบทางสุขภาพและการเจ็บป่วยที่รุนแรงในทารกและเด็กเล็ก (EFSA 2008 ; WHO, 2008a, 2008b) ในปี 2007 กระทรวงสาธารณสุขของประเทศจีนประกาศว่าทารกและเด็กเล็ก 294,000 คนได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นนิ่วในไต (urolithiasis) เนื่องจากมีการปนเปื้อนของเมลามีนในผลิตภัณฑ์นม (Chu *et al.*,2010) จากสถานการณ์ที่กล่าวมา จึงมีงานวิจัยจำนวนมากเพื่อพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ ในตรวจหาปริมาณเมลามีนในผลิตภัณฑ์อาหาร (Sun et al., 2010) โดยมุ่งเน้นเภสัชจลนศาสตร์ของเมลามีนในหมู แพะ (Baynes *et al.*, 2008, 2010) และหนู (Chu et al.,2010) หรือการก่อตัวเป็นผลึกในไตแมว (Puschner et al., 2007) และพบว่ากรดซัยยานูริคเพียงอย่างเดียว มีความเป็นพิษต่ำเช่นเดียวกับเมลามีน โดยทดลองกับแมวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมกรดซัยยานูริค1% และอาหารที่มีเมลามีน 1% ไม่พบความผิดปกติใดๆ แต่เมื่อให้อาหารที่มีทั้งเมลามีนและกรดซัยยานูริค 2% เกิดภาวะไตวายใน 48 ชั่วโมง (Gao J. et al., 2010) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Jipeng Xue และคณะ ทดลองให้อาหารเพื่อตรวจสอบผลของเมลามีนที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และสีผิวของปลาดุก Darkbarble โดยกำหนดการให้อาหารเป็น 0.2, 0.5 และ 1% ของเมลามีนแก่ปลาดุกรุ่น น้ำหนัก 14.30 ± 0.10 g เป็นเวลา 8 สัปดาห์ และให้อาหารปลาดุก Darkbarble ด้วยอาหารที่ไม่มีเมลามีนเป็นตัวควบคุม(control) ผลการทดลองพบว่าการเจริญเติบโตของปลาดุก Darkbarble ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เสริมด้วยเมลามีนต่ำกว่าปลาดุกที่เลี้ยงด้วยอาหารไม่มีเมลามีน ปริมาณเมลานินที่ผิวหนังลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณเมลามีนในอาหารหรือความสว่างของผิวหนังเพิ่มขึ้นเมื่อให้อาหาร0.5 และ 1% ของเมลามีน อย่างไรก็ตามฤทธิ์ของเอนไซม์ไทโรซิเนสของผิวหนังไม่ได้รับผลกระทบจากเมลามีนอย่างมีนัยสำคัญ ผลลัพธ์เหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าอาหารเสริมเมลามีน สามารถลดปริมาณเมลานินของปลาดุก Darkbarble ที่ผิวหนังไม่ได้รับผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญ (Jipeng Xue ; 2011)

เมลามีนกับการวิเคราะห์ปริมาณ

เมลามีนมีโอกาสปนเปื้อนได้จากการสัมผัสกระบวนการผลิตที่มีเมลามีนเป็นองค์ประกอบ หรือปนเปื้อนกับเครื่องจักรในกระบวนการผลิต โดยการวิเคราะห์สารเมลามีนมีด้วยกันหลายวิธี สำหรับประเทศไทยการตรวจสอบปริมาณไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน การเลือกใช้วิธีการตรวจเมลามีนและสารประกอบที่เกี่ยวข้องในอาหารคนและอาหารสัตว์ มีขั้นตอนและค่าที่ยอมรับได้แตกต่างกันดังแสดงตารางที่ 1 โดยเครื่องมือที่นิยมใช้อย่างแพร่หลาย ได้แก่ GC-MS HPLC HPLC-MS/MS หรือ LC-MS/MS เป็นต้น ซึ่งวิธี HPLC-MS/MS เป็นวิธีวิเคราะห์เชิงปริมาณที่สามารถทำงานได้รวดเร็ว และแยกสารตัวอย่างได้ครั้งละหลายชนิดด้วยเทคนิค

