

离子色谱法测定奶糖中的蔗糖、葡萄糖和乳糖

张磊, 周光明*, 熊建飞, 许丽

(西南大学化学化工学院, 发光与实时分析教育部重点实验室, 重庆 400715)

摘要: 建立离子色谱法分离检测奶糖中蔗糖、葡萄糖和乳糖的分析方法。采用 METROSEP CARB 1 (150mm × 4.0mm) 阴离子交换分离柱和脉冲安培检测器, 对淋洗分离条件进行优化。确定柱温为 32℃、淋洗液为 37.0mmol/L NaOH 溶液, 淋洗液流速为 1.0mL/min, 总分析时间 20min。在 1.0~60.0mg/L 范围内蔗糖、葡萄糖和乳糖分别呈良好线性, 相关系数分别为 0.9996、0.9998 和 0.9996, 检出限分别为 0.091、0.014 和 0.083mg/L, RSD 为 1.42%~5.17%, 回收率为 91.27%~101.31%。测定结果为大白兔奶糖中含葡萄糖 1.56%、蔗糖 21.40%、果糖 3.75%; 旺仔牛奶糖中含葡萄糖 1.17%、蔗糖 30.29%、果糖 3.30%; 金丝猴奶糖中含葡萄糖 1.08%、蔗糖 20.86%、果糖 3.31%。用该方法检测了奶糖中的三种糖, 效果良好, 同时具有操作简单、结果准确、快速有效等优点, 可为奶糖的检测提供一个简单有效的方法。

关键词: 离子交换色谱, 脉冲安培检测, 奶糖, 蔗糖, 葡萄糖, 乳糖

Determination of sucrose, glucose and lactose in toffee by ion chromatography

ZHANG Lei, ZHOU Guang-ming*, XIONG Jian-fei, XU Li

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Key Laboratory on Luminescence and Real-Time Analysis, Ministry of Education, Chongqing 400715, China)

Abstract: An ion chromatographic method had been developed for the determination of sucrose, glucose and lactose in toffee. The optimal chromatographic conditions were investigated for the separation on METROSEP CARB 1 (150mm × 4.0mm) anion exchange column. Pulsed amperometric detector was used for detection. Column temperature was 32℃. The separation was performed using 37.0mmol/L NaOH at a flow rate of 1.0mL/min. The total analysis time was 20min. The linear ranges of sucrose, glucose and lactose were 1.0~60.0mg/L, respectively. Their correlation coefficients were 0.9996, 0.9998 and 0.9996. The detection limits were 0.091, 0.014 and 0.083mg/L, correspondingly. The relative standard deviation was between 1.42% and 5.17%. The recoveries were between 91.27% and 101.31%. The results of the samples showed that glucose content of white rabbit toffee was 1.56%, sucrose content was 21.40%, lactose content was 3.75%. Glucose content of Wangzai toffee was 1.17%, sucrose content was 30.29%, lactose content was 3.30%. Glucose content of golden monkey toffee was 1.08%, sucrose content was 20.86%, lactose content was 3.31%. In the application of the method to the analysis of toffee satisfactory results were obtained. At the same time, this method was characteristic of simple operation, the accurate results and shorter analysis time. It could provide a simple and efficient method for the determination of toffee.

Key words: ion chromatography; pulsed amperometric detection; toffee; sucrose; glucose; lactose

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)19-0309-04

奶糖主要由蔗糖、淀粉糖浆干固体、非脂乳固体、乳脂和胶体等组成, 其中糖类占较大的比例。目前测定糖的方法主要有毛细管电泳法^[1-2]、气相色谱法^[3-4]、比色法^[5-6]以及高效液相色谱法^[7-8]等, 这些方法大多有着前处理繁琐费时、选择性差和灵敏度低等缺陷。鉴于糖分子具有电化学生活性和

