化学快检定性法检测发酵乳中蔗糖的研究与应用

李 伟，盛长岩，李 梅，王利霞，续智慧，刘 超，李利芬*

蒙牛乳制品（天津）有限责任公司，天津 301739

摘 要：[目的]应用化学快检定性法检测发酵乳中蔗糖，开发一种基于显色反应的快速筛查方法。[方法]通过与高效液相色谱法（HPLC）对比，验证本研究方法在检测限（0.2 g/100 g）以上的准确性（r=0.98，P＜0.01）。[结果]化学快检定性法相较HPLC的检测时间从5 h缩短至10 min，单次检测成本降低80%，且对零蔗糖样品（n=50）的检测结果与HPLC一致性达96%。[结论]该方法操作简便、快速，适用于生产线实时监测，可为乳品企业提供高效、低成本的蔗糖检测方案，并可作为检测零蔗糖发酵乳的有效方法进行推广。

关键词：蔗糖；化学快检定性法；高效液相色谱法（HPLC）；快速检测；发酵乳

文章编号：1671–4393（2025）09–0123–06 DOI:10.12377/1671–4393.25.09.18

0 引言

随着消费者对健康食品的关注度不断提高，近年来，零蔗糖发酵乳市场年增长率超过10%[1]，且仍处于高速增长期。同时，食品安全标准日益严格，2023年9月25日，根据《中华人民共和国食品安全法》规定，经食品安全国家标准审评委员会审查通过，发布85 项食品安全国家标准和3 项修改单。其中包括《GB 5009.8—2023 食品安全国家标准 食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定》，对零蔗糖发酵乳产品质量标准提出了更严格的要求，如企业内部必须遵循国家标准的规定，将零蔗糖发酵乳产品的质量标准设定为不得检出（＜检出限0.2 g/100 g）。

传统莱因–埃农氏法灵敏度不足（检出限

作者简介：李 伟（1996–），男，内蒙古赤峰人，本科，技师，研究方向为乳品检验分析、乳品质量控制；
盛长岩（1991–），女，内蒙古乌兰浩特人，本科，蒙古族，检验工程师，研究方向为乳品检验分析、乳品质量控制；
李 梅（1988–），女，吉林洮南人，本科，工程师，研究方向为乳品检验分析、乳品质量控制；
王利霞（1999–），女，内蒙古乌兰察布人，本科，技师，研究方向为乳品检验分析、乳品质量控制；
续智慧（1997–），女，黑龙江牡丹江人，专科，技师，研究方向为乳品检验分析，乳品质量控制；
刘 超（1985–），女，天津人，本科，工程师，研究方向为乳品检验分析、乳品质量控制。
*通信作者：李利芬（1989–），女，内蒙古通辽人，蒙古族，本科，中级工程师，研究方向为乳品检验分析、乳品质量控制。

中国乳业线上阅读

≥0.5 g/100 g），而高效液相色谱法（HPLC）虽准确度高，但存在设备昂贵（单台仪器成本超50 万元）、检测周期长（≥5 h/样本）、需专业操作人员等问题[2, 3]。因此，开发一种适用于生产现场的快速检测方法成为行业迫切需求。以HPLC为例，单样本检测需5 h，而生产线若因检测滞后导致原料积压，日均损失可达数万元。本研究创新性地将化学快检定性法引入发酵乳中蔗糖检测，基于特异性显色反应原理，可在10 min内完成检测，为乳品企业质量控制提供技术支撑，也为实验室选择合适的检测方法提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

蒙牛两款典型零蔗糖发酵乳——百利包零蔗糖发酵乳（生产批次：4P20240506F01B，保存条件：2～6 ℃冷藏），圆周杯零蔗糖发酵乳（生产批次：4P20240510Q01A，保存条件：2～6 ℃冷藏），添加不同浓度蔗糖标准品的样品（0.15～1.00 g/100 g）。

1.1.2 仪器与设备

乳中蔗糖快速检测试剂盒，深圳市绿诗源生物技术有限公司；单道移液器、电热板，德国WIGGENS公司；电子天平，梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；高效液相色谱仪（Ultimate 3000），美国赛默飞世尔科技公司；蒸发光散射检测器（UM5800Plus），通微（上海）分析技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 化学快检定性法

