

饮料中四种糖的含量测定

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC1600 高效液相色谱仪（含 RI-201H 示差折光检测器 1 台，P1600 高压恒流泵 1 台，上海舜宇恒平科学仪器有限公司）；FA2004 电子分析天平（上海舜宇恒平科学仪器有限公司）；果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖标准品(>97%，国药试剂)；乙腈(色谱纯，美国 Tedia)；二次蒸馏水。

1.2 溶液配制

1) 糖标准贮备液

分别称取 1g（精确至 0.1mg）的果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖标准品，于 50ml 容量瓶中，加水定容至刻度，得到浓度为 20mg/ml 的上述四种糖的混标标准贮备液。

2) 糖标准溶液

分别取标准贮备液 0.50ml、1.00 ml、2.00 ml、3.00 ml、5.00 ml 于 10ml 容量瓶中，加水定容至刻度，分别得浓度为 1.0mg/ml、2.0mg/ml、4.0mg/ml、6.0mg/ml、10.0mg/ml 的混标标准溶液。

3) 乙酸锌溶液：称取 21.9g 乙酸锌，加 3ml 冰乙酸，加水溶解并稀释至 100ml。

4) 亚铁氰化钾溶液：称取 10.6g 铁氰化钾溶液，加水溶解并稀释至 100ml。

1.3 样品前处理

含有二氧化碳的饮料，参考 GB/T 22221—2008 进样样品前处理。

精密量取除了 CO₂ 的样品 5ml，移入 10ml 的容量瓶中，缓慢加入乙酸锌和亚铁氰化钾溶液各 0.5ml，放置室温后，用水定容至刻度，摇匀，静置 30min，用干燥滤纸过滤，取 2ml 滤液，过 0.45um 微孔滤膜，作为待测样品溶液。

1.4 色谱条件：

色谱柱：Shodex NH2P-50（4.6×250mm）

流动相：乙腈/水=75/25

流速：1.0ml/min

柱温：30℃

进样量：5ul

2 实验结果

2.1 精密度实验

将浓度为 4.0mg/ml 的混合标准溶液，在上述 HPLC 条件下连续进样 5 次，考察分析方法在同一浓度水平分析的精密度，结果如下表所示。

表 1. 同一浓度混合标准溶液连续进样 5 次的测定结果

No.	果糖		葡萄糖		蔗糖		麦芽糖	
	Rt/min	A	Rt/min	Rt/min	Rt/min	A	Rt/min	A
1	7.394	6716.4	9.586	5828.7	13.505	7405.9	16.44	5590.6
2	7.394	6873.8	9.586	5673.2	13.522	7285.8	16.423	5396.1
3	7.402	6710.15	9.595	5776.5	13.547	7499.7	16.448	5640
4	7.394	6958.4	9.595	5918.4	13.513	7467.2	16.432	5630.7
5	7.327	6675.05	9.47	5659.6	13.388	7169	16.423	5713.8
RSD/%	0.42	1.81	0.57	1.88	0.46	1.45	0.06	2.13

