

高效液相色谱-蒸发光散射法检测无糖饮料中 7 种糖类物质的含量

韦升坚*

(广西-东盟食品药品安全检验检测中心, 南宁 530021)

摘 要: **目的** 建立高效液相色谱-蒸发光散射法检测无糖饮料中 7 种糖类物质的含量。**方法** 样品以水为提取剂超声提取 15 min, 过聚四氟乙烯滤膜后, 滤液直接上机进行检测。采用 prevail carbohydrate ES 5U 色谱柱 (74.6 mm×250 mm, 5 μm), 以 0.04%氨水-乙腈为流动相, 梯度洗脱, 柱温为 30 °C; 流速为 1.5 L/min, 外标法定量分析。**结果** 三氯蔗糖等 7 种糖类物质在相应的浓度范围内, 线性相关良好, 相关系数均大于 0.995, 平均回收率为 71.8%~114.4%, 相对标准偏差为 0.6%~4.9%。**结论** 本方法操作简单, 灵敏, 可用于饮料中 7 种常见糖类物质的检测。

关键词: 高效液相色谱-蒸发光散射法; 饮料; 糖类

Determination of 7 kinds of sugar substances in sugar-free beverage by high performance liquid chromatography-evaporative light scattering dection

WEI Sheng-Jian*

(Guangxi-ASEAN Center for Food and Drug Safety Control, Nanning 530021, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 7 kinds of sugars in sugar-free beverages by high performance liquid chromatography-evaporation spectroscopy. **Methods** The samples were extracted by ultrasound with water as the extracting agent for 15 min. After passing through the polytetrafluoroethylene (PTFE) filter membrane, the filtrate was directly tested on the machine. The samples were separated with a prevail carbohydrate ES 5U column (74.6 mm ×250 mm, 5 μm) at the flow rate of 1.5 L/min by gradient elution using 0.04% ammonia-acetonitrile as the mobile phase. The temperature of the column oven was maintained at 30 °C, and the contents were quantitatively analyzed by external standard method. **Results** Totally 7 kinds of saccharides such as sucralose had good linear correlation in the corresponding concentration range, the correlation coefficient was greater than 0.995, the average recoveries were 71.8%–114.4%, and the relative standard deviations were 0.6%–4.9%. **Conclusion** The method is simple, sensitive, and can be used for the detection of 7 kinds of common sugar substances in beverages.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography-evaporative light scattering; beverage; sugar

基金项目: 广西卫计委食品安全地方标准制定(修订)项目(桂地标食 2017006 号)

Fund: Supported by Guangxi Health and Planning Commission Food Safety Local Standards (Revised) Project (Guidi Standard Food 2017006)

*通讯作者: 韦升坚, 工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: 14275866@qq.com

*Corresponding author: WEI Sheng-Jian, Engineer, Guangxi-ASEAN Center for Food and Drug Safety Control, No.9, Qinghu Road, Qingxiu District, Nanning 530021, China. E-mail: 14275866@qq.com

1 引言

糖是绝大多数食品的重要组成成分,是生命过程中的主要能量来源。过多“吃糖”会导致肥胖、龋齿、高血压、高血压、糖尿病、冠心病等健康问题,所以无糖食品越来越受到人们的青睐。无糖食品一般是指不含蔗糖(甘蔗糖和甜菜糖)、葡萄糖、麦芽糖、果糖等的甜味食品,但应含有糖醇(包括木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇、甘露醇)等替代品。根据 GB 28050-2011 食品安全国家标准《预包装食品营养标签通则》规定^[1],“无糖或不含糖”是指固体或液体食品中每 100 g 或 100 mL 的含糖量不高于 0.5 g。无糖饮料逐渐被大众广泛接受及消费,因此开发一种能同时测定多种糖类物质的检测方法具有十分重要的意义。

目前糖类的分析方法有化学法^[2]、酶电极法^[3]、离子色谱法^[4-9]、气相色谱法^[10]、毛细管电泳法^[11,12]、液质联用法^[13-15]、液相色谱法^[16,17]、近红外法^[18]等。化学法只能检测总糖或者还原糖的含量,无法对各种糖的含量进行测定。比色法、酶电极法是一种测定葡萄糖的方法,无法对其他糖类进行测定。离子色谱法在糖含量的检测研究中较多,其灵敏度较好,但是糖类在电极表面能将某些分子氧化或还原,从而影响方法的准确性,受环境温度的影响大。气相色谱法需要对糖进行衍生化处理,增加操作复杂性,带来误差。液质联用法具有分析效率高,选择型号,灵敏度高等优势,非常适合样品的高通量分析,但由于仪器设备昂贵,不适合基层食药分析检测机构。蒸发光检测具有基线稳定、对温度和压力变化没有过高要求、可用于梯度检测,响应值高、分离效果好、结果准确、样品前处理简单,重现性好等诸多优点,可以用于无糖食品中糖及糖醇的测定。

