

离子色谱-脉冲安培法测定饮料中的聚葡萄糖的含量

林冰东, 杨智健, 胥颖*

(可口可乐饮料(上海)有限公司亚太技术中心, 上海 200241)

摘要: **目的** 优化离子色谱-脉冲安培法测定饮料中的聚葡萄糖的含量。**方法** 样品经离心超滤净化, 去除基质干扰, 采用色谱柱分离, 离子色谱-脉冲安培检测器测定, 外标法定量。**结果** 聚葡萄糖在 0.20~2.00 g/L 的浓度范围内呈良好线性关系($r^2 > 0.999$)。方法检出限和定量限分别为 0.01 和 0.03 g/L, 3 个添加水平的平均加标回收率为 90.0%~98.8%, 相对标准偏差为 0.63%~2.36%。同时考察了市场上 10 种不同品类的饮料, 加标回收率为 93.0%~105%。**结论** 本方法样品前处理简单、快速、广泛适用于饮料中添加的聚葡萄糖含量测定。**关键词:** 聚葡萄糖; 饮料; 离心超滤器; 离子色谱脉冲安培检测

Determination of polydextrose in beverage by ion chromatography coupled with pulsed amperometric detection

LIN Bing-Dong, YANG Zhi-Jian, XU Ying*

(Asia Pacific Technical Center, Coca-Cola Beverages (Shanghai) Co., Ltd., Shanghai 200241, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the ion chromatography coupled with pulsed amperometric detection method for the determination of polydextrose in beverage. **Methods** The sample was purified with centrifugal ultrafilter to remove interferences. The analyte was separated and detected by ion chromatography with pulsed amperometric detection. **Results** Under the optimized sample pretreatment conditions, the method showed a good linearity in the concentration range of 0.20–2.00 g/L ($r^2 > 0.999$). The detection and quantitation limits were 0.01 and 0.03 g/L, respectively. The average method recoveries were 90.0%–98.8% and relative standard deviation ranged from 0.63% to 2.36%, for the 3 spiking levels. Meanwhile, 10 commercial products in different beverage categories were tested, and the recoveries ranged from 93.0% to 105%. **Conclusion** This method is simple, rapid, accurate and suitable for the determination of fortified polydextrose in beverages.

KEY WORDS: polydextrose; beverage; centrifugal ultrafilter; ion chromatography with pulsed amperometric detection

1 引言

聚葡萄糖是由葡萄糖和少量山梨醇、柠檬酸缩聚而成的葡萄糖多聚体, 葡萄糖之间主要通过 α -1,6 键相连, 平均

聚合度为 12, 平均分子量为 2000^[1]。聚葡萄糖具有卡路里低和可溶性膳食纤维的特性^[2-5], 近年来作为蔗糖或脂肪的替代物广泛应用于各种食品中^[6-10]。在功能性饮料越来越受到消费者喜好的当今市场, 因聚葡萄糖具有较高的热

*通讯作者: 胥颖, 博士, 主要研究方向为食品质量和安全检测。E-mail: yxu@coca-cola.com

*Corresponding author: XU Ying, Ph.D, Coca-Cola Beverages (Shanghai) Co., Ltd., Asia Pacific Technical Center, No. 1188, Ziyue Road, Minhang District, Shanghai 200241, China. E-mail: yxu@coca-cola.com

稳定性, 良好的水溶性和分散性, 是强化膳食纤维饮料的理想纤维来源, 可以增强饱腹感, 减少热量的摄入及作为益生元改善肠胃功能等作用^[11]。此外, 聚葡萄糖添加到饮料中可以改善无糖和低糖饮料的口感^[12]。

20 世纪 90 年代就曾有相关文献报道聚葡萄糖含量的检测方法^[13]。为了提高检测方法的选择性和灵敏度, 2000 年 Craig 等^[14]开发了基于高效阴离子交换色谱和脉冲安培检测 (high performance anion exchange chromatography-pulsed amperometric detection, HPAEC-PAD) 的定量方法, 用于测定食品中的聚葡萄糖, 该方法后来被采纳为国际标准方法 AOAC 2000.11^[15]。2016 年版的国标 GB 5009.245-2016《食品安全国家标准 食品中聚葡萄糖的测定》^[16]与 AOAC 方法原理基本一致。以上 2 种标准方法中, 样品前处理过程因需考虑各种不同种类的食品基质的影响, 采用了比较复杂的样品处理过程, 整个样品处理过程耗时较长。2011 年有文章报道^[17], 果汁饮料中的聚葡萄糖可简化前处理中的酶解过程, 但对于富含蛋白质和脂肪的饮料基质还需要做进一步研究。

