

ICS 67.050

CCS X04

# 团体标准

T/CIFST XXX-XXXX

## 食品中 2'-岩藻糖基乳糖的测定

Determination of 2'-fucosyllactose in foods

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 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》给出的规则起草。

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：

本文件主要起草人：



# 食品中 2'-岩藻糖基乳糖的测定

## 1 范围

本文件规定了食品中 2'-岩藻糖基乳糖 (2'-FL) 的测定方法。

本文件适用于乳及乳制品、饮料、冷冻饮品、糖果、焙烤食品和婴幼儿辅助食品中 2'-FL 含量的测定。

### 第一法 离子色谱法

## 2 原理

试样中的 2'-FL 经水溶解提取, 对于水溶性较差的焙烤食品, 用淀粉转葡萄糖苷酶、胰酶和灰色链霉菌蛋白酶水解基质中的淀粉、蛋白质和脂肪以释放 2'-FL, 经阴离子交换色谱柱分离, 脉冲安培检测器检测, 外标法定量。

## 3 试剂与材料

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

### 3.1 试剂

3.1.1 无水乙酸钠 ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ), 色谱纯

3.1.2 氢氧化钠溶液 (50%, w/w), 色谱纯。

3.1.3 淀粉转葡萄糖苷酶 (CAS 号: 9032-08-0): 来源于黑曲霉, 酶活力  $\geq 26$  U/mg, 或其他等效淀粉转葡萄糖苷酶。

3.1.4 猪胰酶 (CAS 号: 8049-47-6): 淀粉酶活力  $\geq 200$  U/mg; 脂肪酶活力  $\geq 16$  U/mg; 蛋白酶活力  $\geq 200$  U/mg, 或其他等效猪胰酶。

3.1.5 灰色链霉菌蛋白酶 (CAS 号: 9036-06-0): 来源于灰色链霉菌, 酶活力  $\geq 3.5$  U/mg, 或其他等效灰色链霉菌蛋白酶。

3.1.6 氮气 ( $\text{N}_2$ ): 纯度  $\geq 99.9\%$ 。

### 3.2 试剂配制

3.2.1 流动相 A (水): 量取水 2 L, 通入氮气 (3.1.6) 10 min, 在氮气 3~5 psi 下可使用 1 个月。

3.2.2 流动相 B (氢氧化钠溶液, 0.2 mol/L): 称取氢氧化钠溶液 (3.1.2) 32 g, 用水稀释至 2 L, 通入氮气 (3.1.6) 10 min, 在氮气 3~5 psi 下可使用 7 天。

3.2.3 流动相 C (乙酸钠溶液, 0.3 mol/L): 称取无水乙酸钠 (3.1.1) 49.22 g, 用水溶解并稀释至 2 L, 混匀, 过 0.22  $\mu\text{m}$  水相滤膜, 通入氮气 (3.1.6) 10 min, 在氮气 3~5 psi 下可使用 1 个月。

3.2.4 淀粉转葡萄糖苷酶溶液（2000 U/mL）：称取适量淀粉转葡萄糖苷酶（3.1.3），用水溶解，混匀，配制成 2000 U/mL 淀粉转葡萄糖苷酶溶液。临用前配制，2℃~8℃放置。

3.2.5 猪胰酶溶液（1000 U/mL）：称取适量猪胰酶（3.1.4），用水溶解，混匀，配制成 1000 U/mL 猪胰酶溶液（以淀粉酶活计）。临用前配制，2℃~8℃放置。

3.2.6 灰色链霉菌蛋白酶溶液（20 U/mL）：称取适量灰色链霉菌蛋白酶（3.1.5），用水溶解，混匀，配制成 20 U/mL 灰色链霉菌蛋白酶溶液。临用前配制，2℃~8℃放置。

注：混匀时应摇晃溶液以避免起泡，静置约 5 分钟，直至所有粉末溶解。

### 3.3 标准品

2'-FL（ $C_{18}H_{32}O_{15}$ ，CAS 号：41263-94-9）：纯度 $\geq 95\%$ ，或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

### 3.4 标准溶液配制

3.4.1 标准储备溶液（1000 mg/L）：准确称取 2'-FL 标准品 100 mg（精确至 0.1 mg），用水溶解并定容至 100 mL，混匀。转移至 2 mL 冻存管中，分装后的标准储备溶液于-20℃冷冻保存，保存期 12 个月。

