

HPLC-RI 测试果葡糖浆中的果糖和葡萄糖

杨晓燕 刘玉莲 张伟

应用研发中心

摘要: 目的: 建立并验证了用高效液相色谱-示差折光检测器测定果葡糖浆中果糖和葡萄糖含量的检测方法; 方法: 以水为溶剂, Ca 型阳离子交换柱进行分离; 以相对保留时间定性, 色谱峰面积定量; 结果: 该方法平均回收率为 98.33%~102.69%, RSD 为 0.865%~1.253%。检测限(S/N=3)分别为葡萄糖: 1.94ug/ml; 果糖 2.49 ug/ml; 结论: 实验表明该方法对果葡糖浆中的葡萄糖和果糖含量的测试简单、可靠。

关键词: 示差折光检测器; 果葡糖浆; Ca 型阳离子交换柱。

果葡糖浆是由植物淀粉水解和异构化制成的淀粉糖晶, 是一种重要的甜味剂。本品为无色或浅黄色、透明的黏稠液体。甜味柔和, 具有果葡糖浆特有的香气, 无异味。无正常视力可见杂质。因为它的组成主要是果糖和葡萄糖; 故称为“果葡糖浆”。果葡糖浆是由葡萄糖和果糖组成的一种混合生物酶转化糖浆, 同时也是一种高甜度的淀粉糖, 除作为糖源可替代蔗糖应用于食品加工外, 果葡糖浆还具有蔗糖所不具备的优良特性, 如在口感上, 越冷越甜; 甜度; 在风味上具有不掩盖性; 冰点温度低, 以及在营养和代谢方面的功能性作用等。国家标准 GB/T 20882-2007 果葡糖浆中, 将其分为两种类型: F42 型(果糖含量不低于 42%[占干物质]的果葡糖浆)和 F55 型(果糖含量不低于 55%[占干物质]的果葡糖浆)。其质量要求为:

项 目	要 求		
	F42		F55
干物质*(固形物)/(%)	≥	71.0 63.0	77.0
果糖(占干物质)/(%)	≥	42~44	55~57
葡萄糖+果糖(占干物质)/(%)	≥	92	95

对于果葡糖浆的成分控制, 目前常采用 HPLC 法进行控制。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

LC310 高效液相色谱仪(包括 P310 高压恒流泵, RI 示差折光检测器, LC-Co310 柱温箱, LC-310 泵控工作站[带采样功能], 均为江苏天瑞仪器股份有限公司产品), 电子天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司), 超声波清洗器(张家港市神科超声电子有限公司), 超纯水机(南京易普易达科学发展有限公司)。

超纯水: 超纯水机临用新制。

葡萄糖标准品、果糖标准品均购于中国标准物质中心。

1.2 分析条件

色谱柱: Ultimate Ca 型阳离子交换柱, 7.9mm×300mm, 10μm, 月旭材料科技(上海)有限公司;

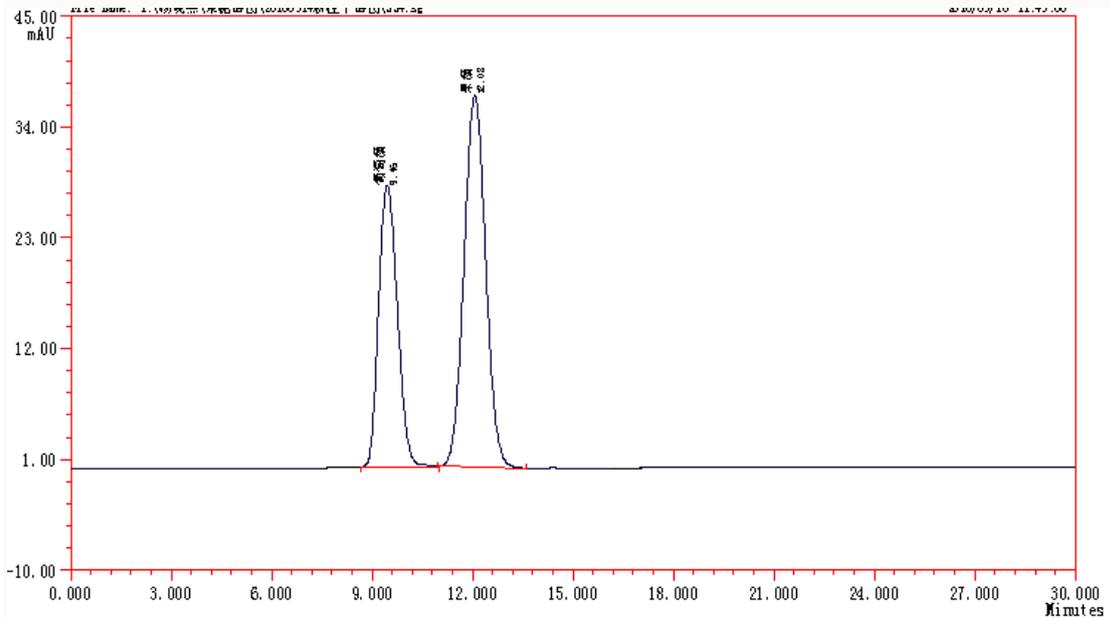
流动相: 超纯水

流速: 0.6mL/min; 柱温: 80℃; 示差折光检测器温度: 40℃;

