

糖醇的 HPLC-ELSD 法测定及其热稳定性研究

牛立沙, 张连富*, 孙清瑞, 李 婧

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 采用高效液相-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)法对4种糖醇(赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇)进行了同时检测分析并研究了其热稳定性。较佳的检测条件为 Amide 80 亲水柱, 流量 0.2 mL/min, 柱温 33 °C, ELSD 漂移管温度 50 °C, 载气流量 2.5 L/min。结果表明, 4种糖醇的进样量在 0.025~1.000 mg/mL 范围内, 线性关系良好。赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇的检测限分别为 14.1、33.0、19.5、15.3 µg/mL, 精密度(相对标准偏差 RSD)分别为 1.55 %、1.23 %、1.30 %、1.49 %。在不同加热温度和加热时间下, 4种糖醇的热稳定性具有如下规律: 木糖醇>赤藓糖醇>山梨醇>麦芽糖醇。

关键字: 糖醇; HPLC-ELSD; 定量检测; 热稳定性

中图分类号: TS 202.3 文章编号: 1673-1689(2019)09-0139-06 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.09.020

Simultaneous Determination of Sugar Alcohols by HPLC-ELSD and the Sugar Alcohol Thermal Stability

NIU Lisha, ZHANG Lianfu*, SUN Qingrui, LI Jing

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Four kinds of sugar alcohols (erythritol, xylitol, sorbitol and maltitol) were analyzed by high performance liquid-evaporative light scattering detector(HPLC-ELSD) and the thermal stability was also studied. The optimum conditions were Amide 80 hydrophilic column, flow rate 0.2 mL/min, column temperature 33 °C, ELSD drift tube temperature 50 °C, carrier gas flow rate 2.5 L/min. The results showed that the linearity of the four kinds of sugar alcohols was well in the range of 0.025~1.000 mg/mL. The detection limits of erythritol, xylitol, sorbitol and maltitol were 14.1, 33.0, 19.5, 15.3 µg/mL, and the precision (relative standard deviation) was 1.55 %, 1.23 %, 1.30 % and 1.49%, respectively. The thermal stability of four sugar alcohols under different heating temperature and heating time had the following rules: xylitol> erythritol> sorbitol> maltitol.

Keywords: sugar alcohols, HPLC-ELSD, quantitative detection, thermal stability

收稿日期: 2017-01-05

基金项目: 江苏省食品安全质量控制协同创新中心行业发展计划项目; 中央大学基础研究基金项目(JUSRP51501); 高等教育博士课程专项研究基金项目(SRFDP)(20130093110008)。

* 通信作者: 张连富(1967—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事功能性食品研究。E-mail: lianfu@jiangnan.edu.cn

引用本文: 牛立沙, 张连富, 孙清瑞, 等. 糖醇的 HPLC-ELSD 法测定及其热稳定性研究[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(09): 139-144.

近年来随着流行性肥胖和糖尿病发病率的增加,人们开始关注摄入高热量甜味剂带来的健康问题,对低热食品的需求量不断增加。糖醇作为甜味剂替代物加入食品中,可以减少热量的摄入。食品工业为迎合消费者的需求,开始生产以糖醇作为甜味剂替代物的低热食品^[1-2]。

目前常见的糖醇有赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇、甘露醇等^[3]。无糖食品是指用糖替代物代替蔗糖和淀粉糖的一类食品,其中,糖醇(木糖醇、山梨糖醇、麦芽糖醇、甘露糖醇等)就是一种糖替代物^[4]。糖醇作为低热甜味剂可用于焙烤食品(无糖饼干、无糖糕点、无糖面包、无糖月饼等)中。因此,糖醇的定量测定及热稳定性研究,对无糖食品行业的发展具有十分重要的意义。

