

团 体 标 准

T/CIFST 007—2022

食品中 2'-岩藻糖基乳糖的测定 离子色谱法

Determination of 2'-fucosyllactose in foods—
Ion chromatography method

2022-02-07 发布

2022-02-07 实施

中国食品科学技术学会 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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国食品科学技术学会提出并归口。

本文件起草单位：南开大学、国家预包装食品质量检验检测中心(浙江)、雅培贸易(上海)有限公司、北京三元食品股份有限公司、丹尼斯克(中国)有限公司、内蒙古伊利实业集团股份有限公司、上海海关动植物与食品检验检疫技术中心。

本文件主要起草人：王硕、王津、陈洪波、张水锋、赵艳荣、田芳、陈历俊、乔为仓、文焱、彭荣、王洪丽、段国霞、韩丽、沈辰婷、刘爽。

食品中 2'-岩藻糖基乳糖的测定

离子色谱法

1 范围

本文件规定了食品中 2'-岩藻糖基乳糖的离子色谱测定方法。

本文件适用于婴幼儿配方食品、乳粉和特殊医学用途配方食品中 2'-岩藻糖基乳糖含量的测定。

2 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

3 原理

试样经淀粉转葡萄糖苷酶和 β -半乳糖苷酶酶解,过滤后,采用离子色谱法分离,脉冲安培检测器检测,外标法定量。

4 试剂与材料

注:除非另有规定,本方法所用试剂均为分析纯,实验用水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1 50%氢氧化钠溶液(NaOH)。

4.1.2 无水乙酸钠(CH_3COONa):纯度 $\geq 99.0\%$ 。

4.1.3 氮气(N_2):纯度 $\geq 99.9\%$ 。

4.1.4 淀粉转葡萄糖苷酶:来源于黑曲霉(*Aspergillus niger*),酶活力 ≥ 70 U/mg,或其他等效淀粉转葡萄糖苷酶。

4.1.5 β -半乳糖苷酶溶液:来源于黑曲霉(*Aspergillus niger*)或乳酸克鲁维酵母(*Kluyveromyces lactis*),酶活力 $\geq 4\ 000$ U/mL,或其他等效 β -半乳糖苷酶。

4.1.6 冰乙酸(CH_3COOH)。

4.2 试剂配制

4.2.1 氢氧化钠溶液(0.5 mol/L):称取 50%氢氧化钠溶液(4.1.1)80 g(精确至 0.01 g),用水稀释至 2 L,混匀。通入氮气保护,密封保存。室温下可放置 1 个月。

4.2.2 乙酸钠溶液(0.3 mol/L):称取无水乙酸钠(4.1.2)49.25 g(精确至 0.01 g),用水溶解并稀释至 2 L,混匀。通入氮气保护,密封保存。室温下可放置 1 个月。

4.2.3 氢氧化钠溶液(0.1 mol/L):称取 50%氢氧化钠溶液(4.1.1)4 g(精确至 0.01 g),用水稀释至

0.5 L,混匀。临用前配制,室温放置。

4.2.4 乙酸钠缓冲液(pH 4.5):称取冰乙酸(4.1.6)6 g(精确至 0.01 g),用水稀释至 0.4 L,混匀。用 0.1 mol/L氢氧化钠溶液(4.2.3)调节溶液 pH 至 4.5 ± 0.1 。2 °C~8 °C可放置 1 个月。

4.2.5 淀粉转葡萄糖苷酶溶液(70 U/mL):称取适量淀粉转葡萄糖苷酶(4.1.4)溶解于乙酸钠缓冲液(4.2.4),淀粉转葡萄糖苷酶溶液的浓度为 70 U/mL,混匀。临用前配制,2 °C~8 °C放置。

4.2.6 酶混合溶液:将淀粉转葡萄糖苷酶溶液(4.2.5)和 β -半乳糖苷酶溶液(4.1.5)按体积比 4 : 1 的比例混匀(每 0.2 g 试样至少需要淀粉转葡萄糖苷酶 2.8 U 和 β -半乳糖苷酶 40 U)。临用前配制,2 °C~8 °C放置。

4.3 标准品

2'-岩藻糖基乳糖($C_{18}H_{32}O_{15}$):CAS 号 41263-94-9,纯度 $\geq 90\%$,水分 $\leq 9\%$ 。

4.4 标准溶液配制

4.4.1 2'-岩藻糖基乳糖贮备溶液(5 000 mg/L):准确称取 100 mg(精确至 0.1 mg)2'-岩藻糖基乳糖标准品于称量纸上,转移至烧杯,加水溶解,润洗转移至 20 mL 容量瓶中,加水定容,混匀。分装后的贮备溶液于-80 °C可放置 8 个月,于-18 °C可放置 3 个月。(贮备溶液质量浓度的计算需折算标准品的纯度及水分,开封后的标准品在使用前需使用微量水分测定仪重新测定水分。)

