

ICS 67.100.10

C



# 中华人民共和国食品安全国家标准

GB××××—××××  
代替GB/T 5413.5-1997

## 婴幼儿食品和乳品中乳糖、蔗糖的测定

Determination of lactose and sucrose in foods for infants and young children,

raw milk and dairy products

(征求意见稿)

××××-××-××发布

××××-××-××实施

中华人民共和国卫生部 发布

## 前 言

本标准代替GB/T 5413.5—1997《婴幼儿配方食品和乳粉 乳糖、蔗糖的测定》。

本标准与GB/T 5413.5—1997相比，主要变化如下：

——增加了蒸发光散射检测器。

本标准中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

——GB 5413—1985、GB/T 5413.5—1997。

# 婴幼儿食品和乳品中乳糖、蔗糖的测定

## 1 范围

本标准规定了用婴幼儿食品和乳品中乳糖、蔗糖的测定方法。

本标准第一法适用于婴幼儿食品和乳品中各种糖的测定；第二法适用于只含有乳糖、蔗糖的婴幼儿食品和乳品中糖的测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准；然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

## 第一法 高效液相色谱法

## 3 原理

试样中的糖用水提取后，经高效液相色谱柱分离，用示差折光检测器（或蒸发光散射检测器）检测，外标法进行定量。

## 4 试剂和材料

除非另有规定，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T6682 规定的三级水。

### 4.1 乙腈。

### 4.2 乙腈：色谱纯。

### 4.3 标准溶液

#### 4.3.1 标准乳糖溶液，20mg/mL。

称取在 92~94℃烘箱中干燥 2h 的乳糖标样 2g，溶于水中，用水稀释至 100mL 容量瓶中。

#### 4.3.2 标准蔗糖溶液，10mg/mL。

称取在 105℃烘箱中干燥 2h 的蔗糖标样 1g，溶于水中，用水稀释至 100mL 容量瓶中。

## 5 仪器和设备

### 5.1 分析天平：感量 0.1mg。

### 5.2 高效液相色谱仪，带示差折光检测器（蒸发光散射检测器）。

### 5.3 超声波振荡器。

## 6 分析步骤

### 6.1 试样处理

固态试样称取 1g，液态试样称取 2.5g(精确至 0.1mg)，加 10mL 50~60℃水溶解，溶入 50mL 容量瓶中，于超声波振荡器中振荡 10min，加乙腈（4.1）定容至刻度，静止数分钟，过滤。取 5mL 过滤液于 10mL 容量瓶中，用乙腈(4.1)定容，通过 0.45μm 过滤膜过滤，滤液备用。可根据具体试样进行稀释。

### 6.2 测定

#### 6.2.1 参考色谱条件：

色谱柱：氨基柱 250×4.6mm，5μm；或具有同等性能的色谱柱。

流动相：乙腈：水 = 70：30（体积比）（乙腈用色谱纯）

流动相流速：1mL/min

柱温：35℃

进样量：10μL

### 6.2.2 标准曲线的制作

分别吸取乳糖标准溶液（4.3.1）1, 2, 3, 4, 5mL于10mL容量瓶中，用乙腈(4.1)定容至刻度。配成乳糖标准系列工作液，浓度分别为0, 2, 4, 6, 8, 10mg/mL。

分别吸取蔗糖标准溶液（4.3.2）0, 1, 2, 3, 4, 5mL, 于10mL容量瓶中，用乙腈(4.1)定容至刻度。配成蔗糖标准系列工作液，浓度分别为0, 1, 2, 3, 4, 5mg/mL。

将系列标准工作液分别注入高效液相色谱仪中，测定相应的峰面积或峰高，以峰面积或峰高为纵坐标，以标准工作液的浓度为横坐标绘制标准曲线。

### 6.2.3 试样溶液的测定

将试样溶液（6.1）注入高效液相色谱仪中，测定峰面积或峰高，从标准曲线中查得试样溶液中糖的浓度。

## 7 结果计算和表示

试样中糖的含量  $X$ ，以质量分数克每百克（g/100g）表示，按式（1）计算：

$$X = \frac{c \times V \times 100 \times n}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

