

气相色谱内标法测定酸奶中木糖醇的含量

罗玥*, 成桂红, 艾涛波, 唐静, 谭欣, 刘议慧, 刘茂坪, 杨文斌

(四川省食品药品检验检测院, 成都 610100)

摘要: **目的** 优化毛细管气相色谱条件及前处理衍生过程并用于测定酸奶中木糖醇含量。**方法** 对气相色谱分流比、进样量、程序升温等参数进行优化, 并对前处理衍生过程进行筛选。在最优条件下, 以内标法定量。**结果** 在最优条件下进行方法学验证, 测得酸奶样品中木糖醇检出限为 0.02%, 定量限为 0.068%。加标回收范围为 91%~95%, 相对标准偏差小于 2%($n=6$)。**结论** 该方法简单易操作, 色谱峰峰形好且稳定, 可用于测定酸奶中木糖醇的含量。

关键词: 酸奶; 木糖醇; 内标法; 气相色谱法

Determination of xylitol in yoghurt by gas chromatography internal standard method

LUO Yue*, CHENG Gui-Hong, Ai Tao-Bo, TANG Jing, TAN Xin, LIU Yi-Hui, LIU Mao-Ping, YANG Wen-Bin

(Sichuan Institute of Product Quality Supervision and Inspection, Chengdu 610100, China)

ABSTRACT: Objective To optimize conditions of capillary gas chromatography and pretreatment derivative process for determination of xylitol content in yoghurt. **Method** The gas chromatographic split ratio, injection volume, temperature programming and other parameters were optimized, and the pretreatment derivative process was screened. Under the optimal conditions, the internal standard method was used to quantify the content. **Results** Under the optimization conditions, the limit of detection of xylitol in yoghurt samples was 0.02% and the limit of quantitation was 0.068%. The standard recovery range was 91% to 95%, and the relative standard deviation was less than 2% ($n=6$). **Conclusion** The method is simple and easy to operate, and the peaks of chromatography are good and stable, which is suitable for the determination of xylitol in yoghurt.

KEY WORDS: yoghurt; xylitol; internal standard method; gas chromatography

1 引言

木糖醇作为一种天然健康的食品添加剂, 可在各类食品中适量使用^[1], 广泛应用于口香糖、酸奶、糖果、饮料、焙烤食品、酒类等食品中^[2]。研究表明, 木糖醇由于进入血液后不需要胰岛素的作用就可以透过细胞膜而被细胞所利用, 因此可作为糖尿病人的替代糖源, 同时木糖醇还能对多种疾病有预防和保健功能, 例如预防龋齿和骨质疏松

等^[3-5]。木糖醇成为特殊酸奶发酵中蔗糖的理想替代品^[6,7], 添加木糖醇的无糖酸奶可促进双歧杆菌增殖、促进营养物质的消化吸收、提高人体免疫力、改善胃肠功能等, 同时还有减肥的功效^[8,9]。

木糖醇的副作用也有文献报道, 过多食用会导致肠胃不适、腹泻, 糖尿病人食用过多会使甘油三酯升高, 同时还会导致肾损伤和肥胖等^[10]。因此正确添加和标识木糖醇含量对于食品标签非常重要, 有了含量标识就需要准确

*通讯作者: 罗玥, 工程师, 主要研究方向为食品质量安全检验。E-mail: shenzhu111111@163.com

*Corresponding author: LUO Yue, Engineer, Sichuan Institute of Product Quality Supervision and Inspection, No.16, Xingmao Road, Longquan District, Chengdu 610100, China. E-mail: shenzhu111111@163.com

地进行检测。目前报道的木糖醇含量的测定方法有离子色谱法^[9]、高效液相色谱法^[11]、气相色谱法^[12-14]等, 国标方法中气相色谱法基本已作废, 且尚无酸奶中木糖醇含量的测定方法。本研究采用气相色谱内标法测定酸奶中木糖醇含量, 并对其进行方法学验证, 为准确测定木糖醇含量提供参考。

