

ICS 67.050
CCS X10

团 体 标 准

T/CIQA 111 – 2025

特殊医学用途配方食品中低聚半乳糖的测定 离子色谱法

Determination of Galactooligosaccharide in foods for special
medical purpose—Ion chromatography method

2025-04-25 发布

2025-04-25 实施

中国出入境检验检疫协会 发布

目 次

前言	1
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原理	1
5 试剂和材料	1
5.1 试剂	1
5.2 对照品溶液配制	1
5.3 试剂配制	2
6 仪器设备及耗材	2
7 分析步骤	2
7.1 试样处理	2
7.2 色谱参考条件	3
7.3 标准曲线制作	3
8 加过计算与表述	3
9 精密度	4
10 检出限、定量限	4
附录 A (资料性)	5

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。

本文件由中国出入境检验检疫协会进出口食品标准化技术委员会（CIQA/TC10）提出并归口。

本文件起草单位：南京海关动植物与食品检测中心、上海安谱实验科技股份有限公司、江苏省产品质量监督检验研究院、南京师范大学、海南天壮营养工程有限公司。

本文件主要起草人：范春婷、朱静怡、张炯恺、陆慧媛、林慧、张幸、李红艳、沈伟健、马海建、张驰中、蓝建芳。

本文件知识产权归中国出入境检验检疫协会所有。任何单位或个人未经许可，不得以营利为目的，印制、出版、翻译、转发或复制全文或部分文字。

特殊医学用途配方食品中低聚半乳糖的测定 离子色谱法

1 范围

本文件描述了特殊医学用途配方食品中低聚半乳糖的离子色谱测定法。
本文件适用于特殊医学用途配方食品中低聚半乳糖的测定。

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

GB 5009.88—2023 食品安全国家标准 食品中膳食纤维的测定

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

用水溶解样品中的低聚半乳糖，经蛋白沉淀和净化后，由离子色谱仪分析，以低聚半乳糖对照品中的特征峰作为定性和定量依据，外标法定量。

5 试剂和材料

5.1 试剂

5.1.1 乙腈（ CH_3CN ）：色谱纯。

5.1.2 甲醇（ CH_3OH ）：色谱纯。

5.1.3 50%氢氧化钠溶液（ NaOH ）：色谱纯。

5.1.4 无水乙酸钠（ CH_3COONa ）：优级纯及以上。

5.1.5 冰乙酸（ CH_3COOH ）。

5.1.6 三水合乙酸钠（ $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ）。

5.1.7 热稳定 α -淀粉酶：CAS号9000-85-5，酶活力 ≥ 250 U/mg。

5.1.8 淀粉葡萄糖苷酶：CAS号9032-08-0，酶活力 ≥ 60 U/mg。

5.1.9 低聚半乳糖对照品：与检测样品同一批次，有明确纯度标示。

注1：酶活性单位定义及酶活性判定标准参考GB 5009.88-2023 附录A。

注2：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。

5.2 对照品溶液配制

5.2.1 低聚半乳糖对照品储备液(1000 $\mu\text{g/mL}$): 准确称取低聚半乳糖对照品(5.1.9) 1 g(精确至1.0 mg), 加4 mL水溶解, 混匀, 转移至10 mL容量瓶中, 用乙腈(5.1.1)定容后混匀, 静置10 min。取1 mL转移至100 mL容量瓶中, 用水定容后混匀, 取5 mL用 C_{18} 固相萃取小柱过滤净化后作为储备液。临用现配。

5.2.2 低聚半乳糖对照品系列工作液: 精确量取储备液(5.2.1)适量, 加水稀释成10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 、150 $\mu\text{g/mL}$ 、200 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品工作溶液, 临用现配。

5.3 试剂配制

5.3.1 乙酸溶液(0.2 mol/L): 准确吸取1.2 mL冰乙酸(5.1.5), 用水稀释至100 mL。

5.3.2 乙酸钠溶液(0.2 mol/L): 准确称取2.72 g三水合乙酸钠(5.1.6), 用水溶解并稀释至100 mL。

5.3.3 乙酸盐缓冲液(pH为4.5): 将28 mL乙酸溶液(5.3.1)与22 mL乙酸钠溶液(5.3.2)混合, 用水稀释至100 mL, 用乙酸将pH调节为 4.5 ± 0.2 。

5.3.4 热稳定 α -淀粉酶溶液(约1000 U/mL): 称取相当于活力约5000 U热稳定 α -淀粉酶(5.1.7)溶于5 mL乙酸盐缓冲液(5.3.3)中, 混匀至完全溶解。临用现配。

