

运动饮料中糖分的检测

刘国厂

(黄河科技学院,河南 郑州 450006)

摘要: 建立一种用高效液相色谱-蒸发光检测法测定运动饮料中常用的木糖、果糖、葡萄糖、半乳糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、蔗果三糖、蔗果四糖、蔗果五糖等 10 种糖分的检测方法。样品经乙腈-水提取,过滤膜后上机检测。采用 ZORBAX 糖分析色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μ m)分离,以乙腈-水梯度洗脱作为流动相,用蒸发光检测器检测,外标法峰面积定量。结果表明,10 种糖组分在 0.01 g/100 mL~0.50 g/100 mL 浓度范围内线性良好,相关系数 r^2 为 0.996~0.999,检出限为 0.02 mg/mL~0.1 mg/mL,定量限为 0.06 mg/mL~0.3 mg/mL,加标回收率达到 90.2%~98.5%。

关键词: 高效液相色谱;运动饮料;糖

Analysis Sugar in Sports Drink

LIU Guo-chang

(Huanghe Science & Technology College, Zhengzhou 450006, Henan, China)

Abstract: A rapid and effective method was established for the determination of ten sugars (xylose, fructose, glucose, galactose, sucrose, maltose, lactose, 1-kestose, nystose, 1F- Fructofuranosyl nystose) in sports drink by high performance liquid chromatography-ELSD detection method. The samples were extracted by acetonitrile-water, and detected on the machine after filtering membrane. The separation of targeted compound was performed on a ZORBAX sugar analysis chromatography column (4.6 mm×250 mm, 5 μ m) using acetonitrile-water as mobile phase, with ELSD detector and external standard method peak area quantification. The linear range of ten kinds sugar was in the range of 0.01 g/100 mL~0.50 g/100 mL with a correlation coefficient of 0.996~0.999. The detection limit was 0.02 mg/mL~0.1 mg/mL and the quantitative limit was 0.06 mg/mL~0.3 mg/mL. The recovery rate was 90.2%~98.5%.

Key words: high performance liquid chromatography(HPLC); sports drink; sugar

运动饮料是根据人体运动的生理消耗而配置的,通过合理补充营养代谢物质使运动员抗疲劳能力提高,优化肌肉和肝糖原储备,维持血糖稳定,促进疲劳的消除,来提高运动能力。运动饮料中主要含有碳水化合物,电解质,维生素,氨基酸等成分,能补充人体所需的营养成分,抗疲劳,平衡新陈代谢^[1]。其中碳水化合物就包括糖类物质,它的添加在给饮用人群提供能量的同时,也带给人们更好的感官享受。在我国标准 GB 15266-2009《运动饮料》^[2]中,虽然未对运动饮料中的糖分作出限量,但是针对特殊人群的饮料,有必要了解其中的糖含量以及糖的种类,以便更好安排摄入

食品种类数量,防止高糖分给带来身体危害。

本试验就针对此,测定其中常见的 10 种糖分即木糖、果糖、葡萄糖、半乳糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、蔗果三糖、蔗果四糖、蔗果五糖标的含量。目前,食品中糖含量的测定有滴定分析法^[3]、气相色谱法^[4]、液相色谱法^[5-7]和离子色谱法^[8-9]等,但结合糖类物质自身易溶于水、低挥发性、不易电离等特点,液相色谱法是目前较理想、实用的检测方法。液相色谱方法中示差折光检测器依据折射率的变化对样品进行检测,极易受温度、流动相梯度等条件的影响,导致谱图基线漂移,灵敏度偏低,实际应用并不理想。蒸发光散射检测器(ELSD)基于样品颗粒对光的散射与质量呈指数关系进行测定,与被测物质的官能团和光学性质无关^[11-13],且受温度、梯度洗脱等试验条件影响小,适合于无紫

外吸收或只有紫外末端吸收、低挥发性物质的检测。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1200series 高效液相色谱仪：美国 Agilent, Alltech 3300 蒸发光散射检测器：美国 Agilent。