2 材料与方 法

2.1 仪器与试剂

2.1.1 仪器与设备

7890B 气相色谱仪(美国安捷伦公司, 配火焰离子化检测器(flame ionization detector, FID)及 Chemstation Edition 工作站); RESTEK Rtx-1701 毛细色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm, 美国瑞斯泰克公司); GenPure UV-TOC/UF XCAD plus 纯水机、Heraeus Megafuge 8 离心机(美国赛默飞世尔科技公司); METTLER TOLEDO XS105 电子天平(瑞士梅特勒公司); 超声波清洗器(德国 Elma Schmidbaner GmbH 公司); 旋转蒸发仪、鸡心瓶、1 mL 移液器(法国 GILSON 公司); 电热鼓风干燥箱(北京中兴伟业仪器有限公司); 涡旋混匀仪(上海青浦沪西仪器厂)。

2.1.2 试剂耗材

无水乙醇(色谱纯, 纯度≥99.5%, 天津四友精细化学品有限公司); 吡啶(分析纯, 纯度≥99.5%, 成都市科隆化学品有限公司); 乙酸酐(分析纯, 纯度≥98.5%, 成都市新都区木兰镇工业开发区); 木糖醇标准品(纯度为 99.4%, 德国 Dr.E 标准品有限责任公司); 赤藓糖醇标准品(纯度为 99.9%, 北京曼哈格生物科技有限公司); 实验用水为超纯水机制备的电导率为 18.2 MΩ·cm 的超纯水。

样品: 市售酸奶。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液配置

赤藓糖醇内标: 称取 100 mg 赤藓糖醇于 50 mL 容量瓶中, 用水定容后得到 2 g/L 赤藓糖醇标准使用液。

木糖醇标准溶液: 称取 250.25 mg 木糖醇标准品于 10 mL 容量瓶中, 定容后得到 25 g/L 木糖醇标准储备液。取 2 mL 25 g/L 标准储备液于 10 mL 容量瓶中, 定容后得到 5 g/L 木糖醇标准使用液。取 1 mL 5 g/L 木糖醇标准使用液加入 1 mL 2 g/L 赤藓糖醇内标同样品一起进行衍生(步骤同 2.2.3)。

2.2.2 气相色谱条件

毛细色谱柱: RESTEK Rtx-1701(30 m×0.25 mm×0.25 μm); 进样量: 0.5 μL; 进样口温度: 240 °C; 隔垫吹扫流量: 3 mL/min; 分流比: 70:1; 柱流速: 1 mL/min; 程序升温: 150 °C 保持 5 min, 以 5 °C/min 升至 200 °C 保持 10 min, 再以 20 °C/min 升至 250 °C 保持 5 min; 检测器温度: 300 °C; 空气流量: 400 mL/min; 氢气流量: 40 mL/min; 尾吹流量:

30 mL/min; 信号数据采集频率/最小峰宽: 5 Hz/4 min; 定量方式: 内标法。

2.2.3 测定步骤

称取酸奶样品 2 g, 用水定容至 10 mL, 振摇 10 min 后超声 15 min, 5000 r/min 离心 10 min。取 1 mL 上清液于 100 mL 鸡心瓶中, 加入 1 mL 2 g/L 赤藓糖醇内标混匀后于 60 °C 水浴中旋蒸至干(快干时用纸巾擦拭旋蒸仪接口中的水分), 加入 2 mL 无水乙醇超声使鸡心瓶壁上的糖充分溶解, 再次 60 °C 水浴中旋蒸至干。再加入 1 mL 吡啶超声使溶解, 加入 1 mL 乙酸酐, 盖上盖子, 涡旋混匀 30 s, 使充分混合后, 于 70 °C 干燥箱中放置 30 min, 取出放冷待测。

2.2.4 计算公式

按内标法定量计算酸奶中木糖醇含量, 计算公式如(1):

$$X(\text{g/L}) = \frac{C \times V}{m \times 1000} \times 100 \quad (1)$$

式中: X—酸奶中木糖醇含量(%);

C—由内标法定量计算出进样液中木糖醇的浓度(g/L);

V—样品定容体积(mL);

m—称样量(g);

