

中华人民共和国国家标准

GB 1903.27—2022

食品安全国家标准

食品营养强化剂 低聚半乳糖

2022-06-30 发布

2022-12-30 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局 发布

食品安全国家标准

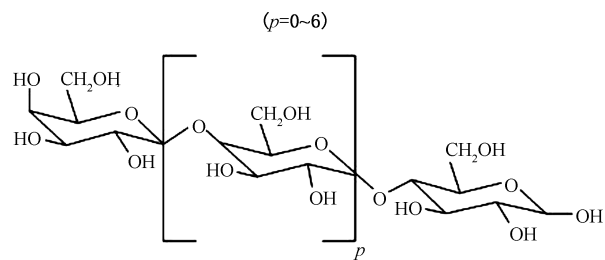
食品营养强化剂 低聚半乳糖

1 范围

本标准适用于以乳糖为原料,经芽孢杆菌 ATCC 31382 (*Bacillus* sp.) 或米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 生产的 β -半乳糖苷酶催化水解半乳糖苷键,将乳糖水解成为半乳糖和葡萄糖,同时通过转移半乳糖苷的作用,将水解下来的半乳糖苷转移到乳糖分子,生成的食品营养强化剂低聚半乳糖。

2 结构式、分子式和相对分子质量

2.1 结构式



2.2 分子式

$(C_6H_{11}O_5)_n$, n 为 2~8。

2.3 相对分子质量

300~2 000(按 2018 年国际相对原子质量)

3 产品分类

3.1 低聚半乳糖粉

低聚半乳糖液直接干燥产品。

3.2 低聚半乳糖液

低聚半乳糖的液体产品。

4 技术要求

4.1 感官要求

感官要求应符合表 1 的规定。

表 1 感官要求

项目	要求		检验方法
	粉末	液体	
色泽与状态	白色或微黄色粉末	无色透明或淡黄色糖浆	取适量试样置于清洁、干燥的白瓷盘或烧杯中,在自然光线下,观察其色泽和状态,并嗅(品)其味
气味	无异味	无异味	
滋味	味甜	味甜	

4.2 理化指标

理化指标应符合表 2 的规定。

表 2 理化指标

项目	指标		检验方法
	粉末	液体	
低聚半乳糖含量(以干基计), $w/\%$	\geq	57	附录 A 中 A.2
乳糖含量(以干基计), $w/\%$	\leq	23	附录 A 中 A.3
葡萄糖含量(以干基计), $w/\%$	\leq	22	附录 A 中 A.4
可溶性固形物含量, $w/\%$	\geq	—	附录 A 中 A.5
水分, $w/\%$	\leq	5.0	GB 5009.3 直接干燥法 ^a
硫酸灰分, $w/\%$	\leq	0.3	附录 A 中 A.6
pH	—	2.8~5.5	附录 A 中 A.7
铅(Pb)/(mg/kg)	\leq	0.5	GB 5009.12 或 GB 5009.75

^a 取样量 1 g,精确至 0.1 mg;干燥温度和时间分别为 105 °C \pm 2 °C 和 3 h。

4.3 微生物限量

微生物限量应符合表 3 的规定。

表 3 微生物限量

项目	限量	检验方法
菌落总数/(CFU/g 或 CFU/mL)	\leq 3 000	GB 4789.2
大肠菌群/(MPN/g 或 MPN/mL)	\leq 3.0	GB 4789.3 大肠菌群 MPN 计数法
霉菌/(CFU/g 或 CFU/mL)	\leq 50	GB 4789.15
酵母菌/(CFU/g 或 CFU/mL)	\leq 50	GB 4789.15
金黄色葡萄球菌/(MPN/g 或 MPN/mL)	$<$ 3.0	GB 4789.10 金黄色葡萄球菌 MPN 计数
沙门氏菌	0/25 g(mL)	GB 4789.4

附 录 A 检 验 方 法

A.1 一般规定

本标准所用试剂和水,在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和 GB/T 6682 中规定的一级水。试验中所用标准滴定溶液、杂质测定用标准溶液、制剂及制品,在没有注明其他要求时,均按 GB/T 601、GB/T 602、GB/T 603 的规定制备。试验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时,均指水溶液。

A.2 低聚半乳糖含量的测定

A.2.1 高效液相色谱双柱法

A.2.1.1 方法提要

试样用水提取后,分别利用银型阳离子交换柱、氨基柱分离,高效液相色谱-示差检测器测定,面积归一化法进行定量。

A.2.1.2 试剂和材料

A.2.1.2.1 乙腈:色谱纯。

A.2.1.2.2 半乳糖、葡萄糖、乳糖、异乳糖、低聚半乳二糖、低聚半乳三糖、低聚半乳四糖、低聚半乳五糖、低聚半乳六糖、低聚半乳七糖、低聚半乳八糖标准品(纯度 $\geq 95\%$)。