本研究建立了饮料中的聚葡萄糖定量分析的样品制备过程, 与标准方法中的样品前处理步骤相比, 无需采用热提取和酶解的步骤, 直接通过超滤离心的方法可有效提取饮料中的聚葡萄糖, 进行定量分析。同时, 本研究通过进行优化样品前处理的定量测试方法与国标方法的比对实验, 对方法的等效性进行了评估, 以期测定饮料中的聚葡萄糖的含量提供参考。

2 材料与方 法

2.1 材料和仪器

聚葡萄糖(FCC 级, 含量 97.4%, 美国 Danisco 公司); 氢氧化钠水溶液(50%, w/w, 离子色谱专用, 美国 Fisher Chemical 公司); 无水乙酸钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 实验用水经 Milli-Q 纯水系统净化处理。

从市场上选取不同品牌的添加聚葡萄糖的含乳饮料、果汁饮料、茶饮料、牛奶和未添加聚葡萄糖的碳酸饮料、运动饮料、包装饮用水和咖啡饮料进行分析测定。

Thermo Dionex ICS-5000⁺离子色谱配脉冲安培检测器(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); XS204 电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); Centrifuge 5430R 离心机(德国 Eppendorf 公司); SW22 振荡水浴槽(北京优莱博技术有限公司); Amicon[®]Ultra 离心过滤器(聚醚砜膜, 标称分子量极限为 100000 Da, 容量为 2 mL, 美国 Millipore 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 标准储备液的配制

准确称量聚葡萄糖标准品 1.0267 g(精确至 0.1 mg), 加 50.0 mL 水溶解, 置于 100 mL 的棕色容量瓶中, 超声处

理 10 min, 用超纯水稀释至刻度。此标准储备液浓度为 10.0 g/L。

2.2.2 样品的前处理

取 2 mL 经 10 倍稀释的样品溶液于超滤离心管中, 在 6400 r/min 条件下离心, 牛奶和含乳饮料离心 40 min, 果汁饮料及其他饮料样品离心 20 min。取超滤液, 用超纯水进行稀释后上机测定。

2.2.3 离子色谱条件

色谱柱: 分析柱 Thermo Dionex CarboPac[™] PA1 (4 mm×250 mm, BioLCTM Analytical) 和保护柱(4 mm×50 mm, BioLC[™] Analytical), 柱温: 30 °C, 流速: 1.2 mL/min, 进样量: 25 μL。流动相: A 为 0.15 mol/L NaOH 水溶液, B 为 0.15 mol/L NaOH 和 0.05 mol/L 乙酸钠水溶液。色谱梯度洗脱程序: 0~10 min, 30% B; 10.1~15.0 min, 30%~100% B; 15.1~20.0 min, 100% B; 20.1~25 min, 30% B。脉冲安培检测器的脉冲选择分析标准碳水化合物四重波形, 时间和电压参数: 0.00 s, 0.10 V; 0.20 s, 0.10 V, 积分开启; 0.40 s, 0.10 V, 积分关闭; 0.41 s, -2.00 V; 0.42 s, -2.00 V; 0.43 s, 0.60 V; 0.44 s, -0.10 V; 0.50 s, -0.10 V。Chromeleon 6.8 软件(美国 Thermo Scientific 公司)用于系统控制和数据处理。

3 结果与分析

3.1 样品的选择

本研究在方法优化和方法验证时, 为考察方法对各种饮料样品的广泛适用性, 选取添加聚葡萄糖的果汁饮料(代表成分相对简单的饮料品类, 如碳酸饮料、茶饮料和运动饮料等)和含乳饮料(代表含有脂肪和蛋白质成分的饮料品类, 如咖啡饮料、植物饮料等)作为目标研究对象。考虑到含乳饮料的脂肪和蛋白质含量变化范围较大, 分别选取了 2 个不同的样品: 样品前处理优化时选取了蛋白质含量较高的含乳饮料(蛋白质含量 6.9%, 脂肪含量 1.5%); 方法验证阶段选取了牛奶(蛋白质和脂肪含量均约 3.5%)作为脂肪含量较高的含乳饮料代表。

