

# 国家卫生健康委员会

# 公告

2023年 第8号

根据《中华人民共和国食品安全法》规定，审评机构组织专家对桃胶等4种物质申请新食品原料、丝氨酸蛋白酶等6种物质申请食品添加剂新品种、C.I. 颜料黑7等5种物质申请食品相关产品新品种的安全性评估材料进行审查并通过。

特此公告。

- 附件：1. 桃胶等4种新食品原料
2. 丝氨酸蛋白酶等6种食品添加剂新品种
3. C.I. 颜料黑7等5种食品相关产品新品种



## 附件 1

## 桃胶等 4 种新食品原料

## 一、桃胶

中文名称	桃胶		
英文名称	Peach gum		
基本信息	来源: 蔷薇科李属植物桃树 ( <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch)		
生产工艺简述	以桃树分泌的胶状物为原料, 经采摘、分选、晾晒、清洗、干燥等工艺制成。		
推荐食用量	≤ 30 克/天		
质量规格要求	粗多糖, g/100g	≥	60
	水分, g/100g	≤	15
	灰分, g/100g	≤	2
其他需要说明的情况	1. 婴幼儿、孕妇和哺乳期妇女不宜食用, 标签、说明书应当标注不适宜人群和食用限量。		
	2. 食品安全指标须符合以下规定:		
	铅 (Pb), mg/kg	≤	0.5
	总砷 (As), mg/kg	≤	0.5
	赭曲霉毒素 A, μg/kg	≤	5.0
	大肠菌群, CFU/g	≤	100
	霉菌和酵母菌, CFU/g	≤	150
	金黄色葡萄球菌, /25g		0
沙门氏菌, /25g		0	

## 二、油莎豆

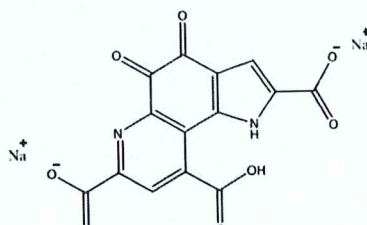
中文名称	油莎豆
英文名称	Tiger nut
基本信息	来源：莎草科莎草属植物油莎草（ <i>Cyperus esculentus</i> L. var. <i>sativus</i> Boeck.） 食用部位：地下块茎
其他需要说明的情况	食品安全指标按照我国现行食品安全国家标准中坚果与籽类食品的规定执行。

### 三、肠膜明串珠菌乳脂亚种

中文名称	肠膜明串珠菌乳脂亚种		
拉丁名称	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>		
其他需要说明的情况	1. 批准列入《可用于食品的菌种名单》，使用范围包括乳及乳制品、果蔬制品、谷物制品的发酵加工，不包括婴幼儿食品。		
	2. 食品安全指标须符合以下规定：		
	铅（Pb，以干基计），mg/kg	≤	1.0
	总砷（As，以干基计），mg/kg	≤	1.5
	沙门氏菌，/25 g（mL）		0
	金黄色葡萄球菌，/25 g（mL）		0
单核细胞增生李斯特氏菌，/25 g（mL）		0	



#### 四、吡咯并喹啉醌二钠盐

中文名称	吡咯并喹啉醌二钠盐	
英文名称	Pyrroloquinoline quinone disodium (PQQ) salt	
基本信息	<p>CAS: 122628-50-6</p> <p>分子式为: <math>C_{14}H_4N_2Na_2O_8</math></p> <p>分子量: 374.17</p> <p>化学结构式为:</p> 	
生产工艺简述	以食葡萄糖食甲基菌 ( <i>Methylovorus glucosotrophus</i> ) 为菌种, 经发酵、提取、纯化、结晶、干燥等工艺制成。	
推荐食用量	≤ 20 毫克/天	
质量规格要求	性状	红褐色粉末
	吡咯并喹啉醌二钠盐含量 (以干基计), g/100g	≥ 98.0
	水分, g/100g	≤ 12.0
其他需要说明的情况	<p>1. 使用范围和最大使用量: 饮料 (40 mg/kg, 固体饮料按照冲调后液体质量折算)。</p> <p>2. 婴幼儿、孕妇和哺乳期妇女不宜食用, 标签、说明书应当标注不适宜人群和食用限量。</p>	

3. 吡咯并喹啉醌二钠盐含量检测方法见国家卫生健康委 2022 年第 1 号公告中吡咯并喹啉醌二钠盐含量检测方法（附录 A）。		
4. 食品安全指标须符合以下规定：		
铅(Pb), mg/kg	≤	0.5
总砷(As), mg/kg	≤	1.0
镉(Cd), mg/kg	≤	0.1
总汞(Hg), mg/kg	≤	0.1
菌落总数, CFU/g	≤	1000
大肠杆菌, MPN/g	≤	3.0
霉菌和酵母菌, CFU/g	≤	100
金黄色葡萄球菌, /25g		0
沙门氏菌, /25g		0

## 附件 2

# 丝氨酸蛋白酶等 6 种食品添加剂新品种

## 一、食品工业用酶制剂新品种

序号	酶	来源	供体
1	丝氨酸蛋白酶 Serine protease	地衣芽孢杆菌 <i>Bacillus</i> <i>licheniformis</i>	葱绿拟诺卡氏菌 <i>Nocardiopsis</i> <i>prasina</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：乳酸镁

英文名称：Magnesium lactate

功能分类：食品营养强化剂

### (1) 用量及使用范围

乳酸镁的使用范围和用量与 GB 14880《食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准》中已批准镁的规定一致。

### (2) 质量规格要求

#### 1 范围

本质量规格要求适用于以乳酸和氧化镁（或碳酸镁）反应后制成的食品营养强化剂乳酸镁。

#### 2 化学名称、分子式、结构式和相对分子量



## 2.1 化学名称

2-羟基丙酸镁二水合物或 2-羟基丙酸镁三水合物

## 2.2 分子式

$C_6H_{10}MgO_6 \cdot nH_2O$  ( $n=2$  或  $3$ )

## 2.3 结构式

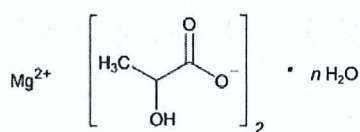


图1 L-乳酸镁结构式

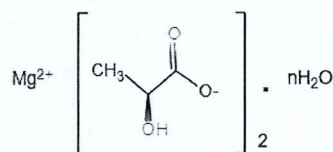


图2 DL-乳酸镁结构式

注： $n=2$  或  $3$ 。

## 2.4 相对分子质量

238.47 ( $n=2$ ) (按 2021 年国际相对原子质量)

256.49 ( $n=3$ ) (按 2021 年国际相对原子质量)

## 3 产品分类

按产品构型分为L-乳酸镁和DL-乳酸镁。

## 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
色泽	白色至近白色	取适量样品，置于清洁、干燥的白瓷盘中，在自然光线下，
状态	结晶颗粒或粉末	



气味	无异臭	观察其色泽和状态，并嗅其气味。
----	-----	-----------------

## 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
	L-乳酸镁	DL-乳酸镁	
乳酸镁含量(以干基计), w/%	97.5-101.5		附录 A 中 A.3
比旋光度 <sup>a</sup> , $\alpha_m(20^\circ\text{C},D)/[(^\circ)\cdot\text{dm}^2\cdot\text{kg}^{-1}]$	-7.5~-8.8	+2.0~-2.0	GB/T 613 <sup>a</sup>
干燥失重, w/% ≤	23.0		GB 5009.3-2016 直接干燥法 <sup>b</sup>
氯化物(以 Cl 计), w/% ≤	0.05		附录 A 中 A.4
铅(Pb)/(mg/kg) ≤	2.0		GB 5009.75 或 GB 5009.12
总砷(以 As 计) /(mg/kg) ≤	3.0		GB 5009.76 或 GB 5009.11
<sup>a</sup> L-乳酸镁的试样溶液为 0.05 g/mL 水溶液, DL-乳酸镁的试样溶液为 0.03 g/mL 水溶液。			
<sup>b</sup> 干燥温度为 120 °C±2 °C, 干燥时间为 24 h。			

## 附录 A 检验方法

### A.1 一般规定

本质量规格要求所用试剂和水，在没有注明其他要求时，均指分析纯试剂和 GB/T 6682 中规定的三级水。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 鉴别试验

#### A.2.1 试剂和材料

A.2.1.1 硫酸。

A.2.1.2 氯化铵溶液：200 g/L。

A.2.1.3 碳酸铵溶液：200 g/L。

A.2.1.4 磷酸钠溶液：60 g/L。

A.2.1.5 氨水溶液：2+3。

A.2.1.6 高锰酸钾溶液：3.2 g/L。

A.2.1.7 吗啡啉溶液：1+4。

A.2.1.8 亚硝基铁氰化钠溶液：50 g/L。

#### A.2.2 分析步骤

##### A.2.2.1 镁离子的鉴别

称取约 0.5 g 试样（精确至 0.001 g），溶于 10 mL 水，加 5 mL 氯化铵溶液、5 mL 碳酸铵溶液，搅拌，不产生沉淀，

再加入 5 mL 磷酸钠溶液，产生白色结晶沉淀。分离沉淀，在沉淀中加入 10 mL 氨水溶液，沉淀不溶解。

#### A.2.2.2 乳酸根离子的鉴别

称取约 0.5 g 试样（精确至 0.001 g），溶于 10 mL 热水，加入 2 mL 硫酸使其呈酸性，再加入 2 mL 高锰酸钾溶液，混匀，加热，即发出乙醛的气味。乙醛气体的识别采用等体积的吗啡啉溶液和亚硝基铁氰化钠溶液的混合液浸润过的滤纸，滤纸与气体相接触呈蓝色。

### A.3 乳酸镁含量（以干基计）的测定

#### A.3.1 试剂和材料

A.3.1.1 氨-氯化铵缓冲液（ $\text{pH}\approx 10.0$ ）：称取 6.75 g 氯化铵，溶于 57.0 mL 氢氧化铵（28%），并加水稀释至 100 mL。

A.3.1.2 乙二胺四乙酸二钠标准滴定溶液： $c(\text{EDTA})=0.05$  mol/L。

A.3.1.3 铬黑 T 指示剂。

#### A.3.2 分析步骤

称取约 1.5 g 干燥试样（干燥失重后的乳酸镁），精确至 0.0001 g，置于 200 mL 烧杯中，加入 25 mL 水溶解，然后转移至 250 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。用移液管移取 25 mL 试样溶液，置于 250 mL 锥形瓶中，加 25 mL 水，加入 10 mL 氨-氯化铵缓冲溶液和少量铬黑 T 指示剂，



用乙二胺四乙酸二钠标准滴定溶液滴定至溶液由紫红色变为纯蓝色为终点。

同时做空白试验，空白试样溶液除不加试样外，其他加入试剂的种类和量（标准滴定溶液除外）与试样溶液相同。

### A.3.3 结果计算

乳酸镁含量的质量分数  $w_1$ ，按式 (A.1) 计算：

$$w_1 = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times M \times 250}{m \times 25 \times 1000} \times 100\% \quad \text{..... (A.1)}$$

式中：

$V_1$ ——滴定试样溶液消耗乙二胺四乙酸二钠（EDTA）标准滴定溶液的体积的数值，单位为毫升（mL）；

$V_2$ ——滴定空白试样溶液所消耗的乙二胺四乙酸二钠（EDTA）标准滴定溶液体积的数值，单位为毫升（mL）；

$c$ ——乙二胺四乙酸二钠（EDTA）标准滴定溶液的浓度的准确数值，单位为摩尔每升（mol/L）；

$M$ ——乳酸镁（ $C_6H_{10}MgO_6$ ）的摩尔质量的数值，单位为克每摩尔（g/mol） [ $M(C_6H_{10}MgO_6) = 202.44$ ]；

$m$ ——试样的质量的数值，单位为克（g）；

250——容量瓶的容积的数值，单位为毫升（mL）；

25——移取试样溶液体积的数值，单位为毫升（mL）；

1000——换算因子。

实验结果以平行测定结果的算术平均值为准（保留一位小数）。在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差



值与算术平均值的比值不大于 0.5%。

#### A.4 氯化物（以Cl计）的测定

##### A.4.1 试剂和材料

A.4.1.1 硝酸溶液：1+9。

A.4.1.2 硝酸银溶液：17 g/L。

A.4.1.3 氯化物（Cl）标准溶液：0.1 mg/mL，按 GB/T 602 配制后，稀释至每 1 mL 相当于 0.01 mg 氯离子。

##### A.4.2 分析步骤

称取 0.1 g 试样（精确至 0.01 g），置于 50 mL 纳氏比色管中，加适量水及 10 mL 硝酸溶液使其溶解，加 1 mL 硝酸银溶液，用水稀释至 50 mL，摇匀，于暗处放置 5 min，在黑色背景下，轴向观察，所呈浊度与标准比浊溶液比较。

标准比浊溶液：量取 10 mL 氯化物标准溶液，置于 50 mL 比色管中。与试样溶液同时同样处理。

##### A.4.3 结果判定

试样溶液所呈浊度不得深于标准比浊溶液，即试样中的氯化物不大于 0.05%。

2. 中文名称: 2'-岩藻糖基乳糖

英文名称: 2'-fucosyllactose, 2'-FL

功能分类: 食品营养强化剂

### (1) 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)	0.7-2.4 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)	当与乳糖-N-新四糖、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		

### (2) 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 2'-岩藻糖基乳糖。2'-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。

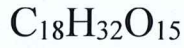
#### 2 化学名称、分子式、结构式和相对分子质量

##### 2.1 化学名称

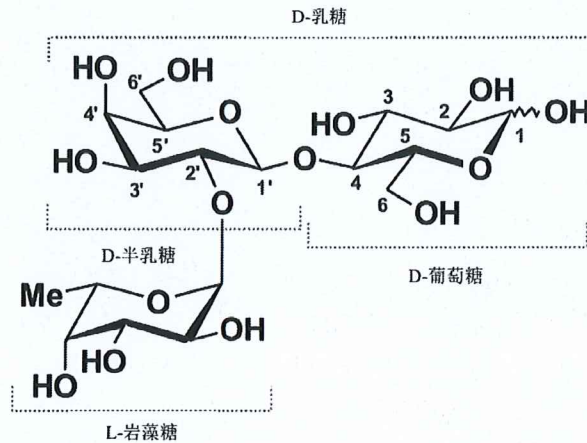
$\alpha$ -L-吡喃岩藻糖基-(1→2)- $\beta$ -D-吡喃半乳糖基-(1→4)-D-

# 葡萄糖

## 2.2 分子式



## 2.3 结构式



## 2.4 相对分子质量

488.44 (按 2020 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
2'-岩藻糖基乳糖(以干基计), w/% $\geq$	94.0	附录 A 中的 A.2
D-乳糖, w/% $\leq$	3.0	附录 A 中的 A.3
二岩藻糖基乳糖, w/% $\leq$	2.0	附录 A 中的 A.3
水分, w/% $\leq$	9.0	GB 5009.3 卡尔·费休法
残留蛋白含量/(mg/kg) $\leq$	100	附录 A 中的 A.4
内毒素/(EU/mg) $\leq$	10	附录 A 中的 A.5
灰分, w/% $\leq$	0.5	GB 5009.4
总砷(以 As 计)/(mg/kg) $\leq$	0.2	GB 5009.11
铅(Pb)/(mg/kg) $\leq$	0.05	GB 5009.12

### 3.3 微生物指标

微生物指标应符合表3的规定。

表 3 微生物指标

项目	指标	检验方法
菌落总数/(CFU/g) $\leq$	500	GB 4789.2
肠杆菌科/(CFU/g) $<$	10	GB 4789.41
沙门氏菌/(25g)	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 2'-岩藻糖基乳糖（以干基计）的测定