目前国内检测糖类物质的一些国家标准,如 GB 5009.8《食品安全国家标准 食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定》^[19]是检测果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖等组分,但关于同时测定 7 种糖类组分的快速检测方法研究较少。

本实验采用高效液相色谱-蒸发光散射法(high performance liquid chromatography-evaporative light-scattering detector, HPLC-ELSD)同时测定食品中三氯蔗糖,木糖醇,果糖,甘露糖醇,葡萄糖,乳果糖,蔗糖等多种糖,具有基线稳定、分离效果良好、结果准确、样品处理简单等优点,从而建立高效、准确、快速、灵敏的多种糖类同时分离检测的技术,为糖类的检测、应用和监管提供技术支撑。

2 材料与方法

2.1 实验材料

2.1.1 样品

样品①:无糖玄米绿茶饮料,生产商:维他奶(佛山)有限公司生产,生产日期:2018.10.29,保质期:2019.8.29,

净含量 250 mL。

样品②:伊藤园大麦茶(大麦茶饮料),生产商:伊藤园饮料(上海)有限公司,生产日期:2019.03.06,保质期:2020.03.06,净含量 500 mL。

样品③:青柠味苏打水饮料,生产商:新乡市优珍饮品有限公司,生产日期:2019.01.25,保质期:2020.1.25,净含量 350 mL。

样品④:可口可乐零度汽水,生产商:广西可口可乐有限公司生产,生产日期:2019.2.14,保质期:2019.11.14,净含量 500 mL。

样品⑤:桑葚汁(阳光味道),生产商:四川元神绿色果业股份有限公司生产,生产日期:2019.2.25,保质期:2020.2.25,净含量 500 mL。

2.1.2 标准品信息

三氯蔗糖标准品(CAS 号: 56038-13-2, 含量为 99.7%)、木糖醇标准品(CAS 号: 87-99-0, 含量为 99.7%)(北京曼哈格生物科技有限公司);果糖标准品(CAS 号: 57-48-7, 含量 99.5%)、甘露糖醇标准品(CAS 号: 69-65-8, 含量为 99.1%)、蔗糖标准品(CAS 号: 57-50-1, 含量为 99.9%)(德国 Dr. Ehrenstorfer GmbrH 有限公司);葡萄糖标准品(CAS 号: 50-99-7, 含量为 99.9%)、乳果糖标准品(CAS 号: 4618-18-2, 含量为 99.9%)(上海安谱实验科技有限公司)。

2.1.3 试剂与耗材

乙腈(色谱级,德国默克联和股份有限公司);三氟乙酸(分析纯,南京试剂有限公司);三乙胺(分析纯,上海化学试剂有限公司);甲酸(分析纯,默克股份两合公司);氨水(电子级,上海 Macklin 化学用品有限公司)。

聚四氟乙烯(polytetrafluoroethylene, PTFE)滤膜(0.22 μm , 上海安谱实验科技股份有限公司);尼龙 66 滤膜(0.22 μm , 上海安谱实验科技股份有限公司);聚丙烯(polypropylene, GHP)滤膜(0.2 μm , 美国 Waters 公司);聚四偏氟乙烯(polytetrafluoroethylene, PVDF)滤膜(0.2 μm , 美国 Waters 公司);聚醚砜(polyether sulfone, PES)滤膜(0.22 μm , 津腾实验设备有限公司)。

2.1.4 仪器与设备

Agilent1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司);Alltech ELSD 3300 蒸发光检测器(美国奥泰科技(中国)有限公司);A10 型 Milli-Q 超纯水机(美国 Milli-Pore 公司);xs205DU 电子天平(美国 Mettler Toledo 公司);S300H 超声清洗仪(德国 Elmasonic 公司);Heidolph Multi Reax 多管式涡旋振荡器(德国 Heidolph 公司);Parker DH 氮气发生器(英国 Parker 公司);Alltech chrom prevail Carbohydrate ES 5U 色谱柱(74.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm , 美国 Alltech 科技公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液的配制

(1) 标准储备液的配制

准确称取三氯蔗糖标准品 81.72 mg, 木糖醇标准品

101.51 mg, 果糖标准品 37.55 mg, 甘露糖醇标准品 79.61 mg, 葡萄糖标准品 104.52 mg, 乳果糖标准品 100.19 mg, 蔗糖标准品 39.88 mg, 分别置于 10 mL 容量瓶, 加去离子水溶解, 并且定容至刻度, 配制成七种糖类的标准储备液, 浓度分别为三氯蔗糖 8.1475 mg/mL, 木糖醇 10.1205 mg/mL, 果糖 3.7362 mg/mL, 甘露糖醇 7.8957 mg/mL, 葡萄糖 10.4415 mg/mL, 乳果糖 10.0090 mg/mL, 蔗糖 3.9840 mg/mL。

