

保健食品中低聚木糖含量测定

叶少文*

(汤臣倍健股份有限公司, 珠海 519040)

摘要: **目的** 建立一种含有多糖纤维和低聚木糖的保健食品中低聚木糖含量测定的方法。**方法** 用无水乙醇沉淀多糖纤维, 将多糖纤维从试样中分离, 用 12%稀硫酸溶液将试样中的低聚木糖酸解为木糖, 10%氢氧化钠溶液调 pH 至中性, 选择适合的糖柱, 以木糖为标样, 外标法计算低聚木糖的含量(以木糖通过转换系数计)。**结果** 酸解后试样中木糖浓度在 0.0378~0.4536 mg/mL 的范围内与峰面积的线性关系良好, 相关系数 $r > 0.999$ 。在 3 水平不同浓度木糖标准品添加下, 木糖的回收率为 97.9%。**结论** 该方法操作简便、重现性好, 适用于添加了多糖纤维和低聚木糖的保健食品中低聚木糖的含量测定。

关键词: 低聚木糖; 多糖纤维; 方法优化; 糖柱

Determination of the content of low poly xylose in health food

YE Shao-Wen*

(By-Health Co., Ltd., Zhuhai 519040, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of the content of low poly xylose in health food which containing polysaccharide fiber and low poly xylose. **Methods** Polysaccharide fiber was separated from the sample using anhydrous ethanol subsiding. The low poly xylose was decomposed to xylose by 12% dilute sulphuric acid solution, and the pH was adjusted to neutral using 10% sodium hydroxide solution. Choosing suitable sugar column, the low poly xylose content was calculated by the external standard method with xylose as the standard (through conversion coefficient calculation). **Results** Xylose concentration of the sample with the peak area had a good linear relationship in the range of 0.0378~0.4536 mg/mL ($r=0.999$). The xylose recovery was 97.9% of three different levels. **Conclusion** The method is simple, reproducible and suitable for the determination of low poly xylose content which added polysaccharide fiber and low poly xylose in health food.

KEY WORDS: low poly xylose; polysaccharide fiber; optimization of method; sugar column

1 引言

低聚木糖主要以富含半纤维的玉米芯、稻谷、棉籽壳等为原料, 经过一系列工艺步骤处理制得^[1]。其主要成分是由 2~7 个木糖分子以 β -1,4 糖苷键连接而成的低聚混合糖^[2]。低聚木糖是超强双歧因子, 其在人体肠胃内并不被吸收, 但可促进人和动物肠道有益菌的生长, 抑制有害细菌的生长, 是一种具有保健功能的食品原料^[3]。

目前, 有关低聚木糖含量的检测标准有 GB/T 23747-2009 和 QB/T 2984-2008, 两份标准均适用于低聚木糖原料的检测。但对于添加了多糖纤维的保健食品, 用上述方法检测其低聚木糖的含量往往会因为保健食品中添加了多糖纤维而造成干扰, 导致低聚木糖检测结果不准确^[4-6]。本研究在 GB/T 23747-2009 和 QB/T 2984-2008 的基础上进行方法优化, 旨在制定一种含有多糖纤维和低聚木糖的保健食品中低聚木糖的测定方法

*通讯作者: 叶少文, 执业药师, 主要研究方向为保健食品的质量检测。E-mail: 442884571@qq.com

*Corresponding author: YE Shao-Wen, Herbalists, By-Health Co., Ltd., Zhuhai 519040, China. E-mail: 442884571@qq.com

2 材料与方法

2.1 试剂和仪器

木糖标准品(纯度: 100%, 来源: 中检所); 一级用水; 浓硫酸、氢氧化钠、无水乙醇(分析纯, 广州化学试剂厂); 清畅粉(汤臣倍健股份有限公司)。

高效液相色谱仪(e2695, 带折射光示差检测器, 美国 Waters 公司)。

2.2 色谱条件

色谱柱: 菲罗门 Rezex RCM-Monosaccharide Ca^{2+} (300 mm \times 7.8 mm)或同等性能的 Ca^{2+} 型糖柱^[7], 柱温: 65 °C, 检测器温度: 65 °C, 流动相: 一级用水。流速: 0.4 mL/min, 进样量: 40 μL , 运行时间: 50 min/针。