5.3.5 淀粉葡萄糖苷酶溶液(约500 U/mL): 称取相当于活力约2500 U淀粉葡萄糖苷酶(5.1.8)溶于5 mL乙酸盐缓冲液(5.3.3)中, 混匀至完全溶解。临用现配。

5.3.6 淋洗液A(水): 量取2 L一级水, 避免振摇, 使用前脱气30 min, 充氮气可保存一周。

5.3.7 淋洗液B(250 mmol/L氢氧化钠溶液): 量取50%氢氧化钠溶液(5.1.3) 13.9 mL, 用水定容至1 L, 使用前脱气30 min, 充氮气可保存一周。

5.3.8 淋洗液C(100 mmol/L 氢氧化钠溶液, 含1.0 mol/L乙酸钠): 称取82.0 g无水乙酸钠(5.1.4), 用0.8 L水溶解后加入50%氢氧化钠溶液(5.1.3) 5.6 mL, 用水定容至1 L, 使用前脱气30 min, 充氮气可保存一周。

5.3.9 淋洗液D(100 mmol/L 乙酸钠溶液): 称取8.2 g无水乙酸钠(5.1.4), 用水溶解并定容至1 L, 使用前脱气30 min, 充氮气可保存一周。

6 仪器和设备

6.1 离子色谱分析仪: 配备脉冲安培检测器、金工作电极、 Ag/AgCl 参比电极、糖四电位波形。

6.2 天平: 感量为0.001 g。

6.3 超声波清洗器。

6.4 涡旋振荡器。

6.5 高速离心机, 不低于8 000 r/min。

6.6 恒温水浴摇床: 控温范围在室温 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ~ $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, 温度波动 $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

6.7 固相萃取装置。

6.8 C_{18} 固相萃取小柱: 500 mg, 3 mL或效果相当者。

6.9 滤膜: 0.22 μm 有机膜。

7 分析步骤

7.1 试样处理

7.1.1 提取

准确称取1 g~2 g提前混合均匀的液态或固态试样至15 mL离心管中（精确至1 mg），加水至5 mL，涡旋混匀，60 °C水浴25 min。放至室温后，转移至10 mL容量瓶中用乙腈（5.1.1）定容，混匀。静置10 min（必要时延长沉降时间，或转移至离心管中8000 r/min离心3 min），取1 mL上清液用水稀释至10 mL，混匀后待净化。

注：若有低聚麦芽糖等其他低聚糖的干扰，可在转移至10 mL容量瓶中用乙腈（5.1.1）定容前，参照以下方法进行的操作。

加水至5 mL，涡旋混匀后，加入150 μL热稳定α-淀粉酶溶液（5.3.4），再次混匀后于恒温水浴摇床（6.6）95 °C振摇35 min。冷却至室温，加入500 μL淀粉葡萄糖苷酶溶液（5.3.5），混匀后于恒温水浴摇床（6.6）60 °C振摇30 min。放至室温，待定容。

7.1.2 净化

将C₁₈固相萃取小柱（6.8）依次用3 mL甲醇（5.1.2）和3 mL水活化，保持小柱湿润。取5 mL待净化液（7.1.1）转移至已活化的C₁₈固相萃取小柱中，弃去前2 mL，收集后3 mL滤液，过0.22 μm有机相滤膜（6.9）待测。

7.2 色谱参考条件

- 色谱柱：阴离子交换色谱柱 PA-20，150 mm（长度）×3 mm（内径）×3.5 μm（粒径）或等效色谱柱。
- 保护柱：PA-20，长度 30 mm（长度）×3 mm（内径）×3.5 μm（粒径）或等效保护柱。
- 淋洗液及洗脱程序：详见表 1；
- 柱温：30 °C；
- 进样体积：100 μL；
- 检测器：脉冲安培检测器、金工作电极、Ag/AgCl 参比电极、糖四电位波形。

表 1 梯度洗脱程序

时间 min	流速 mL/min	淋洗液A %	淋洗液B %	淋洗液C %	淋洗液D %
0	0.45	58	40	0	2
10	0.45	58	40	0	2
40	0.45	15	40	0	45
45	0.45	15	40	0	45
45.1	0.40	0	0	100	0
55	0.40	0	0	100	0
55.1	0.40	20	80	0	0
60	0.40	20	80	0	0
60.1	0.45	58	40	0	2
65	0.45	58	40	0	2

7.3 标准曲线的制作

将对照品工作溶液在7.2的条件下分别进样，综合考虑试样基质本底的干扰、色谱峰的响应以及加标回收情况选择不受试样本底干扰的色谱峰作为特征峰，以对照品工作溶液的浓度为横坐标，特征峰峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。标准溶液色谱图参见附录A。