(2) 混合标准溶液的配制

分别精取三氯蔗糖储备液 0.80 mL, 木糖醇储备液 0.70 mL, 果糖储备液 2.00 mL, D-甘露糖醇储备液 1.25 mL, 葡萄糖储备液 1.25 mL, 乳果糖储备液 1.50 mL, 蔗糖标准储备液 2.50 mL, 于同一 10 mL 量瓶中, 加去离子水定容刻度, 得到了混合标准溶液。其中三氯蔗糖浓度为 0.65718 mg/mL, 木糖醇浓度为 0.7084 mg/mL, 果糖标准浓度为 0.7472 mg/mL, 甘露糖醇浓度为 0.9870 mg/mL, 葡萄糖浓度为 1.3052 mg/mL, 乳果糖浓度为 1.5014 mg/mL, 蔗糖浓度为 0.9960 mg/mL。

(3) 混合标准工作曲线溶液的配制

分别移取混合标准溶液 1.00、2.00、4.00、6.00、8.00 mL 至 10 mL 容量瓶中, 用去离子水定容到 10 mL, 作为混合标准工作曲线溶液。

2.2.2 样品处理

(1) 苏打水、可乐汽水饮料

样品于 50 ℃左右加热 15 min 除去二氧化碳, 称取除去二氧化碳的饮料 10.00 g 于 25 mL 量瓶中, 加水 10 mL, 超声 15 min 后, 用水定容至刻度, 过 PTFE 0.22 μm 滤膜后, 上机测定。

(2) 其他饮料

吸取饮料 10.00 g 于 25 mL 量瓶中, 加水 10 mL, 超声 15 min 后, 用水定容至刻度, 过 PTFE 0.45 μm 滤膜后, 上机测定。

2.2.3 高效液相色谱条件

色谱柱: prevail carbohydrate ES 5U(74.6 mm×250 mm, 5 μm); 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μL; 检测器: 蒸发光散射检测器(ELSD); 雾化温度为 40 ℃; 增益: 1; 氮气(纯度为 99.999%): 1.5 L/min。流动相采用梯度洗脱程序, 见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序 Table 1 Mobile phase elution procedure		
时间/min	乙腈 A/%	0.04%氨水溶液 B/%
0	84	16
25	84	16
38	75	25
40	84	16
45	84	16

3 结果分析

3.1 HPLC 条件的确定

3.1.1 色谱柱的选择

本试验比较了 Ultimate XB-NH₂、Polaris 5 NH₂、Inertsustain NH₂、Alltech chrom prevail Carbohydrate ES 5U 糖柱, 发现这几款氨基柱和糖柱均能分离葡萄糖、乳果糖、木糖醇、甘露糖醇、三氯蔗糖等 7 种物质, 综合考虑峰形、保留时间, 选择 Alltech chrom prevail Carbohydrate ES 5U 糖柱, 可较好的分离 7 种糖类物质, 标准物质图谱见图 1。

