

# 离子色谱-脉冲安培检测法测定食品中的聚葡萄糖

张雪松, 王国栋, 王竹\*

(中国疾病预防控制中心营养与健康所, 北京 100050)

**摘要:** **目的** 建立食品中添加的聚葡萄糖(polydextrose, PDX)的离子色谱-脉冲安培检测方法。**方法** 采用热水浸提聚葡萄糖, 超滤离心去除高分子量的干扰物, 滤液经酶解去除其他低聚糖的干扰, 采用 Hamilton RCX-30-250/4.6 色谱分离柱; 以含有 A: 150 mmol/L 氢氧化钠和 B: 150 mmol/L 氢氧化钠+500 mmol/L 乙酸钠的淋洗液进行梯度淋洗, 采用三电位波形, 以同源标准物质建立标准曲线, 流速 1.2 ml/min, 柱温 32 °C。**结果** 本方法在 30~200 µg/g 范围内, 线性良好,  $r^2=0.9993$ 。在检测固体样品时检出限为 1.6699 mg/kg, 在检测液体样品时检出限为 0.9555 mg/kg, 重复性测量相对标准偏差小于 4.88%( $n=6$ ), 不同食品基质聚葡萄糖的平均加标回收率为 95.06%~110.11%。**结论** 该方法灵敏度高, 准确性好, 结果稳定, 适用于不同食品中添加的聚葡萄糖的测定。

**关键词:** 离子色谱; 聚葡萄糖; 脉冲安培

## Determination of polydextrose in foods by ion chromatography with pulsed amperometric detection

ZHANG Xue-Song, WANG Guo-Dong, WANG Zhu\*

(National Institute for Nutrition and Health, Chinese Center for Disease and Prevention, Beijing 100050, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the determination of polydextrose (PDX) added in foods by ion chromatography with pulsed amperometric detection. **Methods** The sample was extracted by hot water, the high molecular weight interferent was removed by ultrafiltration centrifugation, and the other oligosaccharides was removed by enzymatic hydrolysis. Hamilton RCX-30-250/4.6 column was used for separation. The mobile phase was with A: 150 mmol/L sodium hydroxide and B: 150 mmol/L sodium hydroxide+500 mmol/L sodium acetate eluent by gradient elution, three potential waveforms were used to establish the standard curve with homologous reference materials, flow rate was 1.2 mL/min, and column temperature was 32 °C. **Results** The PDX had a good linearity in the concentration range of 30-200 µg/g ( $r^2=0.9993$ ). The limit of detection in solid sample was 1.6699 mg/kg, and in liquid sample was 0.9555 mg/kg. The recoveries were ranged from 95.06% to 110.11% for the PDX in different foods. The relative standard deviations (RSDs) were less than 4.88% ( $n=6$ ). **Conclusion** This method is sensitive, accurate, stable, which is suitable for the determination of polyglucose in different foods.

**KEY WORDS:** ion chromatography; polydextrose; pulsed amperometric

基金项目: 国家卫生健康委员会食物成分监测项目、中国疾病预防控制中心青年科研基金项目(2016A203)

Fund: Supported by National Food Nutrition Surveillance, National Health Commission of the People's Republic of China, and Youth Research Fund of Chinese Center for Disease Control and Prevention Study on Intestinal Microbial Composition and Glycemic Index (2016A203)

\*通讯作者: 王竹, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为营养与食品卫生。E-mail: wzhblue@163.com.

\*Corresponding author: WANG Zhu, Professor, National Institute for Nutrition and Health, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China. E-mail: wzhblue@163.com.

