

评述与进展

低聚果糖定量检测方法的研究进展

柳玉蓉^{1,2} 李秀琴² 陈智^{*1} 周霞^{*2} 张庆合^{*2}

¹(中国计量大学材料与化学学院, 杭州 310018)

²(中国计量科学研究院化学计量与分析科学研究所, 北京 100029)

摘 要 低聚果糖(Fructooligosaccharide, FOS)具有调节肠道菌群、降低血糖等多种生理功能,作为一种功能性低聚糖广泛应用于食品和营养领域,常作为营养强化剂添加到婴幼儿配方食品及婴幼儿谷类辅助食品中。近年来,用于植物和食品中 FOS 分离分析的技术得到了快速发展,然而 FOS 的结构和组成多样性对其准确定量检测提出了挑战。建立 FOS 的准确定量检测方法对于提升 FOS 的质量、功效研究和相关食品质量的监管尤为必要。本文综述了近年来 FOS 定量检测方法的研究进展,对当前 FOS 定量检测方法存在的问题和面临的挑战进行了分析,并展望了其未来的发展方向。

关键词 低聚果糖; 益生元; 膳食纤维; 定量检测; 食品基质; 一测多评; 评述

低聚果糖(Fructooligosaccharide, FOS)是由 2~10 个单糖通过糖苷键形成的直链或支链聚合糖,是一种功能性低聚糖,被归类为益生元和可溶性膳食纤维。根据来源和糖单元之间连接键型, FOS 主要分为三大类型: 菊粉型、Levan 型和混合型。菊粉型 FOS 中果糖基之间为 $\beta(2\rightarrow1)$ 连接键,主要以菊粉为原料生产,菊粉经内切酶或外切酶酶解生成 FOS,使用菊粉内切酶产生的 FOS 包括蔗果型 FOS(GF_n)和果果型 FOS(FF_n)^[1]; 使用菊粉外切酶产生的 FOS 只有 GF_n 型。另外,以蔗糖为底物,在果糖基转移酶作用下生产得到的 FOS 也为 GF_n 型, GF_n 型的末端通过 $\alpha(1\rightarrow2)$ 键连接 D-吡喃葡萄糖单元^[2]。Levan 型 FOS 中果糖基之间为 $\beta(2\rightarrow6)$ 连接键,末端可通过 $\alpha(1\rightarrow2)$ 键连接葡萄糖单元,该类型 FOS 主要是通过蔗糖:果聚糖 6^F-果糖基转移酶(6-SFT)用于蔗糖合成^[3],以 $[\alpha-D-Glcp-(1\rightarrow2)-\beta-D-Fruf-(2\rightarrow6)-\beta-D-Fruf]$ 为例,命名为异蔗果三糖^[4]。由于不同植物中果糖基转移酶的表达活性不同,在自然界中还存在混合型 FOS,混合型 FOS 中同时具有 $\beta(2\rightarrow1)$ 键及 $\beta(2\rightarrow6)$ 键。除上述 3 类 FOS 外,菊粉新型 FOS 和 Levan 新型 FOS 在文献中也有报道,其中,菊粉新型 FOS 在植物中分布较广,其结构中包含两条基于 $\beta(2\rightarrow1)$ 连接键的果糖链,一条通过 $\alpha(1\rightarrow2)$ 键连接葡萄糖单元,另一条通过 $\alpha(2\rightarrow6)$ 键连接葡萄糖单元,以 $[\beta-D-Fruf-(2\rightarrow6)-\alpha-D-Glcp-(1\rightarrow2)-\beta-D-Fruf]$ 为例,命名为新蔗果三糖(neo- GF_2)^[5-6]。目前, FOS 商业市场由菊粉型 FOS 主导,其中 GF_n 型 FOS 居多,包括蔗果三糖(GF_2)、蔗果四糖(GF_3)和蔗果五糖(GF_4)等^[7-8]。不同类型 FOS 的分子结构见图 1^[9]。