1000—单位换算。

2.2.5 色谱峰信噪比计算

利用安捷伦 Chemstation Edition 工作站脱机软件, 在木糖醇色谱峰附近选取一段平滑的基线噪声范围, 在“报告”文件下拉菜单中选择“系统适应性”下面的“编辑噪声范围”输入时间范围, 将报告设定为“性能报告+噪声报告”, 查看数据报告, 软件自动计算出木糖醇色谱峰的信噪比。

3 结果与分析

3.1 色谱条件优化

本方法利用 2017 年 1 月 1 日实施的标准 GB 1886.234-2016《食品安全国家标准食品添加剂木糖醇》^[14] 中木糖醇产品中木糖醇及多元醇的测定方法作为参考, 利用标准给出的色谱条件进行测定, 色谱峰拖尾严重, 灵敏度、分离度均不能满足要求。分别对分流比、进样量、程序升温、柱流速、氢空比、检测器温度等参数进行一系列优化实验, 经过多次试验得到最优色谱条件(同 2.2.2)。

在最优化的色谱条件下, 木糖醇及赤藓糖醇内标色谱峰分离度均大于 1.5, 且有很好的对称性。FID 检测器的灵敏度与氢气、空气和氮气的比例有直接关系, 因此要注意优化。一般三者的流速比例应接近 1:10:1, 如氢气 30~40 mL/min, 空气 300~400 mL/min, 氮气 30~40 mL/min。为防止检测器被污染, 检测器温度应比色谱柱使用最高温度高 50 °C。对色谱峰对称因子影响较大的色谱参数主要是进样量和分流比, 进样量和分流比减半后, 对称因子由 2.805 变为了 1.012, 《中国药典》规定对称因子应为 0.95~1.05^[15], 色谱峰拖尾问题得到很好解决。

3.2 衍生过程优化

衍生过程对于熟练的操作者来说, 比较好把握, 但对于初学者来说, 不是很好把控, 因此, 对衍生过程进行了优化, 以提高本方法的重现性。对于同一加标样品, 采用梨形烧瓶和鸡心瓶、加入 1 mL 乙醇和 2 mL 乙醇、超声溶解和振摇溶解 3 个比较关键的衍生步骤, 应用正交试验, 经上机测试后发现, 8 组数据的相对标准偏差为 0.7%, 回收率平均值为 100%。从衍生过程易于操作方面考虑, 选择了使用鸡心瓶、加入 2 mL 乙醇、超声溶解作为衍生最容易操作的衍生过程。

3.3 方法学验证

3.3.1 检出限及定量限

为了评价色谱系统检测微量物质的能力, 通常以信噪比(S/N)来表示。定性测定时, 信噪比应不小于 3; 定量测定时, 信噪比应不小于 10^[15]。通过多浓度多次加标试验以

及仪器软件设置得到检出限的信噪比平均值为 8.2, 大于 3(见图 1)。定量限的信噪比平均值为 28.4, 大于 10。在最优色谱条件及衍生条件下, 确定酸奶中木糖醇测定的方法检出限为 0.02%(见图 2), 定量限为 0.068%(见图 3)。

