

附件

脂肪酶等 4 种食品添加剂新品种

相关材料

一、征求意见的食品添加剂新品种名单

(一) 食品工业用酶制剂新品种

序号	酶	来源	供体
1	脂肪酶 Lipase	<i>Burkholderia ubonensis</i>	—

食品工业用酶制剂的质量规格要求应符合《食品安全国家标准 食品添加剂 食品工业用酶制剂》（GB 1886.174）的规定。

(二) 食品营养强化剂新品种

1. 中文名称：3-岩藻糖基乳糖

英文名称：3-fucosyllactose, 3-FL

功能分类：食品营养强化剂

用量及使用范围

食品分类号	食品名称	使用量	备注
01.03.02	调制乳粉(仅限儿童用乳粉)	0.25-1.75 g/L (以纯品计,以即食状态计,粉状产品按冲调倍数折算使用量)	当与 2'-岩藻糖基乳糖、乳糖-N-新四糖、3'-唾液酸乳糖钠盐、低聚半乳糖、低聚果糖、多聚果糖、棉子糖混合使用时,该类物质总量不超过 64.5 g/kg。
13.01.01	婴儿配方食品		
13.01.02	较大婴儿和幼儿配方食品		
13.01.03	特殊医学用途婴儿配方食品		

质量规格要求

1 范围

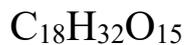
本质量规格要求适用于以乳糖等为原料，经发酵、提纯、干燥等工艺制得的营养强化剂 3-岩藻糖基乳糖。3-岩藻糖基乳糖的生产菌应经过安全性评估并符合附录 C 的要求。

2 化学名称、分子式、结构式和相对分子质量

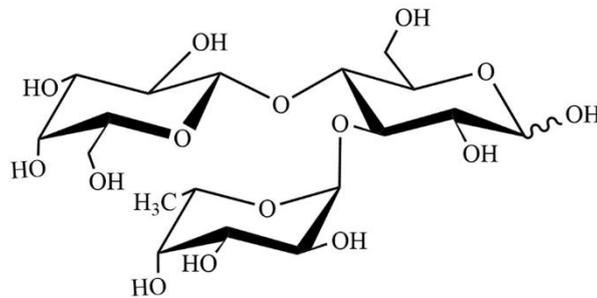
2.1 化学名称

β -D-吡喃半乳糖基-(1 \rightarrow 4)-[α -L-吡喃岩藻糖基-(1 \rightarrow 3)]-D-葡萄糖

2.2 分子式



2.3 结构式



2.4 相对分子质量

488.44 (按 2022 年国际相对原子质量)

3. 技术要求

3.1 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
色泽	白色至类白色	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。
状态	粉末	

3.2 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
3-岩藻糖基乳糖（以干基计），w/%	\geq 90.0	附录 A 中 A.2
D-乳糖，w/%	\leq 3.0	附录 A 中 A.3
L-岩藻糖，w/%	\leq 3.0	附录 A 中 A.3
D-半乳糖和 D-葡萄糖，w/%	\leq 2.0	附录 A 中 A.3
乙醇 ^a ，w/%	$<$ 0.5	附录 A 中 A.4
水分，w/%	\leq 9.0	GB 5009.3 卡尔·费休法
灰分，w/%	\leq 0.5	GB 5009.4
残留蛋白/（mg/kg）	\leq 100	国家卫生健康委 2023 年第 8 号公告 2'-岩藻糖基乳糖附录 A 中的 A.4

内毒素/ (EU/mg) ≤	10	国家卫生健康委 2023 年第 8 号公告 2'-岩藻糖基乳糖附录 A 中的 A.5
总砷 (以 As 计) / (mg/kg) ≤	0.2	GB 5009.11
铅 (Pb) / (mg/kg) ≤	0.05	GB 5009.12
a 仅适用于以乙醇作为溶剂制得的 3-岩藻糖基乳糖产品。		

3.3 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) ≤	500	GB 4789.2
肠杆菌科/ (CFU/g) <	10	GB 4789.41
沙门氏菌/ (25 g)	不得检出	GB 4789.4

附录 A 检验方法

A.1 一般规定

本质量规格要求所用的试剂和水，在未注明其他要求时，均指分析纯试剂和符合 GB/T 6682 规定的一级水。试验中所用标准溶液、杂质测定用标准溶液、制剂和制品，在未注明其他要求时，均按 GB/T 601、GB/T 602 和 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 3-岩藻糖基乳糖（以干基计）的测定

A.2.1 方法提要

3-岩藻糖基乳糖溶于溶剂，在氨基键合色谱柱的液相色谱条件下分离，示差折光检测器检测，用外标法定量。

A.2.2 试剂和材料

A.2.2.1 3-岩藻糖基乳糖对照品（CAS 41312-47-4）：纯度 $\geq 90\%$ 或标明含量的等同物。

A.2.2.2 D-乳糖对照品（CAS 63-42-3）：纯度 $\geq 98\%$ 或标明含量的等同物。

A.2.2.3 乙腈：色谱纯。

A.2.2.4 溶剂：乙腈:水=50:50（v/v）。

A.2.3 仪器和设备

A.2.3.1 高效液相色谱仪：配备示差折光检测器。

A.2.3.2 电子天平：感量为 0.00001 g。

A.2.3.3 超声波清洗机。

A.2.3.4 循环水式多用真空泵。

A.2.4 参考色谱条件

A.2.4.1 色谱柱：氨基键合色谱柱，150 mm×4.6 mm，5 μm 或等效色谱柱。

A.2.4.2 流动相：乙腈:水=72:28 (v/v)（可根据实际仪器系统调整比例）。

A.2.4.3 柱温：25 °C。

A.2.4.4 示差折光检测器温度：37 °C。

A.2.4.5 流速：1 mL/min。

A.2.4.6 进样量：20 μL。

A.2.4.7 运行时间：15 min。

A.2.5 分析步骤

A.2.5.1 标准溶液的配制

分别准确称取三份适量的 3-岩藻糖基乳糖对照品（精确至 0.01 mg），转移到合适的容量瓶中，加溶剂溶解并定容至刻度，得到标准溶液 1、2 和 3。根据对照品纯度折算后 3-岩藻糖基乳糖的浓度分别为 4.0 mg/mL、5.0 mg/mL 和 6.0 mg/mL。

