



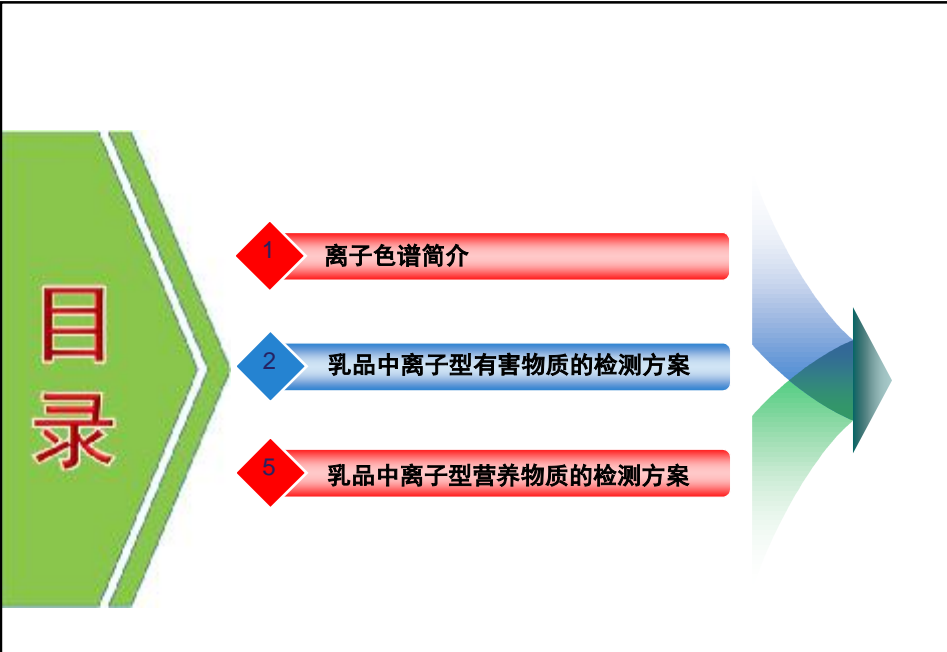
ThermoFisher
SCIENTIFIC

乳制品食品安全与质量控制

——乳品中离子型化合物检测方案

姜振邦
离子色谱高级应用工程师
Zhenbang.jiang@thermofisher.com

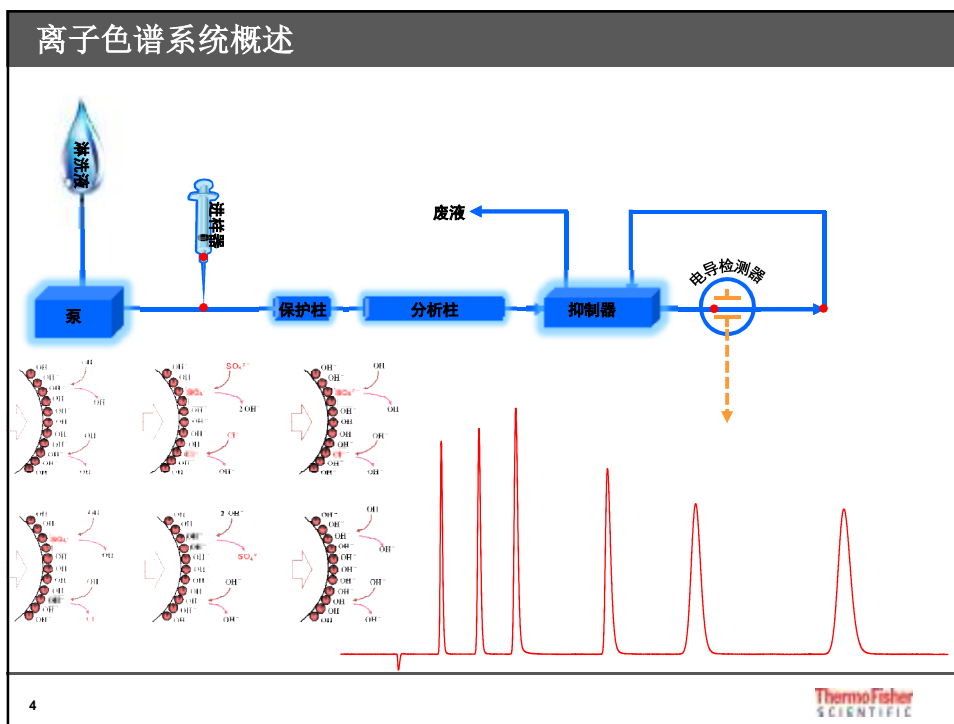
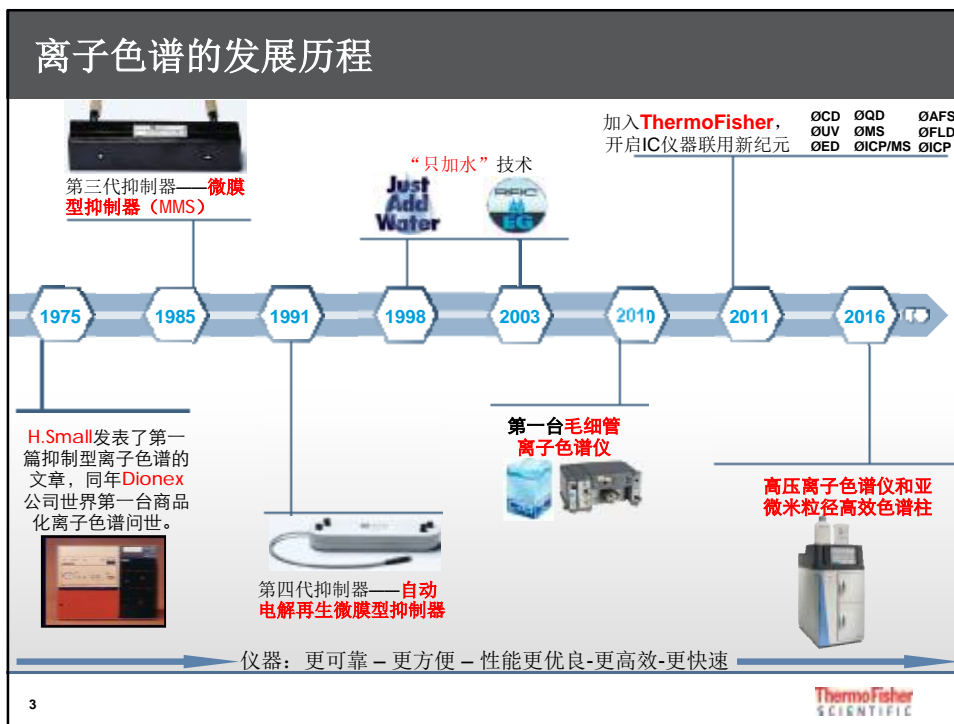
Proprietary & Confidential The world leader in serving science