โครมาโตกราฟผ่านคอลัมน์สารที่เข้ากันดีกับเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ในเวลาที่ต่างกัน ส่วนสารที่ไม่เข้ากันดีกับเฟสเคลื่อนที่สารจะคงอยู่กับเฟสคงที่ (Stationary phase) แล้วออกมาทีหลัง สารที่ถูกแยกออกมาจะถูกตรวจจับได้ด้วยตัวตรวจวัดสัญญาณ (Detector) แล้วแปรผลเป็นพีคสัญญาน เรียกว่าโครมาโตแกรม (Chromatogram) โดยตัวทำละลาย Diethylamine, Acrylonitrile, Water มีประสิทธิภาพการละลายผลึกเมลามีนซัยยานูเรต (MEL-CYA) ที่ระดับความเข้มข้นสูงถึง 10 mg/10 ml (Filigenzi et al., 2008)

การพัฒนาชุดทดสอบเมลามีนเชิงพาณิชย์อย่างง่าย

การพัฒนาชุดทดสอบเมลามีนอย่างง่าย เพื่อให้ผู้บริโภคสามารถทดสอบหาเมลามีนได้เองด้วยตนเองด้วยวิธีที่รวดเร็วโดย ง่ายด้วยหลักการของ ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ชุดทดสอบ ELISAs เชิงพาณิชย์ในปัจจุบันมีหลากหลายบริษัท ยกตัวอย่างเช่น Abraxis® ใช้ตรวจสอบสารตกค้างเมลามีนในอาหารสุนัขทั้งแบบเปียกและแบบแห้ง Beacon Analytical Systems Inc.® ผลิตชุดทดสอบเมลามีนในอาหารสัตว์เลี้ยง นอกเหนือจากเทคนิคดังกล่าว Romer Labs ® ได้ผลิตชุดทดสอบเมลามีนเชิงพาณิชย์อาศัยหลักการการสกัดด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ปั่นเหวี่ยง และกรอง โดยตัวทำละลายที่นิยมใช้ ได้แก่ เมทานอล (Kim et al., 2008) บัฟเฟอร์ การเติมสารลดแรงตึงผิว หรือการเติมสารลดการรบกวนต่างๆลงไปในชุดทดสอบ (Garber, 2008) แต่อย่างไรก็ตามชุดทดสอบดังกล่าว สามารถทดสอบในเชิงคุณภาพเท่านั้น ไม่สามารถรายงานค่าในเชิงปริมาณเมลามีนที่ตกค้าง หรือสารประกอบอื่นๆที่เกี่ยวข้อง เช่น กรดซัยยานูริก (cyanuric acid) แอมมีไลด์ (ammeline) และ ammelide (แอมมีลีน) ได้

ตารางที่ 1 การเลือกใช้วิธีการตรวจเมลามีนและสารประกอบที่เกี่ยวข้องในอาหารคนและอาหารสัตว์

ตัวอย่าง	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)	วิธีวิเคราะห์	อ้างอิง
อาหารสัตว์	-	0.5	HPLC-MS/MS	Heller & Nochetto, 2008
อาหารสัตว์เลี้ยง	0.01-0.03	-	HPLC-MS/MS	Nochetto & Heller, 2008
อาหารสัตว์เลี้ยง	0.001	-	HPLC-MS/MS	Varelis & Jeskelis, 2008
อาหารสัตว์ อาหารสัตว์เลี้ยง	2.5-10	-	GC-MS	Litzau, Mercer & Mulligan, 2008
อาหารสัตว์	55-113	65-125	HPLC-DAD	Muniz-Valencia et al., 2008
ปลาดุก กุ้ง ปลาแซลมอน	0.0032	0.0047	HPLC-MS/MS	Andersen et al., 2008
กลูเตนข้าวสาลี นม	0.005-0.05	0.02-0.20	HPLC-MS/MS	University of Guelphet, 2008
ปลาดุก หมู ไก่	0.001-0.003	-	HPLC-MS/MS	Varelis et al., 2008
ปลาดุก กุ้ง ปลาแซลมอน	0.0035-0.0074	0.009-0.026	HPLC-MS/MS	Beacon, 2008
พืช	0.0025-0.01	0.05	HPLC-MS/MS	Sancho et al., 2005
เนื้อ ไก่	0.25	0.05-0.1	HPLC-UV	FSIS 1991