在强碱溶液中呈离子状态^[9]。高效阴离子交换色谱-脉冲安培流检测法^[10-12]是近年来发展起来的一种测定糖的有效方法。该方法具有前处理简单、分离效果好和操作简便等优点^[13]。离子色谱法测定糖已有较多报道, 如分析蜜枣中的糖类化合物^[14]、测定牛奶和奶制品中的单糖和二糖^[15]、分析食用菌中海藻糖、甘露醇和阿糖醇^[16]等。但是用离子色谱法测定奶糖中葡萄糖、蔗糖和乳糖还未见有文献报道。本文采用将市售三种奶糖经过溶解、超声、过滤等预处理操作, 方便、高效的提取它们当中的单糖和二糖, 再以 NaOH 溶液作为流动相, 研究了用离子交换色谱分

收稿日期: 2012-03-29 * 通讯联系人

作者简介: 张磊 (1988-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 离子色谱。

基金项目: 重庆市自然科学基金项目 (CSTC2007BB5370); 国家科技部重大专项项目 (2008ZX07315)。

离-脉冲安培表检测蔗糖、葡萄糖和乳糖并得到了良好的分离效果和较高的检测灵敏度。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

大白兔奶糖、旺仔牛奶糖、金丝猴奶糖 市售; 葡萄糖、蔗糖 分析纯, 成都市科龙化工有限公司; 乳糖 分析纯, 宁波大川精细化工有限公司; 柠檬酸 分析纯, 成都化学试剂厂; NaOH 分析纯, 重庆川东化工有限公司。实验用水 去离子水(电阻率 $\geq 18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$)。

861 Advanced Compact IC-817 Bioscan 脉冲安培检测器、METROSEP CARB 1(150mm(4.0mm) 阴离子交换柱、Metrohm IC-Net 2.3 色谱工作站 瑞士万通公司; FA2004A 电子天平 上海精天电子仪器有限公司; CQ50 超声波清洗器 上海必能信超声波有限公司; GM-0.33II 隔膜真空泵 天津市腾达过滤器件厂; 布氏漏斗、玻塞漏斗、0.45 μm 微孔滤膜。

1.2 色谱条件的选择

1.2.1 淋洗液的选择 离子色谱法分析糖类时, 最常用的是 NaOH 溶液, 实验分别考察了浓度为 15.0、20.0、25.0、30.0、35.0、37.0、40.0、45.0、50.0 mmol/L NaOH 溶液对分离度的影响。

1.2.2 柱温的选择 实验分别考察了柱温为 15、20、25、32、35、40 $^{\circ}\text{C}$ 时, 各组分的分离情况。

1.2.3 流速的选择 实验分别考察了流速为 0.5、0.8、1.0、1.2、1.5 mL/min 时, 各组分的分离情况。

1.3 标准溶液和淋洗液的配制

标准溶液: 称取蔗糖、葡萄糖和乳糖标样 0.1000 g, 用去离子水分别溶于 100 mL 容量瓶中, 配制成 1000 mg/L 标准储备液。用移液管分别移取上述蔗糖、葡萄糖和乳糖标准储备液 0.1、0.2、0.4、0.8、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用去离子水定容至刻度。得到蔗糖、葡萄糖和乳糖质量浓度为 1.0、2.0、4.0、8.0、10.0、20.0、30.0、40.0、50.0、60.0 mg/L 的标准溶液。

淋洗液: 称取 0.600、0.800、1.000、1.200、1.400、1.480、1.600、1.800、2.000 g NaOH 固体配制成 15.0、20.0、25.0、30.0、35.0、37.0、40.0、45.0、50.0 mmol/L 的 NaOH 溶液作为淋洗液。

1.4 样品前处理

大白兔奶糖的前处理: 用小刀切取奶糖 0.1 g(实取 0.1017 g) 于干净的 50 mL 小烧杯中, 加入 10 mL 去离子水, 搅拌均匀后超声 20 min, 加入 8 mL 1000 mg/L 柠檬酸, 缓慢搅拌, 放置 2 h 将蛋白质沉淀完全。再用布氏漏斗过滤一次, 0.45 μm 微孔滤膜过滤一次, 向滤液中加入 NaOH 溶液调至 pH7, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤一次, 滤液转入 100 mL 的容量瓶定容, 再取 10 mL 于 100 mL 容量瓶中定容, 摇匀待测。

