

衍生物气相色谱法测定蔗糖发酵液中的寡果糖

蔡伟民, 刘 红, 孙晓君

(哈尔滨工业大学环境科学与工程系 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 将蔗糖发酵液中的混合糖浆进行三甲基硅烷化衍生后, 利用大口径毛细管柱进行气相色谱分析。实验结果表明, 利用改装的国产气相色谱仪 SP2308, 采用大口径毛细管柱 OV-101, 在选定的色谱条件下, 混合糖浆各组分可得到较好的分离。利用该法对寡果糖进行测定, 重现性好, 具有理想的回收率。

关键词 气相色谱法, 寡果糖, 衍生物

中图分类号: O658 文献标识码: B 文章编号: 1000-8713(2000)01-0088-02

1 前言

寡果糖作为一种新的甜味剂, 由于具有激活体内双歧杆菌、提高人体免疫能力等保健作用而受到国内外学者的重视^[1], 其主要成分为蔗果三糖(GF₂)、蔗果四糖(GF₃)、蔗果五糖(GF₄)。因其沸点较高, 其定性定量分析一般采用高效液相色谱法^[2]。本文利用实验室现有条件, 在对国产气相色谱仪进行改装的基础上, 采用大口径毛细管柱, 用衍生物气相色谱法对蔗糖发酵液中的寡果糖占总糖的质量分数进行了测定。

2 实验部分

2.1 试剂及仪器

试剂: 葡萄糖、果糖、蔗糖、无水吡啶、三甲基氯硅烷、六甲基二硅胶皆为分析纯; N, O-双三甲基氯硅烷三氟乙酰胺、寡果糖皆为色谱纯。

仪器: 电热真空干燥箱(天津实验仪器厂), SP2308 气相色谱仪(北京分析仪器厂), 超声波振荡器(无锡超声电子设备厂)。

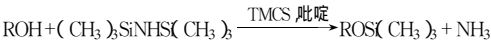
2.2 色谱条件

检测器: FID; 流速: 空气 400 mL/min, 氢气 30 mL/min, 载气(N₂) 15 mL/min, 尾吹 2 mL/min; 分流比 1:5; 检测汽化室温度: 300 °C; 柱温: 130~330 °C; 升温速率: 15 °C/min; 色谱柱: 大口径毛细管柱 OV-101; 进样量: 0.1 μL。

2.3 样品的制备

糖类物质在无水吡啶中溶解后, 以三甲基氯硅烷(TMCS)作为催化剂, 在六甲基二硅胶(HMDS)的作用下形成三甲基硅烷醚衍生物^[3], 其反应方程式

如下:



制备过程如下: ①将样品用真空烘箱在 50 °C 下烘干; ②称取一定量的样品(<10 mg)放到带胶塞的密闭小瓶内, 用 1 mL 注射器吸取 1 mL 无水吡啶并将其与样品混合, 超声波振荡 30 s; ③加入 V(HMDS): V(TMCS)=2:1 的混合液 0.3 mL 及 N, O-双三甲基氯硅烷三氟乙酰胺 0.15 mL, 超声波振荡 30 s; ④在 75~80 °C 的水浴中加热 3 min, 室温下静置 15 min, 即得到三甲基硅烷醚衍生物。

3 结果与讨论

3.1 标准曲线

称取经真空烘干至恒重的葡萄糖、果糖、蔗糖、寡果糖各 50.0 mg, 用蒸馏水将其溶解于 50.00 mL 的容量瓶中。用移液管分别移取 2.00, 4.00, 6.00, 8.00, 10.00 mL 的糖液于带胶塞的小瓶内, 并在真空烘箱内 50 °C 下烘干。取出糖浆进行衍生化处理, 并通过气相色谱仪进行检测, 对各组分的峰高(X, cm)和相应的质量浓度(Y, g/L)进行线性回归。

由于所测糖液混合物中 GF₃ 含量较少, GF₄ 未检出, 因此仅对 GF₂ 进行了标准曲线绘制。各组分的线性回归方程为: 果糖 $Y = 0.075 + 0.801X$, $r = 0.994$; 葡萄糖 $Y = 0.070 + 1.376X$, $r = 0.992$; 蔗糖 $Y = 0.021 + 0.505X$, $r = 0.997$; GF₂ $Y = 0.073 + 0.794X$, $r = 0.993$ 。

