

离子色谱法测定奶粉中的葡萄糖、蔗糖和乳糖

熊建飞, 周光明*, 许丽, 张磊

(发光与实时分析教育部重点实验室, 西南大学化学化工学院, 重庆 400715)

摘要: 建立高效阴离子交换色谱-脉冲安培检测法测定奶粉中葡萄糖、蔗糖和乳糖的方法。以 METROSEP CARB 1(150mm × 4.0mm)阴离子交换柱为分离柱, 脉冲安培检测, 37mmol/L NaOH 溶液为淋洗液, 以柠檬酸作为蛋白质沉淀剂。葡萄糖、蔗糖和乳糖的线性范围分别为 1~40、1~50、1~50mg/L, 相关系数分别 0.9966、0.9968、0.9985, 检出限分别为 0.014、0.091、0.083mg/L, 精密度为 1.10%~4.96%, 回收率为 90.13%~104.83%。该方法分析时间短, 前处理简单, 适用于快速测定奶粉中的葡萄糖、蔗糖和乳糖。

关键词: 高效阴离子交换色谱; 脉冲安培检测; 奶粉; 葡萄糖; 蔗糖; 乳糖; 柠檬酸

Determination of Glucose, Sucrose and Lactose in Milk Powder by Ion Chromatography

XIONG Jian-fei, ZHOU Guang-ming*, XU Li, ZHANG Lei

(Key Laboratory on Luminescence and Real-time Analysis (Southwest University), Ministry of Education, School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: A high performance anion exchange chromatographic-pulse amperometric detection method was established to determine glucose, sucrose and lactose in milk powder. The separation column used was METROSEP CARB 1 (150 mm × 4.0 mm) anion exchange column, and the mobile phase was 37 mmol/L NaOH. Citric acid was used to precipitate proteins from milk. The linear ranges of glucose, sucrose and lactose were 1—40, 1—50 mg/L and 1—50 mg/L with correlation coefficients of 0.9966, 0.9968 and 0.9985, respectively, and the detection limits were 0.014, 0.091 mg/L and 0.083 mg/L. The precision relative standard deviations of precision for 5 replicate determinations were in the range of 1.10%—4.96%. The recovery rates for glucose, sucrose and lactose in 4 different commercial samples were 90.13%—104.83%. The method was suitable for rapid determination of glucose, sucrose and lactose in milk powder, thanks to its short analysis time and simple pretreatment.

Key words: high performance anion exchange chromatography; pulsed amperometric detection; milk powder; sugar; citric acid

中图分类号: O657.75

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)08-0176-04

奶粉中含有多种营养成分, 如蛋白质、脂肪、糖类、维生素、矿物质等, 其中糖类是一种比较重要的物质。如乳糖是奶粉中含量较高的一种糖, 经乳糖酶作用后形成有机酸, 可以促进钙离子的吸收, 另外乳糖还能够促进有益菌的成长, 有利于肠道健康。但是有些人体内缺乏乳糖酶, 使乳糖消化和吸收受到阻碍, 即所谓的乳糖不耐受^[1]。乳糖不耐受者食用过量乳糖后会出现腹泻、腹痛等症状。蔗糖是常用的食品添加剂之一, 常被加入奶粉中以提高含糖量。食用过量蔗糖会危害身体健康, 如蛀牙、肥胖等。因此测定奶粉中

的糖对于控制奶粉质量和指导消费者具有重要意义。

目前, 测定糖的方法主要有高效液相色谱法^[2-3]、气相色谱法^[4]、毛细管电泳色谱法^[5]等, 这些方法大多存在衍生化处理或灵敏度低等缺陷。高效阴离子交换色谱-脉冲安培检测法是近年来发展起来的一种测定糖的有效方法, 灵敏度高, 样品前处理简单, 可直接分离测定单糖、二糖和小分子寡糖^[6]。糖类化合物具有弱酸性, 在碱性环境中能够解离成阴离子, 可根据其解离常数的不同进行分离。在强碱性(pH > 12)环境中糖类化合物可在电极上发生氧化反应, 从而引起电流变化, 因

收稿日期: 2011-04-17

基金项目: 重庆市自然科学基金项目(CSTC, 2007BB5370); 国家科技部重大专项(2008ZX07315)

