

超声提取-离子色谱法检测市售常见 15 种蔬菜中 7 种单糖和双糖

于丽^{1*}, 王婷², 周健南¹, 钟钰¹

(1. 沈阳出入境检验检疫局, 沈阳 110016; 2. 沈阳药科大学医疗器械学院, 沈阳 110016)

摘要: **目的** 建立离子色谱-脉冲积分安培检测法(IC-PAD)测定蔬菜中的水溶性的半乳糖、葡萄糖、木糖、果糖、蔗糖、乳糖和麦芽糖方法。**方法** 采用水浸提超声提取及膜过滤法处理蔬菜样品, 以 DIONEX CarboPac PA10 阴离子交换柱为分析柱, 以 DIONEX CarboPac PA10 为保护柱, 以 NaOH 与 CH₃COONa 的组合溶液作为流动相, 采用梯度淋洗程序分离, 脉冲积分安培检测。**结果** 7 种糖的检出限分别为 3、4、3、6、6、4 和 3 μg/L, 且均具有较宽的线性范围(0.05~20 mg/L)。15 种蔬菜样品测定的相对标准偏差在 1.48%~6.41%之间, 7 种糖的加标回收率在 90%~97%之间。**结论** 本方法检测糖简便快捷、分离效果好、无需衍生、灵敏度高, 适用于蔬菜中的常见糖组分的分析。

关键词: 离子色谱法; 蔬菜; 单糖; 双糖

Ultrasonic extraction-ion chromatography detection of 7 kinds of monosaccharides and disaccharides in 15 kinds of common vegetables

YU Li^{1*}, WANG Ting², ZHOU Jian-Nan¹, ZHONG Yu¹

(1. Shenyang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenyang 110016, China; 2. Vocational and Technical School, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the detection of water-soluble galactose, glucose, xylose, glucose, sucrose, lactose, and maltose in vegetables by ion chromatography - pulse integral amp test (IC-PAD). **Methods** Water immersion ultrasonic extraction and membrane filtration method were used to treat vegetable samples, DIONEX CarboPac PA10 anion exchange column as the analysis of column, DIONEX CarboPac PA10 as protection column, with the combination of NaOH and CH₃COONa solution as mobile phase. Samples were separated by gradient elution program and detected by pulse integral ampere. **Results** Detection limits of 7 kinds of sugars were 3, 4, 3, 6, 6, 4, and 3 μg/L, and all of them had wide linear range (0.05~20 mg/L). The relative standard deviation of 15 kinds of vegetables was between 1.48% and 6.41%, and the recovery rates of 7 kinds of sugars were between 90% and 97%. **Conclusion** The established method is easy, effective, sensitive, and does not need to be derivative. It is suitable for the analysis of common sugars in vegetables.

KEY WORDS: ion chromatography; vegetables; monosaccharides; disaccharides

*通讯作者: 于丽, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: yl9862@sina.com

*Corresponding author: YU Li, Engineer, Shenyang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenyang 110016, China. E-mail: yl9862@sina.com

1 引言

糖按分子结构一般分为单糖、双糖及多糖, 它们的营养意义相同, 只是吸收有快有慢。单糖(如葡萄糖、果糖、半乳糖等)甜度高, 吸收速度最快, 食后立即进入血液, 在水果中含量丰富。双糖(如蔗糖、麦芽糖、乳糖)在进食后也较快进入血液, 单糖、双糖升血糖效果明显。目前, 糖含量的测定方法主要有分光光度法^[1]、气相色谱法^[2]、液相色谱法^[3]、离子色谱法^[4]。分光光度法检测的重现性与准确性较差; 气相色谱法测定糖需要衍生化, 回收率低, 操作繁琐; 液相色谱法检测糖类物质灵敏度较低, 难以满足实际需要; 离子色谱法测定糖, 不仅前处理简单, 而且采用高灵敏度和高选择性的脉冲安培检测器, 准确度高、重现性好^[5-11]。蔬菜中葡萄糖、果糖、蔗糖、乳糖、半乳糖、木糖和麦芽糖的测定, 目前相关报道较少, 采用 CarboPac PA10 分离柱、脉冲安培检测器四电位波形、NaOH 与 CH₃COONa 的组合溶液梯度淋洗, 可在 30 min 内同时分析上述 7 种糖, 并且蔬菜基体对糖的测定无干扰^[12-15]。该方法样品处理简单、准确度高, 可用于蔬菜中单糖和二糖的检验。

