

ICS 67.050  
CCS X 04

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 5732—2025

出口液态乳中乳果糖的测定  
液相色谱和液相色谱—质谱/质谱法

Determination of lactulose in liquid milk for export—  
LC and LC-MS/MS method

2025-12-01 发布

2026-07-01 实施

中华人民共和国海关总署 发布

以正式出版文本为准

## 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》的规定起草。

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。

本文件由中华人民共和国海关总署提出并归口。

本文件起草单位：中华人民共和国上海海关、中华人民共和国天津海关、中华人民共和国青岛海关。

本文件主要起草人：古淑青、周瑶、任硕、樊彦莉、霍忆慧、陈念念、邓晓军、韩丽、郭德华、高旗利、张晓梅。

以正式出版文本为准

以正式出版文本为准

# 出口液态乳中乳果糖的测定

## 液相色谱和液相色谱—质谱/质谱法

### 1 范围

本文件规定了液态乳中乳果糖的高效液相色谱和高效液相色谱—质谱/质谱检测方法。

本文件第一法液相色谱法适用于超高温灭菌乳中乳果糖含量的测定。

本文件第二法液相色谱—质谱/质谱法适用于生鲜乳、巴氏杀菌乳、超高温灭菌乳中乳果糖含量的测定。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

### 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

#### 第一法 液相色谱法

### 4 方法提要

样品经醋酸铵调节pH沉淀蛋白，分离过滤后高效液相色谱仪—蒸发光散射检测器测定，外标法定量。

### 5 试剂和材料

除另有规定外，所用试剂均为分析纯，水为符合GB/T 6682规定的一级水。

5.1 乙腈（ $\text{CH}_3\text{CN}$ ）：色谱纯。

5.2 冰醋酸（ $\text{CH}_3\text{COOH}$ ）：色谱纯。

5.3 醋酸铵（ $\text{NH}_4\text{COOH}$ ）：分析纯。

5.4 0.4 mol/L 醋酸铵（ $\text{pH}=3.8 \pm 0.1$ ）：准确称取31.0 g（精确至0.01g）醋酸铵，用水溶解，定容至1 L，用冰醋酸调pH值至 $3.8 \pm 0.1$ 。

5.5 85%（体积分数）乙腈—水溶液：在85 mL乙腈中加入15 mL水。

5.6 标准品：乳果糖（ $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ ，CAS号：4618-18-2），纯度 $\geq 98\%$ 。

5.7 标准储备液：准确称取0.1 g（精确至0.01 mg）乳果糖标准品（5.6），用水溶解，定容至10 mL，配

## SN/T 5732—2025

成 10 mg/mL 的标准储备液。4 ℃ 冰箱保存 3 个月。

5.8 标准工作液：准确吸取乳果糖标准储备液 1 mL 至 10 mL 容量瓶中，用 85%（体积分数）乙腈-水溶液（5.5）定容至刻度，配成浓度为 1 mg/mL 的溶液，现用现配。

5.9 滤膜：水相，0.22 μm，有机相，0.22 μm。

## 6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪：配有蒸发光散射检测器。

6.2 分析天平：感量为 0.01 mg 和 0.01 g。

6.3 离心机：转速不低于 4000 r/min。

6.4 离心管：15 mL，50 mL。

6.5 漩涡振荡器。

## 7 试样制备与保存

取有代表性样品 100 mL 装入洁净的盛样容器内，密封并标明标记，于 4 ℃ 保存。

## 8 分析步骤

### 8.1 样品前处理

样品混合均匀后，准确吸取 2.0 mL 试样于 15 mL 离心管中，加入 1 mL 0.4 mol/L 醋酸铵溶液（pH=3.8），用水定容至 10 mL，涡旋混匀 3 min，以 4000 r/min 的速度离心 5 min。上清液经 0.22 μm 水相膜过滤，取 100 μL 滤液用 85%（体积分数）乙腈-水溶液（5.5）定容至 1 mL，经 0.22 μm 有机膜过滤，供 HPLC 测定。

### 8.2 标准曲线溶液的配制

准确移取适量乳果糖标准工作液，用 85%（体积分数）乙腈-水溶液（5.5）稀释，配制成乳果糖浓度为 1.0 mg/L、2.0 mg/L、5.0 mg/L、10 mg/L、20 mg/L、50 mg/L 的系列标准溶液。现用现配。