3.2 测定结果及精密度

在 2.2 项的色谱条件下, 对糖浆的各组分进行了气相色谱分析, 其色谱图如图 1 所示。

收稿日期: 1998-09-13; 修回日期: 1999-05-24

作者简介: 蔡伟民(1946-)男, 教授, 博士生导师。电话: (0451) 6416087; 刘红(1973-)女, 硕士, 现在香港大学攻读博士学位。E-mail: liuhonglf@yahoo.com。

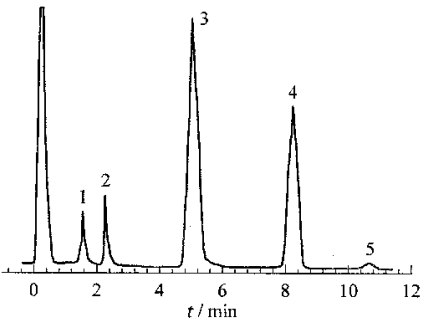


图 1 糖浆的气相色谱图

Fig. 1 Gas chromatogram of sugars

1. 果糖 2. 葡萄糖 3. 蔗糖 4. GF₂ 5. GF₃.
1. fructose 2. glucose 3. sucrose 4. GF₂ 5. GF₃.

图 1 的结果表明 ,在所选择的气相色谱条件下 ,糖浆中各组分可得到较好的分离。各组分占总糖的

质量分数及方法的精密度如表 1 所示。

表 1 蔗糖发酵液中的各组分占总糖的质量分数

Table 1 Mass fractions of sugars in fermented sucrose(w ,%)				
No.	果糖 Fructose	葡萄糖 Glucose	蔗糖 Sucrose	GF ₂
1	11.13	23.31	31.01	34.54
2	11.13	23.33	30.99	34.54
3	11.19	23.34	30.91	34.56
4	11.13	23.35	30.94	34.59
5	11.19	23.28	30.98	34.55
6	11.12	23.37	30.92	34.59
X	11.15	23.33	30.96	34.56
S	0.033	0.032	0.041	0.023
CV	0.4	0.2	0.2	0.1

3.3 回收率

在测试样品中加入果糖、葡萄糖、蔗糖、寡果糖 ,测定回收率 结果如表 2 所示。

表 2 各糖组分的回收率

组分 Composition	本底值 Background (g/L)	添加值 Added (g/L)	测定值 Found (g/L)	回收值 Recovery (g/L)	回收率 Recovery ratio (%)
果糖 Fructose	0.70	0.50	1.19	0.49	98
葡萄糖 Glucose	1.44	0.50	1.92	0.48	96
蔗糖 Sucrose	2.16	0.50	2.64	0.48	96
寡果糖 GF ₂	2.35	0.50	2.84	0.49	98

3.4 样品测试中的注意事项

(1)在衍生化过程中要避免样品与水分接触。在保证衍生化过程密闭的情况下 ,衍生物具有稳定性。

(2)在样品的衍生化过程中加入 N ,O- 双三甲基氯硅烷基三氟乙酰胺 ,可防止硅在检测器的电极

上沉积。

参 考 文 献

1 张定玲 ,莫开国 . 食品与发酵工业 ,1989(6) :70~79
2 蒋世琼 . 色谱 ,1996 ,14(6) :13~14
3 Toba T , Adachi S. J Chromatogr ,1977 ,135 :411-417

Derivative Gas Chromatographic Analysis of Fructooligosaccharide
in Fermented Sucrose

CAI Wei-min , LIU Hong , SUN Xiao-jun

(Department of Environment Science & Engineering ,Harbin Institute of Technology ,Harbin 150001 ,China)

Abstract : As a new sweetener ,fructooligosaccharide is paid more and more attention for its health improvement property. It includes trisaccharide ,tetrasaccharide and pentasaccharide and can be produced from sucrose by the fermentation of microorganism. In order to analyze the content of fructooligosaccharide in fermented sugar by gas chromatography ,fructooligosaccharide was transformed into trimethylsilyl derivatives. Based on the modified gas chromatograph SP2308 and under the chosen chromatographic conditions with 0.53 mm capillary column of OV-101 ,the contents of fructose ,glucose ,sucrose and fructooligosaccharide were determined by programmed temperature chromatography. The recovery of fructooligosaccharide was satisfactory.

Key words : gas chromatography ; fructooligosaccharide ; derivative