

食品中乳酮糖之檢驗方法研究

蔡瑩潔 吳白玟 林汝青 高雅敏 曾素香 王德原

食品藥物管理署研究檢驗組

摘要

乳酮糖(Lactulose)係由半乳糖及果糖以 β -1,4鍵組成之雙糖，多用於特殊營養食品或保健食品中，可做為供雙歧桿菌(*Bifidobacterium* spp.)及乳酸桿菌(*Lactobacillus* spp.)等腸道菌使用之益生質，促進宿主健康。衛生福利部於107年公告修正營養添加劑「乳酮糖」可用於特殊營養食品及標有每日食用限量之食品，其每日乳酮糖食用總量不得高於10 g，故為配合行政管理，爰建立食品中乳酮糖之檢驗方法。本研究將均質檢體以50%乙醇溶液以超音波振盪萃取，加入carrez I、II溶液及乙腈溶液沉澱非糖類成分，檢液以高效液相層析儀搭配折射率檢出器(UPLC-RID)進行分析。採用ACQUITY BEH Amide (1.7 μ m, 2.1 mm \times 10 cm)管柱搭配含0.2%TEA之80%乙腈溶液移動相，於流速0.25 mL/min進行沖提，可於10分鐘內完成分析。於特殊營養食品及益生菌粉檢體中分別添加乳酮糖0.25及1.25 g/100 g進行確效試驗，結果顯示同日間之平均回收率分別介於94 - 100%及96 - 106%，變異係數分別為2.5 - 5.3%及0.9 - 1.1%，異日間平均回收率分別介於92 - 102%及95 - 107%，變異係數分別為3.3 - 5.0%及1.6%，符合「食品化學檢驗方法之確效規範」要求。以此方法進行5件市售產品中乳酮糖之含量檢測，檢測值介於0.48 - 10.2 g/100 g，其中1件檢體未標示每日建議食用量僅標示乳酮糖含量，其檢測值大於標示值之80%，符合「包裝食品營養標示應遵行事項」規定，其餘4件檢體之乳酮糖每日建議食用量均未超出法規訂定之每日食用限量。

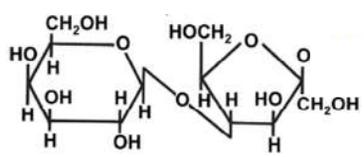
關鍵詞：乳酮糖、液相層析儀、折射率檢出器、營養添加劑

前言

乳酮糖(Lactulose)是一種由果糖及半乳糖以 β -1,4鍵組成之雙糖⁽¹⁻²⁾，普遍認為非天然存在，可透過乳糖異構化(Isomerization)方式獲得，其化學結構如表一，因可做為腸道菌叢使用之益生質，以增進宿主健康，為我國准用於特殊營養食品及標有每日食用限量之食品之營養添加劑。由於食用過量有腹瀉風險，衛生福利部於107年1月9日公告修正食品添加物「乳

酮糖」之使用食品範圍及限量，明定「標有每日食用限量之食品，其每日食用量不得高於10

表一、乳酮糖之名稱、分子式及化學結構

名稱	乳酮糖(Lactulose)
分子式	$C_{12}H_{22}O_{11}$
化學結構	

公克」之規定⁽³⁾。

此外新鮮乳品為確保食品安全及延長儲存時間，多會施以熱殺菌/滅菌處理，若進一步製成奶粉，除熱殺菌/滅菌步驟外，還需在高溫環境下進行濃縮及乾燥，而乳品中乳糖於熱處理時，會經由異構化反應產生乳酮糖⁽⁴⁾，其含量與熱處理溫度成正比，一般而言，每一百毫升乳品以巴氏(62 - 75°C)、超高溫(UHT, 120 - 130°C)殺菌及滅菌(135 - 150°C)處理，分別約可生成乳酮糖0.6、62.0及114.7 mg⁽⁵⁾，因此，乳酮糖可做為乳品加熱程度之指標。

