

使用配备示差折光检测器的Arc HPLC系统分析糖醇和阿洛酮糖

Kim Van Tran, Peter Hancock

Waters Corporation

摘要

过量食用糖（蔗糖）会导致许多健康问题，例如肥胖、糖尿病、牙病和ADHD（注意力缺陷/多动障碍）。为减少这些问题，许多食品和饮料制造商使用糖醇（多元醇）或阿洛酮糖（单糖果糖的一种差向异构体）等代糖重新调整了配方或开发了新产品，代糖消化后的血糖指数和热量低于糖。糖醇和阿洛酮糖并无固定的每日摄入量，但由于某些糖醇可能具有通便作用，因此务必了解它们在食品和药品中的具体含量以防过量食用。我们开发出一种分析方法来检测并定量饮料及其他低热量产品中的糖醇和阿洛酮糖。将Arc HPLC-RI与Atlantis Premier BEH Z-HILIC分析柱结合使用，该分析柱与其他亲水作用液相色谱(HILIC)柱相比，能够增强极性分析物的保留并带来不同的选择性。拟定的分析工作流程可能适用于支持制造商和合同检测实验室对无糖或低糖产品中的糖醇和阿洛酮糖进行标准化分析。

优势

- Atlantis Premier BEH Z-HILIC色谱柱可保留并分离7种糖醇和阿洛酮糖，对于使用甜味剂混合物的产品很有效
- 简单的等度液相色谱(LC)法，方法设置轻松，适用于常规的产品质量控制检测
- Arc HPLC循环进样阀可避免潜在的样品沉淀，降低方法的停机风险
- 利用RI检测不含UV发色团的组分

- Arc HPLC-RI检测器与Atlantis Premier BEH Z-HILIC色谱柱结合使用，提供了优异的重现性、准确度和精密度

简介

糖醇又称为多元醇，由碳水化合物中的醛基或酮基还原转化为醇而来¹。糖醇属于甜味剂，热量低于一般的糖。糖醇天然存在于苹果、香蕉、桃子、梨、杏和橙子等水果中，也可以人为添加到焙烤食品和饮料中。糖醇无任何固定的每日摄入量，但是，过量食用糖醇会导致腹泻并扰乱血糖水平。因此，应对消费者提供各种食品中糖醇含量的准确信息^{2,3}。许多食品制造商在一些低热量产品中引入了糖醇和阿洛酮糖等代糖，旨在减少消费者的糖摄入量，为降低肥胖水平提供支持。

阿洛酮糖是单糖果糖的一种差向异构体，被食品和饮料制造商用作低热量甜味剂⁴。阿洛酮糖少量存在于小麦、葡萄干、无花果和糖蜜中。美国食品药品监督管理局(FDA)对使用阿洛酮糖作为代糖的三份公认安全(Generally Recognized as Safe, GRAS)通知做出了无异议答复。2020年，FDA提供了在营养品和补充剂成分标签上标示阿洛酮糖和热量信息的指导⁵。在欧盟(EU)或英国(UK)，阿洛酮糖未被批准用作代糖，而是被划为新型食品，需要获得欧洲食品安全局(EFSA)和英国食品安全局(UKFSA)的上市许可并接受安全审查⁶。

糖醇和阿洛酮糖不含发色团，可使用示差折光检测器(RI)、蒸发光散射检测器(ELS)或质谱检测器(MS)等进行测量。本应用纪要将概述一种定量各种低热量产品中所含糖醇和阿洛酮糖的示例分析方法。分离过程使用Arc HPLC-RI结合Atlantis Premier BEH Z-HILIC分析柱完成。

实验

材料与试剂

标准品和缓冲盐。

糖醇（赤藓糖醇、甘油、麦芽糖醇、甘露糖醇、木糖醇、山梨糖醇）购自Sigma-Aldrich；阿洛酮糖(Psicose)标准品购自Fisher Scientific。

试剂

乙腈购自Honeywell Research Chemicals。

含有目标甜味剂的产品购自当地和在线零售商。

样品前处理

标样制备：

用水制备浓度为100 mg/mL的糖醇和阿洛酮糖标样，储存于4 °C下。用50:50乙腈:水连续稀释，制得浓度为5 mg/mL的糖醇和阿洛酮糖混标。标准曲线范围为0.16~5 mg/mL。

