

基于指纹图谱的食品级低聚半乳糖组成分析与有效组分含量推算

Composition analysis and calculation of food-grade galacto-oligosaccharides based on HPLC fingerprint

董艺凝¹ 陈卫² 邓文君¹ 陈海琴²

DONG Yi-ning¹ CHEN Wei² DENG Wen-jun¹ CHEN Hai-qin²

(1. 滁州学院生物与食品工程学院, 安徽 滁州 239000; 2. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122)

(1. College of Biological Science and Food Engineering, Chuzhou University, Chuzhou, Anhui 239000, China;

2. College of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

摘要:利用高效液相色谱—蒸发光检测法(HPLC-ELSD)建立基于指纹图谱分析的低聚半乳糖成分比较与组分含量推算方法。采用该方法对11个匿名食品级低聚半乳糖产品进行含量分析与比较。研究表明,现阶段食品级低聚半乳糖产品组成接近,非有效组分主要由葡萄糖、半乳糖和乳糖构成;有效组分数谱峰个数1~2个,质量浓度范围为73.65~100.00 g/100 g,主要由聚合度大于3的低聚半乳糖混合构成,部分产品中有效组分仅为异乳糖。通过该方法的建立与应用,可实现对低聚半乳糖产品质量差异的有效评价。

关键词:低聚半乳糖;指纹图谱;高效液相色谱—蒸发光检测法;含量推算;有效组分

Abstract: In this study, the High Performance Liquid Chromatography-Evaporative Light Detection (HPLC-ELSD) was used to establish the rapid comparison and content calculation of effective components of galacto-oligosaccharides based on the fingerprint analysis. Using this method, 11 anonymous commercial food-grade galacto-oligosaccharides products were compared based on the fingerprint composition comparison and content calculation of the effective component. The results showed that the composition of the commercial food-grade galacto-oligosaccharides product composition close to each other, and the non-effective components generally included glucose, galactose and lactose constitute. The number of effective ingredient

基金项目:国家自然科学基金青年项目(编号:31301523);安徽省自然科学基金面上项目(编号:1708085MC72);滁州学院食品酶法加工科技创新团队(编号:00001702);高校优秀青年骨干人才国内访学研究项目暨教育部中西部高等学校青年骨干教师国内访学项目(编号:gxfx2017120)

作者简介:董艺凝,女,滁州学院副教授,博士。

通信作者:陈卫(1966—),男,江南大学教授,博士生导师,博士。

E-mail: weichen@jiangnan.edu.cn

收稿日期:2018-03-02

peaks was 1 to 2, and the mass concentration range was 73.65~100.00 g/100 g. It was mainly composed of a mixture of galacto-oligosaccharides with a degree of polymerization greater than 3, and the effective component in some products was exclusively iso-lactose. The establishment of this method has enabled the effective evaluation of the quality of galacto-oligosaccharides products.

Keywords: galacto-oligosaccharides; fingerprint; high performance liquid chromatography-evaporative light detection (HPLC-ELSD); content calculation; effective components

低聚半乳糖(Galacto-oligosaccharides, GOS)是以乳糖为底物,利用 β -半乳糖苷酶转糖苷催化作用合成的一种功能性低聚糖^[1-2]。其分子式为Gal-(Gal) n -Glc/Gal($n=0\sim 6$),即由一分子半乳糖或葡萄糖连接1~7个半乳糖基组成^[3]。低聚半乳糖的合成研究兴起于20世纪60年代,全球年均消费量在40,000 t以上,并以每年10%~20%的比例增长^[4]。中国自2008年批准低聚半乳糖作为新资源食品以来,具有产业化规模的低聚半乳糖生产企业数量不断增加^[5-7]。据本研究前期调研统计显示,中国现阶段有食品级低聚半乳糖生产企业约45家,其中80%以上为中小型企业,技术和产品质量水平参差不齐。