#### A.2.1 方法提要

2'-岩藻糖基乳糖溶于水或溶剂，在亲水保留色谱柱或酰胺键合色谱柱的液相色谱条件下分离，示差折光检测器检测，用面积归一化法或外标法定量。

#### A.2.2 试剂和材料

A.2.2.1 2'-岩藻糖基乳糖对照品：纯度 $\geq 95\%$ 。

A.2.2.2 乙腈：色谱纯。

A.2.2.3 三乙胺：色谱纯。

A.2.2.4 溶剂：乙腈:水=50:50（v/v）。

#### A.2.3 仪器和设备

高效液相色谱仪：配备示差折光检测器。

#### A.2.4 参考色谱条件

A.2.4.1 亲水保留色谱柱色谱条件如下：

A.2.4.1.1 色谱柱: 亲水保留色谱柱, 250 mm×4.6 mm, 3.5 μm 或等效色谱柱。

A.2.4.1.2 流动相: 精确称量 582.8 g 乙腈, 加入适量水, 得到 857.2 g 的溶液, 再加入 10 mL 的三乙胺。

A.2.4.1.3 柱温: 25 °C。

A.2.4.1.4 示差折光检测器温度: 35 °C。

A.2.4.1.5 流速: 1 mL/min。

A.2.4.1.6 进样量: 5 μL。

A.2.4.1.7 运行时间: 45 min。

A.2.4.2 酰胺键合柱色谱条件如下:

A.2.4.2.1 色谱柱: 酰胺键合色谱柱, 150 mm×4.6 mm, 3 μm 或等效色谱柱。

A.2.4.2.2 流动相: 乙腈:水=64:36 (v/v)。

A.2.4.2.3 柱温: 25°C。

A.2.4.2.4 示差折光检测器温度: 37°C。

A.2.4.2.5 流速: 1.1 mL/min。

A.2.4.2.6 进样量: 5 μL。

A.2.4.2.7 运行时间: 8 min。

A.2.5 分析步骤

A.2.5.1 标准溶液配制

A.2.5.1.1 亲水保留色谱柱色谱条件标准溶液的配制

准确称取适量的 2'-岩藻糖基乳糖对照品, 转移到合适的容量瓶中, 用水溶解对照品。根据对照品的纯度折算, 配制成 2'-岩藻糖基乳糖浓度约为 5.0 g/100 mL 的标准溶液。该溶液在 4°C~8°C 冰箱中保存, 有效期 4 周。

#### A.2.5.1.2 酰胺键合柱色谱条件标准溶液的配制

分别准确称取三份适量的 2'-岩藻糖基乳糖对照品, 用溶剂溶解, 容量瓶中定容, 得到系列标准溶液 1、2 和 3。根据对照品纯度折算后 2'-岩藻糖基乳糖标准溶液的浓度分别约为 4.2 mg/mL、5.0 mg/mL 和 6.0 mg/mL。该溶液在冰箱中 4°C~8°C 保存, 有效期 4 周。

#### A.2.5.2 试样溶液配制

##### A.2.5.2.1 亲水保留色谱柱色谱条件试样溶液的配制

精确称取  $5\text{ g}\pm 0.5\text{ g}$  (精确到 1 mg) 样品, 加入到 100 mL 的容量瓶中, 加水至约容量瓶刻度线 2 cm 以下, 振荡溶解, 然后加水定容至刻度, 配制成浓度约为 50 mg/mL 的试样溶液。相同试样做三个平行实验。

如用于测试的样品不足 5 g, 可相应按照比例折算所需精确称取的样品量, 配制成浓度约为 50 mg/mL 的试样溶液。

##### A.2.5.2.2 酰胺键合柱色谱条件试样溶液的配制

准确称取试样 47.0 mg ~ 54.0 mg 于 10 mL 容量瓶中, 用溶剂溶解并定容至刻度。相同试样做三个平行实验。

#### A.2.5.3 系统适用性试验



#### A.2.5.3.1 亲水保留色谱柱色谱条件的系统适用性试验

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：

——化合物保留时间重复性的相对标准偏差  $< 1.0\%$  ( $n = 3$ )；

——化合物响应值重复性的相对标准偏差  $< 1.0\%$  ( $n = 3$ )；

——洗脱液的色谱图应为纯基线。

亲水保留色谱柱色谱条件下 2'-岩藻糖基乳糖对照品的参考色谱图谱见附录 B.1。

#### A.2.5.3.2 酰胺键合柱色谱条件的系统适用性试验

当满足以下条件时，可进行试样溶液的测定：

——连续进样溶剂 5 次，最后一次进样在色谱图 4 min ~ 7 min 保留时间段内未发现色谱峰；

——进样对照品溶液 2 次，计算得到的 2'-岩藻糖基乳糖信噪比  $\geq 100$ ，保留时间约为 5 min ~ 6 min；

——连续 3 次进样试样溶液获得的峰面积的相对标准偏差应  $< 1.0\%$ 。

——按照系列标准溶液，试样测试溶液，系列标准溶液序列测试。试样溶液前后测得系列标准溶液中相同浓度的 2'-岩藻糖基乳糖峰面积的相对偏差需小于 2.0%。如不满足偏差要求，需复测。



酰胺键合柱色谱条件下 2'-岩藻糖基乳糖对照品的参考色谱图谱见附录 B.2。

#### A.2.5.4 2'-岩藻糖基乳糖含量测定

##### A.2.5.4.1 面积归一化法

在亲水保留色谱柱参考色谱条件下, 2'-岩藻糖基乳糖含量以面积归一化法定量。

2'-岩藻糖基乳糖含量(以干基计)的质量分数 $\omega_1$ 按式(A.1)计算。

$$\omega_1 = \frac{A_1}{S_1} \times 100\% \quad \text{..... (A.1)}$$

式中:

$A_1$ ——试样溶液中 2'-岩藻糖基乳糖的峰面积;

$S_1$ ——试样溶液中除溶剂峰外所有成分峰面积的和。

##### A.2.5.4.2 外标法

在酰胺键合柱参考色谱条件下, 2'-岩藻糖基乳糖含量以外标法定量。

以系列标准溶液中 2'-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线性标准曲线, 依试样溶液的峰面积在标准曲线上确定其中 2'-岩藻糖基乳糖的浓度。

2'-岩藻糖基乳糖含量的质量分数 $\omega_2$ 按式(A.2)计算。

$$\omega_2 = \frac{C_1 \times V_1}{m_1} \times 100\% \quad \text{..... (A.2)}$$

式中:

$C_1$  ——由标准曲线得到的试样溶液中 2'-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)。

2'-岩藻糖基乳糖含量 (以干基计) 的质量分数  $\omega_3$  按式 (A.3) 计算。

$$\omega_3 = \frac{\omega_2}{1-\omega} \times 100\% \quad \text{..... (A.3)}$$

式中：

$\omega_2$  ——2'-岩藻糖基乳糖含量的质量分数，%；

$\omega$  ——产品水分含量的实测值，%。

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 2%。

### A.3 D-乳糖和二岩藻糖基乳糖的测定

#### A.3.1 方法提要

2'-岩藻糖基乳糖溶于水或溶剂，在亲水保留色谱柱或氨基聚合物柱的液相色谱条件下分离，使用示差折光检测器或电雾式检测器检测，以 D-乳糖和二岩藻糖基乳糖对照品的保留时间定性，外标法或面积归一化法定量。

#### A.3.2 试剂和材料

A.3.2.1 2'-岩藻糖基乳糖对照品：纯度  $\geq 95\%$ 。

A.3.2.2 D-乳糖一水合物对照品：无水 D-乳糖含量  $\geq 95\%$  或标明含量的等同物。

A.3.2.3 二岩藻糖基乳糖对照品：纯度 $\geq 84\%$ 或标明含量的等同物。

A.3.2.4 乙腈：色谱纯。

A.3.2.5 三乙胺：色谱纯。

A.3.2.6 溶剂：乙腈:水=50:50 (v/v)。

### A.3.3 仪器和设备

高效液相色谱仪：配备示差折光检测器或电雾式检测器。

### A.3.4 参考色谱条件

A.3.4.1 液相色谱-示差折光检测器条件如下：

A.3.4.1.1 色谱柱：亲水保留色谱柱，250 mm $\times$ 4.6 mm，3.5  $\mu$ m 或等效色谱柱。

A.3.4.1.2 流动相：精确称量 582.8 g 乙腈，加入适量水，得到 857.2 g 的溶液，再加入 10 mL 的三乙胺。

A.3.4.1.3 柱温：25  $^{\circ}$ C。

A.3.4.1.4 示差折光检测器温度：35  $^{\circ}$ C。

A.3.4.1.5 流速：1 mL/min。

A.3.4.1.6 进样量：5  $\mu$ L。

A.3.4.1.7 运行时间：45 min。

A.3.4.2 液相色谱-电雾式检测器条件如下：

A.3.4.2.1 色谱柱：氨基聚合物柱，250 mm $\times$ 4.6 mm，5  $\mu$ m 或等效色谱柱。



A.3.4.2.2 流动相：乙腈:水=72:28 (v/v)。

A.3.4.2.3 柱温：25 °C。

A.3.4.2.4 流速：1.1 mL/min。

A.3.4.2.5 电雾式检测器：雾化器温度：35 °C；数据采集速率：20 Hz；功率功能：1；过滤器：5。

A.3.4.2.6 进样量：10 μL。

A.3.4.2.7 运行时间：25 min。

### A.3.5 分析步骤

#### A.3.5.1 标准溶液配制

##### A.3.5.1.1 用于示差折光检测的标准溶液

乳糖标准溶液的配制：准确称取适量的 D-乳糖一水合物对照品到适宜的容量瓶中，用水溶解，配制成浓度约为 0.5 mg/mL 的标准溶液。该溶液在冰箱中 4 °C~8 °C 条件下保存，有效期为 4 周。

二岩藻糖基乳糖标准溶液的配制：准确称取适量的二岩藻糖基乳糖对照品到适宜的容量瓶中，用水溶解，配制成浓度约为 0.5 mg/mL 的标准溶液。该标准溶液在冰箱中 4 °C~8 °C 条件下保存，有效期为 4 周。

##### A.3.5.1.2 用于电雾式检测的标准溶液

准确称取适量 2'-岩藻糖基乳糖对照品，二岩藻糖基乳糖对照品和 D-乳糖一水合物对照品到不同的容量瓶中，用溶剂溶解，根据对照品的纯度折算分别配制成 2'-岩藻糖基乳糖浓

度约为 2.5 mg/mL、二岩藻糖基乳糖浓度约为 2.5 mg/mL 的储备液，D-乳糖的浓度约为 3.0 mg/mL 的储备液。

分别取不同体积的二岩藻糖基乳糖和 D-乳糖储备液，用溶剂稀释成 5 个不同浓度的系列标准溶液，即标准溶液 1、标准溶液 2、标准溶液 3、标准溶液 4 和标准溶液 5。标准溶液中二岩藻糖基乳糖的浓度依次约为 5  $\mu\text{g/mL}$ 、10  $\mu\text{g/mL}$ 、20  $\mu\text{g/mL}$ 、37.5  $\mu\text{g/mL}$  和 55  $\mu\text{g/mL}$ ；D-乳糖的浓度依次约为 15  $\mu\text{g/mL}$ 、30  $\mu\text{g/mL}$ 、60  $\mu\text{g/mL}$ 、120  $\mu\text{g/mL}$  和 150  $\mu\text{g/mL}$ 。

再分别取以上三种储备液适量于同一容量瓶中，用溶剂稀释，配制成 2'-岩藻糖基乳糖浓度约为 20  $\mu\text{g/mL}$ ，二岩藻糖基乳糖浓度约为 20  $\mu\text{g/mL}$  和 D-乳糖浓度约为 60  $\mu\text{g/mL}$  的标准溶液 6。取适量的 2'-岩藻糖基乳糖储备液于容量瓶中，用溶剂稀释，配制成 2'-岩藻糖基乳糖浓度约为 5  $\mu\text{g/mL}$  的标准溶液 7。

#### A.3.5.2 试样溶液制备

##### A.3.5.2.1 用于示差折光检测的试样溶液

精确称取 5 g $\pm$ 0.5 g (精确到 1 mg) 样品，加入到 100 mL 的容量瓶中，加水至约容量瓶刻度线 2 cm 以下，振荡溶解，然后加水定容至刻度，配制成浓度约为 50 mg/mL 的试样溶液。同时准备三份平行试样溶液。

如用于测试的样品不足 5 g，可相应按照比例折算所需精确称取的样品量，配制成浓度约为 50 mg/mL 的试样溶液。



#### A.3.5.2.2 用于电雾式检测的试样溶液

准确称取试样 49.0 mg ~ 52.0 mg 于 10 mL 容量瓶中，用溶剂溶解并定容至刻度。每份试样准备三个平行。如需要，调整试样的称样量或稀释体积，确保样品中 D-乳糖或二岩藻糖基乳糖含量在工作曲线的范围内。

#### A.3.5.3 系统适用性试验

##### A.3.5.3.1 示差折光检测器色谱条件的系统适用性试验

满足以下条件时，可进行样品测试：

——化合物保留时间重复性的相对标准偏差  $< 1.0\%$  ( $n = 3$ )；

——化合物响应值重复性的相对标准偏差  $< 1.0\%$  ( $n = 3$ )；

——洗脱液的色谱图应为纯基线。

依据前述分析条件测定，D-乳糖和二岩藻糖基乳糖对照品的参考色谱图谱见附录 B.1。

##### A.3.5.3.2 电雾式检测器色谱条件的系统适用性试验

系统适用性应同时满足以下条件：

——2'-岩藻糖基乳糖的保留时间在 12 min ~ 14 min 之间；

——标准溶液 6 的色谱图中，2'-岩藻糖基乳糖峰的不对称度不小于 0.75，且不大于 1.25；



——标准溶液 6 的色谱图中，D-乳糖与 2'-岩藻糖基乳糖之间的分离度大于 3.0；

——以标准溶液 6 的三次进样计算，D-乳糖、2'-岩藻糖基乳糖和二岩藻糖基乳糖峰面积的相对标准偏差小于 2.5%；

——标准溶液 7 的色谱图中，2'-岩藻糖基乳糖峰的信噪比  $\geq 10$ 。如果检测器不能到达此信噪比，需要相应提高 D-乳糖、二岩藻糖基乳糖标准溶液浓度和试样溶液的浓度。

——按照系列标准溶液，试样测试溶液，系列标准溶液序列测试。试样溶液前后测得系列标准溶液中相同浓度的 2'-岩藻糖基乳糖峰面积的相对偏差或 D-乳糖峰面积的相对偏差需小于 10.0%。如不满足相对偏差要求，需复测。

依据前述分析条件测定，D-乳糖、二岩藻糖基乳糖标准品的参考色谱图谱见附录 B.3。

#### A.3.5.4 D-乳糖和二岩藻糖基乳糖含量测定

##### A.3.5.4.1 面积归一化法

在液相色谱-示差折光检测器参考色谱条件下，D-乳糖和二岩藻糖基乳糖含量以面积归一化法定量。

D-乳糖或二岩藻糖基乳糖含量的质量分数  $\omega_4$  按式 (A.4) 计算。

$$\omega_4 = \frac{A_2}{S_2} \times 100\% \quad \text{..... (A.4)}$$

式中：

$A_2$ ——试样溶液中 D-乳糖或二岩藻糖基乳糖的峰面积；

$S_2$ ——试样溶液中除溶剂峰之外的所有成分峰面积的总和。

测定结果保留小数点后两位。

#### A.3.5.4.2 外标法

在液相色谱-电雾式检测器参考色谱条件下，D-乳糖和二岩藻糖基乳糖含量以外标法定量。

以系列标准溶液中各物质的浓度为横坐标，相应的峰面积为纵坐标计算过零点的二次标准曲线，依试样溶液的相应的峰面积确定其中 D-乳糖和二岩藻糖基乳糖浓度。

D-乳糖或二岩藻糖基乳糖含量的质量分数  $\omega_5$  按式 (A.5) 计算。

$$\omega_5 = \frac{C_2 \times V_2}{m_2} \times f \times 100\% \quad \text{..... (A.5)}$$

