

# 高效液相色谱法同时测定含盐调味料中单糖、二糖和寡糖 15 种组分的含量

岩田奈津纪

## 对用户的好处

- ◆ 使用梯度洗脱法对从单糖到寡糖，共 15 种组分进行高灵敏度分析；
- ◆ 能够对已知进行共洗脱的葡萄糖和半乳糖进行分离；
- ◆ 即使是含盐分较多的食品，也可以通过脱盐对微量存在的糖进行定量。

## 前言

已经阐明，糖类与糖尿病、肥胖、过敏、痴呆等健康问题的发生有关。众所周知，限制糖类的摄入是一种有效预防和治疗这些病症的方式。然而，在限制糖类摄入方面，调味料却经常被忽略。实际上，在某些调味料中会含有较多的糖分。

除了糖分以外，这些调味品还含有大量的盐分。对于盐分较高的样品，使用示差折光检测器 (RID)、蒸发光散射检测器 (ELSD) 等选择性较低的检测器进行糖的定量分析，容易受到基质的干扰。本文中，在预处理操作中对实际样品进行脱盐处理以除去干扰分析的盐分，从而提高了定量的准确性。

本文介绍了应用亲水相互作用色谱法 (HILIC) 对 15 种糖组分进行分离，并通过 ELSD-LT III 进行糖类检测。此外，还对 6 种市售调味料中的糖分进行了定量分析。

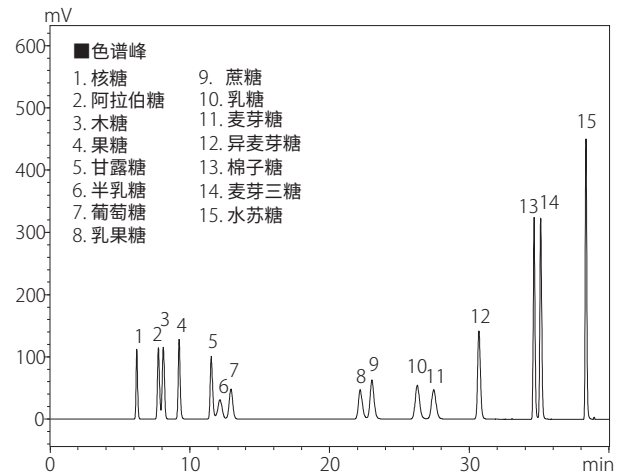


图 1 15 种糖组分混合标准溶液 (100 mg/L) 的色谱图

## 单糖、二糖和寡糖 15 种组分混合标准溶液的测定

从单糖到四糖的寡糖 15 种目标组分见表 1。图 1 所示为 15 种糖组分的标准溶液 (由 70% 乙腈水溶液配制，浓度为 100 mg/L) 色谱图，表 2 所示为分析条件。使用梯度洗脱法，可以在约 40 分钟内洗脱 15 种组分。由于半乳糖和葡萄糖是同分异构体，通常在 LC 分析中会发生共流出。但是，如果按照本文中的分析条件，则可将它们分离。

表 1 目标组分

化合物	糖类
1 核糖	
2 阿拉伯糖	
3 木糖	
4 果糖	单糖
5 甘露糖	
6 半乳糖	
7 葡萄糖	
8 乳果糖	
9 蔗糖	
10 乳糖	二糖
11 麦芽糖	
12 异麦芽糖	
13 棉子糖	三糖
14 麦芽三糖	
15 水苏糖	四糖

表 2 分析条件

系统	Nexera lite
色谱柱	: Shodex HILIC pak VG-50 4E (250 mm × 4.6 mm 内径, 5 μm)
流速	: 1.0 mL/min
流动相	: A) 水 B) 乙腈
时间程序	: 88% B (0-12min) → 83.5% B (25min) → 60% B (40-45min) → 88% B (45.10-55min)
柱温	: 45 °C
进样量	: 10 μL
样品瓶	: SHIMADZU LabTotal™ 用于 LC 1.5mL, 玻璃*1
检测 (ELSD)	: ELSD-LT III
增益	: 宽
过滤器	: 4 秒
漂移管温度	: 40 °C
雾化气	: N <sub>2</sub>
气压	: 350 kPa

\* 1 P/N: 227-34001-01

## ■ 重现性

表 3 所示为 100 mg/L 标准溶液重复分析 6 次的保留时间和峰面积重现性 (% RSD)。保留时间和面积重现性的结果分别在 0.2%、6.3% 以下 (表 3)。

