



中华人民共和国国家标准

GB 5009.250—2016

食品安全国家标准 食品中乙基麦芽酚的测定

2016-08-31 发布

2017-03-01 实施

中华人民共和国
国家卫生和计划生育委员会 发布

前 言

本标准代替 GB/T 21917—2008《饮料中乙基麦芽酚的测定方法》。

本标准与 GB/T 21917—2008 相比,主要变化如下:

- 标准名称修改为“食品安全国家标准 食品中乙基麦芽酚的测定”;
- 增加了标准的适用范围;
- 增加了不同类型食品试样的前处理方法;
- 修改了液相色谱条件;
- 增加了附录 B 质谱确证。

食品安全国家标准

食品中乙基麦芽酚的测定

1 范围

本标准规定了食品中乙基麦芽酚含量的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于饮料、糖果、果冻、肉制品、饼干、面包、糕点、乳粉食品中乙基麦芽酚含量的测定。

2 原理

试样经提取、净化后,采用配有二极管阵列检测器或紫外检测器的高效液相色谱仪检测,外标法定量;阳性样品需要采用质谱法进行定性确认。

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 规定的二级水。

3.1 试剂

3.1.1 甲醇(CH_3OH):色谱纯。

3.1.2 乙腈(CH_3CN):色谱纯。

3.1.3 磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)。

3.2 磷酸二氢钠溶液配制

称取 3.90 g 磷酸二氢钠,加水溶解并稀释至近 1 000 mL,经磷酸调节 pH 至 4.0 ± 0.1 ,定容至 1 000 mL,经微孔滤膜过滤备用。

3.3 乙基麦芽酚($\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_3$)标准品

纯度不小于 99%。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 标准储备液:称取乙基麦芽酚 0.1 g(精确至 0.000 1 g),用甲醇溶解,并定容至 100 mL 容量瓶中,此溶液浓度为 1 mg/mL。

3.4.2 标准系列工作液:分别准确吸取不同体积的标准储备液,用甲醇将其稀释成乙基麦芽酚含量分别为 0.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准系列工作液。

4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱仪(HPLC):配有二极管阵列检测器(DAD)或紫外检测器(UVD)。

4.2 超声波清洗器。

- 4.3 涡旋混合仪。
 4.4 水浴锅。
 4.5 离心机:转速不低于 6 000 r/min。
 4.6 分析天平:感量分别为 0.01 g、0.001 g 和 0.000 1 g。

5 分析步骤

5.1 试样制备

5.1.1 碳酸饮料、果汁饮料、乳饮料、植物蛋白饮料试样

准确称取 10 g 试样(精确至 0.01 g)(碳酸饮料需先超声 2 min~3 min 以除去二氧化碳后取样)于 25 mL 具塞刻度试管中,用乙腈定容至刻度,混匀,超声 10 min(若样品溶液浑浊时,6 000 r/min 离心 10 min),取上清液,经微孔滤膜过滤,滤液进液相色谱仪分析。

5.1.2 糖果、果冻试样

准确称取 2 g 试样(精确至 0.001 g)于 25 mL 具塞刻度试管中,加入 20 mL 水,置于 60 °C~70 °C 水浴锅中加热 2 min~3 min,加塞,剧烈振摇使其分散均匀,再置于 60 °C~70 °C 水浴锅中加热 30 min,取出后趁热超声 5 min,冷却后用甲醇定容至刻度(奶糖用乙腈定容),6 000 r/min 离心 10 min,取上清液,经微孔滤膜过滤,滤液进液相色谱仪分析。

5.1.3 肉制品、饼干、面包、糕点试样

准确称取 2 g 粉碎均匀试样(精确至 0.001 g)至 25 mL 具塞刻度试管中,加入 5 mL 水,加塞,涡旋 1 min,使其分散均匀后,再加 15 mL 甲醇,加塞,摇匀,超声 20 min,用甲醇定容至刻度,6 000 r/min 离心 10 min,取上清液,经微孔滤膜过滤,滤液进液相色谱仪分析。

5.1.4 乳粉试样

准确称取 2 g 试样(精确至 0.001 g)至 25 mL 具塞刻度试管中,加入 8 mL 水,加塞,涡旋 1 min,使其充分溶解后,加 15 mL 乙腈,加塞,摇匀,超声 20 min,用乙腈定容至刻度,6 000 r/min 离心 10 min,取上清液,经微孔滤膜过滤,滤液进液相色谱仪分析。

5.2 仪器参考条件

- 5.2.1 色谱柱:C₁₈柱,250 mm×4.6 mm,5 μm,或性能相当者。
 5.2.2 流动相:A 为甲醇;B 为磷酸二氢钠溶液,梯度洗脱条件见表 1。