3.4.2 标准中间溶液（200 mg/L）：准确吸取标准储备溶液（3.4.1）2 mL，用水稀释并定容至 10 mL，混匀。于 2℃~8℃冷藏保存，保存期 7 天。

3.4.3 标准工作溶液：分别准确吸取标准中间溶液（3.4.2）0.1 mL、0.25 mL、0.5 mL、1.25 mL、2.5 mL 和 5 mL 于 10 mL 容量瓶，用水定容，混匀。配制成质量浓度分别为 2 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、25 mg/L、50 mg/L 和 100 mg/L 的标准工作溶液。转移至自动进样小瓶中，分装后的标准工作溶液于 2℃~8℃冷藏保存，保存期 7 天。

### 3.5 材料

3.5.1 离心管：15 mL 和 50 mL 容量。

3.5.2 烧杯：500 mL 和 2 L 容量。

3.5.3 容量瓶：10 mL、25 mL、50 mL、100 mL、200 mL 和 2 L 容量。

3.5.4 量筒：2 L 容量。

3.5.5 微孔滤膜：水相，孔径 0.22  $\mu\text{m}$ 。

3.5.6 注射型过滤器：水相，孔径 0.22  $\mu\text{m}$ 。

3.5.7 自动进样小瓶。

3.5.8 预开口进样小瓶瓶盖。

3.5.9 冻存管：2 mL 容量。

## 4 仪器和设备

4.1 离子色谱仪：配有三元及以上梯度泵，脉冲安培检测器。

4.2 分析天平：感量为 0.1 g、0.01 g、0.001 g 和 0.1 mg。

4.3 磁力搅拌器。

4.4 涡旋混合仪。

4.5 超声仪。

4.6 恒温水浴振荡器。

4.7 粉碎机。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样制备

取适量有代表性的样品，巴氏杀菌乳、灭菌乳、发酵乳、调制乳和饮料等液态均匀样品直接摇匀，混匀过程中尽量避免产生气泡，有气泡的液态样品超声处理 10 min；冷冻饮品室温融化后充分搅拌均匀，必要时可采用 30℃~40℃ 水浴加热搅拌；调制乳粉和婴幼儿辅助食品等固态均匀样品直接混匀；糖果和焙烤食品类固态样品剪切或粉碎后混匀。

### 5.2 试样前处理

#### 5.2.1 乳及乳制品、饮料、冷冻饮品和婴幼儿辅助食品（不包含调制乳粉）

准确称取试样 1 g ( $m$ ，精确至 0.001 g) 于 50 mL 离心管中，加入水 40 mL，涡旋混匀，超声提取 30 min，用水转移并定容至 100 mL 容量瓶 ( $V$ ) 中，混匀。试样提取液可根据试样中目标分析物含量稀释适当的倍数 ( $f$ )，注射型过滤器过滤后进样分析。

#### 5.2.2 调制乳粉

准确称取试样 25 g (精确至 0.01 g)，加水 200 g (精确至 0.1 g)，搅拌直至样品充分溶解。准确称取上述液体 10 g ( $m$ ，精确至 0.01 g) 于 50 mL 离心管中，加入 30 mL 水，涡旋混匀，超声提取 30 min，用水转移并定容至 100 mL 容量瓶 ( $V$ ) 中，混匀。试样提取液可根据试样中目标分析物含量稀释适当的倍数 ( $f$ )，注射型过滤器过滤后进样分析。

#### 5.2.3 糖果

准确称取试样 1 g ( $m$ ，精确至 0.001 g) 于 50 mL 离心管中，加入 40 mL 水，涡旋混匀，放置于恒温振荡器中 35℃，150 rpm 振荡，直至样品充分溶解，用水转移并定容至 100 mL 容量瓶 ( $V$ ) 中，混匀。试样提取液可根据试样中目标分析物含量稀释适当的倍数 ( $f$ )，注射型过滤器过滤后进样分析。

#### 5.2.4 焙烤食品

准确称取试样 0.2 g ( $m$ ，精确至 0.1 mg) 于 50 mL 离心管中，加入水 10 mL、淀粉转葡萄糖苷酶溶液 (3.2.4) 0.1 mL、胰酶溶液 (3.2.5) 1 mL 和灰色链霉菌蛋白酶溶液 (3.2.6) 0.5 mL，涡旋混匀。将离心管置于恒温振荡器中 40℃，150 rpm 酶解 2 h (根据试样酶解程度可能需延长酶解时间)，酶解后取出并静置至室温，用水转移并定容至 20 mL 容量瓶 ( $V$ ) 中，混匀。试样提取液可根据试样中目标分析物含量稀释适当的倍数 ( $f$ )，注射型过滤器过滤后进样分析。