$c$ ——样液中糖的浓度，mg/mL；

$V$ ——试样定容体积，mL；

$n$ ——样液稀释倍数；

$m$ ——试样的质量，g。

计算结果以两次独立测定结果的算术平均值表示。计算结果保留到小数点后两位。

## 8 精密度

在重复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 5%。

## 第二法 莱因—埃农氏法

### 9 原理

乳糖：样液中的乳糖将费林氏液中的二价铜还原为氧化亚铜，以次甲基蓝为指示剂，在终点稍过量时，乳糖将蓝色的氧化型次甲基蓝还原为无色的还原型次甲基蓝。

蔗糖：蔗糖经盐酸水解转化为具有还原能力的葡萄糖和果糖，再按还原糖测定。将水解前后转化糖的差值乘以相应的系数即为蔗糖含量。

### 10 试剂和材料

除非另有规定，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T6682 规定的三级水。

10.1 乙酸铅溶液： $c(\text{PbAc}_2)$ 为 200g/L。称取 200g乙酸铅，溶于水并稀释至 1000mL。

10.2 草酸钾--磷酸氢二钠溶液：称取草酸钾 30g，磷酸氢二钠 70g，溶于水并稀释至 1000mL。

10.3 盐酸溶液：体积比 1:1。

10.4 氢氧化钠溶液： $c(\text{NaOH})$ 为 300g/L。称取 300g 氢氧化钠，溶于水并稀释至 1000mL。

## 10.5 费林氏液（甲液和乙液）

10.5.1 甲液：取 34.639g 硫酸铜，溶于水中，加入 0.5mL 浓硫酸，加水至 500mL。

10.5.2 乙液：取 173g 酒石酸钾钠及 50g 氢氧化钠溶解于水中，稀释至 500mL，静置两天后过滤。

10.6 酚酞溶液：5g/L。称取 0.5g 酚酞溶于 100mL 体积分数为 95% 的乙醇中。

10.7 次甲基蓝溶液：10g/L。

## 11 仪器和设备

常用实验室仪器和设备。

## 12 分析步骤

## 12.1 费林氏液的标定

## 12.1.1 用乳糖标定

12.1.1.1 称取预先在 92~94℃ 烘箱中干燥 2h 的乳糖标样约 0.75g（准确到 0.1mg），用水溶解并稀释至 250mL。将此乳糖溶液注入一个 50mL 滴定管中，待滴定。

12.1.1.2 预滴定：取 10mL 费林氏液（甲、乙液各 5mL）于 250mL 三角烧瓶中。加入 20mL 蒸馏水，放入几粒玻璃球，从滴定管中放出 15mL 乳糖溶液于三角瓶中，置于电炉上加热，使其在 2min 内沸腾，沸腾后关小火焰，保持沸腾状态 15s，加入 3 滴次甲基蓝溶液（10.7）继续滴入乳糖溶液至蓝色完全褪尽为止，读取所用乳糖的毫升数。

12.1.1.3 精确滴定：另取 10mL 费林氏液（甲、乙液各 5mL）于 250mL 三角烧瓶中，再加入 20mL 蒸馏水，放入几粒玻璃球，一次加入比预备滴定量少 0.5~1.0mL 的乳糖溶液，置于电炉上，使其在 2min 内沸腾，沸腾后关小火焰，维持沸腾状态 2min，加入 3 滴次甲基蓝（10.7）溶液，然后继续滴入乳糖溶液（以每两秒一滴的速度徐徐滴入），待蓝色完全褪尽即为终点。以此滴定量作为计算的依据。

12.1.1.4 按式（2）、（3）计算费林氏液的乳糖校正因子（ $f_1$ ）：

$$A_1 = \frac{V_1 \times m_1 \times 1000}{250} = 4 \times V_1 \times m_1 \quad \dots\dots\dots (2)$$

$$f_1 = \frac{4 \times V_1 \times m_1}{AL_1} \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中：

$A_1$ ——实测乳糖数，mg；

$V_1$ ——滴定时消耗乳糖液量，mL；

$m_1$ ——称取乳糖的质量，g；

$AL_1$ ——由乳糖液滴定毫升数查表 1 所得的乳糖数，mg。

表 1 乳糖及转化糖因数表（10mL 费林氏液）

滴定量, mL	乳糖, mg	转化糖, mg	滴定量, mL	乳糖, mg	转化糖, mg
15	68.3	50.5	33	67.8	51.7
16	68.2	50.6	34	67.9	51.7
17	68.2	50.7	35	67.9	51.8
18	68.1	50.8	36	67.9	51.8
19	68.1	50.8	37	67.9	51.9
20	68.0	50.9	38	67.9	51.9
21	68.0	51.0	39	67.9	52.0
22	68.0	51.0	40	67.9	52.0