目录

- 1 离子色谱简介
- 2 乳品中离子型有害物质的检测方案
- 3 乳品中离子型营养物质的检测方案

2 **ThermoFisher**
SCIENTIFIC



离子色谱系统概述

- **结构与HPLC相似**，由流动相输送、分离、检测和数据处理四部分组成
- 材质不同，用不被酸碱和络合剂腐蚀的**PEEK材料**；不用不锈钢
- 分离机理：**离子交换**、离子对、离子排斥和吸附
- 检测器：
 1. **电化学：电导和安培**
 2. 光学：UV/VIS、荧光
 3. 联用：IC-原子荧光，IC-MS，IC-ICP-MS

离子色谱应用范围

1. 阴离子分析：**首推和首选的方法**
2. 阳离子分析：碱金属，碱土金属，有机胺和铵
 - u 多元素同时测定
 - u 价态形态分析（砷、硒、汞、铬等）
3. 有机化合物：水溶性和极性化合物
 - u **糖类**
 - u 氨基酸

乳制品安全分析

铅等
重金属


硝酸盐、
亚硝酸盐、
硫氰酸盐

塑化
剂

三聚
氰胺、
三聚
氰酸


双甲
胍、
氯羟
吡啶

青霉
素G、
喹诺
酮等




离子色谱

7 Proprietary & Confidential



乳制品中亚硝酸盐和硝酸盐的测定



亚硝酸盐

中毒量: 0.3克-0.5克 致死量: 3克


亚硝酸盐危害:

高铁血红蛋白 → 失去携氧能力 → 缺氧


致癌: 食管癌 胃癌 肝癌 大肠癌

亚硝酸盐检出限0.2mg/kg

硝酸盐检出限0.4mg/kg。



8



乳制品中亚硝酸盐和硝酸盐的测定

5.2.3 乳：称取试样 10 g (精确至 0.01 g)，置于 100 mL 容量瓶中，加水 80 mL，摇匀，超声 30 min，加入 3% 乙酸溶液 2 mL，于 4 °C 放置 20 min，取出放置至室温，加水稀释至刻度，溶液经滤纸过滤，取上清液备用。

5.2.4 乳粉：称取试样 2.5 g (精确至 0.01 g)，置于 100 mL 容量瓶中，加水 80 mL，摇匀，超声 30 min，加入 3% 乙酸溶液 2 mL，于 4 °C 放置 20 min，取出放置至室温，加水稀释至刻度，溶液经滤纸过滤，取上清液备用。

