

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241111002

引用格式: 黄伟乾, 吴俊发, 覃天福, 等. 柱前衍生-高效液相色谱法测定乳及乳制品中5种乳糖衍生物[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(5): 46-51.

HUANG WQ, WU JF, QIN TF, *et al.* Determination of 5 kinds of lactose derivatives in milk and dairy products by pre-column derivatization-high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(5): 46-51. (in Chinese with English abstract).

# 柱前衍生-高效液相色谱法测定乳及 乳制品中5种乳糖衍生物

黄伟乾\*, 吴俊发, 覃天福, 邓思怡, 梁志森, 吴敏莲

(广州检验检测认证集团有限公司, 广州 511447)

**摘要:** **目的** 建立柱前衍生-高效液相色谱法测定乳及乳制品中5种乳糖衍生物(3'-半乳糖基乳糖、4'-半乳糖基乳糖、6'-半乳糖基乳糖、3'-唾液酸乳糖、6'-唾液酸乳糖)含量的定量分析方法。**方法** 乳及乳制品经沉淀蛋白, 于55 °C下5种乳糖衍生物与2-氨基苯甲酰胺反应120 min, 标记上荧光基团, 经高效液相色谱酰胺柱分离, 外标法定量5种乳糖衍生物的含量。**结果** 5种乳糖衍生物在0.025~5.000 mg/L质量浓度范围内线性关系良好, 相关系数( $r$ )均大于0.999; 5种乳糖衍生物的检出限和定量限在3.5~7.5 mg/kg和12.0~25.0 mg/kg之间; 5种乳糖衍生物的回收率在90.8%~103.3%, 检测结果的相对偏差在2.8%~5.3% ( $n=3$ )。**结论** 本方法的精密度和回收率良好, 灵敏度较好, 可用于乳与乳制品中5种乳糖衍生物含量的测定。

**关键词:** 乳及乳制品; 高效液相色谱法; 乳糖衍生物

## Determination of 5 kinds of lactose derivatives in milk and dairy products by pre-column derivatization-high performance liquid chromatography

HUANG Wei-Qian\*, WU Jun-Fa, QIN Tian-Fu, DENG Si-Yi, LINAG Zhi-Sen, WU Min-Lian

(Guangzhou Inspection Testing and Certification Group Co., Ltd., Guangzhou 511447, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a quantitative analysis method for determining the content of 5 kinds of lactose derivatives (3'-galactosyllactose, 4'-galactosyllactose, 6'-galactosyllactose, 3'-sialyllactose, 6'-sialyllactose) in milk and dairy products by pre-column derivatization-high performance liquid chromatography. **Methods** The proteins in milk and dairy products were precipitated. The 5 kinds of lactose derivatives were reacted with 2-aminobenzamide at 55 °C for 120 min to label the fluorescent groups. The 5 kinds of lactose derivatives were separated by high performance liquid chromatography with an amide column and quantified by external standard method. **Results** The 5 kinds of lactose derivatives exhibited good linear relationships within the concentration range of 0.025-5.000 mg/L, with correlation coefficients ( $r$ ) all exceeding 0.999. The limits of detection and quantification for the 5 kinds of lactose derivatives ranged from 3.5 to 7.5 mg/kg and 12.0 to 25.0 mg/kg, respectively. The recovery

收稿日期: 2024-11-11

第一作者/\*通信作者: 黄伟乾(1986—), 男, 工程师, 主要研究方向为食品安全质量检验检测。E-mail: 494333067@qq.com

rates for the 5 kinds of lactose derivatives were between 90.8% and 103.3%, with relative deviations in detection results ranging from 2.8% to 5.3% ( $n=3$ ). **Conclusion** This method demonstrates good precision, recovery rate, and sensitivity, making it suitable for determining the content of 5 kinds of lactose derivatives in milk and dairy products.