3.2 样品前处理的优化

3.2.1 前处理步骤简化

标准方法中样品经 80 °C 热水浸提后超滤所得溶液使用异淀粉酶、淀粉葡萄糖苷酶和果糖酶去除食品中的低聚糖(主要是甘露聚糖和果聚糖)对聚葡萄糖检测的干扰, 可能因为标准方法针对更复杂的基质需要更完备的前处理过程以减少基质的干扰, 使得样品处理过程对基质相对简单的样品来说过于复杂耗时。本研究评估了热提取和酶解步骤的必要性, 试图简化样品处理过程。实验结果如表 1 所示, 样品分别经过标准方法(热提取-超滤-酶解)和简化方法(直接超滤)的前处理过程, 测得样品中的聚葡萄糖含量的结果相对标准偏差在 1.5% 以内。

表 1 标准方法和简化方法测定结果比较
Table 1 Comparison of testing results using standard method and simplified method

样品	国标方法热水浸提-超滤-酶解/(g/L)	简化方法直接超滤法/(g/L)	相对标准偏差偏差/%
果汁饮料	31.9	31.4	1.1
	30.4	30.5	
	30.2	30.7	
	10.7	10.7	
含乳饮料	10.7	10.7	0.5
	10.7	10.7	
	10.5	10.6	

3.2.2 超滤离心时间优化

超滤是样品前处理的关键步骤,该步骤用于去除样品中高分子量干扰成分如蛋白质和其他聚合物。AOAC 2000.11 方法中将离心时间设定为至少 45 min(6400 r/min); GB 5009.245-2016 方法中将离心时间设定为至少 30 min(10000 r/min)。本研究对样品稀释后直接超滤离心处理,设定转速为 6400 r/min,考察了不同离心时间对聚葡萄糖含量的影响。如表 2 所示,对于果汁饮料,离心时间 20 min 与更长时间得到的检测结果无明显差异;含乳饮料中的聚葡萄糖含量测定结果,随着离心时间的增加,含量从 9.69 g/L(离心时间 20 min)增加到 10.3 g/L(离心时间 40 min)。为了确保提取回收率,满足实验要求,同时缩短检测时间,提高检测效率,对果汁饮料为代表的简单基质饮料选用 20 min 超滤离心时间,对含乳饮料为代表的含脂肪和蛋白质的饮料则选用 40 min 超滤离心时间。

3.3 方法学考察

遵循 AOAC 验证准则对分析方法进行验证^[18],评

估了以下参数:选择性、线性关系、检出限(limit of detection, LOD)、定量限(limit of quantitation, LOQ)、重复性、准确性。

表 2 超滤离心时间对聚葡萄糖含量测定的影响(g/L)

Table 2 Effect of ultrafiltration centrifugal time on polydextrose content determination (g/L)

样品	20 min	30 min	40 min	50 min
果汁饮料	31.6	30.8	31.0	31.0
含乳饮料	9.69	9.95	10.3	10.3

3.3.1 方法选择性

按照本方法得到聚葡萄糖保留时间在 14.2 min。取果汁饮料和牛奶,进行加标实验,添加水平为 0.75 g/L,测得加标回收率分别为 95.7%和 98.8%,表明该 2 种饮料样品的组分对聚葡萄糖的测定无明显干扰。果汁饮料中和牛奶中聚葡萄糖的色谱图见图 1 和图 2,物质峰型明显。