5.2.5 取上述备用的上清液约 15 mL，通过 0.22 μm 水性滤膜针头滤器，C₁₈ 柱，弃去前面 3 mL (如果氯离子大于 100 mg/L，则需要依次通过针头滤器，C₁₈ 柱、Ag 柱和 Na 柱，弃去前 7 mL)，收集后面洗脱液待测。

固相萃取柱使用前需进行活化，如使用 OnGuard II RP 柱 (1.0 mL)、OnGuard II Ag 柱 (1.0 mL) 和 OnGuard II Na 柱 (1.0 mL)¹，其活化过程为：OnGuard II RP 柱 (1.0 mL) 使用前依次用 10 mL 甲醇、15 mL 水通过，静置活化 30 min，OnGuard II Ag 柱 (1.0 mL) 和 OnGuard II Na 柱 (1.0 mL) 用 10 mL 水通过，静置活化 30 min。

5.3 参考色谱条件

5.3.1 色谱柱：氢氧化物选择性，可兼容梯度洗脱的高容量阴离子交换柱，如 Dionex IonPac AS11-HC 4 mm×250 mm (带 IonPac AG11-HC 型保护柱 4 mm×50 mm)¹，或性能相当的离子色谱柱。

5.3.2 淋洗液

5.3.2.1 一般试样：氢氧化钾溶液，浓度为 6 mmol/L ~ 70 mmol/L；洗脱梯度为 6 mmol/L 30 min，70 mmol/L 5 min，6 mmol/L 5 min；流速 1.0 mL/min。

5.3.2.2 粉状婴幼儿配方食品：氢氧化钾溶液，浓度为 5 mmol/L ~ 50 mmol/L；洗脱梯度为 5 mmol/L 30 min，50 mmol/L 5 min，5 mmol/L 5 min；流速 1.3 mL/min。