表 1 方法的梯度洗脱条件

时间 min	A %	B %
0	25	75
16	25	75
16.1	100	0
20	100	0

5.2.3 流速:1.0 mL/min。

5.2.4 柱温:30 ℃。

5.2.5 检测波长:276 nm。

5.2.6 进样量:10 μL。

5.3 标准曲线的制作

将标准系列工作液分别注入高效液相色谱仪中,测定相应的乙基麦芽酚的色谱峰面积,以标准工作液的浓度为横坐标,以色谱峰的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。

5.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入高效液相色谱仪中,得到相应的乙基麦芽酚的色谱峰面积,根据标准曲线得到待测液中乙基麦芽酚的浓度。

乙基麦芽酚的标准液相色谱图参见图 A.1。

5.5 定性确认

进行试样测定时,如果检出乙基麦芽酚的色谱峰的保留时间与标准品相一致,同时该物质的紫外吸收图谱与标准品的紫外吸收图谱相一致,则可初步确认试样中存在被测的乙基麦芽酚。阳性试样需用质谱仪进行确认试验(见附录 B)。

6 分析结果的表述

试样中乙基麦芽酚含量按式(1)计算:

$$X = \frac{c \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X ——试样中乙基麦芽酚的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c ——由标准曲线得出的样液中乙基麦芽酚的浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

V ——试样定容体积,单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g);

1 000 ——换算系数。

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,结果保留三位有效数字。

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得超过算术平均值的10%。

8 其他

当取样量为2 g时,糖果、果冻、肉制品、饼干、面包、糕点、乳粉等类食品的方法检出限为1.5 mg/kg,定量限为5 mg/kg;当取样量为10 g时,饮料的方法检出限为0.6 mg/kg,定量限为2 mg/kg。

附录 A
乙基麦芽酚的高效液相色谱图

乙基麦芽酚的高效液相色谱图见图 A.1。

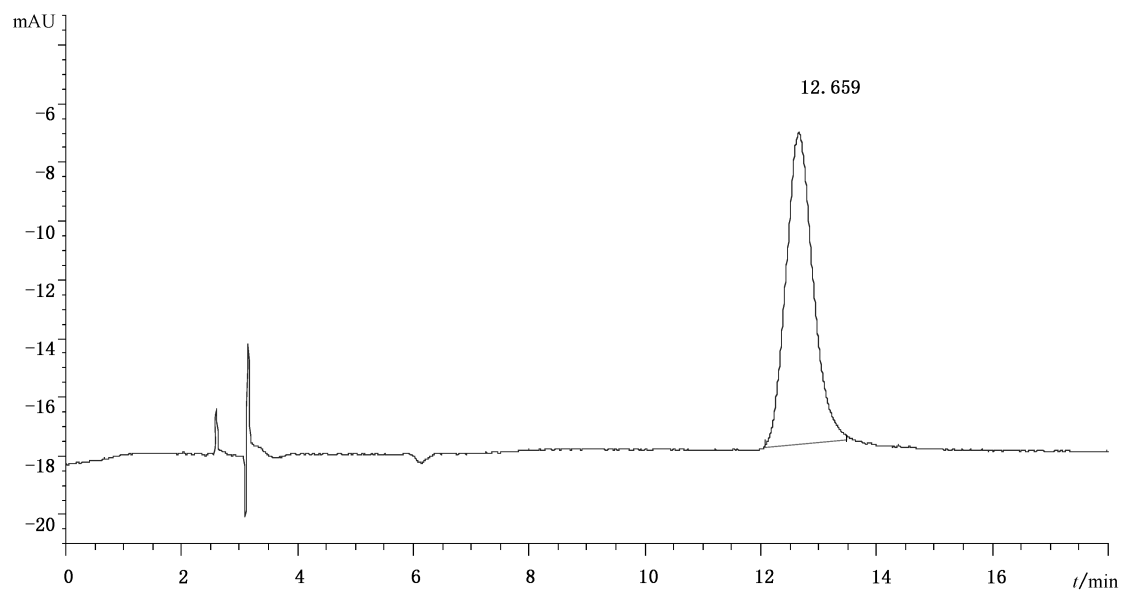


图 A.1 乙基麦芽酚的高效液相色谱图

附录 B 确证试验

B.1 色谱条件

色谱条件如下：

- a) 色谱柱: ODS C₁₈ 色谱柱, 50 mm×2.1 mm, 1.8 μm, 或性能相当者。
- b) 流动相: A 为甲醇; B 为 10 mol/L 乙酸铵水溶液(含 0.2% 甲酸), 梯度洗脱条件见表 B.1。

表 B.1 方法的梯度洗脱条件

时间 min	A %	B %
0	25	75
2	100	0
10	100	0

- c) 流速: 0.3 mL/min。
- d) 进样量: 5 μL。
- e) 柱温: 25 °C。

B.2 质谱条件

质谱条件如下：

- a) 电离方式: 大气压化学电离, 正离子模式。
- b) 监测方式: 多反应监测(MRM)。
- c) 雾化气压力: 275.8 kPa。
- d) 干燥气温度: 325 °C。
- e) 干燥气流速: 8 L/min。
- f) 汽化温度: 350 °C。
- g) 定性离子对、定量离子、碎裂电压和碰撞能量见表 B.2。