作者简介: 熊建飞(1984—), 男, 硕士研究生, 研究方向为离子色谱。E-mail: feifei8487@163.com

* 通信作者: 周光明(1964—), 男, 教授, 博士后, 研究方向为色谱与联用技术。E-mail: gmzhou@swu.edu.cn

此可用脉冲安培检测器进行检测^[7]。该法通常以 NaOH 溶液为流动相, 为糖的解离和检测提供了一个碱性环境。离子色谱法测定糖已有较多报道, 如测定蜂蜜和葡萄酒中的糖^[8]、测定蜂蜜和蜂胶中的糖^[9]、测定茶叶中的糖^[10]等, 但是用离子色谱法同时测定奶粉中葡萄糖、蔗糖和乳糖还未见有文献报道。

奶粉中含有较多的蛋白质, 目前蛋白质的沉淀剂多为乙酸、乙酸锌、三氯乙酸、草酸钠-磷酸氢二钠混合液等^[11-15]。乙酸具有挥发性, 乙酸锌在碱性环境中生成沉淀, 三氯乙酸具有毒性, 草酸钠-磷酸氢二钠配制较为繁琐。而本实验拟采用柠檬酸作为沉淀剂, 沉淀快速完全, 操作简单, 并且柠檬酸不具有挥发性和毒性, 优化处理条件, 拟建立高效阴离子交换色谱-脉冲安培检测法测定奶粉中葡萄糖、蔗糖和乳糖的方法。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

学生奶粉(碳水化合物 $\leq 56\%$)、老年奶粉(碳水化合物 $\leq 55\%$)、全脂甜奶粉(加蔗糖 17g/100g)、全脂奶粉(低糖) 市售。

葡萄糖(分析纯)、蔗糖(生化试剂)、琥珀酸(分析纯)成都市科龙化工有限公司; 乳糖(分析纯) 宁波大川精细化工有限公司; 柠檬酸(分析纯) 成都化学试剂厂; NaOH(分析纯) 重庆川东化工有限公司。实验用水: 去离子水(电阻率 $\geq 18.2\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$)。

861 型离子色谱仪、METROSEP CARB 1(150mm \times 4.0mm)阴离子交换柱、817 脉冲安培检测器、IC-Net 2.3 色谱工作站 瑞士万通公司; FA2004A 电子天平 上海精天电子仪器有限公司; GM-0.33II 隔膜真空泵 天津市腾达过滤器件厂; CQ50 超声波清洗器 上海必能信超声波有限公司; 布氏漏斗、0.45 μm 微孔滤膜。

1.2 色谱条件

分离柱: METROSEP CARB 1(150mm \times 4.0mm)阴离子交换柱; 检测器: 脉冲安培检测器; 淋洗液: 37mmol/L NaOH 溶液; 柱温: 32 $^{\circ}\text{C}$; 流速: 1.0mL/min; 再生液: 200mmol/L NaOH 溶液; 峰面积定量。

1.3 标准溶液和淋洗液的配制

标准溶液的配制: 分别精密称取葡萄糖、蔗糖、乳糖、柠檬酸、琥珀酸 0.1000g, 放入 100mL 容量瓶中, 加入 20mL 去离子水, 搅拌溶解置入 100mL 容量瓶中定容至刻度, 配成 1000mg/L 标准溶液。

淋洗液的配制: 称取 8.00g NaOH 固体于 100mL 容量瓶中溶解转入 1000mL 容量瓶中定容, 配成 200mmol/L 的 NaOH 溶液作为再生液。同样的方法分别称取 1.00、1.20、1.40、1.48、1.60、1.80、2.00g NaOH 固体配

制成 25、30、35、37、40、45、50mmol/L 的 NaOH 溶液作为淋洗液。

1.4 沉淀剂的选择与样品前处理

沉淀剂的选择: 分别选用柠檬酸和琥珀酸来沉淀奶粉中的蛋白质, 实验发现, 在加入相同量的柠檬酸和琥珀酸时, 蛋白质都能够沉淀, 但是柠檬酸使蛋白质沉淀速度快而且沉淀颗粒大, 而用琥珀酸作沉淀剂时, 沉淀颗粒较小且沉淀速度稍慢。放置 10min 后, 以柠檬酸作为沉淀剂的奶粉上清液比琥珀酸清澈。故本实验采用柠檬酸作为蛋白质沉淀剂。