### 8.3 测定

#### 8.3.1 高效液相色谱条件

高效液相色谱条件为：

- a) 色谱柱：凝胶色谱柱（100 mm × 2 mm，1.5 μm），或性能相当者；
- b) 柱温：35 ℃；
- c) 流动相：乙腈+水=85+15（体积分数）；
- d) 流速：0.8 mL/min；
- e) 进样量：10 μL；
- f) 蒸发光散射器条件：漂移管温度 60 ℃，雾化气流速 1.4 mL/min。

#### 8.3.2 高效液相色谱测定

按照 8.3.1 高效液相色谱测定条件对标准工作液及样液等体积进样测定，对乳果糖峰面积取对数作为纵坐标，标准溶液浓度取对数作为横坐标绘制标准工作曲线，用标准工作曲线对样品进行定量。样品中检测的色谱峰保留时间与乳果糖标准品相差应在 ±5% 之内。样品中待测物含量应在标准曲线

范围之内，如果含量超出标准曲线范围，应进行适当稀释后测定。在 8.3.1 高效液相色谱条件下，标准溶液和实际样品溶液的色谱图见附录 A 中图 A.1 和图 A.2。

## 9 空白试验

除不加试样外，均按以上操作步骤进行。

## 10 结果计算和表述

试样中乳果糖的含量按公式（1）进行计算：

$$X = \frac{(c - c_0) \times V_1}{V_2} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- $X$ ——试样中乳果糖的含量，单位为毫克每升（mg/L）；
- $c$ ——样液中乳果糖的测定值，单位为毫克每升（mg/L）；
- $c_0$ ——空白试样中乳果糖的测定值，单位为毫克每升（mg/L）；
- $V_1$ ——试样的最后定容体积，单位为毫升（mL）；
- $V_2$ ——试样的体积，单位为毫升（mL）。

计算结果保留至小数点后一位。

## 11 定量限、回收率和精密度

### 11.1 定量限

本方法对乳果糖的定量限为 50 mg/L。

### 11.2 回收率

不同牛奶基质中添加浓度水平下乳果糖的回收率范围见附录 B 中表 B. 1。

### 11.3 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%。

## 第二法 液相色谱—质谱/质谱法

## 12 方法提要

样品经醋酸铵调节 pH 沉淀蛋白，分离过滤后高效液相色谱—串联质谱仪测定，外标法定量。

## 13 试剂和材料

13.1 氨水：分析纯。

13.2 0.05% 氨水：吸取 500  $\mu$ L 氨水，用水定容至 1000 mL，现用现配。

13.3 乙腈：见 5.1。

## SN/T 5732—2025

- 13.4 0.4 mol/L 醋酸铵 (pH=3.8 ± 0.1): 见 5.4。  
13.5 乳果糖标准储备液: 见 5.7。  
13.6 85% (体积分数) 乙腈-水溶液: 见 5.5。  
13.7 空白基质: 用于配制基质匹配标准溶液的无乳糖配方奶。

## 14 仪器和设备

- 14.1 高效液相色谱—质谱/质谱仪: 配有电喷雾离子源 (ESI)。  
14.2 分析天平: 见 6.2。  
14.3 离心机: 见 6.3。  
14.4 离心管: 见 6.4。  
14.5 漩涡振荡器: 见 6.5。

## 15 分析步骤

### 15.1 样品前处理

样品混合均匀后, 准确吸取 2.0 mL 试样于 15 mL 离心管中, 加入 1 mL 0.4 mol/L pH=3.8 醋酸铵溶液 (13.4), 用水定容至 10 mL, 涡旋混匀 3 min, 以 4000 r/min 的速度离心 5 min。上清液经 0.22 μm 水相膜过滤, 取 100 μL 滤液用 85% (体积分数) 乙腈-水溶液 (5.5) 定容至 1 mL, 经 0.22 μm 有机膜过滤, 供液相色谱—串联质谱测定。必要时, 试样测定液用 85% (体积分数) 乙腈-水溶液 (5.5) 进行适当的稀释, 使试样测定液中乳果糖的含量在标准曲线范围内。