式中：

$C_2$ ——由标准曲线得到的待测样品溶液中 D-乳糖或二岩藻糖基乳糖的浓度，单位为毫克每毫升 (mg/mL)；

$V_2$ ——试样的定容体积，单位为毫升 (mL)；

$f$ ——稀释因子；

$m_2$ ——试样的质量，单位为毫克 (mg)。

上述结果计算方法测定的 D-乳糖或二岩藻糖基乳糖结果保留至小数点后面两位。本方法的检测限为 0.03%。如结果低于检测限，则结果表示为 <0.03%。

#### A.4 残留蛋白含量的测定

#### A.4.1 方法提要

考马斯亮蓝染色试剂与蛋白质反应，在 595 nm 波长下检测吸光度用于蛋白质测定。为了防止样品基质对显色反应的干扰，样品溶液与不同浓度的牛血清白蛋白标准溶液混合后显色，绘制二次标准曲线，计算样品蛋白质含量。

#### A.4.2 试剂和材料

A.4.2.1 牛血清白蛋白对照品：纯度 $\geq 99\%$ 或标明含量的等同物。

A.4.2.2 考马斯亮蓝试剂：市售，适用于 0.1 mg/mL~1.4 mg/mL 蛋白含量的测定。

#### A.4.3 仪器和设备

A.4.3.1 紫外-可见分光光度计。

A.4.3.2 分析天平：感量 0.0001 g。

#### A.4.4 分析步骤

##### A.4.4.1 牛血清白蛋白储备溶液的制备

称取 20.0 mg 牛血清白蛋白对照品于 10 mL 容量瓶中，用水溶解并定容至刻度，混匀。

##### A.4.4.2 牛血清白蛋白标准溶液的制备

取 100  $\mu$ L 上述储备溶液于 10 mL 容量瓶中，用水溶解并定容至刻度，混匀。

##### A.4.4.3 试样溶液的制备



称取 200 mg 样品于 5 mL 容量瓶中，用水溶解并定容至刻度，混匀。

#### A.4.4.4 测定

按表 A.1 直接在比色皿中依次加入试样溶液、水、牛血清白蛋白标准溶液和考马斯亮蓝试剂，混匀，室温下静置 10 min。然后以水作为参比，在 595 nm 波长下依次测定混合溶液的吸光值。

表 A.1 测试试样溶液制备

溶液	蛋白浓度 (mg/L)	试样溶液 ( $\mu\text{L}$ )	水 ( $\mu\text{L}$ )	牛血清白蛋白 标准溶液( $\mu\text{L}$ )	考马斯亮 蓝试剂 ( $\mu\text{L}$ )
空白溶液 1	0	0	800	0	200
空白溶液 2	0	0	800	0	200
混合溶液 0	0	600	200	0	200
混合溶液 1	1	600	150	50	200
混合溶液 2	2	600	100	100	200
混合溶液 3	4	600	0	200	200

#### A.4.4.5 结果计算

以混合溶液的吸光值减去空白吸光值的平均值得到校准吸光值。以校准吸光值为纵坐标，牛血清白蛋白标准溶液浓度为横坐标，绘制通过横坐标左半轴交点的二次标准曲

线。标准曲线与横坐标左半轴交点对应浓度值的绝对值即为试样中蛋白的浓度。标准曲线的示意图见图 A.1。

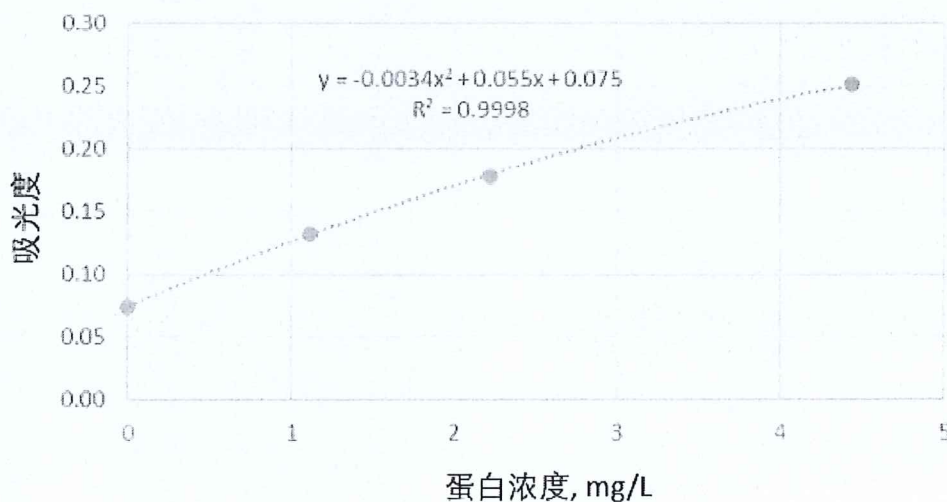


图 A.1 蛋白含量测定的标准曲线示意图

试样中蛋白含量 $\omega_6$ 按式 (A.6) 计算, 单位为 mg/kg。

$$\omega_6 = \frac{-1 \times C_3 \times V_3}{0.6 \times m_3} \times f \times 1000 \quad \text{..... (A.6)}$$

式中:

$C_3$  ——标准曲线与横坐标左半轴交点对应浓度值, 数值为负值, 单位为毫克每升 (mg/L);

$-1 \times C_3$  ——通过标准曲线求得的测定混合溶液中蛋白的浓度, 单位为毫克每升 (mg/L);

$V_3$  ——试样溶液的定容体积, 单位为毫升 (mL);

$f$  ——稀释因子;

$m_3$  ——试样的质量, 单位毫克 (mg);

0.6 ——1 mL 混合溶液中试样溶液的体积为 0.6 mL;

1000 ——单位转换系数。

该方法的定量限为 17 mg/kg。若结果低于定量限，则结果表示为 <17 mg/kg。结果保留整数位。

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 20%。

## A.5 内毒素的测定（凝胶法）

### A.5.1 一般规定

本测定所用的水应符合灭菌注射用水标准，试验所用器皿需经处理，以去除可能存在的外源性内毒素。耐热器皿常用干热灭菌法（250 °C、至少 30 min）去除，也可采用其他确证不干扰细菌内毒素检查的适宜方法。若使用塑料器具，如微孔板和与微量加样器配套的吸头等，应选用标明无内毒素并且对试验无干扰的器具。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.5.2 方法提要

利用鲎试剂来检测或量化由革兰阴性菌产生的细菌内毒素，以判断试样中细菌内毒素的限量是否符合规定。鲎试剂是从鲎的血液中提取出的冻干试剂，可以与细菌内毒素发生凝集反应，通过凝胶法进行限度检测或半定量检测内毒素。

### A.5.3 试剂和材料

#### A.5.3.1 细菌内毒素标准品。

#### A.5.3.2 鲎试剂：带有灵敏度标示值 $\lambda$ 。



A.5.3.3 细菌内毒素检查用水：内毒素含量 $< 0.015$  EU/mL。

#### A.5.4 仪器和设备

A.5.4.1 旋涡混合器。

A.5.4.2 恒温水浴箱。

#### A.5.5 分析步骤

##### A.5.5.1 试样溶液配制

样品加细菌内毒素检查用水溶解。必要时，可调节被测溶液（或其稀释液）的 pH 值，一般试样溶液和鲎试剂混合后溶液的 pH 值在 6.0 ~ 8.0 的范围内为宜，可使用适宜的酸、碱溶液或缓冲液调节 pH 值。酸或碱溶液须用细菌内毒素检查用水在已去除内毒素的容器中配制。所用溶剂、酸碱溶液及缓冲液应不含内毒素和干扰因子。

##### A.5.5.2 鲎试剂灵敏度复核试验

在本检查法规定的条件下，使鲎试剂产生凝集的内毒素的最低浓度即为鲎试剂的标示灵敏度，用 EU/mL 表示。当使用新批号的鲎试剂或试验条件发生了任何可能影响检验结果的改变时，应进行鲎试剂灵敏度复核试验。

根据鲎试剂灵敏度的标示值（ $\lambda$ ），将细菌内毒素标准品用细菌内毒素检查用水溶解，在旋涡混合器上混匀 15 min 或参照标准品说明书中要求的混匀时间进行操作，然后制成  $2\lambda$ 、 $\lambda$ 、 $0.5\lambda$  和  $0.25\lambda$  四个浓度的内毒素标准溶液，每稀释一步均应在旋涡混合器上混匀 30 s 或参照标准品说明书中要求

的混匀时间进行操作。取不同浓度的内毒素标准溶液，分别与等体积的鲎试剂溶液混合，每一个内毒素浓度平行做 4 管；另外取 2 管加入等体积的细菌内毒素检查用水作为阴性对照。将试管中溶液轻轻混匀后，封闭管口，垂直放入  $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  的恒温水浴箱中，保温  $60\text{ min}\pm 2\text{ min}$ 。

将试管从恒温水浴箱中轻轻取出，缓缓倒转  $180^{\circ}$ ，若管内形成凝胶，并且凝胶不变形、不从管壁滑脱者为阳性；未形成凝胶或形成的凝胶不坚实、变形并从管壁滑脱者为阴性。保温和拿取试管过程应避免受到振动，造成假阴性结果。

当最大浓度  $2\lambda$  管均为阳性，最低浓度  $0.25\lambda$  管均为阴性，阴性对照管为阴性，试验方为有效。

反应终点浓度的几何平均值，即为鲎试剂灵敏度的测定值 ( $\lambda_c$ ) 按式 (A.7) 计算，单位为 EU/mL。

$$\lambda_c = \text{antilg} \sum X/n \dots\dots\dots (\text{A.7})$$

式中：

$X$ —— 为反应终点浓度的对数值(lg)，反应终点浓度是指系列递减的内毒素浓度中最后一个呈阳性结果的浓度；

$n$ —— 为每个浓度的平行管数。

当  $\lambda_c$  在  $0.5\lambda \sim 2\lambda$  (包括  $0.5\lambda$  和  $2\lambda$ ) 时，方可用于细菌内毒素检查，并以标示灵敏度  $\lambda$  为该批鲎试剂的灵敏度。



### A.5.5.3 干扰试验

按表 A.2 制备溶液 A、B、C 和 D，使用的试样溶液应为未检验出内毒素且不超过最大有效稀释倍数（MVD）的溶液，按鲎试剂灵敏度复核试验项下操作。最大有效稀释倍数（MVD）是指在试验中试样溶液被允许达到稀释的最大倍数，在不超过此稀释倍数的浓度下进行内毒素限值的检测，MVD 按式（A.8）计算：

$$MVD = cL/\lambda \dots\dots\dots (A.8)$$

式中：

- $c$  —— 为试样溶液的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；如需计算在 MVD 时的试样浓度，即最小有效稀释浓度，可使用公式  $c=\lambda/L$ ；
- $L$  —— 试样的细胞内毒素限量，单位为内毒素单位每毫克（EU/mg）；
- $\lambda$  —— 鲎试剂的标示灵敏度，单位为内毒素单位每毫升（EU/mL）。

表 A.2 干扰试验溶液的制备

编号	内毒素浓度/ 被加入内毒素的溶液	稀释 用液	稀释 倍数	所含内毒素 的浓度	平行 管数
A	无/试样溶液	—	—	—	2



B	2λ/试样溶液	试样 溶液	1	2λ	4
			2	λ	4
			4	0.5λ	4
			8	0.25λ	4
C	2λ/内毒素检 查用水	检查 用水	1	2λ	2
			2	λ	2
			4	0.5λ	2
			8	0.25λ	2
D	无/内毒素检 查用水	—	—	—	2

注：A 为试样溶液；B 为干扰试验溶液；C 为鲎试剂标示灵敏度对照系列；D 为阴性对照。

只有当溶液 A 和阴性对照溶液 D 的所有平行管都为阴性，并且系列溶液 C 的结果符合鲎试剂灵敏度复核试验要求时，试验有效。当系列溶液 B 的结果符合鲎试剂灵敏度复核试验要求时，认为试样在该浓度下无干扰作用。其他情况则认为试样在该浓度下存在干扰作用。若试样溶液在小于 MVD 的稀释倍数下对试验有干扰，应将试样溶液进行不超过 MVD 的进一步稀释，再次重复干扰试验。

可通过对试样进行更大倍数的稀释或通过其他适宜的方法（如过滤、中和、透析或加热处理等）排除干扰。为确保所选择的处理方法能有效地排除干扰且不会使内毒素失

去活性，要使用预先添加了标准内毒素再经过处理的试样溶液进行干扰试验。

当进行样品的内毒素检查试验前，须进行干扰试验。当试剂、生产工艺改变或试验环境中发生了任何有可能影响试验结果的变化时，须重新进行干扰试验。

#### A.5.5.4 测定

##### A.5.5.4.1 凝胶限度试验

按表 A.3 制备溶液 A、B、C 和 D。使用稀释倍数不超过 MVD 并且已经排除干扰的试样溶液来制备溶液 A 和 B。按试剂灵敏度复核试验项下操作。

表 A.3 凝胶限度试验溶液的制备

编号	内毒素浓度/配制内毒素的溶液	平行管数
A	无/试样溶液	2
B	2λ/试样溶液	2
C	2λ/内毒素检查用水	2
D	无/内毒素检查用水	2

注：A 为试样溶液；B 为试样阳性对照；C 为阳性对照；D 为阴性对照。

保温 60 min ± 2 min 后观察结果。若阴性对照溶液 D 的平行管均为阴性，试样阳性对照溶液 B 的平行管均为阳性，阳性对照溶液 C 的平行管均为阳性，试验有效。

若溶液 A 的两个平行管均为阴性，判定试样符合规定。  
 若溶液 A 的两个平行管均为阳性，判定试样不符合规定。若  
 溶液 A 的两个平行管中的一管为阳性，另一管为阴性，需进  
 行复试。复试时溶液 A 需做 4 支平行管，若所有平行管均为  
 阴性，判定试样符合规定，否则判定试样不符合规定。

若试样的稀释倍数小于 MVD 而溶液 A 结果出现不符合  
 规定时，可将试样稀释至 MVD 重新实验，再对结果进行判  
 断。

#### A.5.5.4.2 凝胶半定量试验

通过确定反应终点浓度来量化试样中内毒素的含量。按  
 表 A.4 制备溶液 A、B、C 和 D。按鲎试剂灵敏度复核试验  
 项下操作。

表 A.4 凝胶半定量试验溶液的制备

编号	内毒素浓度/ 被加入内毒 素的溶液	稀释 用液	稀释 倍数	所含内毒素 的浓度	平行 管数
A	无/试样溶液	检查 用水	1	—	2
			2	—	2
			4	—	2
			8	—	2
B	2λ/试样溶液	—	1	2λ	2



C	2λ/内毒素检查用水	检查用水	1	2λ	2
			2	λ	2
			4	0.5λ	2
			8	0.25λ	2
D	无/内毒素检查用水	—	—	—	2

注：A 为不超过 MVD 并且通过干扰试验的试样溶液。从通过干扰试验的稀释倍数开始用内毒素检查用水稀释如 1 倍、2 倍、4 倍和 8 倍，最后的稀释倍数不得超过 MVD；B 为含 2λ 溶度内毒素标准品的溶液 A（试样阳性对照）；C 为鲎试剂标示灵敏度对照系列；D 为阴性对照。