A.2.5.2 系统适用性试验溶液的配制

称取 D-乳糖对照品 10 mg（精确至 0.01 mg）置 10 mL 容量瓶中，加溶剂溶解并定容至刻度，摇匀，作为 D-乳糖对照品储备液。称取试样 50 mg（精确至 0.01 mg）置 10 mL 容量瓶中，加 D-乳糖对照品储备液 1 mL，加溶剂溶解并定容至刻度，含 3-岩藻

糖基乳糖和 D-乳糖分别为 5 mg/mL 和 0.1 mg/mL 混合溶液作为系统适用性试验溶液。

A.2.5.3 试样溶液配制

准确称取试样 50 mg（精确至 0.01 mg）于 10 mL 容量瓶中，加溶剂溶解并定容至刻度，摇匀。相同试样做三个平行试验。

A.2.5.4 系统适用性试验

当满足以下条件时，可进行试样溶液的测定：

——空白溶剂除溶剂峰外无其他色谱峰干扰。

——系统适用性溶液中 3-岩藻糖基乳糖与 D-乳糖的分离度应不小于 1.5。

——连续进样 3 次标准溶液，进样标准溶液 2 时，3-岩藻糖基乳糖峰的信噪比应大于 50。

A.2.5.5 进样顺序

空白溶剂，标准溶液 1、2 和 3，试样溶液，标准溶液 1、2 和 3。在试样溶液前后测得的标准溶液中相同浓度的对照品峰面积的相对偏差应小于 2.0%。如不满足相对偏差要求，需复测。

A.2.5.6 3-岩藻糖基乳糖（以干基计）的测定

以标准溶液中 3-岩藻糖基乳糖的浓度为横坐标，相应的峰面积为纵坐标绘制过零点的标准曲线。3-岩藻糖基乳糖标准溶液参考液相色谱图见附录 B 中 B.1。依试样溶液的峰面积在标准曲线上确定其中 3-岩藻糖基乳糖的浓度。

3-岩藻糖基乳糖含量的质量分数 ω_1 按式（A.1）计算：

$$\omega_1 = \frac{C_1 \times V_1}{m_1} \times 100\% \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

C_1 ——由标准曲线得到的试样溶液中 3-岩藻糖基乳糖的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

V_1 ——试样的定容体积，单位为毫升（mL）；

m_1 ——试样的质量，单位为毫克（mg）。

3-岩藻糖基乳糖（以干基计）含量的质量分数 ω_2 按式（A.2）计算：

$$\omega_2 = \frac{\omega_1}{1-\omega} \times 100\% \dots\dots\dots (A.2)$$

式中：

ω_1 ——3-岩藻糖基乳糖含量的质量分数，%；

ω ——试样中水分含量的质量分数，%。

A.3 D-乳糖、L-岩藻糖、D-半乳糖和 D-葡萄糖的测定

A.3.1 方法提要

3-岩藻糖基乳糖样品溶于适量的水，用流动相进行定容，在氨基键合色谱柱的液相色谱条件下分离，用示差折光检测器检测，以 D-乳糖，L-岩藻糖、D-半乳糖和 D-葡萄糖对照品的保留时间定性，面积归一化法定量。

A.3.2 试剂和材料

A.3.2.1 D-乳糖对照品（CAS 63-42-3）：纯度 $\geq 98\%$ 或标明含量的等同物。

A.3.2.2 L-岩藻糖对照品（CAS 2438-80-4）：纯度 $\geq 95\%$ 或标明含量的等同物。

A.3.2.3 D-葡萄糖对照品（CAS50-99-7）：纯度 $\geq 98\%$ 或标明含量的等同物。

A.3.2.4 D-半乳糖对照品（CAS59-23-4）：纯度 $\geq 98\%$ 或标明含量的等同物。

A.3.2.5 乙腈：色谱纯。

A.3.3 仪器和设备

A.3.3.1 高效液相色谱仪：配备示差折光检测器。

A.3.3.2 电子天平：感量为 0.0001 g 和 0.001 g。

A.3.3.3 超声波清洗机。

A.3.3.4 循环水式多用真空泵。

A.3.4 参考色谱条件

A.3.4.1 色谱柱：氨基键合色谱柱，250 mm \times 4.6 mm，5 μ m 或等效色谱柱。

A.3.4.2 流动相：乙腈:水=72:28（v/v）（可根据实际仪器系统调整比例）。

A.3.4.3 柱温：25 $^{\circ}$ C。

A.3.4.4 示差折光检测器温度：37 $^{\circ}$ C。

A.3.4.5 流速：1 mL/min。

A.3.4.6 进样量：5 μ L。

A.3.4.7 运行时间：30 min。

A.3.5 分析步骤

A.3.5.1 系统适用性试验溶液的配制

分别称取 D-乳糖、L-岩藻糖、D-半乳糖和 D-葡萄糖对照品和试样各约 10 mg、10 mg、5 mg、5 mg 和 500 mg（精确至 0.1 mg），置于同一 10 mL 容量瓶中，加 6 mL 水溶解后用流动相定容至刻度，摇匀，作为系统适用性试验溶液。

A.3.5.2 系统适用性试验

连续进样至少 3 次相同的标准溶液，进行系统适用性测试。当满足以下条件时，可进行试样溶液的测定：

——D-乳糖、L-岩藻糖、D-半乳糖和 D-葡萄糖与相邻其他成分的分离度应不小于 1.5；

——化合物保留时间和峰面积重复性的相对偏差均应小于 2.0%（n=3）。

D-乳糖、L-岩藻糖、D-半乳糖和 D-葡萄糖标准溶液参考液相色谱图见附录 B 中 B.2。

A.3.5.3 试样溶液的配制

精确称取 1.0 g 样品（精确至 0.001 g），加入 20 mL 容量瓶中，加 12 mL 水溶解后用流动相定容至刻度制成 50 mg/mL 的溶液，摇匀，过滤，作为试样溶液。

