

巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳中糠氨酸的测定

复原乳又称“还原乳”或“还原奶”，是指把牛奶浓缩、干燥成为浓缩乳或乳粉，再添加适量水，制成与原乳中水、固体物比例相当的乳液。通俗地讲，还原奶就是用奶粉勾兑还原而成的牛奶。加工方式有两种：一种是在鲜牛奶中掺入比例不等的奶粉；另一种是以奶粉为原料生产的饮料。

《国务院办公厅关于加强液态奶生产经营管理的通知》要求：在巴氏杀菌乳生产中不允许添加复原乳，大力提倡和鼓励在灭菌乳生产中全部使用生鲜乳。

从 2016 年 4 月 1 日起，由农业部发布、用于检测判断复原乳的“《NY/T939-2016 巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳中复原乳的鉴定》标准”开始正式实施。该标准选取了糠氨酸和乳果糖两种标示物，其中糠氨酸是牛奶热加工过程中出现的副产物，乳果糖是牛奶在加热过程中乳糖发生碱基异构的产物，二者在生乳中含量极低。通过测定生鲜乳、巴氏杀菌乳、UHT 灭菌乳（即常温奶）和奶粉中糠氨酸和乳果糖的含量并结合其比值建立模型，可判定巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳中是否添加了复原乳。

本实验依据农业行业标准 NY/T939-2016，使用日立高效液相色谱仪 Chromaster 测试巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳中的糠氨酸。

一、Chromaster 测试报告

【仪器】

- 1) CM5160 泵
- 2) CM5260 自动进样器
- 3) CM5310 柱温箱
- 4) CM5410 紫外检测器
- 5) OpenLab EZChrom 工作站

【色谱条件】

色谱柱：Hitachi LaChrom C18-AQ (5 μ m) 4.6x250mm

柱温：32 $^{\circ}$ C

流速：1.0mL/min

检测波长：280nm

进样量：10 μ L

流动相：A 0.1%三氟乙酸，B 甲醇

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	100	0
10	100	0
20	85	15
20.5	0	100
25	100	0
40	100	0

【标准溶液配制】

精密称取糠氨酸标准品 1.4mg，置于 5mL 容量瓶，加入 3mol/L 盐酸溶液制成标准储备液；移取上述标准储备液 100 μ L 置 10mL 容量瓶，用 3mol/L 盐酸溶液定容，得到糠氨酸标准溶液，浓度为 1.96 μ g/mL。

【样品处理】

测试样品为某品牌巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳。

分别移取 2.00mL 样品，置于密封耐热试管中，加入 6.00mL 10.6mol/L 盐酸溶液，混匀。密闭试管，置于干燥箱中 110 $^{\circ}$ C 水解，加热 1 小时后，轻摇试管，加热 16 个小时后，取出放置至室温，过滤；移取 1.00mL 水解液，加入 5.00mL 6g/L 乙酸铵溶液，摇匀，过滤，作为待测溶液。