有關乳酮糖之分析方法，彙整如表二，文獻大多使用NH₂或Amide管柱，儀器選擇高效液相層析儀搭配折射率檢出器(Refractive index detector, RID)或蒸發光散射檢出器(Evaporative light scattering detector, ELSD)進行分析，使用之萃取溶劑以50%乙醇溶液為主，移動相使用不同比例之乙腈/水溶液並以等梯度沖提分析物，由於折射率檢出器操作較蒸發光散射檢出器便利，因此本研究以使用NH₂及Amide管柱搭配折射率檢出器作為檢驗方法開發之基礎，據以檢測市售包裝食品中乳酮糖含量是否符合法規要求。

材料與方法

一、試驗樣品

特殊營養食品1件、幼兒成長奶粉1件及益生菌粉保健食品3件，共5件樣品，於109年購自網路商城，並儲放於室溫備用。

二、試藥、標準品及溶劑

乙腈(Acetonitrile)採用液相層析級、乙醇(Ethanol)及硫酸鋅(Zinc sulfate heptahydrate)採用試藥級，購自德國Merck公司(Darmstadt, Germany)；三乙胺(Triethylamine)採用試藥級，購自林純藥工業株式會社(Osaka, Japan)；亞鐵氰化鉀(potassium hexacyanoferrate(II)

trihydrate)採用試藥級，乳酮糖(lactulose)對照用標準品，純度99.7%，皆購自Sigma-Aldrich公司(St. Louis, MO, USA)。

三、儀器設備

- (一)漩渦混合器(Vortex Genie-2, Scientific Industries, USA)
- (二)超音波振盪器(Elmasonic P, 力明儀器有限公司, 臺灣)
- (三)去離子水製造機(Millipore milli-Q IQ7005, Millipore, USA)
- (四)離心機(Allegra 25R Centrifuge, Beckman Coulter, USA)
- (五)高效液相層析儀(ACQUITY UPLC H-class, Waters, USA)
 1. 折射率檢出器(2414, Waters, USA)
 2. 層析管(ACQUITY UPLC BEH Amide, 1.7 μm, 內徑2.1 mm × 10 cm, Waters, USA)

四、試劑之調製

- (一)50%乙醇溶液
取乙醇500 mL，加去離子水使成1000 mL。
- (二)carrez I試劑
稱取亞鐵氰化鉀0.72 g，以去離子水溶解使成10 mL。
- (三)carrez II試劑
稱取硫酸鋅1.44 g，以去離子水溶解使成10 mL。

五、移動相溶液之調製

- (一)含0.2%三乙胺之80%乙腈溶液
取乙腈800 mL，加入去離子水使成1000 mL，使成80%乙腈溶液，接著取三乙胺2 mL，加80%乙腈溶液使成1000 mL，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