若阴性对照溶液 D 的平行管均为阴性，试样阳性对照溶液 B 的平行管均为阳性，系列溶液 C 的反应终点浓度的几何平均值在 0.5λ ~ 2λ，试验有效。

#### A.5.5.5 结果判定

系列溶液 A 中每一系列平行管的终点稀释倍数乘以 λ，为每个系列的反应终点浓度。如果检验的是经稀释的试样，则将终点浓度乘以试样进行半定量试验的初始稀释倍数，即得到每一系列内毒素浓度 c。

若每一系列内毒素浓度均小于规定的限值，判定试样符合规定。每一系列内毒素浓度的几何平均值即为试样溶液的内毒素浓度 [按公式  $c_E = \text{antilg}(\sum \lg c / 2)$ ]。若试验中试样溶液

的所有平行管均为阴性，应记为内毒素浓度小于 $\lambda$ （如果检验的是稀释过的试样，则记为小于 $\lambda$ 乘以试样进行半定量试验的初始稀释倍数）。

若任何系列内毒素浓度不小于规定的限值时，则判定试样不符合规定。当试样溶液的所有平行管均为阳性，可记为内毒素的浓度大于或等于最大的稀释倍数乘以 $\lambda$ 。

附录 B 2'-岩藻糖基乳糖、D-乳糖和二岩藻糖基乳糖对照品  
的参考高效液相色谱图谱

B.1 亲水保留色谱柱色谱条件下 D-乳糖、2'-岩藻糖基乳糖和  
二岩藻糖基乳糖对照品的色谱图

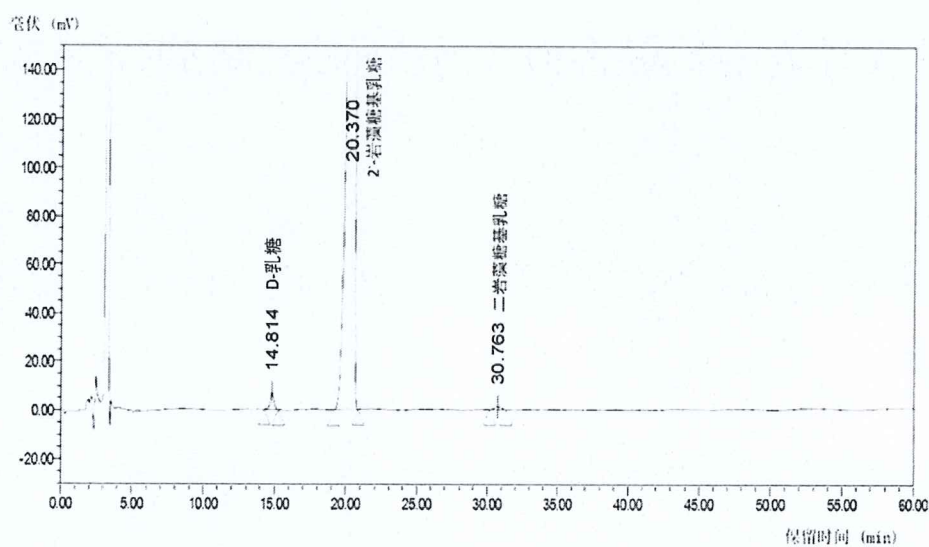


图 B.1 亲水保留色谱柱色谱条件下 D-乳糖、2'-岩藻糖基乳  
糖和二岩藻糖基乳糖对照品的色谱图

表 B.1 亲水保留色谱柱色谱条件下各物质的保留时间

化合物	保留时间 (min)
系统溶剂 (水)	2.0 ~ 3.0
D-乳糖	14.8
2'-岩藻糖基乳糖	20.4
二岩藻糖基乳糖	30.8



## B.2 酰胺键合柱色谱条件下 2'-岩藻糖基乳糖对照品的色谱图

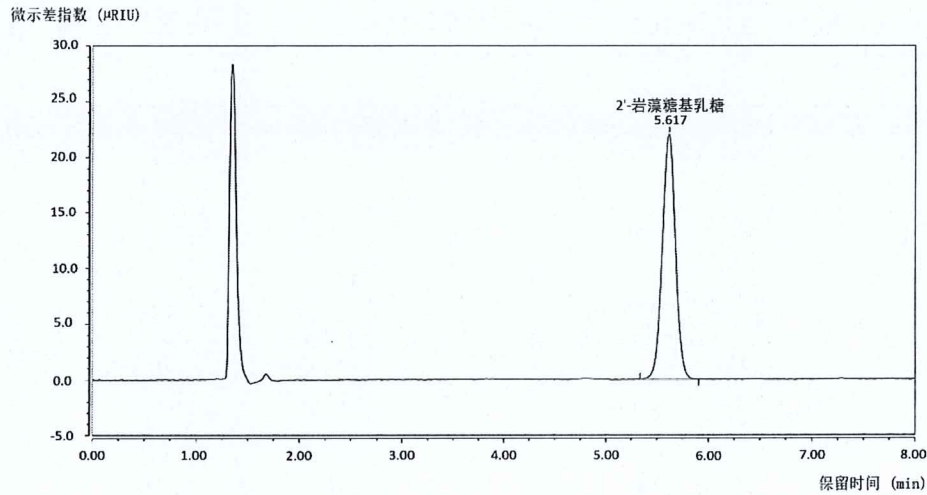


图 B.2 酰胺键合柱色谱条件下 2'-岩藻糖基乳糖对照品的色谱图

## B.3 液相色谱-电雾式检测器色谱条件下 D-乳糖、2'-岩藻糖基乳糖和二岩藻糖基乳糖对照品的色谱图

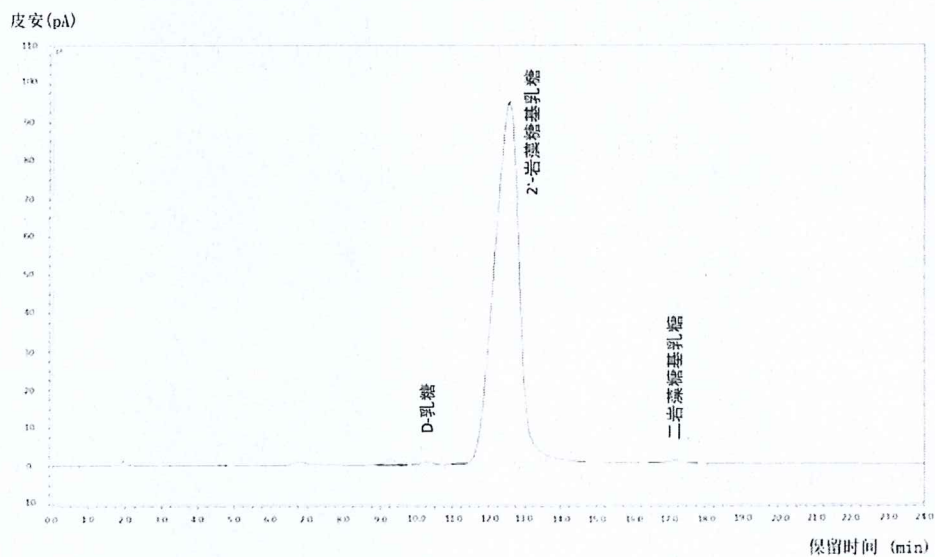


图 B.3 液相色谱-电雾式检测器色谱条件下 D-乳糖、2'-岩藻糖基乳糖和二岩藻糖基乳糖对照品的色谱图

表 B.2 液相色谱-电雾式检测器色谱条件下各物质的保留时间

化合物	保留时间 (min)
D-乳糖	10.4
2'-岩藻糖基乳糖	12.6
二岩藻糖基乳糖	17.2

附录 C 用于生产 2'-岩藻糖基乳糖的生产菌信息

C.1 用于生产 2'-岩藻糖基乳糖的生产菌信息

用于生产 2'-岩藻糖基乳糖的生产菌信息见表 C.1。

表 C.1 用于生产 2'-岩藻糖基乳糖的生产菌信息

营养强化剂	来源	供体
2'-岩藻糖基乳糖 2'-fucosyllactose	大肠杆菌 K-12 DH1 MDO	螺杆菌 ( <i>Helicobacter</i> spp.) <sup>a</sup>
	<i>E. coli</i> K-12 DH1 MDO	
	大肠杆菌 K-12 MG1655 <i>E. coli</i> K-12 MG1655	螺杆菌 ( <i>Helicobacter</i> spp.) <sup>a</sup>
	大肠杆菌 BL21(DE3) <i>E. coli</i> BL21(DE3)	奈瑟菌 ( <i>Neisseria</i> spp.) <sup>a</sup>

<sup>a</sup> 为 $\alpha$ -1,2-岩藻糖基转移酶供体



3. 中文名称：乳糖-*N*-新四糖

英文名称：Lacto-*N*-neotetraose, LNnT

功能分类：食品营养强化剂

### (1) 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)	0.2-0.6 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、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		

### (2) 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*-新四糖。乳糖-*N*-新四糖的生产菌应经过安全性评估并符合附录 D 的要求。

#### 2 化学名称、分子式、结构式和相对分子质量

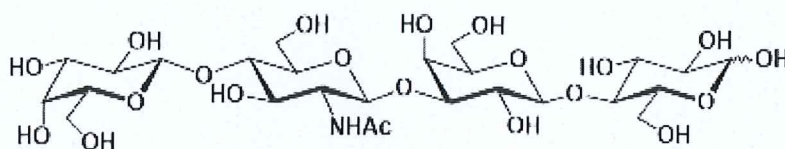
##### 2.1 化学名称

$\beta$ -D-吡喃半乳糖基-(1 $\rightarrow$ 4)-2-乙酰氨基-2-脱氧- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-吡喃半乳糖基-(1 $\rightarrow$ 4)-D-葡萄糖

## 2.2 分子式



## 2.3 结构式



## 2.4 相对分子质量

707.63 (按 2020 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	白色至米白色	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	要求	检验方法

乳糖- <i>N</i> -新四糖（以干基计），w/%	≥	92.0	附录 A 中 A.2
乳糖- <i>N</i> -新四糖果糖异构体，w/%	≤	1.0	附录 A 中 A.2
D-乳糖，w/%	≤	3.0	附录 A 中 A.3
乳糖- <i>N</i> -三糖 II，w/%	≤	3.0	附录 A 中 A.3
线性乳糖- <i>N</i> -新六糖，w/%	≤	3.0	附录 A 中 A.3
母乳总糖 <sup>a</sup> （以干基计），w/%	≥	95.0	附录 A 中 A.4
pH（20℃，5%溶液）		4.0~7.0	GB/T 20882.2
水分，w/%	≤	9.0	GB 5009.3 卡尔·费休法
灰分，w/%	≤	0.4	GB 5009.4
甲醇/（mg/kg）	≤	100	附录 A 中 A.5
残留蛋白/（mg/kg）	≤	100	附录 A 中 A.6
内毒素/（EU/mg）	≤	10	附录 A 中 A.7
总砷（以 As 计）/（mg/kg）	≤	0.2	GB 5009.11
铅（Pb）/（mg/kg）	≤	0.05	GB 5009.12
<sup>a</sup> 母乳总糖指乳糖- <i>N</i> -新四糖、D-乳糖、乳糖- <i>N</i> -三糖 II、线性乳糖- <i>N</i> -新六糖的和，结构式见附录 C。			



### 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	指标	检验方法
菌落总数/ (CFU/g)	≤ 500	GB 4789.2
酵母/ (CFU/g)	≤ 10	GB 4789.15
霉菌/ (CFU/g)	≤ 10	GB 4789.15
肠杆菌科/ (CFU/g)	< 10	GB 4789.41
沙门氏菌/(25g)	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-新四糖（以干基计）和乳糖-N-新四糖果糖异构体的测定

#### A.2.1 方法提要

试样溶于溶剂，在氨基色谱柱的液相色谱条件下分离，用紫外检测器检测乳糖-N-新四糖，外标法定量；用电雾式检测器检测乳糖-N-新四糖果糖异构体，使用乳糖-N-新四糖对照品校准，外标法定量。

#### A.2.2 试剂和材料

A.2.2.1 乳糖-N-新四糖对照品（CAS 13007-32-4）：纯度 $\geq$ 91%或标明含量的等同物。

A.2.2.2 乳糖-N-新四糖果糖异构体对照品：纯度 $\geq$ 70%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：配备紫外检测器和电雾式检测器。

A.2.3.2 分析天平：感量 0.0001 g。

### A.2.4 参考色谱条件

A.2.4.1 色谱柱：氨基聚合物柱，250 mm × 4.6 mm, 5 μm 或等效色谱柱。

A.2.4.2 流动相：A:水；B:乙腈。

A.2.4.3 流速：1.1 mL/min。

A.2.4.4 洗脱类型：梯度洗脱，条件见表 A.1。

表 A.1 梯度洗脱条件

流动相	时间/min				
	0	16	22	22.2	28
流动相 A, %	30	36	36	30	30
流动相 B, %	70	64	64	70	70

A.2.4.5 柱温：25 °C。

A.2.4.6 紫外检测器：波长 205 nm。

A.2.4.7 电雾式检测器：雾化器温度：35 °C；数据采集速率：20 Hz；功率功能：1；过滤器：5。

A.2.4.8 进样量：10 μL。

A.2.4.9 运行时间：28 min。



## A.2.5 分析步骤

### A.2.5.1 溶液的配制

#### A.2.5.1.1 标准储备溶液

乳糖-*N*-新四糖系列标准储备溶液：准确称取三份适量乳糖-*N*-新四糖对照品至适宜的容量瓶中，用溶剂溶解，根据对照品的纯度折算，配制成乳糖-*N*-新四糖最终浓度约为 1.6 mg/mL、2.0 mg/mL 和 2.4 mg/mL 的标准储备溶液 1、标准储备溶液 2 和标准储备溶液 3。该溶液在 4 °C ~ 8 °C 冰箱中保存，有效期 4 周。

乳糖-*N*-新四糖果糖异构体标准储备溶液：称取约 2.0 mg ~ 3.0 mg 乳糖-*N*-新四糖果糖异构体对照品于 1.5 mL 的玻璃小瓶中，加入 1 mL 溶剂溶解，配制成乳糖-*N*-新四糖果糖异构体标准储备溶液。该溶液在 4 °C ~ 8 °C 冰箱中密封保存，有效期 4 个月。

#### A.2.5.1.2 乳糖-*N*-新四糖果糖异构体色谱峰鉴定溶液

将 50  $\mu$ L 乳糖-*N*-新四糖果糖异构体标准储备溶液和 50  $\mu$ L 乳糖-*N*-新四糖标准储备溶液 2 转移至 5 mL 容量瓶中，用溶剂稀释至刻度。

#### A.2.5.1.3 乳糖-*N*-新四糖标准工作溶液

分别吸取乳糖-*N*-新四糖标准储备溶液 1、2 和 3 各 1.0 mL 至三个 10 mL 容量瓶中，用溶剂稀释并定容，配制成乳糖-*N*-

新四糖标准工作溶液 1、2 和 3，浓度分别约为 0.16 mg/mL、0.20 mg/mL 和 0.24 mg/mL。

#### A.2.5.1.4 用于乳糖-*N*-新四糖果糖异构体含量测定的标准工作溶液

乳糖-*N*-新四糖果糖异构体含量用乳糖-*N*-新四糖标准品定量。分别取不同体积的乳糖-*N*-新四糖标准储备溶液 2，用溶剂稀释成 4 个不同浓度的系列标准工作溶液，即标准工作溶液 1、标准工作溶液 2、标准工作溶液 3、标准工作溶液 4。标准工作溶液中乳糖-*N*-新四糖的浓度依次约为 6 μg/mL、12 μg/mL、20 μg/mL 和 40 μg/mL。

