



中华人民共和国国家标准

GB 5413.5—2010

食品安全国家标准

婴幼儿食品和乳品中乳糖、蔗糖的测定

National food safety standard

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

2010-03-26 发布

2010-06-01 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、蔗糖和总糖的测定》。

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。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

——GB 5413—1985、GB/T 5413.5—1997。

食品安全国家标准

婴幼儿食品和乳品中乳糖、蔗糖的测定

1 范围

本标准规定了婴幼儿食品和乳品中乳糖、蔗糖的测定方法。

本标准适用于婴幼儿食品和乳品中乳糖、蔗糖的测定。

2 规范性引用文件

本标准中引用的文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅所注日期的版本适用于本标准。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本标准。

第一法 高效液相色谱法

3 原理

试样中的乳糖、蔗糖经提取后,利用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/T 6682 规定的一级水。

4.1 乙腈。

4.2 乙腈:色谱纯。

4.3 标准溶液。

4.3.1 乳糖标准贮备液(20 mg/mL):称取在 94 °C ± 2 °C 烘箱中干燥 2 h 的乳糖标样 2 g(精确至 0.1 mg),溶于水中,用水稀释至 100 mL 容量瓶中。放置 4 °C 冰箱中。

4.3.2 乳糖标准工作液:分别吸取乳糖标准贮备液(4.3.1)0 mL,1 mL,2 mL,3 mL,4 mL,5 mL 于 10 mL 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 mg/mL,2 mg/mL,4 mg/mL,6 mg/mL,8 mg/mL,10 mg/mL。

4.3.3 蔗糖标准溶液(10 mg/mL):称取在 105 °C ± 2 °C 烘箱中干燥 2 h 的蔗糖标样 1 g(精确到 0.1 mg),溶于水中,用水稀释至 100 mL 容量瓶中。放置 4 °C 冰箱中。

4.3.4 蔗糖标准工作液:分别吸取蔗糖标准溶液(4.3.3)0 mL,1 mL,2 mL,3 mL,4 mL,5 mL 于 10 mL 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 mg/mL,1 mg/mL,2 mg/mL,3 mg/mL,4 mg/mL,5 mg/mL。

5 仪器和设备

5.1 天平:感量为 0.1 mg。

5.2 高效液相色谱仪,带示差折光检测器或蒸发光散射检测器。

5.3 超声波振荡器。

6 分析步骤

6.1 试样处理

称取固态试样 1 g 或液态试样称取 2.5 g(精确到 0.1 mg)于 50 mL 容量瓶中,加 15 mL 50 ℃~60 ℃水溶解,于超声波振荡器中振荡 10 min,用乙腈(4.1)定容至刻度,静置数分钟,过滤。取 5.0 mL 过滤液于 10 mL 容量瓶中,用乙腈(4.1)定容,通过 0.45 μm 滤膜过滤,滤液供色谱分析。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 4.6 mm×250 mm,5 μm,或具有同等性能的色谱柱;

流动相:乙腈(4.2)-水=70+30;

流速:1 mL/min;

柱温:35 ℃;

进样量:10 μL;

示差折光检测器条件:温度 33 ℃~37 ℃;

蒸发光散射检测器条件:漂移管温度:85 ℃~90 ℃;

气流量:2.5 L/min;

撞击器:关。

6.2.2 标准曲线的制作

将标准系列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 分析结果的表述

试样中糖的含量按式(1)计算:

$$X = \frac{c \times V \times 100 \times n}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X——试样中糖的含量,单位为克每百克(g/100 g);

c——样液中糖的浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);

V——试样定容体积,单位为毫升(mL);

n——样液稀释倍数;

m——试样的质量,单位为克(g)。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留三位有效数字。

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:试样经除去蛋白质后,在加热条件下,以次甲基蓝为指示剂,直接滴定已标定过的费林氏液,

根据样液消耗的体积,计算乳糖含量。

蔗糖:试样经除去蛋白质后,其中蔗糖经盐酸水解为还原糖,再按还原糖测定。水解前后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/T 6682 规定的三级水。