### 15.2 基质匹配标准曲线溶液的配制

将空白基质 (13.7) 按照样品前处理方法 (15.1) 操作, 得到空白基质溶液。取适量乳果糖标准储备液 (13.5), 用空白基质溶液稀释成乳果糖浓度为 0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.25 mg/L、0.5 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L、5.0 mg/L 的系列标准工作溶液。

### 15.3 测定条件

#### 15.3.1 高效液相色谱条件

液相色谱参考条件如下:

- 色谱柱: 氨基色谱柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), 或性能相当者;
- 柱温: 40 °C;
- 流动相: 0.05% 氨水溶液, 乙腈, 梯度洗脱程序见表 1;
- 流速: 0.3 mL/min;
- 进样量: 3 μL。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	0.05% 氨水溶液 /%	乙腈 /%
0	15	85
14	95	5
17	95	5

表1 梯度洗脱程序 (续)

时间/min	0.05% 氨水溶液 /%	乙腈 /%
17.5	15	85
20	15	85

### 15.3.2 质谱条件

质谱参数如下:

- a) 离子源: 电喷雾离子源;
- b) 扫描方式: 负离子;
- c) 检测方式: 多反应监测 (MRM);
- d) 质谱/质谱参考条件见附录C。

### 15.4 高效液相色谱—质谱/质谱测定

#### 15.4.1 定性测定

按照液相色谱—质谱/质谱条件测定样液和基质匹配标准工作溶液, 如果目标化合物的保留时间与标准溶液的保留时间偏差在  $\pm 2.5\%$  之内; 且样品中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的基质标准工作溶液的丰度比一致, 丰度比允许偏差不得超过表2规定的范围, 则可判定为样品中存在对应的待测物。

表2 使用高效液相色谱—质谱/质谱定性时相对离子丰度最大允许误差

相对丰度 (基峰) /%	最大允许误差 /%
>50	$\pm 20$
>20 ~ 50	$\pm 25$
>10 ~ 20	$\pm 30$
$\leq 10$	$\pm 50$

#### 15.4.2 定量测定

以乳果糖峰面积为纵坐标, 标准溶液浓度为横坐标绘制标准工作曲线, 用标准工作曲线对样品进行定量。样品中待测物含量应在标准曲线范围之内, 如果含量超出标准曲线范围, 应进行适当稀释后测定。在上述色谱质谱条件下, 乳果糖标准溶液和实际样品溶液的多反应监测 (MRM) 色谱图见附录D中图D.1、图D.2和图D.3。

### 16 空白试验

除不加试样外, 均按以上操作步骤进行。

### 17 结果计算和表述

试样中乳果糖的含量按公式 (2) 进行计算:

$$X = \frac{(c - c_0) \times V_1}{V_2} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$X$ ——试样中乳果糖的含量，单位为毫克每升（mg/L）；