#### A.2.5.1.5 试样溶液

测定乳糖-*N*-新四糖含量的试样溶液：准确称取试样 20.0 mg ~ 22.0 mg 于 100 mL 容量瓶中，用溶剂溶解并定容。每份试样准备三个平行。

测定乳糖-*N*-新四糖果糖异构体含量的试样溶液：准确称取试样 20.0 mg ~ 22.0 mg 于 10 mL 容量瓶中，用溶剂溶解并定容。如需要，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。每份试样准备三个平行。

#### A.2.5.2 系统适用性试验

溶剂连续进样至少五次，待液相色谱响应稳定后在电雾式检测器条件下进行系统适用性测试。满足以下条件后可进行乳糖-*N*-新四糖果糖异构体含量测试：



——乳糖-*N*-新四糖标准溶液 3 中乳糖-*N*-新四糖色谱峰的不对称性在 0.95 ~ 1.25 之间;

——乳糖-*N*-新四糖果糖异构体色谱峰鉴定溶液的色谱图中, 乳糖-*N*-新四糖和乳糖-*N*-新四糖果糖异构体的分离度大于 2.2;

——用于乳糖-*N*-新四糖果糖异构体含量测定的标准工作溶液 2 连续进样 3 次, 乳糖-*N*-新四糖峰面积的相对标准偏差 < 5%;

——乳糖-*N*-新四糖果糖异构体标准工作溶液 1 的色谱图中, 乳糖-*N*-新四糖色谱峰的信噪比大于 10;

——按照标准工作溶液、试样溶液和标准工作溶液顺序进样测试。试样溶液前后的两次标准工作溶液 2 测试的峰面积的相对偏差需小于 10.0%。如不满足相对偏差要求, 需复测。

#### A.2.5.3 乳糖-*N*-新四糖 (以干基计) 的测定

使用紫外检测器测定乳糖-*N*-新四糖的含量。乳糖-*N*-新四糖的参考色谱图见附录 B.1。

以系列标准溶液中乳糖-*N*-新四糖的浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制过零点的线性标准曲线, 依试样溶液的峰面积在标准曲线上确定其中乳糖-*N*-新四糖的浓度。

若标准曲线的相关系数 ( $R^2$ ) 小于 0.995, 或试样溶液的信噪比小于 100, 则需重新进行含量测定。



乳糖-N-新四糖含量的质量分数 $\omega_1$  按式 (A.1) 计算。

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

式中:

$C_1$ ——由标准曲线得到的待测样品溶液中乳糖-N-新四糖的浓度, 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)。

三次进样测定结果的相对标准偏差不超过 2%。测试结果取算术平均值。

乳糖-N-新四糖 (以干基计) 含量的质量分数 $\omega_2$  按式 (A.2) 计算。

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

式中:

$\omega_1$  ——乳糖-N-新四糖含量的质量分数, %;

$\omega$  ——按照 GB 5009.3 卡尔·费休法测得的样品中水的质量百分含量, %。

结果保留小数点后一位。

#### A.2.5.4 乳糖-N-新四糖果糖异构体的测定

使用电雾式检测器测定乳糖-N-新四糖果糖异构体的含量。参考色谱图见附录 B.2。

以系列乳糖-*N*-新四糖标准工作溶液的峰面积为纵坐标，标准工作溶液浓度为横坐标，绘制通过原点的二次标准曲线。通过试样溶液中乳糖-*N*-新四糖果糖异构体的峰面积，在二次标准曲线上求得其对应的浓度。

乳糖-*N*-新四糖果糖异构体含量的质量分数 $\omega_3$ 按式(A.3)计算。

$$\omega_3 = \frac{C_2 \times V_2}{m_2} \times f \times 100\% \quad \text{..... (A.3)}$$

式中：

$C_2$ ——由标准曲线得到的试样溶液中乳糖-*N*-新四糖果糖异构体的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

$V_2$ ——试样的定容体积，单位为毫升（mL）；

$f$ ——稀释因子；

$m_2$ ——试样的质量，单位为毫克（mg）。

三次进样测定结果的相对标准偏差不超过10%。测试结果取算术平均值，结果保留小数点后一位。本方法的检测限为0.3%。如结果低于检测限，则结果表示为<0.3%。

### A.3 D-乳糖、乳糖-*N*-三糖 II 和线性乳糖-*N*-新六糖的测定

#### A.3.1 方法提要

试样溶于水，采用弱阴离子交换色谱法分离，脉冲安培检测器检测，以D-乳糖、乳糖-*N*-三糖 II、线性乳糖-*N*-新六糖对照品的保留时间定性。外标法定量D-乳糖；使用乳糖-*N*-

新四糖对照品校准，外标法定量乳糖-*N*-三糖 II 和线性乳糖-*N*-新六糖。

### A.3.2 试剂和材料

A.3.2.1 乳糖-*N*-新四糖对照品 (CAS 13007-32-4)：纯度  $\geq 91\%$  或标明含量的等同物。

A.3.2.2 D-乳糖一水合物对照品 (CAS 64044-51-5)：无水 D-乳糖含量  $\geq 95\%$  或标明含量的等同物。

A.3.2.3 乳糖-*N*-三糖 II 对照品：纯度  $\geq 70\%$  或标明含量的等同物。

A.3.2.4 线性乳糖-*N*-新六糖对照品：纯度  $\geq 70\%$  或标明含量的等同物。

A.3.2.5 乙腈：色谱纯。

A.3.2.6 氢氧化钠溶液：50% (w/w)。

A.3.2.7 氮气：纯度  $> 99.99\%$ 。

### A.3.3 仪器和设备

A.3.3.1 高效阴离子交换色谱仪：配备脉冲安培检测器。

A.3.3.2 分析天平：感量 0.0001 g。

### A.3.4 参考色谱条件

A.3.4.1 色谱柱：乙基乙烯基苯/二乙烯基苯底物 (55%交联) 吸附 6%交联季胺官能化乳胶胶粒为固定相的保护柱 (50 mm  $\times$  4 mm) 或等效离子交换色谱柱，及其对应分离柱 (250 mm  $\times$  4 mm) 或等效离子交换色谱柱。



A.3.4.2 柱温：25 °C。

A.3.4.3 流动相：淋洗液 A、淋洗液 B 和淋洗液 C。

A.3.4.4 洗脱类型：梯度洗脱，洗脱条件见表 A.2。

表 A.2 离子色谱梯度洗脱条件

流动相	时间 (min)							
	0	20	20.5	38	38.5	43.5	44	59
淋洗液 A, %	0	0	0	0	80	80	0	0
淋洗液 B, %	65	65	0	0	20	20	65	65
淋洗液 C, %	35	35	100	100	0	0	35	35

A.3.4.5 流速：0.45 mL/min。

A.3.4.6 进样量：5  $\mu$ L。

A.3.4.7 脉冲安培检测器

A.3.4.7.1 检测器温度：35 °C。

A.3.4.7.2 数据收集速率 (Hz)：10。

A.3.4.7.3 检测器波形为碳水化合物检测四电位波形，从 0.2s 开始数据记录，到 0.4s 停止采集数据，参数见表 A.3。

A.3.4.7.4 参比电极：银/氯化银电极。

A.3.4.7.5 工作电极：金电极。

表 A.3 检测器波形

参数	时间 (s)							
	0	0.2	0.4	0.41	0.42	0.43	0.44	0.5
电压 (V)	0.1	0.1	0.1	-2.0	-2.0	0.6	-0.1	-0.1

### A.3.5 分析步骤

#### A.3.5.1 流动相的配制

淋洗液 A (500 mM NaOH)：在塑料瓶内加入 1L 经 0.2  $\mu\text{m}$  滤膜真空过滤的水，与 26 mL 50% 氢氧化钠溶液混合，轻摇，配制成 500 mM 的氢氧化钠溶液。临用前配制，用氮气置换塑料瓶的上部空间，做氮封保护。

淋洗液 B (水)：临用前将经 0.2  $\mu\text{m}$  滤膜真空过滤的水装入塑料瓶，并用氮气置换塑料瓶的上部空间，做氮封保护。

淋洗液 C (100 mM NaOH)：在塑料瓶内加入 1L 经 0.2  $\mu\text{m}$  滤膜真空过滤过的水，与 5.2 mL 50% 氢氧化钠溶液混合，轻摇，配制成 100 mM 的氢氧化钠溶液。临用前配制，氮气置换塑料瓶的上部空间，做氮封保护。

淋洗液用水均需使用纯水机新鲜制备的纯净水 ( $\geq 18.2$  M $\Omega\text{cm}$ )。淋洗液塑料瓶在实验中保持 35 千帕 ~ 55 千帕的氮气保护。淋洗液每周新鲜配制。

#### A.3.5.2 溶液配制

##### A.3.5.2.1 杂质峰鉴别用储备溶液

称取约 1.0 mg 乳糖-N-三糖 II 和 1.0 mg 线性乳糖-N-新六糖对照品于 2 个具塞的玻璃小瓶中，各自用 0.9 mL 水和 0.1 mL 乙腈混合溶液溶解后，作为杂质峰鉴别用的储备溶液。置于冰箱的冷冻保存，有效期一年。解冻后在 15  $^{\circ}\text{C}$  条件下，两个月内有效。

#### A.3.5.2.2 标准储备溶液

称取约 20 mg 乳糖-*N*-新四糖标准品于 10 mL 容量瓶中，用水溶解并定容，制备乳糖-*N*-新四糖标准储备溶液。称取约 20 mg D-乳糖一水合物对照品于 10 mL 容量瓶中，用水溶解并定容，制备 D-乳糖标准储备溶液。以上标准储备溶液在冰箱中 2 °C ~ 8 °C 保存。有效期为 8 周。

#### A.3.5.2.3 标准工作溶液

按照表 A.4 的规定，用水配制标准工作溶液。

表 A.4 工作溶液的配制

工作溶液	配制方法	备注
标准工作溶液 1	各吸取乳糖- <i>N</i> -新四糖标准储备溶液和 D-乳糖标准储备溶液 50 μL 于同一 10 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度。	在 2 °C ~ 8 °C 条件下可稳定储存 2 周。
标准工作溶液 2	吸取 1.0 mL 标准工作溶液 1 于 10 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度。	
标准工作溶液 3	吸取 1.0 mL 标准工作溶液 2 于 10 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度。	
峰鉴别用	各吸取乳糖- <i>N</i> -三糖 II 标	在冷冻条件下可稳



工作溶液	准储备溶液和线性乳糖-N-新六糖标准储备溶液 20 $\mu$ L 于同一 10 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度。	定储存 1 年。解冻后，在 15 $^{\circ}$ C 条件下的自动取样器中，可以稳定储存 2 个月。
------	---	---

#### A.3.5.2.4 试样溶液

称量 20.0 mg 乳糖-N-新四糖样品于 10 mL 容量瓶中，用水溶解并定容。取 1.0 mL 该试样储备溶液于 20 mL 容量瓶中，用水稀释并定容。如需要，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.3.5.3 系统适用性试验

以水为空白样，连续进样至少二次，进行系统适用性测试。当满足以下条件时，可进行样品检测：

——标准工作溶液 3 进样后，色谱图中乳糖-N-新四糖的信噪比应  $\geq 10$ ；

——按照标准工作溶液 1 和标准工作溶液 2 各进样一次，2 个平行试样溶液各进样一次，标准工作溶液 1 和标准工作溶液 2 各进样一次的顺序进行测试。试样溶液前后测得标准工作溶液 1，标准工作溶液 2 中相同浓度的 D-乳糖的峰面积或乳糖-N-新四糖峰面积相对偏差应不大于 10.0%。若不满足相对偏差要求，需复测。

#### A.3.6 测定

标准工作溶液 3 和峰鉴别用工作溶液进样后,得到的色谱图与附录 B.3 色谱图比较,确定所测杂质的色谱峰位置。

以 D-乳糖的标准曲线,外标法定量 D-乳糖的含量。以乳糖-N-新四糖标准曲线,外标法定量乳糖-N-三糖 II 和线性乳糖-N-新六糖。试样溶液进样的色谱图和局部放大图见附录 B.4。

### A.3.7 结果计算

#### A.3.7.1 D-乳糖结果的计算

用标准工作溶液 1 及标准工作溶液 2 进样获得的 D-乳糖的峰面积为纵坐标, D-乳糖的浓度为横坐标通过原点绘制线性标准曲线。通过试样溶液色谱图中 D-乳糖的峰面积,在标准曲线上获得对应的浓度。

D-乳糖含量质量分数 $\omega_4$  按式 (A.4) 计算。

$$\omega_4 = \frac{C_3 \times V_3}{m_3} \times f \times 100\% \quad \text{..... (A.4)}$$

式中:

$C_3$  ——由标准曲线得到的试样溶液中 D-乳糖的浓度,单位为毫克每毫升 (mg/mL);

$V_3$  ——试样的定容体积,单位为毫升 (mL);

$f$  ——稀释因子;

$m_3$  ——试样的质量,单位为毫克 (mg)。

结果以两次平行测定的平均值表示。该方法对 D-乳糖的报告限为 0.03%。若结果高于报告限,以质量分数表示,结

果保留小数点后二位；若结果低于报告限，结果表示为 < 0.03%。

#### A.3.7.2 乳糖-N-三糖 II 结果的计算

用标准工作溶液 1 及标准工作溶液 2 进样获得的乳糖-N-新四糖的峰面积为纵坐标，乳糖-N-新四糖浓度为横坐标，通过原点绘制的线性标准曲线。通过试样溶液色谱图中乳糖-N-三糖 II 的峰面积，在标准曲线上获得对应的浓度。

乳糖-N-三糖 II 含量的质量分数  $\omega_5$  按式 (A.5) 计算。

$$\omega_5 = \frac{C_4 \times V_4 \times 0.94}{m_4} \times f \times 100\% \quad \text{..... (A.5)}$$

式中：

$C_4$  —— 由标准曲线得到的试样溶液中乳糖-N-三糖 II 的浓度，单位为毫克每毫升 (mg/mL)；

$V_4$  —— 试样的定容体积，单位为毫升 (mL)；

$f$  —— 稀释因子；

$m_4$  —— 试样的质量，单位为毫克 (mg)；

0.94 —— 乳糖-N-三糖 II 与线性乳糖-N-新四糖相对校正系数。

结果以两次平行测定的平均值表示。该方法对乳糖-N-三糖 II 的报告限是 0.03%。若结果高于报告限，以质量分数表示，结果保留小数点后二位；若结果低于报告限，结果表示为 < 0.03%。

#### A.3.7.3 线性乳糖-N-新六糖结果的计算



用标准工作溶液 1 及标准工作溶液 2 的乳糖-N-新四糖的峰面积为纵坐标，乳糖-N-新四糖浓度为横坐标，通过原点绘制的线性标准曲线。通过试样溶液色谱图中线性乳糖-N-新六糖的峰面积，在标准曲线上获得对应的浓度。

线性乳糖-N-新六糖含量的质量分数 $\omega_6$ 按式(A.6)计算。

$$\omega_6 = \frac{C_5 \times V_5 \times 1.30}{m_5} \times f \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.6)$$

式中：

$C_5$  —— 由标准曲线得到的试样溶液中线性乳糖-N-新六糖的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

$V_5$  —— 试样的定容体积，单位为毫升（mL）；

$f$  —— 稀释因子；

$m_5$  —— 试样的质量，单位为毫克（mg）；

1.30 —— 线性乳糖-N-新六糖与乳糖-N-新四糖相对校正因子的系数。

结果以两次平行测定的平均值表示。该方法对线性乳糖-N-新六糖的报告限是 0.04%。若结果高于报告限，以质量分数表示，结果保留小数点后二位；若结果低于报告限，结果表示为 <0.04%。