表 3 重现性结果 (%RSD, n = 6)

	化合物	保留时间	峰面积
1	核糖	0.09	6.22
2	阿拉伯糖	0.06	5.23
3	木糖	0.04	5.44
4	果糖	0.04	6.12
5	甘露糖	0.00	4.66
6	半乳糖	0.15	5.71
7	葡萄糖	0.09	6.04
8	乳果糖	0.07	4.70
9	蔗糖	0.04	3.68
10	乳糖	0.05	3.80
11	麦芽糖	0.05	3.18
12	异麦芽糖	0.04	2.59
13	棉子糖	0.02	1.22
14	麦芽三糖	0.02	1.15
15	水苏糖	0.02	2.99

## ■ 标准曲线

对 15 种糖类目标组分创建标准曲线, 所有组分的相关系数平方  $r^2$  均在 0.998 以上, 且线性良好。另外, 由于 ELSD 检测器上物质的量与散射光的强度呈指数关系, 因此以响应强度和浓度的对数为坐标轴绘制标准曲线。图 2 所示为葡萄糖和蔗糖的标准曲线, 表 4 为所有糖类目标组分的标准曲线浓度范围和相关系数。

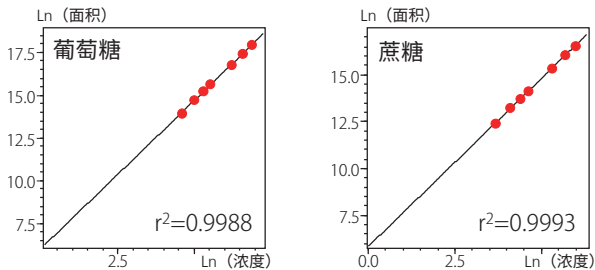


图 2 标准曲线

表 4 标准曲线浓度范围和相关系数 ( $r^2$ )

化合物	浓度范围 (mg/L)	$r^2$	
1	核糖	10-80	0.9982
2	阿拉伯糖	10-80	0.9991
3	木糖	10-80	0.9988
4	果糖	100-1000	0.9980
5	甘露糖	10-100	0.9991
6	半乳糖	40-400	0.9992
7	葡萄糖	100-1000	0.9988
8	乳果糖	10-80	0.9986
9	蔗糖	40-400	0.9993
10	乳糖	10-80	0.9998
11	麦芽糖	10-400	0.9991
12	异麦芽糖	10-400	0.9990
13	棉子糖	10-100	0.9993
14	麦芽三糖	10-80	0.9997
15	水苏糖	10-80	0.9999

## ■ 烧烤酱的分析

图 3 所示为烧烤酱的预处理方法。称取 100 mg 市售烧烤酱, 用 70% 乙醇水溶液提取, 定容至 20 mL。然后进行离心分离, 取上清液用 0.2  $\mu$ m 的膜过滤器进行过滤, 上机分析。

色谱图如图 4 所示。在烧烤酱中检测到了果糖、葡萄糖和麦芽糖。

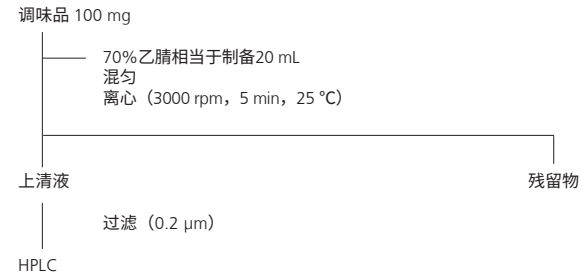


图 3 预处理方法 (烧烤酱)

