

高压液相色谱法测定婴儿配方奶粉中低聚果糖

那红萍, 苑向杰

摘要 采用高压液相色谱法 (HPLC), 以资生堂的 UG80S5 柱为分析柱, 示差折光仪为检测器, 一次进样同时测定低聚果糖中的蔗糖 3 糖, 蔗糖 4 糖, 蔗糖 5 糖 1, 回收率在 98.8–105.9, RSD(%) 在 0.20–0.26 之间, 最低检出限在微克级。

关键词 高压液相色谱仪 (配有示差折光检测器); 婴儿配方奶粉; 低聚果糖

1 前言

低聚果糖是一种天然活性物质。甜度为蔗糖的 0.3–0.6 倍。既保持了蔗糖的纯正甜味性质, 又比蔗糖甜味清爽。是具有调节肠道菌群, 增值双歧杆菌², 促进钙的吸收², 调节血脂, 免疫调节, 抗龋齿等保健功能的新型甜味剂, 被誉为继抗生素时代后最具潜力的新一代添加剂——促生物质³; 在法国被称为原生素 (PPE)⁴, 已在乳制品、乳酸菌饮料、固体饮料、糖果、饼干、面包、果冻、冷饮等多种食品中应用。本文主要利用高压液相色谱仪 (配有示差折光检测器) 研究在婴儿配方奶粉中低聚果糖的检测。

2 原理

用温水把奶粉溶解, 加入无水乙醇定容把脂肪蛋白沉淀过滤除去, 用滤膜过滤上机, 同一时刻进入色谱柱的各组分, 由于在流动相和固定相之间溶解、吸附、渗透或离子交换等到作用的不同, 随流动相在色谱柱两相之间进行反复多次的分配, 由于各个组分在色谱柱中的移动速度不同, 经过一定长度的色谱柱后, 彼此分离开来, 按顺序流出色谱柱, 进入信号检测器, 在记录仪上或数据处理装置上显示出各组分的谱峰数值, 根据保留时间用外标法或峰面积归一化法定量, 以外标法为仲裁法。

3 仪器与设备

常用实验室仪器及下列仪器设备:

3.1

高效液相色谱仪 (配有示差折光检测器或蒸发光散射检测器和柱恒温系统)。美国 PE 公司 200 型高效液相色谱仪, 配 series 200 示差折光检测器,

3.2 流动相真空抽滤脱气装置及 0.2 μm 或 0.45 μm 微孔膜。

3.3 色谱柱: 资生堂的 UG80S5 色谱柱。

3.4 分析天平: 感量 0.0001g。

3.5 微量进样器: 10 μL

4 试剂与材料

4.1 水: 二次蒸馏水或超纯水 (过 0.45 μm 滤膜)。

4.2 乙腈: 色谱纯

4.3 标准溶液: 蔗糖三糖、蔗糖四糖、蔗糖五糖的标准品, 分别用超纯水配成 40mg/mL 的水溶液。

4.4 流动相: 乙腈:水 (体积比) = 75:25 (比例可根据实际情况调节)。

5 操作步骤

5.1 样品溶液的制备

称取适量液体或固体样品

5.2 测定

5.2.1

称取 5.0 克乳粉, 准确至 0.1 mg, 于 50 mL 的容量瓶中。加入约 10 mL 温水, 充分在漩涡振荡器振荡溶解后, 用 95% 的乙醇定容到刻度。再于超声波超声 10 min. 取出充分摇匀后, 过 0.45 μm 的滤膜后上机测定。在测定的前一天安上色谱柱, 柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$, 接通示差折光检测器 (或蒸发光散射检测器) 电源, 预热稳定, 以 0.1 mL/min 的流速通入流动相平衡过夜。正式进样分析前, 若使用示差折光检测器, 将所用流动相以 0.1 mL/min 的流速输入参比池 20 min 以上, 再恢复正常流路使流动相经过样品池 (蒸发光散射检测器无需此操作), 调节流速至 1.0 mL/min 走基线, 待基线走稳后即可进样, 进样量为 5 μL ~ 10 μL 。

