

# 以高效液相層析儀及高效陰離子交換儀同步分析食品中葡萄糖、果糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖及半乳糖檢驗方法之探討

古瓊寧 吳白玟 陳瑋芸 沈盈如 黃子芸 蔡沁玠  
張郁懷 曾素香 高雅敏 周秀冠 陳惠芳

食品藥物管理署研究檢驗組

## 摘要

衛生福利部公告於104年7月1日起，明訂「糖」為強制標示項目，故本研究探討以高效液相層析儀搭配揮發性光散射檢出器(HPLC-ELSD)或高效陰離子交換層析儀搭配脈衝電化學檢出器(HPAEC-PED)同步分析食品中葡萄糖、果糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖及半乳糖。均質檢體以50%乙醇溶液萃取，於9000 × g離心後，取上層液，經適當稀釋，分別以HPLC-ELSD及HPAEC-PED進行分析。HPLC-ELSD測定條件為選用高耐水性胺基之Unison UKAmino管柱，移動相以去離子水及乙腈梯度沖提，流速為0.7 mL/min，柱溫60°C；HPAEC-PED測定條件為選用強陰離子交換之Dionex CarboPac PA20管柱，移動相以去離子水及100 mM氫氧化鈉溶液梯度沖提，流速為0.5 mL/min，柱溫30°C。以零卡可樂、餅乾、巧克力和奶粉為測試基質，經前述二種層析系統分析6種糖，均可於35分鐘內完成良好分離。上述零卡可樂等4種基質進行重複性及添加回收試驗，以HPLC-ELSD或HPAEC-PED分析6種糖之結果：測試基質分別添加10、20及40 mg/g之6種糖標準品，經HPLC-ELSD分析，其平均回收率介於83.1-119.9%之間，變異係數為0.6-11.0%；測試基質分別添加2、10及20 mg/g之6種糖標準品，經HPAEC-PED分析，其平均回收率介於74.8-123.7%之間，變異係數為0.4-11.7%。綜上，均符合本署食品化學檢驗方法確效規範。以此二法應用於3件市售產品含糖量之檢測，結果均於其營養標示值誤差允許範圍內(≤ 120%)。

**關鍵詞：**食品、糖、高效液相層析儀揮發性光散射檢出器、高效陰離子交換層析儀脈衝電化學檢出器

## 前言

糖(sugars)為簡單碳水化合物，廣泛存在天然食物中，添加於食品可賦予良好之風味<sup>(1)</sup>，其化學結構均為含氫氧基之醛或酮衍生物，具高度極性、低紫外光(190-195 nm)及無螢光吸收之特性<sup>(2)</sup>。當人體攝入過量糖分，容易導致肥胖，增加罹患慢性疾病之風險。根據

美國食品藥物管理局調查其國人游離糖攝取量占每日總熱量比例(16%)，遠超過2014年世界衛生組織草擬《糖攝取量指南》之建議量(5%)<sup>(3)</sup>，鑑此2014年2月該國提案欲更新營養標示，列入「添加糖量(added sugars)」<sup>(4)</sup>，提供消費者攸關其健康之資訊，以作為挑選食品時之首要考量。

衛生福利部公告於104年7月1日起施行

以高效液相層析儀及高效陰離子交換儀同步分析食品中葡萄糖、果糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖及半乳糖檢驗方法之探討

「包裝食品營養標示應遵行事項」，增訂「糖」為強制標示項目，係指單醣與雙醣之總和<sup>(5)</sup>，當糖量不超過0.5 g/100 g (mL)得以零標示，其所述定義及標準皆與食品法典委員會(codex)、美國聯邦法規、歐盟、紐澳及中國相同<sup>(6)</sup>，但未規定包含何種糖，故食品藥物管理署為方便廠商依循，並解決法規爭議，送驗時可以葡萄糖、果糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖及半乳糖共6品項為主，用於食品之含糖管理，其中以健康食品為例，設定糖量作為參考指標(表一)，則有9件原許可產品不宜核可為健康食品，以及6件需加標注意熱量之詞句<sup>(7)</sup>，顯示糖在健康及標示之重要性，惟目前尚無同步分析6種糖之檢驗方法。綜觀食品中糖檢驗方法之文獻如表二，檢體前處理常以水、乙醇溶液及乙腈溶液作為溶劑，可用其直接萃取<sup>(8-10)</sup>，或再經石油醚(petroleum ether)、Carrez試劑及C18固相萃取匣(cartridge)淨化<sup>(11-12)</sup>，以現行常用HPLCRI分析糖量<sup>(10,13)</sup>，但其移動相僅能等梯度沖提，無法同步分析葡萄糖及半乳糖，而且檢出器所需平衡時間長，易受基質之干擾，故本研究擬建立食品中葡萄糖、果糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖及半乳糖之同步分析方法，首先探討以水、50%乙醇溶液或50%乙腈溶液萃取檢體所得回收率，選擇最適

表一、健康食品含糖之管理規範

| 產品每日建議攝取量<br>所含游離糖(g) <sup>a</sup> | 管理規範                          | 原核可健康<br>食品件數 |
|------------------------------------|-------------------------------|---------------|
| >25                                | 不宜核可為<br>健康食品                 | 9             |
| 25-17                              | 標示提醒消<br>費者<br>注意熱量攝<br>取詞句   | 6             |
| ≤17                                | 無需加標提<br>醒消費者<br>注意熱量攝<br>取詞句 | 3             |

a. 2014年WHO草擬《糖攝取量指南》建議游離糖攝取量占每日總熱量比例應低於5%，假設成人每日攝取2000 kcal，其中糖量不可超過25 g

合之萃取溶劑，以確定檢液調製之步驟，再評估高效液相層析儀搭配揮發性光散射檢出器(High performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection, HPLC-ELSD)及高效陰離子交換層析儀搭配脈衝電化學檢出器(High performance anion-exchange chromatography with pulsed electrochemical detection, HPAEC-PED)分離糖及糖醇之優異，所得儀器之最適分析條件，最後以其進行重複性、添加回收試驗及市售包裝產品含糖量之調查，確認此方法之可行性，期能作為市售包裝產品含糖量分析之方法依據。

## 材料與方法

### 一、檢體來源

103年間於臺北地區大賣場購買市售包裝食品3件。

### 二、試藥

#### (一)試藥溶劑

乙腈採用液相層析級，購自美國J.T.Baker®(Center Valley, PA, USA)；50%氫氧化鈉溶液採用試藥級，購自德國Merck公司(Gernsheim, Germany)；95%乙醇購自臺灣菸酒股份有限公司(Taipei, Taiwan)；去離子水。