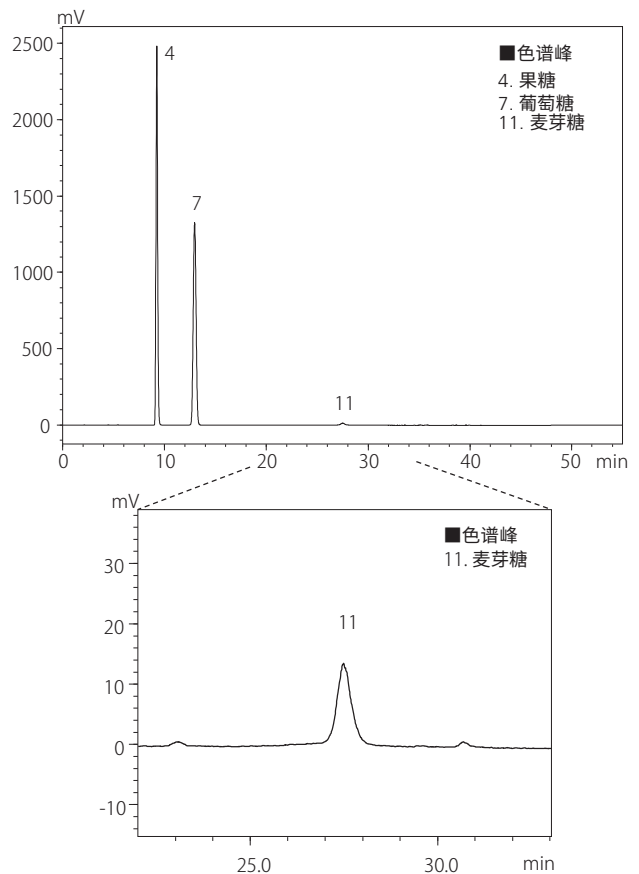


图 4 烧烤酱样品色谱图

## ■ 牛排酱、番茄酱的分析

图 5 所示为牛排酱和番茄酱的预处理方法。分别称取 100 mg 市售牛排酱和番茄酱，用 70% 乙腈水溶液提取，分别定容至图 5 所示的容量。接着，进行离心分离，得到上清液。由于这些样品中含有较高盐分，会干扰到糖类的定量测定，使用阳离子交换柱进行了脱盐处理。使用 S\*Pure Pte Ltd 生产的 Maxi-Clean™ SPE 0.5 mL IC-H (H + 型) 作为离子交换柱。操作方法为，将获得的上清液加载到利用超纯水活化的离子交换柱中，弃去 2 mL 初始洗脱液，使用 0.2 μm 膜过滤器对其余洗脱液进行过滤，上机分析。

图 6 和图 7 分别为牛排酱和番茄酱样品的色谱图。在大约 30 分钟检测到的峰是盐。通过用 IC-H 脱盐，能够对掩埋在盐中的少量麦芽糖和异麦芽糖进行定量分析。

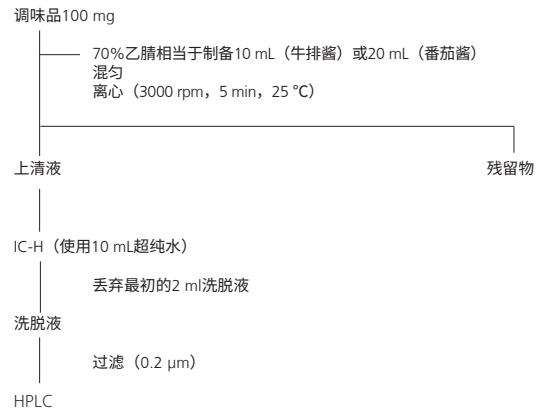


图 5 预处理方法 (牛排酱、番茄酱)