（1）操作步骤及结果报出

A.在检测管中加入待测样品1 mL；B.加入检测试剂A一平勺（约1 颗绿豆大小）混匀，再加入检测试剂B 0.5 mL摇匀，置于沸水浴加热5 min。C.观察乳层溶液颜色变化并判断结果，若呈现乳白色或无颜色变化，表示发酵乳中不含蔗糖或含量<0.2 g/100 g，结果判读阴性，报未检出（<0.2 g/100 g）。若呈不同程度红色或粉红色，表示发酵乳中糖含量>0.2 g/100 g，结果判读阳性，报检出（≥0.2 g/100 g）。

（2）检测限（LOD）验证

采用系列稀释法制备0.1～0.3 g/100 g蔗糖标准溶液，每个浓度平行检测20 次。当阳性检出率≥95%时，确定0.2 g/100 g为方法LOD，该浓度下显色反应的特异性和重复性经3 批次验证，准确率达99%。

1.2.2 HPLC

（1）仪器参考条件

色谱柱ShodexAsahipak-NH2-50氨基色谱柱（4.6 mm×250 mm，粒径5 μm），流动相乙腈+水=77+23（体积比），流速1.0 mL/min，柱温40 ℃，进样量10 μL，蒸发光散射检测器条件为飘移管温度75 ℃，氮气流速2.5 L/min。

（2）标准溶液制备

标准储备液（20.0 mg/mL）：称取经过（96±2）℃干燥2 h的蔗糖1 g（精确至0.001 g），用水溶解后转移至50 mL容量瓶中，加入2.5 mL乙腈，用水定容至刻度，0～4 ℃密封，保存期3 个月；混合标准工作液：吸取0.05 mL、0.10 mL、0.20 mL、0.30 mL、0.60 mL标准储备液（20.0 mg/mL）于10.0 mL容量瓶中，用水定容至刻度，配制蔗糖的质量浓度为0.05 mg/mL、0.20 mg/mL、0.40 mg/mL、0.60 mg/mL、1.20 mg/mL的标准工作液[4～7]。

1.2.3 测试样品溶液的制备

准确称取10 g样品（精确至0.001 g）至100 mL比色管中，加入约50 mL水，缓慢加入5 mL乙酸锌溶液、5 mL亚铁氰化钾溶液，涡旋混匀，超声30 min，转移至100 mL容量瓶中，用水定容至刻度，混匀，静置。

2 结果与分析

2.1 数据准确性分析

首先，对样品进行不同浓度的蔗糖标准品的加

中国乳业线上阅读

标检测，共检测15 组样品，具体检测数据见表1。

表 1 化学快检定性法、HPLC 检测加标样品的结果（n=15）

样品编号	加标浓度（g/100 g）	化学快检定性法检测结果	HPLC 检测结果（g/100 g）	HPLC 回收率（%）
1–1	本底	未检出	未检出	/
1–2	0.15	未检出	0.14	93.3
2–1	本底	未检出	未检出	/
2–2	0.15	未检出	0.16	106.7
3–1	本底	未检出	未检出	/
3–2	0.20	检出（≥ 0.2 g/100 g）	0.21	105.0
4–1	本底	未检出	未检出	/
4–2	0.20	检出（≥ 0.2 g/100 g）	0.22	110.0
5–1	本底	未检出	未检出	/
5–2	0.20	检出（≥ 0.2 g/100 g）	0.18	90.0
6–1	本底	未检出	未检出	/
6–2	0.20	检出（≥ 0.2 g/100 g）	0.21	105.0
7–1	本底	未检出	未检出	/
7–2	0.40	检出（≥ 0.2 g/100 g）	0.38	95.0
8–1	本底	未检出	未检出	/
8–2	0.50	检出（≥ 0.2 g/100 g）	0.51	102.0
9–1	本底	未检出	未检出	/
9–2	0.50	检出（≥ 0.2 g/100 g）	0.54	108.0
10–1	本底	未检出	未检出	/
10–2	0.60	检出（≥ 0.2 g/100 g）	0.62	103.3
11–1	本底	未检出	未检出	/
11–2	0.60	检出（≥ 0.2 g/100 g）	0.63	105.0
12–1	本底	未检出	未检出	/
12–2	0.80	检出（≥ 0.2 g/100 g）	0.82	102.5
13–1	本底	未检出	未检出	/
13–2	0.80	检出（≥ 0.2 g/100 g）	0.85	106.3
14–1	本底	未检出	未检出	/
14–2	1.00	检出（≥ 0.2 g/100 g）	1.02	102.0
15–1	本底	未检出	未检出	/
15–2	1.00	检出（≥ 0.2 g/100 g）	0.98	98.0