## 1 引言

聚葡萄糖是由葡萄糖、山梨糖醇、柠檬酸或磷酸按一定比例混合, 在高温下加热聚合并精制的物质, 聚合度平均为 12<sup>[1]</sup>; 因不被人体小肠消化, 2004 年国际食品法典委员会在新通过的膳食纤维定义中, 将聚葡萄糖正式列为膳食纤维范畴<sup>[2]</sup>。聚葡萄糖具有缓解便秘、增加粪便量、促进益生菌生长<sup>[3]</sup>、降低甘油三酯和胆固醇<sup>[4]</sup>、控制体重和减肥<sup>[5]</sup>、促进钙吸收<sup>[6]</sup>等生理作用。此外聚葡萄糖加入食品中, 还具有改善口感、保持水分、抗冷凝等作用<sup>[7,8]</sup>, 而且因其能够大规模工业化生产, 价格较低, 不会提高食品生产企业成本<sup>[9]</sup>, 因此聚葡萄糖已广泛用于乳品、焙烤食品、肉灌肠类、饮料类、糖果类、冰激凌类等食品的生产中。

我国于 1996 年将聚葡萄糖作为添加剂管理, 并在 GB 2760-2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》<sup>[10]</sup>中规定了聚葡萄糖可作为功能增稠剂、膨松剂、水分保持剂、稳定剂的使用范围和剂量; 2010 年整理颁布了 GB 25541-2010《食品安全国家标准 食品添加剂 聚葡萄糖》<sup>[11]</sup>, 规定了聚葡萄糖的性状、理化指标等内容; 2012 年原卫生部批准聚葡萄糖可添加至婴幼儿配方食品中(原卫生部公告 2012 年第 1 号)。

随着聚葡萄糖在食品中的广泛应用, 聚葡萄糖的检测技术也逐步发展, Noffsinger 等<sup>[12]</sup>采用高效液相色谱法对食品中聚葡萄糖的含量测定进行了研究, 而 Craig 等<sup>[13]</sup>采用离子色谱法也做了更加深入的研究。目前国内外普遍采用 AOAC 2000 11<sup>[14]</sup>、刘玉峰等<sup>[15,16]</sup>也对该方法进行了研究。但因为市场聚葡萄糖种类较多, 目前的检测方法使用的检测条件和标准品单一, 测定结果与实际添加量存在差异。本研究建立了一套新的色谱条件对食品中的聚葡萄糖进行检测, 以期对食品中聚葡萄糖的实际测定提供参考。

## 2 材料与amp;方法

### 2.1 仪器与试剂

850 Professional 离子色谱仪(配有真空在线脱气机、柱温箱、超微填充嵌体抑制器、二氧化碳抑制器和电化学检测器)、863 Compact 自动样品处理器、MagIC Net 3.0 工作站(瑞士万通公司); Milli-Q 超纯水器(美国 Millipore 公司); XMTD-6000 水浴锅(温控范围 50 °C-100 °C, 长风公司); IKA-WERKE RT 10 磁力搅拌器(德国 Ika 公司); Centrifuge 5481 高速离心机(德国 eppendorf 公司)。

Amicon ultra 超滤离心管(100 kDa)、微孔过滤器(0.22 μm, 美国 Millipore 公司); Hamilton RCX-30-250/4.6 色谱分离柱(250 mm×4.6 mm, 7 μm, 瑞士万通公司)。

PDX 标准样品(REF1, ≥95%, 杜邦公司; REF2, ≥95%, 泰莱公司); 乙酸钠 (≥99.0%, 美国 Sigma 公司); 冰

乙酸、三水乙酸钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 50%(w:w) NaOH 水溶液(优级纯, 德国 Merck 公司); 淀粉葡萄糖苷酶(3260 U/mL 可溶性淀粉、200 U/mL 对硝基酚-β-麦芽糖苷)、异淀粉酶(1000 U/mL)、果聚糖酶(外切型菊粉酶 2000 U/mL、内切型菊粉酶 200 U/mL, 爱尔兰 Megzyme 公司)。

实验用水为 GB/T 6682 中规定的一级水。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 溶液配制

标准溶液的配制: 精确称量 0.2 g 已干燥的 PDX 标准品定容至 100 g, 此为标准储备液。分别精确称量 10.000、7.500、5.000、3.750、2.500 和 1.500 g 标准储备液用水稀释至 20 g 得到浓度 1.000、0.750、0.500、0.375、0.250、0.150 mg/g 的标准中间液。取 0.2 mL 标准中间液至已称重的离心管内, 记录标准中间液质量。加入 0.8 mL 混合酶液, 精确称量试管总重(精确至 0.0001 g), 与试样同步进行酶解处理后, 得浓度分别为 200、150、100、75、50 和 30 mg/kg 的标准工作液系列。