5.3.3 抑制器：连续自动再生膜阴离子抑制器或等效抑制装置。

5.3.4 检测器：电导检测器，检测池温度为 35 °C。

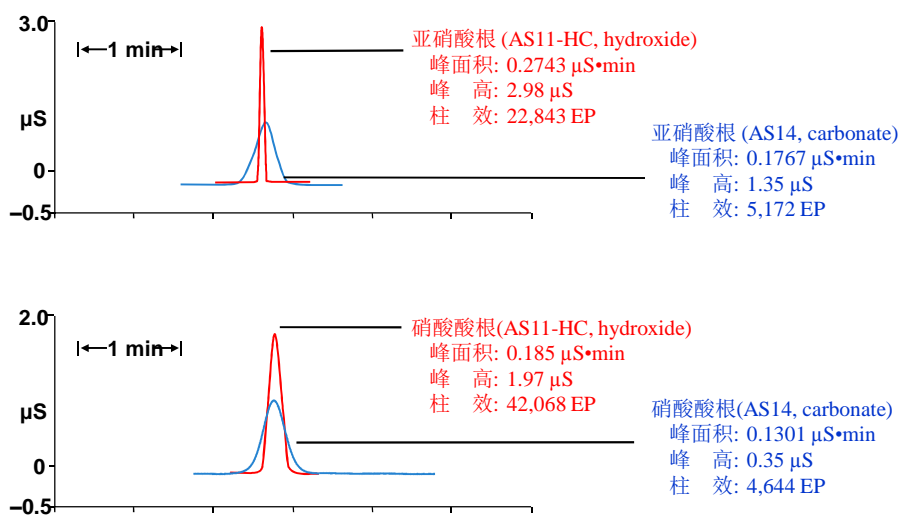
5.3.5 进样体积：50 μL (可根据试样中被测离子含量进行调整)。

梯度洗脱快速清洗诸如硫酸、高氯酸等强保留物质，避免单针时间过长或成为下一针鬼峰

9 Proprietary & Confidential

ThermoFisher
SCIENTIFIC

乳制品中亚硝酸盐和硝酸盐的测定

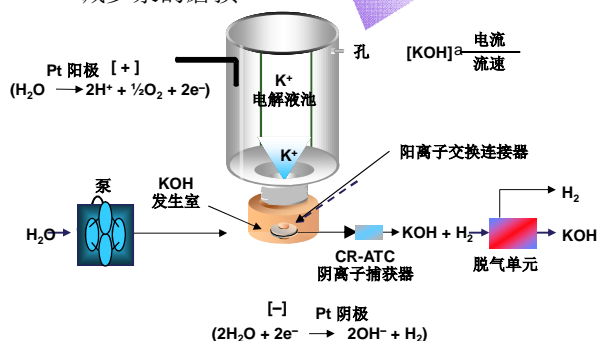


10

ThermoFisher
SCIENTIFIC

乳制品中亚硝酸盐和硝酸盐的测定

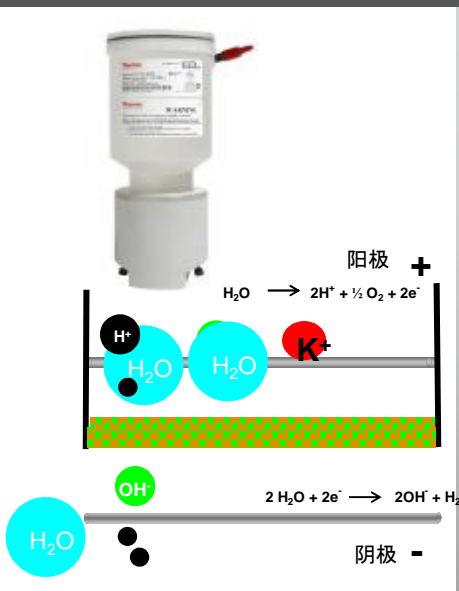
- 分析型等度泵或四元梯度泵
- 溶液预混功能，无需使用阻尼器
- 独立的柱活塞清洗系统
 - 避免双系统间的交叉污染
 - 减少泵的磨损



11

ThermoFisher
SCIENTIFIC

淋洗液发生器主要优点

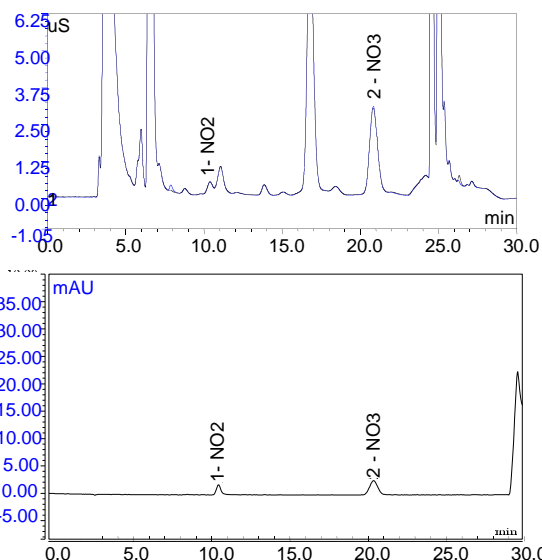


- 减小了手动制备淋洗液的精度误差
- 淋洗液无污染，提高了灵敏度
- 提高了分析方法的重现性
- 可运行等度和梯度分离
- 降低泵的维护费用
- 减少有害化学品的接触

12

ThermoFisher
SCIENTIFIC

乳制品中亚硝酸盐和硝酸盐的测定

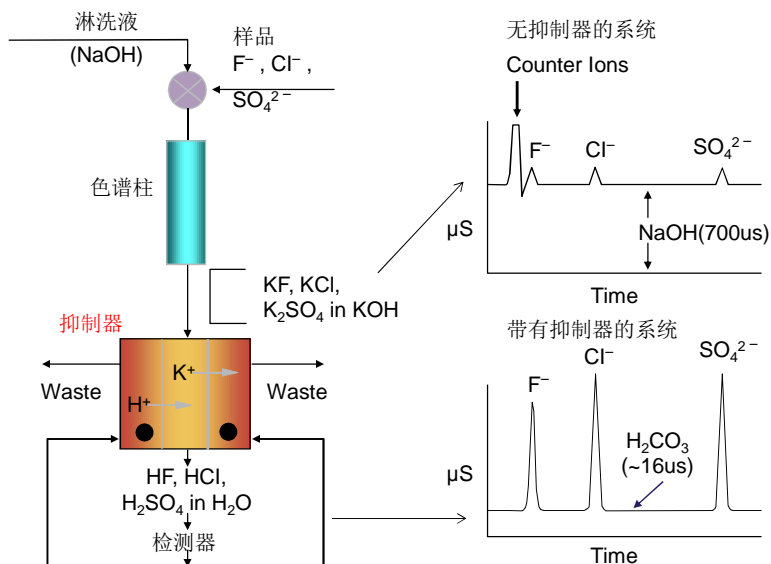


柱： IonPacAS11-HC+AG11-HC
 淋洗液： KOH(EG产生) 梯度
 流速： 1.0ml/min
 柱温： 30°C
 抑制方式： AERS 500 4mm
 进样体积： 50 µL
 检测器1： 电导检测器
 检测波长： 226nm
 检测器2： 紫外检测器
 峰： 1 NO₂⁻
 2 NO₃⁻

13 Proprietary & Confidential



电导检测器




14 Proprietary & Confidential



电导检测器

抑制器技术的发展历程


- 1975**
1st Generation SC-1, SC-2
- 1981**
2nd Generation FS-1, FS-2
- 1985**
3rd Generation MMS
- 1991 ~ 2007**
SRS I, MMS II, SRS II, Ultra, MMS III, Atlas, Ultra II
- 2008**
SRS 300, MMS 300
- 2013**
ERS 500® 全新电解再生型抑制器



