

利用全自动膳食纤维预处理装置和一体型高效液相色谱系统对功能性饮料进行膳食纤维分析

01-01055-cn

内田梓、野村文子

特点描述

- ◆ 全自动膳食纤维预处理设备实现了膳食纤维处理步骤的自动化，可减少人工并缩短时间。
- ◆ 参考了 AOAC 2022.01 方法，可测定不溶性膳食纤维 (IDF) 和水溶性膳食纤维 (SDF)。
- ◆ 对于采用酶 - 重量法时回收率低的低分子水溶性膳食纤维 (SDFS)，可采用高效液相色谱 (HPLC) 法进行分析。

■ 引言

膳食纤维是一种难以消化的碳水化合物，存在于谷物、豆类、水果和蔬菜等食品中¹⁾。有报道称，富含膳食纤维的饮食可降低心脏病、中风、2型糖尿病，以及某些癌症（包括乳腺癌、结肠癌和胰腺癌）的死亡风险²⁾；同时，适当摄入膳食纤维也有助于保持健康体重，改善肠道环境²⁾。

膳食纤维可分为不溶性膳食纤维 (IDF) 和水溶性膳食纤维 (SDF) 两种。谷物中含有大量 IDF，如纤维素、半纤维素和木质素，参与水分吸收和肠道功能。葡甘露聚糖、阿拉伯胶、果胶、岩藻聚糖和 β - 葡聚糖等 SDF，在果胶（蔬菜和水果）、魔芋、海藻和蘑菇中含量丰富，具有降低胆固醇水平的作用³⁾。

膳食纤维通常采用酶 - 重量法 (enzymatic-gravimetric method, Prosky) 进行测定。但是，这种方法存在 SDFS（如不可消化的糊精和聚葡萄糖）回收率低的问题。在 AOAC 2022.01 方法⁴⁾ 中，采用高效液相色谱 (HPLC) 法对酶 - 重量法的滤液进行分析，并对三糖类或三糖类以上的 SDFS 成分进行测定。

本文介绍了一种基于 AOAC 2022.01 方法，利用全自动膳食纤维预处理系统 (ANKOM Technology)⁵⁾ 和一体型 HPLC 系统进行膳食纤维的测定。

■ 膳食纤维的前处理步骤

膳食纤维的前处理步骤包括对食品进行酶处理、过滤和乙醇沉淀，然后分别测定 IDF 和 SDF（酶 - 重量法）。SDFS 的计算方法是：回收酶 - 重量法得到的滤液，用离子交换树脂去除蛋白质和盐，然后用 HPLC 测定可溶于乙醇的组分。在日本，AOAC 2011.25 方法是主流方法，但本文引用了最新的 AOAC 2022.01 方法（截至第一版发行时）。AOAC 2022.01 方法联合使用肝脏 α - 淀粉酶 (PAA) 和淀粉葡萄糖苷酶 (AMG)，提供的酶处理条件更接近人类小肠。AOAC 2011.25 方法中的酶处理时间为 16 小时，而在 AOAC 2022.01 方法中缩短至 4 小时。

使用全自动膳食纤维预处理系统可显著减少研究人员所需的人力，并节省时间。使用本系统的膳食纤维处理步骤如图 1 所示。使用一次性滤袋代替坩埚，就不再需要进行玻璃器皿的准备、玻璃坩埚的过夜灰化、水浴恒温振荡、样品转移和真空过滤等步骤。酶和溶剂的分注、温度控制、搅拌和过滤等过程均由计算机控制，因此消除了人为错误，从而提高了准确性。全自动膳食纤维预处理系统和一体型 HPLC 的外观如图 2 所示。