A.2.1.2.3 半乳糖、葡萄糖、乳糖、低聚半乳二糖、低聚半乳三糖、低聚半乳四糖、低聚半乳五糖、低聚半乳六糖、低聚半乳七糖、低聚半乳八糖各单组分标准溶液。

称取适量的半乳糖、葡萄糖、乳糖、低聚半乳二糖、低聚半乳三糖、低聚半乳四糖、低聚半乳五糖、低聚半乳六糖、低聚半乳七糖、低聚半乳八糖标准品,分别用适量的水溶解,配制成浓度分别为 20 mg/mL 的各单组分标准溶液。

A.2.1.3 仪器和设备

A.2.1.3.1 高效液相色谱仪(带示差检测器)。

A.2.1.3.2 超声波振荡器。

A.2.1.4 分析步骤

A.2.1.4.1 试样液的制备

称取试样 1.0 g,加适量的水溶解,于超声波振荡器中振荡 10 min,用水定容至 100 mL,混匀,0.2 μm 微孔滤膜过滤,用于银型阳离子交换柱测定;称取试样 5.0 g,加适量的水溶解,于超声波振荡器中振荡 10 min,用水定容至 100 mL,混匀,0.22 μm 微孔滤膜过滤,用于氨基柱测定。

A.2.1.4.2 参考色谱条件

A.2.1.4.2.1 银型阳离子交换柱参考色谱条件

参考色谱条件如下:

- a) 银型阳离子交换柱(10 mm×200 mm);或具有同等性能的色谱柱。
- b) 检测器温度:50 ℃。
- c) 流动相流速:0.3 mL/min。
- d) 柱温:75 ℃。
- e) 进样量:20 μL。
- f) 流动相:高纯水。

A.2.1.4.2.2 氨基柱参考色谱条件

参考色谱条件如下:

- a) 氨基柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);或具有同等性能的色谱柱。
- b) 流动相:乙腈:水=70:30。
- c) 流动相流速:1.0 mL/min。
- d) 检测器温度:40 ℃。
- e) 柱温:35 ℃。
- f) 进样量:20 μL。

A.2.1.5 定性测定

在参考色谱条件(A.2.1.4.2.1)和(A.2.1.4.2.2)下,根据各单糖标准品的保留时间,与待测样品中组分的保留时间进行定性,定性色谱图参见附录B。

A.2.1.6 定量测定

A.2.1.6.1 按照银型阳离子交换柱参考色谱条件(A.2.1.4.2.1)稳定好高效液相色谱仪,将制备的样品(A.2.1.4.1)注入高效液相色谱仪中,测定样品中各组分色谱峰面积,采用面积归一化法计算各组分相对百分含量。

A.2.1.6.2 按照氨基柱参考色谱条件(A.2.1.4.2.2)稳定好高效液相色谱仪,将制备的样品(A.2.1.4.1)注入高效液相色谱仪中,测定样品中各组分色谱峰面积,采用面积归一化法计算各组分相对百分含量。

A.2.1.7 结果计算

A.2.1.7.1 银型阳离子交换柱,试样中组分*i*占总糖的相对百分比含量按式(A.1)计算。

$$DP_i = \frac{A_i}{\sum A_i} \times 100 \quad \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

- DP_i ——试样中组分*i*占总糖的百分含量,%;
- A_i ——试样中组分*i*的峰面积;
- $\sum A_i$ ——试样中所有各组分的峰面积的总和。

A.2.1.7.2 氨基柱,试样中乳糖在总二糖中的百分比含量按式(A.2)计算。

$$X_{\text{乳}} = \frac{A_{\text{乳}}}{A_{\text{半}} + A_{\text{异}} + A_{\text{乳}}} \times 100 \quad \dots\dots\dots (A.2)$$

式中:

- $X_{\text{乳}}$ ——试样中的乳糖在总二糖中的百分含量,%;
- $A_{\text{乳}}$ ——试样中的乳糖的峰面积;
- $A_{\text{半}}$ ——试样中的低聚半乳二糖的峰面积;
- $A_{\text{异}}$ ——试样中的异乳糖的峰面积。

A.2.1.7.3 试样中低聚半乳糖百分比含量按式(A.3)计算。

$$G_n = 100\% - DP_{\text{半}} - DP_{\text{葡}} - X_{\text{乳}} \times DP_2 \quad \dots\dots\dots (A.3)$$

式中：

G_n ——试样中低聚半乳糖百分比含量，%；

$DP_{\text{半}}$ ——试样中的半乳糖在总糖中的百分含量，%；

$DP_{\text{葡}}$ ——试样中的葡萄糖在总糖中的百分含量，%；

DP_2 ——总二糖(低聚半乳糖二糖、乳糖、异乳糖)在总糖中的百分含量，%。

A.2.1.8 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过其算术平均值的5%。

A.2.2 高效离子交换色谱法(仲裁法)

