

# 基于不同检测器高效液相色谱法测定 食品中糖醇的研究

Analysis and assessment of two kinds of high performance liquid chromatography methods to detect xylitol, sorbitol and maltitol in foods

向俊 王芳斌 荆辉华 唐万里 刘赛

XIANG Jun WANG Fang-bin JING Hui-hua TANG Wan-li LIU Sai

(湖南省食品质量监督检验研究院, 湖南长沙 410000)

(Hunan Institute of Food Quality Supervision Inspection and Research, Changsha, Hunan 410000, China)

**摘要:**分析比较了口香糖、饮料样品中 3 种糖醇的 2 种测定方法。样品经水直接提取后一分为二,一份用配有示差折光检测器的高效液相色谱法检测,另一份用配有蒸发光散射检测器的高效液相色谱法检测。高效液相色谱法—示差折光检测法(HPLC-DRID)测定的木糖醇、山梨醇和麦芽糖醇的检出限( $RSN = 3$ )均为  $0.0375 \text{ g}/100 \text{ g}$ , 相关系数为  $0.99921 \sim 0.99929$ , 加标回收率为  $91.5\% \sim 97.3\%$ ; 高效液相色谱法—蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD)测定的木糖醇、山梨醇和麦芽糖醇的检出限( $RSN = 3$ )为  $0.0095 \sim 0.0275 \text{ g}/100 \text{ g}$ , 相关系数为  $0.9993 \sim 0.9996$ , 加标回收率为  $91.2\% \sim 96.3\%$ 。结果表明:2 种高效液相色谱法均能满足样品中 3 种糖醇的检测要求,而高效液相色谱法—蒸发光散射检测法的灵敏度要明显优于高效液相色谱法—示差折光检测法的,更适用于糖醇含量低的样品检测。

**关键词:**糖醇; 高效液相色谱法—示差折光检测法(HPLC-DRID); 高效液相色谱法—蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD); 分析比较

**Abstract:** Two different methods for the determination of three kinds of sugar alcohols in bubble gum and beverage were analyzed and compared. Samples were extracted directly by water. Half part of the extracts was detected by high performance liquid chromatography with differential refractive index detection (HPLC-DRID), the rest part of the extracts was detected by high performance liquid chromatography with evaporative light-scattering detection (HPLC-ELSD). Limits of detection (LOD) of xylitol, sorbitol and maltitol determined by HPLC-DRID were  $0.0375 \text{ g}/100 \text{ g}$ , the correlation coefficients were in the range of  $0.99921 \sim 0.99929$ , and the recovery rates of spiked

samples were in the range of  $91.5\% \sim 97.3\%$ ; LODs of xylitol, sorbitol and maltitol determined by HPLC-ELSD were in the range of  $0.0095 \sim 0.0275 \text{ g}/100 \text{ g}$ , the correlation coefficients were in the range of  $0.9993 \sim 0.9996$ , and the recovery rates of spiked samples were in the range of  $90.9\% \sim 96.3\%$ . All results showed that both of HPLC-DRID and HPLC-ELSD were the appropriate methods for the determination of three kinds of sugar alcohols in samples. Compared with HPLC-DRID, the HPLC-ELSD is a more optimal method for the sample with low sugar alcohols contents because of its high sensitivity in the test.

**Keywords:** sugar alcohols; HPLC-DRID; HPLC-ELSD; analysis and comparison

糖醇具有甜度低、热值低以及可改善食品质构与口感的特点。山梨醇、木糖醇、麦芽糖醇分别是葡萄糖、木糖、麦芽糖的还原产物,3 种糖醇对酸、热均有较高稳定性,不容易发生美拉德反应,成为了低热值食品甜味剂的理想选择,已广泛应用于食品工业中<sup>[1]</sup>。木糖醇作为一种天然植物甜味剂,具有一定的营养价值,也是人体糖类代谢的正常中间体,但摄入过多却容易伤肠胃,在欧美国家,含有木糖醇的食品,都会在标签上注明“过量摄取可能会导致腹泻”这样的消费提示。