### 5.3 离子色谱仪参考条件

5.3.1 色谱柱：预柱为以季铵盐为功能基，聚苯乙烯/二乙烯基苯聚合物树脂作为填料的阴离子交换色谱柱 (内径 4 mm × 柱长 50 mm，粒径 10.0 μm)，或等效柱；分离柱为以季铵盐为功能基，聚苯乙烯/二乙烯基苯聚合物树脂作为填料的阴离子交换色谱柱 (内径 4 mm × 柱长 250 mm，粒径 10.0 μm)，或等效柱。

5.3.2 流动相：流动相 A 为水；流动相 B 为 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液 (3.2.2)；流动相 C 为 0.3 mol/L 乙酸钠溶液 (3.2.3)。

5.3.3 柱温：25℃。

5.3.4 流速：1 mL/min。

5.3.5 进样量：5  $\mu\text{L}$ 。

5.3.6 梯度洗脱条件：见表 1。

表 1 离子色谱仪的梯度洗脱条件

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)	流动相 C (%)
0.00	75	25	0
30.00	75	25	0
30.01	0	20	80
35.00	0	20	80
35.01	75	25	0
45.00	75	25	0

5.3.7 脉冲安培检测器参考条件

5.3.7.1 参比电极：氯化钾饱和的银/氯化银。

5.3.7.2 工作电极：金电极。

5.3.7.3 辅助电极：钛。

5.3.7.4 波形：碳水化合物检测四电位波形，四电位检测波形见表 2。

表 2 四电位检测波形

时间(s)	电压(V)	积分
0.00	+0.10	-
0.20	+0.10	开始
0.40	+0.10	结束
0.41	-2.00	-
0.42	-2.00	-
0.43	+0.60	-
0.44	-0.10	-
0.50	-0.10	-

#### 5.4 标准曲线的制作

将标准工作溶液从低到高依次注入离子色谱仪器中，测定 2'-FL 的峰面积，以标准工作溶液的浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。2'-FL 标准品的离子色谱图见附录 A.1。

#### 5.5 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，根据标准曲线得到试样溶液中 2'-FL 的浓度。

### 6 分析结果的表述

试样中 2'-FL 含量按公式 (1) 计算：

$$X = \frac{\rho \times V \times f}{m \times 10} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$X$ ——试样中 2'-FL 的含量，单位为毫克每百克（mg/100g）；

$\rho$ ——试样测定液中 2'-FL 的质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

$V$ ——定容体积，单位为毫升（mL）；

$f$ ——稀释系数；

$m$ ——试样的称样量，单位为克（g）；

10——换算系数。

结果保留三位有效数字。

## 7 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%。

## 8 检出限及定量限

当取样量为 1 g，定容体积为 100 mL 时，2'-FL 的检出限为 1.5 mg/100g，定量限为 4 mg/100g。

## 第二法 液相色谱法

## 9 原理

试样中的 2'-FL 经水溶解提取，对于水溶性较差的焙烤食品，用淀粉转葡萄糖苷酶、胰酶和灰色链霉菌蛋白酶水解基质中的淀粉、蛋白质和脂肪以释放 2'-FL，使用 2-氨基苯甲酰胺衍生，经液相色谱-荧光检测器检测，内标法定量。

## 10 试剂与材料

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

### 10.1 试剂

10.1.1 二甲基亚砷[(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO]。

10.1.2 乙酸（CH<sub>3</sub>COOH）。

10.1.3 2-氨基苯甲酰胺（C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O）。

10.1.4 2-甲基吡啶硼烷（C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>N·BH<sub>3</sub>）。

10.1.5 乙腈（CH<sub>3</sub>CN）：色谱纯。

10.1.6 甲酸（HCOOH）：色谱纯。

10.1.7 氨水（NH<sub>4</sub>OH）。

10.1.8 淀粉转葡萄糖苷酶 (CAS 号: 9032-08-0): 来源于黑曲霉, 酶活力 $\geq 26$  U/mg, 或其他等效淀粉转葡萄糖苷酶。

10.1.9 猪胰酶 (CAS 号: 8049-47-6): 淀粉酶活力 $\geq 200$  U/mg; 脂肪酶活力 $\geq 16$  U/mg; 蛋白酶活力 $\geq 200$  U/mg, 或其他等效猪胰酶。

