

离子色谱-脉冲安培检测器 分析饮料中单糖和二糖

刘晓玲 李东刚 史娟^a 孙长华

(黑龙江省质量监督检测研究院 哈尔滨市道外区南通大街 25 号 150050)

^a(东北林业大学化学工程与工艺 哈尔滨市 150040)

摘 要 建立了等度离子色谱-脉冲安培检测分析饮料中葡萄糖、果糖、蔗糖和乳糖的方法。采用 CarboPac PA 10 分离柱对分离条件进行了优化, 确定柱温为 30 ℃、淋洗液为 52mmol·L⁻¹ 的 NaOH 溶液, 在 0.10—20.0mg·L⁻¹ 范围内葡萄糖、果糖、蔗糖、乳糖呈良好线性, 回收率分别为 93.3%—112.5%、102.2%—111.6%、96.8%—99.6%、88.0%—102.6%, 检出限分别为 0.8、4.0、5.0、10.0mg·kg⁻¹, 精密度分别为 0.18%—1.21%、0.53%—3.76%、0.65%—2.54%、1.65%—5.11%。检测了饮料中的单糖和二糖, 效果良好。

关键词 离子色谱; 脉冲安培检测器; 等度淋洗; 饮料; 单糖; 二糖

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-8138(2010)02-0441-05

1 引言

糖类化合物是维持生命活动的主要能源, 添加到饮料中起到改善口味增加热能的目的。目前国家标准中对部分饮料中糖类物质种类、含量没有明确规定, 只是确定了甜味剂的限量^[1]。目前, 糖含量的测定方法主要有苯酚-硫酸比色法^[2]、气相色谱法^[3]、液相色谱法^[4]、离子色谱法^[5]。苯酚-硫酸比色法检测的重现性与准确性较差; 气相色谱测定糖需要衍生化, 衍生化的程度不完全使得回收率低, 重现性较差, 而且操作繁琐; 液相色谱检测糖类物质研究较多, 由于糖类化合物的紫外吸收很弱, 一般采用示差折光检测器, 但其灵敏度较低, 难以满足实际需要; 离子色谱法测定糖, 不仅前处理简单, 而且采用高灵敏度和高选择性的脉冲安培检测器, 准确度高, 重现性好。已有离子色谱-脉冲安培法测定蜂蜜中糖类物质^[5], 采用 CarboPac PA 1 分离柱, 脉冲安培检测器三电位波形, 但应用于饮料中葡萄糖、果糖、蔗糖和乳糖的测定报道较少, 本文采用 CarboPac PA 10 分离柱, 脉冲安培检测器四电位波形, 52mmol·L⁻¹ NaOH 等度淋洗可在 30min 内同时分析上述 4 种糖, 并且饮料基体对糖的测定无干扰。该方法样品处理简单、准确度高, 在针对蛋白饮料、茶饮料、果蔬汁饮料、运动饮料、谷物饮料、碳酸饮料等饮料中糖的检测效果良好, 可用于饮料类中单糖和二糖的检验。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Dionex ICS3000 离子色谱仪(配脉冲安培检测器, 美国戴安公司); Direct Q 超纯水仪(美国 Millipore 公司); KQ-100B 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司); LDZ4-0.8 自动平衡微型离心机(北京医用离心机厂); C18 预处理柱(美国 Waters 公司, 活化方法为: 先注入 15mL 甲醇, 再注入

联系人, 手机: (0) 13796085061; E-mail: mli200120@tom.com

作者简介: 刘晓玲(1981—), 女, 黑龙江省齐齐哈尔市人, 硕士研究生, 助理工程师, 主要从事色谱仪器分析工作。

收稿日期: 2009-07-21; 接受日期: 2009-10-03

10mL 水活化)。

葡萄糖,果糖,蔗糖,乳糖(纯度均为 99.5%,Dr. Ehrenstorfer 提供);50% NaOH(美国戴安公司);氢氧化钠,冰乙酸(均为优级纯,天津市光复精细化工研究所)。实验用水为超纯水。

2.2 色谱条件

色谱柱:分离柱 CarboPac PA 10(4mm × 250mm),保护柱 PG10(4mm × 50mm);淋洗条件:等度洗脱,采用 $52\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH;淋洗液速度 $0.5\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$;柱温: 30°C ;检测条件:安培检测器采用四电位脉冲安培法检测;进样量: $25\mu\text{L}$ 。