4.4.2 2'-岩藻糖基乳糖中间溶液(500 mg/L):准确吸取 2'-岩藻糖基乳糖贮备溶液(4.4.1)5.00 mL 于 50 mL 容量瓶中,加水定容,混匀。临用前配制,室温放置。

4.4.3 2'-岩藻糖基乳糖标准系列工作溶液:分别准确吸取 2'-岩藻糖基乳糖中间溶液(4.4.2)0.10 mL、0.50 mL、1.00 mL、2.50 mL、5.00 mL、10.00 mL、12.00 mL 于 7 个 50 mL 容量瓶,加水定容,混匀,得到 2'-岩藻糖基乳糖质量浓度为 1 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、25 mg/L、50 mg/L、100 mg/L、120 mg/L 的标准系列工作溶液。分装后的标准系列工作溶液于-18 °C可放置 3 个月,于 2 °C~8 °C可放置 5 d。

4.5 材料

4.5.1 微孔滤膜:尼龙,0.22 μ m。

4.5.2 烧杯:10 mL、500 mL、2 L。

4.5.3 离心管:15 mL。

4.5.4 容量瓶:5 mL、10 mL、20 mL、50 mL、500 mL 和 2 L。

5 仪器和设备

5.1 离子色谱:配有三元及以上梯度泵,脉冲安培检测器。

5.2 预柱:CarboPac™ PA1 Guard Column 或等效柱。

5.3 分离柱:CarboPac™ PA1 Analytical Column 或等效柱。

5.4 分析天平:感量为 0.1 mg 和 0.01 g。

5.5 恒温水浴锅:60 °C \pm 2 °C。

5.6 pH 计:精度为 ± 0.01 。

5.7 磁力搅拌器。

5.8 涡旋混合器。

5.9 氮吹仪。

5.10 超纯水仪。

6 分析步骤

6.1 试样制备

6.1.1 2'-岩藻糖基乳糖含量 ≤ 180 mg/100 g 的固态试样或 2'-岩藻糖基乳糖含量 ≤ 20 mg/100 g 的液态试样

6.1.1.1 固态试样:准确称取试样 25 g (m_1 ,精确至 0.001 g),加水 200 g (m_2 ,精确至 0.001 g),磁力搅拌 15 min。准确称取 0.5 g (m_3 ,精确至 0.001 g)上述液体于 5 mL(V)容量瓶中,加入 125 μ L 酶混合溶液(4.2.6),加水定容。混匀并转移至 15 mL 离心管中,加盖,放置于恒温水浴锅中 60 $^{\circ}$ C 酶解 2 h,酶解后取出并静置至室温,微孔滤膜过滤后进样分析。

6.1.1.2 液态试样:准确称取试样 0.5 g (m_3 ,精确至 0.001 g)于 5 mL(V)容量瓶中,加入 125 μ L 酶混合溶液(4.2.6),加水定容。混匀并转移至 15 mL 离心管中,加盖,放置于恒温水浴锅中 60 $^{\circ}$ C 酶解 2 h,酶解后取出并静置至室温,微孔滤膜过滤后进样分析。

6.1.2 2'-岩藻糖基乳糖含量在 > 180 mg/100 g 固态试样或 2'-岩藻糖基乳糖含量 > 20 mg/100 g 的液态试样

6.1.2.1 固态试样:准确称取试样 25 g (m_1 ,精确至 0.001 g),加水 200 g (m_2 ,精确至 0.001 g),磁力搅拌 15 min。准确称取 0.2 g (m_3 ,精确至 0.001 g)上述液体于 15 mL 离心管中,加入 50 μ L 酶混合溶液(4.2.6),加水至 2 mL。加盖后混匀,放置于恒温水浴锅中 60 $^{\circ}$ C 酶解 2 h,酶解后取出并静置至室温。混匀,润洗转移至 10 mL(V)容量瓶中,加水定容,混匀,微孔滤膜过滤后进样分析。

6.1.2.2 液态试样:准确称取试样 0.2 g (m_3 ,精确至 0.001 g)于 15 mL 离心管中,加入 50 μ L 酶混合溶液(4.2.6),加水至 2 mL。加盖后混匀,放置于恒温水浴锅中 60 $^{\circ}$ C 酶解 2 h,酶解后取出并静置至室温。混匀,润洗转移至 10 mL(V)容量瓶中,加水定容,混匀,微孔滤膜过滤后进样分析。

6.2 仪器参考条件

6.2.1 离子色谱参考条件

6.2.1.1 色谱柱:预柱(4 mm \times 50 mm);分离柱(4 mm \times 250 mm)。

6.2.1.2 柱温:25 $^{\circ}$ C。

6.2.1.3 流速:1 mL/min。

6.2.1.4 进样量:5 μ L。

6.2.1.5 柱压:1 000 psi \sim 2 500 psi。

6.2.1.6 流动相:A相为水,B相为 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液,C相为 0.3 mol/L 乙酸钠溶液。离子色谱梯度洗脱条件见表 1。