旺仔牛奶糖和金丝猴奶糖的处理方法同大白兔奶糖一样, 实取质量分别为 0.1016、0.1068 g。

加入 NaOH 溶液的的目的是使样品溶液呈中性, 与标准溶液测定条件一致, 从而减少实验误差。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

2.1.1 淋洗液浓度的选择 实验表明, 随着淋洗液浓度的增大, 三种糖的保留时间整体呈缩短趋势。当 NaOH 溶液的浓度低于 30.0 mmol/L 时, 葡萄糖和蔗糖峰有部分重叠, 随着淋洗液浓度的增大, 二者的分离度逐渐变好, 当 NaOH 溶液的浓度达到 45.0 mmol/L 时, 蔗糖与乳糖分离度变差。根据高效、分离度以及保留时间等综合考虑, 选取 37.0 mmol/L NaOH 溶液作为淋洗液。

2.1.2 柱温的选择 实验结果表明, 随着温度的降低, 峰的分离度稍有改变, 峰底有变宽趋势, 而且柱压逐渐增大, 保留时间也会相应加长。为了保护色谱柱和获得较好的分离度, 综合考虑选择柱温为 32 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.1.3 淋洗液流速的选择 实验结果表明, 当流速升高时保留时间减小, 对峰的分离度影响不大, 但柱压会明显增大, 柱压最大不超过 12 MPa。因此, 为了保护色谱柱, 同时也尽量缩短分析时间, 选用 1.0 mL/min 作为淋洗液流速。

2.2 标准曲线和仪器检出限

葡萄糖、蔗糖和乳糖混合标样的色谱图见图 1。

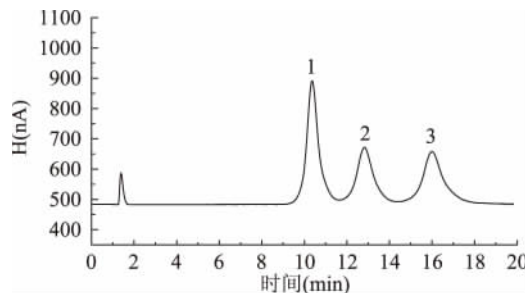


图 1 3 种糖的标准色谱图

Fig.1 Chromatogram of three kinds of sugar standard sample

注: 1.葡萄糖 2.蔗糖 3.乳糖 图 5~图 7 同。

分别测定配好的一系列标准溶液, 以三种单糖的色谱峰面积(Y)对其质量浓度(X)进行线性回归, 标准曲线见图 2~图 4, 并进一步稀释标准溶液, 在信噪比为 3 时测定其检出限。线性关系回归方程、相关系数、线性范围和检出限见表 1。

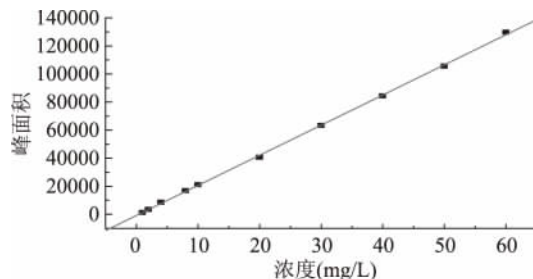


图 2 葡萄糖的标准曲线

Fig.2 Standard curve of glucose

2.3 重现性实验

取 8.0 mg/L 的葡萄糖、蔗糖和乳糖混合标液, 按照实验确定的色谱条件分别连续进样 5 次, 得到葡萄糖、蔗糖、乳糖的不同测定值, 根据峰面积和保留时间做相对标准偏差, 结果见表 2。

表1 线性回归方程、线性范围和检测限

Table 1 Linear regression equations, linear ranges and detection limits

标样	线性方程	相关系数 R	线性范围(mg/L)	检出限(mg/L)
葡萄糖	$Y = -850.77713 + 2147.51049X$	0.9998	1.0~60.0	0.014
蔗糖	$Y = 849.16074 + 1224.77735X$	0.9996	1.0~60.0	0.091
乳糖	$Y = -68.0303 + 1514.3069X$	0.9996	1.0~60.0	0.083