2.3 标准溶液配制

储备液:将各标准物质以超纯水配制成 $1000\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的溶液。

标准溶液:将 4 种标准储备液稀释成 $100\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合标准溶液,分别移取 0.10, 0.50, 1.0, 2.0, 5.0, 10, 20mL 置于 100mL 容量瓶中定容,摇匀得标准工作系列,4 种糖的标准系列浓度均为 0.10, 0.50, 1.0, 2.0, 5.0, 10, 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.4 样品处理

2.4.1 样品提取

样品经过滤,再用超声波除气 10min,制备不含气的均匀样品。称取 5.00g 均匀样品,加入 1.0mL 3% 乙酸振荡后,再加入 1.0mL $0.10\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 混匀,定容至 50mL,振荡均匀,3000 r/min 离心 10min,取上清液稀释 100 倍,待净化。

2.4.2 净化

将稀释液过已处理好的 C_{18} 预处理柱,收集净化液,再过 $0.45\mu\text{m}$ 滤膜,密封待测。

3 结果与讨论

3.1 色谱柱的选择

根据文献分析,葡萄糖、果糖、蔗糖和乳糖在 CarboPac PA 10、CarboPac PA 1 色谱柱上均有良好的分离效果^[6],根据实验室条件确定色谱柱为 CarboPac PA 10。

3.2 分离条件的优化

3.2.1 淋洗液浓度的确定

实验采用 CarboPac PA 10 分离柱,分别用 10、18、52、80 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 4 种不同浓度的 NaOH 淋洗液对 4 种糖分离进行了条件实验。实验数据见表 1。

表 1 不同浓度 NaOH 淋洗液下糖标准溶液的分度度

| 淋洗液浓度 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) | 分离度 R | | |
|--|---------|--------|-------|
| | 果糖与葡萄糖 | 蔗糖与果糖 | 乳糖与蔗糖 |
| 10 | 1.61 | 2.46 | 9.96 |
| 18 | < 1.50 | < 1.50 | 9.09 |
| 52 | 2.32 | 6.02 | 3.78 |
| 80 | 1.85 | 7.90 | 1.51 |

由表得出,NaOH 浓度为 $80\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时葡萄糖与果糖、蔗糖与乳糖间分离度只略大于 1.50,分析时间为 19min;NaOH 浓度为 $10\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 分析时间长达 50min;NaOH 浓度为 $18\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时葡萄糖与果糖分离效果不好,分离度 < 1.5,且分析时间为 40min;当 NaOH 浓度为 $52\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,4 种糖具有良好的分离效果,分析时间为 27min。因此考虑分离度及分析时间,本实验选定 NaOH 淋洗液浓度为 $52\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3.2.2 4 种糖的脉冲安培检测波形的选择

糖在 Au 电极上易发生氧化还原反应, 其产物易污染电极, 本实验选用离子色谱分析糖类物质常用的四电位波形, 分别用于糖的氧化、电极还原清洗、电极氧化清洗和电极表面活化, 不断清洗电极, 保证电极稳定性, 测定灵敏度和重现性, 基本消除了电化学腐蚀和金电极表面的凹陷现象。(见表 2)。

表 2 糖类检测的四电位波形

| | | | | | | | | |
|--------|------|------|------|-------|-------|------|--------|--------|
| 时间(s) | 0 00 | 0 20 | 0 40 | 0 41 | 0 42 | 0 43 | 0 44 | 0 50 |
| 电位(mV) | 0 10 | 0 10 | 0 10 | - 2 0 | - 2 0 | 0 60 | - 0 10 | - 0 10 |
| 积分 | | 开始 | 结束 | | | | | |

3.2.3 柱温的影响

25、30、35 不同柱温下 52mmol · L⁻¹ NaOH 淋洗葡萄糖、果糖、蔗糖和乳糖的分离度均良好。25、30、35 下的分析时间分别为 28、27、24min, 本文选定柱温为 30。