乙酸盐缓冲液(pH 为 4.5): 准确吸取 1.2 mL 冰乙酸, 用水稀释至 100 mL, 配制 0.2 mol/L 乙酸溶液; 准确称取 2.72 g 三水合乙酸钠, 用水溶解并稀释至 100 mL, 0.2 mol/L 乙酸钠溶液; 将 28 mL 乙酸溶液(0.2 mol/L)与 22 mL 乙酸钠溶液(0.2 mol/L)混合, 用水稀释至 100 mL。

混合酶液: 分别吸取 680 μL 果聚糖酶、84 μL 淀粉葡萄糖苷酶、17 μL 异淀粉酶混合, 加乙酸盐缓冲液稀释至 20 mL。混合酶液临用现配。

流动相: A(150 mmol/L 氢氧化钠溶液): 准确吸取 15.7 mL 氢氧化钠溶液(50%), 用预先脱气的水稀释 2 L, 惰性气体保护。流动相 B(含 150 mmol/L 氢氧化钠, 500 mmol/L 乙酸钠): 准确称量 41 g 无水乙酸钠, 用流动相 A 溶解定容至 1 L, 混匀, 过 0.45 μm 膜, 脱气, 惰性气体保护。

#### 2.2.2 样品前处理

##### ①采样和试样制备

抽取有代表性的样品, 固体试样需研磨、粉碎、混合均匀, 分析前密闭保存, 避免水分变化。液体试样需在测定前混合摇匀。

##### ②提取

固体试样: 取 100 mL 具塞试样瓶, 加入 1 粒磁力搅拌子, 盖上螺口塞。准确称取一定量试样至试样瓶中, 加 100 mL 预热至 80 °C 的水, 磁力搅拌 30 s, 80 °C 水浴 10 min, 每 5 min 磁力搅拌 30 s。取出试样瓶冷却至室温。

液体试样(饮料、液态奶等): 取 100 mL 具塞试样瓶, 称量。准确吸取一定量试样至试样瓶中, 加 100 mL 水, 振荡混合均匀, 称量。

适量吸取提取液液至 2.0 mL 的离心管中, 10000 r/min 离心 15 min, 取上清液过 0.22 μm 滤膜, 取 0.45 mL 滤液加

入 0.5 mL 带有分子截留膜的离心管中,于 10000 r/min 超滤离心 30 min。注意观察是否离心完全及离心液的澄清度,如截留膜上方留有样液或离心液混浊,可加大转速、延长离心时间,或增加稀释倍数。

### ③酶解

取 2 mL 离心管,称量。吸取 0.2 mL 超滤离心液加入离心管中,称量;加入酶混合液 0.8 mL,称量;振荡混合均匀,于 50 °C 水浴 60 min,沸水浴 10 min,取出,冰浴 5 min,于 10000 r/min 离心 10 min。上清液过 0.2 μm 滤膜,进样分析。上清液需在 72 h 内检测。

### 2.2.3 离子色谱条件

色谱柱: Hamilton RCX-30-250/4.6 色谱分离柱;淋洗液: A: 150 mmol/L 氢氧化钠; B: 150 mmol/L 氢氧化钠+500 mmol/L 乙酸钠。柱温 32 °C,定量环 20 μL,流速 1.2 ml/min,经 863 Compact Autosampler 进样。梯度条件: 0~10 min: 70% A, 30% B; 10.1~14 min: 100% B; 14.1~20 min: 70% A, 30% B。

检测器: 电化学检测器, Au 工作电极, Pd 参比电极。

检测波形: 0.00~0.30 s, +0.05 V, 0.20 s 开始积分, 0.30 s 终止积分; 0.35 s, +0.55 V; 0.55 s, -0.10 V。