#### (二)對照用標準品

葡萄糖(glucose，純度 ≥ 99.5%)、果糖(fructose，純度 ≥ 99%)、蔗糖(sucrose，純度 ≥ 99.5%)、麥芽糖(maltose，純度 ≥ 99%)、乳糖(lactose，純度 ≥ 99%)、半乳糖(galactose，純度 ≥ 99%)及山梨醇(sorbitol，純度 ≥ 98%)採用試藥級，均購自美國Sigma公司(St Louis, MO, USA)。

### 三、器具

容量瓶(20 mL及50 mL)，離心管(50 mL，PP材質)，針筒(1 mL，PP材質，無針)，針筒式濾頭(syringe filter) (孔徑0.22 μm，PVDF材

表二、彙整常見食品中糖檢驗方法

| Equipment | Eluent               | Extraction solution    | Sample preparation                   | Matrices                            | Sugars <sup>a</sup>   | Reference   |
|-----------|----------------------|------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|---|-------------|
| HPLC      |                      |                        |                                      | milk chocolate                      | Glu, Fruct, Sucr, Malt, Lact  | (11)        |
|           |                      | water                  | petroleum ether carrez I, II reagent | milk products                       | Glu, Fruct, Sucr, Lact, Gala, Lactulose   | (17)        |
|           |                      |                        |                                      | foods                               | Glu, Fruct, Sucr, Malt, Lact  | (12)        |
|           |                      | H <sub>2</sub> O/ACN   | water                                | licorice extracts                   | Glu, Fruct, Sucr, Malt  | (9)         |
|           | RI                   |                        | 50% EtOH                             | juice                               | Xyl, Glu, Fruct, Sucr, Malt, Lact   | (10)        |
|           |                      |                        | 50% ACN                              | milk products                       | Xyl, Sucr, Lact   | (18) 、 (19) |
|           |                      |                        |                                      | honey                               | Glu, Fruct, Sucr  | (8)         |
|           |                      | 0.1 mmol/L water       | carrez I, II reagent                 | milk products                       | Glu, Fruct, Sucr, Lact, Gala, Lactulose   | (17)        |
|           |                      | CaEDTA                 | 50% EtOH                             | juice                               | Glu, Fruct, Sucr, Sorbitol  | (13)        |
|           |                      |                        | water                                | fruits                              | Glu, Fruct, Sucr, Sorbitol  | (20) 、 (21) |
| ELSD      |                      | EtOH                   |                                      | vegetables, fruits, cereals, plants | Xyl, Glu, Fruct, Sucr, Lact, Gala, Malt, Raffinose, Xytilol, Mannitol                               | (15) 、 (22) |
|           |                      | 75% ACN                |                                      | foods                               | Glu, Fruct, Sucr, Lact, Malt, Sorbitol, Xytilol, Mannitol, Erythritol                               | (23)        |
|           |                      |                        |                                      |                                     | Glu, Fruct, Sucr, Malt, Lact, Maltotriose   | (24)        |
| CAD       |                      | 75% ACN                |                                      | foods                               | Glu, Fruct, Sucr, Lact, Malt, Sorbitol, Xytilol, Mannitol, Erythritol                               | (23)        |
|           |                      |                        |                                      |                                     | Xyl, Glu, Fruct, Sucr, Lact, Gala, Fruc, Rhamnose, Arabinose, Mannose, Ribose, Mannitol             | (25)        |
| MS        | H <sub>2</sub> O/ACN | water                  | enzymatic hydrolysis                 | juice, seed                         | Glu, Fruct, Sucr, Kestose   | (26)        |
| HPAEC-PED |                      |                        | C18 cartridge                        | coffee                              | Xyl, Glu, Fruct, Sucr, Malt, Lact, Fruc, Rhamnose, Arabinose, Mannose, Ribose, Cellobiose           | (27)        |
|           |                      | H <sub>2</sub> O /NaOH | water                                | raw cane sugar honey                | Glu, Fruct, Lact, Malt, Raffinose, Saccharose, Turanose, Isomaltose, Erllose, Melezitose, Trehalose | (16) 、 (28) |
|           |                      |                        |                                      |                                     |   |             |

a. Xyl: xylose; Glu: glucose; Fru: fructose; Sucr: sucrose; Malt: maltose, Lact: lactose; Gala: galactose

以高效液相層析儀及高效陰離子交換儀同步分析食品中葡萄糖、果糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖及半乳糖檢驗方法之探討

質)。

#### 四、儀器設備

- (一)超音波振盪器(Delta Sonicator DC300H, Stillwater, MN, USA)。
- (二)高速振盪器(EYELA Multi Shaker MMS, Tokyo, Japan)。
- (三)去離子水製造機(Millipore milliQ, Bedford, MA, USA)，所製造去離子水之比電阻於25°C可達18M $\Omega$ ·cm以上。
- (四)離心機(Laboratory Centrifuge MPW 251, Warsaw, Poland)。
- (五)恆溫乾燥箱(Memmert 854, Schwabach, Germany)，附有自動溫度調節，溫差在 $\pm 1^\circ\text{C}$ 以內者。
- (六)高效液相層析儀蒸發光散射檢出器(High performance liquid chromatograph evaporative light scattering detector, HPLC-ELSD) (Dionex UltiMate<sup>®</sup> 3000 HPLC Systems Varian 385 series ELSD, Sunnyvale, CA, USA)。
- (七)高效陰離子交換層析儀脈衝電化學檢出器(High performance anion exchange chromatograph pulsed electrochemical detector, HPAEC-PED) (Dionex ICS 3000 Ion Chromatograph, Sunnyvale, CA, USA)。

#### 五、標準溶液之配製

取葡萄糖、果糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖、半乳糖及山梨醇對照用標準品約3 g，置於烘箱70°C乾燥4小時以上，再取乾燥後各糖類對照用標準品約1.6 g，精確稱定，以50%乙醇溶液溶解並定容至20 mL，作為標準原液。臨用時，分別取適量各標準原液混合後，以去離子水稀釋至各儀器可檢出範圍如表三，供作混合標準溶液。

#### 六、檢液之調製

- (一)液體檢體<sup>(註一)</sup>

取檢體約1 g，精確稱定，置於50 mL離心管中，加入50%乙醇溶液10 mL，以超音波振盪20分鐘，再經高速振盪器振盪10分鐘，以50%乙醇溶液定容至20 mL，於9000 × g離心10分鐘，取上清液，經濾膜過濾，供作檢液。

註一：含二氧化碳之檢體，先置於超音波振盪器去除二氧化碳。

- (二)半固體及固體檢體

將檢體細切後，取約1 g，精確稱定，置於50 mL離心管中，加入50%乙醇溶液10 mL，以超音波振盪20分鐘，若檢體不易溶解，須以高速振盪器振盪直至混勻，再經高速振盪器振盪10分鐘，以50%乙醇溶液定容至20 mL，於9000 × g離心30分鐘，取上清液，經濾膜過濾，供作檢液。

