



中华人民共和国国家标准

GB ××××—××××

食品安全国家标准 乳品中糠氨酸的测定

(征求意见稿)

食品安全国家标准
征求意见稿

××××-××-××发布

××××-××-××实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局

发布

食品安全国家标准

乳品中糠氨酸的测定

1 范围

本标准规定了乳及乳制品中糠氨酸含量测定的高效液相色谱方法。

本标准适用于生乳、巴氏杀菌乳、高温杀菌乳、灭菌乳、调制乳、乳粉、婴幼儿配方乳粉中糠氨酸的测定。

2 原理

试样经盐酸水解后，液相色谱分离，紫外检测器检测，外标法定量。同时测定水解液蛋白质含量，以每100克蛋白质中糠氨酸的含量表示。

3 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

3.1 试剂和材料

3.1.1 盐酸（HCl）：浓度 $\geq 36\%$ 。

3.1.2 三氟乙酸（ $C_2HF_3O_2$ ）：色谱纯。

3.1.3 乙腈（ C_2H_5N ）：色谱纯。

3.1.4 水相微孔滤膜：0.22 μm 。

3.2 试剂配制

3.2.1 盐酸溶液（10.6 mol/L）：在12 mL水中加入88 mL盐酸，混匀。

3.2.2 盐酸溶液（3 mol/L）：在7.5 mL水中加入2.5 mL盐酸，混匀。

3.2.3 盐酸溶液（0.1 mol/L）：在29 mL水中加入1 mL盐酸溶液（3 mol/L），混匀。

3.2.4 三氟乙酸溶液（0.1%）：在1 L水中加入1 mL三氟乙酸，混匀。

3.3 标准品

糠氨酸标准品（ $C_{12}H_{17}N_2O_4$ ，CAS号：19746-33-9； $C_{12}H_{17}N_2O_4 \cdot 2HCl$ ，CAS号：157974-36-2）：色谱纯度 $\geq 98\%$ ，纯含量 $\geq 65\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 糠氨酸标准储备液（500.0 mg/L）：将糠氨酸标准品按标准品证书提供的纯糠氨酸系数换算后，用3 mol/L盐酸溶液配制成标准储备溶液。于-20 °C以下保存，保存期24个月。

注：糠氨酸标准品证书上标注纯糠氨酸系数为69.1%（不再重复折算盐酸盐纯度），则称取7.24 mg糠氨酸标准品，用3 mol/L盐酸溶液溶解并定容至10 mL，标准储备溶液的浓度为500.0 mg/L。

3.4.2 糠氨酸标准中间液（50.0 mg/L）：吸取糠氨酸标准储备液（500.0 mg/L）1 mL于10 mL容量瓶中，加3 mol/L盐酸溶液定容至刻度，混匀。于-20 °C以下保存，保存期12个月。

3.4.3 糠氨酸标准系列工作液：分别吸取糠氨酸标准中间液（50.0 mg/L）10.0 μL、25.0 μL、50.0 μL、100.0 μL、200.0 μL、500.0 μL和1000.0 μL于10 mL容量瓶中，加盐酸溶液（0.1mol/L）定容至刻度，混匀。糠氨酸标准系列工作液的浓度分别为0.05 mg/L、0.10 mg/L、0.25 mg/L、0.5 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L和5.0 mg/L。临用现配。

4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱仪：带紫外检测器。

4.2 干燥箱：110 °C±2 °C。

4.3 天平：感量为0.01 mg，0.01 g。

4.4 涡旋混合仪。

4.5 水解管：耐压螺盖玻璃试管或安瓿瓶，容积为20 mL~30 mL。

5 分析步骤

5.1 试样制备

液态试样摇匀，待测；粉状试样，准确称取5 g（精确至0.01 g），用40 °C~50 °C的水溶解并定容至50 mL，待测。

5.2 试样水解液的制备

吸取 2.00 mL 试样，置于水解管中，加入 6.00 mL 10.6 mol/L 盐酸溶液，密闭试管，涡旋混匀。置于干燥箱，在 110 °C 下加热水解不少于 12 h。加热结束后，将试管从干燥箱中取出，冷却后用滤纸过滤，滤液供测定。

5.3 试样水解液中蛋白质含量的测定

移取2.00 mL试样水解液，按GB 5009.5第一法测定试样水解液中蛋白质含量。

5.4 试样水解液中糠氨酸含量的测定

移取1.00 mL试样水解液，用水稀释。生乳和巴氏杀菌乳试样水解液可稀释3倍，高温杀菌乳试样水解液可稀释5倍。灭菌乳、调制乳、乳粉和婴幼儿配方粉试样水解液可稀释10~25倍。过0.22 μm水相微孔滤膜，滤液供上机测定。取1.00 mL 3 mol/L盐酸溶液，与试样水解液做同样稀释，作为空白溶液。

5.5 仪器参考条件

色谱柱：C₁₈色谱柱（柱长250 mm，柱内径4.6 mm，填料粒径5 μm），或性能相当者。

柱温：32 °C。

检测波长：280 nm。

流动相：流动相A为三氟乙酸溶液（0.1 %），流动相B为乙腈。

进样量：10 μL。

洗脱梯度：见表1。

表1 洗脱梯度

序号	时间 min	流速 mL/min	流动相A %	流动相B %
1	0.0	1.0	100.0	0.0
2	7.0	1.0	100.0	0.0
3	10.0	1.0	70.0	30.0
4	20.0	1.0	10.0	90.0
5	25.0	1.0	100.0	0.0
6	30.0	1.0	100.0	0.0