目前报道的糖醇含量检测方法主要有离子色谱积分脉冲安培法<sup>[2-3]</sup>、气相色谱法<sup>[4-6]</sup>、气质联用法<sup>[7]</sup>和液相色谱法<sup>[8-11]</sup>等。高效液相色谱法因具有前处理方法简便、分析速度快、分离效能高、检测灵敏度高等优点,已广泛应用于糖醇类化合物的检测。其中,检测器是高效液相色谱的关键组成部分,检测器不同,检测原理不同,对检测同种物质的选择性和灵敏度就存在差异性。选择一种具有高选择性和高灵敏度的检测方法,检测食品中糖醇类化合物,对食品安全风险分析及监测提供精确数据有重要意义。

**作者简介:**向俊(1984—),女,湖南省食品质量监督检验研究院工程师,硕士。E-mail:105224640@qq.com

**收稿日期:**2018-04-08

本研究拟采用水作溶剂直接提取样品中的糖醇,在相同的样品前处理条件下,分别用高效液相色谱法—示差折光检测法、高效液相色谱法—蒸发光散射检测法,同时测定口香糖和饮料中的木糖醇、山梨醇和麦芽糖醇。比较2种方法的灵敏度、线性相关性、回收率、精密度,旨在为满足日益严格的食品中糖醇类化合物检测要求,寻找和选择具有高选择性及高灵敏度的检测方法。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

口香糖、饮料:购于当地超市;

三氯乙酸:分析纯,天津市科密欧化学试剂公司;

碳酸钠:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

乙腈:色谱纯,安普实验科技上海有限公司;

木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇标准品:安普实验科技上海有限公司;

试验中所用纯水均取自 ZOOMAC 纯水系统。

### 1.2 仪器与设备

高效液相色谱仪:安捷伦 1260 型,配示差折光检测器,美国安捷伦公司;

高效液相色谱仪:岛津 LC-20AT 型,配蒸发光散射检测器,日本岛津公司;

电子天平:AL204 型,瑞士梅特勒-托利多公司;

电热恒温水浴锅:HH-S6 型,北京科伟永兴仪器有限公司;

高速冷冻离心机:Neofuge 1600R 型,上海力申科学仪器有限公司。

### 1.3 样品的提取和净化

(1) 口香糖:准确称取 2 g 搅拌均匀的口香糖样品,置于 100 mL 离心管中,加入 50 mL 水,混匀后置于 80 °C 水浴锅中加热 30 min,每隔 10 min 振荡混匀 1 次,取出冷却至室温,以 9 000 r/min 离心 5 min,取 8 mL 上清液置于 10 mL 容量瓶中,以水定容,摇匀后用 0.22 μm 滤膜过滤。

(2) 饮料:准确称取 10 g 混匀后的饮料样品于 50 mL 容量瓶中,加水定容至 50 mL,摇匀后用 0.22 μm 滤膜过滤。

### 1.4 仪器条件

(1) 高效液相色谱法—示差折光检测分离条件:检测器:示差折光检测器;检测色谱柱:氨基柱(250 mm × 4.6 mm × 5 μm);柱温:35 °C;流速:1.0 mL/min;检测用流动相:乙腈+水(80:20,体积比)等度洗脱;进样量:10 μL。

(2) 高效液相色谱法—蒸发光散射检测分离条件:检测器:蒸发光散射检测器;检测色谱柱:氨基柱(250 mm × 4.6 mm × 5 μm);柱温:35 °C;流速:1.0 mL/min;漂移管温度:70 °C;氮气压力:300 kPa;检测用流动相:乙腈+水(80:20,体积比)等度洗脱;进样量:10 μL。