2.3 标准品溶液的配制

称取木糖对照品 50 mg, 加纯化水超声溶解后用纯化水定容至 10 mL 容量瓶中, 配成浓度为 5.0 mg/mL 的标准储备液, 于 4 °C 避光保存^[8]。

分别取标准储备液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.8 mL 至 10 mL 容量瓶中, 稀释成浓度为 0.05、0.10、0.15、0.20、0.40 mg/mL 的标准供试液, 浓度由低到高分别进样测试并绘制出工作曲线。

2.4 供试品溶液的配制

精密称取样品 300 mg(约相当于 0.08 mg/mL 标准品浓度的量)于 50 mL 容量瓶中, 加适量无水乙醇超声(40 kHz)15 min, 用无水乙醇定容至刻度, 摇匀, 转移至 50 mL 离心管中 8000 r/min 离心 5 min, 取上清液 10 mL 于圆底烧瓶中, (70 \pm 5) °C 减压蒸干, 最后加水 10 mL 溶解, 为供试液 A, 过 0.45 μm 滤膜, 上机测定。

精密量取 5 mL 供试液 A 于 50 mL 比色管中, 加入 1.0 mL 12% 的硫酸溶液, 塞盖, 轻轻摇匀, 置电热鼓风烘箱 110 °C 加热 90 min, 取出冷却, 用 10% 氢氧化钠溶液调节 pH 至中性(pH 试纸测定), 用纯化水定容至 50 mL 刻度, 摇匀, 过 0.45 μm 滤膜, 得样品供试液 B, 上机测定^[4]。

2.5 线性实验

将木糖标准溶液, 经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 进行高效液相色谱分析, 记录色谱图, 以标准品浓度为(X)横坐标, 标准品的峰面积(Y)为纵坐标, 绘制标准曲线, 求得回归方程^[9]。

2.6 精密性实验

精密称取样品 12 份, 按 2.4 供试品制备方法处理样品, 检测样品含量, 计算其相对标准偏差 RSD(%)^[10]。

2.7 加标回收实验

加标样品的处理: 精密称取 300 mg 的样品 9 份, 分成 3 组, 每组 3 份样品, 置于 50 mL 容量瓶中, 加适量无水乙

醇超声(超声功率: 40 KHz)15 min, 用无水乙醇定容至刻度, 摇匀, 转移至 50 mL 离心管中 8000 r/min 离心 5 min, 取上清液 10 mL 于圆底烧瓶中, (70 \pm 5) °C 减压蒸干, 最后加水 10 mL 溶解^[11]。精密量取 5.0 mL 至 50 mL 比色管中, 于每一组样品中分别精密加入相当于木糖 1.2532、1.8798、2.5064 mg 的标准贮备液, 加入 1.0 mL 的 12% 硫酸溶液, 塞盖, 轻轻摇匀, 置电热鼓风烘箱 110 °C 加热 90 min, 取出冷却, 用 10% 氢氧化钠溶液调节 pH 至中性(pH 试纸测定, pH 为中性时加入 10% 氢氧化钠溶液的量约 0.9 mL), 用纯化水定容至 50 mL 刻度, 摇匀过 0.45 μm 滤膜, 得样品加标液, 待测^[12-14]。

3 结果与分析

3.1 标准曲线方程

木糖的标准曲线方程为 $Y=200000X-0.007$, 其相关系数为 0.999, 表明木糖浓度在 0.0378~0.4536 mg/mL 范围内均具有良好的线性。

3.2 检出限

将木糖浓度为 LOD=0.0003 mg/mL 的对照溶液进样, 通过工作软件计算得 $S/N=3$ 。按实际样品的处理过程计算, 木糖的方法检出限为 0.05%。