3.2.4 葡萄糖、果糖、蔗糖、乳糖的分离谱图

在建立的色谱条件: 52mmol · L⁻¹ NaOH 作为淋洗液, 四电位波形, 柱温 30 下, 葡萄糖、果糖、蔗糖、乳糖的保留时间分别为 14.12、15.78、21.71、26.78min, 混合标液的离子色谱图见图 1。

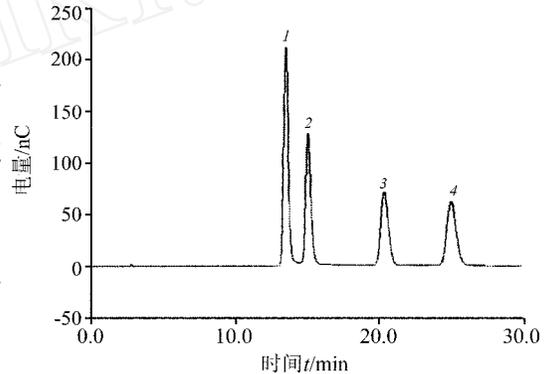


图 1 10mg · L⁻¹混合标准溶液的离子色谱图

1——葡萄糖; 2——果糖; 3——蔗糖; 4——乳糖

3.3 方法学评价

3.3.1 校准曲线、相关系数和方法检出限

利用葡萄糖、果糖、蔗糖、乳糖的峰面积 A 对浓度 C 作图, 绘制 4 种糖校准曲线, 以 S/N = 3 计算仪器检出限, 并根据样品处理过程计算方法检出限。线性方程、相关系数、仪器最小检测浓度及方法检出限的结果见表 3。

表 3 方法线性、相关系数和方法检出限

| 标样 | 线性范围 (mg · L ⁻¹) | 线性方程 | 相关系数 | 仪器最小检测浓度 (μg · L ⁻¹) | 方法检出限 (mg · kg ⁻¹) |
|-----|---------------------------------|----------------------|--------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| 葡萄糖 | 0.1—20.0 | A = 0.6411 + 7.1390C | 0.9998 | 0.8 | 0.8 |
| 果糖 | | A = 0.2331 + 4.7765C | 0.9999 | 4.0 | 4.0 |
| 蔗糖 | | A = 2.2795 + 3.3725C | 0.9991 | 5.0 | 5.0 |
| 乳糖 | | A = 0.7530 + 4.2733C | 0.9981 | 10.0 | 10.0 |

3.3.2 方法精密度和回收率

取饮料样品 1、2, 制备两种加标水平的样品, 以实测值扣除本底值再与添加量进行比较, 考察方法的回收率; 每个加标水平的样品按前述方法重复测定 6 次以考察方法的重现性, 结果见表 4。

3.4 样品中 4 种糖的典型色谱图

根据建立的方法, 对样品进行测试, 样品典型色谱图见图 2。由图 2 可以看出饮料中虽然还存在其他糖类物质, 但对蔗糖、葡萄糖、果糖、和乳糖的检测没有影响。

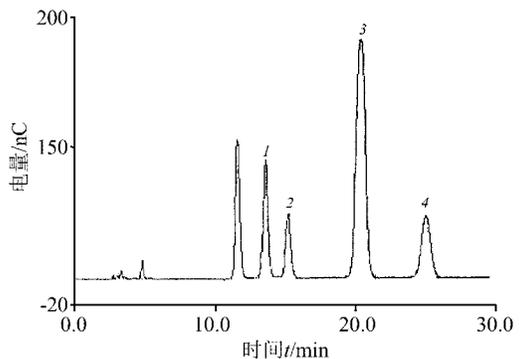


图 2 饮料样品的离子色谱图

1——葡萄糖; 2——果糖; 3——蔗糖; 4——乳糖

3.5 饮料中糖的测定

利用建立的方法对市售 10 种饮料进行了检测, 结果见表 5。

表 4 回收率实验结果及精密度

(n=6)