**KEY WORDS:** milk and dairy products; high performance liquid chromatography; lactose derivatives

## 0 引言

母乳<sup>[1-2]</sup>是婴幼儿最优质的食物,含有重要的混合低聚糖(如:母乳寡聚糖),可促进婴幼儿肠道免疫系统的发育。研究表明低聚半乳糖<sup>[3-6]</sup>也具有调节免疫系统的功能。且随着对天然的碳水化合物的研究,特别是乳糖<sup>[7]</sup>形成的多种聚合物,发现其对婴幼儿生长发育具有显著作用,因此添加此类功能性碳水化合物的产品也是生产企业宣传的亮点。但目前此类天然功能性乳糖衍生物(如:3'-半乳糖基乳糖)因缺少相应的标准检测方法,故无法确定其含量。

3'-半乳糖基乳糖(3'-galactosyllactose, 3'-GL)、4'-半乳糖基乳糖(4'-galactosyl lactose, 4'-GL)与6'-半乳糖基乳糖(6'-galactosyl lactose, 6'-GL)为同分异构体,是一种重要的母乳寡聚糖(又称母乳低聚糖, human milk oligosaccharides, HMOs)。目前针对3'-GL的报道较多,研究表明其具有多种生物活性,包括免疫调节、抗炎症以及保护肠道屏障功能,能够直接影响免疫细胞,并有助于调节先天免疫反应,是一种具有重要生物学意义的低聚糖<sup>[8]</sup>,对婴儿的健康和发育起着关键作用。4'-GL<sup>[9]</sup>与6'-GL结构非常类似,也具有类似的改善肠道健康,维持免疫平衡等作用。3'-唾液酸乳糖(3'-sialogalactose, 3'-SL)与6'-唾液酸乳糖(6'-sialogalactose, 6'-SL)为同分异构体,具有调节免疫反应的能力,因为唾液酸在细胞识别和免疫调节中起着重要作用,阻止病原体如细菌和病毒黏附到宿主细胞上,预防感染,且参与细胞间的信号传递,影响细胞的生长、分化和凋亡。因此3'-SL和6'-SL在食品工业中被用作添加剂以增强产品的营养价值或功能性<sup>[10-13]</sup>。

目前报道乳糖类衍生物的研究较少,主要是母乳低聚糖<sup>[14-19]</sup>、2'-岩藻基乳糖<sup>[20]</sup>、低聚半乳糖<sup>[21-23]</sup>以及其在食品方面的应用。2'-岩藻基乳糖的检测已形成团体标准,方法是使用 $\beta$ -半乳糖苷酶解除乳糖类干扰物,再通过离子色谱分离,外标法定量;低聚半乳糖、7种HMOs的研究是通过液相色谱-串联质谱法检测,且已形成标准方法。但鲜少见乳与乳制品中3'-GL<sup>[24]</sup>、4'-GL、6'-GL等的检测报道,虽单个的乳糖衍生物<sup>[25]</sup>含量较低(一般<1%),但也是重要的营养组成和功能性碳水化合物之一,是非常有价值的研究对象。

由于乳与乳制品中乳糖衍生物含量低且未见明显的吸光基团,需通过衍生化方式标识吸光基团,使用2-氨基苯甲酰胺(2-aminobenzamide, 2-AB)与乳糖衍生物<sup>[26]</sup>发生

还原氨化反应<sup>[5]</sup>可以增强响应,引入共轭双键的苯环基团,同时选择荧光检测器检测,大大提高了测定灵敏度,但鲜少有研究应用此技术检测乳糖衍生物。因此,本研究采用衍生<sup>[27-28]</sup>法与高效液相色谱分离技术<sup>[29-30]</sup>检测组合,建立定量检测乳及乳制品中5种乳糖衍生物的分析方法,为产品质量的监管提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

乳制品样品(9批):广州市售的产品。

标准品:3'-SL(纯度>99%)、6'-SL(纯度>99%)、3'-GL(纯度>98%)、4'-GL(纯度>96%)、6'-GL(纯度>98%)(上海安谱贸易有限公司)。

乙腈、甲酸铵、甲酸、乙酸(色谱纯,美国Fisher公司);二甲基亚砜、2-AB、氰基硼氢化钠(分析纯,上海安谱科技有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

U3000 高效液相色谱仪(美国赛默飞世尔科技有限公司);Aquaplore 2S 纯水系统(重庆艾科浦颐洋企业发展有限公司);MS204T 万分之一分析天平[梅特勒托利多测量设备(上海)有限公司];HSW-26 恒温水浴(上海一恒科学仪器有限公司);MS3 涡旋振荡器[艾卡(广州)仪器设备有限公司];XBridge Amide 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 3.5  $\mu$ m, 美国Waters公司);KQ5200E 超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.3 标准溶液及试剂的配制

混合标准贮备溶液:精密称量3'-GL、4'-GL、6'-GL、3'-SL、6'-SL标准品各10.0 mg,加水溶解定容至10.0 mL,配成质量浓度为1000 mg/L的标准溶液,置于-18 °C下保存。