柱抑制 间断式

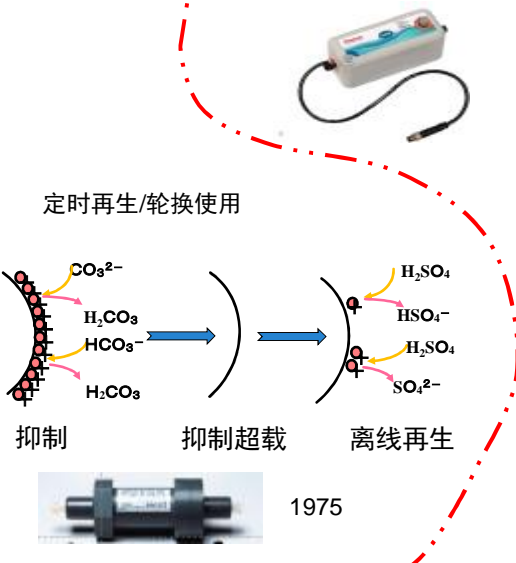
膜抑制 连续型

15 Proprietary & Confidential



电导检测器

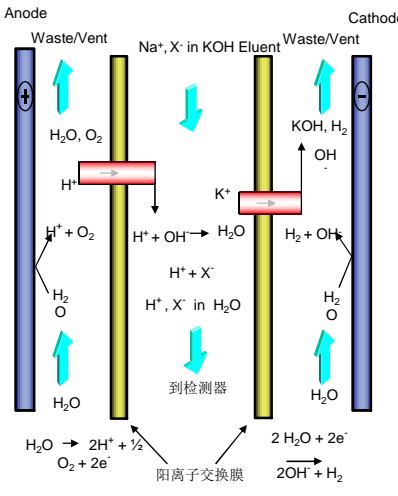
定时再生/轮换使用



抑制 抑制超载 离线再生

1975

大容量自动电解连续抑制



Anode Cathode

Waste/Vent Na⁺, X⁻ in KOH Eluent Waste/Vent

H₂O, O₂ H⁺ KOH, H₂

H⁺ + O₂ H⁺ + OH⁻ → H₂O H₂ + OH⁻


H₂O H⁺, X⁻ in H₂O H₂O

H₂O → 2H⁺ + ½ O₂ + 2e⁻ 2H₂O + 2e⁻ → 2OH⁻ + H₂

阳离子交换膜

到检测器

16 Proprietary & Confidential



乳制品中硫氰酸盐的测定

7.1 试样处理

7.1.1 灭菌乳等液体样品:称取 4 g(精确至 0.01 g)样品,用乙腈(4.2)定容至 10 mL(V_1),转移至离心管中,涡旋混匀 2 min,室温静置沉降蛋白 20 min,以 6 000 r/min 转速离心 10 min。准确移取上层清液 1.00 mL(V_2),用水定容至 10 mL(V_3)并混匀。取上述溶液适量,依次过 0.22 μ m 尼龙滤膜、RP 柱或性能相当者,弃去前 3 mL 滤液,收集后面滤液供离子色谱仪测定。可根据样品中硫氰酸根含量情况,用水适当稀释待测样品溶液。

7.1.2 乳粉等固体样品:称取 1 g(精确至 0.01 g)样品,加入 4 g 水,立即摇匀,涡旋混匀 2 min,用乙腈(4.2)定容至 10 mL(V_1),混匀后转移至离心管中,室温静置沉降蛋白 20 min,以 6 000 r/min 转速离心 10 min。准确移取上层清液 1.00 mL(V_2),用水定容至 10 mL(V_3)并混匀。取上述溶液适量,依次过 0.22 μ m 尼龙滤膜、RP 柱或性能相当者,弃去前 3 mL 滤液,收集后面滤液供离子色谱仪测定。可根据样品中硫氰酸根含量情况,用水适当稀释待测样品溶液。

7.2 色谱分析参考条件

7.2.1 色谱柱:氢氧化物选择性、疏水性低且可兼容梯度洗脱的高容量阴离子交换柱,如 Ion Pac[®] AS 16 型分析柱,4 mm \times 250 mm(配备 Ion Pac[®] AG 16 型保护柱 4 mm \times 50 mm),或性能相当的离子色谱柱。