$c$ ——样液中乳果糖的测定值，单位为毫克每升（mg/L）；

$c_0$ ——空白试样中乳果糖的测定值，单位为毫克每升（mg/L）；

$V_1$ ——试样的最后定容体积，单位为毫升（mL）；

$V_2$ ——试样的体积，单位为毫升（mL）。

计算结果保留至小数点后一位。

## 18 定量限、回收率和精密度

### 18.1 定量限

本方法对乳果糖的定量限为 2.5 mg/L。

### 18.2 回收率

不同牛奶基质中添加浓度水平下的回收率和精密度见表 B.2。

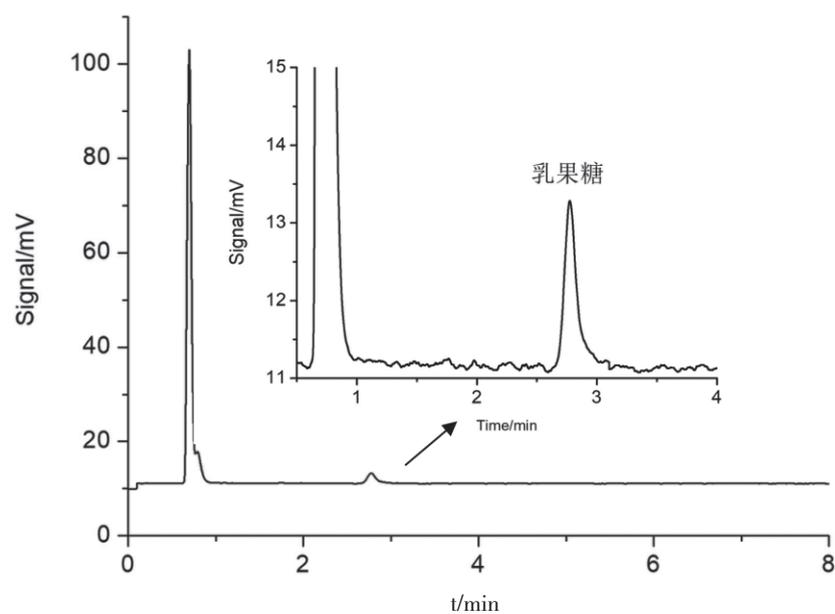
### 18.3 精密度

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%。

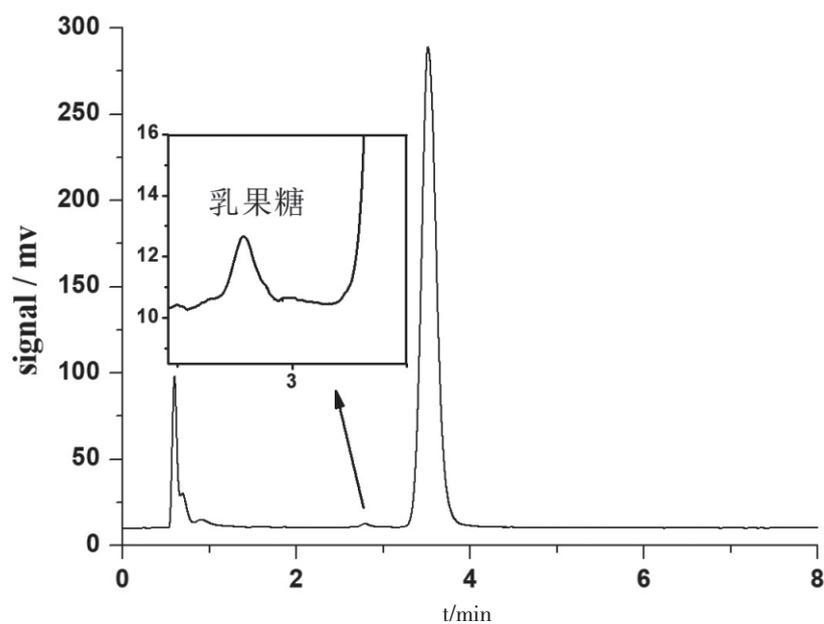
以正式出版文本为准

附录 A  
(资料性)  
乳果糖标准品和样品的高效液相色谱图

乳果糖标准品和样品的高效液相色谱图见图A.1和图A.2。



图A.1 10 mg/L 乳果糖标准溶液高效液相色谱图



图A.2 样品溶液中乳果糖高效液相色谱图

以正式出版文本为准

## 附录 B

(资料性)

## 乳果糖在不同基质中各添加水平的回收率和精密度

乳果糖在不同基质中各添加水平的回收率和精密度见表B.1和表B.2。

表B.1 液相色谱法检测乳果糖在不同牛奶基质中各添加水平的乳果糖回收率和精密度 (n=6)

基质	添加水平/ (mg/L)	回收率/%						平均回收率/%	RSD/%
无乳糖舒化奶	50	92.3	85.5	94.2	87.4	90.6	91.3	90.2	3.56
	100	92.1	96.5	89.2	86.4	92.3	87.4	90.7	4.12
	500	94.3	102.1	94.2	97.5	92.3	94.6	95.8	3.65
超高温灭菌乳 (本底平均值: 383.0 mg/L)	200	95.3	90.2	86.0	90.6	91.1	91.3	90.7	3.28
	400	94.7	96.5	89.8	94.9	98.0	104.7	96.4	5.10
	800	95.2	97.6	103.8	105.2	91.2	94.1	97.9	5.66

表B.2 液相色谱—质谱/质谱法检测乳果糖在不同牛奶基质中各添加水平的乳果糖回收率和精密度 (n=6)