样品前处理: 精密称取 0.1000g 奶粉, 放入 50mL 小烧杯中, 加入 10mL 去离子水, 搅拌均匀后超声 15min, 加入 6mL 1000mg/L 柠檬酸, 缓慢搅拌, 放置 2h, 用布氏漏斗过滤, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 在滤液中加入 NaOH 溶液使 pH10, 再用 0.45 μm 微膜滤纸过滤, 定容至 100mL, 取滤液 8mL 于 100mL 容量瓶中定容, 进样。

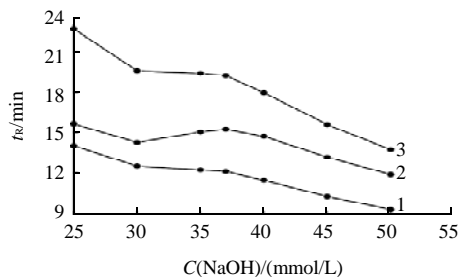
加入 NaOH 溶液的目的是使样品中的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 等转化为沉淀以免样品进入色谱柱后在碱性环境中生成沉淀而损害色谱柱。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的选择

2.1.1 淋洗液浓度的选择

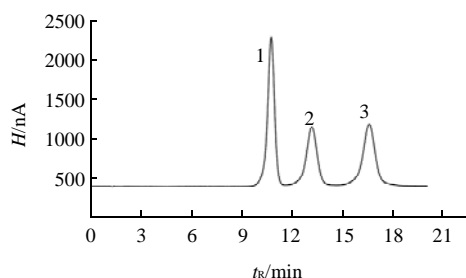
实验分别考察 NaOH 溶液浓度对分离度的影响, 从图 1 可以看到, 随着淋洗液浓度的增大, 葡萄糖和乳糖的保留时间逐渐缩短, 蔗糖的保留时间总体上也趋于缩短。当 NaOH 溶液的浓度低于 30mmol/L 时, 葡萄糖和蔗糖峰有部分重叠, 随着淋洗液浓度的增大, 二者的分离度逐渐变好, 大于 45mmol/L 时蔗糖与乳糖分离度变差。因此本实验选择 37mmol/L NaOH 溶液为淋洗液。标准图谱如 2 图所示。



1. 葡萄糖; 2. 蔗糖; 3. 乳糖。

图 1 淋洗液浓度对保留时间的影响

Fig.1 Effect of eluent concentration on retention time



1. 葡萄糖; 2. 蔗糖; 3. 乳糖。

图2 标准品色谱图

Fig.2 Chromatogram of a mixture of glucose, sucrose and lactose standards

2.1.2 柱温的选择

分别设定柱温为 20、25、32、35、40℃, 结果表明, 降低温度, 峰的分度度稍有改变, 峰底变宽, 而且柱压逐渐增大, 随着温度的升高分度度变差, 综合考虑选择柱温为 32℃。

2.1.3 流速的选择

分别设定流速为 0.5、0.8、1.0、1.2、1.6 mL/min, 结果表明改变流速对分离度的影响很小, 随着流速的增大保留时间缩短, 但柱压升高, 为了保护色谱柱和缩短分离时间, 选择 1.0 mL/min 为流速。

2.2 标准曲线和仪器检出限

分别从 1000 mg/L 标准溶液中吸取 0.2、0.6、1.0、2.0、4.0、6.0 mL 葡萄糖、蔗糖、乳糖于 100 mL 容量瓶中定容配成混合标准溶液。分别测定混合标准溶液, 绘制标准曲线, 根据 $R_{SN} = 3$ 计算仪器检出限, 结果如表 1 所示, 葡萄糖、蔗糖和乳糖的线性范围分别为 1~40、1~50、1~50 mg/L, 相关系数分别 0.9966、0.9968、0.9985, 检出限分别为 0.014、0.091、0.083 mg/L; 标准谱图如图 2 所示。由表 1 可知, 所绘制的标准曲线没有过坐标原点, 说明存在基质效应, 即在所测定的溶液中其他物质对被分析物产生的影响和干扰。由 2.3 节回收率测定结果可知, 在本实验条件下, 基质效应对样品中物质含量的准确测定影响不大。