## 2 结果与分析

### 2.1 2种方法的标准曲线与定量参数

木糖醇、山梨醇和麦芽糖醇的高效液相色谱法—示差折

光检测色谱图见图 1,高效液相色谱法—蒸发光散射检测色谱图见图 2。示差折光检测器中的仪器噪音较高,平稳性较差,基线波动较大,不利于低含量样品检测。而蒸发光散射检测器基线较平稳,目标物响应信号强度高于高效液相色谱法—示差折光检测法,采用高效液相色谱法—蒸发光散射检测木糖醇、山梨醇和麦芽糖醇 3 种糖醇的灵敏度、分离度优于高效液相色谱法—示差折光检测法。

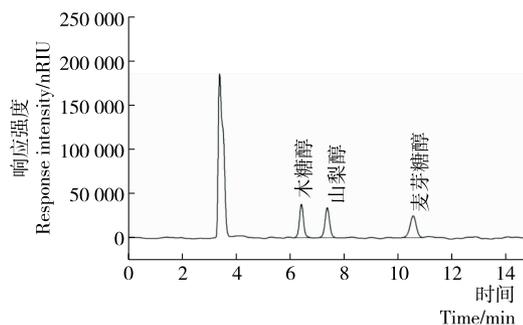


图 1 木糖醇、山梨醇和麦芽糖醇的高效液相色谱法—示差折光检测色谱图

Figure 1 HPLC-DRID chromatogram of a mixed standard solution containing xylitol, sorbitol and maltitol

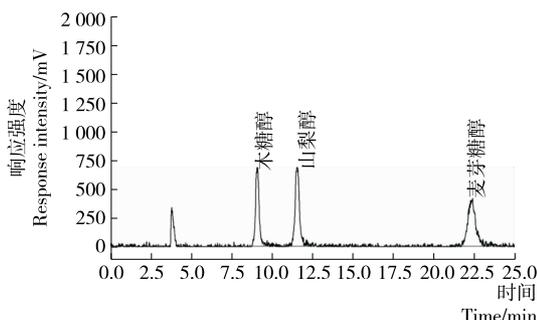


图 2 木糖醇、山梨醇和麦芽糖醇的高效液相色谱法—蒸发光散射检测色谱图

Figure 2 HPLC-ELSD chromatogram of a mixed standard solution containing xylitol, sorbitol and maltitol

高效液相色谱法—示差折光检测(HPLC-DRID)和高效液相色谱法—蒸发光散射检测(HPLC-ELSD)均采用外标法定量,HPLC-ELSD中响应值(峰面积)的对数与浓度的对数呈线性关系,具体参数见表 1。用高效液相色谱法—示差折光检测法测定的木糖醇、山梨醇和麦芽糖醇的检出限( $RSN=3$ )均为 0.037 5 g/100 g;线性范围为 1.6~24.0 mg/mL;相关系数为 0.999 21~0.999 29。高效液相色谱法—蒸发光散射检测法测定的木糖醇、山梨醇和麦芽糖醇的检出限( $RSN=3$ )分别为 0.009 5,0.019 0,0.027 5 g/100 g;线性范围分别为 0.1~10.5 mg/mL;相关系数为 0.999 3~0.999 6。由数据可以看出在测定 3 种糖醇时,高效液相色谱法—蒸发光散射检测法的灵敏度明显优于高效液相色谱法—示差折光检测法,2 种方法线性相关性均能满足检测要求。