样品：

重复称取3份口香糖、儿童感冒药和阿洛酮糖混合饮料粉各1 g，溶于20 mL水中。取100 μ L溶液用400 μ L高效液相色谱(HPLC)级水稀释，涡旋混合，加入500 μ L乙腈。

用0.2 μ m PVDF针式过滤器过滤饮料。取100 μ L样品用400 μ L水稀释，涡旋混合，加入500 μ L乙腈。进样体积为5 μ L。

液相色谱条件

液相色谱系统：	Arc HPLC系统
检测器：	RI 2414（采样速率10点/秒）
样品瓶：	通过LCGC认证的透明玻璃最大回收样品瓶，配有盖子和预切割PTFE/硅胶隔垫，容积1.5 mL（部件号：186000327C）
过滤器：	0.2 μ m PVDF针式过滤器（部件号：WAT200806）
色谱柱：	Atlantis Premier BEH Z-HILIC, 4.6 \times 150 mm, 2.5 μ m（部件号：186009994）

柱温:	55 °C
样品温度:	25 °C
检测器温度:	55 °C
进样体积:	5 µL
流速:	0.3 mL/min
流动相:	75:25乙腈:水
样品稀释剂:	50:50乙腈:水
密封清洗液:	5:95乙腈:水
洗针液:	5:95乙腈:水
清除溶剂:	50:50乙腈:水

数据管理

色谱软件:	Empower 3色谱数据软件(CDS)
-------	----------------------

结果与讨论

糖醇和阿洛酮糖的分析采用配备2414示差折光(RI)检测器的Arc HPLC系统。RI检测需要使用等度溶剂流动相，给通过单一方法分离糖醇和阿洛酮糖带来挑战。分析采用Atlantis Premier BEH Z-HILIC色谱柱，对强极性化合物提供了更高的分析物保留性能；与其他HILIC色谱柱相比具有不同的选择性，可以分离赤藓糖醇、阿洛酮糖、山梨糖

醇和甘露糖醇。该色谱柱使糖醇和阿洛酮糖获得了良好的峰形和分离度（图1）。仪器控制、数据采集和处理在 Empower 3 色谱数据软件上进行。糖醇和阿洛酮糖的分析工作流程如图2所示。