低聚半乳糖产品组分多样化,既含有 β -半乳糖苷酶的水解产物,如葡萄糖、半乳糖,又含有不同聚合度的转糖苷催化产物,如半乳二聚糖、半乳三聚糖、半乳四聚糖和半乳五聚糖等15种混合物^[8-9]。由于分子结构复杂,近20种低聚半乳糖组分尚无标准品可供定性与定量检测^[10]。国际方法(AOAC2001.02)是根据 β -半乳糖苷酶催化低聚半乳糖水解所生成的半乳糖含量进行推算^[11]。这一方法操作繁琐,检测结果受酶分子本身及其催化特性影响大,精确度较

低^[12-14]。中国目前也尚未制定针对低聚半乳糖产品质量分析与评价的国标^[15]。

针对现阶段食品级低聚半乳糖产品质量差异大,缺少有效的组分分析与质量评价方法,本试验拟利用高效液相色谱—蒸发光检测法(HPLC-ELSD),建立基于指纹图谱差异比较的低聚半乳糖组成分析与有效组分含量推算的方法,以期作为低聚半乳糖产品质量评价提供研究思路和试验依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

低聚半乳糖(样品 A~K):食品级,市售,不同厂家生产;葡萄糖标准品、乳糖标准品、半乳糖标准品:HPLC \geq 98%,上海源叶生物科技有限公司;

乙腈:色谱纯,上海沪试有限公司;

实验用水全部为超纯水;

高效液相色谱仪:ELClassical 3100型,大连依利特分析仪器有限公司;

蒸发光散射检测器(ELSD):2000ES型,美国奥泰科技有限公司;

色谱数据工作站:EC2000型,大连依利特分析仪器有限公司;

超纯水系统:Milli-Q型,美国密理博公司;

数控超声波清洗器:KQ3200DA型,昆山市超声仪器有限公司;

分析天平:JA1003B型,上海越平科学仪器有限公司。

1.2 方 法

1.2.1 色谱条件 根据参考文献[16]。色谱柱:TSKgel Amide-80 氨基柱(250 mm \times 4.6 mm,5 μ m);流动相:乙腈与水按体积比 70:30 混合;HPLC 条件:流速 1.0 mL/min;柱温 30 $^{\circ}$ C;进样量 15 μ L;蒸发光散射检测器:漂移管温度 45 $^{\circ}$ C; N_2 压力 3.0 \times 10⁵ Pa。

1.2.2 标准溶液配制及标准曲线绘制 精确称取葡萄糖、半乳糖和乳糖标准品各 0.500 0 g,用超纯水溶解并定容至 100 mL 容量瓶中,摇匀待用。使用前,将该标准储备溶液用超纯水稀释至相应质量浓度,以配制标准工作液及已知浓度样液。

将葡萄糖、半乳糖和乳糖标准溶液分别用水稀释制备浓度为 0.5,1.0,1.5,1.8,2.0,2.5 mg/mL 标准工作液,用进样器精确吸取标准工作液各 15 μ L,按照 1.2.1 色谱条件进行测定,以葡萄糖、半乳糖和乳糖的浓度(mg/mL)为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,并得到回归方程见表 1。

1.2.3 样品处理及指纹图谱测定 根据参考文献[17]。精

表 1 标准品线性回归方程

Table 1 Linear regression equation of standard

成分	回归方程	<i>r</i>
葡萄糖	$Y=11\ 320X-1\ 557.8$	0.998 1
半乳糖	$Y=7\ 863.9X-2\ 723.3$	0.998 6
乳糖	$Y=12\ 684X-2\ 487.2$	0.999 3

确称取低聚半乳糖样品 500.0 mg,用超纯水溶解并定容至 100 mL,摇匀,得到浓度为 5 mg/mL 样品溶液。将样品过 0.22 μ m 滤膜,待用。分别精密吸取空白溶剂对照品溶液及供样品试液各 15 μ L,注入液相色谱,记录 30 min 内的色谱峰及其保留时间和峰面积。

1.2.4 方法学考察 根据参考文献[18]。

(1) 精密度试验:取低聚半乳糖样品(A)粉末约 0.5 g,精密称量,定容。按上述方法制备供试溶液,在 1.2.1 色谱条件下进样,重复 6 次,计算半乳糖、葡萄糖、乳糖和低聚半乳糖含量及含量的 RSD 值;考察该供试样液在上述色谱条件下连续进样 6 次,所得指纹图谱中各共有峰的相对保留时间及相对峰面积的一致性。计算各共有峰相对保留时间的 RSD 值,以及相对峰面积的 RSD 值。