A.3.5.4 进样顺序

空白溶剂 1 次，系统适用性试验溶液连续进样 3 次，试样溶液 1 次。

A.3.5.5 D-乳糖、L-岩藻糖、D-半乳糖和 D-葡萄糖含量的测定

试样溶液中 D-乳糖、L-岩藻糖、D-半乳糖和 D-葡萄糖含量以面积归一法定量。

D-乳糖、L-岩藻糖、D-半乳糖和 D-葡萄糖含量的质量分数 ω_3 按式 (A.3) 计算：

$$\omega_3 = \frac{A_1}{S_1} \times 100\% \dots\dots\dots (A.3)$$

式中：

A_1 ——试样溶液中 D-乳糖、L-岩藻糖、D-半乳糖、D-葡萄糖的峰面积；

S_1 ——试样溶液中除溶剂峰之外的所有峰面积的总和。

D-半乳糖和 D-葡萄糖加和进行计算。

结果保留小数点后一位。方法检出限为 0.1%。

A.4 乙醇残留的测定

A.4.1 方法提要

试样溶于水中，顶空进样气相色谱氢火焰离子检测器分析，外标法定量。

A.4.2 试剂和材料

A.4.2.1 乙醇：色谱纯，含量 $\geq 99.8\%$ 。

A.4.3 仪器和设备

A.4.3.1 气相色谱仪：配备氢火焰离子检测器。

A.4.3.2 电子天平：感量为 0.0001 g。

A.4.3.3 顶空进样器。

A.4.4 参考色谱条件

A.4.4.1 顶空条件

A.4.4.1.1 顶空瓶温度：80 °C。

A.4.4.1.2 定量环温度：90 °C。

A.4.4.1.3 传输线温度：100 °C。

A.4.4.1.4 顶空瓶平衡时间：30 min。

A.4.4.2 色谱条件

A.4.4.2.1 色谱柱：以聚乙二醇（或极性相近）为固定液的毛细管柱，30 m×0.25 mm×0.25 μm 或等效柱。

A.4.4.2.2 载气：氮气。

A.4.4.2.3 流量：1 mL/min。

A.4.4.2.4 程序升温条件：初始温度 60 °C，维持 5 min，以 50 °C/min 升至 200 °C，维持 15 min。

A.4.4.2.5 进样口温度：200 °C。

A.4.4.2.6 检测器温度：250 °C。

A.4.4.2.7 分流比：5:1。

A.4.4.2.8 进样量：1 mL。

A.4.5 分析步骤

A.4.5.1 标准溶液的配制

A.4.5.1.1 乙醇标准储备液（1 mg/mL）：称取乙醇 100 mg 精确至（0.1 mg）于 100 mL 容量瓶中，加水稀释并定容至刻度，摇匀，作为乙醇储备液。

A.4.5.1.2 乙醇标准溶液：精密量取乙醇储备液 5 mL，置 20 mL 容量瓶中，加水稀释并定容至刻度，摇匀。精密量取 2 mL 置 20 mL 顶空瓶中，密封，制成顶空瓶中含有 0.50 mg 乙醇的标准溶液。

A.4.5.2 试样溶液

取试样约 100 mg（精确至 0.1 mg）于 20 mL 顶空瓶中，加水 2 mL，密封，室温下轻轻振摇使样品溶解，作为试样溶液。

A.4.5.3 测定

以水作为空白溶液，按照空白溶液 1 次，标准溶液 5 次，试样溶液顺序分别顶空进样测定，记录色谱图，按外标法以峰面积计算。

A.4.5.4 结果计算

乙醇含量的质量分数 ω_4 按式（A.4）计算：

$$\omega_4 = \frac{A_2}{A_3} \times \frac{C_2}{m_2} \times 100\% \dots\dots\dots (A.4)$$