表1 线性范围与检出限

Table 1 Linear regression equations, linear ranges and detection limits

标样	线性方程	相关系数	线性范围 / (mg/L)	检出限 / (mg/L)
葡萄糖	$y = -3114.43056 + 3252.26389x$	0.9966	1~40	0.014
蔗糖	$y = -2263.3002 + 2068.94071x$	0.9968	1~50	0.091
乳糖	$y = -2063.32427 + 2428.60773x$	0.9985	1~50	0.083

2.3 精密度和加标回收率

2.3.1 相对标准偏差

按照 1.2 节色谱条件和 1.4 节样品处理方法, 对样品进行 5 次测定做精密度实验, 按峰面积计算相对标准偏差(RSD), 测定结果如表 2 所示, 精密度在 1.10%~4.96% 之间。

表2 精密度测定结果

Table 2 Results of precision tests

测定成分	RSD/%			
	学生奶粉	老年奶粉	全脂甜奶粉	全脂奶粉
葡萄糖	2.74	2.23	1.72	—
蔗糖	4.96	1.14	2.14	—
乳糖	3.35	2.54	1.12	1.10

注: —表示未检出。下同。

2.3.2 回收率

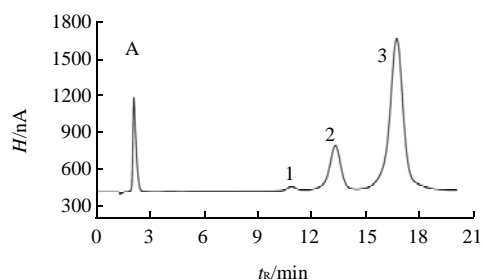
测出本底值后, 分别称取与测本底值时质量相同的奶粉样品(精确到 0.001 g): 学生奶粉 0.1031 g、老年奶粉 0.1016 g、全脂甜奶粉 0.1012 g、全脂奶粉 0.1010 g, 在其中加入标准物质, 采用 1.4 节样品处理方法进行样品前处理, 进样测定, 计算回收率如表 3 所示, 回收率在 90.13%~104.83% 之间。

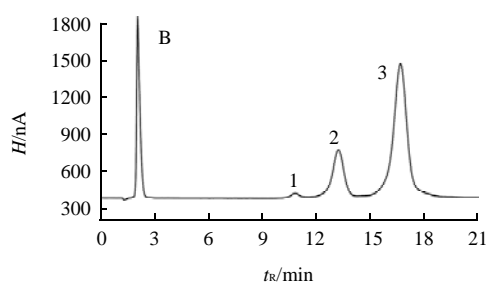
表3 加标回收率结果

Table 3 Results of spike recovery tests

样品	组分	本底值 / (mg/L)	加标值 / (mg/L)	测定值 / (mg/L)	回收率 / %
学生奶粉	葡萄糖	1.3782	3.20	3.1898	99.68
	蔗糖	9.9239	18.96	17.2949	91.22
	乳糖	29.1103	10.88	10.4691	96.22
老年奶粉	葡萄糖	1.3484	4.72	4.4218	93.68
	蔗糖	9.9996	20.08	19.2560	95.90
	乳糖	27.0254	11.84	10.7777	91.03
全脂甜奶粉	葡萄糖	1.1915	3.28	3.4385	104.83
	蔗糖	17.8197	20.16	18.1703	90.13
	乳糖	26.4867	13.68	12.7533	93.23
全脂奶粉	乳糖	32.5248	10.80	9.7778	90.54

2.4 样品测定结果





1. 葡萄糖; 2. 蔗糖; 3. 乳糖。

图3 学生奶粉(A)和老年奶粉(B)样品色谱图

Fig.3 Chromatograms of commercial milk powders

样品色谱图如图3、4所示,测定结果如表4所示。由表4可知,学生奶粉、老年奶粉、全脂甜奶粉都含有葡萄糖、蔗糖和乳糖,其中葡萄糖含量较低,乳糖含量最高,而全脂奶粉只检测到乳糖。

