

工作简报

蒸发光散射检测-高效液相色谱法测定沙棘果蜜中的葡萄糖、果糖和蔗糖

贾红卫, 林 童, 姚志敏, 赵 玉, 关大伟

(青海出入境检验检疫局, 西宁 810000)

摘要: 提出了高效液相色谱法测定沙棘果蜜中葡萄糖、果糖和蔗糖含量的方法。以 Zorbax-NH₂ 为色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 乙腈-水(90+10)混合溶液为流动相进行淋洗分离, 用蒸发光散射检测器检测。峰面积的对数值与3种糖的质量浓度的对数值在10~1 000 mg·L⁻¹范围内呈线性关系, 方法的检出限(3S/N)均为10 mg·L⁻¹。采用标准加入法做回收试验, 平均回收率在95.0%~105.0%之间, 相对标准偏差(n=5)均小于2.5%。

关键词: 高效液相色谱法; 蒸发光散射检测; 沙棘果蜜; 葡萄糖; 果糖; 蔗糖

中图分类号: O652.63

文献标志码: A

文章编号: 1001-4020(2011)09-1066-02

Determination of Glucose, Fructoses and Sucrose in Seabuckthorn Fruit Honey by HPLC with ELSD

JIA Hong-wei, LIN Tong, YAO Zhi-min, ZHAO Yu, GUAN Da-wei

(Qinghai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Xi'ning 810000, China)

Abstract: HPLC was applied to the determinations of glucose, fructoses and sucrose in seabuckthorn fruit honey. The 3 saccharides were separated on Zorbax-NH₂ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) chromatographic column with a mixture of acetonitrile and water (90+10) as mobile phase, and their contents determined by evaporation light scattering detector (ELSD). Linear relationship between logarithmic values of peak area and mass concentration of the 3 saccharides were obtained in the same range of 10~1 000 mg·L⁻¹ and with same detection limit (3S/N) of 10 mg·L⁻¹. The values of average recovery found by standard addition method were in the range of 95.0%~105.0%, with values of RSDs (n=5) less than 2.5%.

Keywords: HPLC; ELSD; Seabuckthorn fruit honey; Glucose; Fructose; Sucrose

沙棘果蜜以青藏高原野生沙棘果汁为主要原料, 配以蜂蜜和多种天然营养保健辅料, 经科学配方和特殊工艺加工制成, 其中的还原糖和非还原糖含量用果糖、葡萄糖和蔗糖表示。目前常用斐林试剂法或铁氰化钾滴定法测定还原糖^[1], 结果笼统地以还原糖或总糖表示, 无法测定果糖、葡萄糖的具体含量; 蔗糖也是先将其水解, 再测定水解前后还原糖的含量再算出蔗糖含量^[1]。这些方法测定过程繁杂,

操作步骤多, 无特异性。用液相色谱-示差折光检测糖的含量虽然过程简化, 但由于示差折光检测器对温度非常敏感, 灵敏度较低^[2], 结果也不是很理想。基于蒸发光散射检测器(ELSD)原理适于对无紫外吸收、非挥发性物质的检测, 本工作建立了高效液相色谱(HPLC)-ELSD测定沙棘果蜜中葡萄糖、果糖和蔗糖含量的方法。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

DIONEX U3000 高效液相色谱仪, 配有四元梯度泵、自动进样器、蒸发光散射检测器和化学工作

收稿日期: 2010-07-13

作者简介: 贾红卫(1967-), 男, 青海西宁人, 高级工程师, 主要从事食品安全研究。

站; Millpore 超纯水器。

混合标准溶液: 配制质量浓度均为 $1.000 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的果糖、葡萄糖和蔗糖标准储备溶液, 使用前用乙腈稀释为适当浓度的混合标准溶液。

试验用水为超纯水。流动相使用前用 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤。

1.2 仪器的工作条件

Zorbax-NH₂ 色谱柱 ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$), 流动相为乙腈与水按体积比 90 比 10 混合的溶液, 流量 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 进样量 $20 \mu\text{L}$ 。ELSD 参数: 蒸发温度 $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 氮气流量 $1.5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

1.3 试验方法

称取沙棘果蜜试样 5.000 g , 用水溶解并定容至 100 mL , 移取试液 2.00 mL , 用乙腈稀释至 10 mL , 经 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤, 进样 $20 \mu\text{L}$, 在色谱条件下进行测定。

