

# 离子色谱法测定水果蔬菜及其制品中六种单双糖

高立红<sup>1</sup>, 郑洪国<sup>1</sup>, 王雪<sup>2</sup>, 徐贞贞<sup>2</sup>

1. 赛默飞世尔科技(中国)有限公司应用研发中心, 北京, 100102

2. 中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 北京, 100081

## 关键词

离子色谱法; 水果蔬菜及其制品; 单双糖; ICS-6000; CarboPac PA20

## Keywords

Ion chromatography; Fruits and vegetables and their products; Monosaccharide and disaccharide; ICS-6000; CarboPac PA20

## 前言

我国是果蔬生产大国, 蔬菜及水果的面积产量均居世界第一。根据国家统计局数据, 近五年我国蔬菜及水果产量逐年递增, 2019年全国蔬菜产量为7.0346亿吨、水果产量(含园林水果及瓜果类)为2.5688亿吨。水果及蔬菜中含有各类的糖类、有机酸、芳香物质、维生素以及矿物质等营养成分, 其中糖类占比对了解水果及蔬菜的风味特征、品加工及产品质量综合评价都有重要意义。同时, 糖是常用的食品添加剂之一, 常被加入一些果蔬加工制品中用以提高含糖量, 食用过量糖会危害身体健康。了解加工制品中的糖的成分和含量, 对于指导生产及健康饮食具有较好的指导意义。

糖类物质的检测主要包括比色法、液相色谱法、气相色谱法和离子色谱法<sup>[1-6]</sup>。比色法操作繁琐, 干扰多, 灵敏度欠佳; 由于糖类物质极性极强并且同分异构体较多, 液相色谱常规色谱柱对其保留和分离效果欠佳, 并且无紫外吸收或较弱, 常用的示差折光检测器灵敏度低; 气相色谱法测定糖类物质, 需要衍生后进行测定, 操作复杂并且难以保证重复性。离子色谱法采用专用糖分析色谱柱对糖类物质具有很好的保留和分离效果, 脉冲安培检测器(PAD)对糖类物质具有特异性响应和高灵敏度, 无需衍生即可直接检测, 重复性好, 并且单双糖、低聚糖、多聚糖、糖醇、氨基糖、酸性糖均可进行检测。

本文采用离子色谱脉冲安培检测法测定水果蔬菜及其制品中阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、蔗糖、果糖和麦芽糖。无需繁琐的衍生化反应, 样品经提取、过滤稀释后即可直接进样分析。方法准确性和灵敏度高, 峰形和稳定性好。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器、试剂与材料

- Thermo Scientific™ Dionex™ ICS-6000高压离子色谱仪, 包含:
  - SP 低压四元泵
  - DC 检测器和色谱组件单元
  - ED 安培检测器 (P/N 072042)
  - ED 安培检测池 (P/N 072044)
  - Gold电极、衬垫及抛光套件 (P/N 079850)
  - pH-Ag/AgCl 参比电极 (P/N 061879)
- Thermo Scientific™ Dionex™ AS-AP 带制冷功能自动进样器(P/N 074926)
- Thermo Scientific™ Chromeleon™ Chromatography Data System (CDS) software, version 7.3
- Thermo Scientific™ Dionex™ CarboPac™ PA20 分析柱, 3 × 150 mm, (P/N 060142)
- Thermo Scientific™ Dionex™ CarboPac™ PA20 保护柱, 3 × 50 mm (P/N 060144)
- 0.45 μm和0.22 μm尼龙针式过滤器(安谱实验); 超纯水(18.2 MΩ·cm); 50%氢氧化钠水溶液(ThermoFisher); 阿拉伯糖、半

乳糖、葡萄糖、蔗糖、果糖和麦芽糖标准品（纯度≥99%）。

表 2 六种糖的线性范围、线性方程和相关系数

目标物	线性方程	线性范围 (mg/L)	相关系数 (R)
阿拉伯糖	$y = 3.03x + 0.99$	0.5 ~ 15	0.9980
半乳糖	$y = 4.20x + 1.10$	0.5 ~ 15	0.9979
葡萄糖	$y = 3.86x - 0.06$	0.5 ~ 15	0.9984
蔗糖	$y = 1.86x + 0.02$	0.5 ~ 15	0.9991
果糖	$y = 1.72x + 0.10$	0.5 ~ 15	0.9997
麦芽糖	$y = 1.52x - 0.45$	0.5 ~ 15	0.9999