表二、乳糖分析之文獻比較表

文獻	CNS ⁽⁶⁾	2004年Chávez-Servín等人 ⁽¹⁾	2008年Pham等人 ⁽⁷⁾	2013年Manzi等人 ⁽⁸⁾	2017年Neves等人 ⁽⁹⁾	2016年Benvenuti等人 ⁽¹⁰⁾
儀器	HPLC-RI	HPLC-RI	HPLC-ELSD	HPLC-RI	HPLC-RI	UPLC-MS
基質	乳品	milk-based formulae	soymilk	UHT milk	skimmed milk	milk、infant formula
管柱	LiChrospher NH ₂ (5 µm, 4 mm × 25 cm)	NH ₂ precolumn (13 mm × 3 mm) and Tracer carbohydrates (5 µm, 4.6 mm × 25 cm)	Prevail Carbohydrate ES (5 µm, 250 mm × 4.6 mm)	Pinnacle II Amino precolumn and two Pinnacle II Amino (3 µm, 4.6 mm × 15 cm)	XBridge Amide (3.5 µm, 4.6 mm × 15 cm)	XBridge BEH Amide XP (2.5 µm, 3 mm × 15 cm)
移動相	82%乙醇	75%乙醇	70%乙醇	75%乙醇	含0.2%TEA之75%乙醇	含0.05%二乙胺及500 ppb鹽酸瓜之乙醇；水：IPA (90:5:5)溶液
標準品	50%乙醇溶液	50%乙醇溶液	50%甲醇溶液	去離子水	50%乙醇溶液	50%乙醇溶液
溶劑	50%乙醇溶液	50%乙醇溶液	50%甲醇溶液	去離子水	50%乙醇溶液	50%乙醇溶液
檢液製備	檢體1~2 g→加50%乙醇溶液10 mL→攪拌30分鐘→加內標2 mL→以50%乙醇溶液定容20 mL→9000 rpm 離心10分鐘→0.45 µm濾膜過濾→上機	檢體0.6 g→加50%乙醇溶液10 mL→於60°C水浴攪拌25分鐘溶解→冷卻室溫→加Carrez I、II試劑0.25 mL→攪拌1分鐘→加乙醇5 mL→攪拌1分鐘→以50%乙醇溶液定容25 mL→靜置沉澱2小時→濾紙過濾→C18 Sep-Pak淨化→0.45 µm Nylon濾膜過濾→上機	檢體1 mL→加50%乙醇溶液10 mL→於60°C水浴攪拌溶解→冷卻室溫→加Carrez I、II試劑0.25 mL→混勻→以50%乙醇溶液定容25 mL→靜置沉澱20分鐘→濾紙過濾→C18 Sep-Pak淨化→0.45 µm Nylon濾膜過濾→上機	檢體2.5 g→加40°C溫水去離子水10 mL溶解→加Carrez I、II試劑0.25 mL→混勻→以去離子水定容25 mL→靜置沉澱20分鐘→濾紙過濾→C18 Sep-Pak淨化→0.45 µm Regenerate Cellulose濾膜過濾→上機	均勻檢體→加50%乙醇溶液→於60°C超聲波振盪25分鐘→冷卻室溫→加Carrez I、II試劑0.25 mL→攪拌1分鐘→加乙醇5 mL→攪拌1分鐘→以50%乙醇溶液定容25 mL→2465 xg 離心30分鐘→0.2 µm PVDF濾膜過濾→上機	檢體0.6 g→加50%乙醇溶液10 mL→於60°C超聲波振盪25分鐘→冷卻室溫→加Carrez I、II試劑0.25 mL→攪拌1分鐘→加乙醇5 mL→攪拌1分鐘→以50%乙醇溶液定容25 mL→2465 xg 離心30分鐘→0.2 µm PVDF濾膜過濾→上機

六、標準溶液之配製

取乳酮糖對照用標準品約0.5 g，精確稱定，以50%乙醇溶液溶解並定容至10 mL，作為標準原液，冷藏儲存。臨用時取適量標準原液，以50%乙醇溶液稀釋至0.1 - 5 mg/mL，供作標準溶液。

七、檢液之調製

將檢體混勻，取約1 g，精確稱定，加入50%乙醇溶液8 mL，超音波振盪25分鐘，加入carrez I試劑0.125 mL，旋渦混合1分鐘，再加入carrez II試劑0.125 mL，旋渦混合1分鐘，加入乙腈2.5 mL，旋渦混合1分鐘，以5000 ×g離心15分鐘，收集上清液。殘渣加入50%乙醇溶液8 mL，重複上述萃取步驟1次，合併上清液，以50%乙醇溶液定容至25 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

八、高效液相層析儀測定條件

檢出器：折射率檢出器

層析管：Waters ACQUITY BEH Amide column, 1.7 μm, 內徑2.1 mm × 10 cm

層析管溫度：50°C

檢出器溫度：40°C

注入量：3 μL

移動相流速：0.25 mL/min

移動相組成：依第五節調製之溶液

九、鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液及標準溶液各3 μL，分別注入液相層析儀中，依第九節之條件進行分析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中乳酮糖之含量(g/100 g)：

$$\text{檢體中乳酮糖之含量(g/100 g)} = \frac{C \times V}{M \times X \times 10}$$

C：由標準曲線求得檢液中乳酮糖之濃度

(μg/mL)

V：檢體最後定容體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

十、方法確效

依據衛生福利部食品藥物管理署公布之「食品化學檢驗方法之確效規範⁽¹¹⁾」進行確效試驗，評估本研究檢驗方法之準確度(Accuracy)、精密度(Precision)及定量極限(Limit of quantitation, LOQ)。

(一)標準曲線

標準曲線部分至少包含5種不同濃度，線性回歸方程式之相關係數不應低於0.99。

(二)準確度及精密度試驗

於同日及不同日進行添加回收試驗，將適當濃度之乳酮糖標準溶液分別添加至市售特殊營養食品及益生菌粉空白檢體中，添加濃度為0.25及1.25 g/100 g，各濃度皆進行5重複試驗，依前述流程製成檢液，並計算其回收率及變異係數，以評估是否符合食品化學檢驗方法之確效規範要求。