#### A.4 母乳总糖（以干基计）含量的计算

以干基计的母乳总糖含量的质量分数 $\omega_7$ 按式(A.7)计算。

$$\omega_7 = \frac{\omega_1 + \omega_4 + \omega_5 + \omega_6}{1 - \omega} \times 100\% \dots\dots\dots (A.7)$$

式中:

$\omega_1$ ——乳糖-N-新四糖质量分数, %;

$\omega_4$ ——D-乳糖含量质量分数, %;

$\omega_5$ ——乳糖-N-三糖 II 含量的质量分数, %;

$\omega_6$ ——线性乳糖-N-新六糖含量的质量分数, %;

$\omega$ ——按照 GB 5009.3 卡尔·费休法测得的样品中水的质量百分含量, %。

## A.5 甲醇的测定

### A.5.1 方法提要

试样溶于适当的溶剂, 顶空进样气相色谱氢火焰离子检测器分析, 内标法定量。

### A.5.2 试剂和溶液

A.5.2.1 N,N-二甲基乙酰胺: 色谱纯。

A.5.2.2 1,4-二氧六环: 试剂级。

A.5.2.3 甲醇: 色谱纯。

### A.5.3 仪器和设备

A.5.3.1 气相色谱仪: 配备氢火焰离子检测器。

A.5.3.2 顶空进样器。

A.5.3.3 分析天平: 感量 0.0001 g。

### A.5.4 测试条件

#### A.5.4.1 顶空条件

A.5.4.1.1 顶空瓶温度：90 °C。

A.5.4.1.2 定量环温度：150 °C。

A.5.4.1.3 传输线温度：160 °C。

A.5.4.1.4 顶空瓶平衡时间：15 min。

A.5.4.1.5 气相循环时间：21 min。

#### A.5.4.2 色谱条件

A.5.4.2.1 毛细管色谱柱：氰丙苯基（6%）和聚二甲硅氧烷（94%）交联的固定相，长 40 m，内径 0.18 mm，膜厚 1 μm 或等效柱。

A.5.4.2.2 载气：氮气。

A.5.4.2.3 载气流量：1.4 mL/min。

A.5.4.2.4 进样口温度：250 °C。

A.5.4.2.5 程序升温条件：45 °C，保持 6 min，以 20 °C/min 升至 230 °C，保持 5.75 min。

A.5.4.2.6 检测器温度：300 °C。

A.5.4.2.7 分流比：25:1。

A.5.4.2.8 进样量：250 μL

#### A.5.5 分析步骤

##### A.5.5.1 溶液配制

###### A.5.5.1.1 内标溶液

取 20 mL N,N-二甲基乙酰胺，置于干净干燥的密封试剂瓶内。将约 100 mg ~ 125 mg（100 μL ~ 125 μL）的 1,4-二氧



六环转移至试剂瓶内，再加入 5 mL N,N-二甲基乙酰胺稀释至 25 mL 并充分混合。

#### A.5.5.1.2 标准储备溶液

取 8 mL 内标溶液于 10 mL 容量瓶中。将容量瓶放在分析天平上去皮后，加入 45 mL 的甲醇，称量加入甲醇的重量。用内标溶液稀释定容，混合均匀。

#### A.5.5.1.3 标准工作溶液

准确转移 290  $\mu\text{L}$  内标溶液于 20 mL 顶空样品瓶中，加入 10  $\mu\text{L}$  的标准储备溶液，再加入 300  $\mu\text{L}$  水，最终体积为 600  $\mu\text{L}$ ，作为标准工作溶液 1。

准确转移 270  $\mu\text{L}$  内标溶液于 20 mL 顶空样品瓶中，加入 30  $\mu\text{L}$  标准储备溶液及 300  $\mu\text{L}$  水，作为标准工作溶液 2。

准确转移 230  $\mu\text{L}$  内标溶液至 20 mL 顶空样品瓶中，加入 70  $\mu\text{L}$  标准储备溶液及 300  $\mu\text{L}$  水，作为标准工作溶液 3。

#### A.5.5.1.4 空白溶液

取 300  $\mu\text{L}$  内标溶液于 20 mL 顶空样品瓶中，然后加入 300  $\mu\text{L}$  水。

#### A.5.5.1.5 试样溶液

准确称取 100 mg 样品于一个 20 mL 的顶空样品瓶中，准确加入 300  $\mu\text{L}$  内标溶液，再加入 300  $\mu\text{L}$  水。

#### A.5.5.2 测定

按照空白溶液、试样溶液、空白溶液和系列标准工作溶液的顺序进样测定。

#### A.5.6 结果计算

以标准工作溶液中甲醇峰面积与 1,4-二氧六环峰面积的比值为纵坐标，标准工作溶液中甲醇质量 ( $\mu\text{g}$ ) 为横坐标，绘制标准曲线。

甲醇含量的  $\omega_8$  按式 (A.8) 计算，单位以  $\text{mg/kg}$  表示。

$$\omega_8 = \frac{\frac{R}{a} \times 10^{-3}}{m_6 \times 10^{-3}} \dots\dots\dots (\text{A.8})$$

式中：

$R$  —— 试样中甲醇与内标 1,4-二氧六环峰面积比；

$a$  —— 标准曲线斜率，单位为每微克 ( $/\mu\text{g}$ )；

$m_6$  —— 试样质量，单位为克 ( $\text{g}$ )；

$10^{-3}$  —— 单位换算系数。

参考色谱图见附录 B.5。

该方法的定量限为  $10 \text{ mg/kg}$ 。若结果低于定量限，则结果表示为  $< 10 \text{ mg/kg}$ 。结果保留整数。

### A.6 残留蛋白含量的测定

#### A.6.1 方法提要

考马斯亮蓝染色试剂与蛋白质反应，在  $595 \text{ nm}$  波长下检测吸光度用于蛋白质测定。为了防止样品基质对显色反应

的干扰，样品溶液与不同浓度的牛血清白蛋白标准溶液混合后显色，绘制二次标准曲线，计算样品蛋白质含量。

## A.6.2 试剂和材料

A.6.2.1 牛血清白蛋白对照品：纯度 $\geq 99\%$ 或标明含量的等同物。

A.6.2.2 考马斯亮蓝试剂：市售，适用于 0.1 mg/mL~1.4 mg/mL 蛋白含量的测定。

## A.6.3 仪器和设备

A.6.3.1 紫外-可见分光光度计。

A.6.3.2 分析天平：感量 0.0001 g。

## A.6.4 分析步骤

### A.6.4.1 牛血清白蛋白储备溶液的制备

称取 20.0 mg 牛血清白蛋白对照品于 10 mL 容量瓶中，用水溶解并定容至刻度，混匀。

### A.6.4.2 牛血清白蛋白标准溶液的制备

取 100  $\mu\text{L}$  上述储备溶液于 10 mL 容量瓶中，用水溶解并定容至刻度，混匀。

### A.6.4.3 试样溶液的制备

称取 200 mg 样品于 5 mL 容量瓶中，用水溶解并定容至刻度，混匀。

### A.6.4.4 测定



按表 A.5 直接在比色皿中依次加入试样溶液、水、牛血清白蛋白标准溶液和考马斯亮蓝试剂，混匀，室温下静置 10 min。然后以水作为参比，在 595 nm 波长下依次测定混合溶液的吸光值。

表 A.5 测试试样溶液制备

溶液	蛋白浓度 (mg/L)	试样溶液 ( $\mu\text{L}$ )	水 ( $\mu\text{L}$ )	牛血清白蛋白标准溶液 ( $\mu\text{L}$ )	考马斯亮蓝试剂 ( $\mu\text{L}$ )
空白溶液 1	0	0	800	0	200
空白溶液 2	0	0	800	0	200
混合溶液 0	0	600	200	0	200
混合溶液 1	1	600	150	50	200
混合溶液 2	2	600	100	100	200
混合溶液 3	4	600	0	200	200

#### A.6.4.5 结果计算

以混合溶液的吸光值减去空白吸光值的平均值得到校准吸光值。以校准吸光值为纵坐标，牛血清白蛋白标准溶液浓度为横坐标，绘制通过横坐标左半轴交点的二次标准曲线。标准曲线与横坐标左半轴交点对应浓度值的绝对值即为试样中蛋白的浓度。标准曲线的示意图见图 A.1。

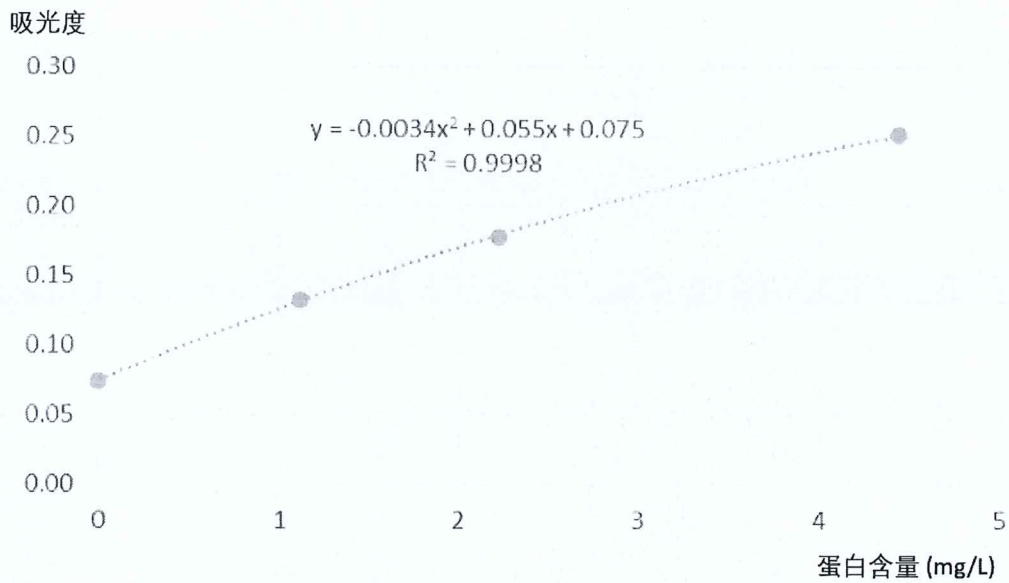


图 A.1 蛋白含量测定的标准曲线示意图

试样中蛋白含量 $\omega_9$ 按式 (A.9) 计算, 单位为 mg/kg。

$$\omega_9 = \frac{-1 \times C_6 \times V_6}{0.6 \times m_7} \times f \times 1000 \dots \dots \dots (A.9)$$

式中:

$C_6$  ——标准曲线与横坐标左半轴交点对应浓度值, 数值为负值, 单位为毫克每升 (mg/L);

$-1 \times C_6$  ——通过标准曲线求得的测定混合溶液中蛋白的浓度, 单位为毫克每升 (mg/L);

$V_6$  ——试样溶液的定容体积, 单位为毫升 (mL);

$f$  ——稀释因子;

$m_7$  ——试样的质量, 单位毫克 (mg);

0.6 ——1 mL 混合溶液中试样溶液的体积为 0.6 mL;

1000 ——单位转换系数。

该方法的定量限为 17 mg/kg。若结果低于定量限，则结果表示为 < 17 mg/kg。结果保留整数位。

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 20%。

## A.7 内毒素的测定（凝胶法）

### A.7.1 一般规定

本测定所用的水应符合灭菌注射用水标准，试验所用器皿需经处理，以去除可能存在的外源性内毒素。耐热器皿常用干热灭菌法（250 °C、至少 30 min）去除，也可采用其他确证不干扰细菌内毒素检查的适宜方法。若使用塑料器具，如微孔板和与微量加样器配套的吸头等，应选用标明无内毒素并且对试验无干扰的器具。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.7.2 方法提要

利用鲎试剂来检测或量化由革兰阴性菌产生的细菌内毒素，以判断试样中细菌内毒素的限量是否符合规定。鲎试剂是从鲎的血液中提取出的冻干试剂，可以与细菌内毒素发生凝集反应，通过凝胶法进行限度检测或半定量检测内毒素。

### A.7.3 试剂和材料

#### A.7.3.1 细菌内毒素标准品。

#### A.7.3.2 鲎试剂：带有灵敏度标示值 $\lambda$ 。



A.7.3.3 细菌内毒素检查用水：内毒素含量  $< 0.015 \text{ EU/mL}$ 。

#### A.7.4 仪器和设备

A.7.4.1 旋涡混合器。

A.7.4.2 恒温水浴箱。

#### A.7.5 分析步骤

##### A.7.5.1 试样溶液配制

样品加细菌内毒素检查用水溶解。必要时，可调节被测溶液（或其稀释液）的 pH 值，一般试样溶液和鲎试剂混合后溶液的 pH 值在 6.0 ~ 8.0 的范围内为宜，可使用适宜的酸、碱溶液或缓冲液调节 pH 值。酸或碱溶液须用细菌内毒素检查用水在已去除内毒素的容器中配制。所用溶剂、酸碱溶液及缓冲液应不含内毒素和干扰因子。

##### A.7.5.2 鲎试剂灵敏度复核试验

在本检查法规定的条件下，使鲎试剂产生凝集的内毒素的最低浓度即为鲎试剂的标示灵敏度，用 EU/mL 表示。当使用新批号的鲎试剂或试验条件发生了任何可能影响检验结果的改变时，应进行鲎试剂灵敏度复核试验。

根据鲎试剂灵敏度的标示值 ( $\lambda$ )，将细菌内毒素标准品用细菌内毒素检查用水溶解，在旋涡混合器上混匀 15 min 或参照标准品说明书中要求的混匀时间进行操作，然后制成  $2\lambda$ 、 $\lambda$ 、 $0.5\lambda$  和  $0.25\lambda$  四个浓度的内毒素标准溶液，每稀释一步均应在旋涡混合器上混匀 30 sec 或参照标准品说明书中要

求的混匀时间进行操作。取不同浓度的内毒素标准溶液，分别与等体积的鲎试剂溶液混合，每一个内毒素浓度平行做4管；另外取2管加入等体积的细菌内毒素检查用水作为阴性对照。将试管中溶液轻轻混匀后，封闭管口，垂直放入 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的恒温水浴箱中，保温 $60\text{ min}\pm 2\text{ min}$ 。

将试管从恒温水浴箱中轻轻取出，缓缓倒转 $180^{\circ}$ ，若管内形成凝胶，并且凝胶不变形、不从管壁滑脱者为阳性；未形成凝胶或形成的凝胶不坚实、变形并从管壁滑脱者为阴性。保温和拿取试管过程应避免受到振动，造成假阴性结果。

当最大浓度 $2\lambda$ 管均为阳性，最低浓度 $0.25\lambda$ 管均为阴性，阴性对照管为阴性，试验方为有效。

反应终点浓度的几何平均值，即为鲎试剂灵敏度的测定值( $\lambda_c$ )按式(A.10)计算，单位为EU/mL。

$$\lambda_c = \text{antilg} \sum X/n \dots\dots\dots (\text{A.10})$$

式中：

$X$ ——为反应终点浓度的对数值(lg)，反应终点浓度是指系列递减的内毒素浓度中最后一个呈阳性结果的浓度；

$n$ ——为每个浓度的平行管数。

当 $\lambda_c$ 在 $0.5\lambda \sim 2\lambda$ （包括 $0.5\lambda$ 和 $2\lambda$ ）时，方可用于细菌内毒素检查，并以标示灵敏度 $\lambda$ 为该批鲎试剂的灵敏度。