(2) 重复性试验:取商品化低聚半乳糖样品(A)约 0.5 g,精密称取,定容,平行 6 份,按 1.2.3 所示方法制备供试样液,在 1.2.1 色谱条件下进样。分别测定葡萄糖、半乳糖、乳糖和低聚半乳糖的含量,计算各组分含量的 RSD 值。考察 6 个平行供试样液在相同色谱条件下,所得指纹图谱中各共有峰的相对保留时间及相对峰面积的一致性,计算各共有峰相对保留时间的 RSD 值,以及相对峰面积的 RSD 值。

(3) 稳定性试验:取低聚半乳糖(A)样品约 0.5 g,精密称定,按 1.2.3 所示方法制备供试样液。分别在 0,1,2,4,6,8,10,12,14,16,18,20,24 h 进样,并记录色谱图。按外标法以峰面积计算葡萄糖、半乳糖、乳糖和低聚半乳糖含量的 RSD 值。考察取同一份供试样液,依次在 0,1,2,4,6,8,10,12,14,16,18,20,24 h 指纹图谱中各共有峰的相对保留时间及相对峰面积的一致性。计算各共有峰相对保留时间的 RSD 值,以及相对峰面积的 RSD 值。

2 结果与讨论

2.1 低聚半乳糖产品 HPLC-ELSD 指纹图谱构建与特征分析

如图 1 所示,根据指纹图谱的出峰数、峰保留时间和峰面积与标准品的对比,对样品组成进行定性比较与定量分析。指纹图谱方法学考察结果显示,同一供试样液,相同试验条件下,连续进样 6 次,各色谱共有峰的相对峰面积的 RSD 值均 $<$ 1.0%,相对保留时间的 RSD 值均 $<$ 0.5%,符合指纹图谱对精密度的要求;同一样品的 6 次平行试验,各主要色谱峰相对保留时间与其相对峰面积的 RSD 值均 $<$ 3.0%,符合指纹图谱要求,重现性良好;24 h 内的稳定性分析所得各色谱共有峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD 值均 $<$ 3.0%,表明供试样液在试验条件下稳定性良好。方法学的综合考察结果表明,本研究构建低聚半乳糖产品指纹图谱的方法可靠。

在建立稳定、可靠的 HPLC-ELSD 指纹图谱的基础上,对 11 个样品(A~K)进行指纹图谱构建,并对其组分差异与图谱特征进行了比较分析。如图 2 所示,供试产品组分在 30 min 内全部洗脱。11 个样品中,除 3 个样品的指纹图谱显示为单峰外,其他 8 个样品的指纹图谱均含有 3~5 个组