(三)定量極限評估

將適當濃度之乳酮糖標準品溶液分別添加至市售特殊營養食品及益生菌粉空白檢體中，依前述流程製成檢液，並計算其回收率、重複性及波峰之訊號/雜訊比，以回收率、重複性符合規範及S/N比 ≥ 10之最低添加濃度為定量極限。

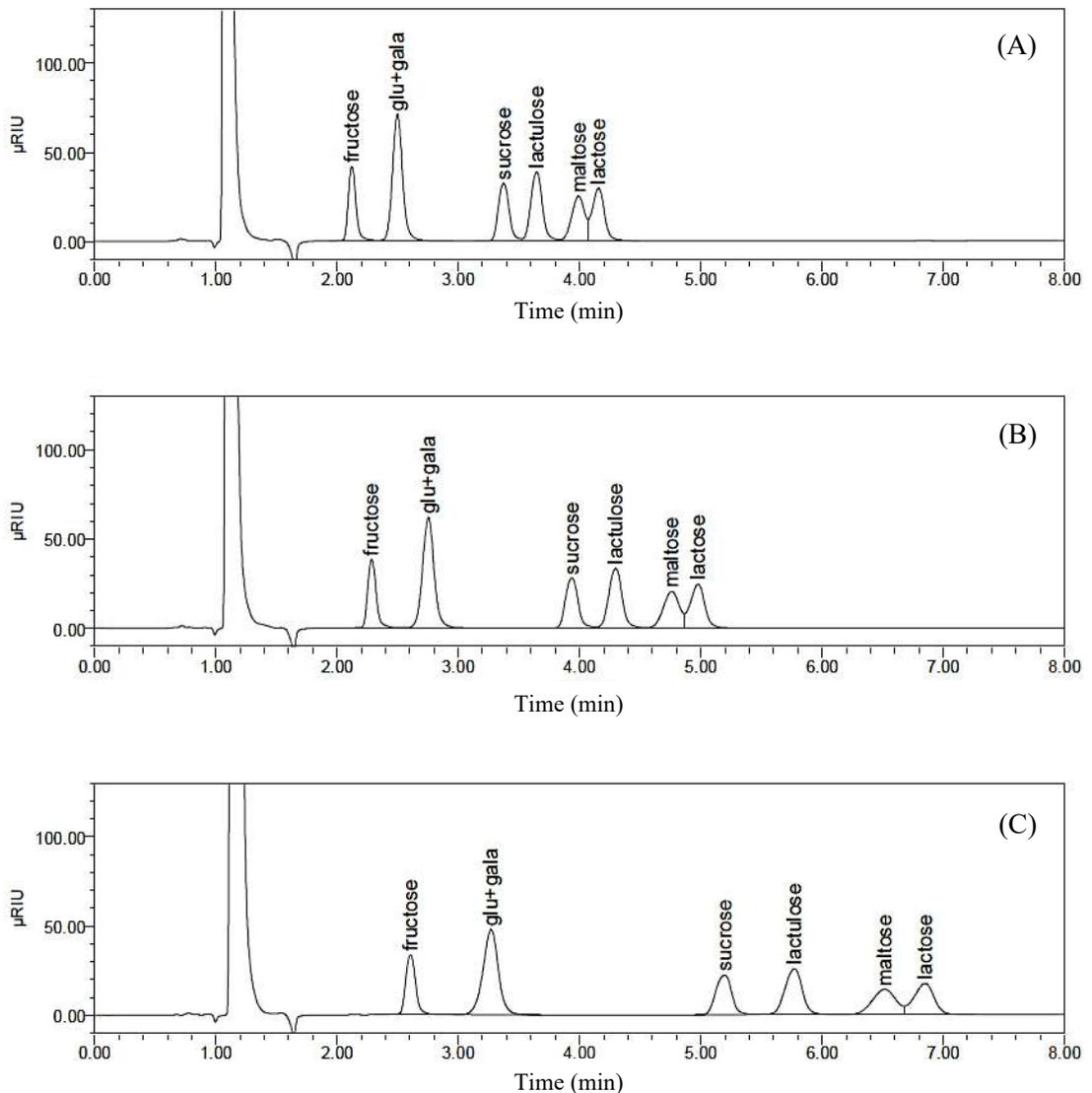
結果與討論

一、層析條件之建立