在低浓度加标（0.15 g/100 g）下，化学快检定性法检测结果均为未检出（＜0.2 g/100 g）。

HPLC检测结果分别为0.14（回收率93.3%）、0.16（回收率106.7%），回收率在合理范围内。化学快检定性法受限于检测限或灵敏度，无法检测出该低浓度的蔗糖。

在检出限加标（0.2 g/100 g）下，化学快检定性法检测结果均为检出（≥0.2 g/100 g）。HPLC检测结果为0.18～0.22，回收率为90.0%～110.0%。部分结果如编号5–2（0.18）接近检测限，可能导致化学快检定性法和HPLC在该浓度下的判断出现差异，化学快检定性法更灵敏地判断为检出，而HPLC结果可能因更接近实际定量而部分接近但未完全达到0.2 g/100 g的判断标准。

在较高浓度加标（≥0.4 g/100 g）下，随着加标浓度增加，化学快检定性法和HPLC检测结果均能准确判断为检出（≥0.2 g/100 g），且HPLC检测值与加标浓度较接近，回收率较稳定，两种方法在较高浓度下准确性均较好，一致性较高。

检测蒙牛两款典型零蔗糖发酵乳产品时，两种方法结果基本一致，仅用化学快检定性法检测008号百利包零蔗糖发酵乳样品和041号圆周杯零蔗糖发酵乳样品结果显示阳性，经HPLC检测结果为未检出。其余样品两种方法检测结果均为未检出（＜0.2 g/100 g），表明两种方法在检测零蔗糖发酵乳样品时准确性基本一致。进一步排查操作流程发现，化学快检定性法检测结果出现假阳性可能与加热时间、混匀差异因素相关，两组问题样品的沸水浴时间较其他样品延长约1 min，且涡旋混匀时间不足（500 r/min混匀5 s，常规情况下为：500 r/min混匀15 s），导致试剂局部富集，引发非特异性显色。

针对上述情况建议制定以下措施：

（1）制定《化学快检定性法操作SOP》，明确加热时间（5 min±10 s）、混匀方式和时间（500 r/min混匀15 s）等关键参数，使用计时器、恒温水浴锅严格控温。

（2）实行“双检制”：同一样品由两名操作员独立检测，结果不一致时启动HPLC复核。

此外，为验证假阳性率的合理性，采用二项分布进行假设检验：

（1）假设构建

原假设（H0）：化学快检定性法假阳性率为行业可接受的严格标准$P=P_0=0.05$，即假阳性为随机事件[8]。备择假设（H1）：化学快检定性法假阳性率$P\neq 0.05$，提示存在系统性误差导致假阳性。

中国乳业线上阅读

（2）计算概率

已知样品量n = 50，不合格数X=2，P_0=0.05。

根据二项分布公式 $P(X=k)=C_n^k \times P^k \times (1-P)^{n-k}$，计算P（x≤2），即 P（X=0）+P（X=1）+P（X=2）=0.540 5

（3）结论

给定显著性水平 α = 0.05（统计学通用标准，用于控制第I类错误概率），由于P=0.540 5> α，表明在95%置信水平下无法拒绝H_0，即假阳性属于随机波动。该结论与吴翊“累积概率> α时保留原假设”准则一致。

除二项分布检验外，采用Kappa一致性检验评估两种方法吻合度，Kappa值=0.92（P<0.01），Kappa值范围为−1～1，其中0.81～1.00表示“极佳一致性”，表明两种方法的检测结果一致性极显著，远高于偶然因素导致的吻合。该结果进一步验证化学快检定性法在零蔗糖样品检测中的可靠性，2 例假阳性可视为偶发事件（假阳性率4%），符合行业可接受的筛查方法误差范围。