【实验结果】

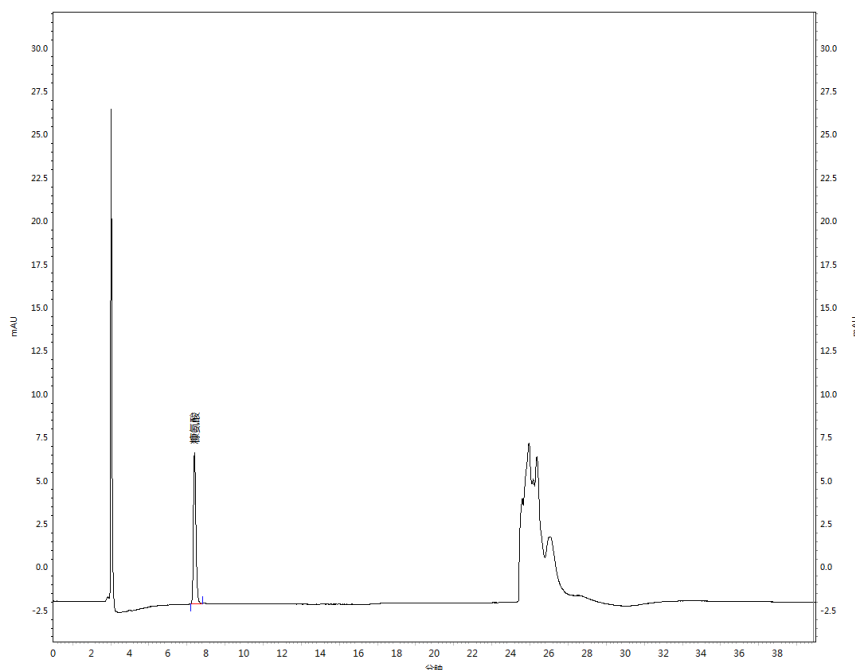


图 1 糠氨酸标样色谱图

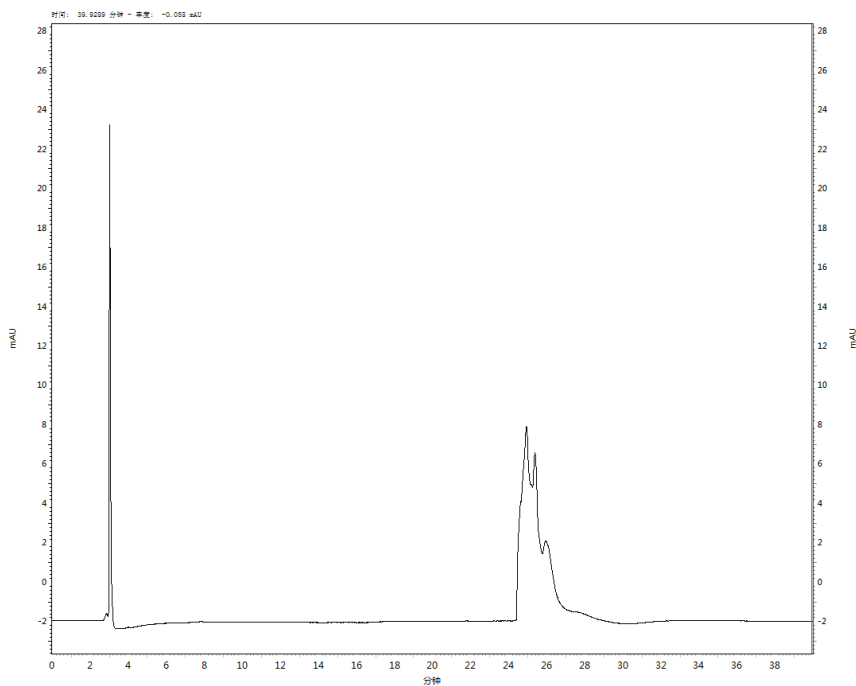


图 2 空白溶剂 (3M 盐酸溶液) 色谱图

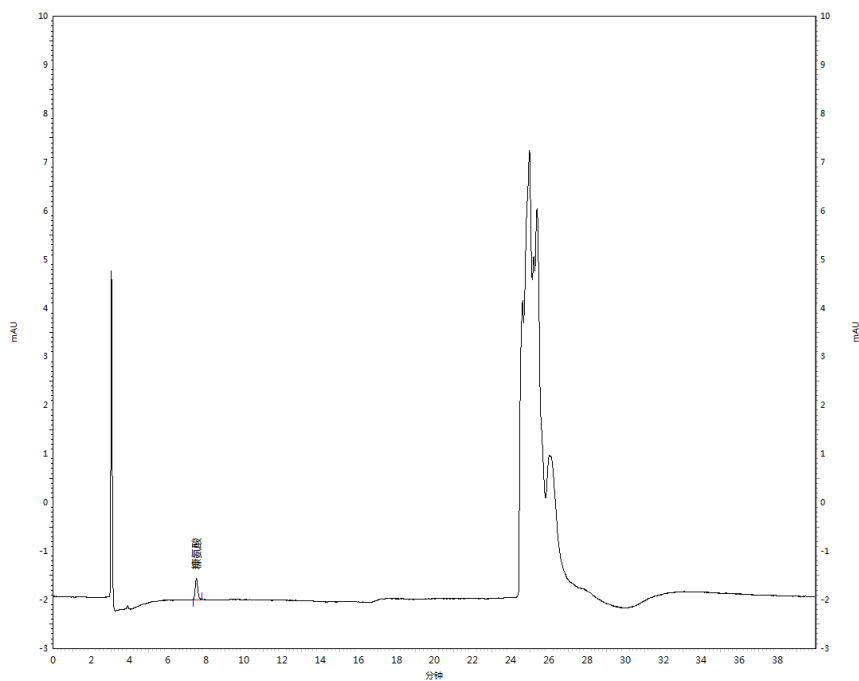


图 3 糖氨酸检出限色谱图

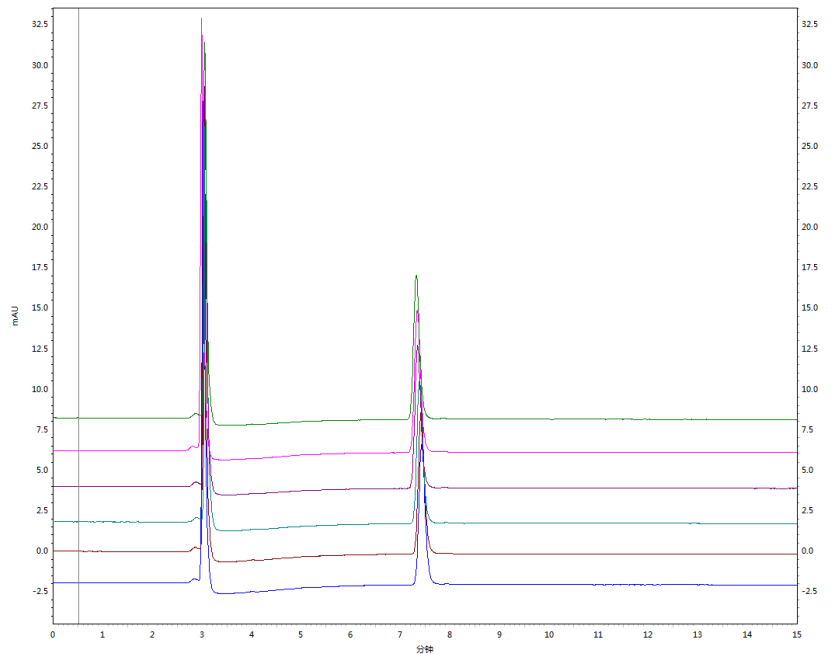


图 4 糖氨酸标准溶液重复进样叠加色谱图

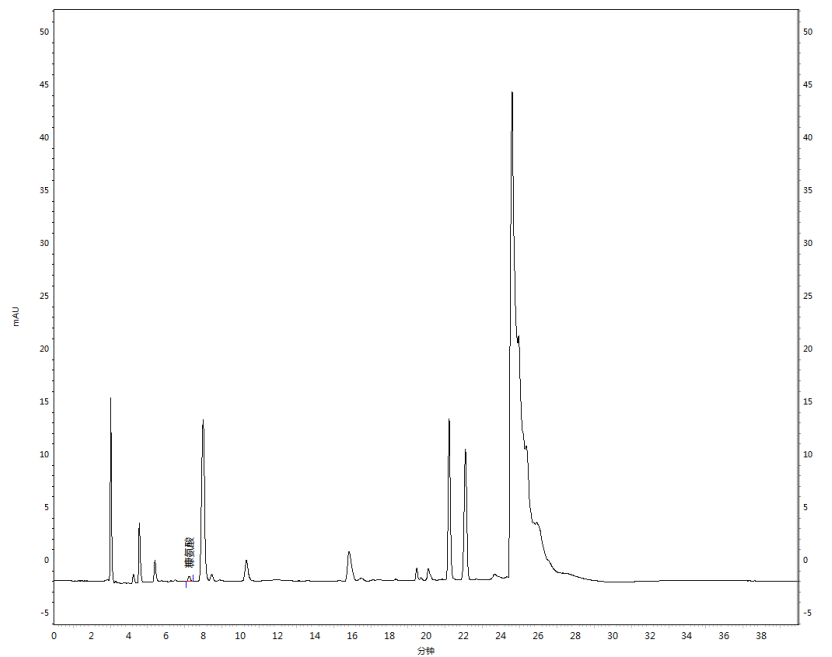