木糖标准品、果糖标准品、葡萄糖标准品、半乳糖标准品、蔗糖标准品、麦芽糖标准品、乳糖标准品、蔗果三糖标准品、蔗果四糖标准品、蔗果五糖标准品：国家标准物质中心。

1.2 样品来源

样品均为随机购买市场上销售的运动饮料。

1.3 色谱条件

色谱柱：ZORBAX NH₂ 糖分析色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)；

流速：1.2 mL/min；进样量：10 μL；柱温：30 ℃。

1.4 试验方法

1.4.1 流动相体系对糖分色谱行为的影响

固定流动相流速 1.2 mL/min，考察不同的流动相组成以及不同洗脱模式对 10 种糖的分离效果。

1.4.2 蒸发光散射检测器的条件优化

蒸发光散射检测器的两个较重要的参数分别是漂移管温度和载气流速，两者对组分的保留时间影响较小，但对信噪比(S/N)的影响较大，一般建立适当的高效液相-蒸发光散射检测器分析方法时，需对这两个参数进行优化。

1.4.3 标准曲线的制作

称取相应质量的木糖、果糖、葡萄糖、半乳糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、蔗果三糖、蔗果四糖、蔗果五糖标准品，配制成浓度为 0.01、0.05、0.10、0.20、0.50 g/100 mL 的标准溶液，进行仪器分析，以峰面积为纵坐标，浓度为横坐标绘制标准曲线。

1.4.4 样品前处理条件的优化

运动饮料中除了固有的一些食品基质外，还含有很多的人为添加的营养元素，成分复杂，对前处理要求高，所以本试验样品前处理对 3 种不同的提取液 I：甲醇-水(1:1, 体积比)、提取液 II：乙醇-水(1:1, 体积比)、提取液 III：乙腈-水(1:1, 体积比)进行比较，以样品加标平均回收率为比较依据，制定较优的前处理条件。

1.4.5 加标回收试验

以市售运动食品为基质，加入 10 种糖分的混标溶液，选择优化后的前处理条件操作，上机检测，计算回收率。

2 结果与讨论

2.1 色谱柱的选择

食品中糖类检测比较常用的色谱柱有 NH₂ 柱、C₁₈ 柱以及钙型阳离子柱。因此，本试验比较了这 3 种不同的色谱柱，发现 NH₂ 糖分析柱更具有优势，10 个目标物质峰基本都能出峰，而 C₁₈ 柱、钙型阳离子柱这两种色谱柱分析的谱图效果不理想。这是由于在这 10 种糖的混合标准物质的分析中，由于 NH₂ 柱的特殊键合力，能与不同糖分子形成氢键的结合力强弱不同，在分离时更具有优势。所以本试验选择 NH₂ 柱进行 10 种糖的分析色谱柱。

2.2 流动相体系对糖分色谱行为的影响

由于 ELSD 在雾化过程中需将流动相及样品溶剂挥发，形成被测样品微颗粒进行散射光检测，因此，试验中一般不使用不易挥发的缓冲盐（如乙酸铵等）进行色谱行为的调节。试验考察等度模式洗脱下不同组分及比例的流动相组成 I：甲醇：水=60：40(体积比)；流动相 II：乙腈：水=60：40(体积比)；流动相 III：乙腈：水=70：30(体积比)，流动相 IV：乙腈：水=80：20(体积比)，以及梯度洗脱条件下对 10 种糖分分离效果的影响，结果见图 1。