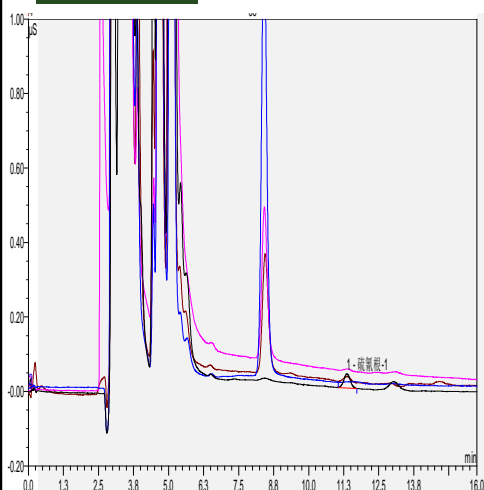
7.2.2 柱温箱温度:30 $^{\circ}$ C。

7.2.3 淋洗液:氢氧化钾溶液,浓度为 45 mmol/L \sim 60 mmol/L,梯度淋洗,淋洗液 OH^- 浓度见表 1。

19

乳制品中硫氰酸盐的测定

液奶样品



色谱条件

- 色谱柱: AS16分析柱+AG16保护柱, 4mm
- 流动相: 氢氧化钾梯度淋洗
- 流速: 1.0 mL/min
- 色谱柱温度为30 $^{\circ}$ C
- 检测器: 电导检测器
- 进样量: 100 μ L

方法特点:

氢氧根色谱柱具有更强亲水性, 强极性硫氰酸离子更易洗脱, **无需使用有机溶剂**改性, 即可得到对称色谱峰和更高灵敏度。

20

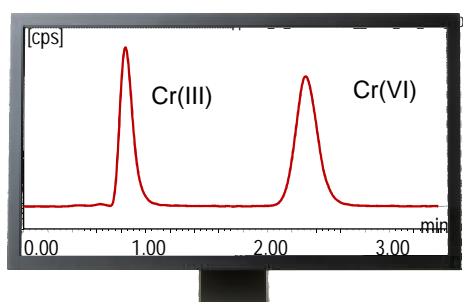
乳制品中铬的形态分析

元素形态分析：IC-ICPMS



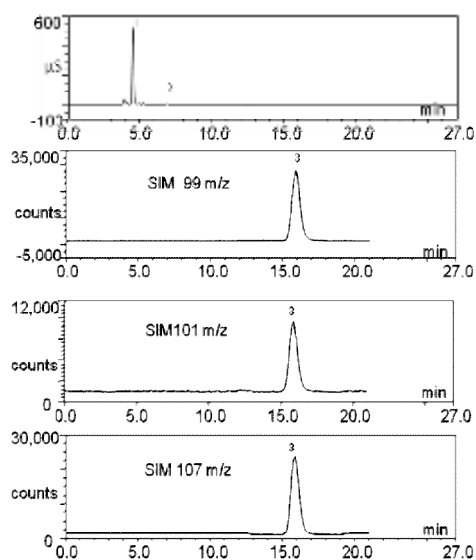
色谱条件

色谱柱: AG7, 2 mm
 流速: 0.4 mL/min
 进样体积: 100 μ L
 运行时间: 3.5 Min.
 分析物: Cr(III) und Cr(VI) je 1 μ g/L



21

乳制品中高氯酸的检测



色谱条件

色谱柱: IonPac AS20 2mm+AG20 2mm
 流动相: EG产生KOH, 梯度洗脱
 流速: 0.35 mL/min
 温度: 30 $^{\circ}$ C
 进样量: 100 μ L
 基体: 奶粉
 内标: 高氯酸-18O, (SIM 107 m/z)
 峰: 1. 基体; 2. unknow; 3. 高氯酸

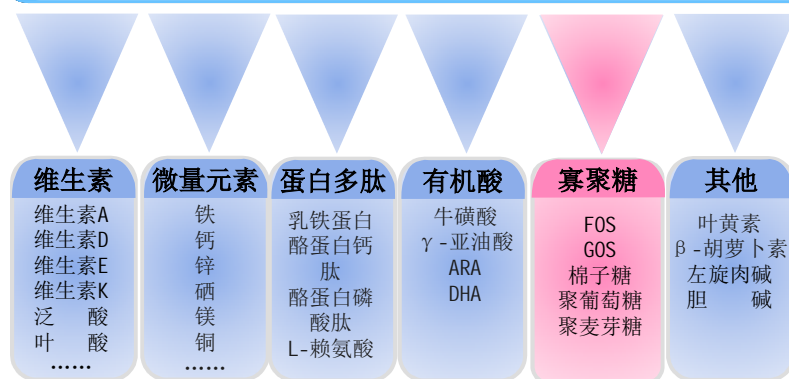


Integrion(IC)+ Quanti va (TSQ)