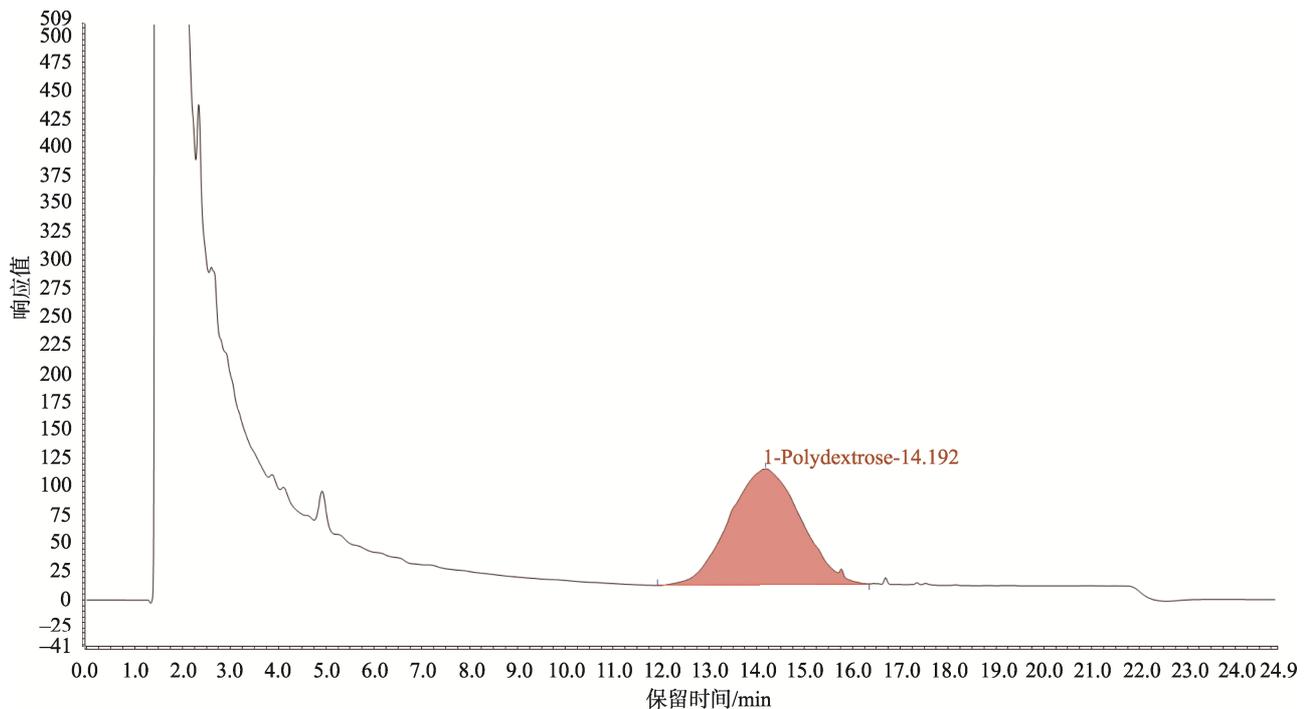


图 1 果汁饮料中聚葡萄糖的色谱图

Fig.1 Chromatography of polydextrose in the juice beverage

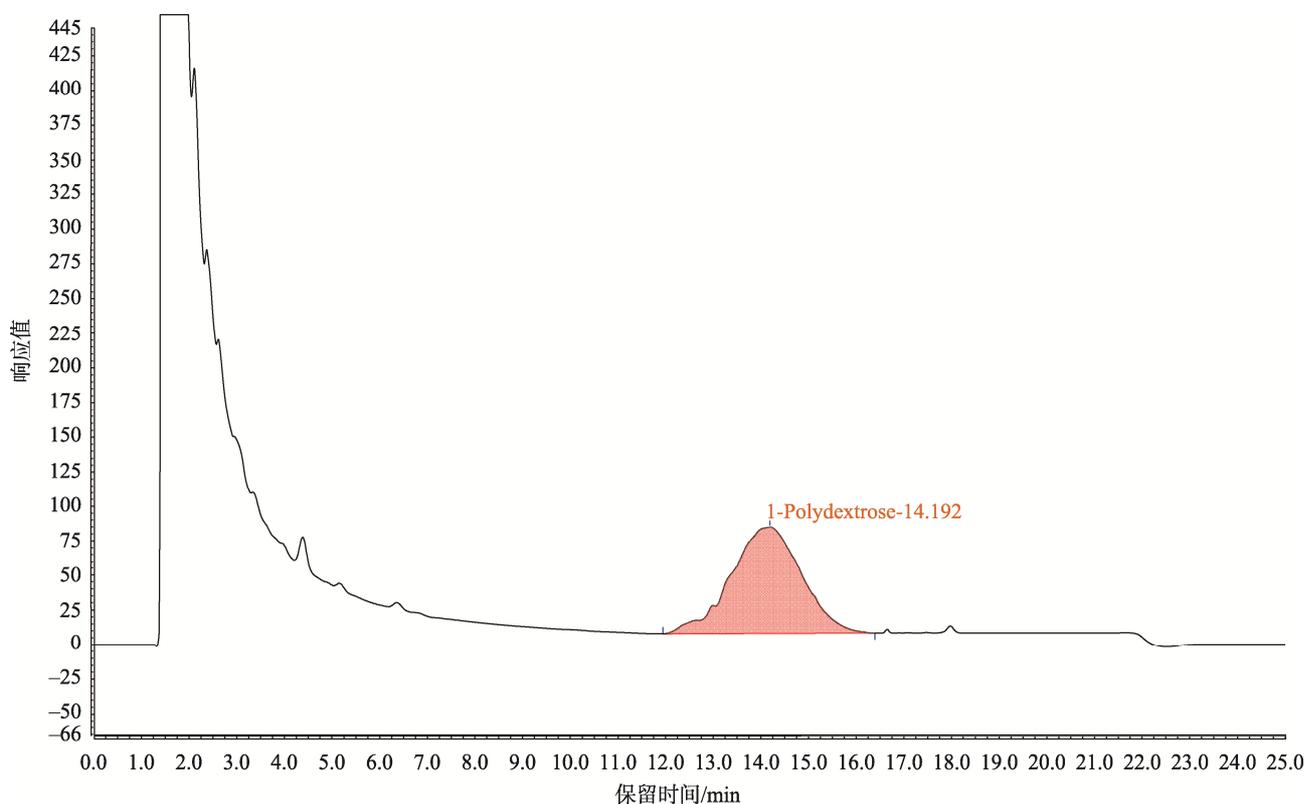


图 2 牛奶中聚葡萄糖的色谱图

Fig.2 Chromatography of polydextrose in the milk drink

3.3.2 方法线性范围、检出限和定量限

用纯水稀释标准储备液, 配制质量浓度为 0.20、0.50、1.00、1.50 和 2.00 g/L 的系列标准工作液。按浓度从低到高依次进样测定, 以峰面积(Y)为纵坐标, 以聚葡萄糖质量浓度(X)为横坐标, 绘制标准曲线, 得到线性回归方程为 $Y=189.707X+8.401$, 相关系数为 $r^2=0.99924$ 。聚葡萄糖在 0.20~2.00 g/L 浓度范围线性关系良好。

取果汁饮料和牛奶, 稀释到低浓度, 分别为 0.038 和 0.042 g/L, 平行测定 7 次得到标准偏差(σ), 根据 $LOD=3\sigma$ 和 $LOQ=10\sigma$ 计算得到检测限和定量限一致, 分别是 0.01 和 0.03 g/L, 方法灵敏度高。