A.2.2.1 方法提要

用磷酸盐缓冲液提取试样中游离的低聚半乳糖和乳糖，采用半乳糖苷酶将提取液中低聚半乳糖和乳糖酶解，将提取的初始溶液和酶处理过的溶液分别用高效离子色谱仪测定。第一步测定初始溶液中游离的半乳糖和乳糖，第二步测定从低聚半乳糖和乳糖中释放出的半乳糖总量。利用乳糖和半乳糖的含量计算试样中低聚半乳糖的含量。

A.2.2.2 试剂和材料

A.2.2.2.1 磷酸二氢钾。

A.2.2.2.2 三水磷酸氢二钾。

A.2.2.2.3 浓盐酸。

A.2.2.2.4 氢氧化钠。

A.2.2.2.5 无水醋酸钠。

A.2.2.2.6 乙腈：色谱级。

A.2.2.2.7 半乳糖苷酶：活性约 50 000 U/g，来源于米曲霉。

A.2.2.2.8 无水半乳糖：纯度 $\geq 99\%$ 。

A.2.2.2.9 乳糖：纯度 $\geq 99\%$ 。

A.2.2.2.10 葡萄糖：纯度 $\geq 99\%$ 。

A.2.2.2.11 磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L, pH 6.0)：分别称取 22.0 g 磷酸二氢钾和 6.0 g 三水磷酸氢二钾，用适量的水溶解，定容至 1 L，120 °C \pm 2 °C 高压灭菌器中灭菌 30 min，备用。

A.2.2.2.12 氢氧化钠溶液(50%，碳酸钠杂质含量小于 1%)：称取 100 g 氢氧化钠，加 100 mL 水，搅拌至完全溶解，静置至碳酸钠沉淀，上层液体澄清(约需 10 d)。不用时密封。

A.2.2.2.13 β -半乳糖苷酶溶液(500 U/mL)：取适量半乳糖苷酶(A.2.2.2.7)混悬于磷酸盐缓冲液中，制成最终活力单位为 500 U/mL 的酶溶液，使用前充分振摇，酶溶液制备后 8 h 内使用。

A.2.2.2.14 乙腈溶液(20%，体积分数)：取 200 mL 乙腈(A.2.2.2.6)加水稀释定容至 1 L。

A.2.2.2.15 氢氧化钠溶液(125 mmol/L)：取 6.95 mL 50% 氢氧化钠溶液(A.2.2.2.12)，转移至 1 L 容量瓶中，去离子水定容至刻度，使用前脱气 30 min。

A.2.2.2.16 乙酸钠-氢氧化钠溶液：称取 32.8 g 无水乙酸钠，用适量的水溶解，再移入氢氧化钠溶液(A.2.2.2.12)14 mL，用水定容至 1 L，0.2 μ m 滤膜过滤，使用前脱气 30 min。

A.2.2.2.17 半乳糖标准储备液：取一定量半乳糖在 105 °C \pm 2 °C 烘箱中干燥 4 h，准确称取 0.1 g，精确至 \pm 0.1 mg 干燥后的半乳糖，加水溶解并转移至 100 mL 容量瓶中，用水稀释定容。

A.2.2.2.18 乳糖标准储备液:取一定量乳糖在 $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥 4 h。准确称取 0.1 g,精确至 $\pm 0.1\text{ mg}$ 干燥后的乳糖,加水溶解并转移至 100 mL 容量瓶中,用水稀释定容。

注:上述烘干后的乳糖乘以 0.95 即为无水乳糖重量。

A.2.2.2.19 葡萄糖标准储备液:称取一定量葡萄糖在 $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥 4 h,准确称取 0.1 g,精确至 $\pm 0.1\text{ mg}$ 干燥后的葡萄糖,加水溶解并转移至 100 mL 容量瓶中,用水稀释定容。

A.2.2.2.20 半乳糖、乳糖、葡萄糖混合工作液:分别移取半乳糖、乳糖、葡萄糖的标准储备液各 10.0 mL,于 100 mL 容量瓶中,用水稀释定容。

A.2.2.3 仪器和设备

A.2.2.3.1 高效离子色谱仪:配备脉冲安培检测器。

A.2.2.3.2 pH 计。

A.2.2.3.3 分析天平:感量为 0.1 mg。

A.2.2.3.4 水浴振荡器: $40\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

A.2.2.3.5 移液器:100 μL 和 1 000 μL 。

A.2.2.3.6 离心机:转速 $\geq 5\text{ }000\text{ r/min}$ 。

A.2.2.3.7 超声清洗机。

A.2.2.3.8 涡旋混合器。

A.2.2.4 色谱参考条件

A.2.2.4.1 色谱柱:PA20 阴离子交换色谱柱(150 mm \times 3 mm,颗粒 3.5 μm),保护柱(30 mm \times 3 mm)或等效色谱柱。