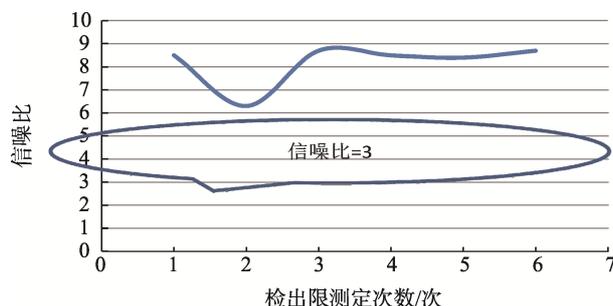


图 1 检出限信噪比趋势图

Fig.1 Trend chart of signal to noise ratio of limit of detection

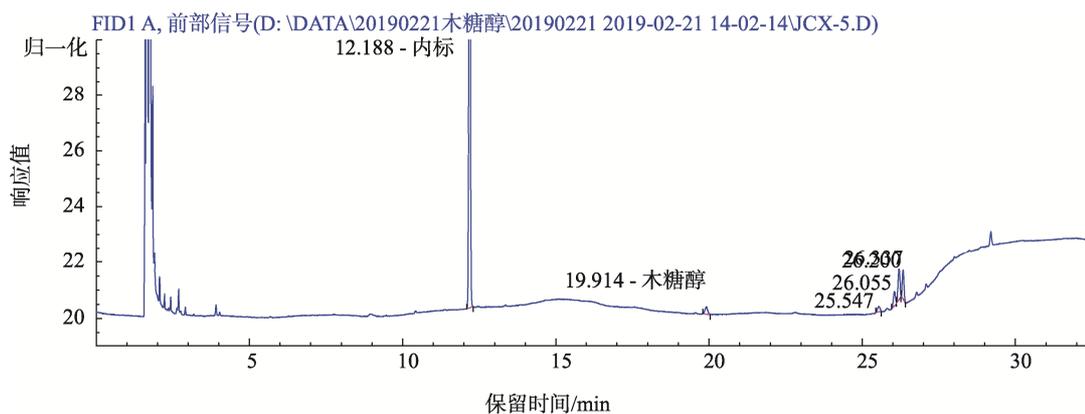


图 2 检出限色谱图

Fig.2 Chromatogram of limit of detection

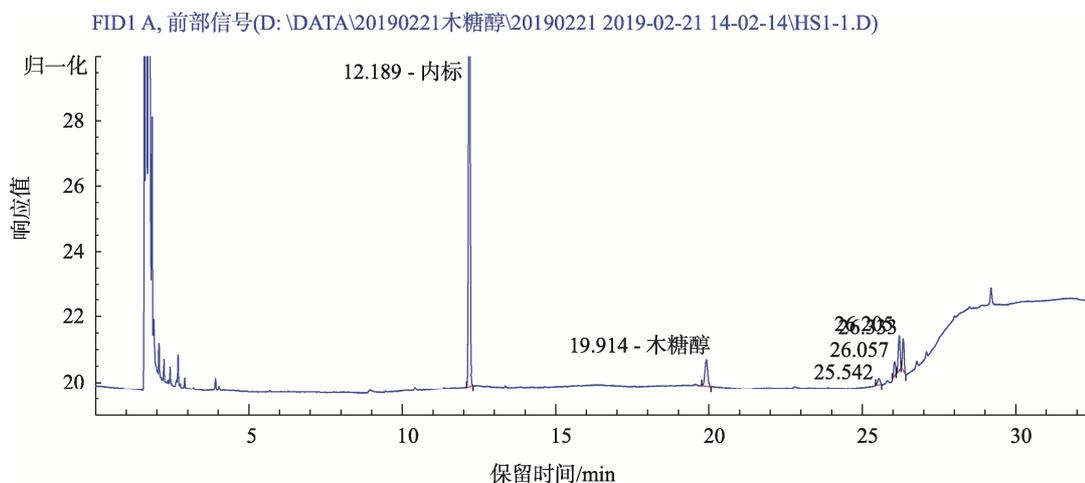


图 3 定量限色谱图

Fig.3 Chromatogram of limit of quantitation

3.3.2 回收率及精密度试验

选择 0.075、0.25、0.5 g/L 3 个浓度水平对阴性酸奶样品进行加标(定量限、10 倍检出限、10 倍定量限)回收试验,分别测定 6 次,回收率范围为 91%~95%,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)小于 2%,见表 1。

3.3.3 标准品和样品谱图

采用内标法定量,有效避免了前处理及人员因素带来的误差。用 5 g/L 木糖醇标准溶液加内标衍生后进样并建立积分方法,利用该积分方法测定了木糖醇酸奶和普通酸奶中木糖醇含量,标准溶液色谱图见图 4,阴性酸奶样