2 材料与方法

2.1 材料、仪器与试剂

材料: 市售 15 种常见蔬菜。

主要仪器与试剂: ICS-5000 型离子色谱仪(美国赛默飞世尔科技公司), 氢氧化钠(分析纯, 国药集团); 醋酸钠(分析纯, 国药集团); 7 种糖(半乳糖、葡萄糖、木糖、果糖、蔗糖、乳糖、麦芽糖)(国家标物中心)。

2.2 葡萄糖、果糖和蔗糖等 7 种糖标准溶液配制

分别称取半乳糖、葡萄糖、木糖、果糖、蔗糖、乳糖和麦芽糖标准物质 0.10 g(精确至 0.1 mg)于烧杯中, 用水溶解, 然后转移至 100 mL 容量瓶中, 并用水定容至刻度, 配制成 1000 mg/L 标准物质储备液。用移液管分别移取 1.0 mL 7 种糖标准储备液于 100 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 配制成 10 mg/L 标准混合储备液。用移液管分别移取 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mL 标准混合储备液于 25 mL 容量瓶中, 用水定容至刻度, 得到 7 种糖质量浓度为 0.2、0.4、0.8、2.0、4.0 mg/L 标准工作溶液。

2.3 样品预处理

称取 5.0 g 试样, 精确至 0.01 g, 置于 100 mL 容量瓶中, 加入 80 mL 水, 搅拌均匀, 超声提取 30 min, 冷却后用水稀释至刻度, 充分混匀。移取约 40 mL 溶液至离心管中, 以 10000 r/min 离心 5 min, 溶液经滤纸过滤, 再通过 0.22 μm 水性滤膜和 H 型前处理柱^[11], 用于离子色谱-脉冲安培检测器测定。

2.4 色谱条件

色谱柱: 分离柱 CarboPac PA10(4 mm×250 mm), 保护柱 PGI0(4 mm×50 mm); 淋洗液流速 0.8 mL/min; 柱温 30 °C; 进样方式自动进样, 进样量为 25 μL, 外标法定量。

色谱条件如表 1 和表 2 所示。

表 1 流动相条件
Table 1 The conditions of mobile phase

时间(min)	流速(mL/min)	OH ⁻ 浓度(mmol/L)	醋酸钠浓度(mol/L)	梯度曲线
0	0.8	25	0	线性
15	0.8	25	0	线性
30	0.8	50	0.05	线性
35	0.8	100	0	线性
40	0.8	25	0	线性
50	0.8	25	0	线性

表 2 糖标准四电位波形
Table 2 The waveform of sugars by standard four potential

时间/s	电位/V	积分	时间/s	电位/V	积分
0.00	+0.10		0.42	-2.00	
0.20	+0.10	开始	0.43	+0.60	
0.40	+0.10	结束	0.44	-0.10	
0.41	-2.00		0.50	-0.10	

注: Au 工作电极, Ag/AgCl 参比电极模式

3 结果与分析

影响检测结果的因素主要包括淋洗液及淋洗液浓度的选择、色谱柱温度和淋洗液流速的选择、标准曲线与最低检测限、重现性实验、加标回收率实验。

3.1 淋洗液及淋洗液浓度的选择

离子色谱法分析糖类时最常用的淋洗液是 NaOH, 本实验分别用 10、15、20、25、50、100 mmol/L

NaOH 溶液进行淋洗,发现当淋洗液浓度大于 50 mmol/L 时,7 种糖的色谱峰有重叠,分离度不好;当淋洗液浓度低于 20 mmol/L 时,对比发现随着 NaOH 浓度降低,各个色谱峰的保留时间也相应延长,最后根据高效且分离度达到实验要求的原则,选择了 25 mmol/L NaOH 溶液作为淋洗液。由于本实验选择低浓度的 NaOH 淋洗液,而脉冲安培检测器是在碱性条件下的电化学响应下实现的,所以每次进样前需要对色谱柱进行再生处理,否则检测的灵敏度会降低,重现性会变差。本实验采用高浓度 NaOH(100 mmol/L, 5 min)平衡柱子。

3.2 色谱柱温度和淋洗液流速的选择

25 mmol/L NaOH 溶液作为淋洗液,改变色谱柱温度,观察待测组分色谱峰的变化发现:当色谱柱温度大于 35 °C 时,糖的分离度变差;当色谱柱温度低于 25 °C 时,各色谱峰变宽。调节温度在 25~35 °C 之间,最后选用色谱柱温度为 30 °C。因为实验表明在此温度下各个色谱峰峰形较好,分离的效果也满足实验要求。调节流速分别为 1.0、0.8、0.5 mL/min,流速低时保留时间延长,流速高时分离度变差,因此,选用 0.8 mL/min 作为淋洗液流速。

