

李丽红,刘兴国. 采用电雾式检测器测定掺假蜂蜜中的果葡糖浆[J].环境化学,2018,37(12):2824-2826.

LI Lihong, LIU Xingguo. Determination of fructose-glucose syrup in adulterated honey by HPLC-CAD[J].Environmental Chemistry,2018,37(12):2824-2826.

ThermoFisher 赛默飞世尔科技
S C I E N T I F I C

采用电雾式检测器测定掺假蜂蜜中的果葡糖浆

李丽红¹ 刘兴国^{2*}

(1. 华北制药集团新药研究开发有限责任公司 微生物药物国家研究中心 河北省工业微生物代谢工程技术研究中心, 石家庄, 050015; 2. 赛默飞世尔科技(中国)有限公司, 北京, 100080)

摘 要 采用电雾式检测器建立了鉴别掺假蜂蜜的方法,实验采用乙腈和水(65:35)流动相等度洗脱,流速 1.2 mL·min⁻¹, Shodex Asahipak NH₂P-50 4E 色谱柱(4.6 × 150 mm, 5 μm)进行分离,Corona Veo RS 检测器采集频率 5 Hz,蒸发温度 35 °C,Filter5.不同聚合度的麦芽糖在 8.0—60.0 μg·mL⁻¹浓度范围,线性相关系数为 0.999;方法灵敏度高,1%果葡糖浆可明显检出.方法快捷高效,可用于掺假蜂蜜的快速鉴别.

关键词 电雾式检测器,掺假蜂蜜,果葡糖浆,麦芽糖.

Determination of fructose-glucose syrup in adulterated honey by HPLC-CAD

LI Lihong¹ LIU Xingguo²

(1 New Drug Research and Development Center of North China Pharmaceutical Group Corporation, National Microbial Medicine Engineering and Research Center, Hebei industry Microbial Metabolic Engineering & technology Research Center, Shijiazhuang, 050015, China; 2. Thermofisher Scientific (China) Co., Ltd, Beijing, 100080, China)

Abstract: A HPLC-CAD Method was established for rapidly quantification of oligosaccharides adulterated honey. We use a Shodex Asahipak NH₂P-50 4E column(4.6 × 150 mm, 5 μm) to separate these compounds, with the mobile phase consisting of acetonitrile and H₂O (65:35). The samples were detected by Corona Veo RS detector, with collect rate 5Hz, evaporative temperature 35 °C, Filter 5. As a result, using the chromatographic peaks of malto oligosaccharide (maltose to maltoheptaose) standards as reference, the differences of honey, fructose-glucose syrup and pure honey containing fructose-glucose syrup were detected by CAD. The linear ranges of these different malto oligosaccharides were 8.0—60.0 mg·L⁻¹ and the correlation coefficients(*r*) were all 0.999. 1% fructose-glucose syrup in adulterated honey can be detected, this method showed high accuracy, sensitivity and short time for analysis.

Keywords: HPLC-CAD, adulterated honey, fructose-glucose syrup, maltose.

蜂蜜营养丰富,口感香甜,是不少人喜爱的健康食品,适用人群广泛,是一种老少皆宜的保健食品.常用的蜂蜜掺假手段中,利用果葡糖浆掺假^[1-2],形式最为普遍.果葡糖浆是由植物淀粉水解而制得,如玉米或红薯淀粉,加工简单,成本低廉.蜂蜜中不含五糖(DP=5)以上的寡糖,但在果葡糖浆中却广泛存在.2015 版药典据此在蜂蜜检查项下采用薄层色谱法对寡糖进行鉴别^[3],该方法要依靠实验人员的直观经验来判断,误差较大、灵敏度差,存在很大的局限性.

国内外已建立的一些方法如碳同位素法^[4],仪器昂贵、操作复杂、难以普及.本方法采用高效液相色谱仪进行分离,电雾式检测器(CAD,本文所用具体型号为 Corona VeoRS)检测,将五糖(DP=5)以上寡糖的存在作为蜂蜜中果葡糖浆的判定指标,采用氨基柱分析不同聚合度的麦芽糖,方法灵敏度高,并且具有很好的普及性.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

超高效液相色谱仪:Ultimate 3000 系统(美国 ThermoFisher),Corona VeoRS 电雾式检测器(美国 ThermoFisher),AE240

* 通讯联系人, E-mail: 734814659@qq.com

电子天平(瑞士 Mettler Toledo);Smart2Pure™超纯水仪(美国 Thermofisher).

对照品:麦芽糖、麦芽三糖、麦芽四糖、麦芽五糖、麦芽六糖和麦芽七糖标准品储备液 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

蜂蜜和果葡糖浆样品购于超市.

试剂:乙腈为色谱纯;水为超纯水;其他试剂均为分析纯.

1.2 溶液的配制

1.2.1 对照品溶液的配制

取适量麦芽糖、异麦芽糖、麦芽三糖、麦芽四糖、麦芽五糖、麦芽六糖和麦芽七糖适量,精密称定,水溶解制备成含麦芽糖、异麦芽糖 $20.0 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,麦芽三糖、麦芽四糖、麦芽五糖、麦芽六糖和麦芽七糖 $40.0 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液.

1.2.2 供试品溶液的配制

取蜂蜜样品约 1.0 g ,精密称定,置 10 mL 量瓶中,水溶解,摇匀,定容至刻度,进液相色谱仪前用 $0.22 \text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤.