1.2 实验方法

1.2.1 色谱条件

色谱柱：CarboPac PA20（3\*30mm）+

CarboPac PA20（3\*150mm）

淋洗液：氢氧化钠梯度洗脱，洗脱程序如表1所示；

流速：0.4 mL/min；

柱温：30℃；

进样量：10 μL；

检测：Au金电极；Ag/AgCl参比电极；糖标准四电位波形；

检测器箱温控：30℃。

表1 淋洗液梯度洗脱程序

时间 (min)	淋洗液A (超纯水) (%)	淋洗液B (200mM NaOH溶液) (%)
0	95	5
20	95	5
20.1	80	20
30	80	20
30.1	0	100
40	0	100
40.1	95	5
50	95	5

1.2.2 前处理条件

取适量有代表性的样品（液态均匀样品直接摇匀，固态非均匀样品切碎后匀浆混匀）。称取试样1.00 g，准确加入50 mL超纯水，涡旋混匀，超声30 min后，9000 r/min离心10 min，移取上清液。将前述上清液经定性快速滤纸粗过滤后，依次过0.45 μm和0.22 μm的针式过滤器过滤得到待测样品。待测样品中糖含量超出工作曲线浓度时，应以超纯水稀释适当倍数后进样分析。参考稀释倍数：1000 倍（鲜样）或10000倍（干样）。

2. 结果与讨论

2.1 线性数据

采用超纯水配制0.5、1、2、5、8、10、12、15 mg/L的系列混合标准工作溶液，在选定色谱条件下进样分析，以目标物的峰面积（y，nC×min）为纵坐标，标准溶液浓度（x，mg/L）为横坐标，建立标准曲线。六种糖的线性范围、线性方程和相关系数如表2所示。六种糖在0.5~15 mg/L范围内均具有良好的线性，线性相关系数R > 0.997。选取2.0 mg/L混合标准工作溶液，连续进样6次，六种糖的保留时间相对标准偏差RSD < 0.17%，峰面积相对标准偏差RSD < 0.60%，说明仪器方法具有良好的稳定性。标准溶液色谱图，如图1所示。

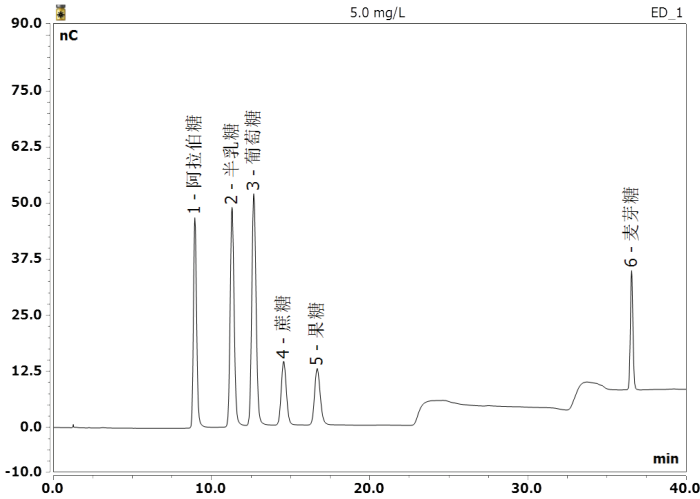


图1 混合标准溶液色谱图（5.0 mg/L）

2.2 方法检出限和定量限

分别以3倍信噪比（S/N=3）和10倍信噪比（S/N=10）所对应的目标物浓度作为仪器检出限（LOD）和仪器定量限（LOQ）。根据以下公式计算仪器检出限和仪器定量限。

仪器检出限LOD =(W×3)/(S/N)

式中：W—— 标曲最低点目标物浓度，mg/L；

S/N——标曲最低点目标物的信噪比；

仪器定量限LOQ =(W×10)/(S/N)