基质	添加水平/ (mg/L)	回收率/%						平均回收率/%	RSD/%
巴氏灭菌乳 (本底平均值: 4.6 mg/L)	5.0	90.6	93.6	91.9	99.8	87.0	97.6	93.4	5.03
	10.0	95.5	92.1	100.4	95.5	92.5	88.5	94.1	4.29
	50.0	91.5	94.1	89.0	97.9	89.6	92.3	92.4	3.53
UHT奶 (本底平均值: 383.0 mg/L)	200	91.2	97.6	92.3	98.3	88.6	93.2	93.5	4.04
	400	96.5	97.0	98.9	96.0	93.0	100.4	97.0	2.63
	800	94.1	97.5	100.0	96.0	97.5	93.4	96.4	2.52

附 录 C  
(资料性)  
质谱参考条件

质谱参考条件如下。

- a) 雾化气、干燥气、辅助加热气、碰撞气均为高纯氮气及其他合适气体；使用前应调节各气体流量以使质谱灵敏度达到检测要求，监测离子对及碰撞电压见表C.1。
- b) 电喷雾电压：4500 V。
- c) 离子源温度：300 ℃。
- d) 雾化气流速：63 mL/min。
- e) 干燥气流速：8 mL/min。
- f) 辅助加热气流速：12 mL/min。

表C.1 定性离子对、定量离子对及碰撞能量

化合物	检测模式	保留时间/min	离子对 (m/z)	碰撞能/V
乳果糖	负模式	13.20	341.3/161.1 <sup>a</sup>	8.0
			341.3/100.9	14.0
<sup>a</sup> 定量离子对。				

附录 D  
(资料性)

乳果糖的高效液相色谱—质谱/质谱多反应监测 (MRM) 图

乳果糖的高效液相色谱—质谱/质谱多反应监测 (MRM) 图见图 D.1~图 D.3。

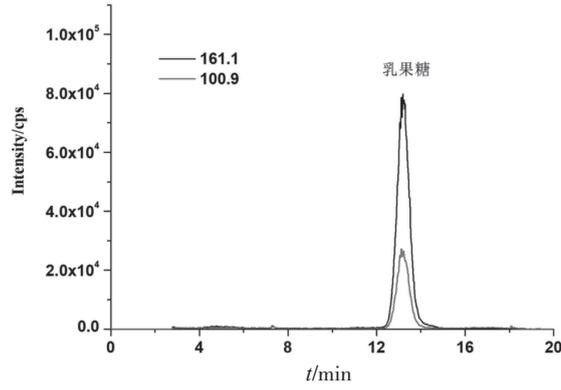


图 D.1 2.5 mg/L 乳果糖标准溶液高效液相色谱—质谱/质谱多反应监测 (MRM) 图

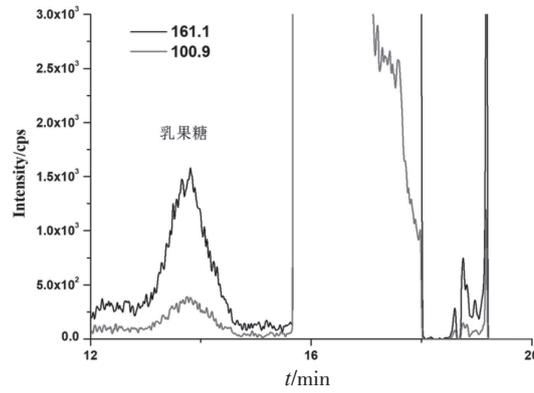


图 D.2 巴氏杀菌乳样品溶液中乳果糖高效液相色谱—质谱/质谱多反应监测 (MRM) 图

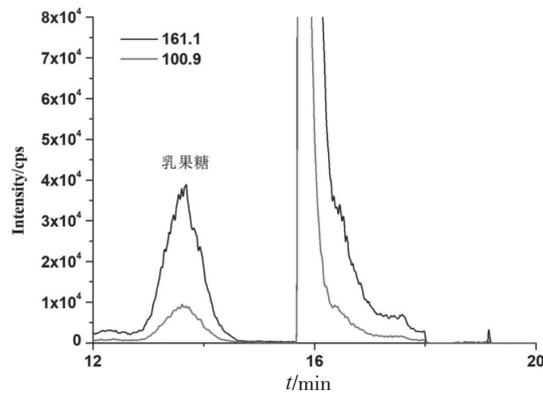


图 D.3 超高温灭菌乳样品溶液中乳果糖高效液相色谱—质谱/质谱多反应监测 (MRM) 图

以正式出版文本为准