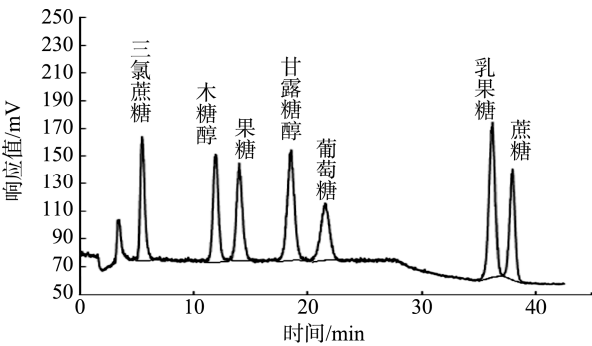


图 1 7 种糖类标准物质图谱
Fig.1 Chromatogram for 7 kinds of sugar standard substance

3.1.2 流动相的选择

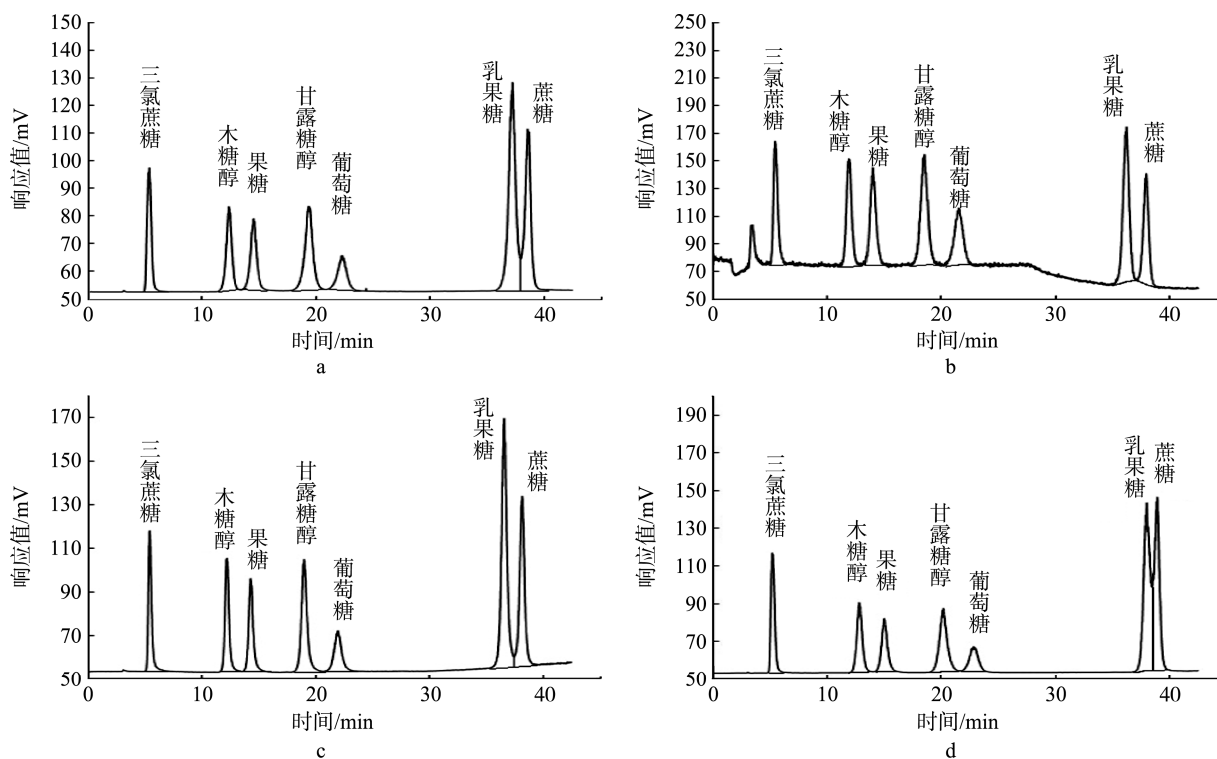
蒸发光所选择的流动相必须是易于蒸发或者气化的, 常用流动相有水、乙腈、甲醇等, 流动相改良试剂包括氨水、甲酸、三氟乙酸、三乙胺等。本次试验有机相选用极性较小的乙腈, 水相改良试剂从经济安全等方面考察了水、甲酸、三氟乙酸、氨水和三乙胺, 实验考察了 0.04%氨水-乙腈、0.01%甲酸-乙腈、0.01%三氟乙酸-乙腈、0.04%三乙胺-乙腈不同流动相体系, 采用相同的梯度洗脱程序, 研究对标准溶液中各目标物质的分离情况, 其色谱图见图 2。结果发现, 7 种糖类物质在弱酸性条件下, 峰形会出现开叉现象, 特别是乳果糖和蔗糖分离度达不到要求, 而在碱性条件中, 7 种目标物质都具有良好的峰形, 且乳果糖和蔗糖的分离度能达到要求。在同等梯度洗脱程序下, 0.04%氨水-乙腈流动相体系比 0.04%三乙胺-乙腈流动相体系的分离度更好, 和水-乙腈的分离效果无明显差别。由于流动相体系中加入弱碱类物质, 可以保护糖柱中的氨基, 减缓氨基脱落, 延长柱子的使用寿命, 故本实验采用 0.04%氨水-乙腈作为流动相。

3.2 ELSD 条件的确定

蒸发光检测器影响目标物质响应的 2 个重要因素是漂移管温度, 载气流速和增益值。漂移管的温度需能够清除所有溶剂, 漂移管温度过低, 则溶剂清除不彻底, 基线噪音大, 漂移管温度过高, 会使样品快速蒸发, 产生颗粒

大小不均一,导致灵敏度降低。Alltech ELSD 3300 蒸发光检测器是一款低温型检测器,其常用温度范围为 40~60 °C。载气流速对目标物响应值也有影响。载气流速大,响应值

会减小,载气流速低,流动相未完全蒸发,噪音变大。增益值与光散射信号之间有线性关系,增益值高,目标物响应值会变高,同时基线也会变大。综上所述,本



注: a. 0.01% 甲酸-乙腈; b. 0.04% 氨水-乙腈; c. 0.04% 三乙胺-乙腈; d. 0.01% 三氟乙酸-乙腈。

图2 标准溶液在不同流动相体系中的色谱图

Fig.2 Chromatogram of standard solution in different mobile phase systems

文考察以下几个条件: ①ELSD 雾化温度 40 °C, 气流量 1.0 L/min, ②ELSD 雾化温度 40 °C, 气流量 1.5 L/min, ③ELSD 雾化温度 40 °C, 气流量 2.0 L/min, ④ELSD 雾化温度 45 °C, 气流量 1.5 L/min, ⑤ELSD 雾化温度 45 °C, 气流量 2.0 L/min, ⑥ELSD 雾化温度 50 °C, 气流量 1.5 L/min, ⑦ELSD 雾化温度 50 °C, 气流量 2.0 L/min 等几个条件对混合标准溶液中 7 种糖类物质的影响, 见表 2, 可知在气流量 1.0~2.0 L/min 的范围内, ELSD 雾化温度相同时, 气流量越小, 各物质的响应值越大。在同等气流量下, ELSD 雾化的温度越低, 7 种目标物的响应值也越高。综合考虑基线噪音、峰形等, 本试验选择 ELSD 雾化温度 40 °C, 气流量 1.5 L/min 作为最佳条件。