品色谱图见图 5,阳性酸奶样品色谱图见图 6。可以看出,酸奶样品经过衍生后,样品基质无干扰,阳性样品加标回收为 90%。

3.3.4 实验室内重复性试验

为了评价气相色谱仪连续进样时响应值的重复性能,采用内标法时,通常配制相当于 80%、100%、120%的对照品溶液,分别至少进样 2 次,计算平均校正因子,其相对标准偏差不应大于 2%^[15]。选择 0.075 g/L(定量限)、0.25 g/L(10 倍检出限)、0.5 g/L 3 个木糖醇标准溶液浓度进行重复性试验,结果见表 2,校正因子标准偏差均小于 2%。

表 1 3 水平加标回收试验($n=6$)
Table 1 Recoveries test at 3 spiked concentrations ($n=6$)

项目	称样量/g	测定浓度/(g/L)	木糖醇含量/%	理论结果/%	回收率/%	回收率平均/%	RSD/%
定量限	2.1537	0.145	0.067	0.075	89.8	91	1.4
	2.1622	0.145	0.067	0.075	89.4		
	2.1387	0.148	0.069	0.075	92.3		
	2.1455	0.148	0.069	0.075	92.0		
	2.1566	0.148	0.069	0.075	91.5		
	2.1496	0.145	0.067	0.075	89.9		
10 倍检出限	2.0531	0.471	0.229	0.25	91.8	92	0.8
	2.0488	0.472	0.230	0.25	92.2		
	2.0566	0.482	0.234	0.25	93.7		
	2.0512	0.471	0.230	0.25	91.8		
	2.0687	0.477	0.231	0.25	92.2		
	2.0744	0.477	0.230	0.25	92.0		
10 倍定量限左右	2.0282	0.957	0.472	0.5	94.4	95	0.4
	2.0304	0.967	0.476	0.5	95.3		
	2.0256	0.965	0.476	0.5	95.3		
	2.0229	0.963	0.476	0.5	95.2		
	2.0208	0.963	0.477	0.5	95.3		
	2.0241	0.964	0.476	0.5	95.3		

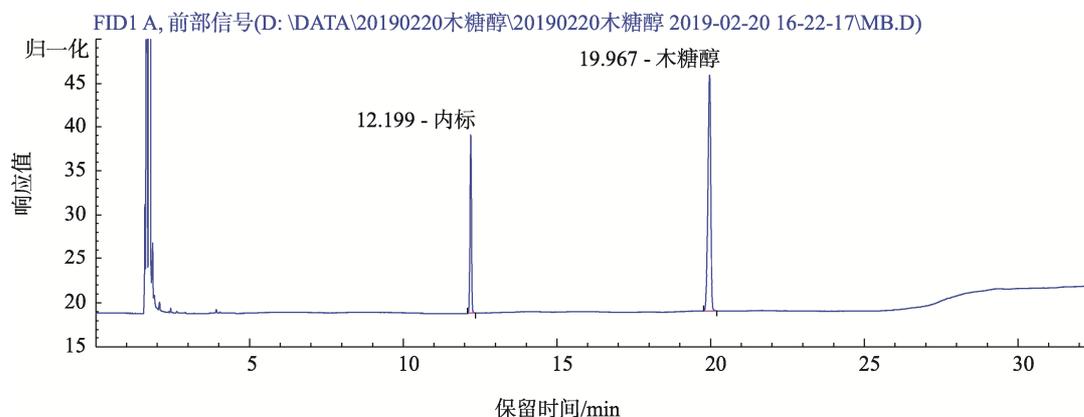


图 4 5 g/L 木糖醇标准溶液色谱图
Fig.4 Chromatogram of xylitol standard solution (5 g/L)