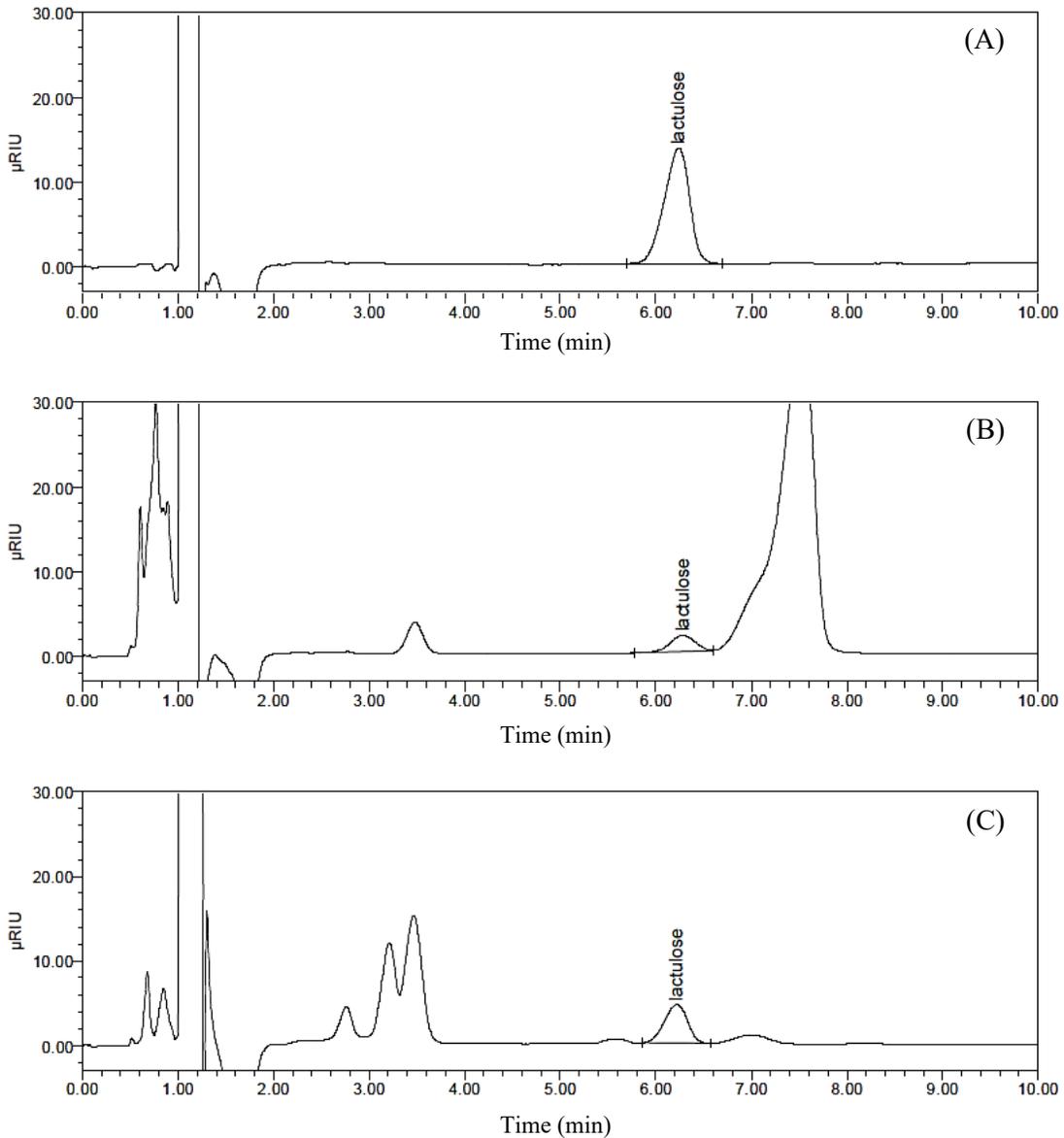
為避免干擾乳酮糖分析，先以「食品中糖類之檢驗方法⁽¹²⁾」評估單雙糖與乳酮糖標準品分離情形，結果顯示該層析條件無法有效分離乳糖及乳酮糖。後續參考文獻彙整表(表二)，以SUPELCOSIL™ LC-NH₂及LiChrospher 100 NH₂管柱搭配75及82%乙腈溶液移動相，於流