#### 七、儀器分析條件

- (一)高效液相層析儀搭配揮發性光散射檢出器  
選用Unison UK-Amino管柱(3  $\mu\text{m}$ ，內徑3 mm × 25 cm)，以移動相去離子水及乙醇，於流速為0.7 mL/min，柱溫60°C進行梯度沖提(表三)；揮發性光散射檢出器之霧化溫度為50°C，蒸發溫度70°C，氣體流速：1.6 SLM<sup>(註二)</sup>。注入量為2  $\mu\text{L}$ 。

註二：SLM (standard liter per minute)，表示某氣體在1分鐘內流過某截面的量，在標準環境(1 atm, 0°C)下的體積是1公升。

- (二)高效陰離子交換層析儀搭配脈衝電化學檢出器

表三、高效液相層析移動相梯度

| Time (min) | A (%) | B (%) |
|------------|-------|-------|
| 0          | 0     | 100   |
| 10         | 10    | 90    |
| 30         | 20    | 80    |
| 30.1       | 0     | 100   |
| 35         | 0     | 100   |

選用保護管Dionex CarboPac™ PA20 Guard (內徑3 × 30 mm) 連結層析管Dionex CarboPac™ PA20 (內徑3 mm × 15 cm)，以移動相去離子水及100 mM氫氧化鈉溶液，於流速為0.5 mL/min，柱溫30°C進行梯度沖提(表四)；脈衝電化學檢出器之電位波形(表五)，工作電極(working electrode)為金電極(gold electrode)，參考電極(reference electrode)為銀/氯化銀電極(Ag/AgCl electrode)。注入量為10 μL。

## 八、標準曲線之製作

依各儀器可檢出範圍，精確量取混合標準溶液，分別注入各儀器中進行檢測，就葡萄糖、果糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖、半乳糖及山梨醇層析圖譜之波峰面積與對應之濃度作圖，分別製作標準曲線，所得線性回歸方程式。

表四、高效離子層析移動相梯度

| Time (min) | A (%) | B (%) |
|------------|-------|-------|
| 0          | 90    | 10    |
| 12         | 80    | 20    |
| 20         | 0     | 100   |
| 25         | 0     | 100   |
| 26         | 90    | 10    |
| 35         | 90    | 10    |

表五、脈衝電化學檢出器(ED40)之電位波形 (potential waveform)

| Time (sec) | Potential (V) | Integration |
|------------|---------------|-------------|
| 0.0        | 0.1           |             |
| 0.2        | 0.1           | Begin       |
| 0.4        | 0.1           | End         |
| 0.41       | 2.0           |             |
| 0.42       | 2.0           |             |
| 0.43       | 0.6           |             |
| 0.44       | 0.1           |             |
| 0.5        | 0.1           |             |

## 九、鑑別試驗及含量測定

依各儀器精確量取檢液及標準溶液，分別注入儀器中，參照各儀器測定條件進行層析。就檢液與混合標準溶液所得波峰之滯留時間比較鑑別之，並依下列計算式求出求得檢液中各糖類之含量(g/100 g)：

檢體中各糖類之含量(g/100 g) =

$$\frac{C \times V}{M \times 10000}$$

C：由標準曲線求得檢液中各糖類之濃度 (μg/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

## 十、重複性及添加回收試驗

以零卡可樂、餅乾、巧克力及奶粉為測試基質。取測試基質約1 g，精確稱定，分別加入糖類混合標準溶液3種濃度，使基質所含6種糖及山梨醇之濃度為10、20及40 mg/g，並另取測試基質約1 g，精確稱定，分別加入糖類混合標準溶液3種濃度，使基質所含6種糖及山梨醇之濃度為2、10及20 mg/g，均參照檢液之調製流程操作，供作檢液，同時進行空白試驗，以檢液所得波峰之滯留時間及面積，分別與標準溶液比較鑑別並定量之，計算其回收率及變異係數。

## 十一、定量極限之評估

取零卡可樂、餅乾、巧克力或奶粉約1 g，精確稱定，分別加入6種糖及山梨醇混合標準溶液，依檢液之調製流程操作後，分別注入HPLC-ELSD及HPAEC-PED，就所得波峰之訊號強度計算其訊噪比(S/N ratio)，以訊噪比大於10之最低濃度為檢驗方法之定量極限(limit of quantification, LOQ)。

## 十二、市售包裝食品檢驗之分析

以本研究所建立之二種方法檢測4件市售包裝食品含糖量，據以了解此二法之適用性及

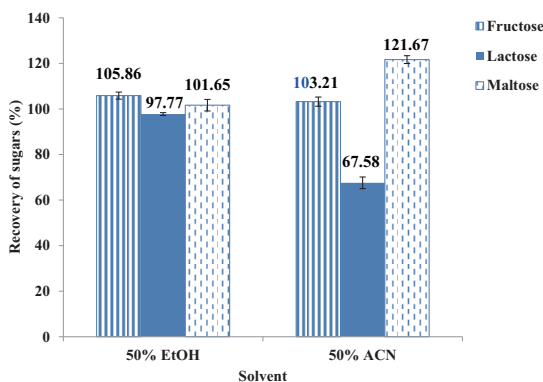
以高效液相層析儀及高效陰離子交換儀同步分析食品中葡萄糖、果糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖及半乳糖檢驗方法之探討

市售包裝食品的標示符合性。

## 結果與討論

### 一、檢體前處理流程萃取溶劑之比較

檢液之調製常用溶劑為水、50%乙醇溶液及50%乙腈溶液，可以其直接萃取<sup>(8-10)</sup>，或再經石油醚、Carrez試劑及C18固相萃取匣淨化<sup>(11-12)</sup>，由於所用儀器如HPLC-ELSD及HPAEC-PED其適合檢出範圍，均為低濃度之含糖檢體，需經溶劑稀釋，藉此亦可減少基質干擾，可不經試劑及C18固相萃取匣淨化，擬簡化檢體前處理流程，探討直接以溶劑萃取，選用零卡可樂、餅乾、巧克力及奶粉為測試基質，其中奶粉原含果糖、乳糖及麥芽糖，以水萃取時，無法沉澱雜質，難以離心及膜過濾，故續以50%乙醇溶液或50%乙腈溶液萃取添加40 mg/g果糖、乳糖及麥芽糖之奶粉，依檢液之調製流程操作，經HPLC-ELSD檢測糖量，結果顯示以50%乙醇溶液比50%乙腈溶液萃取奶粉所得回收率較佳(圖一)，推測糖溶於醇類溶液之溶解度(solubility)高於乙腈所致<sup>(14)</sup>。另於食品中檢測其含糖量，即可以溶劑萃取後，經去離子水適當稀釋，藉此可減少基質影響，再搭配儀器進行分析，無需繁複之試劑及C18固相萃取匣淨化，亦不用添加內標校正回收率，故