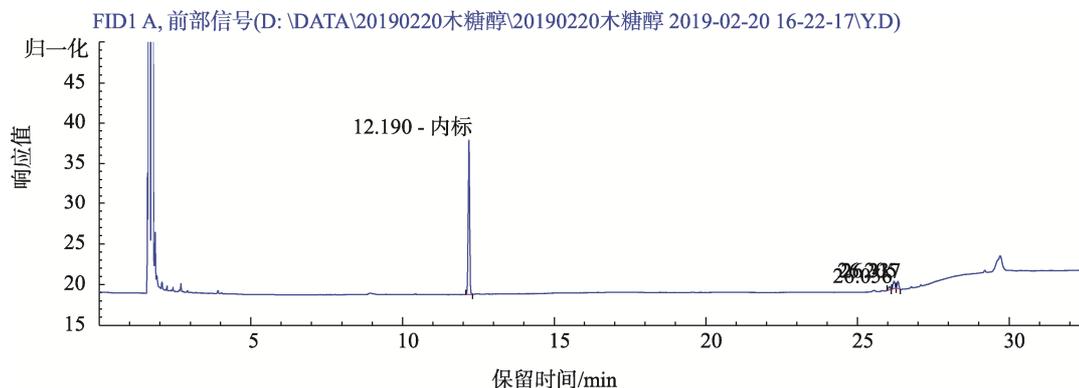


图 5 阴性酸奶样品色谱图
Fig.5 Chromatogram of negative yoghurt sample

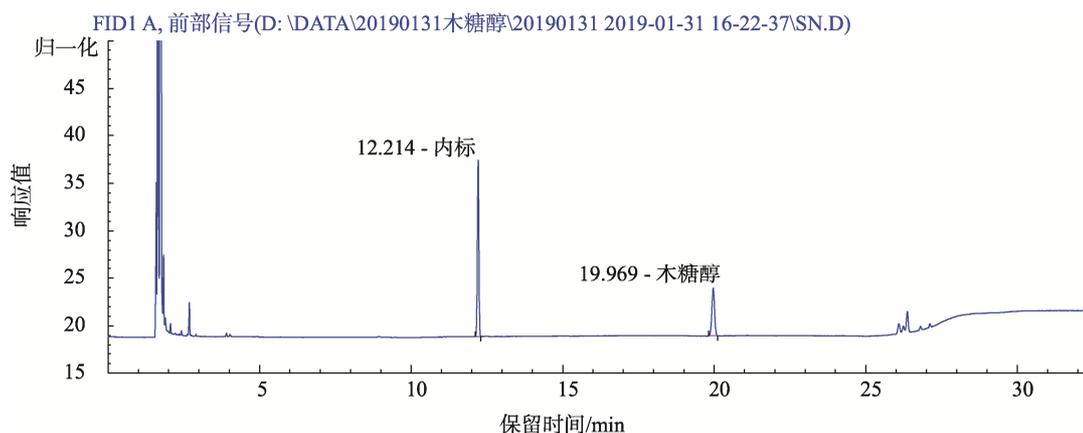


图 6 阳性样品酸奶色谱图
Fig.6 Chromatogram of positive yogurt sample

表 2 木糖醇标准溶液重复性试验
Table 2 Repeatability test of xylitol standard solution

项目	测定次数	内标峰面积	内标浓度/(g/L)	木糖醇标液峰面积	木糖醇标液浓度/(g/L)	校正因子相对标准偏差/%
定量限	1	70	2	5.1	0.075	0.89
	2	69.5	2	5	0.075	
10 倍检出限	1	68.8	2	16.2	0.25	0.1
	2	68.7	2	16.2	0.25	
10 倍定量限 左右	1	67.6	2	32.3	0.5	0.74
	2	66.9	2	32.3	0.5	

校正因子计算公式:

$$f = \frac{A_S/C_S}{A_R/C_R}$$

式中: f —校正因子;

A_S —内标物质的峰面积;

C_S —内标物质的浓度;

A_R —木糖醇标准溶液的峰面积;