10.1.10 灰色链霉菌蛋白酶 (CAS 号: 9036-06-0): 来源于灰色链霉菌, 酶活力 $\geq 3.5$  U/mg, 或其他等效灰色链霉菌蛋白酶。

## 10.2 试剂配制

10.2.1 二甲基亚砜-乙酸溶液: 量取 11.6 mL 二甲基亚砜 (10.1.1) 和 5 mL 乙酸 (10.1.2), 混匀。

10.2.2 衍生溶液: 称取 600 mg 2-氨基苯甲酰胺 (10.1.3) 和 1300 mg 2-甲基吡啶硼烷 (10.1.4), 用 12.5 mL 二甲基亚砜-乙酸溶液溶解 (10.2.1), 混匀。该溶液于  $-20^{\circ}\text{C}$  可保存 3 个月。

10.2.3 甲酸铵溶液 (50 mmol/L): 吸取 1.89 mL 甲酸 (10.1.6), 转移至 800 mL 水中, 混匀后用氨水 (10.1.7) 调节 pH 至  $4.4 \pm 0.05$ , 转移至 1 L 容量瓶中并用水定容至刻度, 混匀后经  $0.45 \mu\text{m}$  水相微孔滤膜过滤。该溶液室温下可保存 15 d。

10.2.4 淀粉转葡萄糖苷酶溶液 (2000 U/mL): 称取适量淀粉转葡萄糖苷酶 (10.1.8), 用水溶解, 混匀, 配制成 2000 U/mL 淀粉转葡萄糖苷酶溶液。临用前配制,  $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$  放置。

10.2.5 猪胰酶溶液 (1000 U/mL): 称取适量猪胰酶 (10.1.9), 用水溶解, 混匀, 配制成 1000 U/mL 猪胰酶溶液 (以淀粉酶活计)。临用前配制,  $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$  放置。

10.2.6 灰色链霉菌蛋白酶溶液 (20 U/mL): 称取适量灰色链霉菌蛋白酶 (10.1.10), 用水溶解, 混匀, 配制成 20 U/mL 灰色链霉菌蛋白酶溶液。临用前配制,  $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$  放置。

注: 混匀时应摇晃溶液以避免起泡, 静置约 5 分钟, 直至所有粉末溶解。

## 10.3 标准品

10.3.1 2'-FL ( $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$ , CAS 号: 41263-94-9): 纯度 $\geq 95\%$ , 或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

10.3.2 昆布三糖 ( $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$ , CAS 号: 3256-04-0): 纯度 $\geq 95\%$ , 或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

## 10.4 标准溶液配制

10.4.1 标准储备溶液 (1000 mg/L): 准确称取 2'-FL 标准品 (10.3.1) 100 mg (精确至 0.1 mg), 用水溶解并定容至 100 mL, 混匀。转移至 2 mL 冻存管中, 分装后的标准储备溶液于  $-20^{\circ}\text{C}$  冷冻保存, 保存期 12 个月。

10.4.2 标准中间溶液 (200 mg/L): 准确吸取标准储备溶液 (10.4.1) 2 mL, 用水稀释并定容至 10 mL, 混匀。于  $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$  冷藏保存, 保存期 7 天。

10.4.3 标准工作溶液: 分别准确吸取标准中间溶液 (10.4.2) 0.1 mL、0.25 mL、0.5 mL、1.25 mL、2.5 mL 和 5 mL 于 10 mL 容量瓶, 用水定容, 混匀。配制成质量浓度分别为 2 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、25 mg/L、50 mg/L 和 100 mg/L 的标准工作溶液。转移至自动进样小瓶中, 分装后的标准工作溶液于  $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$  冷藏保存, 保存期 7 天。

10.4.4 内标储备溶液: 准确称取昆布三糖标准品 (10.3.2) 100 mg (精确至 0.1 mg), 用水溶解并定容至 100 mL, 混匀。转移至 2 mL 冻存管中, 分装后的内标储备溶液于  $-20^{\circ}\text{C}$  冷冻保存, 保存期 12 个月。