(ที่มา: Report of a WHO Expert Meeting In collaboration with FAO, 2009)

บทสรุป

การปนเปื้อนของเมลามีนมีได้หลายสาเหตุไม่ว่าจะเป็นทางการเกษตร ภาชนะพลาสติกเมลามีน และอาหารที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ ภายในร่างกายของมนุษย์สามารถขับเมลามีนออกได้ทางปัสสาวะแต่ไม่สามารถกำจัดได้ทั้งหมด เนื่องจากเมลามีนสามารถรวมตัวกับกรดซัยยานูริคเกิดเป็นนิ่วอุดตันก่อนจะถูกกำจัดออกมาจากร่างกายได้ ดังนั้นอาหารต่างๆควรได้รับการตรวจสอบการปนเปื้อนของเมลามีนก่อนจะนำออกไปสู่ผู้บริโภค การวิเคราะห์เมลามีนในอาหารจึงเป็นสิ่งจำเป็นที่จะต้องได้รับการศึกษาอย่างเร่งด่วน และการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้การตรวจมีผลแน่นอนแม่นยำ รวมถึงใช้เวลาการตรวจไม่นานจึงเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องการการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต เช่นการผลิตชุดทดสอบเมลามีนอย่างง่ายที่ราคาไม่แพงเหมาะแก่การนำไปตรวจสอบการปนเปื้อนของเมลามีนก่อนนำอาหารมาบริโภค รวมไปถึงการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการปนเปื้อนสารเมลามีนและสารประกอบอื่นๆที่เกี่ยวข้องโดยใช้ชุดทดสอบอย่างง่าย ควรมีการพัฒนาชุดทอดสอบให้สามารถวิเคราะห์สารทุกตัวที่เกี่ยวข้องกับการตกข้างของเมลามีน และแม่นยำ ได้ในอนาคต

ผลกระทบจากการปนเปื้อนในอาหารนั้นมนุษย์สามารถหาอาหารได้จากแหล่งต่างๆสารปนเปื้อนต่างๆสามารถเจือจางลดลงได้จากแหล่งอาหารที่หลากหลาย แต่ในขณะที่สัตว์เลี้ยงได้รับอาหารจากอาหารถุงหรืออาหารกระป๋องของสัตว์เลี้ยงเพียงแหล่งเดียว หากในอาหารของสัตว์ได้รับการปนเปื้อนของสารต่างๆก็จะทำให้เกิดปัญหาสุขภาพ และอารมณ์ของสัตว์เลี้ยง รวมไปถึงทำให้เจ้าของสัตว์เลี้ยงเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้นสำหรับอาการเจ็บป่วยหรือเสียชีวิตของสัตว์เลี้ยงอันเนื่องมาจากการปนเปื้อนในอาหารสัตว์ ดังนั้นอาหารสัตว์เลี้ยงควรได้รับการตรวจสอบการปนเปื้อน รวมถึงเจ้าของสัตว์เลี้ยงควรใส่ใจกับอาหารที่นำมาให้สัตว์เลี้ยงที่บ้าน เพื่อลดภาระของเจ้าของสัตว์เลี้ยงเองและเพื่อสุขภาพที่ดีของสัตว์เลี้ยงอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

AJVR. 2007. Research examines contaminants in food, deaths of pets. American Journal of Veterinary Research. 68(12): 1279.

Andersen WC, Turnipseed SB, Karbiwnyk CM et al. 2008. Determination and confirmation of melamine residues in catfish, trout, tilapia, salmon, and shrimp by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56(12): 4340–4347.

Bradley EL, Boughtflower V, Smith TL, Speck DR, Castle L. 2005. Survey of the migration of melamine and formaldehyde from melamine food contact articles available on the UK market. Food Additives and Contaminants. 22(6): 597–606.

Brown CA, Jeong KS, Poppenga RH, Puschner B, Miller DM, Ellis AE, Kang KI, Sum S, Cistola AM, Brown SA. 2007. Outbreaks of renal failure associated with melamine and cyanuric acid in dogs and catsin 2004 and 2007. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 19(5): 525–531.

Burns K. 2007a. Hogs, chickens, ate pet food containing adulterants. Journal of the American Veterinary Medical Association. 230(11): 1603.