综上所述, 本实验采用的条件为: 色谱柱: prevail carbohydrate ES 5U(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 柱温: 30°C; 进样量: 10 μL; 检测器: 蒸发光散射检测器(ELSD); 雾化温度为 40 °C; 增益: 1; 氮气(纯度为 99.999%): 1.5 L/min。流动相采用梯度洗脱程序。

3.3 样品前处理条件的确定

3.3.1 提取溶剂的考察

根据 7 种糖的理化性质, 本试验考察以水、30%甲醇

水溶液、50%甲醇水溶液、70%甲醇水溶液, 30%乙醇水溶液、50%乙醇水溶液、70%乙醇水溶液等 7 种不同提取溶剂对样品的提取效率的影响。具体实验方法如下: 分别称取阴性样品 10 g 置于 25 mL 量瓶中, 加入混合标准溶液 2.5 mL, 加入 10 mL 上述考察的提取溶剂, 超声 15 min, 用水定容至刻度, 摇匀, 过 PTFE 0.45 μm 滤膜后, 上机测定, 以回收率为参考指标, 考察各提取溶剂的影响, 结果见表 3, 由于某些物质在甲醇和乙醇中的溶解度比较低, 采用不同提取溶剂, 会导致目标物的峰面积不同, 故本实验采用水作为提取溶剂。

沉淀剂的选择。本文比较了乙腈、甲醇、乙酸锌溶液和亚铁氰化钾作为沉淀剂, 由于可乐、苏打水这些样品本身的蛋白质含量都很低, 3 种蛋白沉淀剂对各物质响应值的影响并不明显。在平常的工作中, 考虑到乙腈、甲醇对蛋白类饮料的沉淀效果不好, 故采用乙酸锌溶液和亚铁氰化钾复合沉淀剂可能效果更好。考虑到复合沉淀剂对色谱柱, 以及对蒸发光检测器的伤害, 本实验中可乐、汽水等标识无糖饮料的样品, 不需沉淀蛋白。

3.3.2 滤膜的考察

考察了聚四氟乙烯滤膜(poly tetra fluoro ethylene ptfe,

PTFE)、尼龙 66 滤膜、聚丙烯滤膜(polypropylene, GHP)、聚四偏氟乙烯滤膜(poly vinylidene fluoride, PVDF)、聚醚砜滤膜(polyethersulfone, PES)5 种滤膜, 对各物质回收率的影响。具体实验方法如下: 称取阴性样品 10 g 置于 25 mL 量瓶中, 加入混合标准溶液 2.5 mL, 加水 10 mL 作为提取溶剂, 超声 15 min, 用水定容至刻度, 摇匀, 过上述滤膜后, 上机测定, 以各物质回收率为参考指标, 结果见表 4, 最后选择四氟乙烯滤膜。

表 2 ELSD 在不同蒸发光温度流量条件下 7 种糖类的响应值

Table 2 Responses of 7 kinds of sugars standard solution under different evaporating light temperature and flows

糖类名称	40 °C, 1.0 L/min	40 °C, 1.5 L/min	40 °C, 2.0 L/min	45 °C, 1.5 L/min	45 °C, 2.0 L/min	50 °C, 1.5 L/min	50 °C, 2.0 L/min
三氯蔗糖	2293	1466	976	1355	884	1342	938
木糖醇	2415	1612	1045	1349	911	1303	961
果糖	2394	1436	914	1223	801	1167	840
甘露糖醇	3136	2108	1372	1807	1200	1755	1309
葡萄糖	1655	925	537	787	476	778	594
乳果糖	5594	3744	2559	3227	2264	3443	2336
蔗糖	3771	2225	1496	1918	1277	2076	1394

表 3 不同提取溶剂下 7 种目标物的回收率结果(%)

Table 3 Recovery results of 7 kinds of targets in different extraction solvents(%)

糖类名称	水	30%甲醇溶液	50%甲醇溶液	70%甲醇溶液	30%乙醇溶液	50%乙醇溶液	70%乙醇溶液
三氯蔗糖	97.7	90.4	80.1	73.7	88.5	83.9	67.0
木糖醇	94.8	88.9	86.4	84.4	88.2	86.4	86.4
果糖	95.7	93.5	93.7	94.8	93.3	94.4	93.3
甘露糖醇	95.8	90.1	76.7	72.5	90.9	83.4	75.5
葡萄糖	94.4	87.2	80.2	71.5	85.2	81.5	73.8
乳果糖	98.5	93.3	90.9	80.5	85.9	82.0	74.4
蔗糖	96.7	88.0	88.6	79.3	91.5	86.9	81.1