进样量: 10μl。

1.3 标准溶液的配置

准确吸取 10ul 标准混合溶液（果糖和葡萄糖分别为 3.9mg/ml 和 6.0mg/ml），进样，谱图如下：



1.4 样品处理

用玻璃胶头滴管准确吸取 1.3g 果葡糖浆（精确到 0.0001g）于烧杯中，用超纯水溶解，并转移至 100ml 容量瓶中，并用超纯水定容至刻度，摇匀，过 0.45um 的水系滤膜，将样品续滤液存入专用的样品瓶中，供液相色谱测定。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件优化选择

国标中关于糖分的测定可以用阳离子交换柱和氨基键合柱两种。虽然氨基键合柱相比阳离子交换柱，价格便宜，但考虑到氨基键合柱所用流动相为乙腈，属于有机溶剂，价格昂贵，且对操作人员及实验环境有不良影响；而阳离子交换柱所用流动相为超纯水，成本低，对人员及环境无不良影响，因此选用阳离子交换柱作为本次分析的色谱柱；国标中规定分析时的流速为 0.5ml/min，在分析时，0.5 ml/min 的流速，峰行有点偏胖，而 0.7ml/min 的流速，峰与峰之间的分离度尚能达到完全分离，0.6 ml/min 的流速既能使峰行对称，同时也能满足分离度的要求，故选择流速为 0.6ml/min；分别考察了柱温为 75℃、80℃、85℃ 不同条件下的分离情况，80℃、85℃ 分离效果相当，且均优于 75℃ 时的分离效果，考虑到 85℃ 接近于柱子的极限使用温度（90℃），长期使用不利于延长柱子的寿命，故选择 80℃ 为分析温度；示差折光检测器的温度设定范围为 30-50℃，选择适中的 40℃ 为分析温度效果为佳。

2.2 峰位确定

将葡萄糖和果糖用超纯水稀释成合适浓度，按本方法确定的色谱条件，取各单标和混标 10 μ l 进样测定，按各保留时间进行定性，出峰先后顺序为：葡萄糖、果糖。

2.3 阴性和系统适用性试验

直接吸取过 0.45 μ m 水系滤膜的超纯水溶液 10 μ l，进样，在各组分相应保留时间处均没有吸收。取混标 10 μ l 进样测定，果糖分离度大于 1.5 (2.04)，符合相关规定。理论塔板数按果糖的峰计，不得小于 2000。

2.4 精密度试验

取稀释的混标 10 μ l，连续进样 6 针，进行测定，考察各组分峰面积的相对标准偏差，分析结果如表 1 所示。

名称	峰面积	峰面积平均值	RSD%
葡萄糖	120063.2	120693.2	0.79
	121504.7		
	119638.5		
	121114.3		
	121942.3		
	119896.4		
果糖	185460.0	183616.5	0.87
	183935.5		
	1825962.3		
	181942.8		
	182072.4		
	184825.9		

表 1 精密度试验结果

2.5 线性关系和检测限

在本方法确定的实验条件下，葡萄糖和果糖在进样量 5 μ g~100 μ g 之间，线性关系良好。各化合物的相关系数见表 2。在 S/N =3 的条件下，确定各组分的检测限也列入表 2 中。

组分	线性范围	线性方程	相关系数	检测限 (μ g/mL)
----	------	------	------	----------------------

葡萄糖	5ug~100ug	$y = 3884.2x + 21.004$	0.9998	1.94
果糖	5ug~100ug	$y = 3923.3x - 2095.5$	0.9997	2.49

表 2 线性关系和检测限结果

2.6 回收率试验

采用在实际样品中加入不同添加水平的混标的方式进行回收率实验，按 1.4 中的方法处理后分析，采用外标法定量，每个添加水平单独测 3 次，实验结果表明，其平均回收率为 98.33%~102.69%，RSD 为 0.865%~1.253%。

2.7 实际样品的测试

采用 HPLC 法测试客户提供的果葡糖浆产品，结果如表 3 所示。

样品名称		F334	F42 型	F55 型
含量 (%)	葡萄糖	38.8	54.1	40.2
	果糖	59.9	43.6	56.8

表 3 部分 样品测试结果

3 结论

综上所述，通过对各种型号的果葡糖浆中葡萄糖和果糖进行测试，本方法具有方便快捷、灵敏度高、回收率高、精密度好的特点，且流动相和样品前处理均采用超纯水，避免了有机溶剂的使用，无环境污染。