速1 mL/min、管柱溫度30°C下，以折射率檢出器，評估單雙糖與乳酮糖標準品分離情形，結果顯示不論更換管柱廠牌或調整移動相比例，麥芽糖、乳酮糖及乳糖三者間皆無法有良好峰形及分離效果。進一步參考Benvenuti等人⁽¹⁰⁾方法，使用Amide管柱，以含0.2%三乙胺(Trimethylamine, TEA)之75、77及80%乙腈溶

液，於流速0.25 mL/min、管柱溫度60°C下，評估單雙糖與乳酮糖標準品分離情形。結果如圖一所示，乙腈比例越高，分析時間越長，其中以80%乙腈溶液移動相分離單雙糖之效果較佳，此外，將管柱溫度調整至50°C，並以此條件分析市售包裝產品，圖二結果顯示，檢體中乳酮糖波峰不受基質干擾，與乳酮糖標準品對



圖一、不同移動相比例之單雙糖與乳酮糖標準品之UPLC圖譜(75%乙腈(A)、77%乙腈(B)及80%乙腈(C))



圖二、乳酮糖之UPLC圖譜(標準溶液(A)、市售包裝食品I (B)及市售包裝食品II (C))

照，波峰滯留時間約為6.2分鐘。

二、前處理條件評估

(一)萃取溫度

為避免溫度於萃取過程使檢體中乳糖轉換

成乳酮糖，本研究參考Chávez-Servín等人⁽¹⁾及Benvenuti等人⁽¹⁰⁾方法，評估25及60°C萃取環境下，市售特殊營養食品之乳酮糖含量，結果如表三，兩種萃取溫度下，檢體中乳酮糖含量(0.78 g/100 g)並無明顯差

別，此外，於檢體中添加1.25 g/100 g之乳酮糖，回收率分別為89.2及88.9%，符合食品化學檢驗方法確效規範，為使實驗操作更便利，後續萃取流程將於25°C進行。

(二) 萃取次數

依文獻探討乳酮糖之分析基質以乳製品為主^(1,6-10)，其乳酮糖為乳品中乳糖經熱加工轉換而來，含量較低。而保健食品為達功效訴求，會額外添加高量乳酮糖，為避免萃取不完全，本研究參考Chávez-Servín等人⁽¹⁾及Benvenuti等人⁽¹⁰⁾方法，取含乳酮糖之市售益生菌粉，同樣以50%乙醇溶液為萃取溶劑、超音波萃取時間為25分鐘、添加carrez I、II及乙腈沉澱試劑、取樣量由0.6 g提升為1 g，以減少含多種萃取物之檢體取樣不均狀況，比較萃取1次及萃取2次之差異，結果如表四，萃取1次及2次之萃取率，分別為95.2及100%，顯示萃取2次之步驟能較完整萃取出檢體中乳酮糖。

三、標準曲線之建立

乳酮糖濃度範圍在0.1 - 5 mg/mL間所繪製之標準曲線迴歸方程式為 $y = 126.01 x -$

3037.2，其 R^2 值為0.9999，顯示該濃度範圍內其線性關係良好。

四、準確度試驗

依準確度試驗所得特殊營養食品及益生菌粉之準確度結果，同日間乳酮糖於低濃度(0.25 g/100 g)之平均回收率分別為100及106%，於高濃度(1.25 g/100 g)之平均回收率分別為94及96%；異日間於低濃度之平均回收率分別為102及107%，於高濃度之平均回收率分別為92及95%，顯示方法準確度符合確效規範(表五)。

五、精密度試驗

依精密度試驗所得特殊營養食品及益生菌粉之精密度結果，同日間乳酮糖於低濃度(0.25 g/100 g)之變異係數分別為5.3及0.9%，於高濃度(1.25 g/100 g)之變異係數分別為2.5及1.1%；異日間於低濃度之變異係數分別為5.0及1.6%，於高濃度之變異係數分別為3.3及1.6%，顯示方法之精密度符合確效規範(表五)。