3.3 精密度实验

12 个样品中低聚木糖平均含量为 7.27%, 相对标准偏差(RSD)小于 1.3%, 表明该方法有良好的精密度。

3.4 回收率实验

木糖标准溶液在 3 个不同添加水平下的回收率结果见表 1, 样品的平均回收率为 97.9%, 相对标准偏差(RSD)小于 1.3%, 表明该方法准确。

3.5 实际样品的测定

在 2.2 条件下, 与木糖标准品色谱峰(图 1)相对应的位置上, 可以分离出试样中的木糖(图 2), 分离效果良好, 同时也不会受杂质峰的影响。

4 讨论

目前, 只有 GB/T 23747-2009 和 QB/T 2984-2008 对低聚木糖原料中低聚木糖的检测方法进行了标准化规定, 而添加了多糖纤维和低聚木糖的保健食品中, 由于受到多糖纤维(本试验的多糖纤维为圆苞车前子壳粉)的干扰, 上述标准并不适用于保健食品中低聚木糖的测定。本文在 GB/T 23747-2009 的基础上进行方法优化, 在前处理当中, 用无水乙醇沉淀多糖纤维, 用 12% 稀硫酸溶液对试样进行酸解, 使低聚木糖酸解成单糖, 用 10% 氢氧化钠溶液调节 pH 至中性, 选择钙型糖柱分离体系, 分离试样中的木糖并对其进行含量测定, 通过转换系数计算出低聚木糖的含量^[15]。

表 1 加标回收率实验结果 ($n=9$)
Table 1 Standard addition recovery experiment results ($n=9$)

名称	理论加标量(mg)	实际测得标准品量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
木糖	1.2532	1.2470	99.505	97.9	1.4
	1.2532	1.2119	96.704		
	1.2532	1.2248	97.733		
	1.8798	1.8463	98.217		
	1.8798	1.8722	99.595		
	1.8798	1.8601	98.952		
	2.5064	2.4084	96.090		
	2.5064	2.4624	98.244		
	2.5064	2.4080	96.074		