表2 重现性实验结果

Table 2 Results of reproducibility test

组分名称	峰面积测定值	相对标准偏差 RSD(%)	保留时间测定值(min)	相对标准偏差 RSD(%)
葡萄糖	18884.9、19213.6、19610.1、20795.5、19826	3.70	10.2329、9.84655、9.65234、9.45002、9.25585	3.89
蔗糖	12367.2、12334.7、12633.6、12718.7、12372.3	1.42	12.5642、11.9284、11.6378、11.3225、10.9808	5.17
乳糖	13881.1、13649.9、14578.4、15080.8、14352.3	3.97	15.7、14.9、14.55、14.15、13.7352	5.14

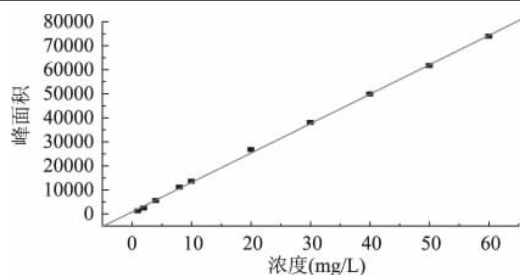


图3 蔗糖的标准曲线

Fig.3 Standard curve of sucrose

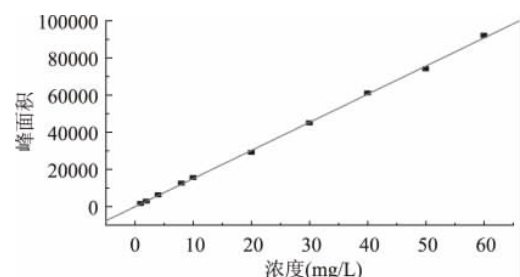


图4 乳糖的标准曲线

Fig.4 Standard curve of lactose

2.4 精密度实验

将三种样品按照实验确定的色谱条件分别连续进样3次,得到葡萄糖、蔗糖和乳糖的不同测定值,根据峰面积做相对标准偏差,结果见表3。由表3可见,RSD结果在1.1%~3.4%之间,符合分析方法要求的精密度,为以峰面积进行定量分析提供依据。

表3 精密度实验结果

Table 3 Results of the precision test

样品名称	组分名称	峰面积测定值	相对标准偏差 RSD(%)
大白兔奶糖	葡萄糖	2571.53、2662.71、2712.35	2.7
	蔗糖	27601.12、27932.54、28543.86	1.7
	乳糖	5703.56、5605.45、5589.35	1.1
旺仔牛奶糖	葡萄糖	1705.12、1823.43、1775.24	3.4
	蔗糖	38536.68、37532.82、37856.91	1.3
	乳糖	5021.87、4945.24、4897.65	1.3
金丝猴奶糖	葡萄糖	1617.87、1576.98、1589.42	1.3
	蔗糖	28134.76、28845.87、27568.25	2.3
	乳糖	5287.78、5156.89、5123.76	1.7

2.5 加标回收率实验

测出本底值后,分别称取与测本底值时质量相同的奶糖样品(精确到0.0001g),并向其中加入标准物质,采用1.4中样品处理方法进行样品前处理,进样测定,计算回收率如表4所示。

表4 加标回收率结果

Table 4 Results of spike recovery test

样品名称	组分名称	本底值 (mg/L)	加标值 (mg/L)	测定值 (mg/L)	回收率 (%)
大白兔奶糖	葡萄糖	1.584	4.800	6.010	92.21
	蔗糖	21.763	11.200	32.058	91.92
	乳糖	3.811	6.100	9.991	101.31
旺仔牛奶糖	葡萄糖	1.190	4.500	5.412	93.82
	蔗糖	30.771	10.100	39.989	91.27
	乳糖	3.354	4.000	7.167	95.33
金丝猴奶糖	葡萄糖	1.149	3.500	4.467	94.80
	蔗糖	22.277	9.100	30.965	95.47
	乳糖	3.540	5.500	9.043	100.05

由表4可见,样品测定的回收率在91.27%~101.31%之间。由于样品前处理、溶液移取以及测定时系统的不稳定因素等都会对这种痕量测定结果产生影响,所以加标回收率在100%左右波动,但整体都在90%以上,达到了加标回收率实验的目的,同时也证明了该测定方法的可靠性。