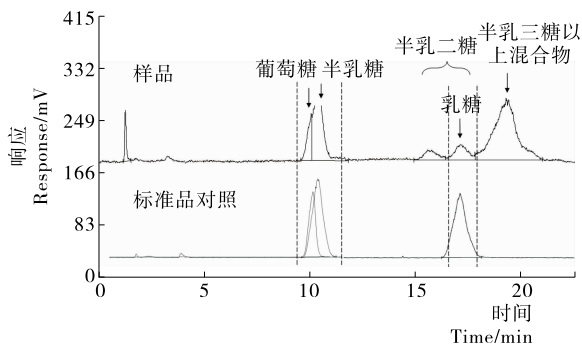


图 1 样品指纹图谱与标准品比对

Figure 1 Comparison of sample HPLC-ELSD fingerprints and standards

分峰。根据标准品保留时间的定性分析,保留时间在 9~11 min 的 1、2 号峰组分分别为葡萄糖(9.9 min)和半乳糖(10.2 min);保留时间在 17~18 min 的 4 号峰为乳糖(17.4 min)。根据张志国等^[19]对低聚半乳糖的分离研究,低聚半乳糖在氨基柱分离条件下的出峰顺序依次为半乳糖二糖、乳糖和异乳糖。由此推知,比邻 4 号峰(乳糖)的 3 号、5 号组分峰应分别为半乳糖二糖和异乳糖,即 3~5 号峰所在的保留时间区间(15~19 min)应为二糖组分区;保留时间在 19~20 min 的 6 号峰为聚合度在 3 以上的低聚半乳糖混合组分。对比各产品指纹图谱发现,A、B 和 C 3 个样品中含特有的 5 号组分,但是不含 3 号组分,且几乎不含 6 号组分,说明 A、B 和 C 3 个样品的有效组分主要为异乳糖,不含或仅含少量聚合度>3 的组分;D、E、F、G 和 H 5 个样品均含有 2 号、3 号、4 号和 6 号组分,且不含有 1 号和 5 号组分,表明这些产品的有效组分由低聚半乳糖二糖和低聚半乳糖三糖以上的混合物构成,杂质为乳糖和半乳糖;I、J 和 K 3 个样品由 6 号组分的单峰构成,表明其产品由聚合度>3 的低聚半乳糖三糖混合物构成,不含单糖、二聚糖和双糖组分,产品有效组分纯度高。供试的 11 个产品为现阶段可以购买到的主要商品化食用低聚半乳糖产品,其指纹图谱的比较研究可以反映出中国目前食品级低聚半乳糖产品组成构成既有共同点又有明显区别。通过指纹图谱可以直观、快速地比较出食品级低聚半乳糖组成差异,为产品质量鉴别提供参考。

2.2 基于低聚半乳糖指纹图谱的含量推算方法建立

低聚半乳糖是 β -半乳糖苷酶以乳糖为底物,通过转糖苷催化作用将半乳糖基转移到乳糖、半乳糖或者低聚半乳糖分子上,所形成的一系列聚合度不同的低聚糖混合成分(聚合度 $n=0\sim 6$)。因此,产品中除含有不同聚合度的低聚半乳糖混合物外,普遍含有非低聚半乳糖组分,主要为乳糖、葡萄糖和半乳糖等。根据分子结构定义,葡萄糖、半乳糖和乳糖不属于低聚半乳糖,也不具有低聚半乳糖的食用功效,故低聚半乳糖产品的有效成分主要为聚合度大于 3 以上的低聚半乳糖混合物。其中,半乳糖二糖和异乳糖虽然为二糖,但为乳糖的转糖苷合成产物,本研究中亦将这 2 种糖定义为有效组分。在采用 HPLC-ELSD 对低聚半乳糖进行指纹图谱构

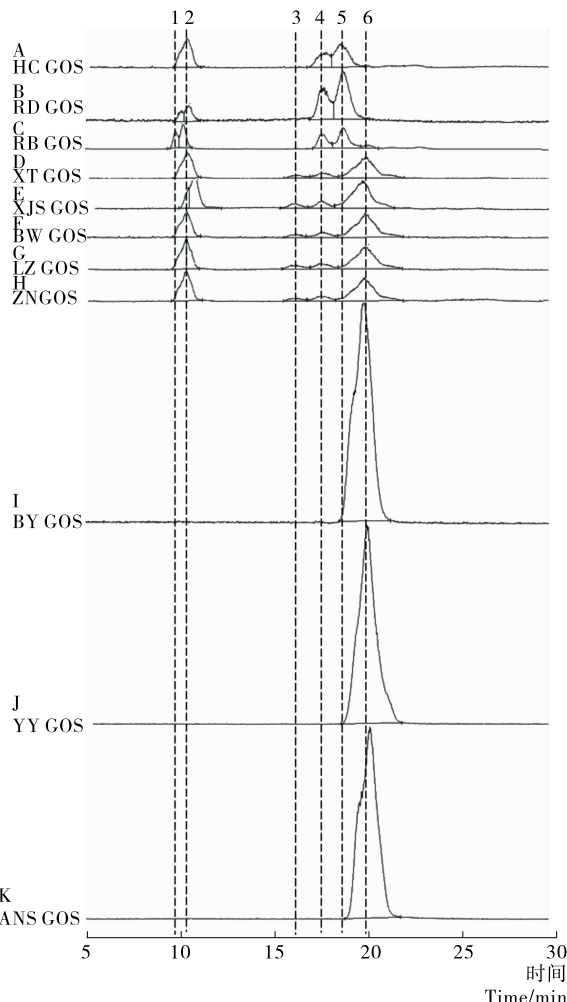


图 2 11 个不同生产厂家低聚半乳糖产品的 HPLC 指纹图谱

Figure 2 HPLC fingerprints of galacto-oligogalactose products from 11 manufacturers