式中：

A_2 ——试样溶液中乙醇的峰面积；

A_3 ——标准溶液中乙醇峰面积的平均值；

C_2 ——顶空瓶中标准溶液中乙醇的质量，单位为毫克（mg）；

m_2 ——试样的质量，单位为毫克（mg）。

乙醇标准溶液的参考气相色谱图见附录 B 中 B.3。



附录 B 3-岩藻糖基乳糖、D-乳糖、L-岩藻糖、D-半乳糖和 D-葡萄糖、乙醇的参考色谱图

B.1 3-岩藻糖基乳糖标准溶液参考液相色谱图

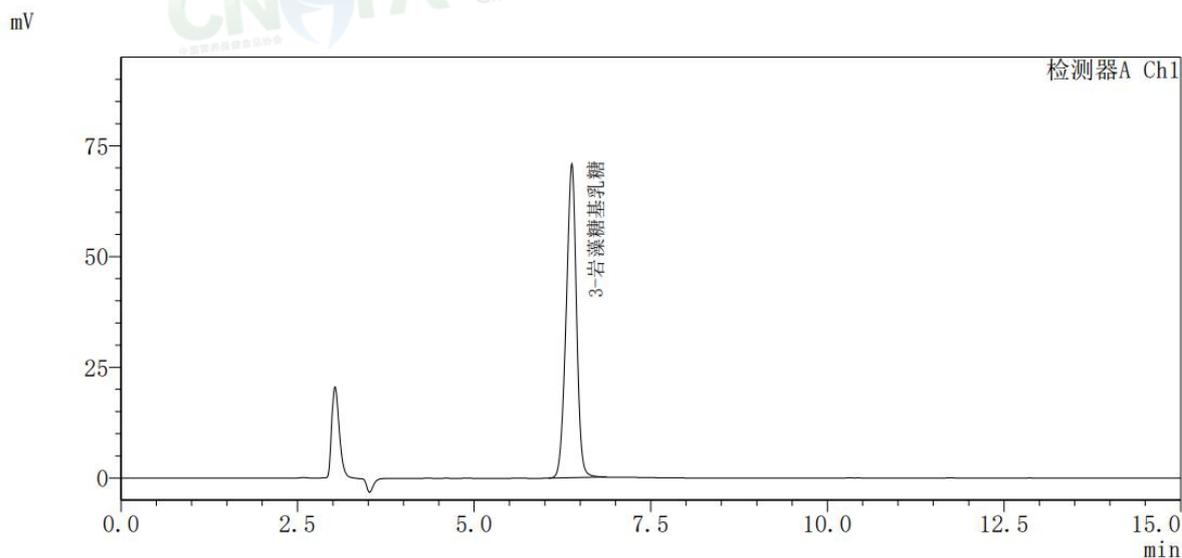


图 B.1 3-岩藻糖基乳糖标准溶液参考液相色谱图

表 B.1 3-岩藻糖基乳糖参考色谱条件下的保留时间

化合物	保留时间 (min)
3-岩藻糖基乳糖	6.3

B.2 D-乳糖、L-岩藻糖、D-半乳糖和 D-葡萄糖标准溶液参考液
相相色谱图

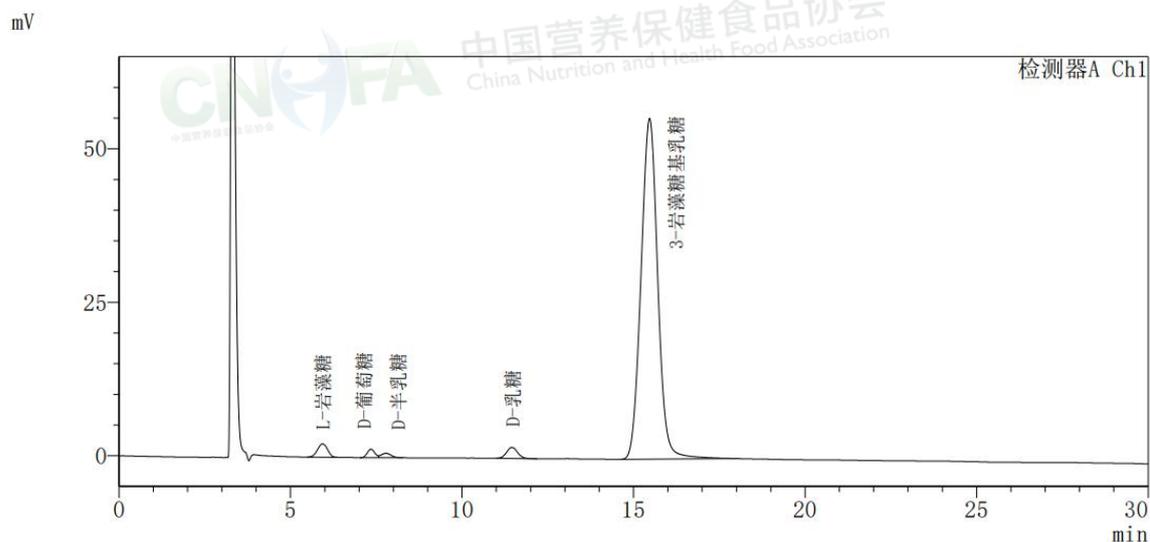


图 B.2 D-乳糖、L-岩藻糖、D-半乳糖和 D-葡萄糖标准溶液参考
液相色谱图

表 B.2 参考色谱条件下各物质的保留时间

化合物	保留时间 (min)
L-岩藻糖	5.9
D-葡萄糖	7.3
D-半乳糖	7.8
D-乳糖	11.5
3-岩藻糖基乳糖	15.5

B.3 乙醇标准溶液的参考气相色谱图

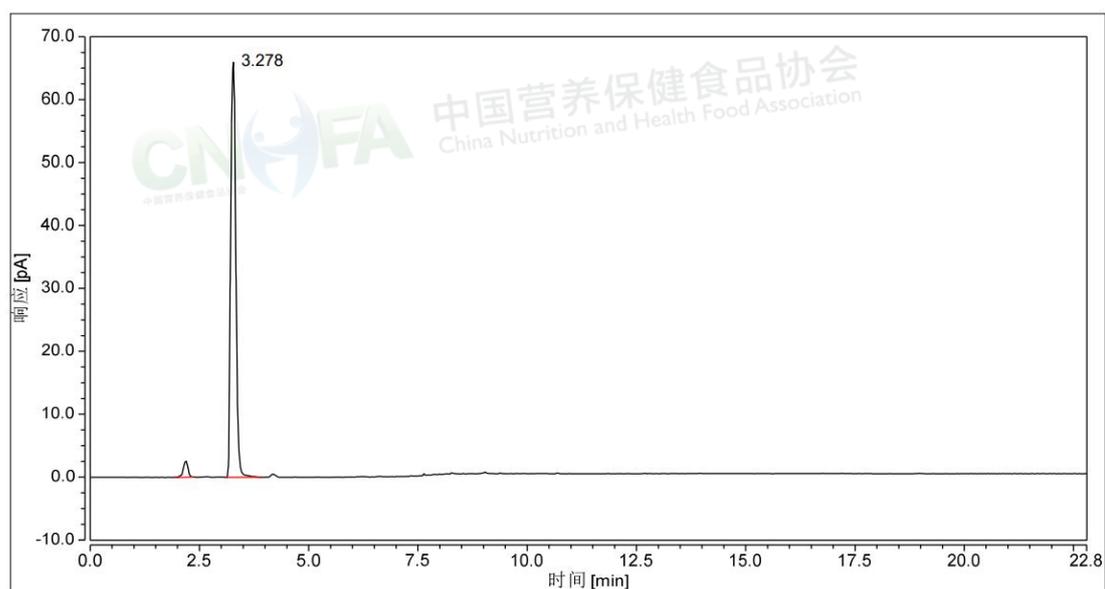


图 B.3 乙醇标准溶液的参考气相色谱图

表 B.3 乙醇标准溶液的保留时间

化合物	保留时间 (min)
乙醇	3.3

附录 C 用于生产 3-岩藻糖基乳糖的生产菌信息

C.1 用于生产 3-岩藻糖基乳糖的生产菌信息

用于生产 3-岩藻糖基乳糖的生产菌信息见表 C.1。

表 C.1 用于生产 3-岩藻糖基糖的生产菌信息

营养强化剂	来源	供体
3-岩藻糖基乳糖 3-fucosyllactose	大肠杆菌 K-12 MG1655 <i>Escherichia coli</i> K-12 MG1655	螺杆菌 (<i>Helicobacter</i> spp.) ^a
	大肠杆菌 BL21(DE3) <i>Escherichia coli</i> BL21(DE3)	脆弱拟杆菌 (<i>Bacteroides fragilis</i>) ^a
	大肠杆菌 K-12 MG1655 <i>Escherichia coli</i> K-12 MG1655	雉拟杆菌 (<i>Bacteroides</i> <i>gallinaceum</i>) ^a
	大肠杆菌 BL21 (DE3) <i>Escherichia coli</i> BL21 (DE3)	<i>Azospirillum lipoferum</i> B510 ^a
	乳酸克鲁维酵母 DSM70799 <i>Kluyveromyces lactis</i> DSM70799	史氏芽孢杆菌 (<i>Bacillus smithii</i>) ^a