10.4.5 内标工作溶液：准确吸取 1 mL 内标储备溶液（10.4.4）于 10 mL 容量瓶，用水定容，混匀。配置成质量浓度为 100 mg/L 的内标工作溶液。转移至自动进样小瓶中，分装后的内标工作溶液于 2℃~8℃ 冷藏保存，保存期 7 天。

## 10.5 材料

- 10.5.1 离心管：1.5 mL、15 mL 和 50 mL 容量。
- 10.5.2 烧杯：500 mL 和 2 L 容量。
- 10.5.3 容量瓶：10 mL、25 mL、100 mL 和 1 L 容量。
- 10.5.4 量筒：100 mL 和 500 mL 容量。
- 10.5.5 自动进样小瓶。
- 10.5.6 进样小瓶瓶盖。
- 10.5.7 微孔滤膜：水相，孔径 0.45 μm。
- 10.5.8 冻存管：2 mL 容量。

## 11 仪器和设备

- 11.1 超高效液相色谱仪或高效液相色谱仪：配备荧光检测器。
- 11.2 分析天平：感量为 0.1 g、0.01 g、0.001 g 和 0.1 mg。
- 11.3 磁力搅拌器。
- 11.4 涡旋混合仪。
- 11.5 超声仪。
- 11.6 恒温水浴振荡器。
- 11.7 pH 计：精度为 0.01。
- 11.8 高速微量离心机：转速 ≥ 15000 r/min。
- 11.9 粉碎机。

## 12 分析步骤

### 12.1 试样制备

取适量有代表性的样品，巴氏杀菌乳、灭菌乳、发酵乳、调制乳和饮料等液态均匀样品直接摇匀，混匀过程中尽量避免产生气泡，有气泡的液态样品超声处理 10 min；冷冻饮品室温融化后充分搅拌均匀，必要时可采用 30℃~40℃ 水浴加热搅拌；调制乳粉和婴幼儿辅助食品等固态均匀样品直接混匀；糖果和焙烤食品类固态样品剪切或粉碎后混匀。

### 12.2 试样前处理

#### 12.2.1 乳及乳制品、饮料、冷冻饮品和婴幼儿辅助食品（不包含调制乳粉）

准确称取试样 1 g ( $m$ ，精确至 0.001 g) 于 50 mL 离心管中，加入 40 mL 水，涡旋混匀，超声提取 30 min，用水转移并定容至 100 mL 容量瓶中，混匀。取出一定量定容后的溶液再次稀释适当倍数，待衍生。

#### 12.2.2 调制乳粉

准确称取试样 25 g（精确至 0.01 g），加水 200 g（精确至 0.1 g），搅拌直至样品充分溶解。准确称取上述液体 10 g ( $m$ ，精确至 0.01 g) 于 50 mL 离心管中，加入 30 mL 水，涡

旋混匀，超声提取 30 min，用水转移并定容至 100 mL 容量瓶中，混匀。取出一定量定容后的溶液再次稀释适当倍数，待衍生。

### 12.2.3 糖果

准确称取试样 1 g ( $m$ ，精确至 0.001 g) 于 50 mL 离心管中，加入 40 mL 水，涡旋混匀，放置于恒温振荡器中 35℃，150 rpm 振荡，直至样品充分溶解，用水转移并定容至 100 mL 容量瓶中，混匀。取出一定量定容后的溶液再次稀释适当倍数，待衍生。

### 12.2.4 烘烤食品

准确称取试样 0.2 g ( $m$ ，精确至 0.1 mg) 于 50 mL 离心管中，加入水 10 mL、淀粉转葡萄糖苷酶溶液 (10.2.4) 0.1 mL、胰酶溶液 (10.2.5) 1 mL 和灰色链霉菌蛋白酶溶液 (10.2.6) 0.5 mL，涡旋混匀。将离心管置于恒温振荡器中 40℃，150 rpm 酶解 2 h (根据试样酶解程度可能需延长酶解时间)，酶解后取出并静置至室温，用水转移并定容至 20 mL 容量瓶中，混匀。取出一定量定容后的溶液再次稀释适当倍数，待衍生。

## 12.3 样品溶液和标准工作溶液的衍生

吸取 100  $\mu$ L 提取后的样品溶液/标准工作溶液，转移至 1.5 mL 的离心管中，加入 50  $\mu$ L 内标工作溶液 (10.4.5) 和 100  $\mu$ L 衍生溶液 (10.2.2)，涡旋混匀。将离心管置于 65℃ 保温 60 min，取出后冷却至室温，加入 800  $\mu$ L 乙腈，涡旋混匀，15000 r/min 离心 5 min。上清液转移至液相进样小瓶中，待测。