2 结果与讨论

2.1 检测器的选择

试验分别采用示差折光检测器和蒸发光散射检测器对 3 种糖进行检测, 结果表明: 示差折光检测器受温度影响很大, 温度稍有变化, 折射率变化就很大, 因此必须严格控制温度; 蒸发光散射检测器, 不仅灵敏度高, 而且排除流动相溶剂的干扰, 不受温度变化的影响, 消除了流动相温度波动产生的误差。试验选择蒸发光散射检测器。

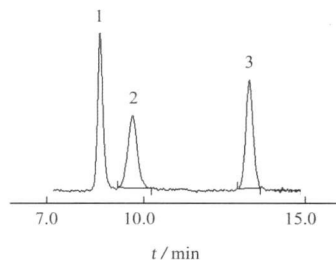
2.2 检测器参数的选择

雾化气流量和蒸发温度是影响蒸发光散射检测器响应的重要参数, 试验固定蒸发温度, 比较了雾化气流量在 $0.5 \sim 2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ 范围变化时对响应灵敏度的影响。结果表明: 噪声随雾化气流量变小而变大, 这是由于雾化气流量越小, 雾化器中形成的气溶胶液滴越大; 当雾化气流量过大时, 气溶胶液滴的变小会造成待测成分响应信号的较大程度降低。试验选择雾化气体流量为 $1.5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

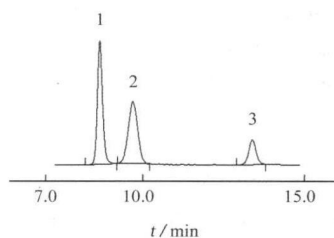
固定雾化气流量为 $1.5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, 试验考察了蒸发温度为 $30, 50, 70, 80, 90 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 时对响应信号的影响。结果表明: 在低温度下, 由于溶剂挥发不完全存在较大的背景噪声, $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下检出限随温度升高而降低, 温度超过 $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 后会由于待测成分部分挥发而使有效响应信号降低, 进而造成检出限随温度升高而增加。试验选择蒸发温度为 $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

2.3 流动相及配比的选择

试验采用氨基色谱柱为分离柱, 考察了不同配比的甲醇-水、乙腈-水作为流动相时, 3 种糖的分离情况。结果表明: 随水在流动相中所占比例增大, 3 种糖的保留时间变短, 分离度降低, 果糖和葡萄糖峰形重叠; 水的比例减小时, 保留时间增长, 峰形不尖锐; 当乙腈-水 ($90+10$) 溶液作流动相时, 系统压力低, 出峰时间合适, 分离度好, 峰形尖锐。3 种糖的混合标准溶液和样品溶液的色谱图见图 1。



(a) 混合标准溶液



(b) 样品溶液

1——果糖; 2——葡萄糖; 3——蔗糖

图 1 3 种糖的混合标准溶液和样品溶液的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of mixed standard solution of the 3 saccharides (a) and sample solution (b)

2.4 标准曲线及检出限

按试验方法对 $0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 3 种糖的混合标准溶液进行测定, 以测得峰面积的对数值为横坐标, 糖的质量浓度的对数值为纵坐标进行线性回归。果糖、葡萄糖和蔗糖的线性范围均为 $10 \sim 1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 线性回归方程依次为 $y_{\text{果糖}} = 1.004x + 0.386$, $y_{\text{葡萄糖}} = 1.088x + 0.158$, $y_{\text{蔗糖}} = 0.976x + 0.369$, 相关系数依次为 $0.9920, 0.9960, 0.9970$ 。

按 3 倍信噪比计算方法的检出限均为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.5 方法的稳定性和精密度

在色谱条件下对同一样品连续进样 5 次, 测定

(下转第 1070 页)