表 4 不同滤膜下 7 种目标物的回收率结果

Table 4 Recovery results of 7 kinds of targets in different filter

糖类名称	PTFE	尼龙 66	GHP	PVDF	PES
三氯蔗糖	97.7	88.8	75.1	93.1	83.1
木糖醇	94.8	86.2	72.9	90.3	80.6
果糖	95.7	87.0	73.6	91.1	81.3
甘露糖醇	95.8	87.1	73.7	91.2	81.5
葡萄糖	94.4	85.7	72.6	89.8	80.2
乳果糖	98.5	89.6	75.8	93.8	83.8
蔗糖	96.7	87.9	74.4	92.1	82.2

3.4 线性回归方程、相关系数、定量限和检出限

将混合标准工作曲线溶液注入到色谱仪中, 以各标准物质的质量浓度的对数值(X)为横坐标, 峰面积的对数值(Y)为纵坐标, 进行线性回归, 得到 7 种糖类物质标准品的线性回归方程和相关系数, 由表 5 可知, 各标准溶液的浓度在 32.6~1801.7 μg/mL 间呈线性关系, 相关系数均大

于 0.995, 表明 7 种糖类物质在各自线性范围内, 其质量浓度的对数值与峰面积的对数值之间均具有良好的线性关系, 表明该方法能够实现这 7 种糖类物质含量的测定。

精密称取 10.0 g 样品①置于 25 mL 量瓶中, 分别加入标准储备液 2.5 mL, 加水超声 15 min 后, 用水定容至刻度, 过 PTFE 0.45 μm 滤膜后, 上机测定。检出限和定量限的计算公示如(1)、(2), 由表 5 可知, 7 种糖的检出限在 5~16 mg/kg, 定量限在 15~55 mg/kg 之间。

检出限=

$$\frac{\text{对照品加入量} \times 3}{\text{样品取样量} \times \text{信噪比}(S/N)}$$

(1)

定量限=

$$\frac{\text{对照品加入量} \times 10}{\text{样品取样量} \times \text{信噪比}(S/N)}$$

(2)

3.5 方法的回收率实验

精密称取 10.0 g 样品①置于 25 mL 量瓶中, 共 9 份, 分别加入一定量的标准储备液, 做低、中、高水平回收试验, 加水超声 15 min 后, 用水定容至刻度, 过 PTFE 0.45 μm 滤膜后, 上机测定, 计算加标回收率及相对标准偏差(relative standard deviation, RSD), 回收率(%)=(测定含量-样品含

量)/加入量×100, 样品含量(mg)=样品中各组分含量(mg/kg)×取样量/1000。结果由表 6 可知, 7 种糖的回收率在 71.8%~114.4% 之 间 , 相 对 标 准 偏 差 (relative standard deviation, RSD)在 0.6%~4.9%之间, 说明该方法具有良好的回收率与精密度。乳果糖和蔗糖的回收率相对来说较高,

而其他几种组分的糖回收率相对较低, 从几种组分的化学性质来说, 均易溶于水, 但是由于结构上的差异, 导致各组分在样品中的基质效应不一样, 基质效应分为基质增强效应和基质减弱效应, 至于样品对某个组分的基质效应是增强效应还是减弱效应, 还需进行深入的研究。

表 5 7 种糖的线性范围、回归方程、相关系数
Table 5 Linear ranges, regression equations, correlation coefficients of 7 kinds of sugars

糖类名称	线性范围/(μg/mL)	回归方程	相关系数	检出限/(mg/kg)	定量限/(mg/kg)
三氯蔗糖	32.6 ~ 782.0	Y= 1.0658X + 0.6287	0.9995	5	15
木糖醇	35.4 ~ 850.1	Y = 1.0243X + 0.7122	0.9985	7	22
果糖	37.4 ~ 896.6	Y = 1.0691X + 0.5516	0.9989	7	24
甘露糖醇	49.4 ~ 1184.4	Y = 1.0509X + 0.6175	0.9968	9	30
葡萄糖	65.2 ~ 1566.2	Y = 1.0896X + 0.1908	0.9970	16	55
乳果糖	75.0 ~ 1801.7	Y = 1.1690X + 0.1593	0.9986	7	22
蔗糖	49.8 ~ 1195.2	Y = 1.1233X+ 0.2907	0.9987	6	18