建的基础上,通过标准品定量计算非低聚半乳糖组分(包括乳糖、半乳糖和葡萄糖)含量,再从总成分含量中去除非低聚半乳糖成分总量后,对有效低聚半乳糖含量进行定量推算。即有效低聚半乳糖组分含量可以表示为:

$$c = \frac{m - m_1 - m_2 - m_3}{m} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

c ——有效低聚半乳糖组分含量,%;

m ——样品总质量,g;

m_1 ——乳糖质量,g;

m_2 ——葡萄糖质量,g;

m_3 ——半乳糖质量,g。

采用上述方法对成分已知的配制样品进行检测,以验证方法的有效性。配制样品由葡萄糖、半乳糖和乳糖标准品及有效组分含量为 100% 的低聚半乳糖样品,依次按质量比 5:15:10:70 配制而成(图 3)。根据葡萄糖、半乳糖和乳糖的峰面积代入标准曲线得到其在配制样品中的含量分别为 4.51,15.83,9.14 g/100 g;根据式(1)推算得低聚半乳糖有效组分含量为 70.52 g/100 g。

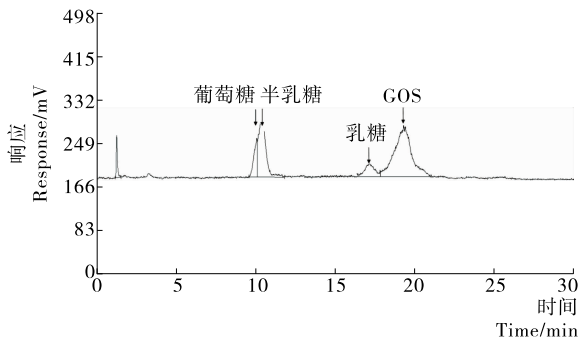


图3 配制样品的HPLC-ELSD色谱

Figure 3 HPLC-ELSD chromatography of known sample

通过推算结果与真实值比较,分析上述方法的可行性,研究结果见表2。各组分含量相对真实的百分误差均在合理范围内,仅葡萄糖含量的百分误差较大,达到10%。这可能是在HPLC-ELSD分离检测条件下,葡萄糖和半乳糖2个峰不易分开所导致。李静芳等^[20]采用高效液相色谱法测定低聚半乳糖的含量研究结果也显示葡萄糖和半乳糖不易分离。虽然这一现象可导致葡萄糖组分含量的测定误差较大,但二者作为单糖组分总含量测定误差并不大,仅为1.70%,对低聚半乳糖含量的推算影响在合理范围内;同时,相较于葡萄糖和半乳糖,组分中低聚半乳糖含量为高浓度成分,葡萄糖含量误差对试验结果的影响较小。低聚半乳糖的推算含量