Chou S-S, Hwang D-F, Lee H-F. 2003. High performance liquid chromatographic determination of cyromazine and its derivative melamine in poultry metas and eggs. Journal of Food and Drug Analysis. 11(4): 290–295.

Chan EYY, Griffiths SM, Chan CW. 2008. Public-health risks of melamine in milk products. The Lancet. 372: 1444–1445.

Cianciolo RE, Bischoff K, Ebel JG, Van Winkle TJ, Goldstein RE, Serfilippi LM. 2008. Clinicopathologic, histologic, and toxicologic findings in 70 cats inadvertently exposed to pet food contaminated with melamine and cyanuric acid. Journal of the American Veterinary Medical Association. 233(5): 729–737.

Ehling S, Tefera S, Ho IP. 2007. High-performance liquid chromatographic method for the simultaneous detection of the adulteration of cereal flours with melamine and related triazine by-products ammeline, ammelide, and cyanuric acid. Food Additives and Contaminants. 24(12): 1319–1325.

Fengxia Sun, Wei Ma, Liguang Xu, Yinyue Zhu, Liqiang Liu, Chifang Peng, Libing Wang, Hua Kuang, Chuanlai Xu. 2010. Analytical methods and recent developments in the detection of melamine. Trends in Analytical Chemistry. Vol. 29 No. 11.

Filigenzi MS, Tor ER, Poppenga RH, Aston LA, Puschner B. 2007. The determination of melamine in muscle tissue by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Rapid Communications in Mass Spectrometry. 21(24): 4027–4032.

Filigenzi MS, Puschner B, Aston LS, Poppenga RH. 2008. Diagnostic determination of melamine and related compounds in kidney tissue by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56(17): 7593–7599.

Garber EA. 2008. Detection of melamine using commercial enzyme-linked immunosorbent assay technology. Journal of Food Protection. 71(3): 590–594.

Gao J, Shen Y, Sun N et al. 2010. Therapeutic effects of potassium sodium, hydrogen citrate on melamine-induced urinary calculi in China. Chin Med. J;123:1112–6.

JAVMA. 2007. Melamine adulterates component of pellet feeds. Journal of the American Veterinary Medical Association. 231(1): 17.

Jipeng Xue, Qinghui Ai, Kangsen Mai, Wei Xu, Yinghao Yang, Zhiguo Liufu. 2011. Effects of melamine on growth performance and skin color of darkbarbel catfish (Pelteobagrus vachelli). Journal of Aquaculture. 320:142-146.

Karbiwnyk CM, Andersen WC, Turnipseed SB et al. 2009. Determination of cyanuric acid residues in catfish, trout, tilapia, salmon and shrimp by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Analytica Chimica Acta. 637(1–2): 101–111.

Kim B, Perkins LB, Bushway RJ, Nesbit S, Fan T, Sheridan R, Greene V. 2008. Determination of melamine in pet food by enzyme immunoassay, high-performance liquid chromatography with diode array detection, and ultra-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. Journal of AOAC International. 91(2): 408–414.

Lin M He L, Awika J, Yang L, Ledoux DR, Li H, Mustapha A. 2008. Detection of melamine in gluten, chicken feed, and processed foods using surface enhanced Raman spectroscopy and HPLC. Journal of Food Science. 73(8): T129–T134.

Muniz-Valencia R et al. 2008. Method development and validation for melamine and its derivatives in rice concentrates by liquid chromatography. Application to animal feed samples. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 392(3): 523–531.

Puschner B, Poppenga RH, Lowenstine LJ, Filigenzi MS, Pesavento PA. 2007. Assessment of melamine and cyanuric acid toxicity in cats. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 19(6): 616–624.

University of Guelph. 2008. Determination of residues of melamine and cyanuric acid in animal food by LCMS/MS. Guelph, Ontario, University of Guelph, Laboratory Services Division, pp. 1–31 (TOXI-062).

WHO. 2009. Background Paper on Occurrence of Melamine in Foods and Feed. Geneva, World Health Organization.1-44.

WHO. 2009. Background Paper on Methods for the Analysis of Melamine and Related Compounds in Foods and Animal Feeds Geneva, World HealthOrganization.1-16.