式中：W—— 标曲最低点目标物浓度，mg/L；

S/N——标曲最低点目标物的信噪比；

根据以下公式计算方法检出限和方法定量限。

方法检出限= LOD×V×f/m

式中：LOD——仪器检出限，mg/L；

V——样品定容体积，mL；

f——样品稀释倍数；

m——样品称样量，g；

方法定量限=LOQ×V×f/m

式中：LOQ—— 仪器定量限，mg/L；

V——样品定容体积，mL；

f——样品稀释倍数；

m——样品称样量，g；

当称样量为1.00 g，样品定容体积为50 mL，稀释倍数为1时（即无稀释），果蔬及其制品的方法检出限和定量限如表3所示。

表3 六种糖的检出限和定量限

目标物	仪器检出限 mg/L	仪器定量限 mg/L	方法检出限 mg/kg	方法定量限 mg/kg
阿拉伯糖	0.006	0.02	0.3	1.0
半乳糖	0.006	0.02	0.3	1.0
葡萄糖	0.006	0.02	0.3	1.0
蔗糖	0.02	0.07	1.0	3.5
果糖	0.02	0.07	1.0	3.5
麦芽糖	0.03	0.08	1.5	4.0

2.3 加标回收率和精密度

本方法选择了苹果、橙子、胡萝卜、圆白菜、橙汁和泡菜、黄桃罐头以及芒果干、油菜干作为试验的样品基质，样品经提取和稀释后，在上机测定前进行1 mg/L、5 mg/L和10 mg/L低、中、高三种水平的加标试验，每种试样取5个平行样，进行三批处理。采用已建立的方法测定计算回收率、日内变异系数和日间变异系数。结果表明，六种糖在苹果、橙子、胡萝卜、圆白菜、橙汁和泡菜、黄桃罐头以及芒果干、油菜干样品中的加标回收率均在91.54%~112.82%之间，证明该方法的准确度较高。日内变异系数（RSD）在0.14%~4.15%之间，日间变异系数（RSD）在0.49%~4.58%之间，证明该方法的可重复性较好。以苹果为例，其详细加标回收率和变异系数（RSD）如表4所示。

表4 苹果三个添加浓度的回收率、批内RSD值和批间RSD值

苹果									
目标物	添加浓度 1 mg/L			添加浓度 5 mg/L			添加浓度 10 mg/L		
	回收率 %			回收率 %			回收率 %		
阿拉伯糖	100.54	99.97	103.09	106.35	107.25	106.35	100.24	103.60	100.93
	100.76	100.71	102.54	107.29	104.71	104.26	101.90	103.08	99.53
	99.52	100.44	101.88	107.41	107.56	105.50	101.57	103.56	100.88
	100.72	100.84	101.21	107.11	106.68	105.72	101.09	103.44	99.31
	101.22	101.02	101.60	106.86	106.81	105.29	101.35	103.46	100.64
平均值%	100.55	100.60	102.06	107.00	106.60	105.42	0.00	0.00	0.00
批内RSD%	0.63	0.41	0.74	0.39	1.05	0.72	0.62	0.20	0.77
批间RSD%	0.91			0.97			1.45		
半乳糖	99.84	99.28	102.74	105.14	106.10	106.02	100.84	104.66	102.49
	99.08	99.99	102.52	106.07	103.53	103.78	102.61	104.04	101.10
	99.33	99.90	101.83	106.38	106.40	105.02	102.50	104.62	102.28
	100.21	100.43	101.46	106.15	105.64	105.34	101.86	104.54	100.74
	99.06	100.67	102.03	106.05	105.71	105.13	102.31	104.67	102.24
平均值%	99.50	100.05	102.12	105.96	105.48	105.06	102.02	104.51	101.77
批内RSD%	0.51	0.54	0.51	0.45	1.07	0.77	0.71	0.25	0.78
批间RSD%	1.25			0.83			1.37		
葡萄糖	100.30	102.02	104.89	100.95	101.47	102.14	98.65	102.12	100.30
	105.37	101.41	103.37	101.88	99.01	99.59	100.46	101.17	98.55
	102.32	101.06	105.43	102.08	101.67	101.25	100.42	102.03	100.11
	105.71	102.62	105.13	102.56	101.17	101.57	99.90	101.92	98.50
	102.24	103.21	105.74	102.60	101.24	101.36	100.49	102.11	100.27
平均值%	103.19	102.06	104.91	102.01	100.91	101.18	99.98	101.87	99.55
批内RSD%	2.23	0.86	0.88	0.66	1.07	0.94	0.78	0.39	0.94
批间RSD%	1.79			0.97			1.24		
蔗糖	105.27	107.38	109.31	102.92	103.88	101.28	98.39	101.40	99.93
	105.48	108.13	109.06	103.68	101.25	99.07	99.78	100.80	102.02
	109.95	108.49	109.54	103.66	104.48	100.43	99.82	101.36	101.92
	105.37	108.26	107.94	103.40	103.04	100.61	99.14	101.28	99.96
	106.20	108.83	108.47	103.37	102.77	99.85	99.61	101.04	101.78
平均值%	106.45	108.22	108.86	103.41	103.08	100.25	99.35	101.18	101.12
批内RSD%	1.87	0.50	0.60	0.30	1.19	0.83	0.60	0.25	1.07
批间RSD%	1.45			1.64			1.10		
果糖	103.33	104.08	103.92	97.47	96.48	96.92	95.43	98.35	94.22
	105.74	103.80	104.65	98.86	96.93	93.97	97.14	97.80	92.64
	105.37	104.63	104.52	98.77	97.29	95.78	96.82	98.28	94.03
	105.76	104.54	105.86	99.70	96.59	95.89	96.54	97.89	92.25
	102.22	104.36	104.26	100.03	98.23	95.94	97.19	98.38	93.65
平均值%	104.48	104.28	104.64	98.97	97.10	95.70	96.62	98.14	93.36
批内RSD%	1.55	0.33	0.70	1.01	0.73	1.12	0.74	0.28	0.93
批间RSD%	0.94			1.68			2.25		