A.2.2.4.2 柱温: $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

A.2.2.4.3 流动相:洗脱梯度见表 A.1。

A.2.2.4.4 流动相流速:0.4 mL/min。

A.2.2.4.5 进样量:20 μL 。

A.2.2.4.6 检测器:脉冲安培检测器,金工作电极,Ag/AgCl 参比电极,检测器时间程序,参见表 A.2。

表 A.1 梯度洗脱程序表

时间/min	氢氧化钠溶液 (125 mmol/L)/%	乙酸钠+氢氧化钠溶液(400 mmol/L 乙酸钠,含 250 mmol/L 氢氧化钠溶液)/%	水/%
0	8	0	92
13.0	8	0	92
15.0	12	0	88
34.0	12	0	88
34.1	0	100	0
40.0	0	100	0
40.1	100	0	0
45.0	100	0	0
45.10	8	0	92
55.0	8	0	92

表 A.2 检测器电位波形程序

时间/s	电位/V	积分
0.00	0.1	—
0.20	0.1	开始
0.40	0.1	结束
0.41	-2.0	—
0.42	-2.0	—
0.43	0.6	—
0.44	-0.1	—

A.2.2.5 分析步骤

A.2.2.5.1 标准溶液的制备

分别量取半乳糖、乳糖和葡萄糖混合标准工作液(A.2.2.2.20)0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、5.0 mL、10.0 mL置于100 mL容量瓶中,用水稀释至刻度,制成系列混合标准工作溶液,见表A.3,按照色谱条件(A.2.2.4)进行测定,以各组分的浓度为横坐标、峰面积为纵坐标,绘制标准工作曲线。

表 A.3 半乳糖、乳糖和葡萄糖标准溶液

半乳糖/($\mu\text{g}/\text{mL}$)	乳糖/($\mu\text{g}/\text{mL}$)	葡萄糖/($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0.50	0.475	0.50
1.00	0.95	1.00
2.00	1.90	2.00
5.00	4.95	5.00
10.00	9.50	10.00

A.2.2.5.2 试样液的制备

准确称取0.1 g试样,精确至 ± 0.001 g,用适量的磷酸盐缓冲溶液(A.2.2.2.11)溶解并转移到100 mL容量瓶中定容至刻度,混匀。

A.2.2.5.3 试样液的前处理

A.2.2.5.3.1 酶解试样前处理

吸取制备的试样液10 mL(A.2.2.5.2),移入100 mL容量瓶中,标记为 A_1 ,吸取1 mL半乳糖苷酶溶液(A.2.2.2.13),放入 A_1 中,用铝箔纸密闭摇匀;同时做酶试剂空白,吸取制备的10 mL磷酸盐缓冲溶液(A.2.2.2.11),移入100 mL容量瓶中,标记为 A_0 ,吸取1 mL半乳糖苷酶溶液(A.2.2.2.13),放入 A_0 中,用铝箔纸密闭摇匀。

将含有活性酶 A_1 和 A_0 的两个100 mL容量瓶在 $60\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中持续温和振摇60 min(从混合物温度达到 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 开始计算加热时间,振摇过程中避免形成水沫或空气泡沫),然后将 A_0 、 A_1 两个处理溶液,用冰浴冷却至室温,向 A_0 、 A_1 两个100 mL容量瓶中,各加入20%乙腈溶液(A.2.2.2.14)5 mL,用

水定容,混匀。分别取适量上述处理后溶液至离心管中,10 000 r/min 离心 10 min,上层水相用0.22 μm 滤膜过滤。

A.2.2.5.3.2 初始试样溶液前处理

吸取制备的试样液 10 mL(A.2.2.5.2),移入 100 mL 容量瓶中,标记为 A₂,加入 20%乙腈溶液(A.2.2.2.14)5 mL,用水定容,混匀,取适量上述处理后溶液至离心管中,10 000 r/min 离心 10 min,上层水相用 0.22 μm 滤膜过滤。

A.2.2.5.4 试样测定

吸取离心后的酶空白、酶解试样和初始试样溶液,分别稀释为 D₀、D₁ 和 D₂ 倍,使半乳糖、乳糖和葡萄糖含量在标准曲线线性范围内,按照色谱条件(A.2.2.4)进样测定样液中的半乳糖、乳糖和葡萄糖含量,根据标准品的保留时间进行试样中各组分定性,色谱图参见附录 C;根据标准工作曲线计算试样中的半乳糖、乳糖和葡萄糖含量。