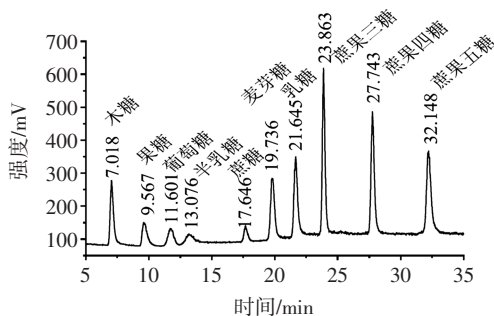


图 1 混合标准溶液的色谱图

Fig.1 The chromatogram of mixed standard solution

结果表明：等度洗脱的模式下，乙腈与甲醇相比，乙腈的洗脱能力更强，比较适合多组分目标物的洗脱分离；在乙腈-水流动相中，水的比例对容量因子影响显著，随水含量的增加，各组分保留时间明显提前，容量因子逐步减小。其中流动相 IV：乙腈：水=20：70(体积比)的分离度最好，但仍有组分不能分开；所以选择乙腈-水的流动相组成，尝试在梯度模式的洗脱条件下，通过优化乙腈-水的比例，最终条件为：0~1 min，80 % 乙腈；1 min~5 min，90 % 乙腈；5 min~20 min，75 % 乙腈；20 min~35 min，80 % 乙腈。此条件下 10 种组分可以等到可得到良好的基线分离。

2.3 ELSD 条件的优化

试验考察了不同载气流速（载气压力）0.8 L/min，

1.0、1.2、1.4、1.6 L/min 和不同漂移管温度 40、50、60、70 ℃对检测响应值的影响。结果表明：载气流速对响应值的影响比漂移管温度对响应值的影响明显。结合试验中液相色谱的流量，合理的载气流速可以保证被测样品微雾滴的有效形成。漂移管温度的调节更多地体现在对基线噪声的影响上。当被测样品以微雾滴形式进入漂移管时，比表面积的大幅增加使溶剂的挥发温度远低于通常的沸点，随着温度的升高，目标物峰面积的变化趋缓，噪声增加，信噪比反而下降，结果见图 2。

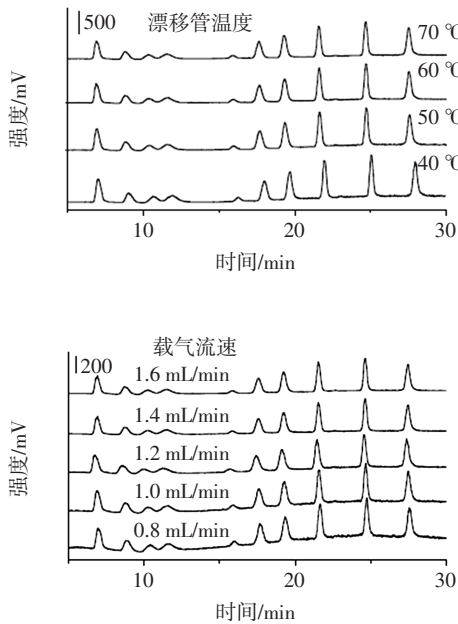


图 2 不同漂移管温度和不同载气流速条件下混合标准溶液的色谱图

Fig.2 The chromatograms of mixed standard solution in different drift tube temperatures and different flow rates of carrier gas

保持漂移管温度 60 ℃，以 0.05 g/100 mL 10 种糖分混合标准溶液的信噪比(S/N)考察最佳载气流速。结果表明：载气流速过小，雾化不充分，过大则可能导致目标物的损失，信号值降低。载气流速由 0.8 L/min 升至 1.6 L/min 时，各组分的信噪比随载气流速呈抛物线变化；当载气流速为 1.2 L/min 时，信噪比达到最高，试验选择载气流速为 1.2 L/min。保持载气流速为 1.2 L/min，调节不同漂移管温度，考察 0.05 g/100 mL 下 10 种糖分混合标准溶液的峰面积变化情况。结果表明：漂移管温度在 40 ℃~70 ℃之间时，峰面积呈下降趋势，但幅度不明显，尤其高于 60 ℃后变化更趋平缓，考虑到温度太低溶剂挥发不完全，基线不稳，试验选择漂移管温度为 60 ℃。综合以上考虑，经过试验摸索，确定最

佳漂移管温度为 60 ℃，最佳载气流速为 1.2 L/min。

2.4 标准曲线的制作

为了验证 10 种糖分在乙腈-水流动相体系中的线性关系，配制了浓度为 0.01、0.05、0.10、0.20、0.50 g/100 mL 的系列混合标准溶液。结果表明，10 种糖分在 0.01 g/100 mL~0.50 g/100 mL 内均具有良好的线性关系 ($R^2>0.99$)；采用在空白基质中添加目标组分的方法，依据色谱峰的信噪比(S/N)大于 3 倍确定检出限(LOD)，S/N 大于 10 倍确定定量限(LOQ)，得到 10 种目标组分的 LOD 和 LOQ 分别为 0.02 mg/mL~0.1 mg/mL 和 0.06 mg/mL~0.3 mg/mL，结果见表 1。