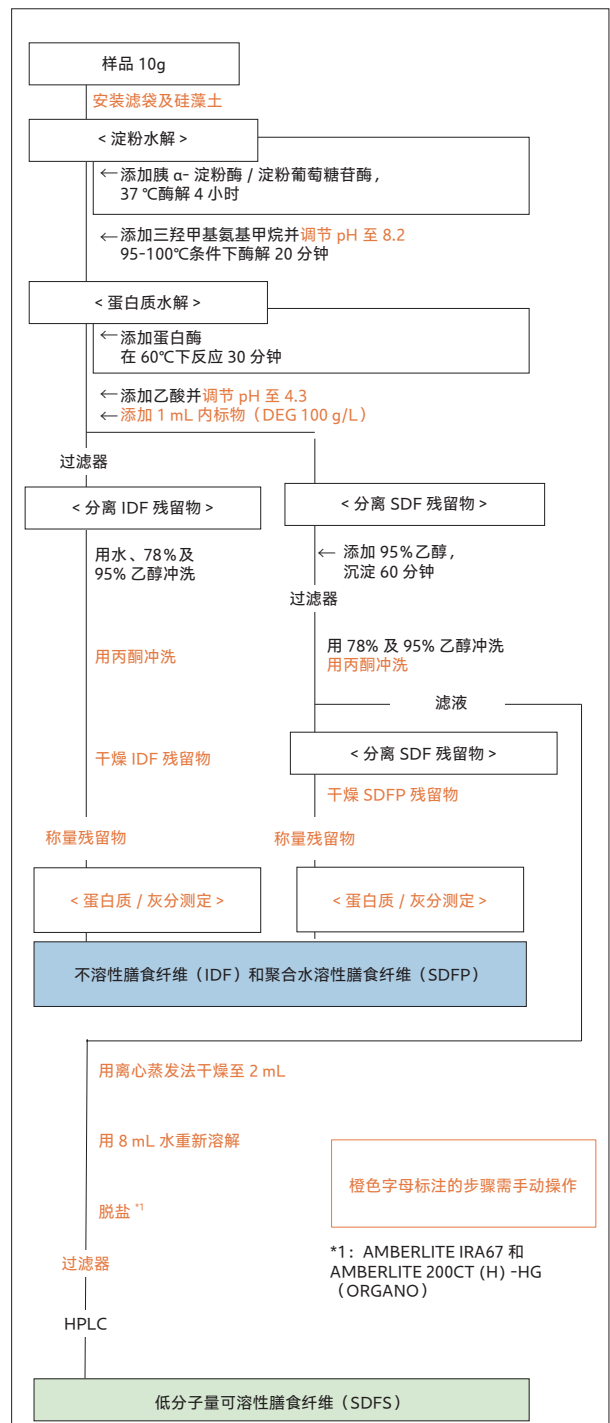


图 1 高盐样品燃烧管

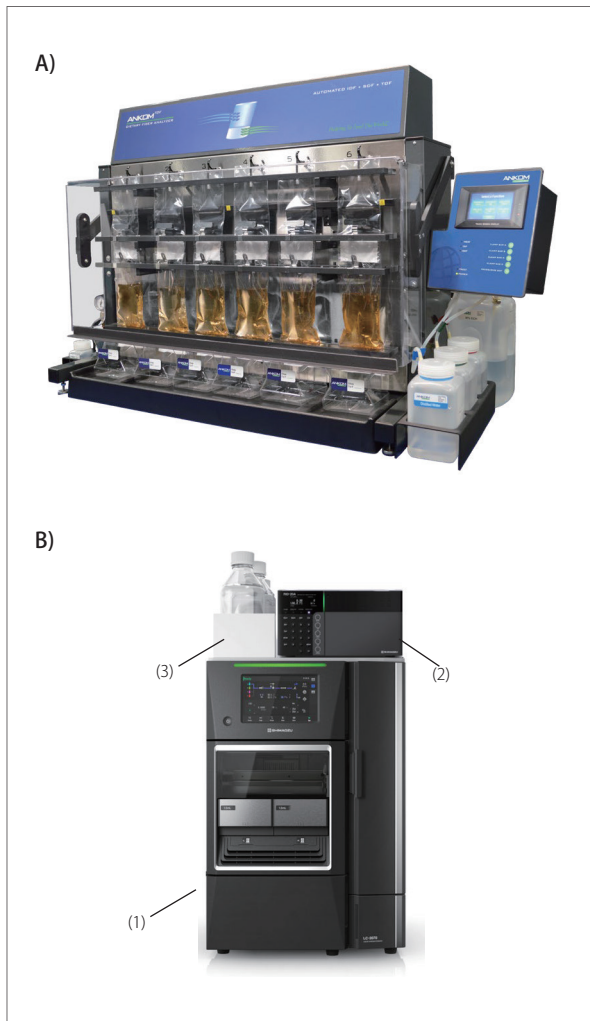


图 2 A) 全自动膳食纤维预处理系统“膳食纤维 TDF”(ANKOM Technology)
B) 一体型高效液相色谱系统 (1)LC-2070(2)RID-20A(3) 储液盘

■ 低分子水溶性膳食纤维的 HPLC 分析

使用全自动膳食纤维预处理系统对三种市售的含有难消化性糊精的功能性饮料(软饮料)进行处理。以二甘醇(DEG)为内标物。由于本研究中使用的样本主要是含有 SDFS 的食品,因此仅对低分子膳食纤维进行了 HPLC 测定。当测定含有低分子膳食纤维以外的食品的总膳食纤维含量时,也可通过测定蛋白质和灰分含量来确定食物中 IDF 和高分子可溶性膳食纤维的含量,方法如图 1 所示。

用于预处理的酶和用于确认 HPLC 保留时间的试剂使用了 Megazyme 公司的快速综合总膳食纤维测定试剂盒(参考代码: K-RINTDF)。

对于 HPLC 分析,使用 Bio-Rad 制造的脱盐柱作为离子交换保护柱,使用 Shim-pack SUR-Na(G) 作为保护柱,使用两根 Shim-pack SUR-Na 作为分析柱,按顺序串联连接。采用示差折光检测器进行了检测。图 3 为标准品的色谱图。图 4~6 所示为功能性饮料的色谱图。表 1 所示为 HPLC 的分析条件。