误差仅为0.74%,也说明了由于单糖分离精度造成的误差对低聚半乳糖含量推算结果的影响可忽略不计。综合验证实验结果表明,本研究所建立的推算方法准确有效。

2.3 低聚半乳糖有效组分的对比分析

采用上述低聚半乳糖有效组分含量推算方法对11个供试产品进行对比分析,结果见表3。其中,I、J和K3个样品中仅含有6号组分峰,有效组分纯度最高,为100%;而样品A~H均含有不同浓度的单糖组分和二糖组分,有效组分含量在73.65~88.72 g/100 g。1号峰(葡萄糖)仅在样品B和C中少量含有,组分含量分别为4.12,4.55 g/100 g;而2号峰(半乳糖)和4号峰(乳糖)在样品A~H中均含有,含量范围分别为5.84~20.33,5.37~11.69 g/100 g。11个供试产品的有效组分出峰个数均为1~2个,且含量差异范围达73.33~100 g/100 g。供试产品有效组分含量均达到70%以上,符合中国卫生部关于批准低聚半乳糖为新资源食品的公告中对低聚半乳糖纯度的要求($\geq 57\%$)^[21]。但是,供试产品中非有效低聚半乳糖组分(即葡萄糖、半乳糖和乳糖)含量为0.00%~26.35%,除I、J和K3个样品外,其他样品的有效组分均未达到其所标示的纯度(99%)。应用低聚半乳糖产品有效组分含量推算方法,可实现样品组成差异的比较,并能一定程度上反映出有样品的质量水平。

表2 配制样品的有效组分含量推算与验证

Table 2 Content calculation and verification of effective component of known sample

样品	配制样品含量/ ($10^{-2} \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	平均色谱峰面 积/($\text{mV} \cdot \text{s}$)	平均推算含量/ ($10^{-2} \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	平均绝对百 分误差/%
葡萄糖	5.00	993.35	4.51	10.00
半乳糖	15.00	3 500.59	15.83	5.53
乳糖	10.00	1 050.97	9.14	8.60
低聚半乳糖	70.00	6 595.96	70.52	0.74

表3 11个不同生产厂家低聚半乳糖产品的有效组分含量推算[†]

Table 3 Content calculation of effective component of galacto-oligosaccharide products from 11 manufacturers

样品	g/100 g						有效组分总含量
	1号峰*	2号峰*	3号峰	4号峰*	5号峰	6号峰	
A	○	19.07	○	7.60	●	○	73.33
B	4.12	10.54	○	11.69	●	○	73.65
C	4.55	11.26	○	5.37	●	●	78.82
D	○	13.93	●	5.45	○	●●	80.61
E	○	20.33	●	5.58	○	●●	74.08
F	○	5.84	●	5.44	○	●●	88.72
G	○	20.18	●	5.79	○	●●	74.03
H	○	19.14	●	5.37	○	●●	75.50
I	○	○	○	○	○	●●●	100.00
J	○	○	○	○	○	●●●	100.00
K	○	○	○	○	○	●●●	100.00

[†] ○表示不含有;●表示含有有效组分;●●表示有效组分含量高;●●●表示有效组分含量极高;*表示标准品定量。

3 结论

本研究利用高效液相色谱-蒸发光检测法(HPLC-ELSD)建立了基于指纹图谱的低聚半乳糖组成分析与有效成分含量推算方法,对来源于不同厂家的 11 个低聚半乳糖产品进行了对比研究。研究表明,供试的低聚半乳糖产品组分构成接近,有效组分差异主要体现于低聚糖的聚合度及不同聚合度组分的含量两个方面,并表现出共性质量问题:

(1) 有效组分含量较低。供试的 11 个样品中,有 8 个样品含有不同量的葡萄糖、半乳糖和乳糖组分,非有效组分含量达 11.28%~26.35%;有效组分数谱峰个数为 1~2 个,主要由聚合度>3 的低聚半乳糖混合构成,质量浓度范围为 73.65%~100%。部分产品中有效组分仅为异乳糖。

(2) 标签信息与产品实际质量不符。虽然全部供试样品的标签信息均显示其含量 $\geq 99\%$,但是 11 个供试低聚半乳糖样品的 HPLC-ELSD 指纹图谱中,仅 3 个样品有效组分为单峰,符合标签声称的含量值。其他样品的有效组分含量为 73.65~88.72 g/100 g,即七成以上供试产品含量低于其标签值,表明低聚半乳糖产品的有效含量标识还有待规范。

基于指纹图谱构建的低聚半乳糖组成分析与有效成分含量推算方法,可实现对产品质量的比较分析,解决由于现有检测分析方法局限所造成的产品信息含混不清的问题。但是,本研究也存在局限性。HPLC-ELSD 指纹图谱构建方法,要求样品中有效组分含量较高且不含 ELSD 无法检的成分。否则,会因计算结果误差增大,而导致样品有效组分含量的推算结果增大。因此,本研究所构建的方法不适用于对产品掺假问题的检测分析。同时,本方法采用氨基柱进行组分分离,不能有效地区分低聚半乳糖的聚合度。对低聚半乳糖样品的质量分析与评价的细化完善,还需要摸索更精准的色谱分离条件。