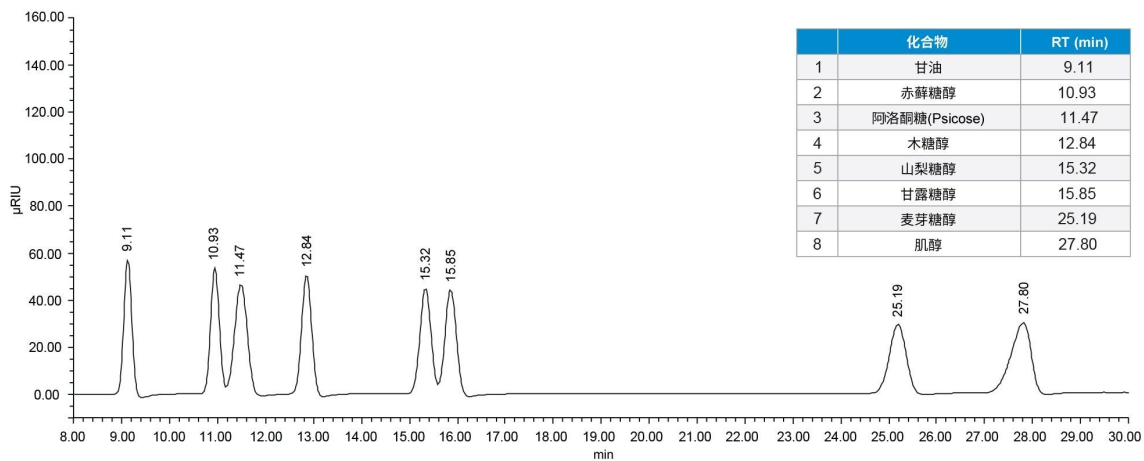


图1. Atlantis Premier BEH Z-HILIC 色谱柱的糖醇和阿洛酮糖(5 mg/mL)分离结果

分析工作流程解决方案



图2. 使用 Arc HPLC 系统与 Empower 软件分析糖醇和阿洛酮糖产品的分析工作流程解决方案

标准曲线：线性、峰面积精密度和保留时间

用 50:50 乙腈:水连续稀释糖醇和阿洛酮糖标样，生成多点标准曲线。生成的标准曲线范围为 0.16~5 mg/mL，表现

出良好的线性($R^2 > 0.998$)。糖醇和阿洛酮糖的标准曲线如图3所示。

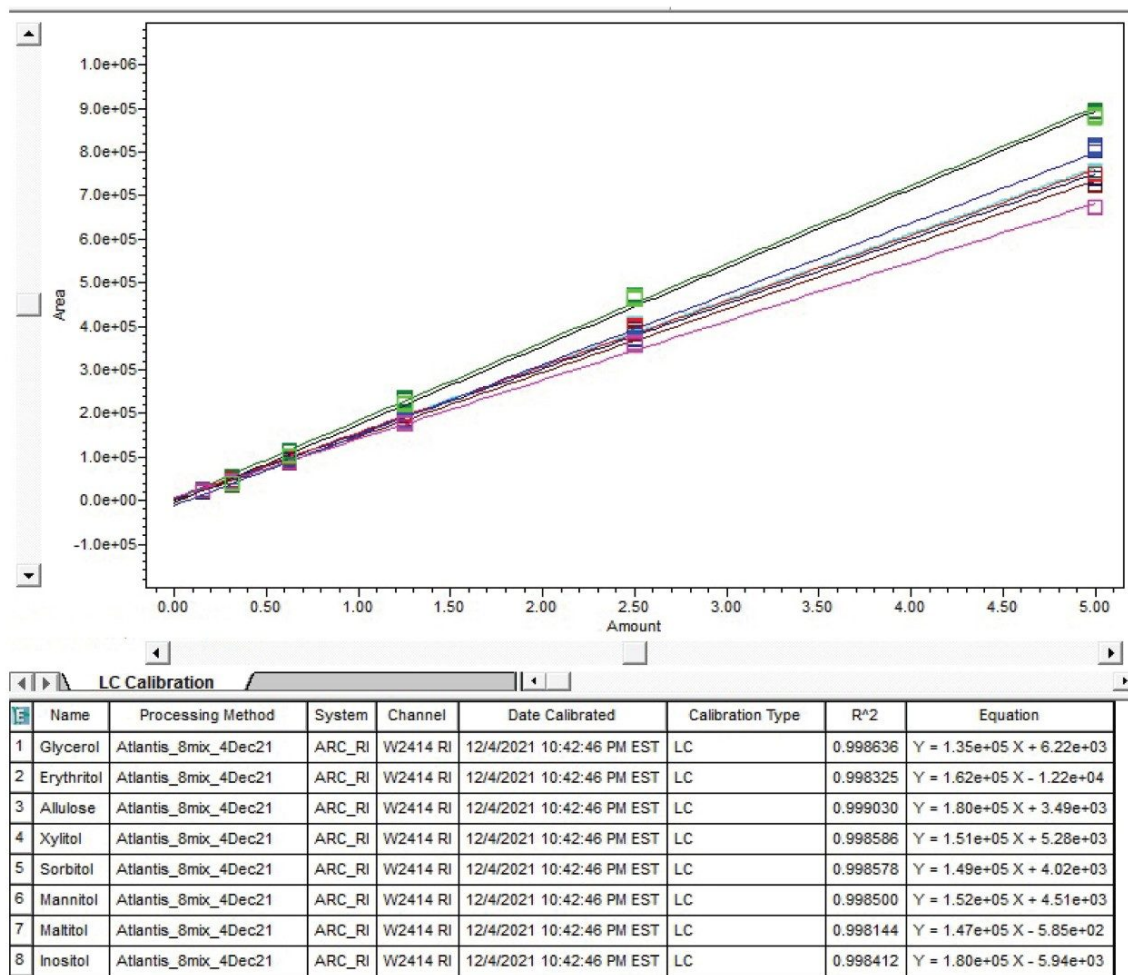


图3.使用2414 RI检测器得到的糖醇和阿洛酮糖的标准曲线，浓度范围为0.16~5 mg/mL

在Empower软件中，利用基于糖醇和阿洛酮糖峰到峰测量结果的信噪比(s/n)，计算检测限(LOD)（信噪比3:1）和定量限(LOQ)（信噪比10:1）。表1汇总了糖醇和阿洛酮糖的LOD和LOQ。