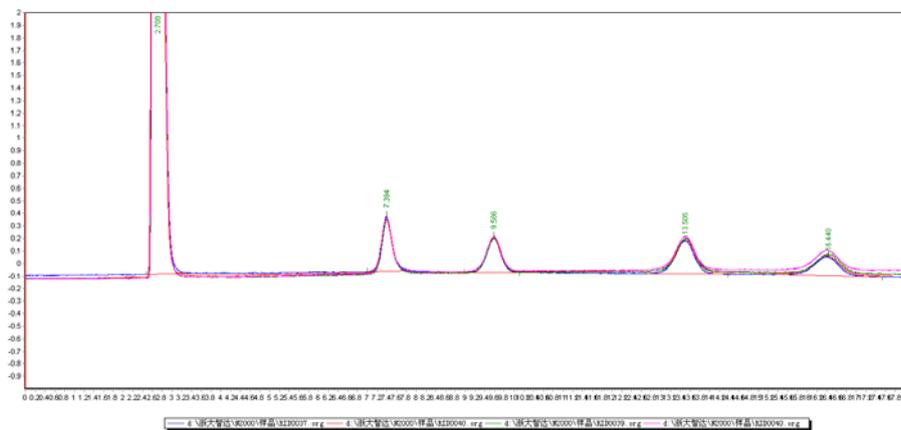


图 1 标准品 HPLC 谱图

2.2 标准曲线

将一系列浓度的标准溶液由低浓度到高浓度进样，以峰面积 (纵坐标 Y 轴)对标准品浓度 (横坐标 X 轴, mg/ml)进行线性回归，求算标准曲线，结果如下：

表 2 不同浓度混合标准溶液测定结果

浓度/ mg/ml	A/果糖	A/葡萄糖	A/蔗糖	A/麦芽糖
1.0	1715.2	1427.4	1983.7	1513.8
2.0	3489.62	2965.23	3714.17	2848.63

4.0	6734.05	5497.75	6783.8	5183.1
6.0	10215.13	8349.7	10763.1	7922.45
10.0	17249.2	14148.8	17957.2	13278.7

通过线性回归，以峰面积-浓度作图，分别得到四种糖的回归方程如下：

果糖： $y=1721.8X-39.9$ $R=0.9999$

葡萄糖： $y=1405.2X+13.9$ $R=0.9998$

蔗糖： $y=1780.6X+49.4$ $R=0.9994$

麦芽糖： $y=1305.3X+145.0$ $R=0.9997$

2.3 加样回收率和重现性实验

取已知含量的样品，加入浓度为 10.0mg/ml 的混合标准品溶液 1 ml，按“样品前处理”操作，平行制备 3 份，得到样品溶液后按上述色谱条件进样分析，得到加样回收率及重现性结果。

表 3. 加样回收率及重现性测定结果

果糖					
	样品中含量 /mg	加入标准品实际量 /mg	测定含量 /mg	加入标准品计算 /mg	加样回收率 /%
1	22.2	10.0	32.2	10.0	100.0
2	22.2	10.0	32.5	10.3	103.0
3	22.2	10.0	32.3	10.1	101.0
				平均值%	101.3
				RSD%	1.51
葡萄糖					
	样品中含量 /mg	加入标准品实际量 /mg	测定含量 /mg	加入标准品计算 /mg	加样回收率 /%
1	26.9	10.0	36.5	9.6	96.0
2	26.9	10.0	36.7	9.8	98.0
3	26.9	10.0	36.5	9.6	96.0
				平均值%	96.7
				RSD%	1.19
蔗糖					
	样品中含量 /mg	加入标准品实际量 /mg	测定含量 /mg	加入标准品计算 /mg	加样回收率 /%
1	0	10.0	10.00	10.00	100.0
2	0	10.0	9.85	9.85	98.5
3	0	10.0	10.31	10.31	103.1
				平均值%	100.5
				RSD%	2.33

麦芽糖					
	样品中含量	加入标准品实际量	测定含量	加入标准品计算	加样回收率
	/mg	/mg	/mg	/mg	%
1	0	10.0	10.09	10.09	100.9
2	0	10.0	10.18	10.18	101.8
3	0	10.0	10.28	10.28	102.8
				平均值%	101.8
				RSD%	0.93