22

乳制品营养分析

GB/T 14880-2012 食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准



23 Proprietary & Confidential

乳制品营养分析

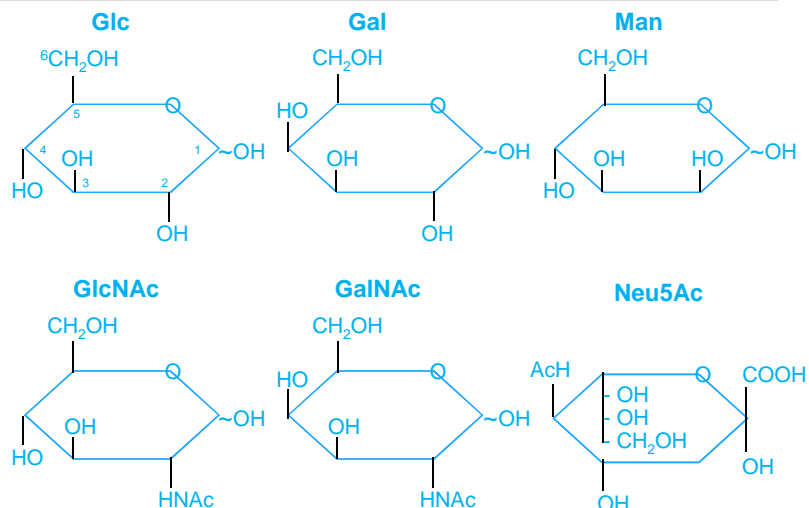
- 中华人民共和国卫生部2008年第20号公告批准低聚半乳糖为新资源食品，并规定了相应的使用标准，可适用于**婴幼儿食品、乳制品**、饮料、焙烤食品、糖果。
- 卫生部发布的2012年第6号公告，批准增补食品添加剂(营养强化剂)低聚果糖的质量规格要求，因此低聚果糖也成为婴幼儿食品中的合法添加成分。
- **新增3个强制执行的涉及糖类检测的国标, 2017年3月1日执行**

营养强化剂	食品分类号	食品类别(名称)	使用量	标准
低聚半乳糖(乳糖来源)	13.01 13.02.01	婴幼儿配方食品 婴幼儿谷类辅助食品	单独或混合使用， 该类物质总量不超过64.6g/kg	暂无
低聚果糖(菊苣来源)				GB 5009.255-2016
多聚果糖(菊苣来源)				GB 5009.258-2016
棉子糖(甜菜来源)				GB 5009.245-2016
聚葡萄糖	13.01	婴幼儿配方食品	15.6g/kg-31.25g/kg	GB 5009.245-2016

24

乳制品营养中糖类检测

糖类物质是一类多羟基醛类或酮类化合物及其衍生物或聚合物



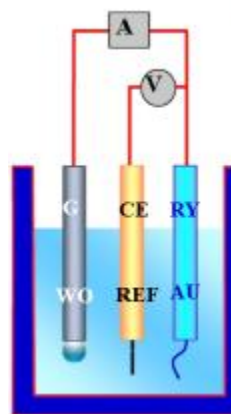
25

ThermoFisher
SCIENTIFIC

乳制品营养中糖类检测

电化学检测池需要三电极:

- **工作电极** - 分析物在电极表面氧化 (还原), 对产生的电流进行测定
- **参比电极** - 设定工作电极的电位
- **对电极** - 保持电位的稳定性, 防止工作电极上产生过大的电流通过对电极, 从而改变参考值