	化合物	RT (min)	LOD (mg/mL)	s/n	LOQ (mg/mL)
1	甘油	9.12	<0.16	26.61	<0.16
2	赤藓糖醇	10.94	<0.16	26.30	<0.16
3	阿洛酮糖(Psicose)	11.48	<0.16	23.22	<0.16
4	木糖醇	12.85	<0.16	23.82	<0.16
5	山梨糖醇	15.33	<0.16	20.57	<0.16
6	甘露糖醇	15.85	<0.16	20.19	<0.16
7	麦芽糖醇	25.19	<0.16	14.41	<0.16
8	肌醇	27.80	<0.16	14.97	<0.16

表1.糖醇和阿洛酮糖的LOD和LOQ

方法稳定性

色谱柱性能和压力迹线

运行样品的流动相中乙腈百分比比较高，这会导致一些溶解度问题，且样品会在进样阀中沉淀，进而有可能增加总体系统压力。Arc HPLC系统的样品管理器(SM FTN-R)配有循环进样阀，可在方法中设置，有助于防止复杂基质样品发生堵塞和残留问题。本研究监测了色谱柱150次进样的压力迹线。整个压力迹线无显著变化（变化小于10 psi），如图4A和4B所示。

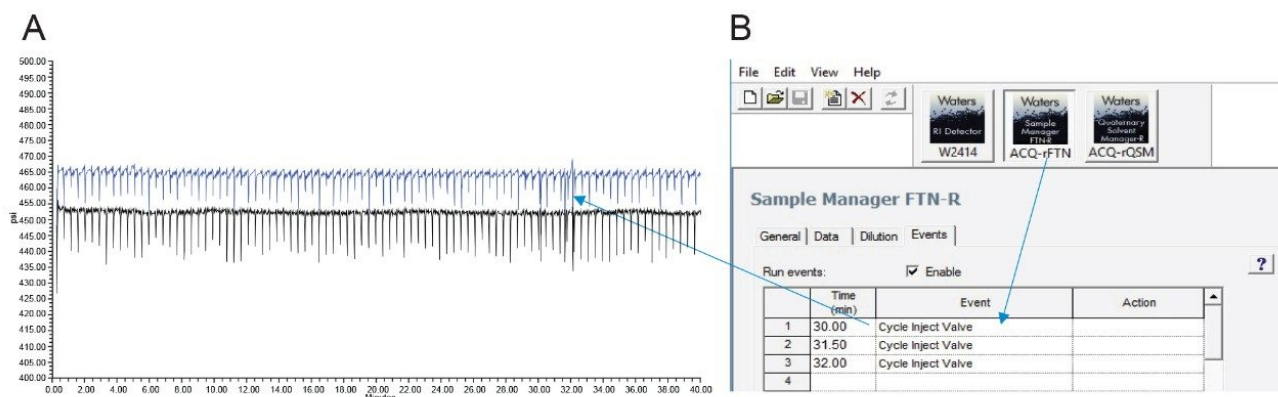


图4A.150次进样的压力迹线。B.样品管理器ACQ-rFTN循环进样阀事件。

叠加150次进样从第一次进样5 mg/mL标准品到最后一次进样5 mg/mL标准品的色谱图（中间穿插基质样品），监测色谱柱的保留时间重现性（图5A）。图5B显示了儿童药样品3次进样前后的空白进样色谱图，未在这些样品中观察到残留。