	大肠杆菌 BL21(DE3) <i>Escherichia coli</i> BL21 (DE3)	幽门螺杆菌 (<i>Helicobacter pylori</i>) ^a
--	---	---

^a 为 α -1,3-岩藻糖基转移酶供体

2.中文名称：乳糖-*N*-四糖

英文名称：Lacto-*N*-tetraose, LNT

功能分类：食品营养强化剂

用量及使用范围：

食品分类号	食品名称	使用量	备注
01.03.02	调制乳粉(仅限儿童用乳粉)	0.25-1.82 g/L (以纯品计, 以即食状态计, 粉状产品按冲调倍数折算使用量)	当与 2'-岩藻糖基乳糖、乳糖- <i>N</i> -新四糖、3'-唾液酸乳糖钠盐、低聚半乳糖、低聚果糖、多聚果糖、棉子糖混合使用时, 该类物质总量不超过 64.5g/kg。
13.01.01	婴儿配方食品		
13.01.02	较大婴儿和幼儿配方食品		
13.01.03	特殊医学用途婴儿配方食品		

质量规格要求

1 范围

本质量规格要求适用于以乳糖等为原料, 经发酵、提纯、干燥等工艺制得的营养强化剂乳糖-*N*-四糖。乳糖-*N*-四糖的生产菌应经过安全性评估并符合附录 C 的要求。

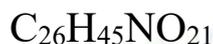
2 化学名称、分子式、结构式和相对分子质量

2.1 化学名称

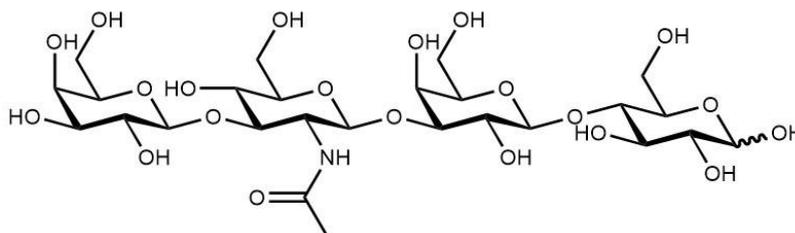
β -D-吡喃半乳糖基-(1 \rightarrow 3)-2-乙酰氨基-2-脱氧- β -D-吡喃葡萄糖

糖基-(1→3)-β-D-吡喃半乳糖基-(1→4)-D-吡喃葡萄糖

2.2 分子式



2.3 结构式



2.4 相对分子质量

707.63 (按 2022 年国际相对原子质量)

3 技术要求

3.1 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
色泽	白色至类白色	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。
状态	粉末	

3.2 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
----	----	------

乳糖-N-四糖（以干基计）， w/%	≥	80.0	附录 A 中 A.2
乳糖-N-三糖Ⅱ， w/%	≤	5.0	附录 A 中 A.2
线性乳糖-N-六糖Ⅱ， w/%	≤	5.0	附录 A 中 A.2
D-乳糖， w/%	≤	5.0	附录 A 中 A.2
D-半乳糖和 D-葡萄糖， w/%	≤	5.0	附录 A 中 A.2
其它碳水化合物， w/%	≤	15.0	附录 A 中 A.3
水分， w/%	≤	9.0	GB 5009.3 卡尔·费休法
灰分， w/%	≤	1.0	GB 5009.4
残留蛋白/（mg/kg）	≤	100	国家卫生健康委 2023 年第 8 号公告 2'-岩藻糖基乳糖附录 A 中的 A.4
内毒素/（EU/mg）	≤	10	国家卫生健康委 2023 年第 8 号公告 2'-岩藻糖基乳糖附录 A 中的 A.5
总砷（以 As 计）/（mg/kg）	≤	0.2	GB 5009.11
铅（Pb）/（mg/kg）	≤	0.05	GB 5009.12

3.3 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)	≤ 500	GB 4789.2
霉菌/ (CFU/g)	≤ 10	GB 4789.15
酵母/ (CFU/g)	≤ 10	GB 4789.15
肠杆菌科/ (CFU/g)	< 10	GB 4789.41
沙门氏菌/ (25 g)	不得检出	GB 4789.4

附录 A 检验方法

A.1 一般规定

本质量规格要求所用的试剂和水，在未注明其他要求时，均指分析纯试剂和符合 GB/T 6682 规定的一级水。试验中所用标准溶液、杂质测定用标准溶液、制剂和制品，在未注明其他要求时，均按 GB/T 601、GB/T 602 和 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 乳糖-*N*-四糖（以干基计）、D-乳糖、乳糖-*N*-三糖II、线性乳糖-*N*-六糖II、D-半乳糖和 D-葡萄糖的测定

A.2.1 方法提要

试样溶于水，采用离子色谱柱分离，脉冲安培检测器检测，以乳糖-*N*-四糖、D-乳糖、乳糖-*N*-三糖II、线性乳糖-*N*-六糖II、D-半乳糖和 D-葡萄糖对照品的保留时间定性，外标法定量。