5.2.2 将标准溶液与试样溶液进相同的体积, 以峰面积比来定量标准品的图谱和样品的图谱分别是

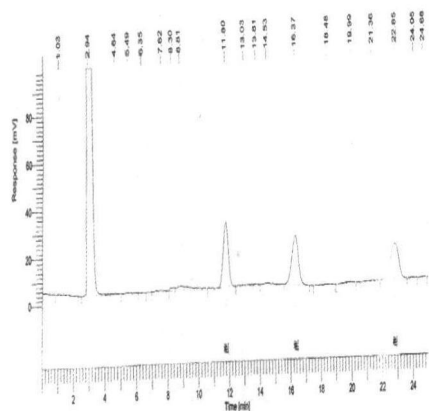


图1 标准色谱

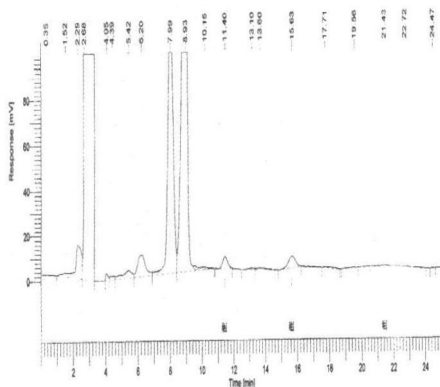


图2 样品色谱

6 分析结果的表述

6.1 外标法

试样中各组分的百分含量按式（1）计算：

（1）

$$X_i = \frac{A_i \times n \times V_s \times 100}{A_s \times m}$$

式中：

X_i ——样品中组分*i*（蔗糖、麦芽糖、乳糖）的含量（质量分数），mg/100g；

A_i ——样品中组分*i*的峰面积；

n ——标准样品浓度，单位为（mg/mL）；

A_s ——标准样品中某种组分糖标准的峰面积；

m ——试样的质量，单位为克（g）；

V ——样品的稀释体积，单位为毫升（mL）。

样品中低聚果糖的含量按式（2）计算：

（2）

$$FOS\% = X_1 + X_2 + X_3 + X_4$$

式中：

FOS% —— 低聚果糖总含量，mg/100g；

X_1 X_2 X_3 X_4 —— 分别为蔗糖、麦芽糖、乳糖、果糖的含量，mg/100g；

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，低聚果糖≥1 mg/100g时，结果保留三位有效数字；低聚果糖含量≤1 mg/100g时，结果保留两位有效数字。

7 回收试验和精密度

7.1 同一样品同时加入蔗糖、麦芽糖、乳糖五糖1mg/ml，平均回收率为98.8～105.9，说明准确率良好。

表1 回收率试验结果

低聚果糖	1	2	3	4	5	6	7	8	平均值	回收率
蔗糖	1.002	1.1	1.003	0.997	0.996	0.9	0.95	0.96	0.988	98.8
麦芽糖	1.002	1.003	1.005	1.1	0.991	0.993	0.992	0.95	1.0045	100.4
乳糖	0.938	0.926	0.933	0.99	1.236	1.368	1.11	0.968	1.059	105.9

7.2 精密度试验

用混合标液重复进样7次，各成分测定结果RSD在0.24%～0.26%，说明精密度良好（见表2）。

表2 精密度结果

组分	浓度（ug/mL）	平均峰面积（uv*sec）	标准差（uv*sec）	RSD（%）
蔗糖	1	315537	764	0.24
麦芽糖	1	309932	812	0.26
乳糖	1	299237	596	0.20

7.3 干扰试验

所测组分并无杂峰干扰，蔗糖、乳糖等均在所测组分前流出。

8 结论

根据以上结果可以证明利用高压液相色谱法通过无水乙醇对奶粉进行前处理可以检测配方奶粉中低聚果糖的含量，并具有一定的稳定性。

参考文献

[1] 《GB/T 23528-2009 低聚果糖》本标准规定了低聚果糖的术语和定义、产品分类、要求

[2] 项明洁.低聚果糖对双歧杆菌增殖效果及肠道菌群的影响.检验医学, 2005, 20（1）：49-51.

[3] 姚思宇.低聚果糖通便作用的实验研究.中华中西医杂志, 2004, 5(24): 3401.

[4] 付萍.低聚果糖调节肠道菌群作用的研究.中国食品卫生杂志, 1998, 10(5): 3-5.

High performance liquid chromatography (HPLC) method to determine the low infant formula milk powder together fructose

Hongping NA

(WanDaShan quality test center)

Abstract to adopt high performance liquid chromatography (HPLC), to UG80S5 column for analysis of shiseido column, and refractive index detector is poor, a simultaneous determination of the sample clustering of fruit sugarcane low sugar sugar, fruit sugarcane 3 4 5 sugar cane sugar, fruit, with a recovery in 98.8 105.9, RSD (%) in 0.20 0.26, minimum detection limit in micrograms level.

Keywords High performance liquid chromatography (equipped with poor and refractive index detector); baby formula milk powder; Fructo oligosaccharide; FOS

新闻动态

2012年行业学术会议信息

会议名称	会议时间、地点
第五届中国北京国际食品安全高峰论坛	2012-3-27 北京
中国化学会第 28 届学术年会	2012-4-13 成都
全国生物医药色谱及相关技术学术交流会 (2012)	2012-4-20 重庆
2012 上海化学和药物结构分析年会(CPSA Shanghai 2012)	2012-4-25 上海
第二届中国药品安全与质量控制大会	2012-5-17 北京
2012 中国食品与农产品质量安全检测技术应用国际论坛暨展览会	2012-6-4 北京
第四届世界华人质谱研讨会	2012-6-28 台湾台南
第四届全国近红外光谱学术会议	2012-9-18 桂林
2012 年全国有机质谱学术会议	2012-10-11 云南·西双版纳
第 17 届全国分子光谱学术报告会	2012-10-19 广东韶关
第五届中国在线分析仪器应用及发展国际论坛暨展览会	2012-10-28 北京
2012 国际冶金及材料分析测试学术报告会及展览会	2012-10-31 北京