2.2 相关性分析

将化学快检定性法结果量化（未检出设为0，检出设为1），以该量化结果为自变量X，HPLC检测结果为因变量Y，计算相关性系数。经计算，相关性系数r=0.98（P<0.01），表明两种方法检测结果具有显著相关性，说明化学快检定性法可作为快速、简便的方法应用于发酵乳蔗糖检测。实际操作中，化学快检定性法检测不合格样品后，可使用HPLC进一步验证。

3 讨论

3.1 化学快检定性法的优势

在发酵乳蔗糖快速检测领域，现有技术[如酶联免疫法（ELISA）、近红外光谱法]各有局限：ELISA依赖特异性抗体，存在交叉反应风险且试剂成本较高；近红外光谱法需配备大型专用仪器（单台设备超 50 万元），对检测环境和样品均匀性要求苛刻，难以适配生产线实时检测场景。

相较之下，化学快检定性法具有显著优势:（1）设备通用性强：仅需电热板、移液器等基础实验室工具，无需专用检测设备，单套设备成本不足2 万元，适合中小型企业及基层质检部门。（2）操作便捷性突出：无需复杂前处理（如ELISA的抗原抗体反应或近红外光谱法建模），通过显色反应直接判读结果，非专业人员经简单培训即可操作，单样本品检测仅需10 min。（3）现场适用性高：可在生产车间、原料验收区等非实验室环境下独立完成检测，满足乳制品企业对原料奶进厂、半成品在线监控等环节的即时筛查需求。（4）成本优势显著：低成本特性使其更适合大规模初步筛选检测，在不影响准确性前提下降低检测成本。

3.2 化学快检定性法的局限性

尽管化学快检定法在发酵乳蔗糖快速检测中展现出显著的实用价值，但其在复杂基质样品检测中的适用性仍存在技术瓶颈。以果味发酵乳为例，其基质中普遍存在的果胶、多酚类物质（如花色苷、儿茶素）及有机酸（如乳酸、柠檬酸）可能通过多重机制影响检测结果：一方面，多酚类物质的共轭结构易与检测试剂中的显色基团发生非特异性结合，导致背景颜色加深或特征显色反应减弱。另一方面，高浓度有机酸可能改变反应体系的pH值，抑制酶促反应效率或引发试剂成分的化学降解，进而造成假阴性或假阳性结果。此外，添加膳食纤维或代糖的功能性发酵乳中，低聚糖、多元糖醇等成分与蔗糖结构的相似性可能引发竞争性识别，导致检测灵敏度随基质复杂度增加而显著下降。

针对上述复杂基质带来的检测干扰问题，后续研究可从两个核心维度展开技术攻关：一是抗基质干扰试剂体系的创新研发，通过筛选高特异性蔗糖氧化酶或构建适配体探针，实现对蔗糖分子的靶向识别，降低与结构类似物的交叉反应；同时，可引入纳米级金属氧化物载体（如二氧化硅纳米颗粒）

中国乳业线上阅读

优化试剂分散性，增强显色反应的信号强度与稳定性。二是建立分层级的样品前处理技术体系，针对不同类型的复杂基质开发专属净化方案，如采用分子印迹固相萃取柱选择性去除多酚类干扰物，或利用超滤膜技术分离大分子膳食纤维，构建“预净化–特异性反应–信号增强”的三级检测流程。通过试剂优化与前处理技术的协同创新，有望突破现有方法在复杂基质中的应用限制，为功能性发酵乳、风味发酵乳等特殊产品的质量监控提供更可靠的技术支撑。

同时，应建立标准化验证体系，采用多实验室间的协同比对试验，对改进后的检测方法进行重复性、再现性评估，结合实际样品检测数据建立干扰物浓度与检测误差的量化关系模型，从而为方法的推广应用提供科学依据。此外，还可借助人工智能算法深度分析检测数据，通过机器学习构建复杂基质干扰因素的智能识别模型，快速预判样品中潜在干扰物对检测结果的影响，结合试剂体系、前处理技术的优化，形成“技术–算法”双驱动的精准检测模式，进一步提升发酵乳蔗糖检测的可靠性与智能化水平。

4 结论

本研究通过对比分析化学快检定性法和HPLC检测发酵乳中蔗糖的结果，从准确性、相关性、时间效率和成本等方面进行了探讨。结果表明化学快检定性法具有操作便捷、快速、成本低等优点，且检测结果与HPLC有显著相关性，完全符合GB 5009.8—2023要求，可作为企业自检的推荐方法。化学快检定性法虽然存在一定局限性，但在发酵乳蔗糖检测中，该法可作为一种有效方法推广使用，尤其适用于生产现场的快速筛查、大规模样品的初步检测。在实际应用中，可根据具体需求，结合HPLC等精确检测方法，进一步确保检测结果的准确性和可靠性。

参考文献

[1] 中国奶业协会.中国奶业协会关于发布《中国奶业科技创新指导意见》《中国奶业数智化发展意见》的通知（中奶协发[2024]23号）[J].中国奶牛，2024（7）：17–22.