A.2.2 试剂和材料

A.2.2.1 乳糖-*N*-四糖对照品（CAS 14116-68-8）：纯度 $\geq 91\%$ 或标明含量的等同物。

A.2.2.2 D-乳糖对照品（CAS 64044-51-5）：纯度 $\geq 95\%$ 或标明含量的等同物。

A.2.2.3 乳糖-*N*-三糖II对照品（CAS 75645-27-1）：纯度 $\geq 95\%$ 或标明含量的等同物。

A.2.2.4 线性乳糖-*N*-六糖II对照品：纯度 $\geq 90\%$ 或标明含量的等同物。

A.2.2.5 D-半乳糖对照品（CAS 59-23-4）：纯度 $\geq 99\%$ 或标明含量的等同物。

A.2.2.6 D-葡萄糖对照品（CAS 50-99-7）：纯度 $\geq 99\%$ 或标明含量的等同物。

A.2.2.7 氢氧化钠溶液（NaOH）：50%（w/w）。

A.2.2.8 氢氧化钠溶液（500 mmol/L）：取 26.0 mL 50%氢氧化钠溶液，用水稀释至 1000 mL，缓慢摇匀，室温下可放置 7 天。

A.2.3 仪器和设备

A.2.3.1 离子色谱仪：配备脉冲安培检测器。

A.2.3.2 分析天平：感量为 0.0001 g 和 0.00001 g。

A.2.3.3 涡旋混合仪。

A.2.3.4 超声波清洗器。

A.2.4 参考色谱条件

A.2.4.1 色谱柱：阴离子交换柱（150 mm \times 3 mm，粒径 6 μ m，以季铵盐为功能基，乙基乙烯基苯与二乙烯基苯聚合物树脂作为填料）（带保护柱 30 mm \times 3 mm），或等效色谱柱。

A.2.4.2 柱温：30 $^{\circ}$ C。

A.2.4.3 流速：0.45 mL/min。

A.2.4.4 进样量：20 μ L。

A.2.4.5 检测器：脉冲安培检测器。

A.2.4.6 检测器温度：35 $^{\circ}$ C。

A.2.4.7 数据收集速率：10 Hz。

A.2.4.8 参比电极：银/氯化银电极或其他类似电极。

A.2.4.9 工作电极：金电极。

A.2.4.10 糖检测波形见表 A.1。

A.2.4.11 淋洗液：淋洗液 A：水；淋洗液 B：氢氧化钠溶液（500 mmol/L）；梯度洗脱条件见表 A.2。

表 A.1 糖检测波形

时间 (s)	电压 (V)	时间 (s)	电压 (V)
0.00	+0.10	0.42	+2.00
0.20	+0.10	0.43	+6.00
0.40	+0.10	0.44	-0.10
0.41	-2.00	0.50	-0.10

表 A.2 梯度洗脱条件

时间 (min)	淋洗液 A (%)	淋洗液 B (%)
0	93	7
18	93	7
18.1	80	20
33	80	20
33.1	20	80
42	20	80
42.1	93	7
57	93	7

A.2.5 分析步骤

A.2.5.1 标准溶液的配制

A.2.5.1.1 乳糖-N-四糖标准储备溶液（1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：

称取 0.01 g（精确至 0.00001 g）乳糖-N-四糖对照品于 10 mL 的容量瓶中，加水溶解并定容至刻度。根据对照品的纯度折算，配制成乳糖-N-四糖浓度约为 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备溶液。

A.2.5.1.2 D-乳糖标准储备溶液（1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：

称取 0.01 g（精确至 0.00001 g）D-乳糖对照品于 10 mL 的容量瓶中，加水溶解并定容至刻度。根据对照品的纯度折算，配制成 D-乳糖浓度约为 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备溶液。

A.2.5.1.3 乳糖-N-三糖II标准储备溶液（1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：

称取 0.01 g（精确至 0.00001 g）乳糖-N-三糖II对照品于 10 mL 的容量瓶中，加水溶解并定容至刻度。根据对照品的纯度折算，配制成乳糖-N-三糖II浓度约为 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备溶液。

A.2.5.1.4 线性乳糖-N-六糖II标准储备溶液（500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：

称取 0.005 g（精确至 0.00001 g）线性乳糖-N-六糖II对照品于 10 mL 的容量瓶中，加水溶解并定容至刻度。根据对照品的纯度折算，配制成线性乳糖-N-六糖II浓度约为 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备溶液。

A.2.5.1.5 D-半乳糖标准储备溶液（1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：

称取 0.01 g（精确至 0.00001 g）D-半乳糖对照品于 10 mL 的容量瓶中，加水溶解并定容至刻度。根据对照品的纯度折算，配制成 D-半乳糖浓度约为 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备溶液。

A.2.5.1.6 D-葡萄糖标准储备溶液（1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：

称取 0.01 g（精确至 0.00001 g）D-葡萄糖对照品于 10 mL 的容量瓶中，加水溶解并定容至刻度。根据对照品的纯度折算，配制成 D-葡萄糖浓度约为 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准储备溶液。

A.2.5.1.7 混合标准中间溶液（10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）：

分别吸取不同体积的上述标准储备溶液于 10 mL 的容量瓶中，加水定容至刻度，得到浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 乳糖-N-四糖、D-乳糖、乳糖-N-三糖II、线性乳糖-N-六糖II、D-半乳糖或 D-葡萄糖的混合标准中间溶液。配制过程见表 A.3。

表 A.3 混合标准中间溶液的配制

化合物名称	乳糖-N-四糖	D-乳糖	乳糖-N-三糖II	D-半乳糖/D-葡萄糖 ¹	线性乳糖-N-六糖II
吸取体积（mL）	0.10	0.10	0.10	0.10	0.20

¹ D-半乳糖和 D-葡萄糖同时洗脱，并通过组合峰测定。两个物质响应基本一致，因此，仅需要 D-半乳糖或 D-葡萄糖其中一种标准储备溶液用于定量。

A.2.5.1.8 混合标准工作溶液

分别吸取混合标准中间溶液（A.2.5.1.7）0.50 mL、1.00 mL、2.00 mL、5.00 mL 于 10 mL 容量瓶中，加水定容至刻度，得到浓度分别为 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的乳

糖-*N*-四糖、D-乳糖、乳糖-*N*-三糖II、线性乳糖-*N*-六糖II、D-半乳糖或D-葡萄糖的混合标准工作溶液。另取适量混合标准中间溶液（A.2.5.1.7），作为浓度为10 μg/mL的乳糖-*N*-四糖、D-乳糖、乳糖-*N*-三糖II、线性乳糖-*N*-六糖II、D-半乳糖或D-葡萄糖的混合标准工作溶液。

A.2.5.2 试样溶液的配制

称取0.02 g（精确至0.0001 g）试样于10 mL容量瓶中，用水溶解并定容至刻度，摇匀。取1.0 mL该试样溶液于10 mL容量瓶中，用水稀释并定容至刻度，摇匀，得到的试样溶液A用于测定D-乳糖、乳糖-*N*-三糖II、线性乳糖-*N*-六糖II、D-半乳糖和D-葡萄糖。另取1.0 mL试样溶液A于50 mL容量瓶中，用水稀释并定容至刻度，摇匀，得到的试样溶液B用于测定乳糖-*N*-四糖。