- 10.1 乙酸铅。
- 10.2 草酸钾。
- 10.3 磷酸氢二钠。
- 10.4 盐酸。
- 10.5 硫酸铜。
- 10.6 浓硫酸。
- 10.7 酒石酸钾钠。
- 10.8 氢氧化钠。
- 10.9 酚酞。
- 10.10 乙醇。
- 10.11 次甲基蓝。
- 10.12 乙酸铅溶液(200 g/L):称取 200 g 乙酸铅,溶于水并稀释至 1 000 mL。
- 10.13 草酸钾-磷酸氢二钠溶液:称取草酸钾 30 g,磷酸氢二钠 70 g,溶于水并稀释至 1 000 mL。
- 10.14 盐酸(1+1):1 体积盐酸与 1 体积的水混合。
- 10.15 氢氧化钠溶液(300 g/L):称取 300 g 氢氧化钠,溶于水并稀释至 1 000 mL。
- 10.16 费林氏液(甲液和乙液)。
 - 10.16.1 甲液:称取 34.639 g 硫酸铜,溶于水中,加入 0.5 mL 浓硫酸,加水至 500 mL。
 - 10.16.2 乙液:称取 173 g 酒石酸钾钠及 50 g 氢氧化钠溶解于水中,稀释至 500 mL,静置两天后过滤。
- 10.17 酚酞溶液(5 g/L):称取 0.5 g 酚酞溶于 100 mL 体积分数为 95% 的乙醇中。
- 10.18 次甲基蓝溶液(10 g/L):称取 1 g 次甲基蓝于 100 mL 水中。

11 仪器和设备

- 11.1 天平:感量为 0.1 mg。
- 11.2 水浴锅:温度可控制在 $75\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

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 $94\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥 2 h 的乳糖标样约 0.75 g(精确到 0.1 mg),用水溶解并定容至 250 mL。将此乳糖溶液注入一个 50 mL 滴定管中,待滴定。

12.1.1.2 预滴定:吸取 10 mL 费林氏液(甲、乙液各 5 mL)于 250 mL 三角烧瓶中。加入 20 mL 蒸馏水,放入几粒玻璃珠,从滴定管中放出 15 mL 样液于三角瓶中,置于电炉上加热,使其在 2 min 内沸腾,保持沸腾状态 15 s,加入 3 滴次甲基蓝溶液(10.18),继续滴入至溶液蓝色完全褪尽为止,读取所用样液的体积。

12.1.1.3 精确滴定:另取 10 mL 费林氏液(甲、乙液各 5 mL)于 250 mL 三角烧瓶中,再加入 20 mL 蒸馏水,放入几粒玻璃珠,加入比预滴定量少 0.5 mL~1.0 mL 的样液,置于电炉上,使其在 2 min 内沸腾,维持沸腾状态 2 min,加入 3 滴次甲基蓝溶液(10.18),以每两秒一滴的速度徐徐滴入,溶液蓝色完

全褪尽即为终点,记录消耗的体积。

12.1.1.4 按式(2)、式(3)计算费林氏液的乳糖校正值得(f_1):

$$A_1 = \frac{V_1 \times m_1 \times 1\,000}{250} = 4 \times V_1 \times m_1 \dots\dots\dots(2)$$

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

式中:

A_1 ——实测乳糖数,单位为毫克(mg);

V_1 ——滴定时消耗乳糖溶液的体积,单位为毫升(mL);

m_1 ——称取乳糖的质量,单位为克(g);

f_1 ——费林氏液的乳糖校正值得;

AL_1 ——由乳糖液滴定毫升数查表1所得的乳糖数,单位为毫克(mg)。

表1 乳糖及转化糖因数表(10 mL 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中的校正值得后计算。

表2 乳糖滴定量校正值得数

滴定终点时所用的糖液量 (mL)	用10 mL 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

表 2 (续)

滴定终点时所用的糖液量 (mL)	用 10 mL 费林氏液、蔗糖及乳糖量的比	
	3 : 1	6 : 1
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