注：可根据试样中组分的含量，适当增加稀释倍数*f*，使其不超出标准曲线测定范围。

8 结果计算与表述

试样中低聚半乳糖的含量按公式（1）计算：

$$X = \frac{c \times V \times f}{m} \times P \times \frac{100}{10^6} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X —— 试样中低聚半乳糖的含量，单位为克每百克（g/100g）；
- c —— 根据标准曲线计算得到的试样中低聚半乳糖的浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；
- V —— 定容体积，单位为毫升（mL）；
- f —— 稀释倍数；
- m —— 试样的称样量，单位为克（g）；
- P —— 低聚半乳糖对照品的纯度；
- 100 —— 单位换算系数；
- 10^6 —— 单位换算系数。

计算结果保留至小数点后两位。

9 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 %。

10 检出限、定量限

当液态试样取样量为1 g时，检出限为0.01 g/100 g，定量限为0.02 g/100 g；当固态试样取样量为2 g时，检出限为0.02 g/100g，定量限为0.05 g/100 g。

附录 A

(资料性)

低聚半乳糖对照品的离子色谱图

低聚半乳糖对照品200 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液的离子色谱图见图A. 1；试样中低聚半乳糖离子色谱图见图A. 2。

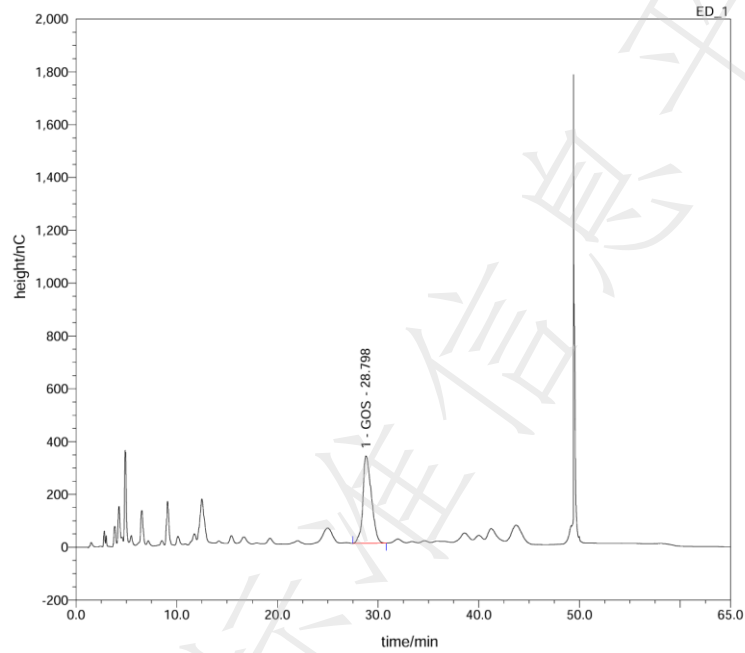
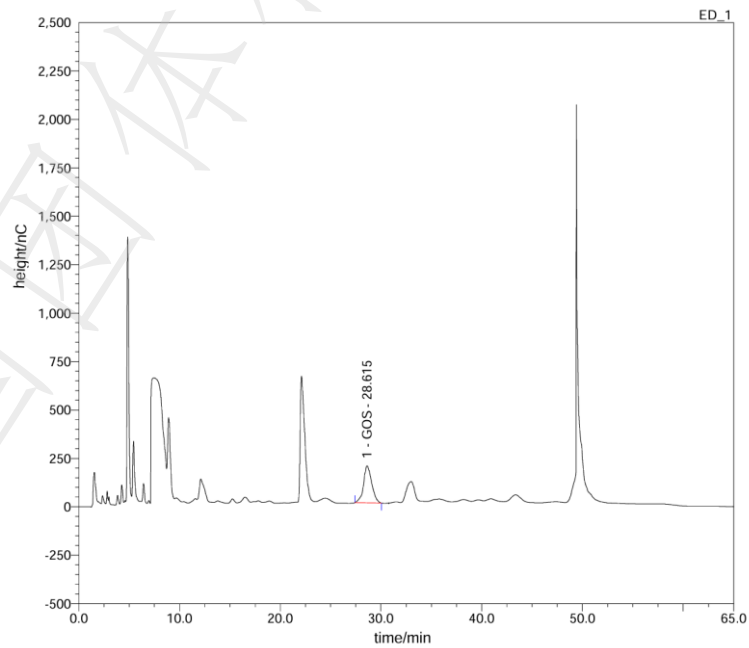
图 A. 1 低聚半乳糖对照品 200 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液离子色谱图

图 A. 2 试样中低聚半乳糖离子色谱图