表 B.2 乙基麦芽酚的定性离子对、定量离子、碎裂电压和碰撞能量

中文名称	母离子 <i>m/z</i>	子离子 <i>m/z</i>	碎裂电压 V	碰撞能量 eV
乙基麦芽酚	141.1	126.1 ^a ; 71.1	120	15/30
^a 定量离子。				

B.3 定性判定

按照 B.1 和 B.2 的条件测定试样和标准工作溶液,如果试样中的质量色谱峰保留时间与标准工作溶液一致(变化范围在 $\pm 2.5\%$ 之内);试样中目标化合物的两个子离子的相对丰度与浓度与标准溶液的相对丰度和浓度一致,相对丰度偏差不得超过表 B.3 规定的范围,则可判定为试样中存在乙基麦芽酚。

表 B.3 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度(X)	$X > 50$	$20 < X \leq 50$	$10 < X \leq 20$	$X \leq 10$
允许的最大偏差/%	± 20	± 25	± 30	± 50

乙基麦芽酚标准溶液 LC-MS/MS 多反应监测质量色谱图见图 B.1。

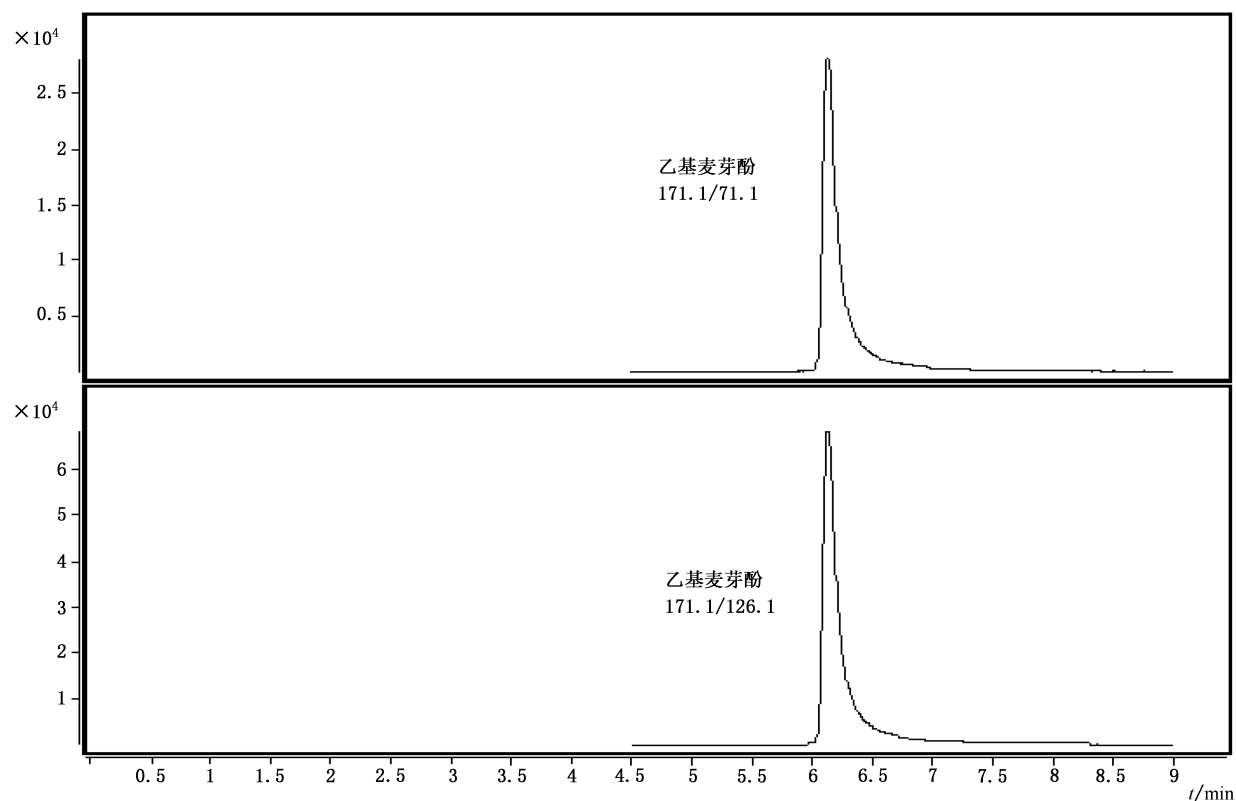


图 B.1 乙基麦芽酚标准溶液 LC-MS/MS 多反应监测质量色谱图