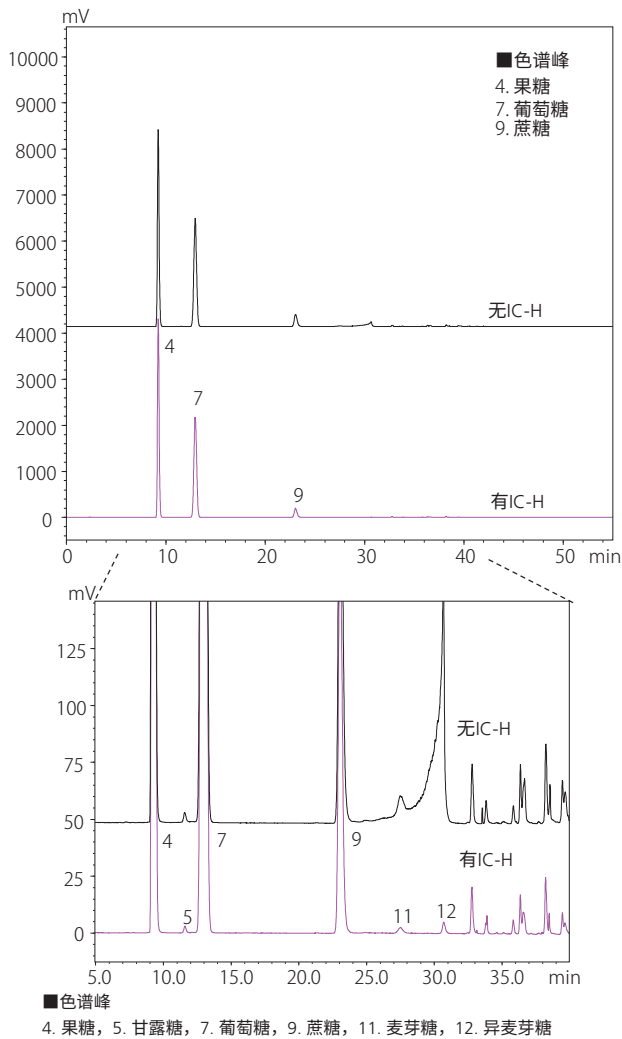


图 6 牛排酱样品色谱图

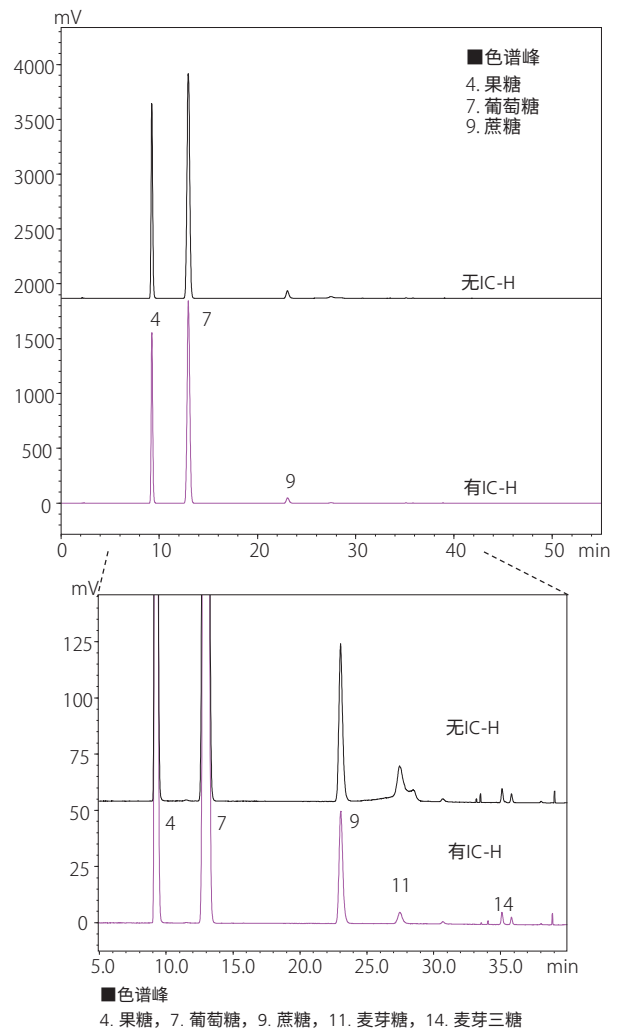


图 7 番茄酱样品色谱图

## 酱油、黑醋的分析

图 8 所示为酱油和黑醋的预处理方法。称取各 100  $\mu\text{L}$  市售酱油和黑醋，用 70% 乙腈水溶液提取，定容至 5 mL。与牛排酱等一样，这些样品都含有高浓度的盐分，因此用 IC-H 进行了脱盐处理。脱盐后的处理方法与前项相同。

图 9 和图 10 分别为酱油和黑醋样品的色谱图。通过使用 IC-H 脱盐，证实这些样品中不存在被高浓度的盐所覆盖的糖分。此外，半乳糖和葡萄糖共存于酱油中，可以对其进行分离和定量。

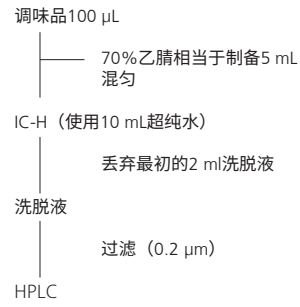


图 8 预处理方法 (酱油、黑醋)