注：如需要，可调整试样的称样量或稀释体积，确保所测浓度在工作曲线的范围内。

A.2.5.3 系统适应性试验

以水为空白样，连续进样至少两次，进行系统适用性测试。当满足以下条件时，可进行试样溶液的检测：

——浓度为0.5 μg/mL的混合标准工作溶液（A.2.5.1.8）连续进样两次后，乳糖-*N*-四糖峰的信噪比应 ≥ 10 ；峰面积的相对偏差应不大于10%。如不满足相对偏差要求，需复测。

A.2.5.4 测定

将混合标准工作溶液按照浓度从低到高依次注入离子色谱仪中，以混合标准工作溶液中乳糖-*N*-四糖、D-乳糖、乳糖-*N*-三糖II、线性乳糖-*N*-六糖II、D-半乳糖或D-葡萄糖的浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，分别绘制乳糖-*N*-四糖、D-乳糖、乳糖-*N*-三糖II、线性乳糖-*N*-六糖II、D-半乳糖或D-葡萄糖的标准曲线。乳糖-*N*-四糖、D-乳糖、乳糖-*N*-三糖II、线性乳糖-*N*-六糖II、D-半乳糖或D-葡萄糖的标准溶液参考离子色谱图见附录B中B.1。

将试样溶液注入离子色谱仪中，记录色谱图。根据保留时间定性，记录峰面积。根据标准曲线得到试样溶液中乳糖-*N*-四糖、D-乳糖、乳糖-*N*-三糖II、线性乳糖-*N*-六糖II、D-半乳糖或D-葡萄糖的浓度。

A.2.5.5 结果计算

试样中乳糖-*N*-四糖含量的质量分数 ω_1 按式（A.1）计算：

$$\omega_1 = \frac{\rho_1 \times V \times f_1}{m \times 1000 \times 1000} \times 100\% \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

ρ_1 ——由标准曲线得到的试样溶液中乳糖-*N*-四糖的浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V ——试样的定容体积，单位为毫升（mL）；

f_1 ——乳糖-*N*-四糖的稀释因子；

m ——试样质量，单位为克（g）；

1000——单位换算系数。

结果保留小数点后一位。

乳糖-*N*-四糖（以干基计）含量的质量分数 ω_2 按式（A.2）

计算：

 中国营养保健食品协会
Calculation and Health Food Association

$$\omega_2 = \frac{\omega_1}{1-\omega} \times 100\% \dots\dots\dots (A.2)$$

式中：

ω_1 ——试样中乳糖-*N*-四糖含量的质量分数，%；

ω ——试样中水分含量的质量分数，%。

结果保留小数点后一位。

试样中 D-乳糖、乳糖-*N*-三糖II、线性乳糖-*N*-六糖II、D-半乳糖和 D-葡萄糖含量的质量分数 ω_i 按式（A.3）计算：

$$\omega_i = \frac{\rho_i \times V \times f_2}{m \times 1000 \times 1000} \times 100\% \dots\dots\dots (A.3)$$

式中：

i——3、4、5、6，分别对应 D-乳糖、乳糖-*N*-三糖II、线性乳糖-*N*-六糖II、D-半乳糖和 D-葡萄糖；

ρ_i ——由标准曲线得到的试样溶液中 *i* 组分的浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V——试样的定容体积，单位为毫升（mL）；

f_2 ——稀释因子；

m——试样质量，单位为克（g）；

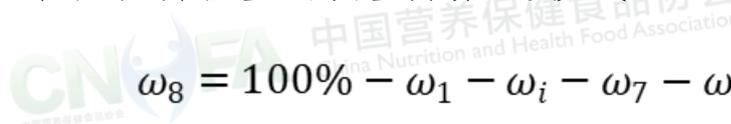
1000——单位换算系数。

结果保留小数点后一位。D-乳糖、乳糖-*N*-三糖II、线性乳

糖-N-六糖Ⅱ、D-半乳糖和 D-葡萄糖的定量限为 0.2%。

A.3 其它碳水化合物的测定

其它碳水化合物含量的质量分数 ω_8 按式 (A.4) 计算:


$$\omega_8 = 100\% - \omega_1 - \omega_i - \omega_7 - \omega \dots\dots\dots (A.4)$$

式中:

ω_1 ——试样中乳糖-N-四糖含量的质量分数, %;

ω_i ——试样中 i 组分 D-乳糖、乳糖-N-三糖Ⅱ、线性乳糖-N-六糖Ⅱ、D-半乳糖和 D-葡萄糖的质量分数, %;

ω_7 ——试样中灰分含量的质量分数, %;