表 6 7 种糖的回收率
Table 6 Recovery rates for 7 kinds of sugars

名称	低水平			中水平			高水平		
	对照品 加入量/mg	回收率 /%	平均回收率/% (相对标准偏差/%)	对照品 加入量/mg	回收率 /%	平均回收率/% (相对标准偏差/%)	对照品 加入量/mg	回收率 /%	平均回收率/% (相对标准偏差/%)
三氯蔗糖	1.304	91.72	90.3 (1.4)	3.911	87.91	88.2 (0.4)	5.214	82.82	83.9 (1.3)
		89.34			88.55			83.85	
		89.80			88.03			85.00	
木糖醇	1.417	71.13	72.9 (3.6)	4.25	85.87	86.2 (0.4)	5.667	91.39	89.8 (1.5)
		75.85			86.55			88.94	
		71.63			86.31			89.12	
果糖	1.494	70.18	71.8 (3.1)	4.483	85.39	85.3 (0.2)	5.978	86.36	85.3 (1.1)
		70.92			85.10			84.46	
		74.30			85.39			85.17	
甘露糖醇	1.974	72.01	72.3 (0.6)	5.922	86.19	86.3 (0.2)	7.896	90.64	89.4 (1.2)
		72.12			86.46			88.86	
		72.75			86.33			88.79	
葡萄糖	2.61	73.94	73.1 (1.1)	7.831	75.10	75.0 (0.5)	10.442	77.77	77.7 (0.6)
		73.05			74.62			78.15	
		72.27			75.32			77.15	
乳果糖	3.003	102.18	103.4 (1.5)	9.008	121.25	114.6 (4.9)	12.011	113.48	112.3 (1.5)
		105.22			111.67			110.40	
		102.90			111.01			113.06	
蔗糖	1.992	90.73	89.3 (1.5)	5.976	100.19	100.7 (0.4)	7.968	100.99	100.5 (0.5)
		89.18			101.07			100.06	
		88.08			100.76			100.41	

3.6 样品检测结果

按优化色谱条件分别对市售无糖饮料进行分析检测，分析结果如表 7，各样品中糖类物质的含量不相同，样品⑤种含有果糖、葡萄糖、乳果糖、蔗糖等。根据 GB 28050-2011《食

品安全国家标准 预包装食品营养标签通则》规定^[1]，“无糖或不含糖”是指固体或液体食品中每 100 g 或 100 mL 的含糖量不高于 0.5 g，样品①到样品④均属于无糖食品，而样品⑤几个糖组分含量之和约为 0.128 g/100 g，仍属于无糖食品。

表 7 6 种样品中各糖类组分的含量
Table 7 Content of sugar component in 6 kinds of samples

样品	三氯蔗糖/(mg/kg)	木糖醇/(mg/kg)	果糖/(mg/kg)	甘露糖醇/(mg/kg)	葡萄糖/(mg/kg)	乳果糖/(mg/kg)	蔗糖/(mg/kg)
样品①	89.30	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
样品②	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	80.0
样品③	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
样品④	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出
样品⑤	未检出	未检出	210.00	291.60	139.40	261.10	378.90

4 结 论

本实验建立了高效液相色谱-蒸发光散射(HPLC-ELSD)同时检测市售饮料中三氯蔗糖，木糖醇，果糖，甘露糖醇，葡萄糖，乳果糖，蔗糖的方法。结果表明，七种糖类物质在 0.0326~1.8017 mg/mL 质量浓度范围内与色谱峰面积呈良好的线性关系(相关系数 r 均 $\geq$ 0.995);精密度实验结果相对标准偏差均 $<$ 5%，回收率为 68.9%~114.7%。本实以市售 6 种饮料为研究对象，运用本方法能够在短时间内测定某种无糖饮料中多种糖类物质的含量。

参考文献

[1] GB 28050-2011 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则[S].
GB 28050-2011 National food safety standards-Prepackaged food nutrition labeling rules [S].

[2] 陈玉宏, 陈炳灿. 滴定法测定食品添加剂中三氯蔗糖含量[J]. 预防医学论坛, 2007, 13(5): 445-446.
Chen YH, Chen BC. Determination of the content of trichlorosucrose in food additive with titration [J]. Prev Med Trib, 2007, 13(5): 445-446.

[3] 綦翠华, 李一苇, 张晓伟. 果汁原浆中葡萄糖含量测定的酶电极设计[J]. 食品科学, 2015, 36(14): 111-117.
Qi CH, Li YW, Zhang XW. Development of enzymatic electrode for the detection of glucose in not-from-concentrate (NFC) fruit juices [J]. Food Sci, 2015, 36(14): 111-117.

[4] 林榕. 离子色谱法同时测定食品中糖醇和糖的方法学研究与应用[D]. 天津: 天津大学 2010.
Lin R. Methodology research on determination of sugar alcohols and sugars in food by ion chromatography with application [D]. Tianjin: Tianjin University, 2010.

[5] 于璐, 周光明, 沈洁, 等. 离子交换色谱法测定 10 种热带水果中的葡萄糖、蔗糖和果糖[J]. 食品工业科技, 2016, 37(22): 94-99.
Yu L, Zhou GM, Shen J, et al. Determination of glucose, sucrose and

fructose in 10 kinds of tropical fruits by ion chromatography [J]. Sci Technol Ind, 2016, 37(22): 94-99.

[6] 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 Beijing Technol Bus Univ (Nat Sci Ed), 2011, 29(1): 30-32.

[7] 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. Determination of sucrose, glucose and fructose in honey and wine by ion chromatography [J]. Food Sci, 2010, 31(16): 188-191.