参考文献

- [1] LAMSAL B P. Production, health aspects and potential food uses of dairy prebiotic galacto-oligosaccharides[J]. J Sci Food Agric, 2012, 92(10): 2 020-2 028.
- [2] INTANON M, ARREOLA S L, PHAM N H, et al. Nature and biosynthesis of galacto-oligosaccharides related to oligosaccharides in human breast milk[J]. FEMS Microbiol Lett, 2014, 353(2): 89-97.
- [3] MAKSIMAINEN M, PAAVILAINEN S, HAKULINEN N, et al. Structural analysis, enzymatic characterization, and catalytic mechanisms of beta-galactosidase from *Bacillus circulans* sp. *alkalophilus*[J]. The FEBS Journal, 2012, 279(10): 1 788-1 798.
- [4] DUARTE P M Torres, MARIA Do Pilar F Gonç Alves, JOSÉ A Teixeira, et al. Galacto-oligosaccharides: production, properties, applications, and significance as prebiotics[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2010, 9: 438-454.

- [5] 国家卫生和计划生育委员会. 卫生部关于批准低聚半乳糖等新资源食品的公告: 卫生部公告 2008 年第 20 号[R]. 北京: 中华人民共和国卫生部公报, 2008.
- [6] 杨晓波, 李凯锋, 吴洁. 婴幼儿米粉中低聚半乳糖的测定[J]. 中国乳业, 2016(3): 53-58.
- [7] 杨凯, 张天博, 薛江超, 等. 益生元组合在婴幼儿配方奶粉中的应用[J]. 中国奶牛, 2017(12): 46-49.
- [8] VERA C, CORDOVA A, ABURTO C, et al. Synthesis and purification of galacto-oligosaccharides: state of the art[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2016, 32(12): 197.
- [9] 李美玲, 江波, 张涛. β -半乳糖苷酶催化乳糖合成低聚半乳糖[J]. 食品与生物技术学报, 2016(3): 234-239.
- [10] 张志国, 王硕, 生庆海. HPLC-ELSD 法检测液态奶中的低聚半乳糖[J]. 食品与机械, 2011, 27(3): 68-70.
- [11] 张志国. 功能性低聚半乳糖的研究进展及应用[J]. 中国食品添加剂, 2012(6): 207-211.
- [12] SLEGE J. AOAC official Method 45. 4. 12—2001. 02, Determination of trans galacto-oligosaccharides (TGOS) in selected food products[S]. American; J AOAC Intern, 2002.
- [13] 张志国. 低聚半乳糖检测方法研究进展[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(8): 115-119.
- [14] 杨新磊, 陈波. 超高效液相色谱法直接测定糖浆中低聚半乳糖质量分布[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(3): 1 087-1 093.
- [15] 于晓瑾, 仇凯, 熊正河. 食品中低聚果糖和低聚半乳糖检测方法研究进展[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(20): 125-129.
- [16] 张丽, 张建辉, 张继红, 等. 高效液相色谱-蒸发光散射法测定乳粉中的低聚果糖和低聚半乳糖[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(12): 4 729-4 735.
- [17] 张志国. 低聚半乳糖指纹图谱的构建[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(18): 152-158.
- [18] 徐燃, 丁奇, 万定荣, 等. 深绿卷柏和江南卷柏 HPLC 指纹特征及 3 种成分的含量测定研究[J]. 中药材, 2017, 40(7): 1 639-1 643.
- [19] 张志国, 生庆海, 王硕. HPLC 双柱法测定低聚半乳糖的平均聚合度[J]. 中国食品学报, 2013, 13(12): 237-242.
- [20] 李静芳, 彭美纯. 高效液相色谱法测定低聚半乳糖的含量[J]. 食品科技, 2012, 37(7): 279-282.
- [21] 付文佳. 酶法合成低聚半乳糖的研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2016: 9-10.