3.3 标准曲线与最低检测限

以 7 种糖的色谱峰高对其质量浓度进行线性回归,并进一步稀释标准溶液,在信噪比为 3 时测定其最低检测限。线性关系回归方程、线性范围和检测限见表 3。

3.4 重现性实验

取 2 mg/L 的半乳糖、葡萄糖、木糖、果糖、蔗糖、乳糖和麦芽糖混合液适量,分别连续进样 10 次,得到这 7 种糖的峰高测定值的相对标准偏差(RSD)分别为 2.63%、1.48%、3.52%、4.18%、2.17%、3.66%、6.41%。

3.5 加标回收率实验

蔬菜的加标回收率实验:抽取 15 种蔬菜中的 2 种做加标实验,样品处理同 2.3。加标回收结果见表 4。

由表 4 可见,样品测定的回收率为 90%~97%,加标回收实验达到满意结果。

3.6 样品色谱图与测定结果

将处理好的样品溶液按照 2.4 色谱条件进行色谱分析,色谱图见图 1,测定结果见表 5。

表 3 线性范围、回归方程、相关系数、检出限

Table 3 Results of linear range, regression equation, correlation coefficient and detection limit

成分	线性范围(mg/L)	回归方程	相关系数 r	检出限($\mu\text{g/L}$)
半乳糖	0.05~20	$Y=4.062X+1.008$	0.9978	3
葡萄糖	0.05~20	$Y=4.188X+1.030$	0.9992	4
木糖	0.05~20	$Y=6.527X+0.572$	0.9994	3
果糖	0.05~20	$Y=2.888X+0.293$	0.9975	6
蔗糖	0.05~20	$Y=3.033X-0.651$	0.9989	6
乳糖	0.05~20	$Y=4.082X+1.691$	0.9982	4
麦芽糖	0.05~20	$Y=1.168X+0.365$	0.9964	3

表 4 回收率实验结果

Table 4 Results of recovery experiment

样品名称	糖类别	本底值 mg/kg	加入值 mg/kg	检测值 mg/kg	回收率%
香菇	半乳糖	0.37	1.0	1.29	92
	葡萄糖	2.29	2.0	4.15	93
	木糖	0.15	1.0	1.10	95
	果糖	0.33	1.0	1.29	96
	蔗糖	0.19	1.0	1.11	92
	乳糖	/	1.0	0.97	97
	麦芽糖	0.98	1.0	1.88	90

续表 4

样品名称	糖类别	本底值 mg/kg	加入值 mg/kg	检测值 mg/kg	回收率%
平菇	半乳糖	0.09	1.0	1.02	93
	葡萄糖	2.29	2.0	4.12	92
	木糖	0.09	1.0	1.03	94
	果糖	0.29	1.0	1.19	90
	蔗糖	0.10	1.0	1.04	94
	乳糖	/	1.0	0.95	95
	麦芽糖	0.79	1.0	1.70	91