[2] 李加辉，崔瑞霞，赛平，等.发酵乳中三氯蔗糖检测方法的改进[J].现代食品，2022，28（11）：45–47.

[3] 芦光业，王艳华，王娟，等.乳粉中乳糖、蔗糖含量检测方法的研究[J].中外食品工业，2023（20）：70–72.

[4] 郭秀春，郭小白，张苗苗，等.莱茵—埃农氏法和高效液相色谱—示差折光法检测奶粉中乳糖和蔗糖的比较研究[J].食品科学，2016，37（12）：139–143.

[5] 何晓群.应用多元统计分析.北京：中国统计出版社，2010.

[6] 吴翊.应用数理统计[M].北京：国防科技大学出版社，2016.

[7] 刘丽娟，刘延刚，金桂秀，等.32个粳稻品种（系）食味品质及相关性分析[J].北方水稻，2024，54（5）:11–15.

[8] 刘冬霞，王春花，周凤莲，等.食品中测定蔗糖方法影响因素的分析[J].中国食品工业，2013（4）：56–57.

Research and Application of Chemical Rapid Qualitative Detection Method for Detecting Sucrose in Fermented Milk

LI Wei，SHENG Changyan，LI Mei，WANG Lixia，XU Zhihui，LIU Chao，LI Lifen*

Mengniu Dairy Producst（Tianjin）Co.，Ltd.，Tianjin 301739

Abstract：[Objective]To detect sucrose in fermented milk by chemical rapid qualitative detection method and develop a rapid screening method based on color reaction.[Method]By comparing with high performance liquid chromatography（HPLC），the accuracy of this method above the detection limit（0.2 g/100 g） was verified（r=0.98，P<0.01）.[Result]Compared with HPLC，the detection time of the chemical rapid qualitative detection

中国乳业线上阅读

method was shortened from 5 hours to 10 minutes，the single detection cost was reduced by 80%，and the consistency of the detection results of zero-sucrose samples（n=50）with HPLC reached 96%.This method is simple to operate and can complete the detection in just 10 minutes，making it suitable for real-time monitoring on production lines，providing a high-efficiency and low-cost sucrose detection solution for dairy enterprises.It can be promoted and used as an effective method for zero-sucrose detection in fermented milk.[Conclusion] This method is simple and rapid to operate, suitable for real-time monitoring of production lines. It can provide dairy enterprises with an efficient and low-cost sucrose detection solution and can be promoted as an effective method for detecting zero-sucrose fermented milk.

Keywords：sucrose；chemical rapid qualitative detection method；high performance liquid chromatography（HPLC）；rapid detection；fermented milk

▲上接122页

furosine content in pasteurized milk.[Method]The model was jointly established by high-performance liquid chromatography（HPLC）and near-infrared spectroscopy technology. Applicability validation study on the detection of furosine content in pasteurized milk using a newly created model.[Result] The detection time of near-infrared spectroscopy technology was shortened from 27 hours to 1 minute，reducing the detection time by 26 hours and 59 minutes.The correlation coefficient R^2 of the calibration model was 0.96，and the linear distribution was excellent.[Conclusion]According to relevant regulations and enterprise standards，the determination results of furosine content by near-infrared spectroscopy and HPLC show good consistency. The combined modeling detection of near-infrared spectroscopy technology has the advantages of fast detection speed，simple operation and accurate results.Evaluated from aspects such as standard requirements，data accuracy，stability，time efficiency and cost，the results of this study showed that near-infrared spectroscopy had certain accuracy and stability，and was convenient，fast and low-cost to operate. It can be popularized as a fast and effective method for the detection of furosine content in pasteurized milk.

Keywords：Near-infrared spectroscopy technology；pasteurized milk；furosine

中国乳业线上阅读