3.3.3 方法精密度和准确度

取果汁饮料和牛奶, 进行加标实验, 添加水平分别为 0.50、0.75 和 1.00 g/L, 每个添加水平平行测定 7 次, 计算平均加标回收率和相对标准偏差。如表 3 所示, 果汁饮料中的聚葡萄糖的平均回收率为 90.0%~91.9%, 平均相对标

准偏差为 1.16%~1.56%。牛奶中的聚葡萄糖的平均回收率为 91.6%~98.8%, 相对标准偏差为 0.63%~2.36%。结果表明本方法重复性和回收率良好。

3.4 实际样品检测

3.4.1 阳性样品

对市场上不同类别的添加聚葡萄糖的饮料进行测定, 充分考虑到样品的多样性, 尤其是不同蛋白质和脂肪含量的含乳饮料, 考察本方法的适用性。需要说明的是, 根据 GB 5009.245-2016, 为保证结果的准确性, 如能确定添加的聚葡萄糖来源, 应选用食品中添加的聚葡萄糖同源的参考物质。在本研究中, 因无法确认各饮料中使用的聚葡萄糖来源, 统一使用 Danisco 原料作为检测用标样, 实测含量与真实含量可能存在一定的误差, 但总体来说, 如表 4 所示, 聚葡萄糖的检测值和标签宣称值基本相符。另外, 添加水平为 1.0 g/L 时, 加标回收率为 93%~105%。