2.6 样品测定结果

将处理好的样品溶液进行色谱分析,色谱图见图5~图7,三种奶糖中各糖含量如表5所示。

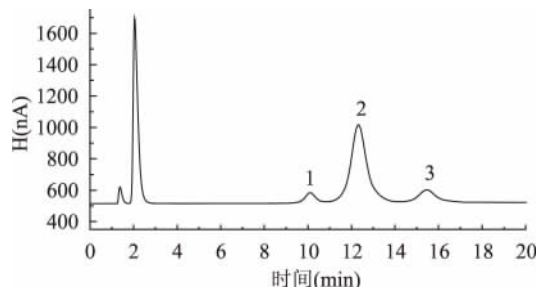


图5 大白兔奶糖

Fig.5 Chromatogram of White rabbit toffee

3 结论

本文建立了离子色谱法同时分离和检测奶糖中糖分的分析方法。实验表明,奶糖中主要含有三种(下转第357页)

及应用——以 1986~2004 年的北京市为例[J].中国人口·资源与环境 2008, 18(6): 121-126.

[17] Mickwitz P, Melanen M, Rosentrom U, et al. Regional eco-efficiency indicators - a participatory approach [J]. Journal of Cleaner Production 2006, 14(18): 1603-1611.

[18] 王恩旭, 武春友. 基于超效率 DEA 模型的中国省际生态效率时空差异研究[J]. 管理学报 2011, 8(3): 443-450.

[19] 诸大建, 臧漫丹, 朱远. C 模式: 中国发展循环经济的战略选择[J]. 中国人口·资源与环境 2005, 15(6): 8-12.

[20] 周国梅, 彭昊, 曹凤中. 循环经济和工业生态效率指标体系[J]. 城市环境与城市生态 2003, 16(6): 201-203.

[21] 戴铁军, 陆钟武. 钢铁企业生态效率分析[J]. 东北大学学报

报: 自然科学版 2005, 26(12): 1168-1173.

[22] 王飞儿, 史铁锤. 基于物质代谢的中国纺织业生态效率评价[J]. 中国人口·资源与环境 2008, 18(6): 116-120.

[23] Dyckhoff H, Allen K. Measuring ecological efficiency with data envelopment analysis(DEA) [J]. European Journal of Operational Research 2001, 132(2): 312-325.

[24] 谭丽超, 单正军, 葛峰, 等. 生态效率综合评价方法研究[J]. 污染防治技术 2010, 23(4): 5-9.

[25] 王翠然, 刘宁, 陆根法, 等. 突变评判法在生态效率评价中的应用研究[J]. 生态经济 2007(8): 35-37.

[26] 高迎春, 韩瑞玲, 佟连军. 吉林省产业系统生态效率评价[J]. 中国人口·资源与环境 2011, 21(11): 106-111.

(上接第 311 页)

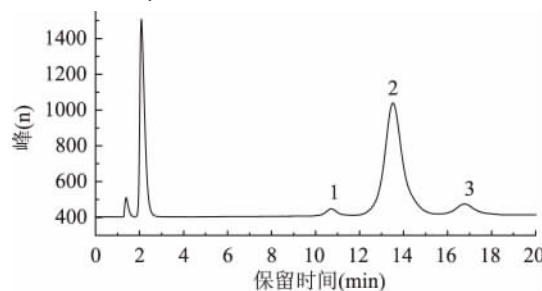


图 6 旺仔牛奶糖

Fig.6 Chromatogram of Wangzai toffee

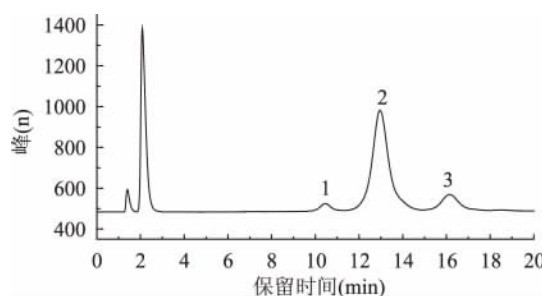


图 7 金丝猴奶糖

Fig.7 Chromatogram of Golden monkey toffee

糖: 葡萄糖、蔗糖和乳糖。其中蔗糖含量最高; 葡萄糖含量最低。本实验操作简单, 重现性较好, 各种糖类的分离度好, 具有好的选择性和高的灵敏度, 有效的保证了样品中三种糖测定结果的准确性。适用于快速测定奶糖中的糖类, 为控制奶糖质量提供了一种简便而有效的分析方法。