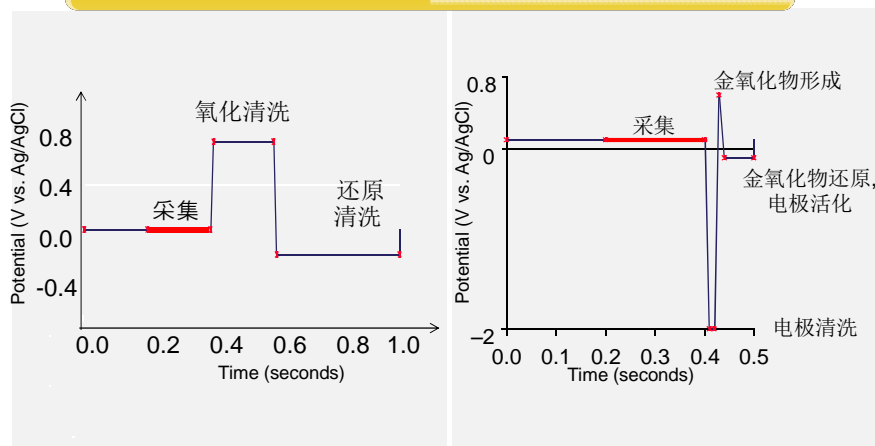


26

ThermoFisher
SCIENTIFIC

乳制品营养中糖类检测

糖检测时为什么需要使用四电位？

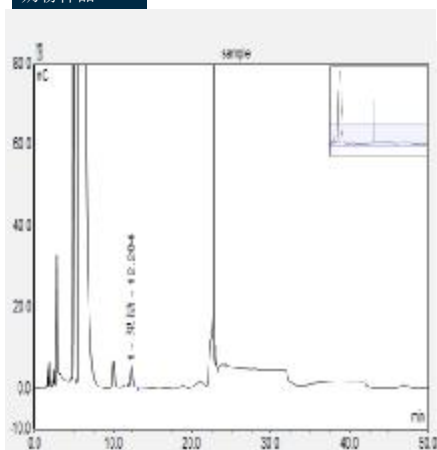


27

乳制品中低聚果糖的测定

GB 5009.255-2016 食品安全国家标准 食品中果聚糖的测定

奶粉样品



方法特点和注意

方法特点:

- 前处理需酶解;
- 色谱条件简单, 但对柱容量要求高

注意事项:

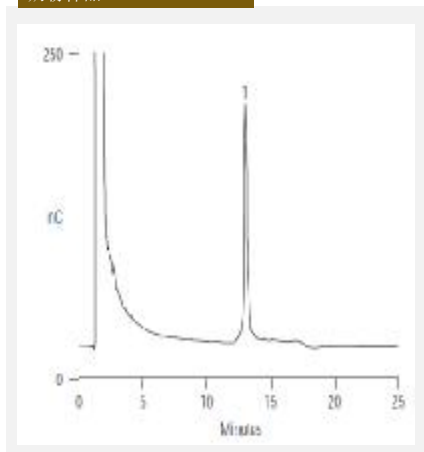
- 使用大容量色谱柱, 满足分离要求例如CarboPac PA1;
- 推荐使用四电位波形, 增加了修复电位使金电极表面腐蚀减少, 长期使用的重现性和灵敏度得到保证

28

乳制品中聚葡萄糖的测定

GB 5009.245-2016 食品安全国家标准 食品中聚葡萄糖的测定

奶粉样品



色谱条件

- 淋洗液: 氢氧化钠-醋酸钠两相梯度洗脱
- 色谱柱: CarboPac PA1+CarboPac PA1
- 检测条件: 脉冲安培检测

梯度洗脱程序

	A%	B%
0-10min	70	30
10.1-15min	0	100
15.1-25min	70	30

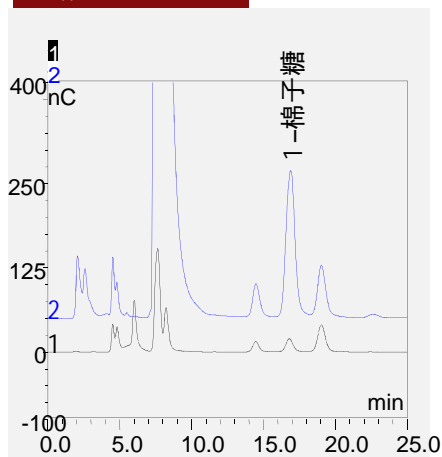
29

ThermoFisher
SCIENTIFIC

乳制品中棉子糖的测定

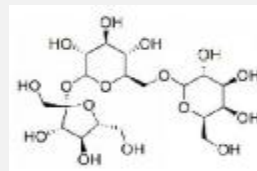
GB 5009.258-2016 食品安全国家标准 食品中棉子糖的测定

奶粉样品



色谱条件

- 淋洗液: 水-氢氧化钠等度洗脱;
- 色谱柱: CarboPacPA20
- 检测条件: 脉冲安培检测
- 方法特点: 前处理简单, 溶解后净化



30

ThermoFisher
SCIENTIFIC

乳制品中低聚半乳糖的测定

低聚半乳糖酶解成半乳糖测定(参考AOAC 2001.02方法)

即: 半乳糖 (酶解后总) - 半乳糖1 (酶解前) - 半乳糖2 (乳糖折算)

不适用

!

全脂奶粉中乳糖含量约在38%
乳清粉中乳糖含量在65%

婴幼儿奶粉添加低聚半乳糖0.3%-1%

半乳糖

乳糖

葡萄糖基半乳糖n糖

半乳糖基半乳糖n糖

n=1 ~ 7, 平均聚合度3.3

乳糖苷酶

→

乳粉中乳糖含量高

→

增量在3%以内

误差范围

31

乳制品中低聚半乳糖的测定

色谱条件

- 色谱柱: CarboPac PA20
- 检测方式: 脉冲积分安培

方法特点

- 无需酶解, 成本低
- 净化简单, 步骤少

注意事项

- 大容量高分辨柱
- 多点校正更准确

32

赛默飞帮助客户使世界...

更安全

更清洁

更健康

33

ThermoFisher
SCIENTIFIC