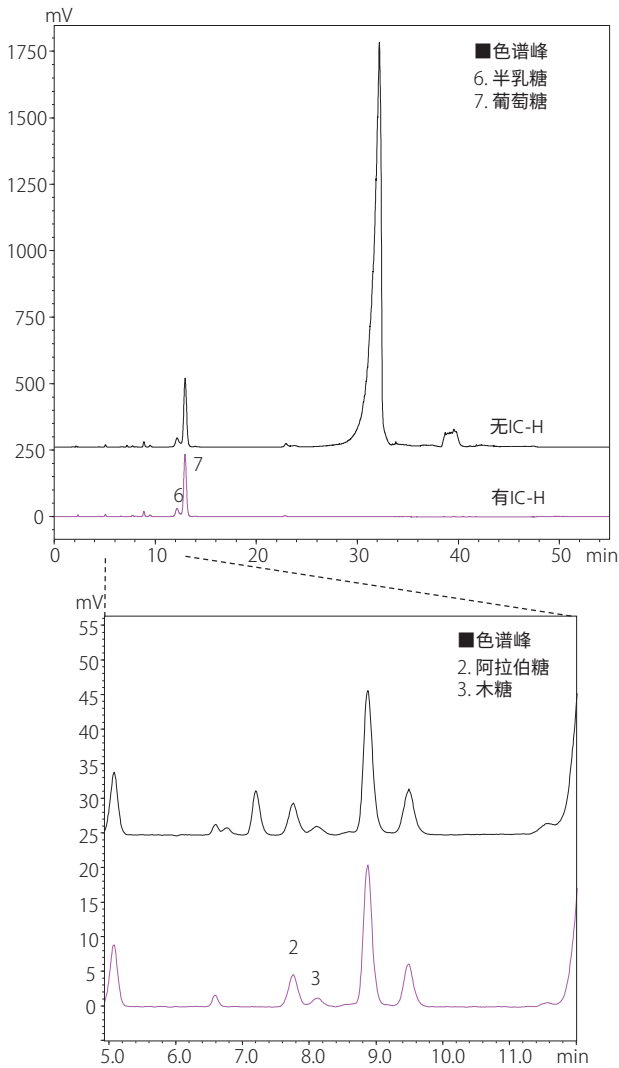


图 9 酱油样品色谱图

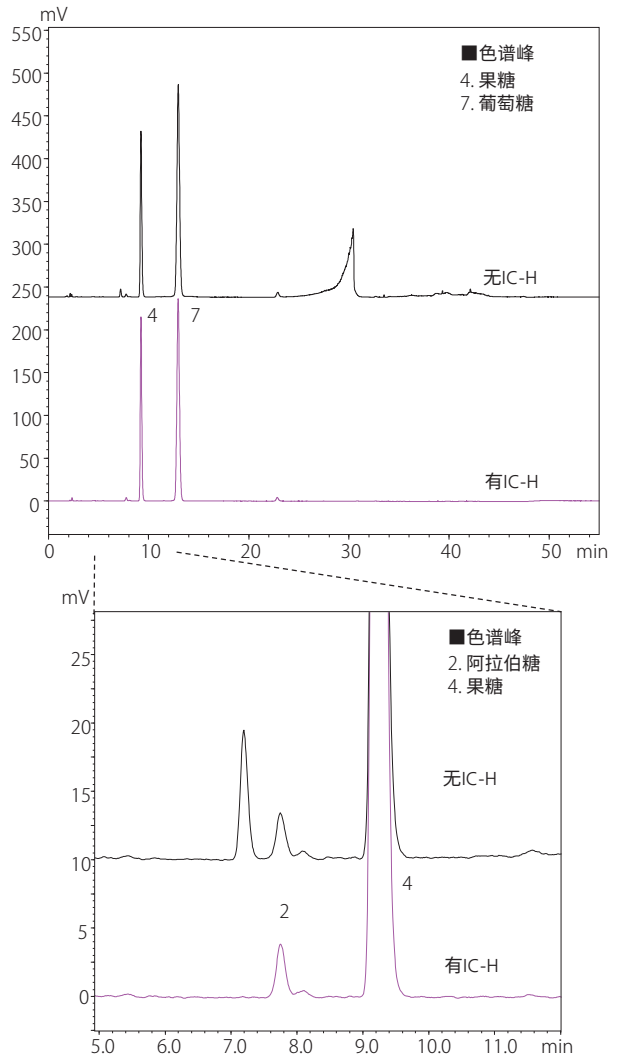


图 10 黑醋样品色谱图

## ■ 加标回收试验

使用番茄酱进行了加标回收试验。将果糖、葡萄糖和蔗糖添加至 100 mg 番茄酱中，分别添加至浓度为 2000 mg/100g（样品溶液中的浓度均为 100 mg/L），按照图 5 的预处理方法同时对 5 个样品进行了预处理。加标回收试验结果如表 5 所示。