## 12.4 超高效液相色谱仪参考条件

12.4.1 色谱柱：以酰胺为填料的多孔硅胶色谱柱 (内径 2.1 mm  $\times$  柱长 150 mm，粒径 1.7  $\mu$ m)，或等效柱。

12.4.2 流动相：流动相 A 为乙腈；流动相 B 为 50 mmol/L 甲酸铵溶液 (4.2.3)。

12.4.3 柱温：55℃。

12.4.4 流速：0.5 mL/min。

12.4.5 进样量：5  $\mu$ L。

12.4.6 检测器：荧光检测器，激发波长为 330 nm，发射波长为 420 nm。

12.4.7 梯度洗脱条件：见表 3。

表 3 超高效液相色谱仪的梯度洗脱条件

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0.0	90	10
4.0	90	10
20.0	85	15
20.5	20	80
24.5	20	80
25.0	90	10
30.0	90	10

## 12.5 高效液相色谱仪参考条件

- 12.5.1 色谱柱：以酰胺为填料的多孔硅胶色谱柱（内径 4.6 mm×柱长 150 mm，粒径 3 μm），或等效柱。
- 12.5.2 流动相：流动相 A 为乙腈；流动相 B 为 50 mmol/L 甲酸铵溶液（4.2.3）。
- 12.5.3 柱温：55℃。
- 12.5.4 流速：1.0 mL/min。
- 12.5.5 进样量：20 μL。
- 12.5.6 检测器：荧光检测器，激发波长为 330 nm，发射波长为 420 nm。
- 12.5.7 梯度洗脱条件：见表 4。

表 4 高效液相色谱仪的梯度洗脱条件

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0.0	85	15
4.0	85	15
20.0	80	20
20.5	20	80
24.5	20	80
25.0	85	15
30.0	85	15

## 12.6 标准曲线的制作

将衍生后的标准工作溶液依次注入液相色谱仪中，测定2'-FL的峰面积，以标准工作溶液的浓度为横坐标，以2'-FL的峰面积与内标昆布三糖的峰面积比值为纵坐标，绘制标准曲线。2'-FL标准品和内标标准品衍生溶液的超高效液相色谱图参见附录B.1，高效液相色谱图参见附录B.2。

## 12.7 试样溶液的测定

将衍生后的试样溶液注入液相色谱仪中，根据保留时间定性，根据标准曲线得到试样溶液中 2'-FL 的浓度。

## 12.8 空白试验

除不称取试样外，均按照上述测定步骤进行。

## 13 分析结果的表述

试样中2'-FL含量按公式（1）计算：

$$X = \frac{\rho \times V \times DF}{m \times 10} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X——试样中 2'-FL 的含量，单位为毫克每百克（mg/100g）；