表4 样品测定结果

Table 4 The results of the samples

样品	葡萄糖含量/%	蔗糖含量/%	乳糖含量/%	总糖含量/%
学生奶粉	1.73	12.40	36.39	50.52
老年奶粉	1.67	12.50	33.78	47.97
全脂甜奶粉	1.49	22.27	33.11	56.87
全脂奶粉	—	—	40.66	40.66

3 结 论

实验表明,奶粉中主要含有3种糖:葡萄糖、蔗糖和乳糖。其中乳糖含量最高;葡萄糖含量最低;蔗糖在不同的奶粉中含量差别很大。不同的消费者应根据含糖量的不同来选择适宜的奶粉。学生奶粉、老年奶粉和全脂奶粉测定结果与说明书上糖(碳水化合物包括糖类、淀粉、纤维素等)的含量基本相符,而全脂甜奶粉

中蔗糖含量检测值为22.27%,高于说明书上的蔗糖添加量(17%)。本实验操作简单,适用于快速测定奶粉中的糖类,为控制奶粉质量提供了一种简便而有效的方法。

参考文献:

- [1] 赵显峰, 蒯士安. 乳糖不耐受以及解决方法的研究动态[J]. 中国学校卫生, 2007, 28(12): 1151-1153.
- [2] FILSON P B, DAWSON-ANDOH B E. Characterization of sugars from model and enzyme-mediated pulp hydrolyzates using high-performance liquid chromatography coupled to evaporative light scattering detection [J]. Bioresource Technology, 2009, 100(24): 6661-6664.
- [3] OUCHEMOUKH S, SCHWEITZER P, BEY M B, et al. HPLC sugar profiles of Algerian honeys[J]. Food Chemistry, 2010, 121(2): 561-568.
- [4] ZHANG Wei, HE Hongbo, ZHANG Xudong. Determination of neutral sugars in soil by capillary gas chromatography after derivatization to aldononitrile acetates[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2007, 39(10): 2665-2669.
- [5] CAMPA C, BAIUTTI E, FLAMIGNI A. Capillary electrophoresis of sugar acids[J]. Methods in Molecular Biology, 2008, 384(1): 307-355.
- [6] 黄晓书, 徐鹏, 李卫华, 等. 高效阴离子交换色谱-脉冲安培检测法分析蜜枣中的糖类化合物[C]//第十二届全国离子色谱学术报告会论文集, 2008: 440-443.
- [7] 丁明玉, 田松柏. 离子色谱原理与应用[M]. 北京: 清华大学出版社, 2000: 73-75.
- [8] 余娜, 周光明, 朱娟. 离子色谱法检测蜂蜜和葡萄酒中的蔗糖、葡萄糖和果糖[J]. 食品科学, 2010, 31(16): 188-191.
- [9] QIAN Weiliang, KHAN Z, WATSON D G, et al. Analysis of sugars in bee pollen and propolis by ligand exchange chromatography in combination with pulsed amperometric detection and mass spectrometry[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2008, 21(1): 78-83.
- [10] 刘婷, 周光明. 多糖的提取和分析方法[J]. 化工时刊, 2008, 22(3): 66-70.
- [11] 高新蕾, 吴莉. 奶粉中糖分的快速测定法[J]. 食品科技, 2004(4): 81-82.
- [12] 吕岱竹. 离子色谱法测定豆奶粉中硝酸盐、亚硝酸盐含量[J]. 食品科学, 2010, 31(10): 272-274.
- [13] 刘玉峰, 李黎, 李东, 等. 高效液相色谱法测定食品中的单糖、双糖[J]. 食品科学, 2007, 28(3): 293-295.
- [14] 叶明立, 潘广文, 胡忠阳, 等. 离子色谱法测定婴幼儿奶粉中的核苷酸[J]. 色谱, 2010, 28(9): 898-901.
- [15] 吴惠勤, 黄芳, 林晓珊, 等. 气相色谱-质谱法测定奶粉及奶制品中的三聚氰胺[J]. 分析测试学报, 2008, 27(10): 1044-1048.