混合标准工作溶液:移取2.00 mL标准贮备液,加水定容至10.00 mL,配成质量浓度为200 mg/L的工作溶液。再分别移取0.025、0.100、0.500、1.000、2.500、5.000 mL再稀释至10.0 mL,成0.50、2.00、10.00、20.00、50.00、100.00 mg/L系列标准工作溶液。

衍生溶液(0.45 mol/L 2-AB 溶液):分别称取612 mg 2-AB和630 mg 氰基硼氢化钠于10 mL容量瓶中,用二甲基亚砜-乙酸溶液(30:70, V:V)定容(现配现用)。

甲酸铵溶液(0.02 mol/L):称取1.26 g 甲酸铵,加水溶

解,用甲酸调至 pH 4.5±0.1,加水稀释至 1 L,经 0.45 μm 滤膜过滤后备用。

## 1.4 实验方法

### 1.4.1 前处理步骤

称取样品约 1.0~5.0 g(精确至 1 mg),加水约 40 mL 溶解,用冰醋酸调节至 pH 4.5±0.1 沉淀蛋白,再定容至 100 mL,超声提取 5 min,中速定性滤纸过滤,移取滤液 250 μL 于 10 mL 的离心管中,再加入 250 μL 的衍生试剂溶液,于涡旋振荡器上混合均匀,将离心管置于 55 °C 的水浴中 2 h。冷却后,用甲酸铵溶液乙腈混合液(40:60, V:V)稀释至 5.0 mL,涡旋混匀 1 min,过尼龙 0.45 μm 滤膜后,待高效液相色谱仪分析。

### 1.4.2 计算方法

乳糖衍生物(如:3'-GL、4'-GL、6'-GL、3'-SL、6'-SL)含量的计算公式(1)如下:

$$\text{乳糖衍生物}/(\text{mg}/100 \text{ g}) = \frac{c \times V \times f}{m} \times \frac{100}{1000} \quad (1)$$

式中:  $c$  为待测液的质量浓度, mg/L;  $V$  为定容体积, mL;  $m$  为称样质量, g;  $f$  为衍生过程中产生的稀释倍数(20 倍)。

### 1.4.3 色谱分析条件

色谱柱: XBridge Amide 分析柱(150 mm×4.6 mm, 3.5 μm); 柱温: 25 °C; 进样量: 5 μL; 流量: 1.0 mL/min; 激发波长: 350 nm, 发射波长: 430 nm; 流动相 A(乙腈), 流动相 B(0.02 mol/L 甲酸铵溶液, pH 4.5±0.1), 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 流动相洗脱梯度程序

Table 1 Gradient program of mobile phase elution

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	95	5
15.0	95	5
37.0	75	25
42.0	75	25
42.1	40	60
48.0	40	60
48.1	95	5
60.0	95	5

## 1.5 数据处理

实验所得数据以及平行测试 3 次的相对标准偏差的计算均使用金山 WPS 2019 进行数据整理以及分析。其中 5 种乳糖衍生物的检测数据采用自带的仪器控制软件变色龙 Chromleon 7.3.1 进行采集和处理,以外标法计算结果。

## 2 结果与分析

### 2.1 蛋白沉淀剂种类的确定

蛋白沉淀剂种类的选择实验比较了乙酸锌亚铁氰化钾溶液、80%乙醇水溶液、冰醋酸溶液的沉淀效果。结果表明,用冰醋酸溶液和乙酸锌亚铁氰化钾作为沉淀剂时,使蛋白质的溶解性明显降低,蛋白质凝聚并从溶液中析出,但乙酸锌亚铁氰化钾带入盐类的较多,对色谱柱的污染较

大。因此,确定冰醋酸溶液为乳制品样品的蛋白沉淀剂。

### 2.2 衍生反应关键因素的确定

为了确定适宜的衍生反应,参考文献<sup>[3,12]</sup>的研究,以探究对 5 种乳糖衍生物的衍生结果的影响,实验使用纯牛奶样品,添加水平为 400 mg/100 g 的混合标准溶液,按实验方法(1.4)的步骤处理。实验比较了温度 50、55、60、65 °C,衍生时间 80、100、120、140 min; 衍生剂的浓度 0.35、0.40、0.45、0.50 mol/L 对衍生物的影响,对应的响应值都呈现先上升后下降的趋势。由图 1~3 分析可知,衍生剂浓度为 0.45 mol/L,衍生温度为 55 °C 下,衍生时间为 120 min 的衍生物响应较高。