2.4 含量测定

2.4.1 雪菲力样品中糖含量的测定

按“样品前处理”操作制备样品，按上述所建立的 HPLC 方法，对雪菲力样品进行了分析。测定结果计算如下：

表 4. 雪菲力样品中糖含量的测定结果

	A/果糖	A/葡萄糖	A/蔗糖	A/麦芽糖
峰面积	7605.7	7580.3	—	—
含量 mg/ml	8.88	10.77	—	—

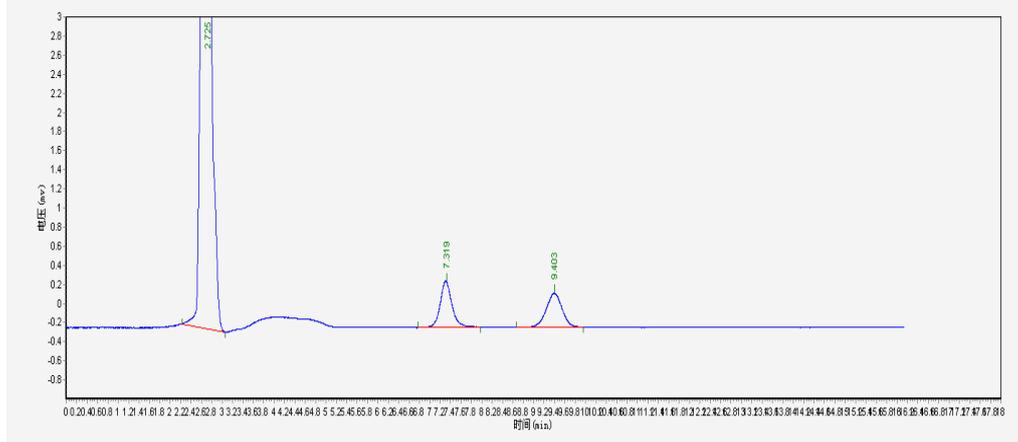


图 2 雪菲力样品的 HPLC 谱图

2.4.2 可乐样品中糖含量的测定

按“样品前处理”操作制备样品，按上述所建立的 HPLC 方法，对可乐样品进行了分析。测定结果计算如下：

表 5. 可乐样品中糖含量的测定结果

	A/果糖	A/葡萄糖	A/蔗糖	A/麦芽糖
峰面积	9599.6	6889.4	2689.7	—
含量 mg/ml	11.20	9.82	2.96	—

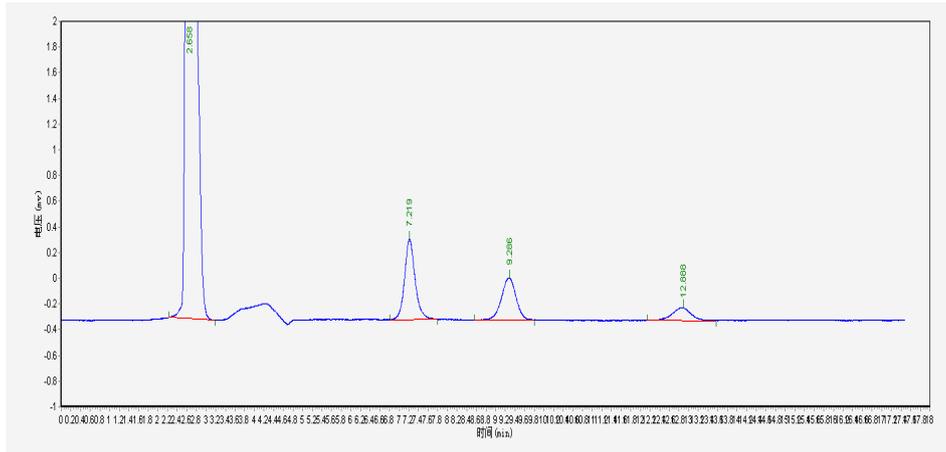


图3 可乐样品的 HPLC 谱图

3 结论

使用 LC1600 泵配合 shodex 示差检测器，按 GB/T 22221—2008 方法操作，四种糖在 Shodex NH2P-50 氨基柱上能得到良好的分离效果，精密度 $\leq 2.13\%$ ，回收率在 96.7%~101.8%之间。根据信噪比，按 3 倍噪声值计算，理论检出限为 0.2mg/ml，符合 GB/T 22221—2008 的要求。