| 样品 | 糖种类 | 本底值 (mg) | 添加水平 1 | | | | 添加水平 2 | | | |
|----|-----|-------------|-------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|------------|------------|
| | | | 添加量 (mg) | 实测值 (mg) | 回收率 (%) | 精密度 (%) | 添加量 (mg) | 实测值 (mg) | 回收率 (%) | 精密度 (%) |
| 1 | 葡萄糖 | 22.6 | 10.0 | 33.7 | 103.6 | 0.63 | 50.0 | 81.6 | 112.5 | 0.18 |
| | 果糖 | 20.2 | 10.0 | 32.7 | 108.1 | 3.76 | 50.0 | 78.4 | 111.6 | 2.01 |
| | 蔗糖 | 200.4 | 100.0 | 298.5 | 99.2 | 1.83 | 200.0 | 387.5 | 96.8 | 1.57 |
| | 乳糖 | 42.2 | 20.0 | 63.8 | 102.6 | 5.11 | 50.0 | 88.0 | 95.4 | 2.11 |
| 2 | 葡萄糖 | 136.0 | 50.0 | 191.6 | 103.0 | 0.47 | 150.0 | 266.8 | 93.3 | 1.21 |
| | 果糖 | 133.4 | 50.0 | 200.9 | 109.5 | 0.53 | 150.0 | 289.6 | 102.2 | 3.27 |
| | 蔗糖 | 212.5 | 50.0 | 255.7 | 97.4 | 0.65 | 250.0 | 460.6 | 99.6 | 2.54 |
| | 乳糖 | 0.0 | 1.0 | 0.94 | 94.0 | 1.65 | 5.0 | 4.4 | 88.0 | 4.63 |

表 5 饮料样品中葡萄糖、果糖、蔗糖和乳糖的检测结果

| 糖种类 | 检测结果 ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) | | | | | | | | | |
|-----|--|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|----------|
| | 蛋白 饮料 | 茶汤 饮料 | 果肉 饮料 | 运动 饮料 | 谷物 饮料 | 果汁 饮料 | 碳酸 饮料 | 复合茶 饮料 | 调味茶 饮料 | 果蔬 饮料 |
| 葡萄糖 | 32.8 | 153.8 | 51.0 | 100.6 | 128.4 | 87.7 | 195.4 | 19.9 | 98.9 | 189.2 |
| 果糖 | 19.6 | 101.9 | 33.3 | 47.1 | 66.9 | 56.1 | 129.6 | 12.3 | 65.0 | 127.1 |
| 蔗糖 | 137.4 | 179.4 | 185.8 | 114.5 | 27.8 | 137.6 | 148.5 | 128.5 | 150.2 | 152.5 |
| 乳糖 | 36.9 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

注：“—”表示低于方法检出限。

4 结论

通过实验, 建立了离子色谱-脉冲安培法测定饮料中葡萄糖、果糖、蔗糖和乳糖的方法。葡萄糖、果糖、蔗糖、乳糖的线性范围、检出限、回收率、精密度均良好。方法操作简便快捷, 结果令人满意, 适用于各种饮料中单糖和二糖的测定, 也为饮料食品中糖的质量监督提供了方法。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家标准 食品添加剂使用卫生标准[S]. GB 2760-2007. 北京: 中国标准出版社, 2007. 156—168
- [2] 周悦斌, 王伟, 周向荣. 苯酚-硫酸比色法测定毛竹叶多糖的研究[J]. 现代食品科技, 2008, 24(2): 180—183
- [3] 张威, 何红波, 张明等. 糖脲乙酰酯衍生气相色谱法测定土壤水解性单糖[J]. 土壤通报, 2008, 39(4): 913—916
- [4] 吴黎明, 薛晓锋, 周晓等. 蜂花粉中糖的高效液相色谱分析[J]. 分析检测, 2008, 29(6): 335—338
- [5] 崔鹤, 李戈, 纪雷等. 离子色谱脉冲安培法测定蜂蜜中的葡萄糖、果糖、蔗糖[J]. 化学分析计量, 2001, 10(1): 25—26
- [6] 丁永胜, 牟世芬. 高效阴离子交换色谱-脉冲电化学检测方法和应用[J]. 分析化学评述与进展, 2005, 33(4): 557—561

Determination of Monosaccharides and Disaccharides in Drink by Ion Chromatography with Pulsed Amperometric Detector

LU Xiao-Ling LI Dong-Gang SHI Juan^a SUN Chang-Hua

(The Academy of Quality Inspection and Research in Heilongjiang Province, Harbin 150050, P. R. China)

^a(The Northeast Forestry University Chemical Engineering and Technology, Harbin 150040, P. R. China)