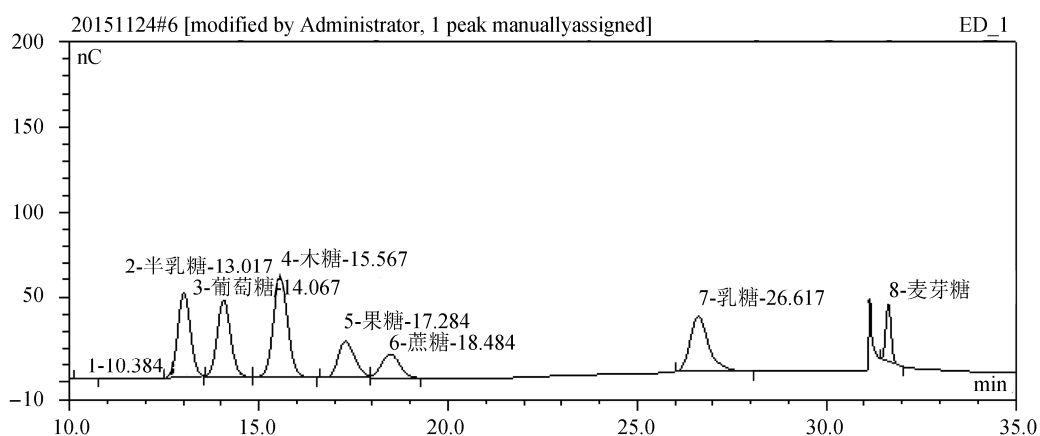


图 1 糖色谱图

Fig. 1 Chromatogram of sugars

表 5 蔬菜样品中 7 种糖含量

Table 5 Content of 7 kinds of sugars in vegetable samples

名称	半乳糖 mg/kg	葡萄糖 mg/kg	木糖 mg/kg	果糖 mg/kg	蔗糖 mg/kg	乳糖 mg/kg	麦芽糖 mg/kg
芹菜	0.30	1.85	/	1.78	/	/	/
生菜	0.15	0.87	/	1.22	/	/	/
香菇	0.37	2.29	0.15	0.33	0.19	/	0.98
平菇	0.09	2.99	0.09	0.29	0.10	/	0.79
土豆	0.09	2.24	/	2.20	1.05	/	0.16
芸豆	0.46	1.54	0.22	/	1.17	/	0.09
山药	0.26	5.78	/	6.01	0.37	/	0.12
西红柿	0.09	/	/	3.04	0.08	/	/
黄瓜	0.43	2.18	/	2.95	0.16	/	/
蒜薹	0.28	/	/	0.60	0.26	/	0.76
茄子	0.18	4.41	/	5.61	1.19	/	/
白菜	0.06	2.98	/	1.10	0.15	/	/
油麦菜	0.11	1.34	0.17	/	/	/	/
萝卜	0.12	4.30	/	1.38	0.33	/	0.22

由表5可见,蔬菜样品中这7种单双糖含量均较低(“/”表示低于检出限)。

4 结论

本实验建立离子色谱法检测蔬菜中的半乳糖、葡萄糖、木糖、果糖、蔗糖、乳糖和麦芽糖的方法。实验表明,该方法操作简单、快速,检测成本低、灵敏度高、准确性好。该方法实用性强,具有一定的应用价值。