### 2.2 2种方法的回收率比较

在口香糖、饮料样品中分别添加 3 个水平的糖醇标准品

表 1 3 种糖醇的 HPLC-DRID 和 HPLC-ELSD 标准曲线参数

Table 1 Calibration curve parameters of 3 sugar alcohols

方法	分析物	标准曲线	相关系数 $R^2$	检出限/ ( $10^{-2} \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	线性范围/ ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
HPLC-DRID	木糖醇	$Y=87\ 748.790\ 6X-4\ 323.990\ 3$	0.999 21	0.037 5	1.6~24.0
	山梨醇	$Y=88\ 458.358\ 2X-2\ 610.440\ 6$	0.999 24	0.037 5	1.6~24.0
	麦芽糖醇	$Y=83\ 530.0375X+4\ 546.062\ 5$	0.999 29	0.037 5	1.6~24.0
HPLC-ELSD	木糖醇	$Y=X^{0.677\ 852\ 8} \times e^{17.129\ 56}$	0.999 32	0.009 5	0.1~10.5
	山梨醇	$Y=X^{0.709\ 826\ 1} \times e^{17.441\ 21}$	0.999 34	0.019 0	0.1~10.5
	麦芽糖醇	$Y=X^{0.979\ 89} \times e^{18.053\ 69}$	0.999 61	0.027 5	0.1~10.5

(木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇)。HPLC-DRID 和 HPLC-ELSD 2 种方法回收率测定结果见表 2。HPLC-DRID 测定口香糖中 3 种糖醇的加标回收率为 91.5%~95.1%，饮料中 3 种糖醇的加标回收率为 94.6%~97.3%；HPLC-ELSD 测定口香糖中 3 种糖醇的加标回收率为 91.2%~96.3%，饮料中 3 种糖醇的加标回收率为 92.4%~95.9%。HPLC-DRID 测定的结果显示，饮料中加标回收结果较稳定，口香糖中加标回收

结果波动较大，口香糖的基质相比饮料更复杂，表明复杂的样品基质对糖醇测定影响更明显。3 种糖醇相比而言，木糖醇的加标回收结果稳定性更差，也就是说同一种基质对木糖醇的影响更大。相同添加水平条件下，HPLC-ELSD 测定饮料中 3 种糖醇的加标回收率要低于 HPLC-DRID，说明饮料基质对 3 种糖醇检测的检测器的影响：HPLC-ELSD 要大于 HPLC-DRID。

表 2 3 种糖醇的加标回收率结果

Table 2 Recovery rates of 3 sugar alcohols

混标	分析物	添加量/ ( $10^{-2} \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	HPLC-DRID		HPLC-ELSD	
			口香糖	饮料	口香糖	饮料
混标 1	木糖醇	0.04	91.8	95.6	91.2	92.9
	山梨醇	0.05	93.1	95.2	91.7	93.0
	麦芽糖醇	0.07	91.6	94.6	92.4	92.7
混标 2	木糖醇	0.12	91.5	97.3	93.7	95.9
	山梨醇	0.15	92.0	94.9	93.9	93.0
	麦芽糖醇	0.21	93.3	96.6	93.4	92.9
混标 3	木糖醇	2.00	95.1	97.1	96.3	92.8
	山梨醇	2.00	92.2	95.0	94.7	92.4
	麦芽糖醇	2.00	93.9	96.1	92.0	94.2

### 2.3 2 种方法的精密度比较

如表 3 所示，当加标水平为 2.00 g/100 g 时，HPLC-DRID 测定的木糖醇、山梨醇和麦芽糖醇的相对标准偏差分别为 2.5%，1.9%，2.9%，HPLC-ELSD 测定的木糖醇、山梨醇和麦芽糖醇的相对标准偏差分别为 2.1%，1.3%，2.5%。结果表明 2 种方法测定的 3 种糖醇的相对标准偏差在 5% 以下，能满足检测要求，但 HPLC-DRID 的结果标准偏差相对较大，可能与 HPLC-DRID 的检测器受环境温度影响较大，稳定性不如 HPLC-ELSD 有关<sup>[12]</sup>。

### 2.4 测定实际样品比较

从表 4 可知，HPLC-DRID 检测结果显示只在饮料中检出山梨醇，而 HPLC-ELSD 检测结果显示口香糖中检出木糖醇、饮料中检出山梨醇。对于目标化合物含量较高的样品，2 种检测器结果无明显差异，当检测目标化合物糖醇含量较低的样品时，使用灵敏度较低的 HPLC-DRID 方法则难以检测出来。实际检测中，对基质干扰较大的样品，HPLC-ELSD