Abstract Glucose, fructose, sucrose and galactose in drink were determined by ion chromatography with pulsed amperometric detector. The separation was carried out on CarboPac PA 10 column using $52\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaOH}$ as eluent, and column temperature under 30°C . The linear ranges of glucose, fructose, sucrose and galactose are in the range of $0.10\text{--}20.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and recovery are 93.3%—112.5%, 102.2%—111.6%, 96.8%—99.6%, 88.0%—102.6%, respectively. The detection limits are 0.8, 4.0, 5.0, $10.0\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, and the RSDs are 0.18%—1.21%, 0.53%—3.76%, 0.65%—2.54%, 1.65%—5.11%. This method was applicable to the determination of monosaccharide and disaccharide in drink.

Key words Ion Chromatography; Pulsed Amperometric Detection; Isocratic Elution; Drink; Monosaccharide; Disaccharide

17 种科技期刊单价与发表论文篇数之比

| 刊名 | 刊期 | 开本 | 每期页码 | 单价(元) | 论文篇数 | 单价与发表论文篇数之比 | 单价与发表论文篇数之比的排序 |
|------------|----|------|------|-------|------|-------------|----------------|
| 冶金分析 | 月 | 大 16 | 80 | 15 | 19 | 0.79 | 10 |
| 福建分析测试 | 季 | 大 16 | 80 | 6 | 20 | 0.30 | 1 |
| 分析科学学报 | 双月 | 大 16 | 124 | 10 | 30 | 0.33 | 3 |
| 分析测试学报 | 月 | 大 16 | 124 | 12 | 28 | 0.42 | 6 |
| 分析试验室 | 月 | 大 16 | 124 | 18 | 30 | 0.60 | 8 |
| 岩矿测试 | 双月 | 大 16 | 100 | 10 | 25 | 0.40 | 5 |
| 分析化学 | 月 | 大 16 | 160 | 15 | 40 | 0.38 | 4 |
| 化学通报 | 月 | 大 16 | 96 | 20 | 18 | 1.11 | 13 |
| 化学学报 | 半月 | 大 16 | 120 | 20 | 18 | 1.11 | 13 |
| 光谱实验室 | 双月 | 16 | 400 | 50 | 90 | 0.56 | 7 |
| 高等学校化学学报 | 月 | 大 16 | 188 | 30 | 40 | 0.75 | 9 |
| 理化检验(化学分册) | 月 | 大 16 | 144 | 15 | 48 | 0.31 | 2 |
| 质谱学报 | 双月 | 大 16 | 64 | 15 | 17 | 0.88 | 11 |
| 量子电子学报 | 双月 | 大 16 | 128 | 30 | 25 | 1.20 | 14 |
| 光学学报 | 月 | 大 16 | 216 | 40 | 40 | 1.00 | 12 |
| 中国激光 | 月 | 大 16 | 320 | 35 | 58 | 0.60 | 8 |
| 钢铁研究学报 | 月 | 大 16 | 64 | 20 | 15 | 1.33 | 15 |

2010 年《光谱实验室》 征订启事和声明

《光谱实验室》, 双月刊, 16 开, 每册 400 页, 发表论文 90 篇, 单月 25 日出版。单价: 50 元; 年价: 300 元。单价与发表论文篇数之比为 0.56, 居中。

欲订阅的读者请到当地国家邮电局(所)办理订阅手续, 邮发代号为 82-863。错过时间者, 可通过电子邮件(发到 gpssys@263.net)与本编辑部联系直接订阅。但不要走其他非正规渠道订阅, 否则由此引起的损失自负。

《光谱实验室》编辑部

欢迎有敬业精神的同志自荐为本刊编委

本刊编委产生的方式有三种: 自荐、推荐和聘请, 自荐是本刊提倡的方式。凡不计报酬、乐意献身于科技期刊出版事业、基本具有副高级以上技术职称、对本刊有所贡献的同志, 都可以自荐为本刊编委。

自荐者可与本刊编辑部联系。地址: 北京市延庆石河营东街 10 号楼 201 室《光谱实验室》编辑部 秦丽娟 何霜; 邮政编码: 102100; 电话: (010)52513126; 电子信箱 (Email): gpss@chinajournal.net.cn。

《光谱实验室》编辑部