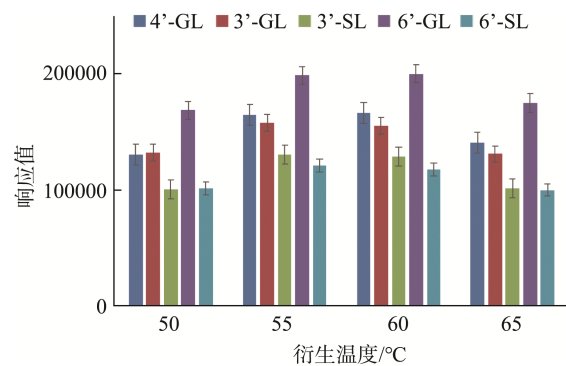


图1 温度对响应值的影响

Fig.1 Effects of temperature on the response value

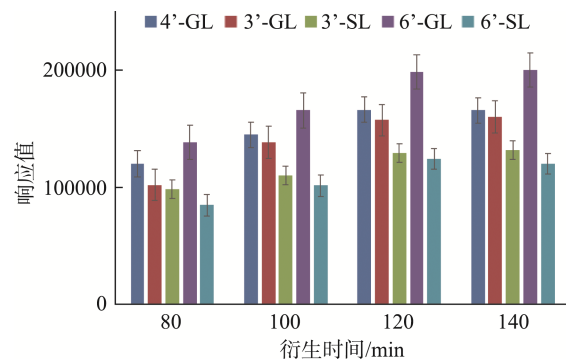


图2 衍生时间对响应值的影响

Fig.2 Effects of derivative time on the response value

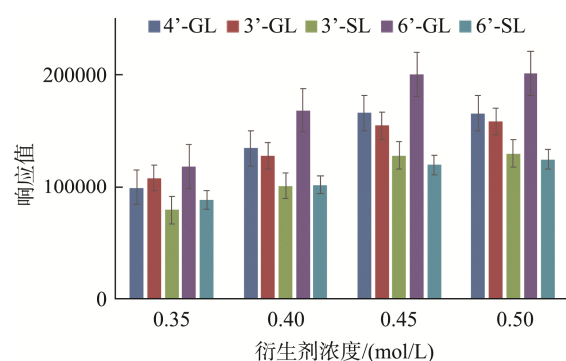


图3 衍生剂浓度对响应值的影响

Fig.3 Effects of derivatization agent concentration on the response value

再以 2-AB 衍生剂浓度为 0.45 mol/L, 衍生温度为 55 °C 下, 衍生化时间为 120 min, 回收率达到 90% 以上, 基本能满足方法验证的要求。故直接选用该衍生化条件。

### 2.3 色谱分离条件的优化

3'-GL、4'-GL、6'-GL 为半乳糖基结合到乳糖的 3、4、6 位上, 互为同分异构体; 3'-SL、6'-SL 为唾液酸基结合到乳糖的 3、6 位上, 也互为同分异构体。由于结构非常相似, 保留时间相近, 分离难度较大。

本研究以甲酸铵+乙腈作为流动相, 比较了多糖类分析柱(Waters XBridge 酰胺分析柱、Agilent AdvanceBio Glycan 糖谱分析柱、Welch hilic Amide 分析柱), 优选后确定为 XBridge 酰胺分析柱, 经调整洗脱梯度和优化分离度, 得到 5 种乳糖衍生物的分离效果较佳(分离度  $R \geq 1.1$ ) 淋洗梯度见表 1。5 种乳糖衍生物的标准图谱见图 4。由图 4 可知, 5 种乳糖衍生物的分离满足要求, 可用于乳与乳制品的测试。

### 2.4 方法学验证

#### 2.4.1 标准曲线和方法灵敏度

分别移取 250  $\mu\text{L}$  系列标准工作溶液进行衍生(衍生后

表 2 5 种乳糖衍生物的线性范围、线性方程、相关系数、MLODs 与 MLOQs

Table 2 Linear ranges, linear equations, correlation coefficients, MLODs and MLOQs of 5 kinds of lactose derivatives

名称	线性范围/(mg/L)	线性方程	$r$	MLODs/(mg/kg)	MLOQs/(mg/kg)
4'-GL	0.025~5.000	$Y=82586.1X+1826.7$	0.9998	4.0	13.0
3'-GL	0.025~5.000	$Y=77526.4X+1842.5$	0.9999	4.2	14.0
3'-SL	0.025~5.000	$Y=64207.8X+1561.7$	0.9999	5.4	18.0
6'-GL	0.025~5.000	$Y=105996.8X+3493.3$	0.9998	3.5	12.0
6'-SL	0.025~5.000	$Y=52943.4X+1382.9$	0.9998	7.5	25.0