图 5 某品牌巴氏杀菌乳水解液色谱图

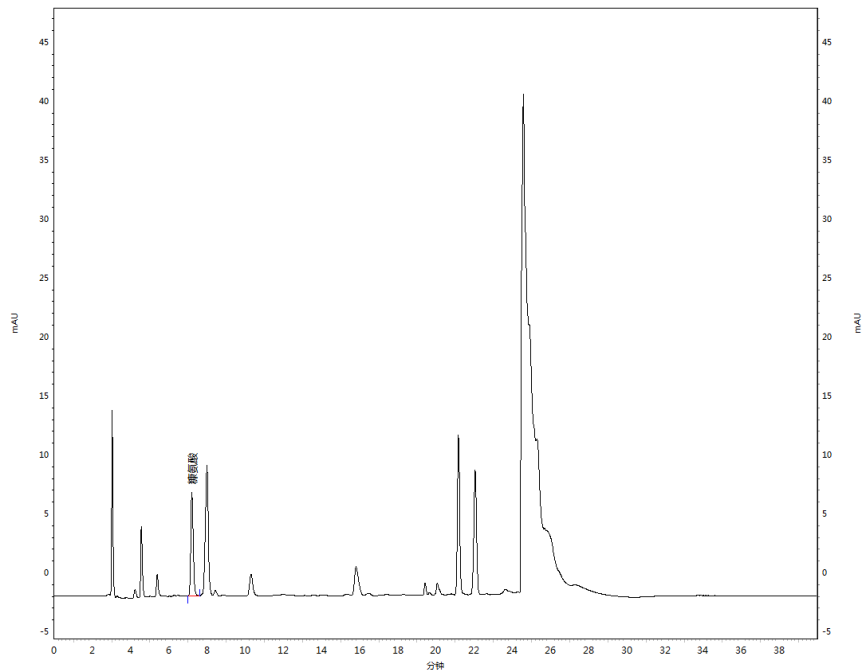


图 6 某品牌 UHT 杀菌乳水解液色谱图

二、结论

使用 Chromaster 测定糠氨酸标样、某品牌巴氏杀菌乳和 UHT 杀菌乳中的糠氨酸，标样的测试均得到良好的重现性结果，保留时间和峰面积的相对标准偏差均小于 1%；检出限分别为 0.014 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；对于实际样品中糠氨酸的检测，糠氨酸和其他成分都得到了很好的分离，说明使用上述仪器和色谱条件可以对糠氨酸进行准确的定性和定量分析。