

中华人民共和国国家标准

GB 5009.278—××××

食品安全国家标准 食品中乙二胺四乙酸盐的测定

(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

前 言

本标准代替GB 5009.278-2016《食品安全国家标准 食品中乙二胺四乙酸盐的测定》。

本标准与GB 5009.278-2016相比，主要变化如下：

- 修改了适用范围；
- 修改了原理；
- 修改了标准溶液配制和试剂配制，补充了标准溶液的保存期限；
- 修改了样品前处理方法和仪器条件；
- 修改了分析结果、检出限和定量限的表述。

食品安全国家标准公开征求意见

食品安全国家标准

食品中乙二胺四乙酸盐的测定

1 范围

本标准规定了食品中乙二胺四乙酸盐的测定方法。

本标准适用于食品中乙二胺四乙酸盐的测定。本标准不适用于铁强化食品中乙二胺四乙酸铁钠的测定。

2 原理

试样经水提取,经混合型强阴离子固相萃取柱或二氯甲烷净化,以三氯化铁溶液衍生,经配有紫外检测器或二极管阵列检测器的高效液相色谱仪测定,外标法定量。

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

- 3.1.1 甲醇 (CH_3OH): 色谱纯。
- 3.1.2 盐酸 (HCl)。
- 3.1.3 磷酸 (H_3PO_4)。
- 3.1.4 甲酸 (CH_2O_2): 色谱纯。
- 3.1.5 四丁基溴化铵 ($\text{C}_{16}\text{H}_{36}\text{NBr}$)。
- 3.1.6 乙酸钠 (CH_3COONa)。
- 3.1.7 三氯化铁 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)。
- 3.1.8 α -淀粉酶: 酶活力 $\geq 2000\text{U/g}$ 。
- 3.1.9 二氯甲烷: 色谱纯。

3.2 试剂配制

- 3.2.1 三氯化铁溶液 (10.8 mg/mL): 称取 1.8 g 三氯化铁,溶于 90 mL 水中,加入 0.10 mL 盐酸,用水稀释至 100 mL。
- 3.2.2 5%甲酸甲醇水溶液: 取 5 mL 甲酸、20 mL 甲醇用水稀释至 100 mL。
- 3.2.3 四丁基溴化铵-乙酸钠混合溶液 (pH4.0): 称取 6.45 g 四丁基溴化铵、2.46 g 乙酸钠,加 1 000 mL 水超声溶解,加入磷酸调节 pH 至 4.0 ± 0.1 。

3.3 标准品

3.3.1 乙二胺四乙酸二钠标准品 ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, CAS 号: 6381-92-6, 纯度 $\geq 99\%$)或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 乙二胺四乙酸二钠标准储备溶液 (10.0 mg/mL): 准确称取按其纯度折算为 100%质量₁

的乙二胺四乙酸二钠标准品 0.1 g (精确到 0.0001g), 用水溶解并定容至 10 mL 棕色容量瓶中, 得浓度为 10.0 mg/mL 的标准储备溶液, 此溶液转移至储液瓶中 4℃ 下储存, 有效期为 3 个月。

3.4.2 乙二胺四乙酸二钠标准中间溶液 (1.00 mg/mL): 准确移取 1mL 乙二胺四乙酸二钠标准储备液于 10 mL 棕色容量瓶中, 用水定容至刻度, 混匀, 此溶液转移至储液瓶中 4℃ 下储存, 有效期为 1 个月。

3.5 材料

3.5.1 微孔滤膜: 有机系, 0.45 μm。

3.5.2 混合强阴离子固相萃取柱: 150 mg/6 mL 或性能相当者。填料的主要成分是含亲水基团的聚苯乙烯/二乙烯基苯共聚物上键合季铵基团。

4 仪器和设备

4.1 液相色谱仪: 配有紫外检测器或二极管阵列检测器。

4.2 电子天平: 感量 0.000 1 g 和 0.001 g。

4.3 涡旋振荡器。

4.4 粉碎机。

4.5 超声波清洗器。

4.6 离心机: 最高转速不低于 7 500 r/min。

4.7 pH 计: 精度为 0.1。

4.8 恒温水浴装置。

5 分析步骤

5.1 试样制备

液体试样和粉状固体试样应分别混合均匀, 半固体试样取固液共存物进行匀浆混和, 固体试样 (带核蜜饯凉果需先去核, 取可食部分) 经粉碎等方式混合均匀, 密封, 含二氧化碳的试样, 超声除去气泡后摇匀。制备好的试样装入洁净容器内密封并做好标识, 在 -18℃ 下避光保存, 备用。