12.1.2 用蔗糖标定

12.1.2.1 称取在 105 °C ± 2 °C 烘箱中干燥 2 h 的蔗糖约 0.2 g (精确到 0.1 mg), 用 50 mL 水溶解并洗入 100 mL 容量瓶中, 加水 10 mL, 再加入 10 mL 盐酸(10.14), 置于 75 °C 水浴锅中, 时时摇动, 使溶液温度在 67.0 °C ~ 69.5 °C, 保温 5 min, 冷却后, 加两滴酚酞溶液(10.17), 用氢氧化钠溶液(10.15)调至微粉色, 用水定容至刻度。再按 12.1.1.2 和 12.1.1.3 操作。

12.1.2.2 按式(4)、式(5)计算费林氏液的蔗糖校正值(f_2):

$$A_2 = \frac{V_2 \times m_2 \times 1\,000}{100 \times 0.95} = 10.526\,3 \times V_2 \times m_2 \quad \dots\dots\dots(4)$$

$$f_2 = \frac{10.526\,3 \times V_2 \times m_2}{AL_2} \quad \dots\dots\dots(5)$$

式中:

A_2 ——实测转化糖数, 单位为毫克(mg);

V_2 ——滴定时消耗蔗糖溶液的体积, 单位为毫升(mL);

m_2 ——称取蔗糖的质量, 单位为克(g);

0.95——果糖相对分子质量和葡萄糖相对分子质量之和与蔗糖相对分子质量的比值;

f_2 ——费林氏液的蔗糖校正值;

AL_2 ——由蔗糖溶液滴定的毫升数查表 1 所得的转化糖数, 单位为毫克(mg)。

12.2 乳糖的测定

12.2.1 试样处理

12.2.1.1 称取婴儿食品或脱脂粉 2 g, 全脂加糖粉或全脂粉 2.5 g, 乳清粉 1 g, 精确到 0.1 mg, 用 100 mL 水分数次溶解并洗入 250 mL 容量瓶中。

12.2.1.2 徐徐加入 4 mL 乙酸铅溶液(10.12)、4 mL 草酸钾-磷酸氢二钠溶液(10.13), 并振荡容量瓶, 用水稀释至刻度。静置数分钟, 用干燥滤纸过滤, 弃去最初 25 mL 滤液后, 所得滤液作滴定用。

12.2.2 滴定

12.2.2.1 预滴定: 操作同 12.1.1.2。

12.2.2.2 精确滴定: 操作同 12.1.1.3。

12.3 蔗糖的测定

12.3.1 样液的转化与滴定

取 50 mL 样液(12.2.1.2)于 100 mL 容量瓶中, 以下按 12.1.2.1 自“加水 10 mL”起依法操作。

13 分析结果的表述

13.1 乳糖

试样中乳糖的含量 X 按式(6)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,单位为克每百克(g/100 g);
- F₁——由消耗样液的毫升数查表 1 所得乳糖数,单位为毫克(mg);
- f₁——费林氏液乳糖校正值;
- V₁——滴定消耗滤液量,单位为毫升(mL);
- m——试样的质量,单位为克(g)。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留三位有效数字。

13.2 蔗糖

利用测定乳糖时的滴定量,按式(7)计算出相对应的转化前转化糖数 X₁。

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

式中:

- X₁——转化前转化糖的质量分数,单位为克每百克(g/100 g);
- F₂——由测定乳糖时消耗样液的毫升数查表 1 所得转化糖数,单位为毫克(mg);
- f₂——费林氏液蔗糖校正值;
- V₁——滴定消耗滤液量,单位为毫升(mL);
- m——样品的质量,单位为克(g)。

用测定蔗糖时的滴定量,按式(8)计算出相对应的转化后转化糖 X₂。

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

式中:

- X₂——转化后转化糖的质量分数,单位为克每百克(g/100 g);
- F₃——由 V₂ 查得转化糖数,单位为毫克(mg);
- f₂——费林氏液蔗糖校正值;
- m——样品的质量,单位为克(g);
- V₂——滴定消耗的转化液量,单位为毫升(mL)。

试样中蔗糖的含量 X 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,单位为克每百克(g/100 g);
- X₁——转化前转化糖的质量分数,单位为克每百克(g/100 g);
- X₂——转化后转化糖的质量分数,单位为克每百克(g/100 g)。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留三位有效数字。

13.3 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 中的校正值数后再查表 1。

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 1.5%。

15 其他

本标准第一法的检出限为 0.3 g/100 g,第二法的检出限为 0.4 g/100 g。