5.6 标准曲线的制作

将标准系列工作液分别注入液相色谱仪中，测定相应的糠氨酸峰面积，以标准系列工作液中糠氨酸的浓度为横坐标，以糠氨酸的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。糠氨酸标准溶液的色谱图参见附录A图A.1。

5.7 试样溶液的测定

将试样溶液及空白溶液注入液相色谱仪中，得到糠氨酸的峰面积，根据标准曲线得到待测液中糠氨酸的浓度。

6 分析结果的表述

6.1 试样水解液中蛋白质含量

试样水解液中蛋白质的含量按公式（1）计算：

$$X_p = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 0.014 \times 1000}{V} \times F \dots \dots \dots (1)$$

式中：

X_p ——试样水解液中蛋白质的含量，单位为克每升（g/L）；

V ——水解液体积，单位为毫升（mL）；

V_1 ——水解液消耗盐酸或硫酸标准滴定液的体积，单位为毫升（mL）；

V_2 ——试剂空白消耗盐酸或硫酸标准滴定液的体积，单位为毫升（mL）；

c ——盐酸或硫酸标准滴定溶液浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；

0.014 ——1 mL盐酸[c(HCl)=1.000 mol/L]或硫酸 [$c(\frac{1}{2}\text{H}_2\text{SO}_4)$]=1.000 mol/L] 标准滴定溶液

相当的以克表示的氮的质量；

1000 ——换算系数；

F ——氮换算为蛋白质的系数，纯乳与纯乳制品为6.38，调制乳与配方乳粉为6.25。

计算结果保留三位有效数字。

6.2 试样中糠氨酸含量

试样中糠氨酸的含量按公式（2）计算：

$$X_f = \frac{(C_t - C_0) \times D \times 100}{X_p} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

X_f ——试样中糠氨酸含量，单位为毫克每百克蛋白质（mg/100 g蛋白质）；

C_t ——标准曲线上查得的试样溶液中糠氨酸的浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

C_0 ——标准曲线上查得的空白溶液中糠氨酸的浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

D ——测定时稀释倍数；

X_p ——水解液中蛋白质的含量，单位为克每升（g/L）；

100 ——转换为每100g蛋白质中糠氨酸含量的系数。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示。

当糠氨酸含量 ≥ 10 mg/100g 蛋白质时，计算结果保留三位有效数字，当糠氨酸含量 < 10 mg/100g 蛋白质时，计算结果保留两位有效数字。

7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过算术平均值的10%。

8 其他

液态乳方法检出限为2.1 mg/100 g蛋白质，定量限为4.2 mg/100 g蛋白质。

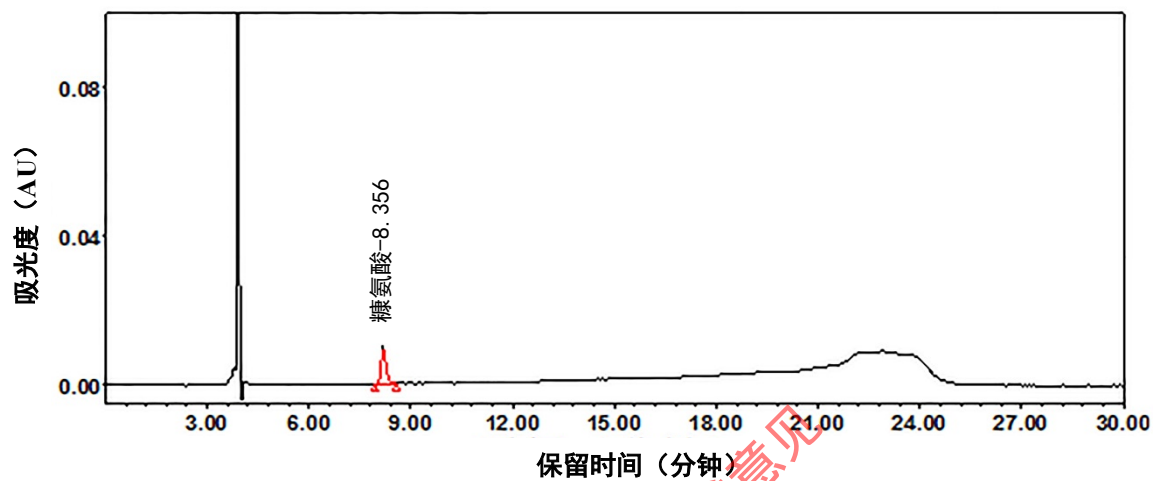
乳粉及婴幼儿配方乳粉取样量5 g，定容体积为50 mL时，方法检出限为3.6 mg/100 g蛋白质，定量限为7.2 mg/100 g蛋白质。

食品安全国家标准公开征求意见稿

附录 A

糠氨酸液相色谱图

高效液相色谱法（HPLC）色谱图见图A.1。



图A.1 2 mg/L糠氨酸标准溶液HPLC色谱图

食品安全国家标准公开征求意见稿