表 1 10 种糖分的保留时间、标准曲线、相关系数、检出限与定量限

Table 1 Retention time, standard curve, correlation coefficient, detection limit and quantitative limit of ten kinds sugar

目标化合物	保留时间/min	线性回归方程	r^2	检出限/(mg/mL)	定量限/(mg/mL)
木糖	7.018	$y=6\ 620x-2\ 221$	0.999	0.05	0.15
果糖	9.567	$y=8\ 334x-3\ 910$	0.998	0.10	0.30
葡萄糖	11.601	$y=7\ 450x-2\ 410$	0.997	0.05	0.15
半乳糖	13.076	$y=6\ 280x-2\ 540$	0.997	0.1	0.3
蔗糖	17.646	$y=7\ 654x-320$	0.996	0.025	0.075
麦芽糖	19.736	$y=6\ 558x-745$	0.997	0.085	0.25
乳糖	21.645	$y=6\ 358x-145$	0.998	0.05	0.15
蔗果三糖	23.863	$y=8\ 496x-116$	0.999	0.02	0.06
蔗果四糖	27.743	$y=7\ 398x-541$	0.999	0.02	0.06
蔗果五糖	32.148	$y=7\ 852x-154$	0.999	0.05	0.15

2.5 提取液的选择

参考相关文献^[10,13]，针对于样品提取液的选择，分别选用提取液Ⅰ：甲醇-水(1:1,体积比)、提取液Ⅱ：乙醇-水(1:1,体积比)、提取液Ⅲ：乙腈-水(1:1,体积比)来进行比较，分别称取 2.0 g 试样于 50 mL 具塞塑料离心管中，加入提取液定容至刻度，旋涡振荡 2 min，用 0.45 μm 滤膜将样液过滤入样品瓶中供液相色谱测定。

试验结果以 10 种糖分的平均回收率为比较依据，结果见图 3，乙腈-水(1:1,体积比)作为提取液效果最好，10 种糖分的平均回收率较好。

2.6 样品的测定及加标回收

在随机抽取的 20 个批次的运动饮料中，根据上述试验结果选择优化后仪器条件，选择乙腈-水(1:1)溶液提取，过滤后上机检测结果见图 4。

结果表明：在所检测的运动饮料样品中，果糖值在 13.5 mg/g~24.6 mg/g 之间，葡萄糖值在 12.3 mg/g~20.5 mg/g 之间，半乳糖值在 1.6 mg/g~10.8 mg/g 之间，蔗

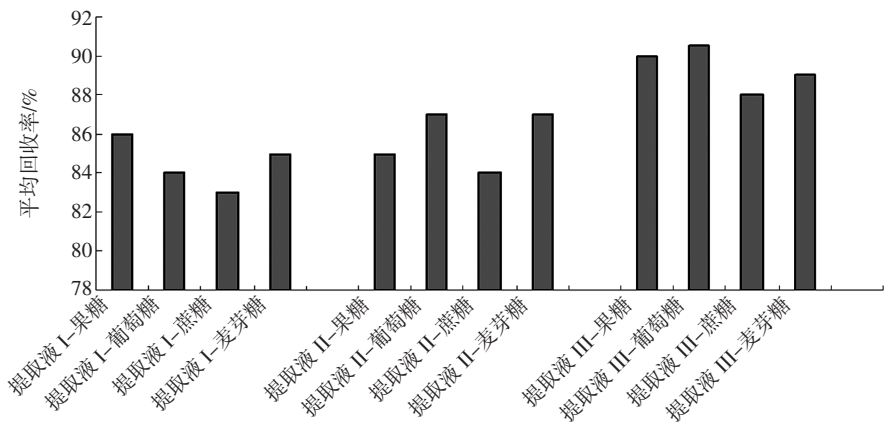
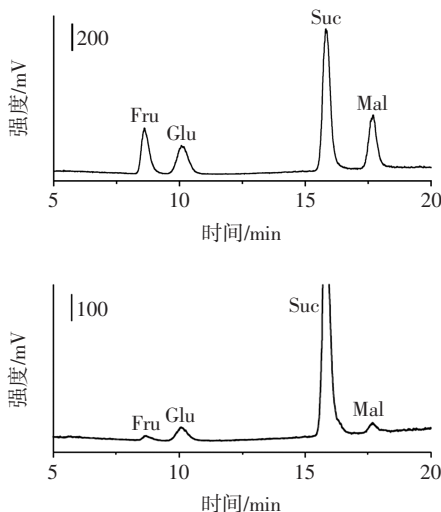