表三、不同萃取溫度對含乳酮糖之特殊營養食品檢體中乳酮糖之萃取效果

萃取溫度(°C)	檢體平均檢測值(g/100 g)	spike平均檢測值 ^a (g/100 g)	回收率(%)
25	0.78	1.89	89.2
60	0.78	1.88	88.9

^a檢體添加1.25 g/100 g乳酮糖，n=2

表四、不同萃取次數對檢體中乳酮糖之萃取效果

組別	萃取次數	加入50%乙醇溶液(mL)	加入carrez I、II (mL)	加入乙腈 (mL)	定容體積 (mL)	檢測值 ^a (g/100 g)	檢測總量 (g/100 g)	萃取率 (%)
(一)	萃取1次(原文獻方法)	10	0.25	5	25	10.18	10.69	95.2
	重複萃取1次	5	0.1	2	10	0.51		100.0
	重複萃取2次	2.5	0.05	1	5	-		-
(二)	萃取2次(修飾文獻方法)	8	0.125	2.5	25	11.02	11.02	100.0
	重複萃取1次	5	0.1	2	10	-		-

^a含乳酮糖之益生菌粉

表五、乳酮糖添加於特殊營養食品及益生菌粉保健食品基質之方法確效

基質	添加濃度 (g/100 g)	同日間(n=5)		異日間(n=10)		S/N
		平均回收率(%)	變異係數(%)	平均回收率(%)	變異係數(%)	
特殊營養食品	0.25	100	5.3	102	5.0	16.0
	1.25	94	2.5	92	3.3	-
益生菌粉	0.25	106	0.9	107	1.6	23.5
	1.25	96	1.1	95	1.6	-

表六、市售產品中乳酮糖含量檢測結果

編號	產品類型	標示值 (g/100 g)	檢測值 (g/100 g)	產品建議食用量	內容量 (g/包、袋)	換算每日建議 食用量(g) ^a
S1	幼兒成長奶粉	0.1	0.48	-	14 g/袋	-
S2	特殊營養食品	無標示	0.85	每日1-2袋	20 g/袋	0.17-0.34
S3	益生菌粉	無標示	10.2	每日1-2次每次1包	2 g/包	0.20-0.41
S4	益生菌粉	無標示	6.39	每日1-2包	3 g/包	0.19-0.38
S5	益生菌粉	無標示	9.02	每日2次每次1包	2 g/包	0.18-0.36

^a依據衛生福利部衛授食字第1061303630號公告，標示有每日食用限量之食品，每日食用量，其乳酮糖總含量不得高於10 g

六、定量極限評估

依定量極限評估試驗所得特殊營養食品及益生菌粉之定量極限結果，乳酮糖於定量極限(0.25 g/100 g)之平均回收率為100及106%，變異係數為5.3及0.9%，S/N比為16.0及23.5，皆符合確效規範S/N比 ≥ 10 之要求(表五)。

七、市售產品調查

本研究市售產品之選擇，係以產品原料成分標示含乳酮糖之產品為主，共計5件產品，包括1件特殊營養食品、1件幼兒成長奶粉及3件益生菌粉保健食品。結果如表六，5件檢體之乳酮糖含量介於0.48 - 10.2 g/100 g之間，其中1件幼兒成長奶粉檢體標有乳酮糖含量，其檢測值大於標示值之80%，與「包裝食品營養標示應遵行事項」⁽¹³⁾規定相符；另4件檢體之每日建議食用量均未超出「食品添加物使用範圍暨限量規格標準」訂定之每日食用限量10 g

之規定。

結 論

本研究建立之分析方法，確效結果符合食藥署「食品化學檢驗方法之確效規範」，適用於食品中乳酮糖之檢驗，可作為監測特殊營養食品及保健食品食用安全性及標示符合性之參考。

參考文獻

1. Chávez-Servín, J., Castellote, A. I. and López-Sabater, M. C. 2004. Analysis of mono- and disaccharides in milk-based formulae by high-performance liquid chromatography with refractive index detection. *J. Chromatogr. A* 1043: 211-215.
2. Aït-Aïssa, A. and Aider, M. 2014. Lactulose:

- production and use in functional food, medical and pharmaceutical application. Practical and critical review. *Int. J. Food Sci. Technol.* 49: 1245-1253.
3. 衛生福利部。2018。修正「食品添加物使用範圍及限量暨規格標準」第二條附表一及第三條附表二。107.01.09衛授食字第1061303630號公告修正。
 4. 張文懋。2005。以乳糖及其熱衍生物作為鮮乳受熱程度之指標。私立東海大學畜產與生物科技學系碩士論文，臺中市。
 5. Sun, D. W. 2012. *Thermal food processing new technologies and quality issues* (2nd ed.). CRC Press, USA.
 6. 經濟部標準檢驗局。2007。乳品檢驗法-乳糖之測定。中華民國國家標準(CNS)總號3446類號N6061。
 7. Pham, T. T. and Shah, N. P. 2008. Effects of lactulose supplementation on the growth of Bifidobacteria and Biotransformation of isoflavone glycosides to isoflavone aglycones in soymilk. *J. Agric. Food Chem.* 56: 4703-4709.
 8. Manzi, P. and Pizzoferrato, L. 2013. HPLC determination of lactulose in heat treated milk. *Food Bioproc. Tech* 6: 851-857.
 9. Oliveira Neves, L. N., Carvalho, R. G., Aguiar, J. A. K. and Silva, P. H. F. 2017. Alternative method for lactulose quantification in the presence of lactose in milk using HILIC with refractive index detection. *Anal. Methods* 9: 4567-4662.
 10. Benvenuti, M., Cleland, G. and Burgess, J. 2016. Profiling mono and disaccharides in milk and infant formula using the ACQUITY Arc system and ACQUITY QDa detector. *Waters Application Note*. 720005767EN.
 11. 食品藥物管理署。2013。食品化學檢驗方法之確效規範。[<http://www.fda.gov.tw/TC/siteList.aspx?sid=4115>]。
 12. 衛生福利部食品藥物管理署。2015。食品中糖類之檢驗方法。(TFDAO0022.01)。[<http://www.fda.gov.tw/TC/siteList.aspx?sid=1574&key=%e7%b3%96%e9%a1%9e>]。
 13. 衛生福利部。2018。包裝食品營養標示應遵循事項。107.03.31衛授食字第1071300530號公告。

Development of an Analytical Method for Lactulose in Foods

YING-JIE TSAI, PAI-WEN WU, NU-CHEIN LIN, YA-MIN KAO,
SU-HSIANG TSENG AND DE-YUAN WANG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

Lactulose, a disaccharide composed of β -1,4-linked galactose and fructose, is commonly used in special dietary food and functional foods. Its prebiotic property can stimulate bacteria growth in the gastrointestinal tract, such as *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus* spp., and thus improves the host health. There is a daily consumption limit of 10 g for lactulose in special dietary foods and products labeled with daily limit of lactulose, regulated by Ministry of Health and Welfare. In this study, we coordinated the implementation of administrative management to establish the analytical method for lactulose in foods. The sample was extracted with 50% ethanol in an ultrasonic bath and precipitated by Carrez reagent and acetonitrile. After filtering, the filtrate was analyzed by the ultra-high performance liquid chromatographic system with an ACQUITY BEH Amide (1.7 μ m, 2.1 \times 10 cm) column and refractive index detector at 0.25 mL/min isocratic elution with acetonitrile and water (80:20, v/v) solution containing 0.2% TEA. The method was validated by spiking lactulose at the levels of 0.25 and 1.25 g/100 g into infant formula and probiotics powder, respectively. The average recoveries of lactulose in intra-day were in the range of 94-100% and 96-106%, and their coefficients of variation were 2.5-5.3% and 0.9-1.1%, respectively. The average recoveries of lactulose in inter-day were in the range of 92-102% and 95-107%, and their coefficients of variation were 3.3-5.0% and 1.6%, respectively. All results showed that the method offered good precision and accuracy. The market survey results of five commercial products were as follows: The detected values of lactulose ranged between 0.48 and 10.2 g/100 g. One of 5 samples contained more than 80% of the labeled value of lactulose, but the labeling of daily recommended consumption value was missed. The recommended daily consumption values of lactulose in other 4 samples were found not exceed the daily consumption limit of lactulose set by the regulation.

Key words: lactulose, HPLC, refractive index detector, nutrient additives