表 2 精密度试验结果(*n*= 11)
Tab. 2 Results of tests for precision

元素	样品 1		样品 2		元素	样品 1		样品 2	
	测定值 <i>w</i> / %	RSD / %	测定值 <i>w</i> / %	RSD / %		测定值 <i>w</i> / %	RSD / %	测定值 <i>w</i> / %	RSD / %
La ₂ O ₃	0.002 1	1.9	0.015	0.96	Tb ₄ O ₇	0.002 2	4.1	0.016	2.9
CeO ₂	0.002 0	2.7	0.016	1.9	Dy ₂ O ₃	0.001 9	2.0	0.015	0.98
Pr ₆ O ₁₁	0.001 9	4.2	0.014	3.4	Ho ₂ O ₃	0.001 9	1.7	0.016	0.97
Nd ₂ O ₃	0.002 0	2.0	0.015	1.4	Er ₂ O ₃	0.002 3	3.4	0.017	2.3
Sm ₂ O ₃	0.002 1	2.7	0.015	2.0	Tm ₂ O ₃	0.002 2	1.4	0.016	0.76
Eu ₂ O ₃	0.002 0	1.3	0.015	0.56	Yb ₂ O ₃	0.002 3	3.3	0.017	2.1
Gd ₂ O ₃	0.001 9	2.0	0.014	1.0	Y ₂ O ₃	0.002 1	1.9	0.016	0.87

2.5 方法的准确度
因国内尚无氧化镧标准样品, 对高纯氧化镧样

品进行标准加入回收试验, 试验结果见表 3。

表 3 回收试验结果
Tab. 3 Results of tests for recovery

元素	样品含量 ρ / (mg · L ⁻¹)	标准加入量 ρ / (mg · L ⁻¹)	测得总量 ρ / (mg · L ⁻¹)	回收率 / %	元素	样品含量 ρ / (mg · L ⁻¹)	标准加入量 ρ / (mg · L ⁻¹)	测得总量 ρ / (mg · L ⁻¹)	回收率 / %
La ₂ O ₃	—	0.10	0.102	102	Tb ₄ O ₇	—	0.10	0.105	105
CeO ₂	—	0.10	0.104	104	Dy ₂ O ₃	—	0.10	0.102	102
Pr ₆ O ₁₁	—	0.10	0.095	95	Ho ₂ O ₃	0.032	0.10	0.137	105
Nd ₂ O ₃	—	0.10	0.103	103	Er ₂ O ₃	0.063	0.10	0.159	96
Sm ₂ O ₃	—	0.10	0.098	98	Tm ₂ O ₃	0.020	0.05	0.073	106
Eu ₂ O ₃	—	0.10	0.101	101	Yb ₂ O ₃	0.11	0.10	0.214	104
Gd ₂ O ₃	—	0.10	0.100	100	Y ₂ O ₃	0.029	0.05	0.078	98

参考文献:

[1] 王彩凤. 中国稀土标准汇编[M]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
[2] 徐光宪. 稀土[M]. 2 版. 北京: 冶金工业出版社, 1995.

[3] 冶金部科技情报研究所. 光谱线波长表[M]. 北京: 中国工业出版社, 1971.
[4] 万家亮. 现代光谱分析手册[M]. 武汉: 华中师范大学出版社, 1987.

(上接第 1067 页)
峰面积, 计算果糖、葡萄糖和蔗糖的相对标准偏差分别为 1.5%, 1.6%, 1.9%。

在色谱条件下, 分别在不同的时间 0, 8, 24, 48 h 对 5 份样品溶液进样测定, 结果表明: 不同的时间下, 果糖、葡萄糖和蔗糖测定的结果均无统计学意义上的差异(*P* > 0.05)^[3], 表明样品在 48 h 内稳定性良好。

2.6 样品分析

按试验方法对青海当地生产的 5 种沙棘果蜜样品进行测定, 并做加标回收试验, 结果见表 1。
本法样品前处理简单, 方法灵敏度高, 重现好, 结果准确可靠。

表 1 样品分析结果(*n*= 5)

Tab. 1 Analytical results of samples					
化合物	测定值 <i>m</i> / g	标准加入量 <i>m</i> / g	测定总量 <i>m</i> / g	回收率 / %	RSD / %
果糖	1.871	1.800	3.598	95.9	1.2
葡萄糖	1.601	1.500	3.026	95.0	1.1
蔗糖	0.203	0.200	0.413	105.0	2.3

参考文献:

[1] SN/T 0852- 2000 进出口蜂蜜检验方法[S].
[2] 张书芬, 史萍萍, 王全林, 等. 液相色谱示差折光法测定蜂蜜中的果糖、葡萄糖、蔗糖和麦芽糖[J]. 食品科学, 2008, 29(6): 280- 283.
[3] 丁建生. 实用医学统计学[M]. 西安: 陕西科技出版社, 1999: 77-80.