圖一、以50%乙醇溶液及50%乙腈溶液分別萃取奶粉中添加40 mg/g果糖、乳糖及麥芽糖之回收率比較

以50%乙醇溶液作為後續實驗之萃取溶劑。

### 二、儀器及其測定條件對於6種糖同步分析之情形

#### (一)HPLC-ELSD

選用正相胺基之Unison UKAmino管柱，針對極性化合物具選擇性，比一般NH<sub>2</sub>系列管柱有較高耐水性，亦可使用100%有機相，其層析效果更佳，欲分離檢體其中葡萄糖及半乳糖時，移動相要用高比例乙腈溶液，經測定條件三之ELSD檢測，可於35分鐘內完成6種糖之同步分析如圖二。

#### (二)HPAEC-PED

選用強陰離子交換之Dionex CarboPac™ PA20管柱，比一般CarboPac系列管柱之內徑及管徑短，可縮短分離單醣及雙醣所需層析時間。移動相以去離子水及100 mM氫氧化鈉溶液進行梯度沖提，流速為0.5 mL/min，柱溫30°C，注入量為10 μL，所用參數如前述HPAEC-PED測定條件所示，工作電極為金，參考電極為銀/氯化銀電極，可於35分鐘內完成6種糖之同步分析如圖三。

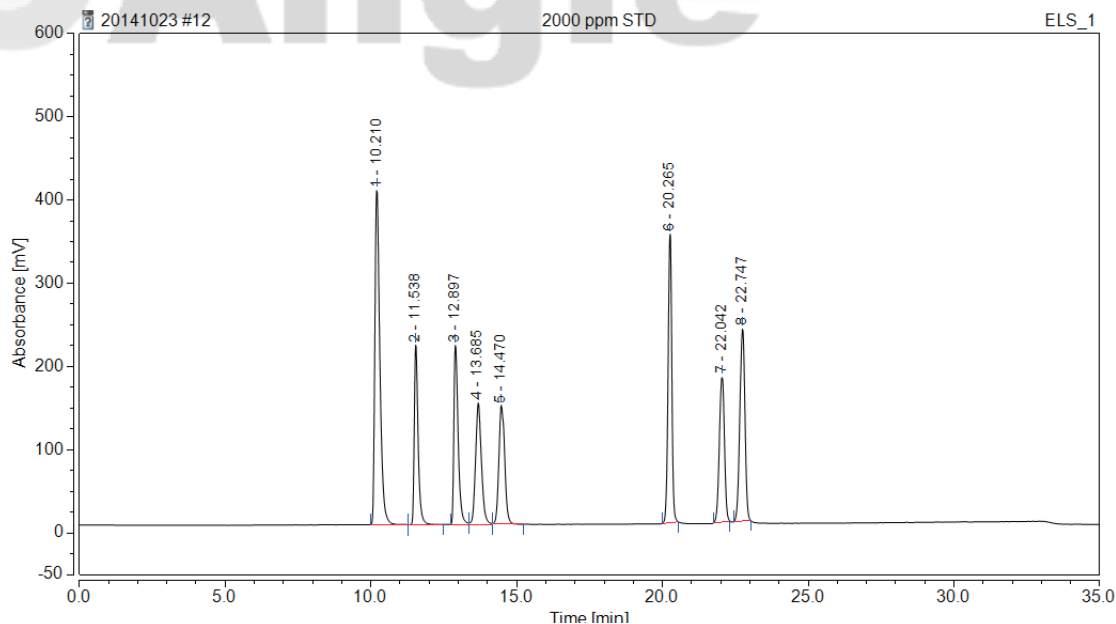
### 三、線性關係、重複性及添加回收試驗

以HPLC-ELSD及HPAEC-PAD分析混合糖類標準溶液可得其線性關係，另以零卡可樂、餅乾、巧克力和奶粉為測試基質，分別加入糖類混合標準溶液，參照檢液之調製流程操作，進行重複性及添加回收試驗，計算其回收率及變異係數。

#### (一)HPLC-ELSD

以HPLC-ELSD分析混合糖類標準溶液，可於35分鐘內完成單醣與雙醣之分離，其線性範圍為125-8000 μg/mL，所得標準曲線之線性回歸方程式其決定係數(coefficient of determination, R<sup>2</sup>)均大於0.995以上如表六，具良好線性關係。

上述零卡可樂等4種基質分別添加10、20



| Peak | Compound  | Retention time (min) |
|------|-----------|----------------------|
| 1    | Xylose    | 10.21                |
| 2    | Fructose  | 11.54                |
| 3    | Sorbitol  | 12.90                |
| 4    | Galactose | 13.69                |
| 5    | Glucose   | 14.47                |
| 6    | Sucrose   | 20.27                |
| 7    | Lactose   | 22.04                |
| 8    | Maltose   | 22.75                |

圖二、糖及糖醇混合標準溶液(2000 µg/mL)之HPLC-ELSD層析圖譜

分析條件：層析管Unison UKAmino (3 µm，內徑3 mm × 25 cm)，柱溫60°C，移動相以去離子水及乙腈進行梯度沖提，流速0.7 mL/min，注入量2 µL