#### 2.4.2 回收率及精密度实验

为验证实际测定过程中, 方法回收率的稳定性, 对乳制品样品进行 3 水平的加标回收实验, 水平浓度分别为 25、100、600 mg/kg, 分别测定 3 次, 结果见表 3。回收率在 90.8%~103.3% 之间, 满足 GB/T 27417—2017《合格评定化学分析方法确认和验证指南》附录 A 的表 A.1 的要求。相对标准偏差在 2.8%~5.3% 之间, 表明精密度良好, 该方法可满足乳制品中 5 种乳糖衍生物的分析测定要求。

表 3 5 种乳糖衍生物的回收率和精密度测定结果( $n=3$ )

Table 3 Recovery and precision determination results of 5 kinds of lactose derivatives ( $n=3$ )

化合物	添加水平/(mg/kg)	回收率/%	相对标准偏差/%
4'-GL	25; 100; 600	91.1; 98.3; 101.9	3.9; 3.8; 4.4
3'-GL	25; 100; 600	90.8; 100.8; 102.3	3.6; 3.9; 3.6
3'-SL	25; 100; 600	93.0; 98.7; 103.3	3.9; 3.8; 4.9
6'-GL	25; 100; 600	91.9; 96.1; 100.4	2.8; 2.9; 3.5
6'-SL	25; 100; 600	93.2; 97.5; 99.4	3.9; 4.2; 5.3

最终质量浓度分别为 0.025、0.100、0.500、1.000、2.500、5.000 mg/L), 过滤后供高效液相色谱仪分析, 以质量浓度为横坐标( $X$ , mg/L), 峰面积为纵坐标( $Y$ ), 绘制线性方程。相关系数( $r$ )>0.999, 线性良好。以 5 种乳糖衍生物的仪器响应信噪比( $S/N$ )的 3 倍和 10 倍计算仪器检出限和仪器定量限, 结合样品前处理过程的稀释倍数(以 2000 倍计), 计算得到的方法检出限(the method detection limit, MLOD)和方法定量限(the method quantitation limit, MLOQ)。由表 2 可知, MLODs 在 3.5~7.5 mg/kg, MLOQs 在 12.0~25.0 mg/kg。结果表明本方法灵敏, 可用于乳与乳制品的定量分析。

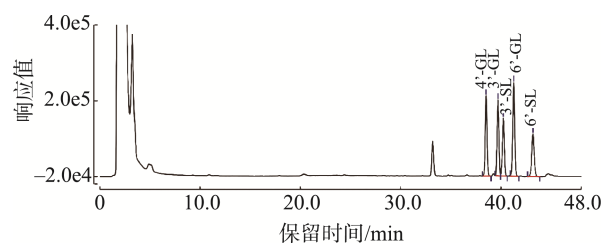


图 4 5 种乳糖衍生物的标准色谱图

Fig.4 Standard chromatogram of 5 lactose derivatives

### 2.5 方法的实际应用

为了验证方法是否可应用于实际样品的检测中, 实验使用本方法对市售的 7 个乳与乳制品进行检测, 结果见表 4。婴幼儿配方乳粉 3 的实验图谱见图 5, 纯牛奶 7 加标实验图谱见图 6。

表 4 7 个乳制品样品的检测结果(mg/kg)

Table 4 Test results of 7 samples (mg/kg)

样品	4'-GL	3'-GL	3'-SL	6'-GL	6'-SL
婴幼儿配方乳粉 1	$6.37 \times 10^3$	$1.99 \times 10^3$	271	92	$2.15 \times 10^3$
婴幼儿配方乳粉 2	$3.61 \times 10^3$	905	251	<12	$1.34 \times 10^3$
婴幼儿配方乳粉 3	$2.45 \times 10^3$	556	115	48	665
有机纯牛奶 4	108	132	273	23	48
脱脂奶粉 5	未检出	236	595	未检出	33
巴氏灭菌牛奶 6	未检出	未检出	92	未检出	未检出
纯牛奶 7	未检出	未检出	67	未检出	未检出