目前,检测食品中糖醇的方法有高效液相色谱-示差折光检测器法^[5-16]、高效液相-脉冲检测器法^[17]、毛细管电泳法^[18-19]、气相色谱法^[20-22]、气质联用法^[23]、液质联用法^[24-26]、高效液相色谱-蒸发光散射检测器法^[27-36]等。示差折光检测器是通用型检测器但对外部环境要求较高,且不能用于梯度洗脱;脉冲检测器法检测糖醇虽然灵敏、快速,但糖醇会在电极表面发生氧化还原反应,影响测定准确性;毛细管电泳法成本低、操作较为简便,但重现性差;气相色谱法检测前需对糖醇进行衍生化,样品处理复杂;质谱检测器检测糖醇,虽然灵敏度高,但样品前处理过程复杂;而蒸发光散射检测器法具有样品处理简单、基线稳定、检出限低、可用于梯度洗脱等优点。采用高效液相-蒸发光散射检测器同时测定4种糖醇(赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇)及对其进行热稳定性研究,尚未见文献报道。

1 仪器及试剂

1.1 试剂

赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇(纯度99%):美国Sigma公司产品;乙腈(ACN):美国Tedia公司产品;三氟乙酸:国药集团化学试剂有限公司产品;超纯水:实验室自制。

1.2 仪器

Waters 600E 高效液相色谱、Waters 2424 蒸发光散射检测器:美国Waters公司产品;Tskgel Amide80(2.0 mm×150 mm,3 μm):东曹公司产品;ME204E 电子天平:梅特勒-托利多仪器(上海)有限

公司产品;KQ-500DE 超声振荡器:昆山市超声仪器有限公司产品;Smart-S30 超纯水机:上海和泰仪器有限公司产品;台式干燥箱:上海跃进医疗器械有限公司产品。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱:Amide 80(2.0 mm×150 mm,3 μm);流量:0.2 mL/min;柱温:33 ℃;进样量:20 μL。流动相梯度条件如表1所示。

表1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program

时间/min	流量/(mL/min)	体积分数/%	
		乙腈	水
0	0.2	90	10
10	0.2	38	62
20	0.2	38	62
21	0.2	90	10
36	0.2	90	10

2.2 检测器 ELSD 条件

漂移管温度:50 ℃;载气流量:2.5 L/min。

2.3 标准溶液的配制

精确称取赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇各0.250 0 g于小烧杯中,加超纯水溶解,转移至1 000 mL容量瓶中,定容,用0.22 μm微孔滤膜过滤用作糖醇的单标。

精确称取赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇各0.500 0 g于同一小烧杯中,加超纯水溶解,转移至1 000 mL容量瓶中,定容,制成1.0 mg/mL的混合糖醇储备液。

2.4 样品热处理

精确称取20组赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇各0.100 0 g的混合样品,置于玻璃管中。在180、190、200、210 ℃4种温度下,分别加热10、20、30、40、50 min;将加热后的样品用乙腈-水(V(乙腈):V(水)=75:25)溶剂溶解,转移至10 mL的容量瓶中定容,用0.22 μm微孔滤膜过滤,滤液待液相分析。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件的选择

选择乙腈和水作流动相。试验发现,流动相中

乙腈比例上升时,峰形、分离度比较好,但保留时间变大后组分峰宽加大。在保证峰形、分离度较好的情况下,适当减少乙腈比例,可以缩短分离时间,达到高效分析的目的^[33]。当采用表 1 所示的流动梯度进行洗脱时,4 种糖醇的分离效果较好,如图 1 所示。

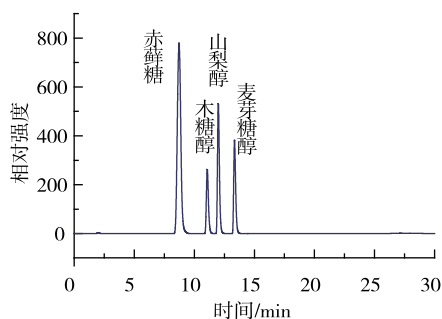


图 1 糖醇分离色谱图

Fig. 1 Separation chromatogram of sugar alcohols

3.2 检测器条件的选择

漂移管温度和载气流速的选择会影响检测器(ELSD)的信噪比。漂移管温度升高时,流动相蒸发比例增加,信噪比上升;但温度过高,会引起部分糖醇发生汽化,导致信号响应值变小^[33]。当漂移管温度为 50 ℃,载气流速为 2.5 L/min 时,信噪比较佳。