图3 提取液选择对 10 种糖分平均回收率的影响

Fig.3 The effect of extract solution on the average recovery rate for the ten kinds sugar



Fru-果糖;Glu-葡萄糖;Suc-蔗糖;Mal-麦芽糖。

图4 部分实际样品分析色谱图

Fig.4 Analysis chromatogram of part real samples

糖值在 9.4 mg/g~56.5 mg/g 之间,麦芽糖值在 0.2 mg/g~2.4 mg/g 之间,乳糖值在 5.8 mg/g~25.9 mg/g 之间,木糖,蔗果三糖,蔗果四糖,蔗果五糖均未检出。结果见图 4,是两种运动饮料中糖分的分析色谱图。加标回收试验中,在加标浓度为 0.50 g/100 mL 的饮料样品中,10 种糖分的加标回收率在 90.2 %~98.5 %之间,符合检测要求。

2.7 与国标方法测定值的比较

在本试验测定的 20 个批次的运动饮料中,将其中含有蔗糖的两个样分别采用 GB/T 5009.8-2008《食品中蔗糖的测定》的第二法(酸水解滴定法)和 GB/T 22221-2008《食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定高效液相色谱法》(该标准采用高效液相色谱-示差折光法)进行测定比较,见表 2。

从表 2 中可以看出本法测定结果与 GB/T 22221-

表 2 本法测定的样品中蔗糖含量与国标方法测定值的比较

Table 2 Comparison of sucrose detection results by this method and national methods

编号	本试验测定值/(mg/g)	GB/T 5009.8-2008 (第二法)/(mg/g)	GB/T 22221-2008/(mg/g)
样品 1	44.6	46	44.2
样品 2	9.8	11	9.3

2008 结果更为吻合,以 mg/g 为单位,GB/T 5009.8-2008(第二法)只能精确到整数位,特别是浓度较低时,准确性不如高效液相色谱法。因此本法操作简单、方便快捷、准确性高,可以满足运动饮料中糖类的成分和含量测定的要求。

3 结论

本文建立了一种高效液相色谱-蒸发光检测器检测运动饮料中木糖、果糖、葡萄糖、半乳糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、蔗果三糖、蔗果四糖、蔗果五糖等 10 种糖同时分离检测的方法。结果表明,在乙腈-水流动相体系梯度洗脱条件:0~1 min,80 %乙腈;1 min~5 min,90 %乙腈;5 min~20 min,75 %乙腈;20 min~35 min,80 %乙腈,载气流速为 1.2 L/min、漂移管温度 60 ℃的条件下木糖、果糖、葡萄糖、半乳糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、蔗果三糖、蔗果四糖、蔗果五糖等 10 种组分能得到良好的基线分离,且在 0.01 g/100 mL~0.50 g/100 mL 内均具有良好的线性关系,10 种目标组分的 LOD 和 LOQ 分别为 0.02 mg/mL~0.1 mg/mL 和 0.06 mg/mL~0.3 mg/mL。样品在经提取液:乙腈-水(1:1,体积比)的提取下,10种糖分的加标回收率在 90.2 %~98.5 %之间,可实现对目标物的净化,准确有效地检测运动饮料中的糖分含量及种类,可为运动人群更好地了解摄入食物的营养成分提供参考。

参考文献:

- [1] 盛文胜,江军山,王训斌,等.不同蜂蜜中果糖、葡萄糖和蔗糖含量的测定[J].安徽农业科技,2010,38(30):17182-17183
- [2] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.GB/T 5009.8-2008 运动饮料[S].北京:中国标准出版社,2008
- [3] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.SN/T0852-2012,进出口蜂蜜检验规程[S].北京:中国标准出版社,2012
- [4] 张峻松,宣晓泉,唐纲岭,等.毛细管气相色谱法测定烟草中葡萄糖、果糖、蔗糖的含量[J].中国烟草学报,2007,13(2):17-20
- [5] 罗立梅,陈朝银,李时琪,等.高效液相色谱-蒸发光散射法测定皂荚壳多糖的单糖组分及其含量[J].理化检验-化学分册,2013,49(3):270-273
- [6] 尹俊发,杨更亮,李志伟,等.高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定草石蚕根茎中的水苏糖[J].分析化学,2003,31(12):1409-1412
- [7] 贾红卫,林童,姚志敏,等.蒸发光散射检测-高效液相色谱法测定沙棘果蜜中的葡萄糖、果糖和蔗糖[J].理化检验-化学分册,2011,47(9):1066-1070
- [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] 张磊,周光明,张丽君,等.离子色谱法测定鲜果和干果中的三种糖[J].四川大学学报(自然科学版),2014,51(4):791-796
- [10] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.GB/T 18932.22-2003 蜂蜜中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖含量的测定方法 液相色谱示差折光检测法[S].北京:中国标准出版社,2003
- [11] 魏洪,丁明玉.蒸发光散射检测技术[J].色谱,2000,18(5):398-401
- [12] 王巧娥,丁明玉.蒸发光散射检测技术研究进展[J].分析测试学报,2006,25(6):126-132
- [13] 丁洪流,李灿,金萍,等.高效液相色谱-蒸发光散射法测定食品中的单糖、双糖、低聚果糖和糖醇[J].色谱,2013,31(8):804-808

收稿日期:2016-12-26

(上接第20页)

炸制的鸡腿的感官评分较高。

通过对不同温度时间下炸鸡腿的 TBARS 含量进行研究表明,炸鸡腿 TBARS 的反应动力学符合 0 级反应动力学模型,建立的 TBARS 品质动力学模型与实际相符,可以精确预测炸鸡腿过程中 TBARS 值及其变化规律。

参考文献:

- [1] 张伟.海上石油作业人员营养改善项目实施措施的研究[D].天津:天津大学,2011
- [2] Dueik V, Robert P, Bouchon P. Vacuum frying reduces oil uptake and improves the quality parameters of carrot chips[J]. Food Chemistry, 2010, 119 (3): 1143-1149
- [3] Mariscal M, Bouchon P. Comparison between atmospheric and vacuum frying of apple slices[J]. Food Chemistry, 2008, 107 (4): 1561-1569
- [4] 吕曼丽.即食油炸泥鳅产品的加工及品质评估[D].哈尔滨:东北农业大学,2015
- [5] 姚晓敏,孙向军,徐建强,等.煎炸油质变检验探讨[J].食品科技,2000(4):56-57
- [6] 何爱丽.几种食用油在煎炸过程中的品质变化研究[D].郑州:河南工业大学,2015
- [7] 杨铭铎,邓云,石长波,等.油炸过程与油炸食品品质的动态关系研究[J].中国粮油学报,2006,21(5):93-97
- [8] 周厚源.软包装肉鸡烤翅加工过程传热传质及动力学研究[D].广州:华南理工大学,2014
- [9] 孙灵霞,赵改名,李苗云,等.油炸工艺对鸡肉串品质的影响[J].河南农业大学学报,2010,44(6):710-714
- [10] Brandao TRS, Silva CLM. Dynamic approach for assessing food quality and safety characteristics:the case of processed foods [J]. Procedia Food Science, 2011,1(1):1015-1025
- [11] Ross T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology[J]. Journal of Applied Bacteriology, 1996,81(5):501-508

收稿日期:2016-09-16