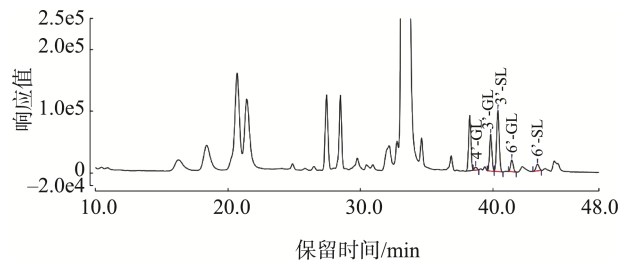


图5 婴幼儿配方乳粉的色图谱

Fig.5 Chromatogram of infant formula powder

## 2.6 方法比较分析

为了验证不同方法间的结果一致性,实验使用本方法与 T/TDSTIA 032—2023 《婴幼儿配方乳粉中 7 种母乳

低聚糖的测定 液相色谱-质谱法》方法对 2 份配方奶粉进行测试(检测的目标物不包括 4'-GL、3'-GL、6'-GL),并与明示质量指标比较,测试结果满足标示值的  $\geq 80\%$ ,且两方法测试结果基本一致,测试结果见表 5。

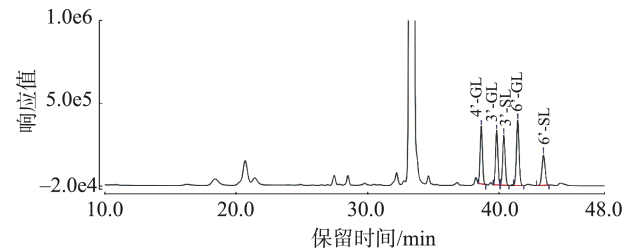


图6 纯牛奶加标样品的色图谱

Fig.6 Chromatogram of pure milk added sample

表 5 2 个方法的测试结果分析(mg/kg)  
Table 5 Test results analysis of 2 methods (mg/kg)

样品	方法	4'-GL	3'-GL	3'-SL	6'-GL	6'-SL
婴幼儿配方奶粉 8	本方法	35	42	825	20	350
	其他方法	/	/	790	/	335
	/	无标示值	无标示值	标示值: 770	无标示值	明示值: 280
婴幼儿配方奶粉 9	本方法	55	75	785	28	400
	其他方法	/	/	765	/	408
	/	无标示值	无标示值	标示值: 730	无标示值	明示值: 360

注: /为无此项内容。

## 3 结论与讨论

本研究采用 2-AB 衍生化标记荧光基团,结合高效液相色谱分离技术,建立了乳与乳制品中 5 种乳糖衍生物的定量分析方法。本研究优化了仪器条件分离条件,以及验证了结果,并对实际样品 7 份进行检测。方法学评价结果表明,方法的灵敏度较高,精密性及回收率良好,可较准确地反映了市售乳与乳制品中 5 种乳糖衍生物的实际情况,可为定量检测功能性乳糖衍生物提供方法参考。本研究未涉及其他类型的样品检测,乳类基质类型覆盖较少,方法间比较的样本量较少,存在一定的局限性,还需要进一步研究其适用性。

### 参考文献

- ROLLINS NC, NDIRANGU J, BLAND RM, *et al.* Exclusive breastfeeding, diarrhoeal morbidity and all-cause mortality in infants of HIV-infected and HIV uninfected mothers: An intervention cohort study in Kwazulu Natal, South Africa [J]. PLoS One, 2013, 8(12): 10.
- DUIJTS L, JADDOE VWV, HOFMAN A, *et al.* Prolonged and exclusive breastfeeding reduces the risk of infectious diseases in infancy [J]. Pediatrics, 2010, 126(1): E18-E25.
- 吴俊发, 黄伟乾, 霍玫希, 等. 柱前衍生-高效液相色谱荧光法测定婴幼儿配方乳粉中低聚半乳糖含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2021,

12(24): 9355-9361.