表 5 加标回收试验结果 (n = 5)

N	回收率 (%)		
	果糖	葡萄糖	蔗糖
1	82.0	80.0	93.3
2	92.5	91.7	99.2
3	83.2	81.5	88.1
4	88.2	80.8	94.1
5	82.8	80.3	95.3
平均值	85.8	82.9	94.0
(%RSD)	(0.91)	(0.64)	(2.05)

## ■ 黑葡萄醋的分析

图 11 所示为黑葡萄醋的预处理方法。称取 100  $\mu$ L 市售黑葡萄醋，用 70% 乙醇水溶液提取，定容至 20 mL。然后，将用 0.2  $\mu$ m 膜过滤器过滤的液体上机 HPLC 分析。

色谱图如图 12 所示。从黑葡萄醋中检测到了果糖和葡萄糖。

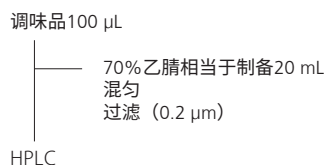


图 11 预处理方法（黑葡萄醋）

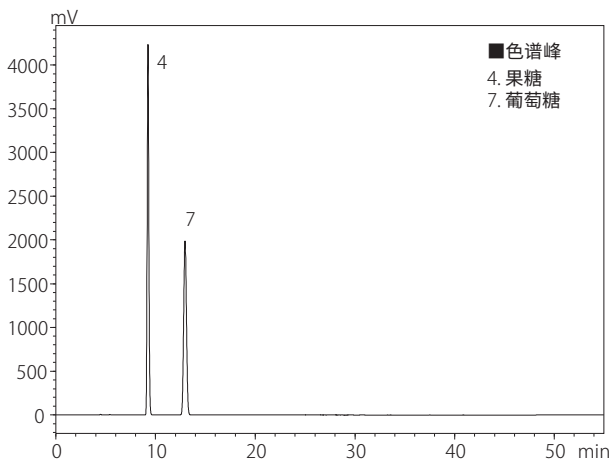


图 12 黑葡萄醋的色谱图

Nexera、SHIMADZU LabTotal 是岛津制作所株式会社在日本及其他国家的商标。  
Maxi-Clean 是 S\*Pure Pte Ltd 的商标。  
HILICPAK 是昭和电工株式会社的注册商标。  
S\*Pure Pte Ltd 制造的 Maxi-Clean SPE 0.5 mL IC-H (H<sup>+</sup>型) 可以从岛津 GLC 株式会社购买。

岛津应用云



## ■ 各调味料的分析结果

表 6 所示为各种调味料中糖的分析结果，该检测结果是经过样品预处理后的浓度。

表 6 各种调味料的分析结果

化合物	浓度 (mg/L)					
	烧烤酱	牛排酱	番茄酱	黄豆酱	黑醋	香醋
	稀释比					
	200	100	200	50	50	200
2 阿拉伯糖	N.D.	N.D.	N.D.	21.2	18.5	N.D.
3 木糖	N.D.	N.D.	N.D.	12.0	N.D.	N.D.
4 果糖	541.6	772.7	398.5	N.D.	116.1	757.0
5 甘露糖	N.D.	17.1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
6 半乳糖	N.D.	N.D.	N.D.	95.8	N.D.	N.D.
7 葡萄糖	596.6	803.9	710.1	214.9	210.2	757.0
9 蔗糖	N.D.	182.8	84.6	N.D.	N.D.	N.D.
11 麦芽糖	56.6	22.1	31.7	N.D.	N.D.	N.D.
12 异麦芽糖	N.D.	17.2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
14 麦芽三糖	N.D.	N.D.	12.5	N.D.	N.D.	N.D.

## ■ 总结

应用亲水相互作用色谱法 (HILIC) 分析单糖、二糖和寡糖的共 15 种组分，并使用 ELSD-LT III 进行了检测。使用梯度洗脱法，可以在 40 分钟内洗脱所有组分，该方法还可以对半乳糖和葡萄糖进行分离，改变了在 LC 分析中共流出的现象。

本文分析的调味料中，牛排酱、番茄酱、酱油和黑醋都含有盐分，因此在预处理操作中使用 H<sup>+</sup> 型阳离子交换柱，去除了样品中的盐分。结果表明，可以对掩埋在盐中的微量糖分进行定量，并且证实了不存在被高浓度的盐覆盖的糖分。