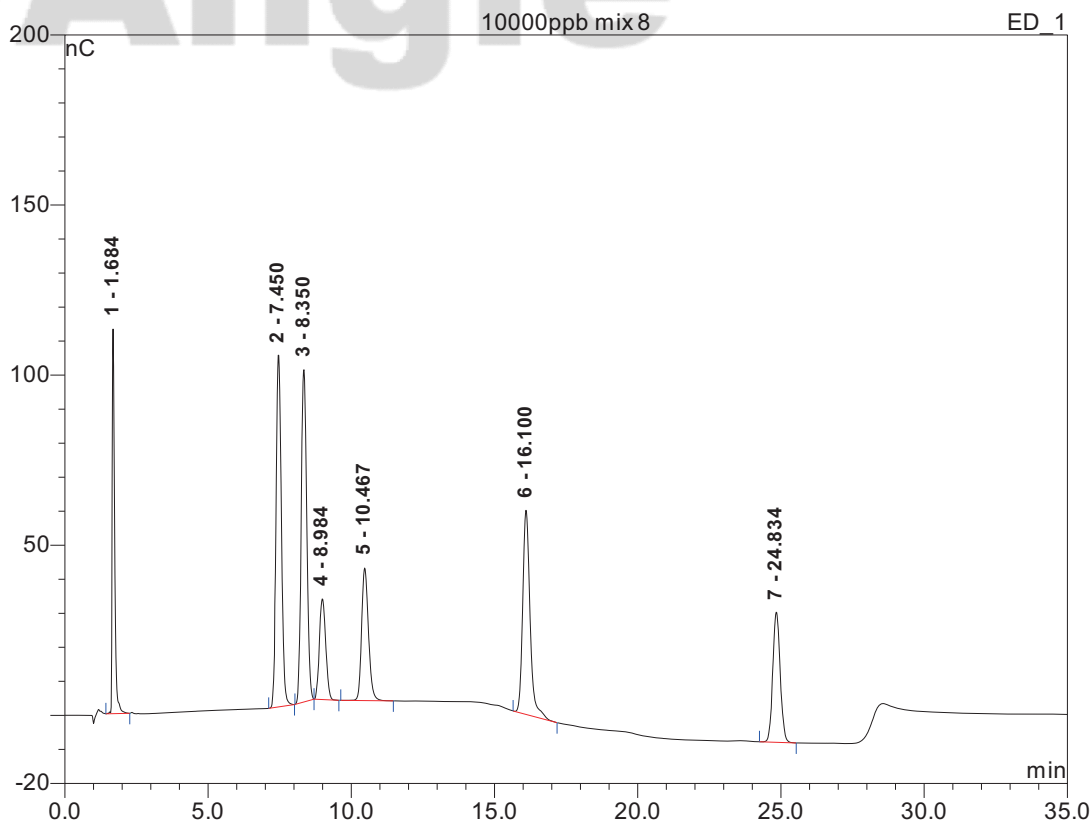
及40 mg/g之6種糖類混合標準品，進行3重複之重複性及添加回收試驗，經HPLC-ELSD分析6種糖之結果如表七：零卡可樂之平均回收率介於84.15-112.42%，變異係數為1.09-11.04%；餅乾之平均回收率介於83.09-119.72%，變異係數為0.84-8.62%；巧克力之平均回收率介於88.13-119.86%，變異係數為2.10-7.55%；奶粉之平均回收率介於97.77-105.88%，變異係數為0.62-

2.53%。

(二)HPAEC-PED

以HPAEC-PED分析混合糖類標準溶液，可於35分鐘內完成單醣與雙醣之分離，其線性範圍為0.25-40 µg/mL，所得標準曲線之線性回歸方程式其決定係數均大於0.995以上如表八，具良好線性關係。

上述零卡可樂等4種基質分別添加2、10及20 mg/g之6種糖類混合標準品，進行3重



| Peak | Compound  | Retention time (min) |
|------|-----------|----------------------|
| 1    | Sorbitol  | 1.68                 |
| 2    | Galactose | 7.45                 |
| 3    | Glucose   | 8.35                 |
| 4    | Sucrose   | 8.98                 |
| 5    | Fructose  | 10.47                |
| 6    | Lactose   | 16.10                |
| 7    | Maltose   | 24.83                |

圖三、糖及糖醇混合標準溶液(10 µg/mL)之HPAEC-PED層析圖譜

分析條件：層析管Dionex CarboPac™ PA20 (內徑3 mm × 15 cm)，柱溫30°C，移動相以去離子水及100 mM氫氧化鈉溶液進行梯度沖提，流速0.5 mL/min，注入量10 µL

複之重複性及添加回收試驗，經HPAEC-PED分析6種糖之結果如表九：零卡可樂之平均回收率介於76.79-117.04%，變異係數為2.73-9.91%；餅乾之平均回收率介於76.04-120.63%，變異係數為0.46-

11.68%；巧克力之平均回收率介於78.71-121.20%，變異係數為0.39-11.05%；奶粉之平均回收率介於74.25-123.72%，變異係數為0.43-10.27%。

綜上，此二種儀器分析方法之確效試驗結

表六、以HPLC-ELSD分析混合糖類標準溶液之線性關係及其決定係數

| Compound  | Retention time (min) | Linear range (µg/mL) | Coefficient of determination (R <sup>2</sup> ) |
|-----------|----------------------|----------------------|--|
| Fructose  | 11.54                |                      | 0.9973   |
| Sorbitol  | 12.90                |                      | 0.9967   |
| Galactose | 13.69                |                      | 0.9974   |
| Glucose   | 14.47                | 125-8000             | 0.9991   |
| Sucrose   | 20.27                |                      | 0.9989   |
| Lactose   | 22.04                |                      | 0.9994   |
| Maltose   | 22.75                |                      | 0.9992   |

表八、以及HPAEC-PED分析混合糖類標準溶液之線性關係及其決定係數

| Compound  | Retention time (min) | Linear range (µg/mL) | Coefficient of determination (R <sup>2</sup> ) |
|-----------|----------------------|----------------------|--|
| Sorbitol  | 1.68                 |                      | 0.9956   |
| Galactose | 7.45                 |                      | 0.9982   |
| Glucose   | 8.35                 |                      | 0.9994   |
| Sucrose   | 8.98                 | 0.25-40              | 0.9991   |
| Fructose  | 10.47                |                      | 0.9990   |
| Lactose   | 16.10                |                      | 0.9998   |
| Maltose   | 24.83                |                      | 0.9985   |

表七、以HPLC-ELSD分析零卡可樂、餅乾、巧克力及奶粉中糖及糖醇之重複性、添加回收試驗及其定量極限

| Matrix | Added level (mg/g) | Intraday accuracy and precision <sup>a</sup> |        |                |                |                |                |                |                |
|--------|--------------------|--|--------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|        |                    | Fructose                                     |        | Sorbitol       |                | Galactose      |                | Glucose        |                |
|        |                    | Rec. (%)                                     | CV (%) | Rec. (%)       | CV (%)         | Rec. (%)       | CV (%)         | Rec. (%)       | CV (%)         |
| 零卡可樂   | 10                 | 112.42                                       | 5.69   | 110.22         | 2.94           | 110.01         | 4.07           | 106.93         | 5.58           |
|        | 20                 | 94.40  | 6.83   | 96.48          | 8.69           | 88.19          | 11.04          | 86.50          | 7.77           |
|        | 40                 | 89.32  | 2.82   | 103.11         | 1.35           | 86.08          | 1.75           | 84.15          | 6.85           |
| 餅乾     | 10                 | 93.41  | 7.98   | 107.57         | 2.33           | 106.79         | 5.94           | 110.53         | 4.83           |
|        | 20                 | 109.82                                       | 5.10   | 119.72         | 3.25           | 117.46         | 0.84           | 116.70         | 3.75           |
|        | 40                 | 83.09  | 1.04   | 87.55          | 6.35           | 85.90          | 4.29           | 83.59          | 5.17           |
| 巧克力    | 40                 | 105.36                                       | 2.10   | 115.85         | 5.83           | 91.29          | 10.52          | 88.13          | 7.05           |
| 奶粉     | 40                 | 105.88                                       | 1.54   | - <sup>b</sup> | - <sup>b</sup> | - <sup>b</sup> | - <sup>b</sup> | - <sup>b</sup> | - <sup>b</sup> |