5.2 测定

5.2.1 谷物制品、淀粉制品、以谷类、薯类为主要原料的膨化食品, 冷冻饮品 (冰淇淋、雪糕)、蛋及蛋制品、水果制品等

称取试样 5 g (精确至 0.001 g), 置于 50 mL 离心管中, 加入 25 mL 水 (含淀粉含量高的样品加水后需加入 0.4 g 淀粉酶, 涡旋混匀后在 60±2℃ 加热 20 min), 涡旋 5 min 后超声提取 20 min, 混匀后放至室温, 7 500 r/min 离心 5 min; 提取面粉等干基易团聚物质时, 降低离心转速至 4 000 r/min。取上清液置于 50 mL 玻璃比色管中。剩余残渣以 20 mL 水重复提取一次, 离心后合并上清液, 加水定容至 50 mL。取 10 mL 上清液加入 5 mL 二氯甲烷, 涡旋混匀 5 min, 4 500 r/min 离心后取 4.5 mL 上清液。加入 0.5 mL 三氯化铁溶液, 涡旋混匀 1 min, 超声 20 min,

7 500 r/min 离心 5 min, 经微孔滤膜过滤, 供液相色谱仪测定。

5.2.2 其他与水不互溶的固体、半固体类试样(蔬菜制品、坚果及籽类、食用菌及藻类、巧克力和巧克力制品、豆类、肉及肉制品、水产及其制品、调味品及油脂及其制品等)

称取豆豉、香辛料 1g, 其他试样 5 g(精确至 0.001 g)置于 50 mL 离心管中, 加入 25 mL 水, 涡旋混匀, 巧克力及其制品等试样需在加水后于 $60\pm 2^{\circ}\text{C}$ 加热 20 min, 7 500 r/min 离心 5 min 后再提取上清液。其剩余残渣以 20 mL 水重复提取一次, 离心后合并上清液, 加水定容至 50 mL。取 5 mL 提取液中加入 0.5 mL 三氯化铁溶液, 涡旋混匀 1 min, 超声 20 min, 7 500 r/min 离心 5 min, 依次用 5 mL 甲醇、5 mL 水活化固相萃取小柱, 将待净化液全部上样过柱, 依次用 5 mL 水、5 mL 甲醇淋洗, 抽干, 用 5 mL 5% 甲酸甲醇水溶液洗脱, 抽干, 收集洗脱液定容至 5 mL, 经微孔滤膜过滤, 供液相色谱仪测定。

5.2.3 其他液体类试样(酱油、食醋、料酒、液体乳、酒类等)、与水互溶的固体、半固体类试样(食糖、鸡精、固体饮料等)

称取酱油 1g, 其他试样 5 g(精确至 0.001 g), 置于 50 mL 离心管中, 加入 25 mL 水, 涡旋混匀, 超声提取 20 min 后, 加水定容至 50 mL。其余同 5.2.2 的前处理。

5.3 仪器参考条件

5.3.1 色谱柱: C_{18} 柱, 柱长 250 mm, 内径 4.6 mm, 粒径 $5.0\ \mu\text{m}$, 或性能相当色谱柱。

5.3.2 检测乙二胺四乙酸盐的流动相: 甲醇: 四丁基溴化铵-乙酸钠混合溶液 (pH 4.0) = 15+85 (体积比);