参考文献

- [1] GB27602007 食品添加剂使用卫生标准[S]. GB27602007 Hygienic standards of using food to additive [S].
- [2] 周悦斌, 王伟, 周向荣. 苯酚-硫酸比色法测定毛竹叶多糖的研究[J]. 现代食品技, 2008, 24(2): 180-183.
Zhou YB, Wang W, Zhou XR. A phenol sulfuric acid colorimetric method was developed for the determination of bamboo leaf polysaccharide research [J]. Modern Food Technol, 2008, 24 (2): 180-183.
- [3] 张威, 何红波, 张明. 糖腈乙酰酯衍生气相色谱法测定土壤水解性单糖[J]. 土壤通报, 2003, 33(4): 913-916.
Zhang W, He HB, Zhang M. Sugar nitrile acetyl ester derivative gas chromatography determination of monosaccharides hydrolyzed sex soil [J]. J Soil Bull, 2008, 33 (4): 913-916.
- [4] 吴黎明, 薛晓锋, 周晓. 蜂花粉中糖的高效液相色谱分析[J]. 分析检测, 2008, 29(6): 335-338.
Wu LM, Xue XF, Zhou X. High performance liquid chromatography (HPLC) analysis of bee pollen in sugar [J]. Anal Test, 2008, 29 (6): 335-338.
- [5] 付晓伶, 周荣耀, 潘广文. 离子色谱法测定大肠癌患者尿液中的甘露醇和乳糖[J]. 分析化学, 2012, 40(4): 608-611.
Fu XL, Zhou RY, Pan GW. Ion chromatography to determine the urine of patients with colorectal cancer mannitol and lactulose [J]. Anal Chem, 2012, 40 (4): 608-611.
- [6] 余娜, 周光明, 朱娟. 离子色谱法检测蜂蜜和葡萄酒中的蔗糖、葡萄糖和果糖[J]. 食品科学, 2010, 31(16): 188-191.
Yu N, Zhou GM, Zhu J. Ion chromatography detection of sucrose, glucose and fructose in honey and wine [J]. Food Sci, 2010, 31 (16): 188-191.
- [7] 邹晓莉, 江水, 郑波. 高效阴离子色谱法分离测定蜂蜜和保健食品多糖水解产物中的单糖组成[J]. 四川大学学报: 医学版, 2008, 39(5): 836-838.
Zou XL, Jiang S, Zheng B. Efficient anion chromatography separation determination of monosaccharides in polysaccharide hydrolysate honey and health food composition [J]. J Sichuan Univ: Med Sci, 2008, 33 (5) 6: 836-838.
- [8] 胡才龙, 李丹, 李晓磊. 高效阴离子交换色谱测定蜂蜜中葡萄糖和果糖的研究[J]. 长春大学学报, 2011, 21(10): 56-59.
Hu CL, Li D, Li XL. High anion exchange chromatography was developed for the determination of glucose and fructose in honey research [J]. J Changchun Univ, 2011, 21 (1): 56-59.
- [9] 张磊, 周光明, 熊建飞. 离子色谱法检测水果、饮品中的蔗糖、葡萄糖和果糖[J]. 食品科学, 2012, 33(8): 159-162.
Zhang L, Zhou GM, Xiong JF. Ion chromatography to detect fruits, drinks the sucrose, glucose and fructose [J]. Food Sci, 2012 (8): 159-162.
- [10] 熊建飞, 周光明, 何强. 离子色谱法测定玄参中的单糖和低聚寡糖[J]. 食品工业科技, 2012, 33(7): 340-343.
Xiong JF, Zhou GM, He Q. Ion chromatography for determination of monosaccharides in radix scrophulariae and low poly oligosaccharide [J]. Food Ind Sci Technol, 2012 (7): 340-343.
- [11] 赵丹霞, 王力清, 黄秋研. 离子色谱-脉冲安培法测定婴幼儿配方乳粉中葡萄糖等质量浓度[J]. 中国乳品工业, 2014, (11): 44-46.
Zhao DX, Wang LJ, Huang QY. Ion chromatography with pulsed ampere method determination of glucose in infant formula powder mass concentration [J]. J Chin Dairy Ind, 2014, (11): 44-46.
- [12] 李明芳. 离子色谱-脉冲安培检测器分析饮料中单糖和二糖[J]. 光谱实验室, 2010, 27(2): 441-445.
Li MF. Ion chromatography with pulsed ampere detector analysis of monosaccharide and disaccharide [J]. Spectrogr Lab, 2010, 27(2): 441-445.
- [13] 马甲民, 崔鹤. 离子色谱法-积分安培检测器测定葡萄酒中的天然糖[J]. 食品科学, 2015, 36(12): 139-142.
Ma JM, Cui H. Ion chromatography-integral ampere detector for determination of natural sugars in wine [J]. Food Sci, 2015, 36 (12): 139-142.
- [14] 杨晓敏. 离子色谱脉冲安培法测定乳制品中5种单双糖[J]. 广州化工, 2015, (17):12-15.
Yang XM. Ion chromatographic pulse ampere method determination of five kinds of single and double sugar in dairy products [J]. Guangzhou Chem Industry, 2015, (17): 12-15.
- [15] 于娟, 王桂华. 离子色谱-脉冲安培法测定口香糖中单双糖[J]. 食品与发酵科技, 2010, 46(5): 46-49.

Yu J, Wang GH. Ion chromatography with pulsed ampere method determination of single and double sugar [J]. Food Ferment Technol, 2010, 46 (5): 46-49.

(责任编辑: 金延秋)

作者简介



于 丽, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: y19862@sina.com

“食品快速检测技术及智能装备”专题征稿函

近年来, 随着经济和科学技术的高速发展, 食品安全问题也越来越突出, 受到了世界各国的广泛关注。原有的食品检测技术已不能满足目前经济市场和科学研究的需求。新的检测技术与智能装备已经成为一种需求, 如何快速、高效、方便和快捷地检测食品已成为目前食品安全检测领域的研究热点并且具有重要的意义。

鉴于此, 本刊特别策划了“食品快速检测技术及智能装备”专题, 由江苏大学黄星奕教授担任专题主编, 围绕化学比色分析、酶联免疫法(ELISA)、免疫胶体金试纸检测、计算机视觉技术、生物芯片、生物传感器、便携式色谱质谱联用仪、生物化学发光检测仪等食品安全快速检测技术及智能装备或您认为本领域有意义的问题进行论述, 计划在 2016 年 4 月份出版。

鉴于您在此方面的杰出成就, 黄星奕教授与本刊主编吴永宁研究员特邀请您撰稿, 展示您的研究成果与学术发现, 以期为食品安全快速检测领域的推广应用、科研发展提供理论和实践指导。请您请在 2016 年 3 月 30 日前通过网站或 Email 投稿。我们将快速处理并优先发表。

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

Email: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部