ω ——试样中水分含量的质量分数, %。

结果保留小数点后一位。

附录 B 参考色谱图

B.1 乳糖-*N*-四糖、D-乳糖、乳糖-*N*-三糖II、线性乳糖-*N*-六糖II、D-半乳糖或 D-葡萄糖标准溶液的参考离子色谱图

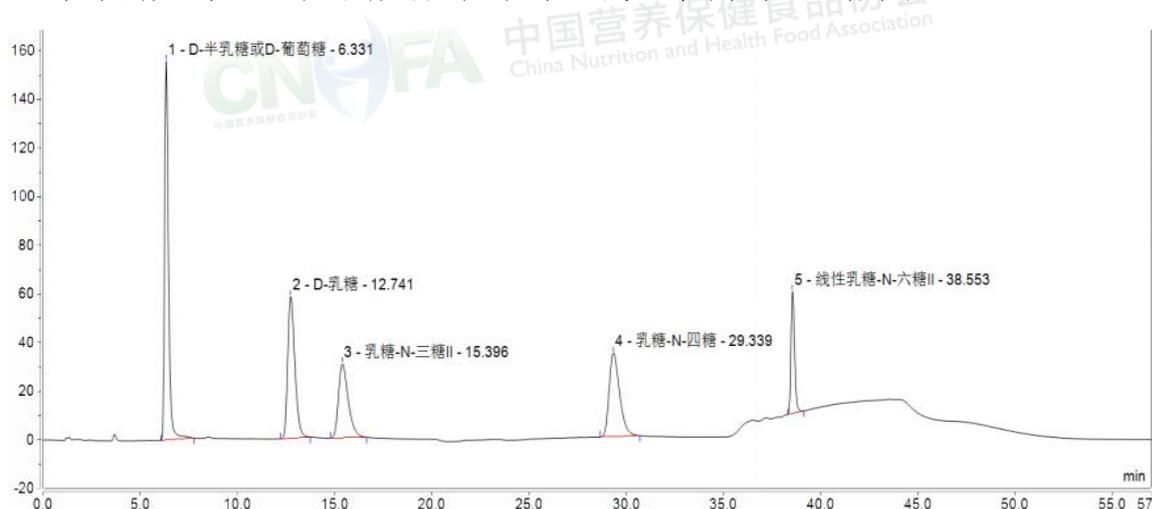


图 B.1 10 $\mu\text{g/mL}$ 的乳糖-*N*-四糖、D-乳糖、乳糖-*N*-三糖II、线性乳糖-*N*-六糖II、D-半乳糖或 D-葡萄糖标准溶液的参考离子色谱图

表 B.1 色谱条件下各物质的参考保留时间

化合物	保留时间 (min)
D-半乳糖或 D-葡萄糖	6.3
D-乳糖	12.7
乳糖- <i>N</i> -三糖II	15.4
乳糖- <i>N</i> -四糖	29.3
线性乳糖- <i>N</i> -六糖II	38.6

附录 C 用于生产乳糖-N-四糖的生产菌信息

C.1 用于生产乳糖-N-四糖的生产菌信息

用于生产乳糖-N-四糖的生产菌信息见表 C.1。

表 C.1 用于生产乳糖-N-四糖的生产菌信息

营养强化剂	来源	供体
乳糖-N-四糖 Lacto-N-tetraose	大肠杆菌 BL21 star (DE3) <i>Escherichia coli</i> BL21 star (DE3)	奈瑟菌 (<i>Neisseria</i> spp.) ^a 、 沙门氏菌 (<i>Salmonella</i> spp.) ^b
	大肠杆菌 K-12 GI724 <i>Escherichia coli</i> K-12 GI724	奈瑟菌 (<i>Neisseria</i> spp.) ^a 、 螺杆菌 (<i>Helicobacter</i> spp.) ^b
	大肠杆菌 BL21 (DE3) <i>Escherichia. coli</i> BL21 (DE3)	肠道沙门氏菌 (<i>Salmonella</i> <i>enterica</i>) ^b
	大肠杆菌 BL21 (DE3) <i>Escherichia coli</i> BL21 (DE3)	奈瑟菌 (<i>Neisseria</i> spp.) ^a 和大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>) ^b

	大肠杆菌 BL21 (DE3) <i>Escherichia coli</i> BL21 (DE3)	脑膜炎奈瑟菌 (<i>Neisseria meningitidis</i>) ^a 和南美洲柠檬酸杆菌 (<i>Citrobacter meridianamericanus</i>) ^b
--	---	--

^a 为 β -1,3-N-乙酰氨基葡萄糖氨基转移酶供体

^b 为 β -1,3-半乳糖基转移酶供体

(三) 扩大使用范围的食品工业用加工助剂

序号	助剂中文名称	助剂英文名称	功能	使用范围
1	硫酸铵	ammonium sulfate	脱钙剂	胶原蛋白肠衣的加工工艺

二、征求意见的食品添加剂新品种解读材料

（一）脂肪酶

脂肪酶作为食品工业用酶制剂已列入《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》（GB 2760）。本次征求意见的脂肪酶是新生产菌来源的食品工业用酶制剂新品种，主要用于催化甘油三酯的水解，如在油脂加工工艺中使用。经安全性评估，按照《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》（GB 2760）规定的食品工业用加工助剂使用原则，脂肪酶可安全用于食品生产加工过程，其质量规格执行《食品安全国家标准 食品添加剂 食品工业用酶制剂》（GB 1886.174）。日本厚生劳动省、法国食品安全局、丹麦兽医和食品局等允许其作为食品工业用酶制剂使用。

（二）3-岩藻糖基乳糖

本次征求意见的3-岩藻糖基乳糖作为食品营养强化剂新品种，用于调制乳粉(仅限儿童用乳粉)（食品类别 01.03.02）、婴儿配方食品（食品类别 13.01.01）、较大婴儿和幼儿配方食品（食品类别 13.01.02）、特殊医学用途婴儿配方食品（食品类别 13.01.03）。该物质是母乳中一种母乳低聚糖，用作食品营养强化剂。经安全性评估，3-岩藻糖基乳糖在所申报食品类别中可以安全使用，其质量规格按照征求意见稿的相关要求执行。美国食品药品监督管理局、欧盟委员会等允许3-岩藻糖基乳糖用于婴幼儿配方食品等食品类别。

（三）乳糖-N-四糖

本次征求意见的乳糖-N-四糖作为食品营养强化剂新品种，用于调制乳粉(仅限儿童用乳粉)（食品类别 01.03.02）、婴儿配方食品（食品类别 13.01.01）、较大婴儿和幼儿配方食品（食品类别 13.01.02）、特殊医学用途婴儿配方食品（食品类别

13.01.03)。该物质是母乳中一种母乳低聚糖，用作食品营养强化剂。经安全性评估，乳糖-N-四糖在所申报食品类别中可以安全使用，其质量规格按照征求意见稿的相关要求执行。美国食品药品监督管理局、欧盟委员会、澳大利亚和新西兰食品标准局等允许乳糖-N-四糖用于婴幼儿配方食品等食品类别。

(四) 硫酸铵

硫酸铵作为食品工业用加工助剂已列入《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》(GB 2760)，作为发酵用营养物质，用于发酵工艺。本次申请扩大使用范围用于胶原蛋白肠衣的加工工艺，发挥脱钙作用。经安全性评估，硫酸铵在胶原蛋白肠衣加工工艺中可以安全使用，其质量规格执行《食品安全国家标准 食品添加剂 硫酸铵》(GB 29206)。美国食品药品监督管理局、欧盟委员会等允许其用于食品。