## 2.3 统计方法

采用 SPSS for windows 19.0 对数据进行统计分析。

组间比较采用 Wilcoxon 带符号秩检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果与分析

### 3.1 标准物质的选择

本方法分别选择市场上可获得的 2 种聚葡萄糖参考物质 REF1 和 REF2 分别按照同一色谱条件进行测定,平行测定 3 次,通过测定不同浓度水平下离子信号响应值进行不同来源标准物质的比较。结果见图 1,经统计发现不同来源参考物质色谱峰面积存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ),同浓度下 REF1 色谱响应信号要显著强于 REF2。证实如果采用非同源参考物质进行食品聚葡萄糖定量分析,可能造成结果偏差。因此在实际测定中应采用与食品中添加的聚葡聚

糖同源的标准物质进行定量。

### 3.2 不同色谱条件的比较

AOAC 2000.11 等采用了四电位波形,而本方法建立了三电位波形,波形对比见表 1。

为了比较不同色谱条件对检测结果的影响,以强化聚葡萄糖的饼干、糖果为试样,同时进行前处理后,分别采用三电位波形和四电位波形的离子色谱仪进行 6 次平行测试,比较结果差异,由表 2 可见,2 种色谱条件的检测结果一致性较好 ( $P > 0.05$ )。2 种色谱条件均能满足检测需求。

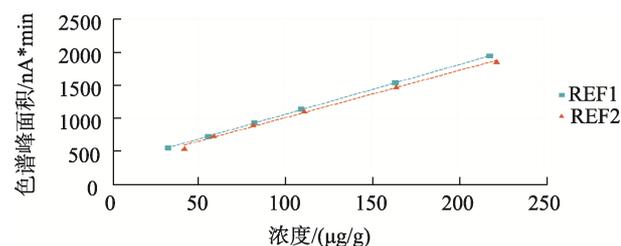


图 1 不同来源 PDX 标准物质离子信号响应差异比较

Fig. 1 Comparison the of ionic signal response of standard material from different sources

表 1 2 种不同电位波形

Table 1 Different detector voltage settings

三电位波形		四电位波形	
时间/s	电压/V	时间/s	电压/V
0.00	+0.05	0.00	0.10
0.20	+0.05	0.20	0.10
0.30	+0.05	0.40	0.10
0.35	+0.55	0.41	-2.0
0.55	-0.10	0.42	-2.0
		0.43	0.60
		0.44	-0.10
		0.50	-0.10

表 2 不同离子色谱条件下检测结果的比较

Table 2 Compare the detection result of the different detector voltage settings

试样	色谱条件	聚葡萄糖含量/(g/100 g)						平均值
		1	2	3	4	5	6	
饼干	三波形电位	4.124	4.204	4.385	4.27	4.195	4.287	4.244
	四波形电位	4.029	4.249	4.221	4.019	4.239	4.013	4.128
糖果	三波形电位	65.013	61.352	62.036	61.395	56.484	59.878	61.026
	四波形电位	58.425	60.235	62.423	61.282	57.994	60.700	60.177

### 3.3 方法的线性范围及检出限

以标准物质储备液(2.000 mg/g)制备工作曲线系列点, 使标准物质溶液终浓度为 200、150、100、75、50、30 μg/g, 进样分析, 以此 6 点标准工作液上机获得工作曲线。可见在 30~200 μg/g 范围内, 工作曲线线性良好,  $r^2=0.9993$ (图 2)。测定试样时, 应使试样终浓度落在 30~200 μg/g 范围内, 以保证检测结果的准确性。

本方法对固体和液体样品进行检出限评价, 分别在淀粉和水 2 种空白基质中加入 PDX 标准物质, 以信噪比为 3 计算检出限, 得到在处理液体样品时本方法检出限为 0.9555 mg/kg, 在处理固体样品时本方法检出限为 1.6699 mg/kg。