- WU JF, HUANG WQ, HUO WX, *et al.* Determination of galactooligosaccharides in infant formula milk powder by pre column derivatization high performance liquid chromatography fluorescence method [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(24): 9355-9361.
- 甄振鹏, 高裕锋, 黄敏兴, 等. 高效液相色谱串联质谱法测定乳粉中低聚半乳糖[J]. 甘蔗糖业, 2019(1): 46-50.
- ZHEN ZP, GAO YF, HUANG MX, *et al.* Determination of galactooligosaccharides in milk powder by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Sugarcane and Canesugar, 2019(1): 46-50.
- 林慧, 孙彦敏, 陶飞, 等. 柱前衍生液相色谱荧光检测法测定婴幼儿配方乳粉中的低聚半乳糖[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(10): 2861-2868.
- LIN H, SUN YM, TAO F, *et al.* Determination of galactooligosaccharides in infant formula milk powder by pre column derivative liquid chromatography fluorescence detection method [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(10): 2861-2868.
- 冉丹, 张燕俊, 袁列江, 等. 离子色谱法检测婴幼儿配方奶粉中低聚半乳糖含量[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(4): 148-153.
- RAN D, ZHANG YJ, YUAN LJ, *et al.* Determination of galactooligosaccharide in infant formula by ion chromatography [J]. Food Research and Development, 2019, 40(4): 148-153.
- 李莉, 曹文军, 薛伟锋, 等. 离子色谱法测定婴幼儿配方乳粉中的糖类[J]. 乳业科学与技术, 2020, 43(1): 9-14.
- LI L, CAO WJ, XUE WF, *et al.* Determination of sugars in infant formula by ion chromatography [J]. Journal of Dairy Science and Technology,