23	67.9	51.1	41	68.0	52.1
24	67.9	51.2	42	68.0	52.1
25	67.9	51.2	43	68.0	52.2
26	67.9	51.3	44	68.0	52.2
27	67.8	51.4	45	68.1	52.3
28	67.8	51.4	46	68.1	52.3
29	67.8	51.5	47	68.2	52.4
30	67.8	51.5	48	68.2	52.4
31	67.8	51.6	49	68.2	52.5
32	67.8	51.6	50	68.3	52.5

注：“因数”系指与滴定量相对应的数目，可自表 1 中查得。若蔗糖含量与乳糖含量的比超过 3: 1 时，则在滴定量中加表 2 中的校正后计算。

### 12.1.2 用蔗糖标定

12.1.2.1 称取在 105℃烘箱中干燥 2h 的蔗糖约 0.2g（准确到 0.1mg），用 50mL 水溶解并洗入 100mL 容量瓶中，加水 10mL，再加入 10mL 盐酸(10.3)，置 75℃水浴锅中，时时摇动，在 2min30s 至 2min45s 之间，使瓶内温度升至 67℃。自达到 67℃后继续在水浴中保持 5min，于此时间内使其温度升至 69.5℃，取出，用冷水冷却，当瓶内温度冷却至 35℃时，加 2 滴酚酞指示剂（10.6），用 300g/L 的氢氧化钠（10.4）中和至呈中性。冷却至 20℃，用水稀释至刻度，摇匀。并在此温度下保温 30min 后再按 12.1.1.2 和 12.1.1.3 操作。

12.1.2.2 按式（4）、（5）计算费林氏液的蔗糖校正值（ $f_2$ ）：

$$A_2 = \frac{V_2 \times m_2 \times 1000}{100 \times 0.95} = 10.5263 \times V_2 \times m_2 \dots\dots\dots (4)$$

$$f_2 = \frac{10.5263 \times V_2 \times m_2}{AL_2} \dots\dots\dots (5)$$

式中：

$A_2$ ——实测转化糖数，mg；

$V_2$ ——滴定时消耗蔗糖液量，mL；

$m_2$ ——取称蔗糖的质量，g；

$AL_2$ ——由蔗糖液滴定毫升数查表 1 所得的转化糖数，mg。

## 12.2 乳糖的测定

### 12.2.1 试样处理

12.2.1.1 称取婴儿食品和脱脂粉 2g，全脂加糖粉和全脂粉 2.5g，乳清粉 1g，（准确至 0.1mg），用 100mL 水分数次溶解并洗入 250mL 容量瓶中。

12.2.1.2 加 4mL 乙酸铅（10.1）、4mL 草酸钾-磷酸氢二钠（10.2）溶液，每次加入试剂时都要徐徐加入，并摇动容量瓶，用水稀释至刻度。静止数分钟，用干燥滤纸过滤，弃去最初 25mL 滤液后，所得滤液作滴定用。

### 12.2.2 滴定

12.2.2.1 预滴定：将此滤液注入一个 50mL 滴定管中，待测定。取 10mL 费林氏液（甲、乙液各 5mL）于 250mL 三角烧瓶中，再加入 20mL 蒸馏水，放入几粒玻璃球，置于电炉上加热，使其在 2min 内沸腾，沸腾后关小火焰，保持沸腾状态 15s，加入 3 滴次甲基蓝(10.7)，然后徐徐滴入乳糖溶液至蓝色完全褪尽为止，读取所用乳糖的毫升数。

12.2.2.2 精确滴定：另取 10mL 费林氏液（甲、乙各 5mL），于 250mL 三角烧瓶中，再加入 20mL 蒸馏水，放入几粒玻璃球，一次加入比预备滴定量少 0.5~1.0mL 的乳糖溶液，置于电炉上，使其在 2min 内沸腾，沸腾后关小火焰，维持沸腾状态 2min，加入 3 滴次甲基蓝溶液(10.7)，然后以每两秒一滴的速度徐徐滴入乳糖溶液，待蓝色完全褪尽即为终点。以此滴定量作为计算的依据（在同时测定蔗糖时，此即为转化前滴定量）。