3.3 柱温的选择

柱温越高,出峰时间越早,分离度越高,峰形越好,如图 2 所示,但温度越高,柱子的寿命越短。综合考虑,当柱子的温度为 33 ℃时较好。

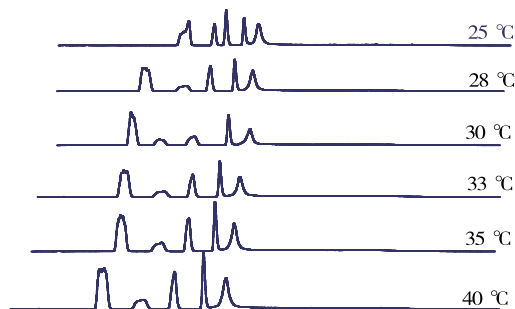


图 2 柱温优化图

Fig. 2 Optimization of column temperature

3.4 溶剂体系的选择

当溶剂体系为水、乙腈体积分数 50%、60%、75%,它们对峰形的影响较大,如图 3 所示。从峰形上考虑,当乙腈体积分数为 75%时较佳。

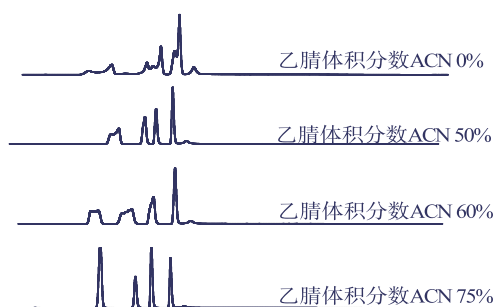


图 3 溶剂体系优化图

Fig. 3 Optimization of solvent system

3.5 线性回归方程、相关系数、检出限和精密度

将混合糖醇标准储备液质量浓度依次稀释为 0.5、0.25、0.125、0.06、0.03 mg/mL,按照优化的色谱条件进样测定,根据测得的峰面积的对数与对应的糖醇质量的对数进行线性回归和相关性系数的计算;以进样量 20 μL 基线噪音的 10 倍为最低定量限计算;以糖醇混合标准液 0.25 mg/mL 为测定样品,重复测定 6 次,用峰面积的大小计算精密度,用相对标准偏差 RSD 表示(见表 2)。由表 2 知,赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇的线性范围为 25~1000 μg/mL,检测限分别为 14.1、33.0、19.5、15.3 μg/mL,相关系数都在 0.999 以上,标准偏差都在 3% 以内,因此采用本方法测定的结果准确可靠。

3.6 糖醇的热稳定性

将热处理后的糖醇进行定量测定,热稳定性结果如图 4 所示。由图 4 可知,随着温度的升高和加热时间的增加,赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇的热稳定性均下降,这是因为糖醇在高温下发生了热分解。

在 180 ℃下加热 50 min 后,赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇的残留率分别为 80.3%、81.1%、79.5%、75.4%;在 190 ℃下加热 50 min 后,赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇的残留率分别为 75.3%、76.8%、70.8%、68.8%;在 200 ℃下加热 50 min 后,赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇的残留率分别为 71.0%、72.3%、64.8%、62.9%;在 210 ℃下加热 50 min 后,赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇的残留率分别为 64.4%、66.3%、59.9%、57.3%。

在 180、190、200、210 ℃下,木糖醇和赤藓糖醇的稳定性较好,山梨醇次之,麦芽糖醇最差。因此,根据热稳定性的大小可优先选择赤藓糖醇和木糖醇作为糖替代物。

表 2 糖醇的线性回归方程,相关系数,线性范围,定量检测限及相对标准偏差

Table 2 Linear regression equation, correlation coefficient, linear range, quantitative detection limit and relative standard deviation of sugar alcohols

序号	组分	回归方程	线性范围/($\mu\text{g/mL}$)	相关系数	检测限/($\mu\text{g/mL}$)	RSD/%
1	赤藓糖醇	$Y = 1.643\ 9X + 5.467\ 5$	25~1 000	0.999 2	14.1	1.55
2	木糖醇	$Y = 1.611\ 4X + 5.499\ 2$	25~1 000	0.999 3	33.0	1.23
3	山梨醇	$Y = 1.619\ 5X + 5.411\ 4$	25~1 000	0.999 9	19.5	1.30
4	麦芽糖醇	$Y = 1.515\ 6X + 5.468$	25~1 000	0.999 9	15.3	1.49