A.2.2.6 结果计算

A.2.2.6.1 样液 A₂ 中游离半乳糖、乳糖和葡萄糖的计算

试样 A₂ 中游离半乳糖、乳糖和葡萄糖含量分别以质量分数 w_1 、 w_2 和 w_3 计(占干物质),按式(A.4)、式(A.5)、式(A.6)计算。

$$w_1 = \frac{c_1 \times V_1 \times V_2 \times D_2 \times 10^{-6}}{m \times V_3} \times 100 \quad \dots\dots\dots (A.4)$$

$$w_2 = \frac{c_2 \times V_1 \times V_2 \times D_2 \times 10^{-6}}{m \times V_3} \times 100 \quad \dots\dots\dots (A.5)$$

$$w_3 = \frac{c_3 \times V_1 \times V_2 \times D_2 \times 10^{-6}}{m \times V_3} \times 100 \quad \dots\dots\dots (A.6)$$

式中:

- w_1 ——试样中游离半乳糖的含量,单位为克每一百克(g/100 g);
- w_2 ——试样中游离乳糖的含量,单位为克每一百克(g/100 g);
- w_3 ——试样中游离葡萄糖的含量,单位为克每一百克(g/100 g);
- c_1 ——标准曲线上查得的半乳糖的含量,单位为微克每毫升(μg/mL);
- c_2 ——标准曲线上查得的乳糖的含量,单位为微克每毫升(μg/mL);
- c_3 ——标准曲线上查得的葡萄糖的含量,单位为微克每毫升(μg/mL);
- V_1 ——试样制备定容体积,单位为毫升(mL);
- V_2 ——试样前处理后定容体积,单位为毫升(mL);
- V_3 ——试样前处理时取试样的体积,单位为毫升(mL)。
- D_2 ——样液 A₂ 的稀释倍数;
- m ——试样质量,单位为克(g)。

A.2.2.6.2 游离的乳糖酶解释放的半乳糖和葡萄糖含量

试样 A₂ 中游离的乳糖酶解释放的半乳糖和葡萄糖含量,分别以半乳糖和葡萄糖的质量分数 w_4 和 w_5 计(占干物质),按式(A.7)、式(A.8)计算。

$$w_4 = w_2 / 1.9 \quad \dots\dots\dots (A.7)$$

$$w_5 = w_2 / 1.9 \quad \dots\dots\dots (A.8)$$

式中：

w_4 ——游离的乳糖酶解释放的半乳糖含量，单位为克每一百克(g/100 g)；

1.9——乳糖折算成半乳糖的折算系数；

w_5 ——游离的乳糖酶解释放的葡萄糖含量，单位为克每一百克(g/100 g)。

A.2.2.6.3 酶解试样释放的半乳糖和葡萄糖的计算

酶解试样释放的半乳糖和葡萄糖含量，分别以质量分数 w_6 和 w_7 计(占干物质)，按式(A.9)、式(A.10)计算。

$$w_6 = \frac{c_4 \times V_1 \times V_2 \times D_1 \times 10^{-6}}{m \times V_3} \times 100 \quad \dots\dots\dots (A.9)$$

$$w_7 = \frac{(c_5 \times D_1 - c_6 \times D_0) \times V_2 \times V_1 \times 10^{-6}}{m \times V_3} \times 100 \quad \dots\dots\dots (A.10)$$

式中：

w_6 ——酶解试样中总半乳糖含量，单位为克每一百克(g/100 g)；

w_7 ——酶解试样中总葡萄糖含量，单位为克每一百克(g/100 g)；

c_4 ——标准曲线上查 A_1 溶液中半乳糖的含量，单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)；

c_5 ——标准曲线上查 A_1 溶液中葡萄糖的含量，单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)；

c_6 ——标准曲线上查 A_0 溶液中葡萄糖的含量，单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)；

V_1 ——试样制备定容体积，单位为毫升(mL)；

V_2 ——试样酶解处理后定容体积，单位为毫升(mL)；

V_3 ——试样酶解时取试样的体积，单位为毫升(mL)；

D_1 ——酶解液稀释倍数；

D_0 ——酶试剂空白稀释倍数；

m ——试样质量，单位为克(g)。

A.2.2.6.4 低聚半乳糖酶解释放半乳糖和葡萄糖的计算

低聚半乳糖酶解释放半乳糖和葡萄糖的含量，分别以质量分数 w_8 和 w_9 计(占干物质)，按式(A.11)、式(A.12)计算。

$$w_8 = w_6 - w_1 - w_4 \quad \dots\dots\dots (A.11)$$

$$w_9 = w_7 - w_5 - w_3 \quad \dots\dots\dots (A.12)$$

式中：

w_8 ——低聚半乳糖酶解释放半乳糖的含量，单位为克每一百克(g/100 g)；

w_9 ——低聚半乳糖酶解释放葡萄糖的含量，单位为克每一百克(g/100 g)。

A.2.2.6.5 试样中低聚半乳糖含量的计算

试样中低聚半乳糖的含量以质量分数 w_{10} 计(占干物质)，按式(A.13)、式(A.14)计算 k 值，按式(A.15)计算低聚半乳糖的含量 w_{10} 。