表 5 样品测定结果(质量分数, %)

Table 5 The results of the samples(mass fraction %)

样品	葡萄糖	蔗糖	乳糖	总糖含量
大白兔奶糖	1.56	21.40	3.75	26.71
旺仔牛奶糖	1.17	30.29	3.30	34.76
金丝猴奶糖	1.08	20.86	3.31	25.25

参考文献

[1] Cristiana Campa, Edi Baiutti, Anna Flamigni. Capillary electrophoresis of sugar acids [J]. Methods in Molecular Biology, 2008, 384(1): 307-355.

[2] 赵燕, 刘莉, 杨兴斌, 等. 高效毛细管电泳法测定唐古特大黄多糖中单糖的组成[J]. 医药导报 2005, 24(11): 981-983.

[3] 张威, 何洪波, 张明, 等. 糖腈乙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] 周欣, 王庆彪, 刘锡钧, 等. 气相色谱法检测葡萄糖、麦芽糖、果糖和蔗糖[J]. 海峡药学 2001, 13(4): 48-49.

[5] 孟娟. 蒽酮-硫酸比色法测定甘草残渣中多糖含量[J]. 天津化工 2011, 25(5): 45-46.

[6] 郭玉华, 杨伟华, 郁有祝, 等. 蒽酮比色法测定棉花成熟纤维中水溶性总糖含量[J]. 2011, 38(12): 23-26.

[7] 孟伊娜, 张瑞廷, 史强, 等. 高效液相色谱法测定甜高粱茎秆中 3 种糖含量[J]. 中国农学通报 2010, 26(8): 90-95.

[8] Salim Ouchemoukh, Paul Schweitzer, Mostapha Bachir Bey et al. HPLC sugar profiles of Algerian honeys [J]. Food Chemistry, 2010, 121(2): 561-568.

[9] 余娜, 周光明. 离子色谱法测定苦瓜茶中的半乳糖、葡萄糖、甘露糖和果糖[J]. 食品科技 2011, 36(8): 266-269.

[10] ALBERTSON P L, ROF C P L. Application of high performance anion exchange-pulsed amperometric detection to the activity of key sucrose metabolizing enzymes in sugarcane [J]. Journal of Chromatography B 2007, 845(1): 151-156.

[11] MOU Shi-fen, YU Hong, YA Qi. Analysis of sugars by high performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection [J]. 2009, 27(5): 667-674.

[12] Ji-Seon Jeong, Ha-Jeong Kwon, Yong-Moon Lee, et al. Determination of sugar phosphates by high-performance anion-exchange chromatography coupled with pulsed amperometric detection [J]. 2007, 1164(1-2): 167-173.

[13] 许丽, 周光明, 余娜, 等. 超声提取-离子色谱法测定蜂蜜柚子茶中的可溶性糖[J]. 西南大学学报, 2011, 33(11): 90-94.

[14] 黄晓书, 徐鹏, 李卫华, 等. 高效阴离子交换色谱-脉冲安培检测法分析蜜枣中的糖类化合物[C]. 第十二届全国离子色谱学术报告论文集 2008, 11(5-8): 440-443.

[15] Cataldi TRI, Angelotti M, Bianco G. Determination of mono and disaccharides in milk and milk products by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection [J]. 2003, 485(1): 43-45.

[16] 周帅, 薛俊杰, 刘艳芳, 等. 高效阴离子色谱-脉冲安培检测法分析食用菌中海藻糖、甘露醇和阿糖醇[J]. 食用菌学报, 2011, 18(1): 49-52.