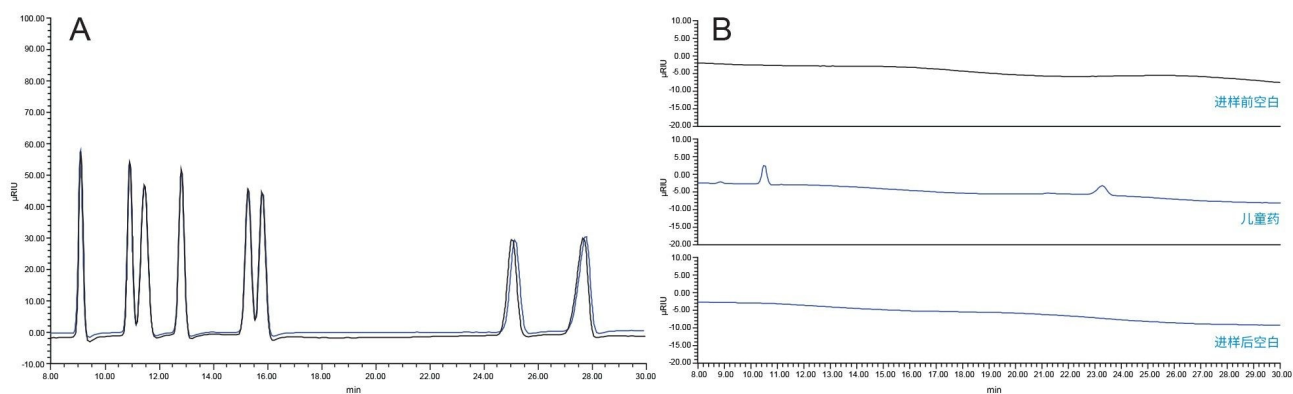


图5A.150次进样后的色谱柱性能。B.儿童用布洛芬的残留结果。

分析含糖醇和阿洛酮糖的产品：

分析含糖醇和阿洛酮糖的产品生成的定量结果如表2所示。

	阿洛酮糖 粉末	阿洛酮糖 粉末	口香糖片	口香糖片	儿童药	儿童药	功能饮料P	功能饮料P
名称	标示值	检出值 (%RSD)	标示值	检出值 (%RSD)	标示值	检出值 (%RSD)	标示值	检出值 (%RSD)
甘油 g	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	0.08 (1.4)	n/d	n/d
赤藓糖醇 g	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	18.00	19.68 (1.7)
阿洛酮糖(Psicose) g	n/d	0.84 (1.0)	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
木糖醇 g	n/d	n/d	n/d	1.40 (3.1)	n/d	n/d	n/d	n/d
山梨糖醇 g	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	0.14 (1.0)	n/d	n/d
甘露糖醇 g	n/d	n/d	n/d	0.18 (9.0)	n/d	n/d	n/d	0.24 (0)
麦芽糖醇 g	n/d	n/d	n/d	0.12 (1.0)	n/d	n/d	n/d	n/d
肌醇 g	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d
总糖醇 g	n/d	n/d	2.00	1.70	n/d	0.22	n/d	n/d
样品重量 g	1.00	n/d	n/d	n/d	1.00	n/d	n/d	n/d

表2.分析糖醇和阿洛酮糖产品生成的定量结果($n=3$)