表 3 果汁饮料和牛奶中的聚葡萄糖的平均回收率和精密度($n=7$)
Table 3 Average recoveries and accuracy of polydextrose in juice drink and milk ($n=7$)

样品	低浓度加标(0.5 g/L)		中浓度加标(0.75 g/L)		高浓度加标(1.0 g/L)	
	回收率/%	相对标准偏差/%	回收率/%	相对标准偏差/%	回收率/%	平均相对标准偏差/%
果汁饮料	90.2	1.56	91.9	1.46	90.0	1.16
牛奶	98.5	1.45	98.8	2.36	91.6	0.63

表 4 实际样品中的聚葡萄糖的测定
Table 4 Determination of polydextrose content in real samples

样品	蛋白质含量/%	脂肪含量/%	宣称值/(g/100 mL)	实际测得含量/(g/100 mL)	回收率/%	
果汁饮料	1	0.00	0.00	2.50	3.00	93.0
	2	0.00	0.00	3.00	4.45	97.6
含乳饮料	1	1.10	0.00	1.48	1.38	105.0
	2	0.80	0.00	1.00	0.92	100.0
	3	6.90	1.50	1.30	1.07	96.2
茶饮料	1	0.00	0.00	1.50	1.71	97.2

3.4.2 未添加聚葡萄糖的样品

取碳酸饮料、运动饮料、咖啡饮料和包装饮用水 4 种未添加聚葡萄糖的饮料样品为研究对象, 在饮料中添加 1.0 g/L 的聚葡萄糖以评估方法的准确性。如表 5 所示, 4 种饮料中的葡萄糖的回收率为 98.0%~105%, 准确度良好。因此, 本方法可广泛适用于不同饮料中的聚葡萄糖检测。

表 5 其他饮料中的聚葡萄糖的回收率
Table 5 Recoveries in other beverage categories

样品	类型	聚葡萄糖含量/(g/L)	回收率/%
碳酸饮料	空白	0.00	103
	加标	1.03	
运动饮料	空白	0.00	104
	加标	1.04	
咖啡饮料	空白	0.00	105
	加标	1.05	
包装饮用水	空白	0.00	98.0
	加标	0.98	

4 结 论

本研究基于标准方法 AOAC 2000.11 和 GB 5009.245-2016, 对前处理方法进行了优化, 建立了简单高效的饮料中的聚葡萄糖的检测方法。经实验验证该方法准确且重现性良好, 可用于添加聚葡萄糖的各类饮料的测试需求, 如: 包装饮用水、咖啡饮料、运动饮料、茶、乳饮料和果汁饮料等, 在很大程度上提高了工作效率, 降低了检测成本。对于同时添加聚葡萄糖和其他低分子量膳食纤维的饮料, 考虑到不同膳食纤维之间可能存在的干扰, 还需做进一步研究。