### A.7.5.3 干扰试验



按表 A.6 制备溶液 A、B、C 和 D，使用的试样溶液应为未检验出内毒素且不超过最大有效稀释倍数 (MVD) 的溶液，按鲎试剂灵敏度复核试验项下操作。最大有效稀释倍数 (MVD) 是指在试验中试样溶液被允许达到稀释的最大倍数，在不超过此稀释倍数的浓度下进行内毒素限值的检测，MVD 按式 (A.11) 计算：

$$MVD = cL/\lambda \dots\dots\dots (A.11)$$

式中：

$c$  —— 为试样溶液的浓度，单位为毫克每毫升 (mg/mL)；  
如需计算在 MVD 时的试样浓度，即最小有效稀释浓度，可使用公式  $c=\lambda/L$ ；

$L$  —— 试样的细胞内毒素限量，单位为内毒素单位每毫克 (EU/mg)；

$\lambda$  —— 鲎试剂的标示灵敏度，单位为内毒素单位每毫升 (EU/mL)。

表 A.6 干扰试验溶液的制备

编号	内毒素浓度/ 被加入内毒 素的溶液	稀释用 液	稀释 倍数	所含内毒素 的浓度	平行 管数
A	无/试样溶液	—	—	—	2



B	2λ/试样溶液	试样溶液	1	2λ	4
			2	λ	4
			4	0.5λ	4
			8	0.25λ	4
C	2λ/内毒素检查用水	检查用水	1	2λ	2
			2	λ	2
			4	0.5λ	2
			8	0.25λ	2
D	无/内毒素检查用水	—	—	—	2

注：A 为试样溶液；B 为干扰试验溶液；C 为鲎试剂标示灵敏度对照系列；D 为阴性对照。

只有当溶液 A 和阴性对照溶液 D 的所有平行管都为阴性，并且系列溶液 C 的结果符合鲎试剂灵敏度复核试验要求时，试验有效。当系列溶液 B 的结果符合鲎试剂灵敏度复核试验要求时，认为试样在该浓度下无干扰作用。其他情况则认为试样在该浓度下存在干扰作用。若试样溶液在小于 MVD 的稀释倍数下对试验有干扰，应将试样溶液进行不超过 MVD 的进一步稀释，再次重复干扰试验。

可通过对试样进行更大倍数的稀释或通过其他适宜的方法（如过滤、中和、透析或加热处理等）排除干扰。为确保所选择的处理方法能有效地排除干扰且不会使内毒素失

去活性，要使用预先添加了标准内毒素再经过处理的试样溶液进行干扰试验。

当进行样品的内毒素检查试验前，须进行干扰试验。当试剂、生产工艺改变或试验环境中发生了任何有可能影响试验结果的变化时，须重新进行干扰试验。

#### A.7.5.4 测定

##### A.7.5.4.1 凝胶限度试验

按表 A.7 制备溶液 A、B、C 和 D。使用稀释倍数不超过 MVD 并且已经排除干扰的试样溶液来制备溶液 A 和 B。按试剂灵敏度复核试验项下操作。

表 A.7 凝胶限度试验溶液制备

编号	内毒素浓度/配制内毒素的溶液	平行管数
A	无/试样溶液	2
B	2λ/试样溶液	2
C	2λ/内毒素检查用水	2
D	无/内毒素检查用水	2

注：A 为试样溶液；B 为试样阳性对照；C 为阳性对照；D 为阴性对照。

保温 60 min ± 2 min 后观察结果。若阴性对照溶液 D 的平行管均为阴性，试样阳性对照溶液 B 的平行管均为阳性，阳性对照溶液 C 的平行管均为阳性，试验有效。

若溶液 A 的两个平行管均为阴性，判定试样符合规定。  
 若溶液 A 的两个平行管均为阳性，判定试样不符合规定。若  
 溶液 A 的两个平行管中的一管为阳性，另一管为阴性，需进  
 行复试。复试时溶液 A 需做 4 支平行管，若所有平行管均为  
 阴性，判定试样符合规定，否则判定试样不符合规定。

若试样的稀释倍数小于 MVD 而溶液 A 结果出现不符合  
 规定时，可将试样稀释至 MVD 重新实验，再对结果进行判  
 断。

#### A.7.5.4.2 凝胶半定量试验

通过确定反应终点浓度来量化试样中内毒素的含量。按  
 表 A.8 制备溶液 A、B、C 和 D。按鲎试剂灵敏度复核试验  
 项下操作。

表 A.8 凝胶半定量试验溶液的制备

编号	内毒素浓度/ 被加入内毒 素的溶液	稀释用 液	稀释 倍数	所含内毒素 的浓度	平行 管数
A	无/试样溶液	检查用 水	1	—	2
			2	—	2
			4	—	2
			8	—	2
B	2λ/试样溶液	—	1	2λ	2



C	2λ/内毒素检查用水	检查用水	1	2λ	2
			2	λ	2
			4	0.5λ	2
			8	0.25λ	2
D	无/内毒素检查用水	—	—	—	2

注：A 为不超过 MVD 并且通过干扰试验的试样溶液。从通过干扰试验的稀释倍数开始用内毒素检查用水稀释如 1 倍、2 倍、4 倍和 8 倍，最后的稀释倍数不得超过 MVD；B 为含 2λ 溶度内毒素标准品的溶液 A（试样阳性对照）；C 为鲎试剂标示灵敏度对照系列；D 为阴性对照。

若阴性对照溶液 D 的平行管均为阴性，试样阳性对照溶液 B 的平行管均为阳性，系列溶液 C 的反应终点浓度的几何平均值在  $0.5\lambda \sim 2\lambda$ ，试验有效。

#### A.7.5.5 结果判定

系列溶液 A 中每一系列平行管的终点稀释倍数乘以 λ，为每个系列的反应终点浓度。如果检验的是经稀释的试样，则将终点浓度乘以试样进行半定量试验的初始稀释倍数，即得到每一系列内毒素浓度 c。

若每一系列内毒素浓度均小于规定的限值，判定试样符合规定。每一系列内毒素浓度的几何平均值即为试样溶液的内毒素浓度 [按公式  $c_x = \text{antilog}(\sum \lg c / 2)$ ]。若试验中试样溶液的

所有平行管均为阴性，应记为内毒素浓度小于 $\lambda$ （如果检验的是稀释过的试样，则记为小于 $\lambda$ 乘以试样进行半定量试验的初始稀释倍数）。

若任何系列内毒素浓度不小于规定的限值时，则判定试样不符合规定。当试样溶液的所有平行管均为阳性，可记为内毒素的浓度大于或等于最大的稀释倍数乘以 $\lambda$ 。

## 附录 B 高效液相参考色谱图

### B.1 紫外检测器条件下乳糖-N-新四糖的参考色谱图

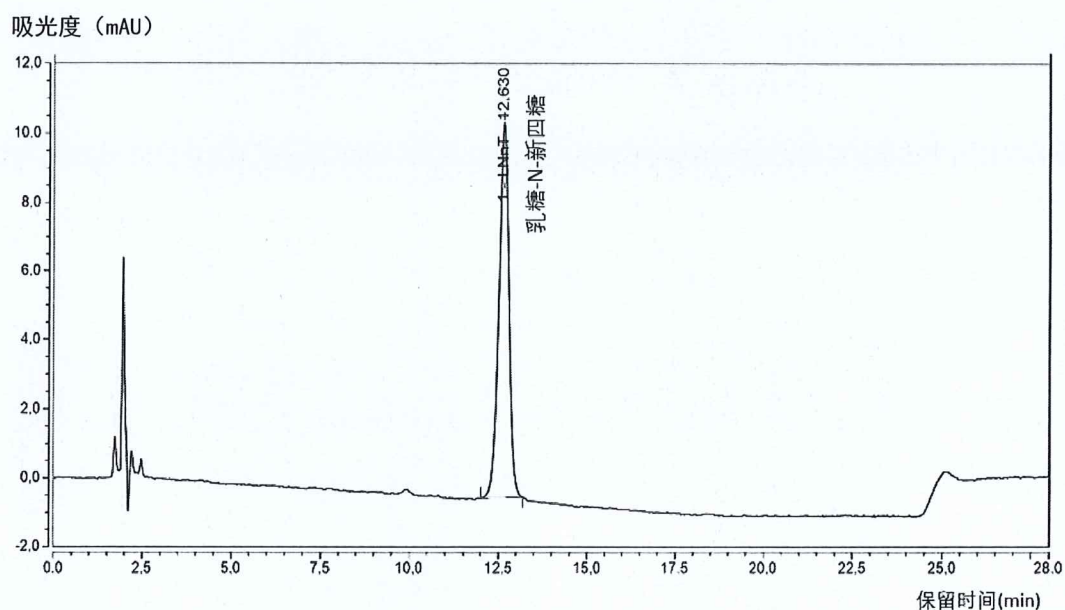


图 B.1 紫外检测器条件下乳糖-N-新四糖的参考色谱图

### B.2 液相色谱电雾式检测条件下乳糖-N-新四糖和乳糖-N-新四糖果糖异构体的参考色谱图

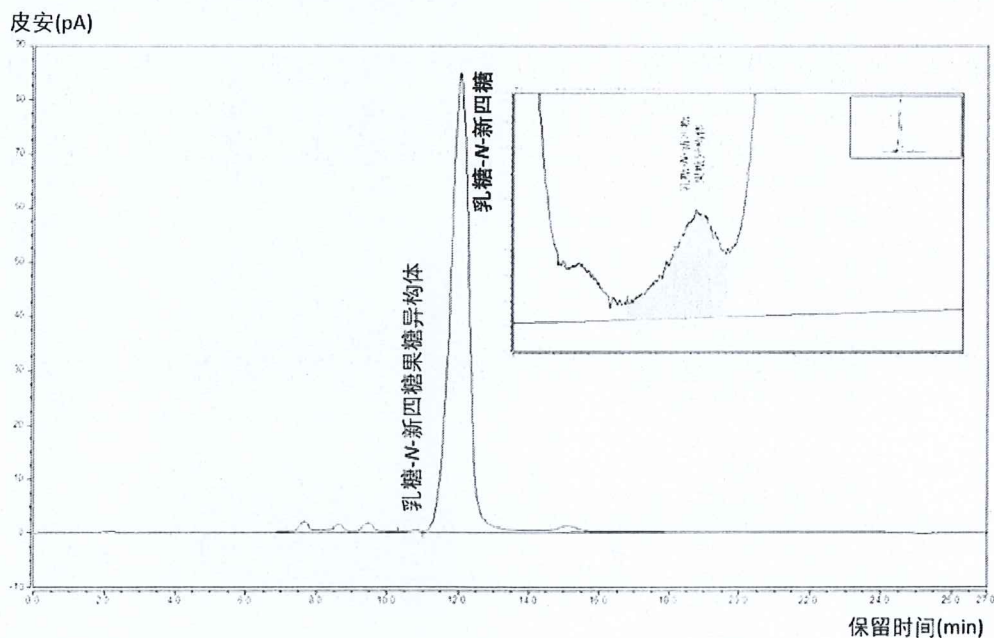


图 B.2 液相色谱电雾式检测条件下乳糖-N-新四糖和乳糖-N-新四糖果糖异构体的参考色谱图



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)
乳糖-N-新四糖	12 ~ 13
乳糖-N-新四糖果糖异构体	10 ~ 11

B.3 浓度为 0.01 mg/mL 的 D-乳糖和乳糖-N-新四糖对照品溶液的参考色谱图

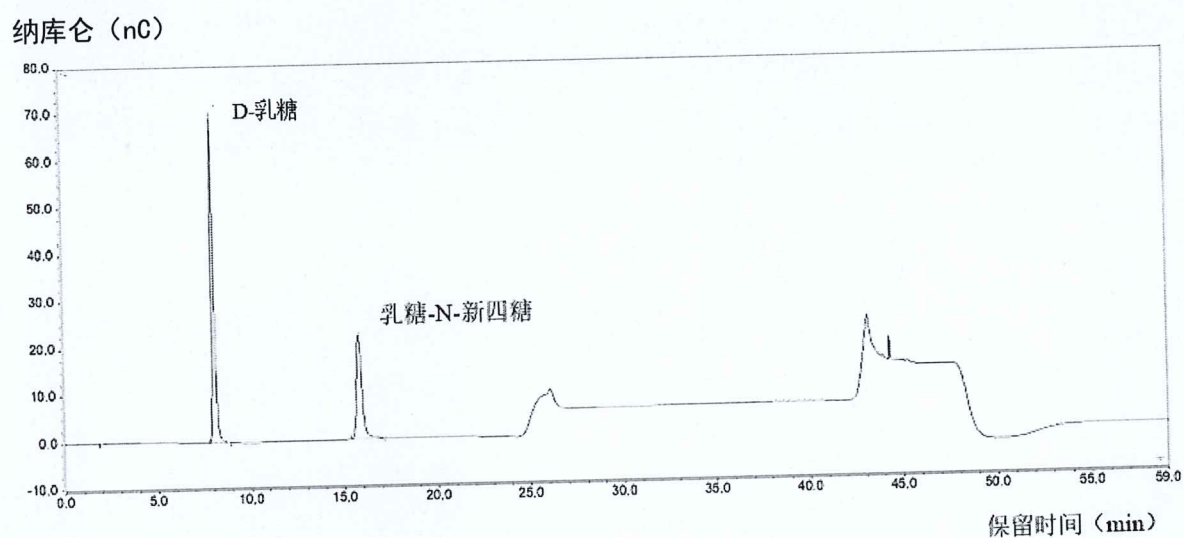


图 B.3 浓度为 0.01 mg/mL 的 D-乳糖和乳糖-N-新四糖对照品溶液的参考色谱图

## B.4 乳糖-N-新四糖试样溶液的参考色谱图

纳库仑 (nC)

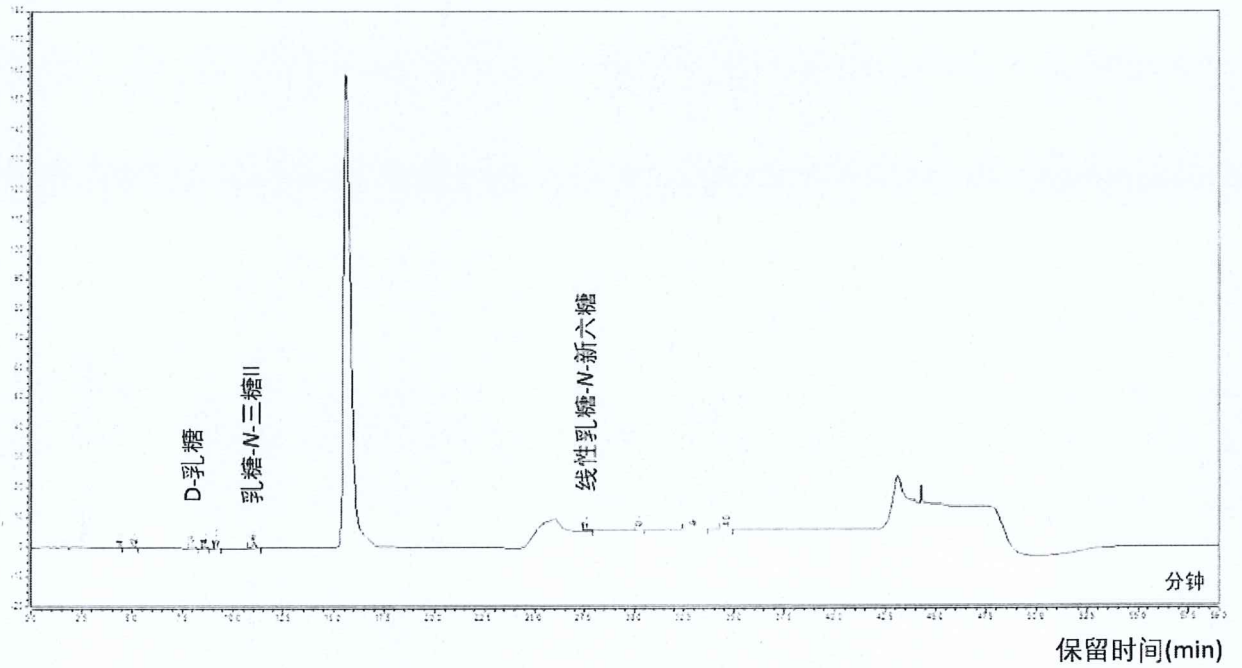


图 B.4.1 乳糖-N-新四糖试样溶液的参考色谱图

纳库仑 (nC)