C_R —木糖醇标准溶液的浓度。

不同时间实验室内液进行了重复性测定, 对于含有木糖醇 5 g/L(标示值)的酸奶再次进行测定, 2 次测定结果的绝对差值不超过算术平均值的 5%。

4 结 论

本研究建立了气相色谱内标法测定酸奶中木糖醇含量, 通过优化色谱条件和前处理衍生过程, 木糖醇色谱峰峰形和分离度均能满足要求, 且通过检出限、定量限、加

标回收等进行方法学验证,实验室内重复性试验精度高,前处理操作简单易操作,可运用于酸奶中木糖醇含量的定量测定。

参考文献

- [1] GB 2760-2014 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准[S].
GB 2760-2014 Food safety national standard-Standard for the use of food additives [S].
- [2] 吕白凤. 木糖醇在各类食品中的应用[J]. 农村新技术, 2010, (16): 23-24.
Lv BF. The application of xylitol in various foods [J]. New Rural Technol, 2010, (16): 23-24.
- [3] 李素琴, 高晓娟, 苏鑫. 露酒中木糖醇检测方法的研究[J]. 酿酒, 2019, 46(1): 101-103.
Li SQ, Gao XJ, Su X. Study on the determination of xylitol in wine [J]. Liquor Making, 2019, 46(1): 101-103.
- [4] 方春雷, 王世红, 梁莉. 木糖醇防治骨质疏松的功能研究概述[J]. 山东化工, 2016, (45): 50-52.
Fang CL, Wang SH, Liang L. Xylitol functional research overview of osteoporosis prevention [J]. Shandong Chem Ind, 2016, (45): 50-52.
- [5] 尤新. 木糖醇作为食糖替代品的特性和应用[J]. 中国食品添加剂, 2004, (2): 1-5.
You X. The characteristics and application of xylitol as a sugar substitute [J]. Chin Food Addit, 2004, (2): 1-5.
- [6] 成妮妮, 陈广艳. 木糖醇石榴汁酸奶发酵工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(2): 121-125.
Cheng NN, Chen GY. Study on yoghurt fermentation technology of xylitol pomegranate juice [J]. Food Res Dev, 2017, 38(2): 121-125.
- [7] 赵亚许, 张小芳, 刘玉青. 木糖醇南瓜酸奶的工艺研究[J]. 食品工程, 2014, (2): 23-25.
Zhao YX, Zhang XF, Liu YQ. Study on the technology of xylitol pumpkin yogurt [J]. Food Eng, 2014, (2): 23-25.
- [8] 王蕊. 功能性甜味剂木糖醇及在食品加工中的应用[J]. 江苏食品与发酵, 2008, (2): 18-20.
Wang R. Functional sweetener xylitol and application in food processing [J]. Jiangsu Food Ferment, 2008, (2): 18-20.
- [9] 李疆, 陈桐, 鞠昭函, 等. 毛细管区带电泳-间接紫外测定食品中木糖

醇[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(2): 791-797.

Li J, Chen T, Ju ZH, *et al.* Capillary district electric swimming-indirect ultraviolet determination of xylitol in food [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(2): 791-797.

- [10] 杨柳, 赵聪, 姚默, 等. 木糖醇应用及毒副作用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(34): 21355-21356.
Yang L, Zhao C, Yao M, *et al.* Application of xylitol and toxic side effects research progress [J]. Anhui Agric Sci, 2011, 39(34): 21355-21356.
- [11] GB 5009.279-2016 食品安全国家标准 食品中木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇、赤藓糖醇的测定[S].
GB 5009.279-2016 Food safety national standard-Determination of xylitol, sorbitol, maltol, and albitol in food [S].
- [12] 王成福, 赵光辉, 周娟. 气相色谱毛细管柱对木糖醇产品的测定[J]. 中国食品添加剂, 2005, (3): 100-107.
Wang CF, Zhao GH, Zhou J. Determination of xylitol products by gas chromatography capillary column [J]. Chin Food Addit, 2005, (3): 100-107.
- [13] 曹元龙, 刘红利, 李永利. 食品中木糖醇含量的气相色谱法测定[J]. 河南预防医学杂志, 2000, 11(5): 260-261.
Cao YL, Liu HL, Li YL. Determination of xylitol content in foods by gas chromatography [J]. Henan J Prev Med, 2000, 11(5): 260-261.
- [14] GB 1886.234-2016 食品安全国家标准 食品添加剂木糖醇[S].
GB 1886.234-2016 Food safety national standard-Food additive xylitol [S].
- [15] 中华人民共和国药典第四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
People's Republic of China Pharmacopoeia Part IV [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2015.

(责任编辑: 苏笑芳)

作者简介



罗 玥, 工程师, 主要研究方向为食品质量安全检验。

E-mail: shenzhu11111@163.com