注: X : 糖醇质量对数; Y : 对应糖醇的峰面积对数

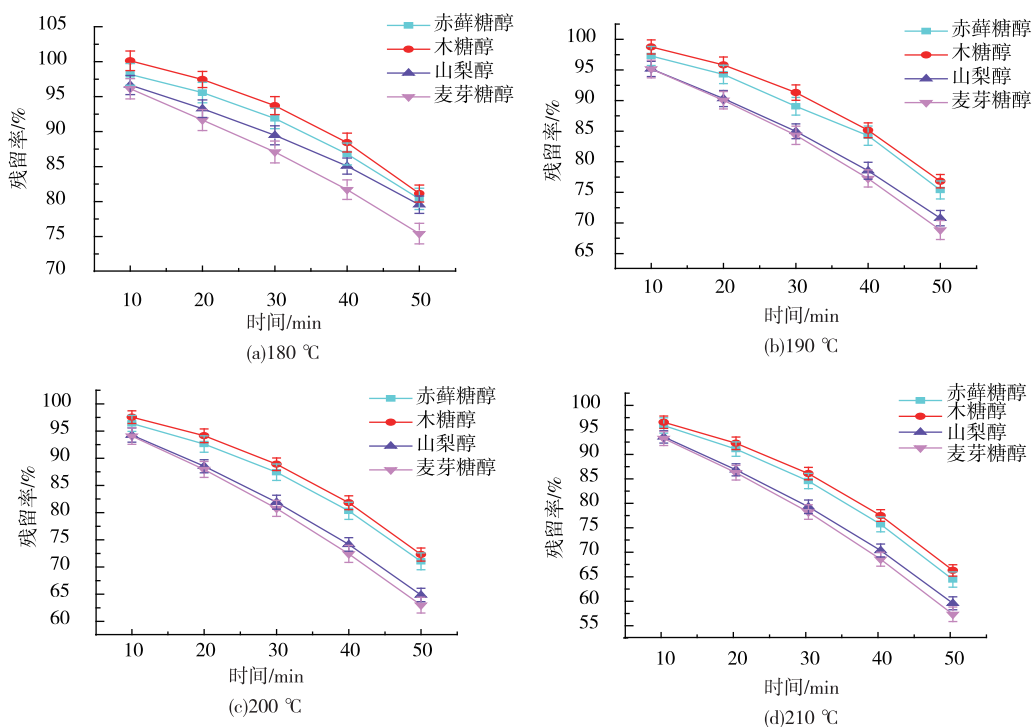


图 4 糖醇的热稳定性

Fig. 4 Thermal stability of sugar alcohols

4 结 语

采用高效液相-蒸发光散射检测器法同时测定了赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇。较佳的分析条件为:流动相梯度为 0~10 min,流动相中乙腈体积分数 90%~38%,10~20 min,乙腈体积分数保持 38%,20~21 min,乙腈体积分数 38%~90%,21~36 min,乙腈体积分数保持 90%,柱温 33 °C,溶剂体系为 $V(\text{水}):V(\text{乙腈})=25:75$,漂移管温度为 50 °C,载气流速为 2.5 L/min。此方法基线稳定、分离效果良

好、结果准确、样品处理简单。

同时,对赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇进行了热稳定性研究。在 180、190、200、210 °C 温度条件下,随着温度的升高和加热时间的增加,赤藓糖醇、木糖醇、山梨醇、麦芽糖醇的热稳定性均下降。木糖醇和赤藓糖醇的热稳定性较好,山梨醇次之,麦芽糖醇最差。这为糖醇在食品热加工中的应用提供一定的理论依据。

作者仅测定了单一糖醇的热稳定性,对其在食品体系中的热稳定性,有待深入研究。

参考文献:

- [1] YANG Botao. The role and application of carbohydrate in food industry[J]. **Journal of Yuzhou University**, 1998, 15(4):69-73. (in Chinese)
- [2] WANG Kai,GAO Qunyu. The new concept of healthy nutrition of the sugar alcohol food [J]. **Science and Technology of Cereals, Oils and Foods**, 2010, 18(1):43-46. (in Chinese)
- [3] YOU Xin. Sugar substitute - sugar alcohol[J]. **Chinese Journal of Food and Nutrition**, 2008(6):23-26. (in Chinese)
- [4] JENNIFER L,POMERANZ J M. Front-of-package food and beverage labeling new directions for research and regulation[J]. **American Journal of Preventive Medicine**, 2011, 3(40):382-385.
- [5] ZHENG Jinqi,WANG Shuquan. Determination of sorbitol in compound amino acid injection (18AA) by differential refractive-HPLC method[J]. **Chinese Journal of Health Laboratory Technology**, 2013, 23(18):3558-3560. (in Chinese)
- [6] SHI Yanzhi, GUO Xueqing, XU Qi, et al. Determination of xylitol in chewing gum by HPLC refractive index analysis[J]. **Journal of Capital Normal University**, 2005, 26(1):61-67. (in Chinese)
- [7] ZhANG Xiaoli. Determination of fructose, glucose and xylitol in mixed sugar electrolyte injection by HPLC [J]. **Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy**, 2011, 28(7):676-678. (in Chinese)
- [8] FAN Yuan, XU Guoping, CHEN Ping, et al. RP-HPLC was used to determine the content of erythritol in sweetener in PC12 cells [J]. **Chinese Journal of Food Additives**, 2016(1):133-136. (in Chinese)
- [9] SHEN Fei, MENG Xiaoqin, HU Yonghong, et al. Determination of erythritol in fermentation broth by HPLC [J]. **Journal of Nanjing University of Technology**, 2013, 35(1):105-108. (in Chinese)
- [10] CHEN Qingjun, CHEN Yue. HPLC refractive index analysis method for determination of lactitol content [J]. **Northwest Pharmacy**, 1997, 12(4):147-148. (in Chinese)
- [11] WU Zhongling, CHEN Shudong, LIN Xiajia, et al. Simultaneous determination of seven kinds of sugar in colloidal confectionery by High Performance Liquid Chromatography [J]. **Journal of Food Quality and Safety Research**, 2016, 7 (5):1908-1914. (in Chinese)
- [12] WANG Shizhen, MA Litian. Determination of glucose, fructose, sucrose, maltitol and sorbitol in low-calorie food by High Performance Liquid Chromatography[J]. **Food and Fermentation Industries**, 1998, 24(4):12-17. (in Chinese)
- [13] CAI Nana, LI Xialan, FANG Baishan. HPLC method for detecting xylose and xylitol in fermentation broth [J]. **Journal of Zhangzhou Teachers College**, 2006(2):56-59. (in Chinese)
- [14] WU Fangdi, LI Li, LIU Yufeng, et al. Determination of sugar alcohols in food by high performance liquid chromatography[J]. **Food Science**, 2007, 28(6):278-280. (in Chinese)
- [15] CHEN Jianhua, GE Chiyu, ZHANG Lijun. Study on the determination of erythritol and L-erythrulose in fermentation broth by high performance liquid chromatography[J]. **Chinese Journal of Chromatography**, 2012, 30(8):843-846. (in Chinese)
- [16] ZHANG Jinjie, GU Weigang, YAN Yongfang, et al. Determination of reducing sugar, phosphorylated monosaccharide and sucrose in aquatic products by HPLC differential refractive method [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2011, 4(30):576-582. (in Chinese)
- [17] CLAUDIO C, CECILA T, FREDCK C, et al. Free sugar and sugar alcohol concentrations in human breast milk [J]. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, 2006(42):215-221.
- [18] 刘芳. 蒸发光散射检测器在食品安全领域的应用及与加压毛细管电色谱的联用[D]. 上海:上海交通大学, 2012.
- [19] 王玉红. 加压毛细管电色谱微流蒸发光散射检测联用系统研究及其在食品安全检测中的应用研究 [D]. 上海:华东师范大学, 2013.
- [20] WASHBTTL J, RIEDERER P, BANCHER E. A qualitative and quatitative study of sugar-alcohols in several foods[J]. **Journal of Food Science**, 1973, 38:1262-1263.
- [21] DONG Guizhang, GAO Guodan. Study on determination of urinary galactitol and other sugar alcohols by gas chromatography[J]. **Journal of China Medical University**, 1995, 24(3):247-249. (in Chinese)