[8] 邵波, 陈梅兰, 金月珠. 离子色谱快速检测壳寡糖含量[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(11): 1973-1977.
Shao B, Chen ML, Jin YZ. Rapid detection chirozan oligochitosan by ion chromatography [J]. Chin J Pharm Anal, 2017, 37(11): 1973-1977.

[9] 陈宁, 张培敏, 吴述超, 等. 离子色谱-柱切换技术同步测定饮料中的三氯蔗糖、葡萄糖、果糖和蔗糖[J]. 色谱, 2016, 34(10): 956-959.
Chen N, Zhang PM, Wu SC, et al. Simultaneous determination of sucralose, glucose, fructose and sucrose in beverage by ion-exchange chromatography with column-switching [J]. Chin J Chromatogr, 2016, 34(10): 956-959.

[10] 蔡凯, 向章敏, 张婕, 等. 气相色谱法同时测定初烤烟叶中的 4 种水溶性糖[J]. 分析试验室, 2012, 31(1): 91-94.
Cai K, Xiang ZM, Zhang J, et al. Determination of water-soluble sugars in curred tobacco with gas chromatography [J]. Chin J Anal Lab, 2012, 31(1): 91-94.

[11] 刘亚攀, 陈璐莹, 张静. 毛细管电泳-紫外检测法同时测定食品中的葡萄糖和多种糖醇[J]. 分析试验室, 2017, 33(9): 1034-1037.
Liu YP, Chen LY, Zhang J. Simultaneous determination of glucose and six sugar alcohols in foods by capillary electrophoresis with ultra-violet detection [J]. Chin J Anal Lab, 2017, 33(9): 1034-1037.

[12] 张欢欢, 李疆, 赵珊, 等. 毛细管区带电泳-间接紫外检测法快速测定食品中乳糖、蔗糖、葡萄糖和果糖[J]. 色谱, 2015, 33(8): 816-821.
Zhang HH, Li J, Zhao S, et al. Rapid determination of lactose, sucrose, glucose and fructose in foods by capillary zone electrophoresis with

- indirect ultraviolet detection [J]. *Chin J Chromatogr*, 2015, 33(8): 816–821.
- [13] 柯润辉, 王丽娟, 安红梅, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法直接测定白酒中 8 种甜味剂[J]. *酿酒科技*, 2016, (5): 107–109.
- Ke RH, Wang LJ, An HM, *et al*. Simultaneous determination of eight sweeteners in baijiu by UPLC-MS/MS [J]. *Liquor-Mak Sci Technol*, 2016, (5): 107–109.
- [14] 牛之瑞, 王秀君, 于毅涛, 等. 液相色谱-质谱联用同时测定白酒中 8 种甜味剂[J]. *食品科学*, 2016, 37(2): 178–181.
- Niu ZR, Wang XJ, Yu YT, *et al*. Determination of 8 sweeteners in spirits by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2016, 37(2): 178–181.
- [15] 王智聪, 沙跃兵, 余笑波, 等. 超高效液相色谱-二极管阵列检测-串联质谱法测定茶叶中 15 种黄酮醇糖苷类化合物[J]. *色谱*, 2015, 33(9): 974–980.
- Wang ZC, Sha YB, Yu XB, *et al*. Determination of flavonol glycosides in tea samples by ultra-highperformance liquid chromatography-photodiode array detection-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2015, 33(9): 974–980.
- [16] 冯海青, 邹君. HPLC-RI 法同时测定食品中 5 种糖的含量[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(16): 148–150.
- Feng HQ, Zou J. Simultaneous determination of five kinds of sugars in food by HPLC-RI [J]. *Food Res Dev*, 2016, 37(16): 148–150.
- [17] 杨勇, 吴琳琳, 罗奕, 等. HPLC-CAD 法测定乳制品中果糖、葡萄糖、蔗糖、乳糖、半乳糖和麦芽糖含量的不确定度评定[J]. *中国食品添加剂*, 2015, (9): 172–180.
- Yang Y, Wu LL, Luo Y, *et al*. Determination of fructose, glucose, sucrose, lactose, galactose and maltose in dairy products by HPLC-CAD method [J]. *Chin Food Add*, 2015, (9): 172–180.
- [18] 屠振华, 朱大洲, 籍保平, 等. 蜂蜜中果糖和葡萄糖近红外检测的差异性分析及优化研究[J]. *分析化学*, 2010, 38(1): 45–50.
- Tu ZH, Zhu DZ, Ji BP, *et al*. Difference analysis and optimization study for determination of fructose and glucose by near infrared spectroscopy [J]. *Chin J Anal Chem*, 2010, 38(1): 45–50.
- [19] GB 5009.8-2016 食品安全国家标准 食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定[S].
- GB 5009.8-2016 National food safety standards-Determination of fructose, glucose, sucrose, maltose and lactose in food [S].

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



韦升坚, 工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: 14275866@qq.com