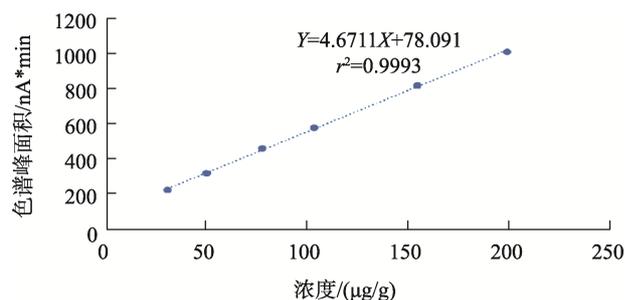


图 2 聚葡萄糖标准曲线  
Fig.2 PDX standard curve

### 3.4 回收率及精密度实验

根据聚葡萄糖应用范围, 选择不同基质的试样, 进行精密度实验( $n=6$ ), 计算检测结果的平均值、标准差、相对标准差。从表 3 中可以看出, 无论液体试样还是固体试样, RSD 均小于 3%, 说明精密度良好。

表 3 方法精密度实验结果(g/100 g)  
Table 3 Precision test results

试样名称	检测结果/(g/100 g)						平均值	RSD/ %
	1	2	3	4	5	6		
液态奶 1	4.84	4.77	4.52	4.69	4.51	4.58	4.65	2.9
液态奶 2	10.49	10.32	10.02	10.36	9.82	10.39	10.23	2.5
饼干 1	2.93	2.80	2.84	2.88	2.99	2.98	2.90	2.6
饼干 2	4.03	4.25	4.22	4.02	4.24	4.01	4.13	2.9
糖果	58.43	60.24	62.42	61.28	57.99	60.70	60.20	2.8

按照不同食物基质, 向奶粉、酸奶添加不同水平的聚葡萄糖, 进行加标回收率实验, 结果见表 4, 显示方法加标回收率为 95.06%~110.11%, 说明方法准确度良好。

表 4 方法回收率实验结果  
Table 4 Recovery rate test results

试样	加标量/(g/100 g)	测得量/(g/100 g)	回收率/%
奶粉	0.25	0.256	102.54
	0.25	0.244	97.53
	0.25	0.252	100.64
	0.65	0.618	95.06
	0.65	0.649	99.82
	0.65	0.664	102.21
	1.00	1.001	100.16
	1.00	1.045	104.51
	1.00	1.101	110.11
	0.25	0.251	100.50
	0.25	0.258	103.39
	0.25	0.265	106.01
酸奶	0.65	0.704	108.35
	0.65	0.649	99.79
	0.65	0.667	102.63
	1.00	1.021	102.05
	1.00	1.020	102.00
	1.00	1.013	101.47

## 4 结论与讨论

聚葡萄糖是人工合成的葡萄糖聚合物, 尽管聚葡萄糖已经获得 CAS 编号, 但目前试剂公司尚无聚葡萄糖标准品销售。最早研发生产聚葡萄糖的杜邦公司(丹尼斯克公司)申请获批了聚葡萄糖参考物质, AOAC 2000.11 等方法均明确以来自杜邦公司的聚葡萄糖参考物质作为定量的基准。随着市场的扩大, 更多的企业投入了聚葡萄糖的生产, 由于生产过程中所采用的酸的来源(柠檬酸或磷酸)、工艺条件略有差异, 因此不同企业获得的聚葡萄糖尽管基本化学结构一致, 但在构象和离子强度上略有差异, 且杜邦公司以外的企业亦有聚葡萄糖参考物质的批准文号。结果显示不同来源参考物质色谱峰面积存在显著性差异, 同浓度下 REF1 色谱响应信号要强于 REF2。证实如果采用非同源参考物质进行食品聚葡萄糖定量分析, 可能造成结果高估或低估。因此本文推荐采用与食品中添加的聚葡萄糖相同的标准物质进行测定, 以保证结果的准确性。

目前文献中离子色谱方法多采用四电位波形的检测条件, 但不同的仪器因电极等存在差异, 适用的电位波形条件不同, 因此本文新建了三电位波形的检测条件, 并与四电位波形检测结果进行了比较, 结果显示 2 种检测结果