a. n=3 b. unanalyzed

表七、以HPLC-ELSD分析零卡可樂、餅乾、巧克力及奶粉中糖及糖醇之重複性、添加回收試驗及其定量極限(續)

| Matrix | Added level (mg/g) | Intraday accuracy and precision <sup>a</sup> |                |          |        |          |        | LOQ (mg/g) |
|--------|--------------------|--|----------------|----------|--------|----------|--------|------------|
|        |                    | Sucrose                                      |                | Lactose  |        | Maltose  |        |            |
|        |                    | Rec. (%)                                     | CV (%)         | Rec. (%) | CV (%) | Rec. (%) | CV (%) |            |
| 零卡可樂   | 10                 | 101.09                                       | 1.46           | 101.75   | 1.95   | 106.50   | 3.70   | 5          |
|        | 20                 | 89.46  | 7.98           | 86.52    | 6.19   | 94.09    | 1.09   |            |
|        | 40                 | 85.63  | 9.08           | 86.52    | 5.80   | 91.68    | 3.49   |            |
| 餅乾     | 10                 | 100.37                                       | 5.38           | 118.21   | 8.62   | 119.60   | 5.16   |            |
|        | 20                 | 99.87  | 8.39           | 117.91   | 6.84   | 83.65    | 1.25   |            |
|        | 40                 | 85.16  | 3.06           | 111.17   | 6.78   | 90.03    | 2.01   |            |
| 巧克力    | 40                 | 92.94  | 7.55           | 89.34    | 7.44   | 119.86   | 3.10   |            |
| 奶粉     | 40                 | - <sup>b</sup>                               | - <sup>b</sup> | 97.77    | 0.62   | 101.65   | 2.53   |            |

a. n=3 b. unanalyzed

以高效液相層析儀及高效陰離子交換儀同步分析食品中葡萄糖、果糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖及半乳糖檢驗方法之探討

表九、以HPAEC-PED分析零卡可樂、餅乾、巧克力及奶粉中糖及糖醇之重複性、添加回收試驗及其定量極限

| Matrix | Added level (mg/g) | Intraday accuracy and precision <sup>a</sup> |        |          |        |           |        |          |        |          |        |
|--------|--------------------|--|--------|----------|--------|-----------|--------|----------|--------|----------|--------|
|        |                    | Fructose                                     |        | Sorbitol |        | Galactose |        | Glucose  |        |          |        |
|        |                    | Rec. (%)                                     | CV (%) | Rec. (%) | CV (%) | Rec. (%)  | CV (%) | Rec. (%) | CV (%) | Rec. (%) | CV (%) |
| 零卡可樂   | 2                  | 101.62                                       | 4.76   | 117.04   | 5.29   | 90.32     | 9.91   | 89.17    | 8.49   |          |        |
|        | 10                 | 90.42  | 4.38   | 87.10    | 3.36   | 98.19     | 4.19   | 109.75   | 4.38   |          |        |
|        | 20                 | 95.59  | 3.76   | 76.79    | 2.73   | 97.25     | 3.57   | 108.10   | 8.83   |          |        |
| 餅乾     | 2                  | 104.00                                       | 8.09   | 100.37   | 11.68  | 97.93     | 11.58  | 108.80   | 6.60   |          |        |
|        | 10                 | 119.12                                       | 8.06   | 88.56    | 11.43  | 76.04     | 2.65   | 110.00   | 2.86   |          |        |
|        | 20                 | 119.42                                       | 0.46   | 91.27    | 8.21   | 80.40     | 4.82   | 120.63   | 1.62   |          |        |
| 巧克力    | 2                  | 113.03                                       | 1.61   | 116.0    | 7.46   | 87.39     | 3.45   | 99.65    | 11.05  |          |        |
|        | 10                 | 89.76  | 2.62   | 119.42   | 2.99   | 97.24     | 7.88   | 119.68   | 5.06   |          |        |
|        | 20                 | 89.04  | 4.01   | 119.94   | 2.82   | 81.80     | 3.86   | 114.87   | 3.72   |          |        |
| 奶粉     | 2                  | 93.14  | 3.14   | 93.86    | 2.18   | 116.28    | 3.98   | 77.49    | 2.38   |          |        |
|        | 10                 | 118.60                                       | 1.95   | 113.53   | 3.46   | 101.41    | 3.65   | 123.72   | 0.43   |          |        |
|        | 20                 | 103.02                                       | 7.51   | 79.69    | 3.82   | 74.25     | 0.54   | 97.75    | 9.20   |          |        |

a. n=3

表九、以HPAEC-PED分析零卡可樂、餅乾、巧克力及奶粉中糖及糖醇之重複性、添加回收試驗及其定量極限(續)

| Matrix | Added level (mg/g) | Intraday accuracy and precision <sup>a</sup> |              |          |        |          |        | LOQ (mg/g) |
|--------|--------------------|--|--------------|----------|--------|----------|--------|------------|
|        |                    | Sucrose                                      |              | Lactose  |        | Maltose  |        |            |
|        |                    | Rec. (%)                                     | CV (%)       | Rec. (%) | CV (%) | Rec. (%) | CV (%) |            |
| 零卡可樂   | 2                  | 92.76  | 7.24         | 83.57    | 8.29   | 116.32   | 8.77   |            |
|        | 10                 | 86.44  | 5.98         | 86.35    | 4.10   | 106.00   | 3.69   |            |
|        | 20                 | 88.31  | 4.90         | 106.88   | 3.76   | 100.38   | 3.61   |            |
| 餅乾     | 2                  | 78.68  | 5.69         | 114.31   | 7.52   | 93.54    | 9.28   |            |
|        | 10                 | 106.91                                       | 9.32         | 77.13    | 2.60   | 87.71    | 4.85   |            |
|        | 20                 | 87.82  | 2.62         | 103.86   | 8.17   | 97.67    | 5.86   |            |
| 巧克力    | 2                  | 91.24  | 5.51         | 110.93   | 2.65   | 121.20   | 0.39   | 0.01       |
|        | 10                 | 82.22  | 9.69         | 78.71    | 10.48  | 115.45   | 7.01   |            |
|        | 20                 | <sup>b</sup>                                 | <sup>b</sup> | 107.93   | 9.04   | 108.59   | 4.20   |            |
| 奶粉     | 2                  | 95.50  | 3.42         | 100.26   | 6.64   | 89.71    | 1.35   |            |
|        | 10                 | 112.39                                       | 7.07         | 113.73   | 10.27  | 113.12   | 3.15   |            |
|        | 20                 | 97.96  | 2.49         | 91.00    | 3.98   | 84.60    | 1.14   |            |