$$q = \frac{w_8}{w_9} \quad \dots\dots\dots (A.13)$$

$$k = \frac{0.9 \times q + 1}{q} \quad \dots\dots\dots (A.14)$$

$$w_{10} = w_8 \times k \quad \dots\dots\dots (A.15)$$

式中：

q ——试样中低聚半乳糖酶解释放半乳糖和葡萄糖含量的比值；

k ——低聚半乳糖酶解释放的半乳糖换算系数；

w_{10} ——试样中低聚半乳糖的含量，单位为克每一百克(g/100 g)。

A.2.2.7 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过其算术平均值的5%。

A.3 乳糖含量的测定

A.3.1 高效液相色谱双柱法

A.3.1.1 分析步骤

同 A.2.1.4。

A.3.1.2 定量测定

同 A.2.1.6。

A.3.1.3 结果计算

试样中乳糖的质量分数以 $w_{\text{乳}}$ 计(占干物质)，按式(A.16)计算。

$$w_{\text{乳}} = X_{\text{乳}} \times DP_2 \quad \dots\dots\dots (A.16)$$

式中：

$w_{\text{乳}}$ ——试样中的乳糖的含量，%；

$X_{\text{乳}}$ ——试样中的乳糖在总二糖中的百分含量，%；

DP_2 ——总二糖(低聚半乳糖二糖、乳糖、异乳糖)在总糖中的含量，%。

A.3.1.4 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过其算术平均值的5%。

A.3.2 高效离子交换色谱法

A.3.2.1 分析步骤

A.3.2.1.1 试样液的制备

同 A.2.2.5.2。

A.3.2.1.2 试样液的前处理

同 A.2.2.5.3.2。

A.3.2.2 样品测定

同 A.2.2.5.4。

A.3.2.3 结果计算

同 A.2.2.6.1。

A.3.2.4 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过其算术平均值的 5%。

A.4 葡萄糖含量的测定

A.4.1 高效液相色谱双柱法

A.4.1.1 分析步骤

同 A.2.1.4。

A.4.1.2 定量测定

同 A.2.1.6.1。

A.4.1.3 结果计算

同 A.2.1.7.1。

A.4.2 高效离子交换色谱法

A.4.2.1 分析步骤

A.4.2.1.1 试样液的制备

同 A.2.2.5.2。

A.4.2.1.2 试样液的前处理

同 A.2.2.5.3.2。

A.4.2.2 样品测定

同 A.2.2.5.4。

A.4.2.3 结果计算

同 A.2.2.6.1。

A.4.2.4 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过其算术平均值的 5%。

A.5 可溶性固形物含量的测定

A.5.1 仪器和设备

A.5.1.1 手持糖量计

A.5.2 分析步骤

A.5.2.1 仪器校正

分开两面棱镜,用洁净玻璃棒取两滴 GB/T 6682 中要求的二级水于固定的棱镜面上,立即闭合棱

镜,停留几秒钟,使试样达到棱镜温度,在 20 °C 以 GB/T 6682 中要求的二级水(相当于固形物含量为零)对准光源,观察明暗分界线。若明暗分界线不在零点,调节糖量计的调节螺母,直至明暗分界线与零点重合。

A.5.2.2 测定

清洁棱镜面并保持干燥,用玻璃棒取少量试样于固定的棱镜面上,立即闭合棱镜,停留几秒钟,使试样达到棱镜温度。从标尺上读取固形物质量分数,再重复检测一次,每个试样至少测定两次,取算术平均值报告其结果。

A.6 硫酸灰分的测定

A.6.1 试剂和材料

硫酸。

A.6.2 仪器和设备

高温炉。

A.6.3 分析步骤

称取试样 1 g(精确至 0.000 1 g),放入已灼烧至恒重的瓷坩埚中,在电炉上缓缓灼烧至完全炭化,冷却至室温。加入 0.5 mL 硫酸使湿润,低温加热至硫酸蒸汽不再产生。然后移入高温炉中 800 °C ± 25 °C 灼烧至恒重。

A.6.4 结果计算

硫酸灰分以质量分数 w_{11} 表示,按式(A.17)计算。

$$w_{11} = \frac{m_2 - m_3}{m_1 - m_3} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(A.17)$$

式中:

- w_{11} —— 试样中的硫酸灰分的质量分数, %;
- m_2 —— 灼烧后瓷坩埚与残渣的质量,单位为克(g);
- m_3 —— 空坩埚的质量,单位为克(g);
- m_1 —— 试样与空坩埚的质量,单位为克(g)。

实验结果以平行测定结果的算术平均值为准。

A.6.5 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过其算术平均值的 1.0%。

A.7 pH 的测定

A.7.1 仪器

酸度计:精度 0.01pH,备有玻璃电极和甘汞电极(或复合电极)。

A.7.2 分析步骤

按仪器使用说明书调试和校正酸度计。

用新煮沸冷却的中性蒸馏水配制 30% 的低聚半乳糖液待测液。然后,用水冲洗电极探头,用滤纸轻轻吸干,将电极插入待测样液中,调节温度调节器,使仪器指示温度与溶液温度相同,稳定后读数。