麦芽糖	102.41	98.13	101.58	98.56	102.10	100.78	102.00	102.90	100.95
	103.03	99.24	101.48	100.81	98.74	98.78	100.79	102.93	99.39
	102.16	100.13	102.37	101.21	101.54	100.20	101.33	102.79	101.14
	103.76	100.14	101.29	100.84	100.78	100.53	100.35	102.59	99.28
	103.36	100.02	102.16	100.38	100.15	99.32	100.99	102.56	101.22
平均值%	102.94	99.53	101.78	100.36	100.66	99.92	101.09	102.75	100.40
批内RSD%	0.64	0.87	0.46	1.04	1.30	0.84	0.61	0.17	0.97
批间RSD%	1.57			1.05			1.18		

## 2.4 实际样品测定

采用本方法测定苹果、橙汁和圆白菜等典型样品中六种单双糖，其含量如表5所示。

表5 苹果、橙汁和圆白菜中六种糖的含量 (g/100g)

样品名称	目标物					
	阿拉伯糖	半乳糖	葡萄糖	蔗糖	果糖	麦芽糖
苹果	—*	—	2.85	1.10	5.41	—
橙汁	—	—	1.70	2.55	2.06	—
圆白菜	—	—	1.21	—	0.703	—

\*: —表示未检出。

## 结论

本文建立了离子色谱-脉冲安培检测法测定水果蔬菜及其制品中阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、蔗糖、果糖和麦芽糖等六种单双糖的方法。该方法具有无需衍生、灵敏度和准确度高、分离度和稳定性好等优势，可用于水果蔬菜及其制品中六种单双糖的检测。

## 参考文献

- [1] Wang Bingfeng, Wang Xue, Bei Jun, et al. Development and Validation of an Analytical Method for the Quantification of Arabinose, Galactose, Glucose, Sucrose, Fructose, and Maltose in Fruits, Vegetables, and Their Products [J]. Food Analytical Methods, 2021, 14: 1227-1238.
- [2] 郑惠玲, 邓宝浣, 肖桂秋, 等. 高效离子交换色谱法测定半乳糖、葡萄糖、乳糖及低聚半乳糖含量 [J]. 食品科学, 2014, 35(6): 180-184.
- [3] 薛晓锋, 赵静, 陈兰珍, 等. 离子色谱法测定蜂花粉与蜂王浆中的葡萄糖、果糖、蔗糖和麦芽糖 [J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(11): 162-165.
- [4] 刘晓玲, 李东刚, 史娟, 等. 离子色谱-脉冲安培检测器分析饮料中单糖和二糖 [J]. 光谱实验室, 2010, 27(2): 441-445.
- [5] 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.
- [6] 李仁勇, 梁立娜, 牟世芬, 等. 离子色谱-脉冲安培检测法测定酱油中的糖 [J]. 中国调味品, 2009, 34(7): 95-98.



赛默飞  
官方微信

热线 800 810 5118  
电话 400 650 5118  
www.thermofisher.com

**Thermo Fisher**  
SCIENTIFIC