ρ——试样测定液中 2'-FL 的质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

V——初始稀释体积，单位为毫升（mL）；

$DF$ ——添加内标前任何额外稀释的稀释系数；

$m$ ——试样的称样量，单位为克（g）；

10——换算系数。

结果保留三位有效数字。

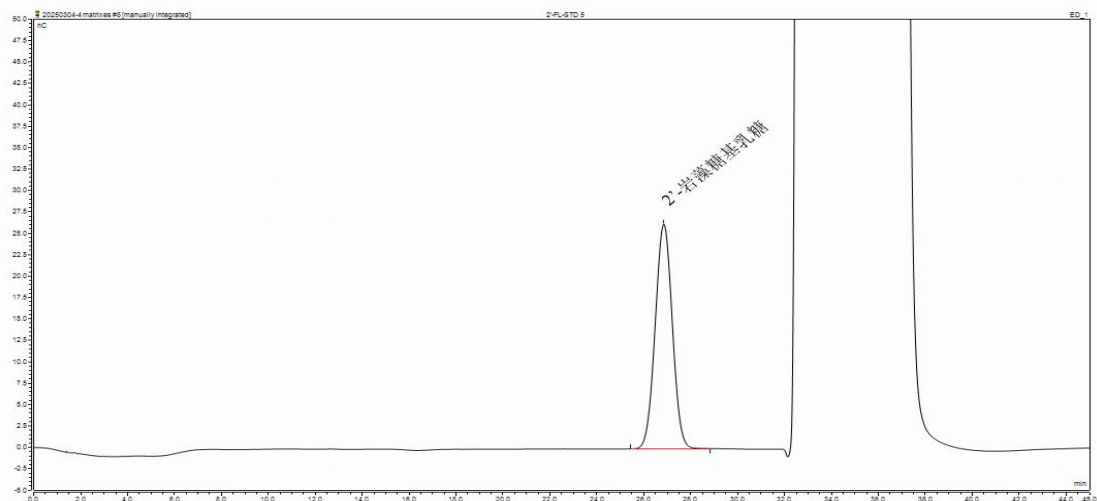
#### 14 精密度

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%。

#### 15 检出限及定量限

当取样量为 1 g，定容体积为 100 mL 时，2'-FL 的检出限为 1.5 mg/100g，定量限为 4 mg/100g。

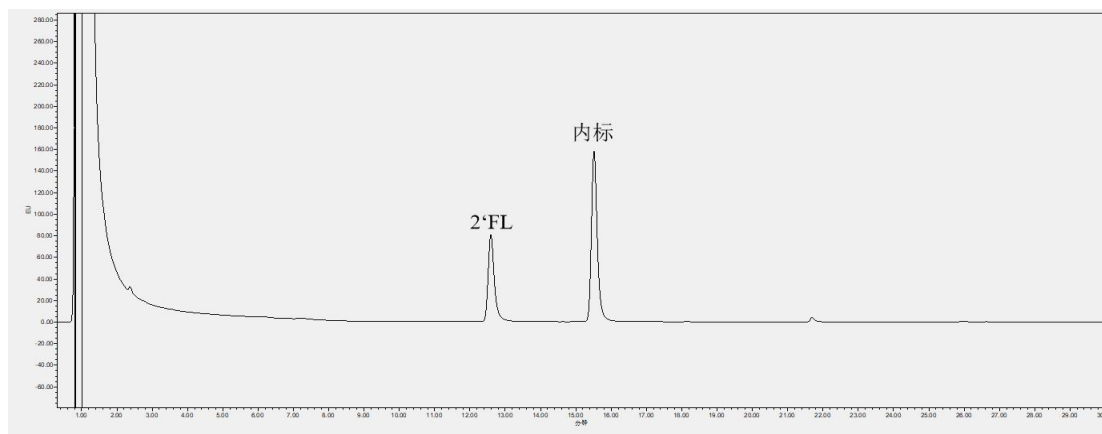
附录A  
(资料性)  
2'-FL标准品的典型离子色谱图示例



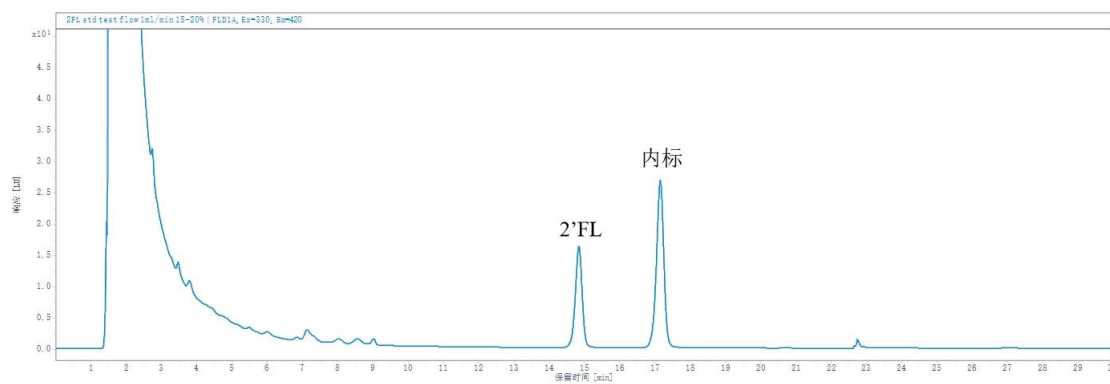
图A.1 2'-FL标准品 (50 mg/L) 的离子色谱图示例

附录B  
(资料性)

2'-FL标准品和内标标准品衍生溶液的典型液相色谱图示例



图B.1 2'-FL标准品（25 mg/L）和内标标准品（100 mg/L）衍生溶液的超高效液相色谱图示例



图B.2 2'-FL标准品（25 mg/L）和内标标准品（100 mg/L）衍生溶液的高效液相色谱图示例