表 3 方法精密度<sup>†</sup>

Table 3 Precision of the developed method

分析物	HPLC-DRID		HPLC-ELSD	
	测定值/ ( $10^{-2} \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	RSD/ %	测定值/ ( $10^{-2} \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	RSD/ %
木糖醇	1.90	2.5	1.93	2.1
山梨醇	1.84	1.9	1.89	1.3
麦芽糖醇	1.88	2.9	1.84	2.5

<sup>†</sup> 加标水平为 2.00 g/100 g。

中可采用梯度洗脱，将目标物与杂质分离，提高检测结果的准确度，但 HPLC-DRID 受检测器限制，不适用梯度洗脱，糖醇含量较低及基质复杂样品检测受限。

## 3 结论

高效液相色谱法—蒸发光散射检测法灵敏度和分离度优于高效液相色谱法—示差折光检测法，且可进行梯度洗

表4 实际样品中糖醇

Table 4 Determination results of sugar alcohols in test samples g/100 g

样品	分析物	含量	
		HPLC-DRID	HPLC-ELSD
普通口香糖	木糖醇	ND	0.018
	山梨醇	ND	ND
	麦芽糖醇	ND	ND
无糖口香糖 1	木糖醇	4.507	4.712
	山梨醇	52.124	50.861
	麦芽糖醇	3.237	ND
无糖口香糖 2	木糖醇	0.039	0.041
	山梨醇	55.799	55.206
	麦芽糖醇	4.614	4.596
木糖醇口香糖	木糖醇	38.229	38.471
	山梨醇	ND	0.026
	麦芽糖醇	31.388	32.107
饮料	木糖醇	ND	ND
	山梨醇	0.039	0.040
	麦芽糖醇	ND	ND

脱,适合对糖醇含量低且基质复杂的样品进行检测,如常见的有饼干、糕点等样品;高效液相色谱法—示差折光检测法的回收率高于高效液相色谱法—蒸发光散射检测法,适用于糖醇含量较高及样品基质较简单的样品检测,如木糖醇口香糖、配方简单的饮料、成分较简单的保健品等产品检测,实际工作中

可根据具体情况选用相应的方法以提高检测结果的准确性。

参考文献

[1] 钟耀广. 功能性食品[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 215-219.

[2] 唐坤甜, 林立, 梁丽娜, 等. 无糖和低糖食品中的糖和糖醇同时分析的阴离子交换色谱-脉冲安培检测法研究[J]. 食品科学, 2008, 29(6): 327-331.

[3] 崔鹤, 李戈登. 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(1): 25-26.

[4] 于海云, 宋俊梅, 刘明明, 等. 采用气相色谱法测定木糖醇注射液的有关物质[J]. 亚太传统医药, 2012, 8(5): 29-30.

[5] 曹云龙, 刘红利, 李永利, 等. 食品中木糖醇含量的气相色谱法测定[J]. 河南预防医学杂志, 2000(5): 260-261.

[6] 吴蓉, 王文兰. 气相色谱法测定木糖醇方法探讨[J]. 浙江预防医学, 1994(6): 42-43.

[7] PATRICIA M M, SIMONEIT B R. Analysis of sugars in environmental samples by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatograph A, 2007, 1 141: 271-278.

[8] 田强, 方春雷, 修秀红. 高效液相色谱法测定木糖醇产品中的木糖醇含量[J]. 中国食品添加剂, 2009(4): 164-168.

[9] 赵光辉, 王成福, 李俊萍. 采用高效液相色谱法测定木糖醇产品中各组分含量[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(7): 117-119.

[10] 秦振顺, 王平, 陈桂茹, 等. 高效液相色谱法测定木糖醇[J]. 中国卫生工程学, 2002(4): 227-228.

[11] 李黎, 刘玉峰, 唐华澄, 等. 高效液相色谱法测定食品中的糖醇[J]. 食品科学, 2007, 28(6): 278-280.