在水果能量饮料P样品中检出了19.7 g赤藓糖醇，而在该饮料的标签中，总碳水化合物标示量为18 g，糖为2 g，不含赤藓糖醇。

在口香糖片中检出了1.7 g糖醇，为木糖醇、甘露糖醇和麦芽糖醇的总含量，而标示量为每片含2 g总糖醇。

在儿童药中，每1g样品中检出了0.22 g甘油和山梨糖醇。

在阿洛酮糖混合饮料粉中，每1 g样品中检出了0.84 g阿洛酮糖。

分析糖醇和阿洛酮糖产品得到的代表性色谱图如图6所示。

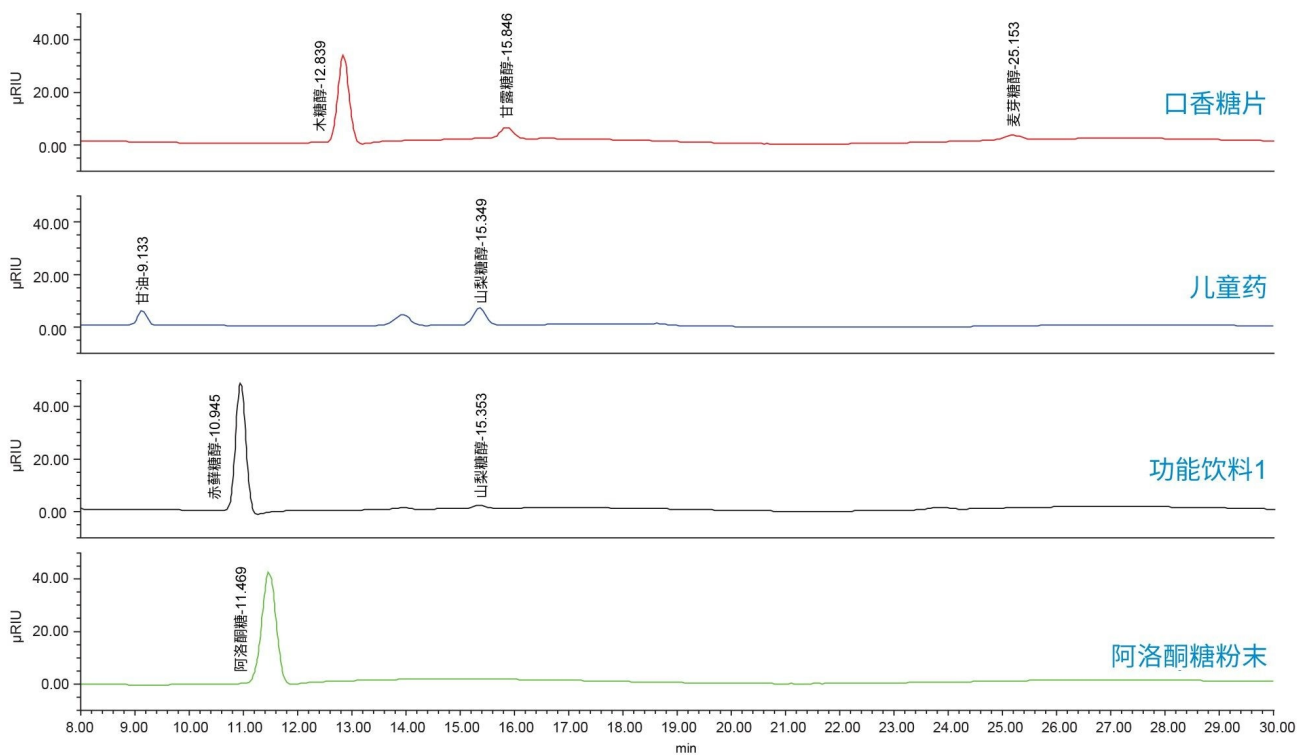


图6.分析糖醇和阿洛酮糖产品得到的色谱图

结论

- 将Waters Arc HPLC-RI系统与Atlantis Premier BEH Z-HILIC色谱柱结合使用，能够分离糖醇和阿洛酮糖。
- 使用简单的等度方法分离糖醇和阿洛酮糖，并利用RI进行检测。
- 与其他HILIC色谱柱相比，Atlantis Premier BEH Z-HILIC色谱柱能够增强极性分析物的保留并带来不同的选择性。
- 该分析工作流程适用于支持制造商对食品和饮料中的糖醇和阿洛酮糖进行标准化分析。

参考资料

1. Wolever Th, A. Piekarz, M. Hollands, K. Younker, Rapaille.A, Goosens.J, etc.2002. Sugar Alcohols and Diabetes: A Review.*Canadian Journal of Diabetes*.26(4): 356–362.
2. Rapaille.A, Goosens.J, & Heume.M. (2016) Sugar alcohols.*Encyclopedia of Food and Health*, 211–216.
3. Ruskone-Fourmestraux.A, Attar.A, Chassard.D, Coffin.B, Bornet.F, Bouhnik.Y. (2003) A Digestive Tolerance Study of Maltitol after Occasional and Regular Consumption in Healthy Humans.*European Journal of Clinical Nutrition*, 57, 26–30.
4. Akram Hossain; Fuminori Yamaguchi; Tatsuhiro Matsuo; Ikuko Tsukamoto; Yukiyasu Toyoda; Masahiro Ogawa; Yasuo Nagata; Masaaki Tokuda.(November 2015) "Rare Sugar d-allulose: Potential Role and Therapeutic Monitoring in Maintaining Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus".*Pharmacology & Therapeutics*.155: 49–59.
5. U.S. FDA (2020) Guidance for Industry: The Declaration of Allulose and Calories from Allulose on Nutrition and Supplement Facts Labels.<https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-declaration-allulose-and-calories-allulose-nutrition-and-supplement-facts-labels> <<https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-declaration-allulose-and-calories-allulose-nutrition-and-supplement-facts-labels>> .
6. Southey, F. (2021) Allulose approval in Europe to be sought by New Ingredients Consortium.*Food Navigator*.<https://www.foodnavigator.com/Article/2021/12/07/Allulose-approval-in-Europe-to-be-sought-by-new-ingredients-consortium> <<https://www.foodnavigator.com/Article/2021/12/07/Allulose-approval-in-Europe-to-be-sought-by-new-ingredients-consortium>> .

特色产品

Arc HPLC系统 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135068659>>

[2414示差折光\(RI\)检测器 <https://www.waters.com/waters/514425>](https://www.waters.com/waters/514425)

[Empower色谱数据系统 <https://www.waters.com/10190669>](https://www.waters.com/10190669)

720007499ZH, 2022年1月

© 2022 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie](#) [设置](#)

沪 ICP 备06003546号-2

京公网安备 31011502007476号