- [22] OUYANG Pingkai, CHEN Chen, ZHU Jianliang. Gas chromatographic analysis of sugar and sugar alcohols in dilute aqueous solution[J]. **Journal of Nanjing University of Chemical Technology**, 1997, 19(2): 79-83. (in Chinese)
- [23] JIANG Shoujun, ZHU Bin, WANG Gangli, et al. Qualitative and quantitative analysis of sugar and sugar alcohols in *Salvia miltiorrhiza* for injection[J]. 2011, 7(31): 1313-1316. (in Chinese)
- [24] CARLA A, TONY L, ALISON G, et al. Hydrophilic interaction chromatography/electrospray mass spectrometry analysis of carbohydrate-related metabolites from *Arabidopsis thaliana* leaf tissue [J]. **Rapid Commun. Mass Spectrom**, 2008 (22): 1399-1407.
- [25] LI Chuahui, LI Shujuan, AN Juan. Simultaneous determination of five natural sweeteners in food by HPLC / MS / MS[J]. **Chinese Journal of Medical Science**, 2008, 6(19): 161-163. (in Chinese)
- [26] LIU Jianjun, ZHAO Xianying, ZHANG Lihe, et al. Identification of sugar alcohols in mother liquor by erythritol production[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2014, 40(10): 200-204. (in Chinese)
- [27] JOSE M, CINTRON D S R. Hydrophilic interaction chromatography with aerosol-based detectors (ELSD, CAD, NQAD) for polar compounds lacking a UV chromophore in an intravenous formulation [J]. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 2013 (78-79): 14-18.
- [28] DONALD S, RISLEY Wendy Q, YANG Jeffrey A, et al. Analysis of mannitol in pharmaceutical formulations using hydrophilic interaction liquid chromatography with evaporative light-scattering detection[J]. **J Sep Sci**, 2006(29): 256-264.
- [29] PAZOUREK J. Fast separation and determination of free myo-inositol by hydrophilic liquid chromatography [J]. **Carbohydrate Research**, 2014(391): 55-60.
- [30] LI Xiaoting, ZHAO Zhilei, ZHANG Yuyan, et al. Determination of sugar and sugar alcohols in sugar-free foods by HPLC-ELSD method[J]. **Food Research and Development**, 2013, 34(3): 59-62. (in Chinese)
- [31] MA Chunmei, ZHEN Sun, CHEN Changbao, et al. Simultaneous separation and determination of fructose, sorbitol, glucose and sucrose in fruits by HPLC-ELSD[J]. **Food Chemistry**, 2014(145): 784-788. (in Chinese)
- [32] GAN Ninglan. Determination of sorbitol in meat products by high performance liquid chromatography evaporative light scattering [J]. **Meat Research**, 2015, 29(8): 17-21. (in Chinese)
- [33] DING Hongliu, LI Can, JIN Ping, et al. Determination of monosaccharides, disaccharides, fructooligosaccharides and sugar in food by High Performance Liquid Chromatography-Evaporative Light Scattering Method [J]. **Chinese Journal of Chromatography**, 2013, 31(8): 804-808. (in Chinese)
- [34] YU Chen, YAN Zheng, CAI Lipeng, et al. Determination of sugar alcohols in sugar-free pastries by high performance liquid chromatography evaporative light scattering[J]. **Food Industry Science and Technology**, 2010(3): 362-364. (in Chinese)
- [35] LIU Yanqin, SHI Hailiang, YANG Hongmei, et al. Determination of sugar alcohols in sugar-free foods by high performance liquid chromatography-evaporative light scattering [J]. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, 2009, 28: 294-296. (in Chinese)
- [36] XU Li, HOU Yalong, LUO Changrong. Preparation of reducing sugar solution by acidic hydrolysis of corncob and its application in flue-reactive flavor[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2111, 3(30): 381-387. (in Chinese)