无显著差异,均可在实际测定中应用。

本文建立了电位波形测定食品中聚葡萄糖的方法,并采用与食品中同源的聚葡萄糖标准物质。该方法灵敏度高、准确性好,能够满足不同基质,添加不同来源聚葡萄糖的食品的测定。

#### 参考文献

- [1] 万茵,黄邵华,傅贵明.聚葡萄糖的制取、性质以及在食品中的功能[J].食品研究与开发,2000,21(5):30-34.  
Wan Y, Huang SH, Fu GM. Polydextrose: Preparation, property and function in food [J]. Food Res Dev, 2000, 21(5): 30-34.
- [2] BONN. Report of the 26th Session of the CODEX Committee on nutrition and foods for special dietary use [R/OL]. [http://www.codexalimentarius.net/download/report/627/al28\\_26e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/report/627/al28_26e.pdf).
- [3] Craig SAS, Zhong J, Luo BY, *et al.* Studies on the effects of polydextrose intake on physiology function in Chinese people [J]. Am J Clin Nutr, 2000, 72: 1503-1509.
- [4] Yoshiharu S, Maeda M, Masaru N, *et al.* attenuated response of the serum triglyceride concentration to ingestion of a chocolate containing polydextrose and lactitol in place of sugar [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2005, 69(10): 1819-1823.
- [5] King NA, Craig SA, Pepper T, *et al.* Evaluation of the independent and combined effects of xylitol and polydextrose consumed as a snack on hunger and energy intake over 10 d [J]. Br J Nutr, 2005, 93(6): 911-915.
- [6] Hara H, Suzuki T, Aoyama Y. Ingestion of the soluble dietary fibre polydextrose increases calcium absorption and bone mineralization in normal and total-gastrectomized rats [J]. Br J Nutr, 2000, 84(5): 655-661.
- [7] Hyvönen L, Linna M, Tuorila H, *et al.* Perception of melting and flavor release of ice cream containing different types and contents of fat [J]. J Dairy Sci, 2003, 86: 1130-1138.
- [8] Boobier WJ, Baker JS, Davies B. Development of a healthy biscuit: an alternative approach to biscuit manufacture [J]. Nutr J, 2006, 5(1): 7.
- [9] 张莉,袁卫涛,薛雅莺,等.聚葡萄糖的应用研究进展[J].精细与专用化学,2012,20(9):38-40.  
Zhang L, Yuan WT, Xue YY, *et al.* Research progress on application of polydextros [J]. Fine Speci Chem, 2012, 20(9): 38-40.
- [10] GB 2760-2014 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准[S].  
GB 2760-2014 National food safety standard-Uses of food additives [S].
- [11] GB 25541-2010 食品安全国家标准 食品添加剂 聚葡萄糖[S].  
GB 25541-2010 National food safety standard-Food additive polydextrose [S].
- [12] Noffsinger JB, Emery M, Hoch DJ, *et al.* Liquid chromatographic determination of polydextrose in food matrices [J]. Assoc Off Anal Chem., 1990, 73(1): 51-53.
- [13] Craig SAS, Holden JF, Khaled MY. Determination of polydextrose as dietary fiber in foods [J]. J AOAC Int, 2000, 83(4): 1006-1012.
- [14] AOAC Official Method 2000.11. Polydextrose in Foods Ion Chromatography First Action 2000 [S].
- [15] 刘玉峰,唐华澄,李东,等.离子色谱法分析检测饮料中聚葡萄糖含量的研究[J].北京工商大学学报(自然科学版),2011,29(1):30-32.  
Liu YF, Tang HC, Li D, *et al.* Determination of polydextrose in beverages by ion exchange chromatography [J]. J Food Sci Technol (Nat Sci Ed), 2011, 29(1): 30-32.
- [16] 李建文.不同种类膳食纤维分析方法的建立和应用研究[D].北京:中国疾病预防控制中心,2006.  
Li JW. The development and application of analytical methods for various dietary fibers [D]. Beijing: Chinese Center for Disease Control and Prevention, 2006.

(责任编辑:武英华)

#### 作者简介



张雪松,助理研究员,主要研究方向为食物营养成分分析。

E-mail: xuesong\_zhang0729@163.com



王竹,研究员,主要研究方向为营养与食品卫生。

E-mail: wzblue@163.com