1.3 色谱条件

色谱柱为 Shodex AsahipakNH₂P-50 4E 色谱柱($4.6 \times 150 \text{ mm}$, $5 \text{ }\mu\text{m}$),采用乙腈和水(65:35)流动相等度洗脱,柱温: $30 \text{ }^\circ\text{C}$;流速: $1.2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;Corona Veo RS 检测器采集频率 5 Hz ,蒸发温度 $35 \text{ }^\circ\text{C}$,Filter5.进样量: $10 \text{ }\mu\text{L}$.鉴于蜂蜜样品中果糖和葡萄糖含量较高,在进行实际样品测定时,采用 Corona Veo RS 检测器阀切换功能使这两个高浓度的糖不进入检测器检测,只检测聚合度大于等于 5 的糖.阀切换设置见图 1.

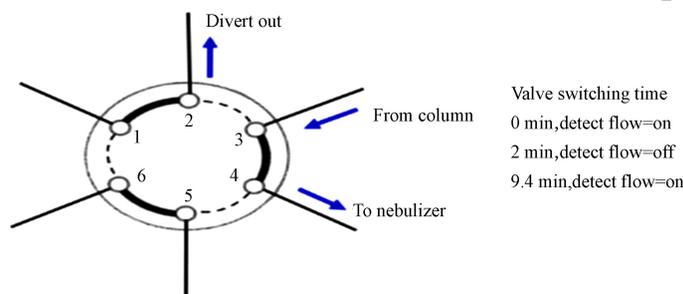


图 1 Veo RS 阀切换

Fig.1 Valve switching of Veo RS

2 结果与讨论

2.1 色谱柱及流动相的选择

由于硅胶基质的氨基柱流失较大,在电雾式检测器上噪音较高,选择 Shodex 聚合物基质的氨基柱作为测定所用色谱柱.比较不同比例的乙腈-水的分离效果,结果表明乙腈-水(65:35)作流动相各目标化合物峰形好,分离度较高.

2.2 检测条件选择

电雾式检测器参数设置比较简单,本实验对其主要参数蒸发温度进行了考察,对比了 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 和 $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 蒸发温度下的测定谱图,在 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 时基线噪音和色谱峰形较好,所以选择了 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 的蒸发温度进行检测.

2.3 方法学考察

2.3.1 标准曲线

配制不同浓度的麦芽糖混合对照品溶液,按上述色谱条件进样测定,绘制标准曲线,各糖在 $8.0 \text{—}60.0 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内线性关系良好.

表 1 线性回归方程与范围

Table 1 Calibration curves and scale

名称	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	线性方程	相关系数(R)
麦芽糖+异麦芽糖	8—60	$y=0.369x+0.015$	0.999
麦芽三糖	8—60	$y=0.201x+0.028$	0.999
麦芽四糖	8—60	$y=0.359x-0.011$	0.999
麦芽五糖	8—60	$y=0.497x+0.022$	0.999
麦芽六糖	8—60	$y=0.392x+0.041$	0.999
麦芽七糖	8—60	$y=0.329x+0.035$	0.999

2.3.2 加标回收率

本方法的重点在于测定聚合度 5 以上 ($DP > 5$) 的寡糖,所以在空白蜂蜜样品中添加麦芽五糖、麦芽六糖和麦芽七糖进行加标回收率实验,添加浓度水平分别为为 0.10、0.25、0.50 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,由表 2 可知,加标回收率在 95.2%—100.7% 之间,表明方法准确度较高.

表 2 蜂蜜样品加标回收率
Table 2 Recovery of spiked sample

NO	添加水平/ $(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	麦芽五糖回收率/%	麦芽六糖回收率/%	麦芽七糖回收率/%
1	0.10	95.2	95.6	96.1
2	0.25	97.3	98.2	97.2
3	0.50	98.1	97.0	100.7

2.4 方法灵敏度

本方法灵敏度较高,含 1% 果葡糖浆的蜂蜜具有明显检出,信噪比分别为:出峰时间 12.401 min 色谱峰, $S/N = 22.2$, 出峰时间 16.518 min 色谱峰, $S/N = 9.7$, 出峰时间 20.281 min 色谱峰, $S/N = 8.3$.

2.5 样品测定

采用本方法对从超市购买的中粮山萃洋槐蜂蜜、冠生园紫云英蜂蜜、百花牌蜂蜜、花蕊牌洋槐蜂蜜进行检测,结果表明这几种蜂蜜均未检出血葡糖浆.

3 结论

本实验采用电雾式检测器测定了掺假蜂蜜中的果葡糖浆,采用 ShodexAsahipak $\text{NH}_2\text{P}-50$ 4E 聚合物氨基柱,不同聚合度的麦芽糖在该色谱柱上得到了很好的分离,电雾式检测器作为通用型检测器对糖类化合物有良好的测定效果,在较短时间内解决了掺假蜂蜜的鉴别问题,该方法操作简单、可普及性高,可以用作蜂蜜掺假的快速检验.

参考文献 (References)

- [1] 任雪梅, 胡梅, 周传静, 等. 蜂蜜中掺入不同类型果葡糖浆的检测[J]. 山东农业科学, 2013, 45(2): 117-119.
REN X M, HU Mei, ZHOU C J, et al. Determination on different types of high fructose corn syrup (HFCS) adulterated in honey[J]. Shandong Agriculture Sciences, 2013, 45(2):117-119 (in Chinese).
- [2] 黄文诚. 淀粉糖及检测技术[J]. 蜜蜂杂志, 2010, 4: 18-19.
HUANG W C. Starch sugar and detection technology [J]. Journal of Bee, 2010, 4: 18-19 (in Chinese).
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015.
National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of People's Republic of China [M]. Beijing: Chemical Industry Pres, 2015 (in Chinese).
- [4] GB/T 18932.1—2002 蜂蜜中碳-4 植物糖含量测定方法稳定碳同位素比率法[S].
GB/T 18932.1—2002 Method for the determination of C-4 plant sugars in honey-stable carbon isotope ratio method[S]. (in Chinese).