a. n=3 b. unanalyzed

表十、市售包裝食品含糖量之檢驗結果及其標示符合性

| 檢體  | 標示值<br>(g/100 g) | 分析方法 (n=3)       |           |                               |                  |           |                               |                     |           |                               |
|-----|------------------|------------------|-----------|-------------------------------|------------------|-----------|-------------------------------|---------------------|-----------|-------------------------------|
|     |                  | HPLC-ELSD        |           |                               | HPAEC-PED        |           |                               | HPLCRI <sup>a</sup> |           |                               |
|     |                  | 檢測值<br>(g/100 g) | CV<br>(%) | 標示<br>符合性<br>(%) <sup>b</sup> | 檢測值<br>(g/100 g) | CV<br>(%) | 標示<br>符合性<br>(%) <sup>b</sup> | 檢測值<br>(g/100 g)    | CV<br>(%) | 標示<br>符合性<br>(%) <sup>b</sup> |
| 可樂  | 10.6             | 10.1             | 1.15      | 95.04                         | 12.5             | 1.57      | 117.53                        | 10.7                | 5.53      | 117.75                        |
| 餅乾  | 9.3              | 9.6              | 2.04      | 103.52                        | 9.1              | 5.03      | 97.31                         | 10.9                | 0.49      | 107.74                        |
| 巧克力 | 50.5             | 51.7             | 7.28      | 102.48                        | 46.5             | 2.69      | 92.07                         | 54.4                | 1.12      | 100.50                        |
| 奶粉  | 未標示              | 25.9             | 0.13      |                               | 32.8             | 3.23      |                               | 30.2                | 7.35      |                               |

a. HPLCRI測定條件參考CNS12634<sup>(10)</sup>及CNS15002<sup>(19)</sup>

b. 依食藥署103年4月15日公告之「包裝食品營養標示應遵行事項」，訂有營養標示值誤差允許範圍>標示值之120%

果，其重複性及回收率佳，均符合本署食品化學檢驗方法確效規範。

#### 四、定量極限之評估

以零卡可樂、餅乾、巧克力及奶粉為樣品，添加6種糖標準溶液之3種濃度，依HPLC-ELSD及HPAEC-PED適合檢出範圍，分別使其檢體濃度為10、20及40 mg/g，或2、10及20 mg/g之添加回收試驗結果如表七、九，顯示6種糖於5 mg/g經HPLC-ELSD分析其波峰之訊噪比(S/N ratio)皆大於10，另以6種糖於0.01 mg/g經HPAEC-PED分析其波峰之訊噪比(S/N ratio)亦皆大於10，故6種糖於零卡可樂、餅乾、巧克力及奶粉經HPLC-ELSD、HPAEC-PED分析之定量極限各為5 mg/g及0.01 mg/g。

#### 五、市售包裝食品中含糖量之分析

以此建立二種方法檢測4件市售包裝食品之含糖量，檢驗結果如表十。市售包裝食品經HPLC-ELSD、HPAEC-PED及HPLCRI<sup>(10,19)</sup>分析糖量之檢測值相近，且與標示值相當，均於營養標示值誤差允許範圍內( $\leq 120\%$ )，顯示二種食品中6種糖之同步分析方法其適用性佳，可評估市售食品之標示符合性，並與現行常用之CNS 12634<sup>(10)</sup>及CNS 15002<sup>(19)</sup>分析所得糖量無異。雖然HPLC-ELSD及HPAEC-PED分析原理相異，HPLC-ELSD係利用檢液進入ELSD，

經霧化形成微小液滴後，再蒸發其溶劑，剩餘非揮發性化合物，於光散射處產生光束，由光電管接收訊號，產生欲分析物之圖譜<sup>(15)</sup>；HPAEC-PED則利用糖類pKa約12，以強鹼移動相搭配陰離子交換管柱，藉由偵測含氧陰離子，所得欲分析物之圖譜<sup>(16)</sup>，但二者之檢測值並無顯著差異，顯示此二法皆可同步分析食品中6種糖。

#### 結 論

本研究所建立以HPLC-ELSD或HPAEC-PED檢測食品中6種糖之同步分析方法，其線性範圍分別為125-8000  $\mu\text{g/mL}$ 及0.25-40  $\mu\text{g/mL}$ ，所得線性回歸方程式之決定係數均大於0.995以上，可於35分鐘內完成單醣與雙醣之分離，具良好線性關係。以零卡可樂、餅乾、巧克力及奶粉為測試基質，進行重複性及添加回收試驗，經HPLC-ELSD分析6種糖之結果：平均回收率介於83.1-119.9%之間，變異係數為0.6-11.0%。另經HPAEC-PED分析6種糖之結果：平均回收率介於74.3-123.7%之間，變異係數為0.4-11.7%，顯示二種方法之重複性及回收率佳，其於上述零卡可樂等4種基質之定量極限分別為5 mg/g及0.01 mg/g。以此二法應用於4件市售產品含糖量之檢測，結果均於其營養標示值誤差允許範圍內( $\leq 120\%$ )，並與現行常用之CNS方法其HPLCRI分析所得糖量無

以高效液相層析儀及高效陰離子交換儀同步分析食品中葡萄糖、果糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖及半乳糖檢驗方法之探討

異。綜上，本研究所開發二種食品中6種糖之同步分析方法，相較於現行以HPLCRI分析6種糖之檢驗方法，可減少層析所需管柱、時間及移動相溶液，故後續可作為後市場監測之參考方法。