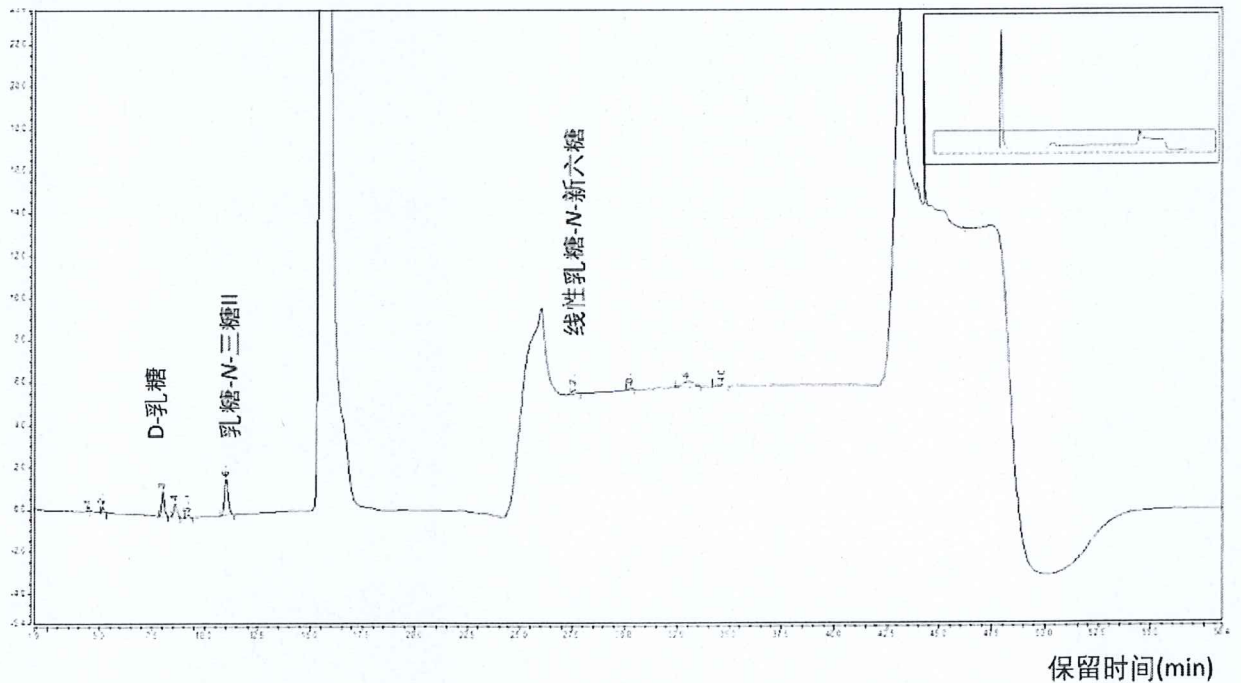


图 B.4.2 乳糖-N-新四糖试样溶液放大的参考色谱图

表 B.2 色谱条件下各物质的参考保留时间

化合物	保留时间 (min)
D-乳糖	8.0
乳糖-N-三糖II	11.0
乳糖-N-新四糖	15.8
线性乳糖-N-新六糖	27.6

B.5 含有甲醇、1,4-二氧六环和 N,N-二甲基乙酰胺校准溶液的参考色谱图

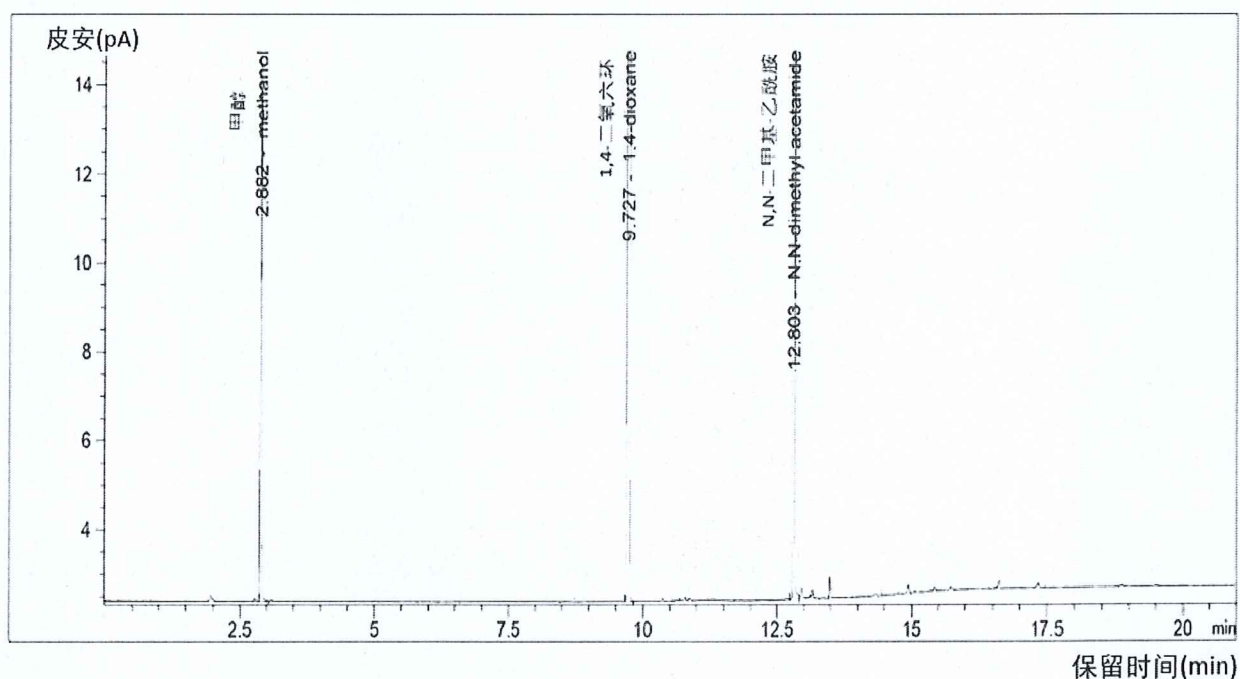


图 B.5 含有甲醇、1,4-二氧六环和 N,N-二甲基乙酰胺校准溶液的参考色谱图

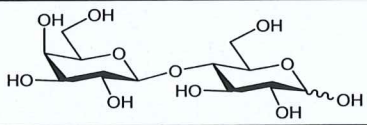
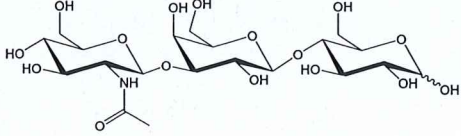
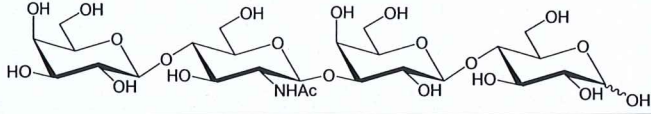
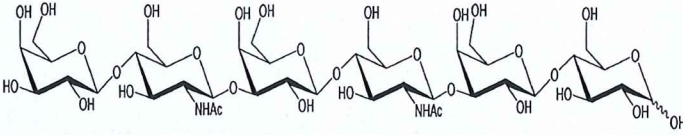


## 附录 C 母乳总糖各物质的结构式

### C.1 母乳总糖各物质的结构式

母乳总糖各物质的结构式见表 C.1。

表 C.1 母乳总糖各物质的结构式

化合物名称	结构式
D-乳糖	
乳糖-N-三糖 II	
乳糖-N-新四糖	
线性乳糖-N-新六糖	

## 附录 D 用于生产乳糖-N-新四糖的生产菌信息

### D.1 用于生产乳糖-N-新四糖的生产菌信息

用于生产乳糖-N-新四糖的生产菌信息见表 D.1。

表 D.1 用于生产乳糖-N-新四糖的生产菌信息

营养强化剂	来源	供体
乳糖-N-新四糖 Lacto-N-neotetraose	大肠杆菌K-12 DH1 MDO <i>E. coli</i> K-12 DH1 MDO	奈瑟菌 ( <i>Neisseria</i> spp.) <sup>a</sup> 和螺杆菌 ( <i>Helicobacter</i> spp.) <sup>b</sup>

<sup>a</sup> 为 $\beta$ -1,3-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶供体

<sup>b</sup> 为 $\beta$ -1,4-半乳糖苷基转移酶供体

### 三、扩大使用范围的食品添加剂

序号	名称	功能	食品分类号	食品名称	最大使用量 (g/kg)	备注
1	乳酸钙	稳定剂和凝固剂、酸度调节剂	04.02.02.03	腌渍的蔬菜	10.0	—
			04.02.02.04	蔬菜罐头	3.0	
2	三赞胶	增稠剂、稳定剂和凝固剂	01.01.03	调制乳	0.5	—
			14.03.03	复合蛋白饮料	0.75	以即饮状态计, 相应的固体饮料按照稀释倍数增加使用量
			14.08	风味饮料	0.5	



附件 3

## C.I.颜料黑 7 等 5 种食品相关产品新品种

### 一、食品接触材料及制品用添加剂扩大使用范围

#### 1. C.I.颜料黑 7; 炭黑

产品名称	中文	C.I.颜料黑 7; 炭黑
	英文	C.I. pigment black 7; Carbon black
CAS 号		1333-86-4
使用范围		塑料: 聚醚醚酮 (PEEK)
最大使用量 / %		0.5
特定迁移限量 (SML) / (mg/kg)		—
最大残留量 (QM) / (mg/kg)		—
备注		该物质甲苯萃取物小于 1%, 苯并[a]芘含量小于 0.25 mg/kg; 应符合 GB 9685-2016 附录 A 对着色剂纯度的要求。上述限制使用要求应按照 GB 4806.1 的规定进行标示。

2. 丙烯酰胺与甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵、衣康酸和 *N,N'*-亚甲基双丙烯酰胺的共聚物

产品名称	中文	丙烯酰胺与甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵、衣康酸和 <i>N,N'</i> -亚甲基双丙烯酰胺的共聚物
	英文	Copolymer of acrylamide, 2-methacryloxyethyltrimethyl ammonium chloride, itaconic acid, and <i>N,N'</i> -methylenebis acrylamide
CAS 号	214495-32-6	
使用范围	纸和纸板	
最大使用量/%	1.5 (以干重计)	
特定迁移限量 (SML) / (mg/kg)	ND (丙烯酰胺, DL=0.01mg/kg)	
最大残留量 (QM) / (mg/kg)	—	
备注	添加了该物质的纸和纸板材料及制品不得用于辐照, 使用温度不得超过 121℃。上述限制使用要求应按照 GB 4806.1 的规定进行标示。	

### 3. 2-(乙烯氧基)-1,2,3-丙三羧酸三丁基酯

产品名称	中文	2-(乙烯氧基)-1,2,3-丙三羧酸三丁基酯
	英文	2-acetoxy-1,2,3-propanetricarboxylicacid-tributylester
CAS 号		77-90-7
使用范围		间接接触食品用油墨
最大使用量/%		10
特定迁移限量 (SML) / (mg/kg)		60[以 SMT (T) 第 32 组物质之和计]
最大残留量 (QM) / (mg/kg)		—
备注	<p>添加了该物质的油墨不得用于生产婴幼儿专用食品接触材料及制品，所生产的食品接触材料及制品仅限用于室温灌装并在室温下长期贮存（包括 <math>T \leq 70\text{ }^{\circ}\text{C}</math>，<math>t \leq 2\text{ h}</math> 或 <math>T \leq 100\text{ }^{\circ}\text{C}</math>，<math>t \leq 15\text{ min}</math> 条件下的热灌装及巴氏消毒）。上述限制使用要求应按照 GB 4806.1 的规定进行标示。</p>	



## 二、食品接触材料及制品用树脂新品种

### 1. 1,4-苯二甲酸与癸二酸和 1,2-乙二醇的聚合物

产品名称	中文	1,4-苯二甲酸与癸二酸和 1,2-乙二醇的聚合物
	英文	Polymer from 1,4-terephthalic acid, sebacic acid and 1,2-ethylene glycol
CAS 号	25067-21-4	
使用范围	涂料及涂层	
最大使用量/%	按生产需要适量使用	
特定迁移限量 (SML) / (mg/kg)	7.5 (以对苯二甲酸计) ; 30 (以乙二醇计)	
最大残留量 (QM) / (mg/kg)	—	
备注	该物质仅用于 PET 膜表面涂层, 所生产的食品接触材料及制品仅限用于室温灌装并在室温及以下温度长期贮存 (包括 $T \leq 70^{\circ}\text{C}$ 、 $t \leq 2\text{h}$ 或 $T \leq 100^{\circ}\text{C}$ 、 $t \leq 15\text{min}$ 条件下的热灌装及巴氏消毒) 和微波加热。上述限制使用要求应按照 GB4806.1 的规定进行标示。	

2. 甲基丙烯酸与甲基丙烯酸丁酯、丙烯酸乙酯和甲基丙烯酸甲酯的聚合物和对苯二酚与 4,4-亚甲基双(2,6-二甲基酚)和氯甲基环氧乙烷的聚合物与 *N,N*-二甲基乙醇胺的反应产物

产品名称	中文	甲基丙烯酸与甲基丙烯酸丁酯、丙烯酸乙酯和甲基丙烯酸甲酯的聚合物和对苯二酚与 4,4-亚甲基双(2,6-二甲基酚)和氯甲基环氧乙烷的聚合物与 <i>N,N</i> -二甲基乙醇胺的反应产物
	英文	2-Propenoic acid, 2-methyl-, polymer with butyl 2-methyl-2-propenoate, ethyl 2-propenoate and methyl 2-methyl-2-propenoate, salts with 1,4-benzenediol-epichlorohydrin-4,4'-methylenebis[2,6-dimethylphenol] polymer-2-(dimethylamino)ethanol reaction products
CAS 号	—	
使用范围	涂料及涂层	
最大使用量/%	20 (以涂料配方计)	
特定迁移限量 ( SML ) / ( mg/kg )	6 (以甲基丙烯酸计); 0.6 (对苯二酚); 18 ( <i>N,N</i> -二甲基乙醇胺); 0.2[以 4,4-亚甲基双(2,6-二甲基酚)、4,4-亚甲基双(2,6-二甲基	

	酚)与环氧氯丙烷的聚合物(TMBPF-DGE)、TMBPF-DGE·H <sub>2</sub> O和TMBPF-DGE·2H <sub>2</sub> O之和计]; 0.05 (以TMBPF-DGE·HCl、TMBPF-DGE·2HCl和TMBPF-DGE·HCl·H <sub>2</sub> O之和计)
最大残留量 (QM) / (mg/kg)	—
备注	添加了该物质的食品接触用涂料及涂层不得用于接触含油脂食品,不得用于生产婴幼儿专用食品接触材料及制品。上述限制使用要求应按照GB 4806.1的规定进行标示。

分送:国家口岸管理办公室,各省、自治区、直辖市及新疆生产建设兵团卫生健康委,国家食品安全风险评估中心。

国家卫生健康委办公厅

2023年9月25日印发