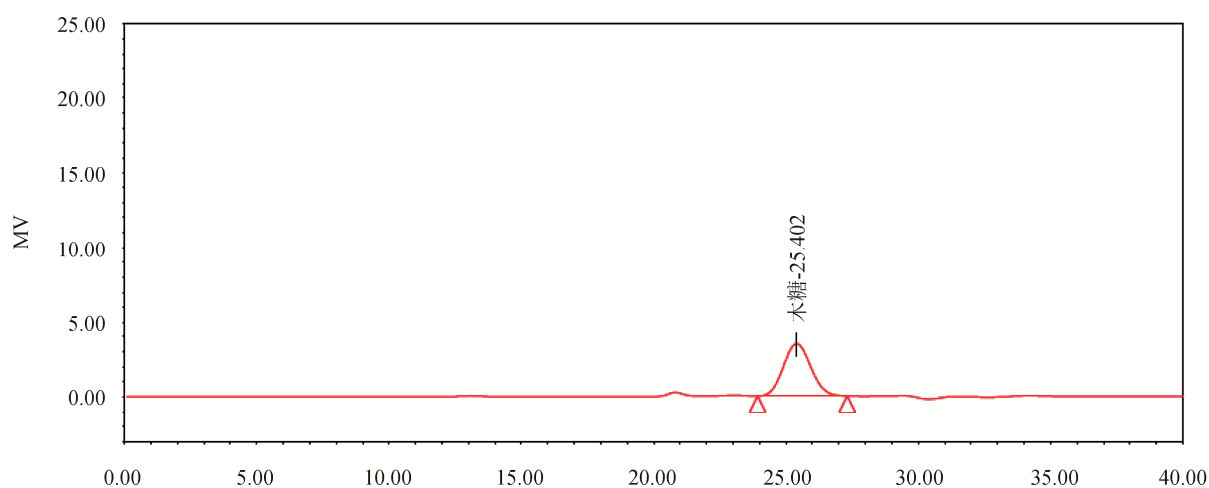


图 1 木糖对照色谱图

Fig. 1 Chromatogram of xylose standard

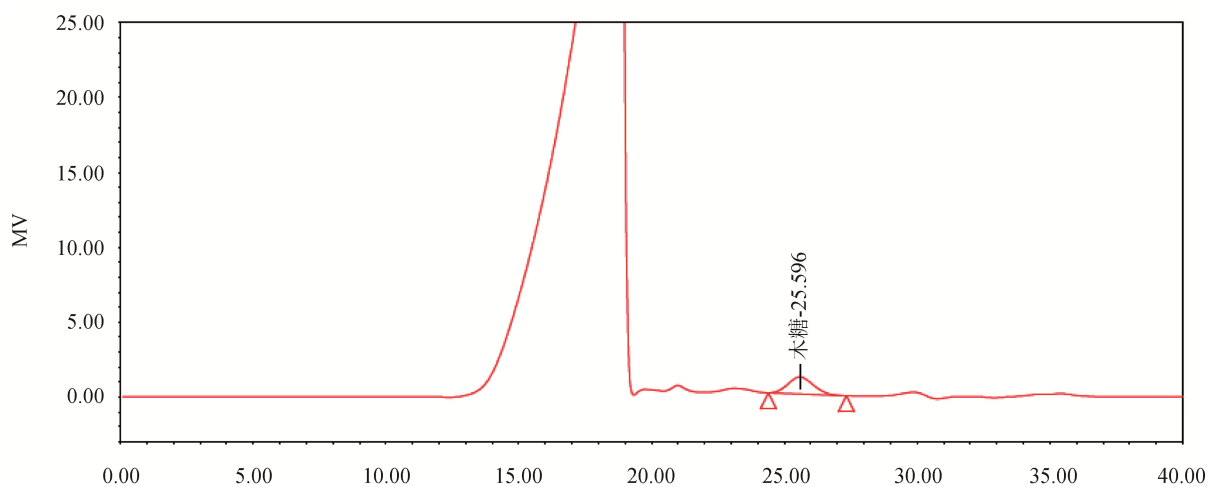


图 2 酸解后试样色谱图

Fig. 2 Chromatogram of sample

测定结果表明该方法特别适用于同时添加多糖纤维和低聚木糖的保健食品中低聚木糖的测定,保证了方法的准确性。

参考文献

- [1] 何国亮, 肖林. 低聚木糖的含量测定及方法比较[J]. 山东食品发酵, 2007, 31(4): 44-45.
He GL, Xiao L. Determination of low poly xylose content and comparison of methods [J]. Shandong Food Ferment, 2007, 31(4): 44-45.
- [2] 肖林, 李玉梅, 赵磊. 硫酸水解法测定果胶中低聚木糖含量及方法学验证[J]. 中国食品添加剂, 2008, 12(1): 13-15.
Xiao L, Li YM, Zhao L. Determination of pectin in low poly xylose by sulphuric acid hydrolysis method and methodology validation [J]. Chin Food Addit, 2008, 12(1): 13-15.
- [3] 何国亮, 肖林, 李吉平, 等. 硫酸水解-高效液相色谱法间接测定蜂蜜中低聚木糖 [J]. 粮油食品科技, 2008, 11(2): 34-35.
He GL, Xiao L, Li JP, *et al.* Indirect determination of honey low poly xylose by sulfuric acid hydrolysis-HPLC [J]. Grain Oil Food Sci Technol, 2008, 11(2): 34-35.
- [4] 凌沛学, 朱希强, 苏移山, 等. 低聚木糖功能与应用研究进展[J]. 食品与药品, 2007, 10(9): 88-89.
Ling PX, Zhu XQ, Su YS, *et al.* Research progress on the function and application of low poly xylose [J]. Food Med, 2007, 10(9): 88-89.
- [5] 石波, 李里特. 低聚木糖的制备与分离[J]. 食品工业科技, 2004, 04(7): 25-27.
Shi B, Li LT. Preparation and separation of oligomeric xylose [J]. Food Ind Sci Technol, 2004, 04(7): 25-27.
- [6] 牟世芬, 于泓, 蔡亚岐. 糖的高效阴离子交换色谱-脉冲安培检测法分析[J]. 色谱, 2009, 10(5): 47-48.
Mou SF, Yu H, Cai YZ. Sugar efficient anion exchange chromatography with pulsed amp test analysis [J]. Chin J Chromatogr, 2009, 10(5): 47-48.
- [7] 赵征, 周曙明, 李东, 等. 四种功能性低聚糖的性质及 HPLC 检测[J]. 中国食品添加剂, 2000, 02(1): 74-75.
Zhao Z, Zhou SM, Li D, *et al.* The nature of the four functional oligosaccharides and detection by HPLC [J]. Chin Food Addit, 2000, 02(1): 74-75.