5.3.3 流速: 0.8 mL/min。

5.3.4 柱温: 35°C 。

5.3.5 波长: 254 nm。

5.3.6 进样量: 10 μL 。

5.4 标准曲线的制作

分别吸取 25 μL 、100 μL 、250 μL 、500 μL 和 2500 μL 浓度为 1 mg/mL 的乙二胺四乙酸二钠标准中间溶液于 50 mL 比色管中, 加入 25 mL 水和 1 mL 三氯化铁溶液, 涡旋混匀 1 min, 超声 20 min, 冷却至室温后, 用水定容至刻度, 衍生所得标准系列工作溶液浓度分别为 0.500 $\mu\text{g/mL}$ 、2.00 $\mu\text{g/mL}$ 、5.00 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 和 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

将标准系列工作液分别注入液相色谱仪中, 测定相应的峰面积, 以标准工作液的浓度为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。

5.5 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱仪中, 以保留时间定性, 得到峰面积, 根据标准曲线得到待测液中乙二胺四乙酸盐(以乙二胺四乙酸二钠计)的浓度。试样中目标化合物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较, 变化范围应在 $\pm 2.5\%$ 之间。

5.6 空白试验

除不加试样外, 按与试样相同的步骤操作。

6 分析结果的表述

试样中乙二胺四乙酸盐（以乙二胺四乙酸二钠计）含量按式（1）计算：

$$X = \frac{\rho \times V}{m} \times \frac{1000}{1000 \times 1000} \times f \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——试样中乙二胺四乙酸盐的含量（以乙二胺四乙酸二钠计），单位为克每千克（g/kg）；

ρ ——试样测定液中乙二胺四乙酸盐的质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V ——被测试样总体积，单位为毫升（mL）；

f ——稀释倍数；

m ——称取试样的质量，单位为克（g）；

1 000——换算系数。

计算结果扣除空白值，结果保留三位有效数字。乙二胺四乙酸二钠钙的含量可由试样中测得的含量乘以换算系数 1.11 后得到。

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得超过算术平均值的 15 %。

8 其他

当取样量为 5 g，定容体积为 50 mL 时，乙二胺四乙酸盐（以乙二胺四乙酸二钠计）在食品中（除酱油、香辛料、豆豉外）检出限为 0.01 g/kg，定量限为 0.0300 g/kg。当酱油类基质、香辛料、豆豉取样量为 1 g，定容体积为 50 mL 时，方法检出限为 0.05 g/kg，定量限为 0.150 g/kg。

食品安全国家标准公开征求意见稿

附录 A

乙二胺四乙酸盐衍生物标准溶液的液相色谱图

乙二胺四乙酸盐衍生物标准溶液高效液相色谱图见图A.1。

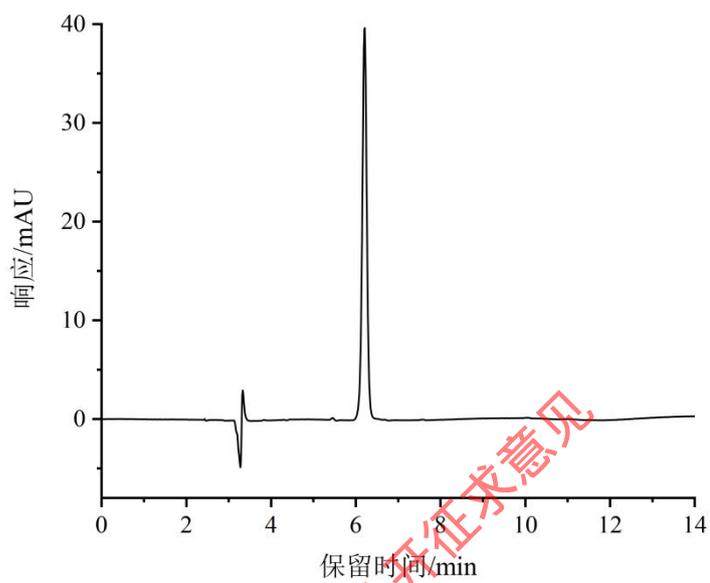


图 A.1 乙二胺四乙酸盐衍生物标准溶液（10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）高效液相色谱图

食品安全国家标准征求意见稿