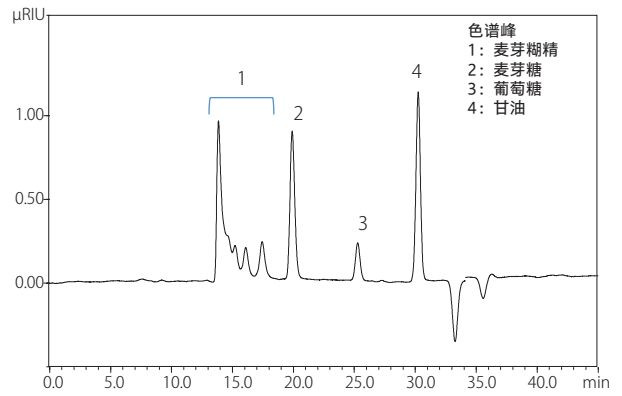


图 3 LC 保留时间标准的色谱图

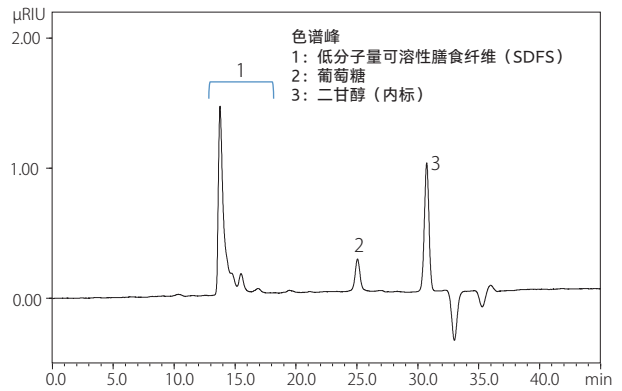


图 4 功能性饮料 A 中低分子量水溶性膳食纤维的色谱图

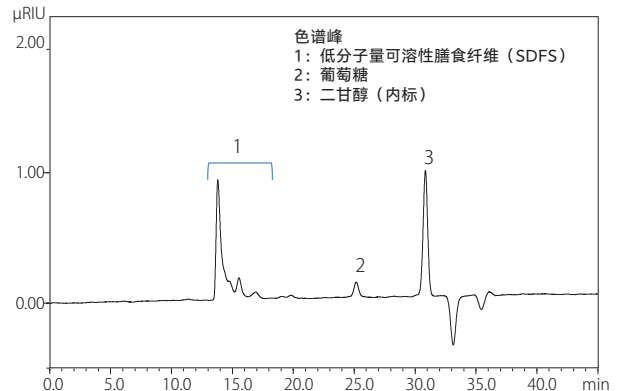


图 5 功能性饮料 B 中低分子量水溶性膳食纤维的色谱图

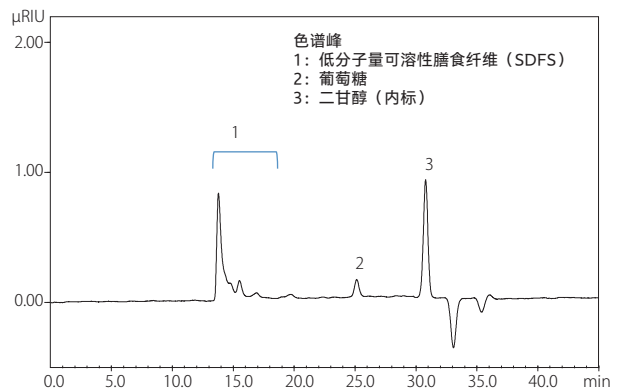


图 6 功能性饮料 C 中低分子量水溶性膳食纤维的色谱图

表 1 分析条件

系统	: LC-2070
阴阳离子去离子柱	: Bio-Rad Micro-Guard 脱盐再生柱 ^{*1}
保护柱	: Shim-pack SUR-Na(G) ^{*2} (50 mm×7.8 mm 内径, 8 μm)
色谱柱	: Shim-pack SUR-Na ^{*3} ×2 (250 mm×7.8 mm 内径, 8 μm)
流动相	: 水
柱温	: 80 °C
流速	: 0.5 mL/min
进样量	: 50 μL
小瓶	: Shim-vial -H 玻璃瓶 ^{*4}
检测	: 示差折光检测器 (RID-20A) 极性+, 池温 40 °C, 响应时间 1.5 秒

*1 Cat No. 125-0118, 125-0139(Holder), *2 P/N: 228-59529-02

*3 P/N: 228-59529-01, *4 P/N: 227-34500-01

根据 HPLC 分析结果, 计算出每 100 g 功能性饮料中 SDFS 的含量。首先, 采用 HPLC 测定浓度均为 10 mg/mL 的 D-葡萄糖和内标二甘醇 (DEG) 标准溶液, 并根据公式 1 由峰面积比和质量比计算响应因子 (Rf)。本次分析的响应因子为 0.75。

$$\text{Response factor (RF)} = \frac{PA_{IS}}{PA_{Glu}} \times \frac{Wt_{IS}}{Wt_{Glu}} \quad \text{- 公式 (1)}$$

PA_{Glu}: D-葡萄糖的峰面积
PA_{IS}: 内标物 DEG 的峰面积
Wt_{Glu}: 1 mL 标准溶液中 D-葡萄糖的质量
Wt_{IS}: 1 mL 标准溶液中 DEG 的质量

接下来, 根据公式 2 计算出了每 100g 样品中低分子膳食纤维的含量。

$$\text{SFDS(mg/100 g)} = \frac{RF \times Wt_{IS} \times PA_{SFDS}}{PA_{IS}} \times \frac{100}{M} \quad \text{- 公式 (2)}$$

