ICS 67.220.20

CCS X 35

|  |
| --- |
|  |

QB

中华人民共和国轻工行业标准

QB/T XXXX—XXXX

|  |
| --- |
|  |

食用盐中氨基酸的测定

Determination of amino acid in edible salt

|  |
| --- |
| （征求意见稿） |
|  |

XXXX-XX-XX发布

XXXX-XX-XX实施

中华人民共和国工业和信息化部  发布

前  言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件由全国盐业标准化技术委员会（SAC/TC 295）归口。

本文件起草单位：天津科技大学、国盐检测（天津）有限责任公司、江苏苏盐井神股份有限公司、天津长芦汉沽盐场有限责任公司。

本文件主要起草人：

本文件为首次发布。

食用盐中氨基酸的测定

1. 范围

本文件描述了食用盐中氨基酸的测定方法——柱前衍生化液相色谱法。

本文件适用于食用盐中氨基酸的测定。

1. 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

1. 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

1. 原理

异硫氰酸苯酯衍生剂与氨基酸发生化学反应，生成衍生物，氨基酸衍生物在特定的紫外波长会有强吸收峰，经色谱柱分离后，紫外检测器进行检测，外标法测氨基酸含量。

1. 试剂或材料

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。

* 1. 乙腈（色谱纯）
  2. 异硫氰酸苯酯（纯度99%）
  3. 三乙胺
  4. 冰乙酸（纯度99%）
  5. 盐酸（浓度≥36%）
  6. 无水乙酸钠
  7. 三乙胺
  8. 盐酸溶液（0.1 mol/L）

取0.90 mL盐酸（5.5）于100 mL容量瓶，加水定容，摇匀。

* 1. 衍生剂A（异硫氰酸苯酯-乙腈溶液）

取异硫氰酸苯酯（5.2）1.20 mL于100 mL容量瓶，用乙腈（5.1）定容，摇匀。

* 1. 衍生剂B（三乙胺-乙腈溶液）

取三乙胺（5.7）20.00 mL于100 mL容量瓶，用乙腈（5.1）定容，摇匀。

* 1. 氨基酸标准溶液

经国家认证并授予标准物质证书的标准溶液。

* 1. 氨基酸标准储备液（0.50 mg/mL）

准确吸量一定量的氨基酸标准溶液（5.11），用盐酸溶液（5.8）准确稀释，得到质量浓度为 0.50 mg/mL 的标准溶液。

* 1. 氨基酸标准系列溶液

准确吸取一定量的氨基酸标准储备液（5.12），用水稀释，配成质量浓度分别为10 μg/mL，20 μg/mL，50 μg/mL，100 μg/mL，200 μg/mL的标准系列溶液。

1. 仪器设备
   1. 高效液相色谱仪：配紫外检测器。
   2. 分析天平：感量为0.1 mg。
   3. 带塞试管。
   4. 微孔滤膜（0.45μm）。
2. 试验步骤
   1. 样品溶液制备

准确称量一定质量的样品，用水溶解，得到质量浓度为 10 mg/mL 溶液。准确量取一定量上述溶液和一定体积的氨基酸标准液至50 mL容量瓶，加水定容，混匀，使之为氨基酸、氯化钠比例为0.05%、0.1%、0.5%的样品系列溶液。

* 1. 标准溶液衍生处理

分别取500 μL的标准系列溶液（5.13），至于具塞试管中，加入衍生化试剂A（5.9）和衍生化试剂B（5.10）各250 μL，混匀，室温下放置1 h，混匀后，经0.45 μm微孔滤膜过滤后，备用。

* 1. 样品衍生处理

分别取500 μL的样品系列溶液，置于具塞试管中，加入衍生化试剂A（5.9）和衍生化试剂B（5.10）各250 μL，混匀，室温下放置1 h，混匀后，经0.45 μm微孔滤膜过滤后，备用。

* 1. 参考色谱条件
     1. 色谱柱：C18色谱柱（250mm×4.6mm，5μm）
     2. 流动相的配制：

流动相A：7.5g乙酸钠，加0.93L水溶解后，加乙腈70mL，用冰乙酸调pH值至6.5，0.45μm滤膜过滤，即得0.1mol/L乙酸钠-乙腈（93∶7）的流动相，备用。

流动相B：量取乙腈400mL，加水100mL摇匀，0.45μm滤膜过滤，即得乙腈-水（4∶1）的流动相，备用，梯度洗脱程序如下表。

表1 梯度洗脱的程序

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **时间/min** | **A/%** | **B/%** |
| 0 | 92 | 8 |
| 2 | 92 | 8 |
| 10 | 90 | 10 |
| 12 | 81 | 19 |
| 19 | 74 | 26 |
| 21 | 65 | 35 |
| 31 | 54 | 46 |
| 33 | 0 | 100 |
| 36 | 0 | 100 |
| 38 | 92 | 8 |
| 45 | 92 | 8 |

* + 1. 其他色谱条件：

流量：1.0 mL/min

柱温：40℃

进样体积：10 μL

检测波长：254 nm

* 1. 测定

将标准系列溶液衍生液（7.2）和样品系列溶液衍生液（7.3）注入液相色谱仪，得到标准系列溶液衍生液和样品系列溶液衍生液的峰面积。以各氨基酸标准系列溶液浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线，根据标准工作曲线得到样品中各氨基酸的浓度。

1. 结果计算

试样中氨基酸含量按公式（1）计算：

 (1)

式中：

Xi——试样中氨基酸各组分的含量，单位为毫克每克（mg/g）；

*Ci*——从标准曲线中得出的各组分氨基酸的含量，单位为微克每毫升（μg/mL）；

*F* ——样品的稀释倍数。

V ——试样溶液的体积，单位为毫升（mL）；

M ——称取的试样质量，单位为毫克（mg）；

计算结果保留两位小数。

1. 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应超过算术平均值的10%。

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_