所得结果保留至一位小数。

附录 B
双柱法测定低聚半乳糖的谱图

B.1 银型阳离子交换柱测定低聚半乳糖的色谱图见图 B.1。

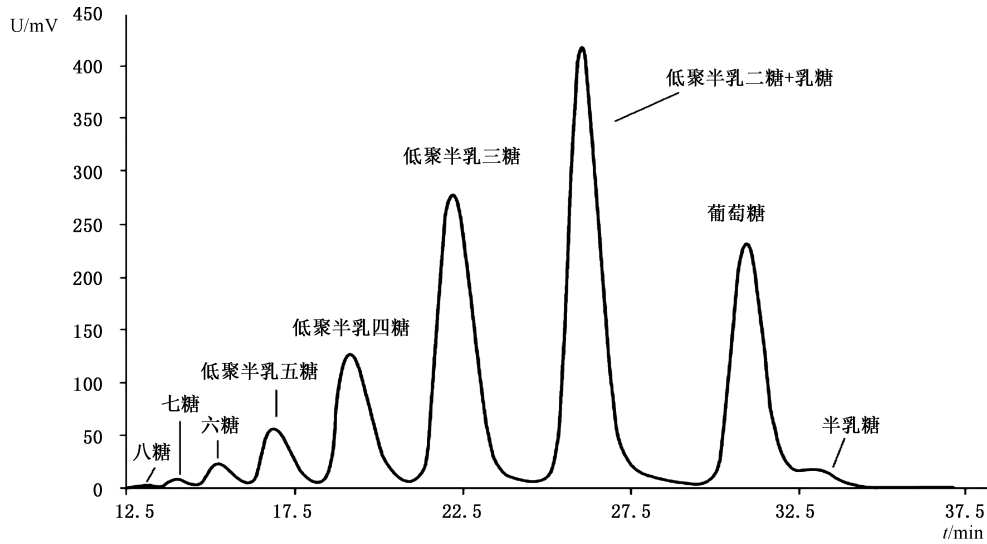


图 B.1 银型阳离子交换柱测定低聚半乳糖的色谱图

B.2 氨基柱测定低聚半乳糖的色谱图见图 B.2。

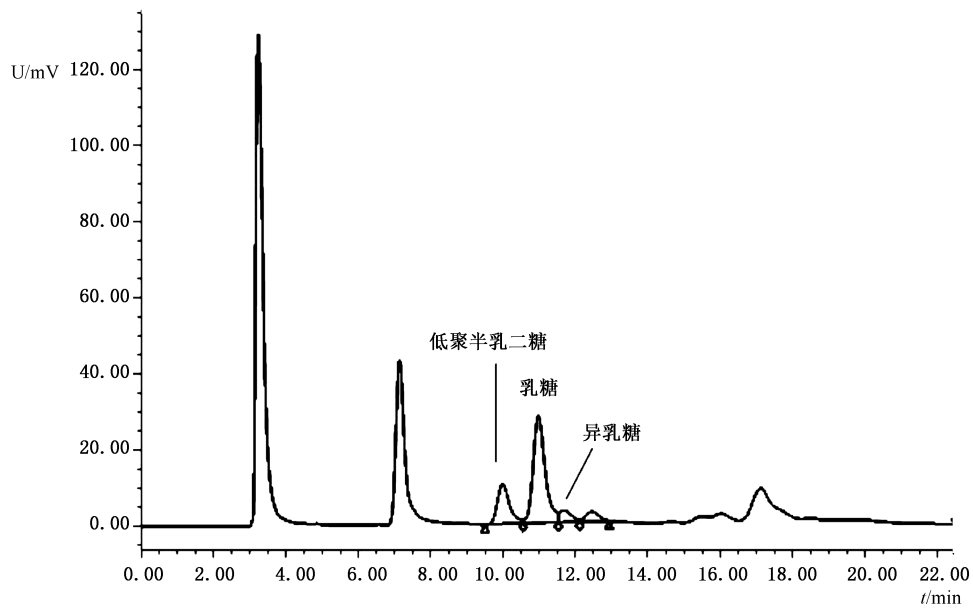


图 B.2 氨基柱测定低聚半乳糖的色谱图

附录 C

高效离子交换色谱法测定低聚半乳糖的谱图

C.1 高效离子交换色谱法测定半乳糖、葡萄糖和乳糖标准品的色谱图见图 C.1。