- [8] 王光亚, 叶晓敏, 沈治平. 应用高效液相色谱测定食物中的糖类[J]. 营养学报, 1981, 05(4): 19-21.
Wang GY, Ye XM, Shen ZP. Determination of sugars in food by high performance liquid chromatography [J]. J Nutr, 1981, 05(4): 19-21.
- [9] 柳学松, 黄金岩. 硫酸水解 HPLC 法测定口服液中低聚木糖的含量[J]. 医药产业资讯, 2006, 10(17): 67-68.
Liu XS, Huang JY. Sulphuric acid hydrolysis of HPLC method for determining the content of oral liquid in low poly xylose [J]. Pharmaceut Ind Inf, 2006, 10(17): 67-68.
- [10] 欧云付, 尹平河, 赵玲. 半叶马尾藻粗糖中单糖的离子色谱法分析[J]. 色谱, 2006, 12(4): 89-91.
Ou YF, Yin PH, Zhao L. Analysis of monosaccharides in half leaf sargasso raw sugar by ion chromatography [J]. Chin J Chromatogr, 2006, 12(4): 89-91.
- [11] 李国强, 尹平河, 赵玲, 等. 离子色谱-积分脉冲安培检测法测定大蒜多糖的单糖组成[J]. 分析测试学报, 2007, 06(3): 101-103.
Li GQ, Yin PH, Zhao L, *et al.* Ion chromatography - integral pulse amp test determine the monosaccharide composition of garlic polysaccharide [J]. J Instrum Anal, 2007, 06(3): 101-103.
- [12] 北易. 玉米芯制作低聚木糖[J]. 农产品加工, 2006, 10(8): 75-77.
Bei Y. Production of low poly xylose from corn cob [J]. J Agric Prod Proc, 2006, 10(8): 75-77.
- [13] 苏小冰, 翁明辉. 超强益生元——低聚木糖[J]. 广州食品工业科技, 2003, 04(S1): 62-63.
Su XB, Weng MH. Super oligo-low poly xylose [J]. J Guangzhou Food Ind Sci Technol, 2003, 04(S1): 62-63.
- [14] 陈牧, 连之娜, 徐勇, 等. 硫酸水解-高效液相色谱法定量测定低聚木糖[J]. 生物质化工程, 2010, 09(6): 51-53.
Chen M, Lian ZN, Xu Y, *et al.* Quantitative determination of oligomeric xylose by sulfuric acid hydrolysis-high performance liquid chromatography [J]. Raw Mater Eng, 2010, 09(6): 51-53.
- [15] 吕银德, 赵俊芳. 功能性低聚木糖的研究进展[J]. 农产品加工(学刊), 2011, 11(6): 41-43.
Lv YD, Zhao JF. Research progress of functional polymers and xylose [J]. J Agric Prod Proc, 2011, 11(6): 41-43.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



叶少文, 执业药师, 主要研究方向为保健食品的质量检测。

E-mail: 442884571@qq.com