[12] 林慧, 颜春荣, 徐春祥, 等. HPLC-ELSD法同时测定食品中的10种糖和糖醇[J]. 食品科学, 2013, 34(12): 286-291.

[12] 马庆华, 王贵禧, 梁丽松, 等. 冬枣的穿刺质地及其影响因素[J]. 林业科学研究, 2011, 24(5): 596-601.

[13] 王莉, 张丽, 郭兆斌, 等. 泡椒耗牛黄喉感官评价描述词的建立[J]. 食品科学, 2015, 36(21): 74-78.

[14] 李敬, 崔繁荣, 叶治兵, 等. 泡椒牛皮感官评价指标体系的构建[J]. 食品工业科技, 2016, 37(13): 206-209, 214.

[15] 马雄威. 线性回归方程中多重共线性诊断方法及其实证分析[J]. 华中农业大学学报: 社会科学版, 2008(2): 78-81, 85.

[16] 金彪. 一元线性回归分析在处理实验数据中的应用[J]. 物理教师, 2009, 30(6): 24, 26.

[17] 杨炜, 蔺艳君, 刘丽娅, 等. 小麦馒头品质评价方法优化[J]. 食品科学技术学报, 2016, 34(2): 31-38.

[18] 刘雷, 曹柳, 杜玖珍, 等. 基于主成分及聚类分析的川产半夏产量与品质的综合评价[J]. 中草药, 2016, 47(14): 2 519-2 525.

[19] 刘景, 王荫榆, 郭本恒, 等. 发酵乳储存期内风味模型的建立与检验[J]. 食品科学, 2011, 32(12): 296-300.

[20] 张景阳, 潘光友. 多元线性回归与BP神经网络预测模型对比与运用研究[J]. 昆明理工大学学报, 2013, 38(6): 61-67.

[21] 吴玉红, 田霄鸿, 南雄雄, 等. 基于因子和聚类分析的保护性耕作土壤质量评价研究[J]. 中国生态农业学报, 2010, 18(20): 223-228.

[22] 钱丽丽, 李平惠, 杨义杰, 等. 不同产地芸豆中矿物元素的因子分析与聚类分析[J]. 食品科学, 2015, 36(14): 102-106.

(上接第57页)

[2] 杨峰, 巫朝华, 范大明, 等. 四川泡椒对鲢鱼鱼糜凝胶风味特性的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(16): 152-157.

[3] 赵雪梅, 廖诚成, 丁捷, 等. 挤压型速冻青稞鱼面品质评价模型的建立[J]. 食品科技, 2018, 43(2): 189-195.

[4] 易宇文, 范文教, 彭毅秦, 等. 鱼香调味汁人工感官评价与电子舌感官分析相关性研究[J]. 食品科技, 2017, 42(11): 290-294.

[5] 易宇文, 刘阳, 彭毅秦, 等. 东坡肘子风味电子鼻分析与感官评价相关性探究[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(1): 238-244.

[6] 许文方, 张海东, 李贵荣, 等. 仿生传感智能感官检测技术及其在云南特色农产品品质检测中的应用[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(10): 4 592-4 595.

[7] 谢安国, 王金水, 渠琛玲, 等. 电子鼻在食品风味分析中的应用研究进展[J]. 农产品加工: 学刊, 2011(1): 71-73, 87.

[8] 易宇文, 范文教, 乔明锋, 等. 7种鱼香肉丝调料智能嗅觉识别[J]. 食品与机械, 2017, 33(1): 27-31.

[9] 林科. 电子舌研究进展及其在食品检测中的应用研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(15): 6 602-6 604.

[10] 王素霞. 花椒酰胺电子舌响应规律及其应用研究[D]. 成都: 西南交通大学, 2014: 24-31.

[11] 国艳梅, 杜永臣, 王孝宣, 等. 利用色差仪估测番茄果实番茄红素含量的研究[J]. 中国蔬菜, 2008, 1(11): 10-14.