- 2020, 43(1): 9–14.
- [8] BUEREN A, MULDER M, LEEUWEN SV, *et al.* Prebiotic galactooligosaccharides activate mucin and pectic galactan utilization pathways in the human gut symbiont [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(40478): 1–13.
- [9] BÖGER M, HEKELAAR J, VAN-LEEUEWEN SS, *et al.* Structural and functional characterization of a family GH53  $\beta$ -1, 4-galactanase from *Bacteroides thetaiotaomicron* that facilitates degradation of prebiotic galactooligosaccharides [J]. *Journal of Structural Biology*, 2019, 205(1): 1–10.
- [10] 贺晨. 四种功能糖对小鼠益生作用研究[D]. 邯郸: 河北工程大学, 2020.  
HE C. Study on the probiotic effects of four functional sugars on mice [D]. Handan: Hebei University of Engineering, 2020.
- [11] 杜媛媛. 低聚半乳糖、低聚果糖和甘露糖醇对肉仔鸡免疫和抗氧化功能的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.  
DU YY. Effects of galactooligosaccharides, fructooligosaccharides, and mannitol on the immune and antioxidant functions of broiler chickens [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2023.
- [12] HILLMAN M, WESTRÖM B, AALAEI KC, *et al.* Skim milk powder with high content of Maillard reaction products affect weight gain, organ development and intestinal inflammation in early life in rats [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2018, 125: 78–84.
- [13] EVY M, LINQIU C, DIANNE JD, *et al.* Gram-scale chemical synthesis of galactosyllactoses and their impact on infant gut microbiota *in vitro* [J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2024, 3(10): 1923–2126.
- [14] 车佳玲, 王帅, 赵臻, 等. 母乳低聚糖健康功能与应用研究进展[J]. *食品安全导刊*, 2024(25): 117–119.  
CHE JL, WANG S, ZHAO Z, *et al.* Research progress on the health function and application of breast milk oligosaccharides [J]. *China Food Safety Magazine*, 2024(25): 117–119.
- [15] 刘丹, 孙柳, 赵春华, 等. 母乳低聚糖 LNnT 和 LNT 的研究进展及法规市场情况概述[J]. *中国食品添加剂*, 2024, 35(8): 230–240.  
LIU D, SUN L, ZHAO CH, *et al.* Overview of research progress and regulatory market situation of milk oligosaccharides LNnT and LNT [J]. *China Food Additives*, 2024, 35(8): 230–240.
- [16] 李绮淇, 黄嘉乐, 穆姝夷, 等. 柱前衍生—高效液相色谱荧光检测法测定乳制品中6种母乳寡糖[J]. *食品与机械*, 2024, 40(4): 54–58.  
LI QQ, HUANG JL, MU SY, *et al.* Determination of 6 types of breast milk oligosaccharides in dairy products by pre column derivatization high performance liquid chromatography fluorescence detection method [J]. *Food and Machinery*, 2024, 40(4): 54–58.
- [17] 高芳, 汪龙飞, 卜汉萍, 等. 高效液相荧光光谱法检测婴幼儿配方食品中7种母乳低聚糖[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(24): 72–79.  
GAO F, WANG LF, BU HP, *et al.* Detection of 7 types of milk oligosaccharides in infant formula food by high-performance liquid chromatography fluorescence chromatography [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2023, 14(24): 72–79.
- [18] 陈庆学, 石丰毅, 赵丽娜, 等. 母乳低聚糖的体内代谢与体外合成研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(19): 379–387.  
CHEN QX, SHI FY, ZHAO LN, *et al.* Research progress on *in vivo* metabolism and *in vitro* synthesis of breast milk oligosaccharides [J]. *Food Science*, 2021, 42(19): 379–387.
- [19] PERDIJK O, VAN-BAARLEN P, FERNANDEZ-GUTIERREZ MM, *et al.* Sialyllactose and galactooligosaccharides promote epithelial barrier functioning and distinctly modulate microbiota composition and short chain fatty acid production *in vitro* [J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 94.
- [20] 杨文君, 刘同杰, 梁曦, 等. 2'-岩藻基乳糖对益生菌定植及抗炎能力的影响[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(20): 355–364.  
YANG WJ, LIU TJ, LIANG X, *et al.* The effect of 2'- fucosyl lactose on the colonization and anti-inflammatory ability of probiotics [J]. *Food Industry Science and Technology*, 2021, 42(20): 355–364.
- [21] 赫秀萍, 王渤, 刘强. 离子色谱法测定婴幼儿乳粉中低聚半乳糖含量[J]. *广州化工*, 2024, 52(1): 129–131, 152.  
HE XP, WANG B, LIU Q. Determination of oligogalactose content in infant milk powder by ion chromatography [J]. *Guangzhou Chemical Industry*, 2024, 52(1): 129–131, 152.
- [22] 方芳, 梅端果, 蒲小春. 离子色谱法检测婴幼儿配方奶粉中低聚半乳糖的方法研究[J]. *中国食品*, 2023(4): 139–141.  
FANG F, MEI DG, PU XC. Study on the method of detecting oligosaccharides in infant formula milk powder by ion chromatography [J]. *China Food*, 2023(4): 139–141.
- [23] LI SY, ZHU XJ, XING MX. A new  $\beta$ -galactosidase from the *Antarctic bacterium Alteromonas* sp. ANT48 and its potential in formation of prebiotic galacto-oligosaccharides [J]. *Marine Drugs*, 2019, 17(11): 3651–3657.
- [24] 王子墨. 人乳三糖半乳糖基乳糖的制备[D]. 天津: 天津科技大学, 2022.  
WANG ZM. Preparation of human milk trisaccharide galactose [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2022.
- [25] 李坤丽, 常新林, 胡亚丹, 等. 稀有糖 L-半乳糖及其衍生物的合成研究[J]. *中国现代应用药学*, 2019, 36(4): 417–420.  
LI KL, CHANG XL, HU YD, *et al.* Synthesis research on rare sugar L-galactose and its derivatives [J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2019, 36(4): 417–420.
- [26] 刘权, 刘雨婷, 霍滢, 等. 食品与生物样品糖类及其衍生物检测方法研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(14): 115–124.  
LIU Q, LIU YT, HUO Y, *et al.* Research progress on detection methods of sugars and their derivatives in food and biological samples [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(14): 115–124.
- [27] 姜峰, 王悦玮, 蒋旭丹, 等. 柱前衍生化高效液相色谱法分析氨基酸原料药中的4种还原糖类杂质[J]. *分析实验室*, 2020, 39(11): 1340–1344.  
JIANG F, WANG YW, JIANG XD, *et al.* Analysis of four reducing sugar impurities in amino acid raw materials by pre column derivatization high-performance liquid chromatography [J]. *Analysis Laboratory*, 2020, 39(11): 1340–1344.
- [28] 童文烽, 杨国良, 叶文慧, 等. 基于衍生化反应的母乳低聚糖质谱检测方法的建立[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(7): 283–290.  
TONG WF, YANG GL, YE WH, *et al.* Establishment of a mass spectrometry detection method for human milk oligosaccharides based on derivatization reaction [J]. *Journal of Chinese Food Science*, 2021, 21(7): 283–290.
- [29] 胡文涛, 陈玲, 朱君, 等. 食品中糖成分检测方法应用与研究进展[J]. *食品工业*, 2024, 45(8): 148–152.  
HU WT, CHEN L, ZHU J, *et al.* Application and research progress of sugar component detection methods in food [J]. *The Food Industry*, 2024, 45(8): 148–152.
- [30] 李霞, 赵瑞军. 高效液相色谱技术在食品检测中的应用[J]. *粮油与饲料科技*, 2024(3): 231–233.  
LI X, ZHAO RJ. Application of high performance liquid chromatography technology in food detection [J]. *Grain, Oil and Feed Technology*, 2024(3): 231–233.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)