参考文献

- [1] Achour L, Flourie B, Briet F, *et al.* Gastrointestinal effects and energy value of polydextrose in healthy nonobese men [J]. *Am J Clin Nutr*, 1994, 59(6): 1362-1368.
- [2] Ibarra A, Astbury NM, Olli K, *et al.* Effects of polydextrose on different levels of energy intake: A systematic review and meta-analysis [J]. *Appetite*, 2015, (87): 30-37.
- [3] Auerbach MH, Craig SA, Howlett JF, *et al.* Caloric availability of polydextrose [J]. *Nutr Rev*, 2007, 65(12): 544-549.
- [4] Cummings JH. Fermentation in the human large intestine: Evidence and implications for health [J]. *Lancet*, 1983, (11): 1206-1208.
- [5] 杨海军, 辛修峰, 黄婧. 水溶性膳食纤维聚葡萄糖的市场现状及发展应用[J]. *发酵科技通讯*, 2008, 37(3): 50-52.
Yang HJ, Xin XF, Huang J. Market status and application of water-soluble dietary fiber polyglucose [J]. *Ferment Sci Technol Newslett*, 2008, 37(3): 50-52.
- [6] 朱彤, 许杰. 聚葡萄糖作为水溶性膳食纤维的发展及法规现状[C]// 全国食品添加剂生产应用技术展示研讨会, 中国食品添加剂和配料协会, 2009: 48-51.
Zhu T, Xu J. Development of polydextrose as water-soluble dietary fiber and status quo of regulations [C]// National exhibition seminar on production and application technology of food additives, China Association of Food Additives and Ingredients, 2009: 48-51.
- [7] Kocer D, Hicsasmaz Z, Bayindirli A, *et al.* Bubble and pore formation of the high-ratio cake formulation with polydextrose as a sugar and fat-replacer [J]. *J Food Eng*, 2007, 78(3): 953-964.
- [8] Hull S, Re R, Tiihonen K, *et al.* Consuming polydextrose in a mid-morning snack increases acute satiety measurements and reduces subsequent energy intake at lunch in healthy human subjects [J]. *Appetite*, 2012, 59: 706-712.
- [9] Roger PA, Emmanuel OA, Koen D. Optimization of inulin and polydextrose mixtures as sucrose replacers during sugar-free chocolate manufacture—Rheological, microstructure and physical quality characteristics [J]. *J Food Eng*, 2014, (126): 35-42.
- [10] Moriano ME, Cappa C, Alamprese C. Reduced-fat soft-dough biscuits: Multivariate effects of polydextrose and resistant starch on dough rheology and biscuit quality [J]. *J Cere Sci*, 2018, (81): 171-178.
- [11] Akbaria M, Eskandarib MH, Davoudic Z. Application and functions of fat replacers in low-fat ice cream: A review [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2019, (86): 34-40.
- [12] 黄婧, 杨海军, 辛修峰. 聚葡萄糖特性及在食品中的应用[J]. *中国食品添加剂*, 2007, (4): 52-56.
Huang J, Yang HJ, Xin XF. Characteristics of polydextrose and its application in food [J]. *China Food Addit*, 2007, (4): 52-56.

[13] Noffsinger JB, Emery M, Hoch DJ, *et al.* Liquid chromatographic determination of polydextrose in food matrixes [J]. *Assoc Anal Chem*, 1990, 73(1):5153.

[14] Craig SAS, Holden JF, Khaled MY, *et al.* Determination of polydextrose as dietary fiber in foods [J]. *J AOAC Int*, 2000, 83(4):10061012.

[15] AOAC Official Method 2000.11. Polydextrose in foods ion chromatography (First action 2000) [S].

[16] GB 5009.245-2016 食品安全国家标准 食品中聚葡萄糖的测定[S].
GB 5009.245-2016 National food safety standard-Determination of polydextrose in foods [S].

[17] 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.

[18] AOAC Requirements for single laboratory [S].

(责任编辑: 张晓寒)

作者简介



林冰东, 博士, 主要研究方向为饮料中功能性成分分析。
E-mail: blin@coca-cola.com



胥颖, 博士, 主要研究方向为食品质量和安全检测。
E-mail: yxu@coca-cola.com



食品加工工艺优化及应用研究

随之人类对自身健康的关注及生活水平的提高, 加工食品因保持其原色、原味及食品营养成分的优越性备受关注。越来越多的新工艺新方法应用于食品加工业, 尤其是多种工艺的综合利用, 对食品行业的发展起到了巨大的推动作用。

鉴于此, 本刊特别策划“食品加工工艺优化及应用研究”专题, 主要围绕加工工艺优化(提取工艺优化、配方优化、纯化优化、制备优化、响应面法优化等)、食品加工的综合利用及评价等问题展开讨论, 计划在 2021 年 2/3 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 学报主编国家食品安全风险评估中心 吴永宁 研究员特邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力, 综述及研究论文均可。请在 2021 年 1 月 30 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和 E-mail。再次感谢您的关怀与支持!

投稿方式(注明专题食品加工工艺优化及应用研究):

网站: www.chinafoodj.com(备注: 投稿请登录食品安全质量检测学报主页-作者登录-注册投稿-投稿栏目选择“2020 专题: 食品加工工艺优化及应用研究”)

邮箱投稿: E-mail: jfoodsq@126.com(备注: 食品加工工艺优化及应用研究专题投稿)

《食品安全质量检测学报》编辑部