### 12.2.3 结果计算和表示

试样中乳糖的含量  $X$ ，以质量分数克每百克(g/100g)表示，按（6）式计算

$$X = \frac{F_1 \times f_1 \times 0.25 \times 100}{V_1 \times m} \dots\dots\dots (6)$$

式中：

$X$ ——试样中乳糖的质量分数，g/100g；

$F_1$ ——由消耗样液的毫升数查表 1 所得乳糖数，mg；

$f_1$ ——费林氏液乳糖校正值；

$V_1$ ——滴定消耗滤液量，mL；

$m$ ——试样的质量，g。

计算结果以两次独立测定结果的算术平均值表示，计算结果要求表示到小数点后两位。

## 12.3 蔗糖的测定

### 12.3.1 样液的转化与滴定

取 50mL 样液（12.2.1.2）于 100mL 容量瓶中，加 10mL 水，再加入 10mL 的盐酸(10.3)，置 75℃ 水浴锅中，时时摇动，在 2min30s 至 2min45s 之间，使瓶内温度升至 67℃。自达至 67℃ 后继续在水浴中保持 5min，于此时间内使其温度升至 69.5℃，取出，用冷水冷却，当瓶内温度冷却至 35℃ 时，加 2 滴酚酞溶液剂（10.6），用氢氧化钠（10.4）中和至呈中性，冷却至 20℃，用水稀释至刻度，摇匀。并在此温度下保温 30min 后再按 12.2.2 滴定，得出滴定 10mL 费林氏液所消耗的转化液量。

### 12.3.2 结果计算和表示

利用测定乳糖时的滴定量，自表 1 中查出相对应的转化糖量，转化前转化糖 $X_1$ ，以质量分数克每百克(g/100g)表示，按式（7）计算

$$X_1 = \frac{F_2 \times f_2 \times 0.25 \times 100}{V_1 \times m} \dots\dots\dots (7)$$

式中：

$X_1$ ——转化前转化糖的质量分数，g/100g

$F_2$ ——由测定乳糖时消耗样液的毫升数查表 1 所得转化糖数，mg；

$f_2$ ——费林氏液蔗糖校正值；

$V_1$ ——滴定消耗滤液量，mL；

$m$ ——试样的质量，g。

用测定蔗糖时的滴定量，自表 1 中查出相对应的转化糖量，转化后转化糖 $X_2$ ，以质量分数克每百克(g/100g)表示，按式（8）计算：

$$X_2 = \frac{F_3 \times f_2 \times 0.50 \times 100}{V_2 \times m} \dots\dots\dots (8)$$

式中：

$X_2$ —转化后转化糖的质量分数, g/100g

$F_3$ ——由 $V_2$ 查得转化糖数, mg;

$f_2$ ——费林氏液蔗糖校正值;

$m$ ——试样的质量, g;

$V_2$ ——滴定消耗的转化液量, mL。

试样中蔗糖的含量  $X$ , 以质量分数克每百克(g/100g)表示, 按式 (9) 计算

$$X = (X_2 - X_1) \times 0.95 \dots\dots\dots (9)$$

式中:

$X$ —试样中蔗糖的质量分数; g/100g;

$X_1$ —转化前转化糖的质量分数; g/100g;

$X_2$ —转化后转化糖的质量分数, g/100g。

12.3.3 若试样中蔗糖与乳糖之比超过 3:1 时, 则计算乳糖时应在滴定量中加上表 2 中的校正数值后再查表 1 和计算。

表 2 乳糖滴定量校正值数

滴定终点时所用的糖液量 mL	用 10mL 费林氏液、蔗糖及乳糖量的比	
	3 : 1	6 : 1
15	0.15	0.30
20	0.25	0.50
25	0.30	0.60
30	0.35	0.70
35	0.40	0.80
40	0.45	0.90
45	0.50	0.95
50	0.55	1.05

## 12.4 总糖

12.4.1 试样中仅含有蔗糖和乳糖:

$$\text{总糖} = \text{蔗糖} + \text{乳糖}$$

12.4.2 试样中除含有蔗糖和乳糖外, 还有其它的糖:

$$\text{总糖} = 100 - \text{水分} - \text{脂肪} - \text{蛋白质} - \text{灰分}$$

## 13 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 1.5%。