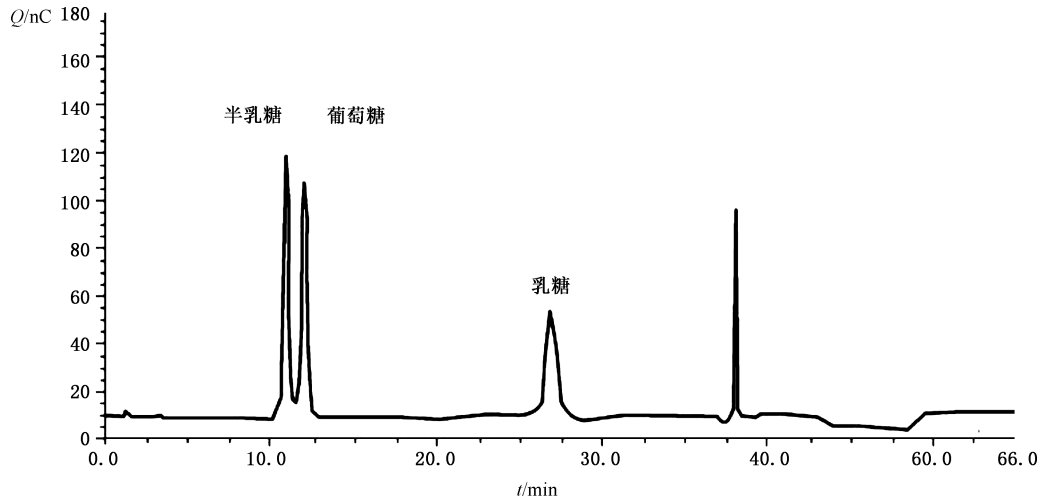


图 C.1 高效离子交换色谱法测定半乳糖、葡萄糖和乳糖标准品的色谱图

C.2 高效离子交换色谱法测定样品酶解的色谱图见图 C.2。

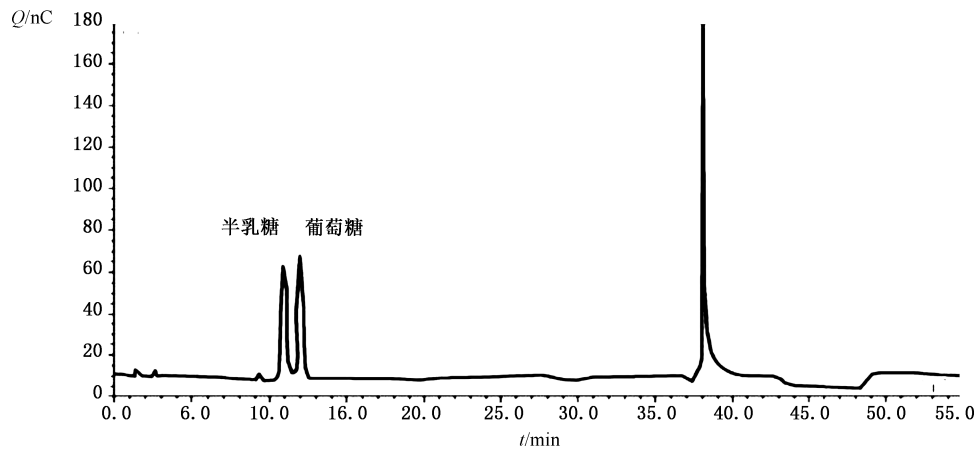


图 C.2 高效离子交换色谱法测定样品酶解的色谱图

C.3 高效离子交换色谱法测定原样品的色谱图见图 C.3。

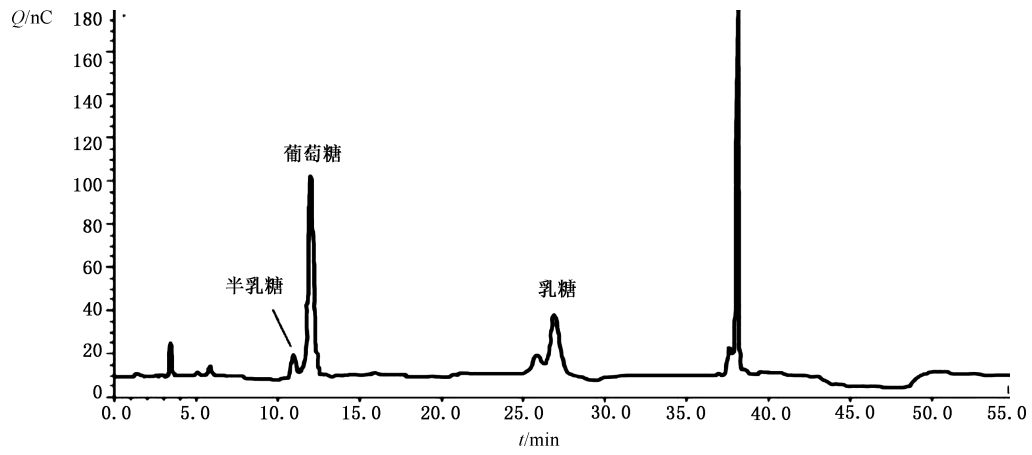


图 C.3 高效离子交换色谱法测定原样品的色谱图