RF: 根据公式 1 计算出的响应因子
Wt_{IS}: 1 mL 的 DEG 标准溶液 (100 mg/mL) 中所含 DEG 的质量 (mg)
PA_{SDFS}: SDFS 的峰面积
PA_{IS}: 内标物 DEG 的峰面积
M: 样品量 (g)

表 2 所示为功能性饮料中 SDFS 的测定结果。将测定结果与产品包装上列出的每 100 g 功能饮料中所含的难消化性糊精 (一种 SDFS) 的含量进行了比较。测定结果为产品标示值的 102% 至 110%, 取得了良好的一致性。

表 2 功能性饮料中低分子纤维的测定结果与标示值的比较

样品名称	功能性饮料 A	功能性饮料 B	功能性饮料 C
测定值 (g/100 g) (n=2 的平均)	1.46	1.10	1.10
标示值 (g/100 g) (按照 1 mL=1 g 换算)	1.43	1.03	1.00
测定值 / 标示值 (%)	102	107	110

将膳食纤维粉末食品 (难消化性糊精) 添加到各功能性饮料中, 并按照图 1 对添加后所得的样品进行处理, 然后进行加标回收试验。

表 3 为加标回收试验的结果。加标回收率为 92%~106%, 结果良好。

表 3 加标回收试验结果 (n=2 的平均值)

样品名称	功能性饮料 A	功能性饮料 B	功能性饮料 C
测定值 (g/100 g)	1.39	1.02	1.00
加标样品的测定值 (g/100 g) (n=2 的平均)	2.88	2.18	2.02
回收率 (%)	102	106	92

■ 结论

我们引入了一个分析功能饮料中所含 SDFS 的例子, 该饮料含有难消化性糊精。参考 AOAC 2022.01 方法, 利用全自动膳食纤维预处理系统 (ANKOM Technology) 进行了膳食纤维的处理。由此, 可实现膳食纤维处理步骤的自动化, 从而减少劳动力。此外, 使用过滤袋还可缩短工作时间。

SDFS 使用一体型高效液相色谱系统进行了测定。分析柱所用的 Shim-pack SUR-Na, 可通过高分离性能分析糖类。Shim-pack SUR-Na 是一种结合了尺寸排阻模式的分子尺寸分离和钠型配体交换模式的色谱柱, 适用于本分析, 其中以三糖类或三糖类以上的成分作为 SDFS。

将功能性饮料中难消化糊精的含量与本次测定的 SDFS 的测定结果进行比较, 取得了良好的一致性。加标回收试验也取得了良好的结果。

< 致谢 >

本应用报告的撰写得到了 Actac 株式会社关营业所所长 柘植正裕先生的大力协助。对此深表感谢。

< 参考文献 >

- 1) D Mudgil, S. Barak, Int J Biol Macromol, 61 (2013), pp.1-6
- 2) Weiwen Hong et al., Nutrition Volume 111, July 2023, 112035
- 3) D Mudgil et al., J Anim Sci, 98 (2020), p. Skaa303
- 4) AOAC Official Method 2022.01 Insoluble, Soluble, and Total Dietary Fiber in Foods and Food Ingredients: Rapid Integrated Enzymatic-Gravimetric-Liquid Chromatography
- 5) [ANKOM TDF Dietary Fiber Analyzer | ANKOM Technology](#)

岛津应用云



Shim-pack、Shim-vial 是岛津制作所株式会社或其相关公司在日本及其他国家 / 地区的商标。



岛津企业管理 (中国) 有限公司
岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日期: 2025 年 11 月

> 请填写调查问卷

相关产品 某些产品可能更新为更新的型号。



> i-Series
一体型液相色谱仪



> Shim-pack SUR-Na 系列

相关解决方案

> 食品·饮料

> 营养、功能性组分

> 价格咨询

> 产品咨询

> 技术服务 / 支持咨询

> 其他咨询