### 參考文獻

- Canadian Sugar Institute. 2014. Functional properties of sugar in food. Canada. [http://www.sugar.ca/english/healthprofessionals/functional.cfm].
- De Goeij, S. 2013. Quantitative analysis methods for sugars. Universiteit van Amsterdam, Amsterdam, Netherlands.
- World Health Organization. 2014. WHO opens public consultation on draft sugars guideline. [http://www.who.int/mediacentre/news/notes/2014/consultationsugarguideline/en/].
- U.S. Food and Drug Administration. 2014. Proposed changes to the nutrition facts label. [http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/LabelingNutrition].
- 行政院衛生署。2012。包裝食品營養標示應遵行事項。101.11.06署授食字第1011302938號公告。
- 陳國隆。2012。國際營養成分標示動向。食品市場資訊，101: 12。
- 衛生福利部食品藥物管理署。2014。健康食品法規規範協和化與查驗登記制度標準化之研究。103年度健康食品管理之整合研究，計畫編號：MOHW103FDA31301。
- AOAC Official Method 977.20, 1977. Separation of sugars in honey. AOAC Official Method 977.20.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1992. Sugars in licorice extracts. AOAC Official Method 984.17.
- 經濟部標準檢驗局。2006<sup>a</sup>。水果及蔬菜汁飲料檢驗法-糖類之測定(HPLC法)。中華民國國家標準，CNS 12634 N6223。
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1980. Fructose, glucose, lactose, maltose, and sucrose in milk chocolate. AOAC Official Method 980.13.
- 中華人民共和國國家標準。2008。食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖的測定-高效液相色譜法。食品安全國家標準，GB/T 22221。
- 經濟部標準檢驗局。2006<sup>b</sup>。水果及蔬菜汁飲料檢驗法-糖及糖醇之測定(HPLC法)。中華民國國家標準，CNS 15002 N6382。
- Daniil'chuk, Y. V. and Sidorenko, Y. I. 2013. Solubility of carbohydrates in aqueousorganic media. Dokl. Phys. Chem. 453: 279-281.
- Bhandari, P., Kumar, N., Singh, B. and Kaul, V. K. 2008. Simultaneous determination of sugars and picrosides in *Picrorhiza* species using ultrasonic extraction and highperformance liquid chromatography with evaporative light scattering detection. J. Chromatogr. A 1194: 257-261.
- Ouchemoukh, S., Schweitzer, P., Bey, M. B., DjoudadKadji, H. and Louaileche, H. 2010. HPLC sugar profiles of Algerian honeys. Food Chem. 121: 561-568.
- ChávezServín, J. L., Castellote, A. I. and LópezSabater C. M. 2004. Analysis of mono and disaccharides in milkbased formulae by highperformance liquid chromatography with refractive index detection. J. Chromatogr. A 1043: 211-215.
- 經濟部標準檢驗局。2007<sup>a</sup>。乳品檢驗法-乳糖之測定。中華民國國家標準，CNS 3445 N6061。
- 經濟部標準檢驗局。2007<sup>b</sup>。乳品檢驗法-蔗糖之測定。中華民國國家標準，CNS 3446 N6062。
- 經濟部標準檢驗局。2006<sup>b</sup>。水果及蔬菜汁

飲料檢驗法-糖及糖醇之測定(HPLC法)。中華民國國家標準，CNS 15002 N6382。

21. Ma, C. Sun, Z., Chen, C., Zhang, L. and Zhu, S. 2014. Simultaneous separation and determination of fructose, sorbitol, glucose and sucrose in fruits by HPLC-ELSD. *Food Chem.* 145: 784-788.
22. Guo, S., Duan, J., Qian, D. and *et al.* 2015. Content variations of triterpenic acid, nucleoside, nucleobase, and sugar in jujube (*Ziziphus jujuba*) fruit during ripening. *Food Chem.* 167: 468-474.
23. Shanmugavelan, P., Kim, S. Y., Kim, J. B. and *et al.* 2013. Evaluation of sugar content and composition in commonly consumed Korean vegetables, fruits, cereals, seed plants, and leaves by HPLC-ELSD. *Carbohydr Res.* 380: 112-117.
24. Grembecka, M., Lebiedzińska, A. and Szefer, P. 2014. Simultaneous separation and determination of erythritol, xylitol, sorbitol, mannitol, maltitol, fructose, glucose, sucrose and maltose in food products by high performance liquid chromatography coupled to charged aerosol detector. *Microchem. J.* 117: 77-82.
25. MárquezSillero, L. Cárdenas, S. and Valcárcel, M. 2013. Comparison of two evaporative universal detectors for the determination of sugars in food samples by liquid chromatography. *Microchem. J.* 110: 629-635.
26. Ricochon, G., Paris, C., Girardin, M. and Muniglia, L. 2011. Highly sensitive, quick and simple quantification method for mono and disaccharides in aqueous media using liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry (LCAP-CIMS). *J. Chromatogr. B* 879: 1529-1536.
27. Matías, J., González, J., Royano, L. and Barrena, R. A. 2011. Analysis of sugars by liquid chromatography-mass spectrometry in Jerusalem artichoke tubers for bioethanol production optimization. *Biomass Bioenerg* 35: 2006-2012.
28. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1995. Carbohydrates in soluble (instant) coffee. AOAC Official Method 995.13.
29. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2003. Determination of trace glucose and fructose in raw cane sugar. AOAC Official Method 2000.17.

# Simultaneous Determination of Glucose, Fructose, Sucrose, Maltose, Lactose and Galactose in Foods Using High Performance Liquid Chromatography and High Performance Anion-Exchange Chromatography

AI-NING KU, PAI-WEN WU, WEI-YUN CHEN, YING-RU SHEN,  
TZU-YUN HUANG, CHING-HSUAN TSAI, YU-HUAI CHANG,  
SU-HSIANG TSENG, YA-MIN KAO,  
HSIU-KUAN CHOU AND HWEI-FANG CHENG

Division of Research and Analysis, TFDA

## ABSTRACT

According to the new nutrition labeling launched on July 1<sup>st</sup> of 2015, sugar content shall be labeled on packaged foods. This study aims to develop analytical methods for the determination of sugars including glucose, fructose, sucrose, maltose, lactose and galactose by high performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection (HPLC-ELSD) and the high performance anion-exchange chromatography with pulsed electrochemical detection (HPAEC-PED). Each sample was extracted with 50% ethanol and then centrifuged. The supernatant was diluted with water and filtered before analysis. The HPLC-ELSD method was performed using Unison UK-Amino column. The gradient mobile phase consisted of acetonitrile and water was programed at a flow rate of 0.7 mL/min at 60°C. The HPAEC-PED method was performed using Dionex CarboPac PA20 column. The gradient elution consisted of 100 mM sodium hydroxide solution and water was operated at a flow rate of 0.5 mL/min at 30°C. Samples of coke zero, potato twist, chocolate and milk powder were spiked with different levels of sugars including 10-40 mg/g and 2-20 mg/g for HPLC-ELSD and HPLC-PED approach, respectively. The obtained recoveries were satisfied which gave 83.1-119.9% and 74.8-123.7% for HPLC-ELSD and HPLC-PED method, respectively. These developed methods were applied into a survey of three commercial samples purchased from retail stores. The results showed all samples complied with the nutrition labelling regulation.

Key words: food, sugars, HPLC-ELSD, HPAEC-PED