表 1 离子色谱梯度洗脱条件

时间/min	A%	B%	C%	曲线类型
0.00	92	8	0	线性
17.00	92	8	0	线性
17.01	88	12	0	线性
33.00	88	12	0	线性

表 1 离子色谱梯度洗脱条件(续)

时间/min	A%	B%	C%	曲线类型
33.01	0	20	80	线性
38.00	0	20	80	线性
38.01	92	8	0	线性
48.00	92	8	0	线性

6.2.2 安培检测器参考条件

6.2.2.1 参比电极:氯化钾饱和的银/氯化银。

6.2.2.2 工作电极:金电极。

6.2.2.3 辅助电极:钛。

6.2.2.4 波形:碳水化合物检测四电位波形。

6.3 标准曲线的制作

将标准系列工作溶液从低到高依次注入离子色谱仪中,测定相应的响应值(峰面积),以标准系列工作溶液中 2'-岩藻糖基乳糖的质量浓度为横坐标,以试样前后两套标准系列工作溶液中 2'-岩藻糖基乳糖的平均响应值(峰面积)为纵坐标,绘制标准曲线。上下两套标准工作溶液响应值(峰面积)漂移对于标准工作溶液质量浓度 ≤ 1 mg/L 时,不超过 15%,对于标准工作溶液质量浓度 > 1 mg/L 时,不超过 10%。标准曲线积分方式可选择线性不强制过零点或二次曲线不强制过零点。标准曲线的相关系数 ≥ 0.999 。2'-岩藻糖基乳糖标准溶液典型离子色谱图参见附录 A。

6.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入离子色谱仪中,根据保留时间定性(保留时间偏差 $\pm 2.5\%$),记录 2'-岩藻糖基乳糖响应值(峰面积),根据标准曲线得到试样溶液中 2'-岩藻糖基乳糖的质量浓度。

7 分析结果的表述

按公式(1)计算试样中 2'-岩藻糖基乳糖的含量。

$$X = \frac{c \times V}{m_3} \times f \times 10^{-1} \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X ——待测样品中 2'-岩藻糖基乳糖的含量,单位为毫克每百克(mg/100 g);

c ——由标准曲线得到的待测样品溶液中 2'-岩藻糖基乳糖的浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——定容体积,单位为毫升(mL);

m_3 ——试样质量,单位为克(g);

f ——稀释因子,固态试样 $f = \frac{m_1 + m_2}{m_1}$,液态试样 $f = 1$;

10^{-1} ——换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

8 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%。

9 检出限及定量限

9.1 对于固态试样,本方法对 2'-岩藻糖基乳糖的检出限为 9 mg/100 g,定量限为 36 mg/100 g。

9.2 对于液态试样,本方法对 2'-岩藻糖基乳糖的检出限为 1 mg/100 g,定量限为 4 mg/100 g。

附录 A

(资料性)

2'-岩藻糖基乳糖标准溶液典型离子色谱图示例

2'-岩藻糖基乳糖标准溶液(25 mg/L)典型离子色谱图示例见图 A.1。

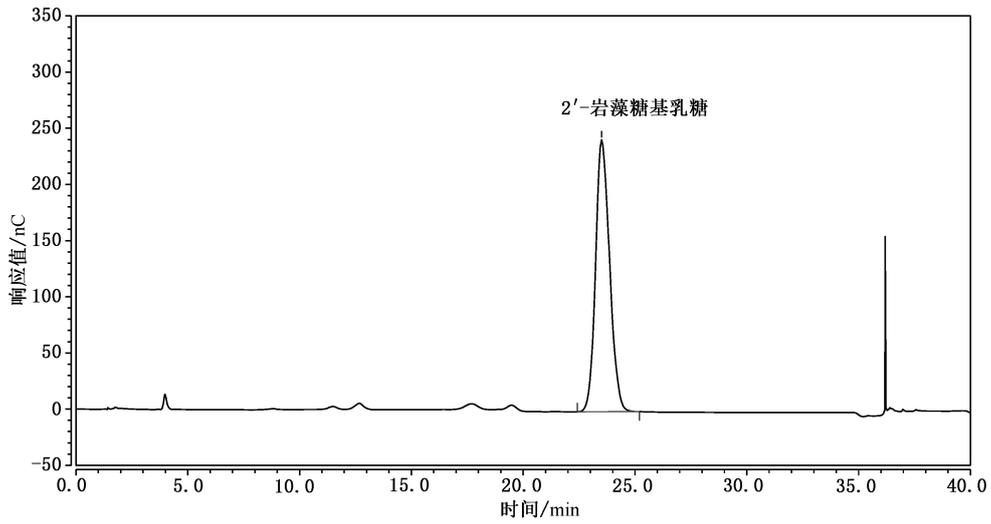


图 A.1 2'-岩藻糖基乳糖标准溶液(25 mg/L)典型离子色谱图示例