FOS 存在于菊芋、菊苣、大蒜、雪莲果、香蕉等天然植物和蔬菜中^[10-12],其中菊芋、菊苣和雪莲果中的 FOS 含量尤为丰富^[13]。FOS 具有多种有益人体健康的生理功能。研究表明,食用 FOS 有助于维持肠道菌群平衡,刺激双歧杆菌和乳酸杆菌的生长,提高免疫力,控制肥胖和骨质疏松症^[14]。然而,也有研究指出过量摄入 FOS 可能加剧肠易激综合症的症状^[15-16]。我国国家标准《GB 14880—2012 食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准》^[17]中规定了菊苣来源的 FOS 在婴幼儿配方食品以及婴幼儿谷类辅助食品中的添加量,其与低聚半乳糖、多聚果糖和棉子糖单独或混合使用的总量不得超过 64.5 g/kg。2013 年 10 月,新西兰食品安全部批准短链 FOS 作为菊粉提取物替代品用于婴儿配方食品、婴儿食品和儿童辅食^[18]。2022 年 12 月 30 日实施的我国国家标准《GB 1903.40—2022 食品安全国家标准 食品营养强化剂

2023-05-29 收稿; 2024-01-18 接受

国家重点研发计划项目(No. 2022YFF0710402)和中央级公益性科研院所基本科研业务费项目(No. AKYZD2306-1)资助。

* E-mail: zchen0@gmail.com; zhouxia@nim.ac.cn; qhzhang204@163.com

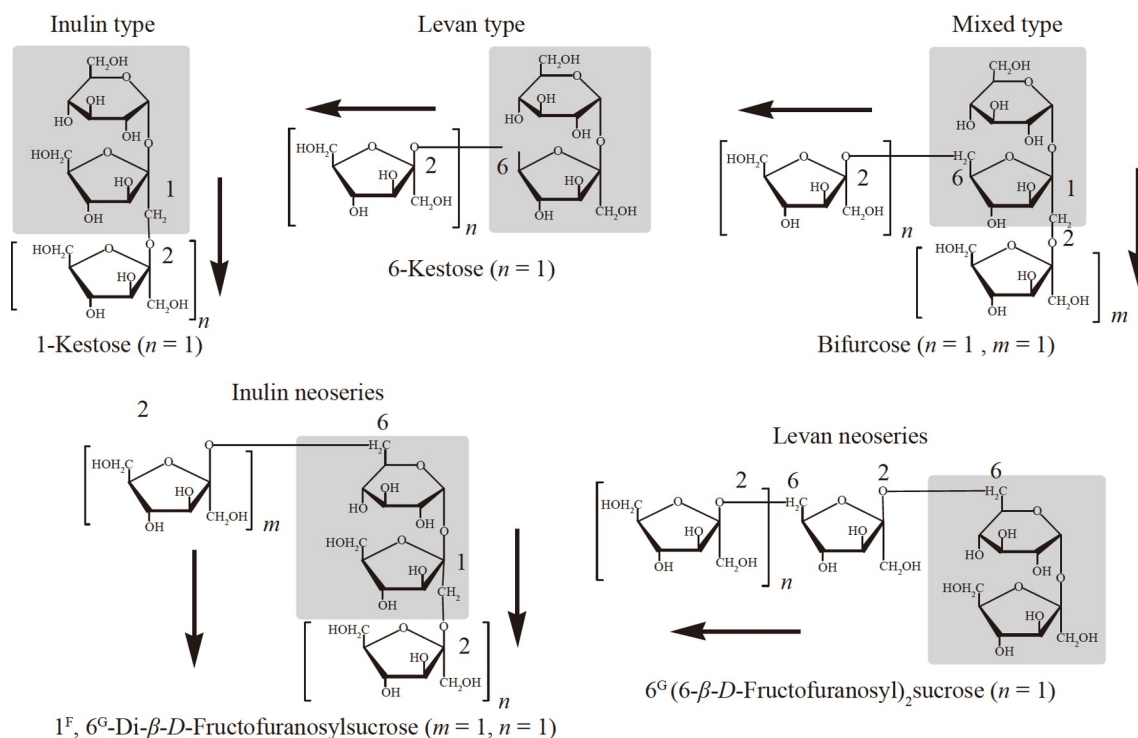


图1 不同类型低聚果糖(FOS)的分子结构图^[9]

Fig.1 Molecular structures of different types of fructooligosaccharide (FOS)

低聚果糖》^[19]对适用于食品营养强化剂的FOS提出了质量要求。因此,建立FOS的高准确度定量检测方法对于FOS的质量提升、功效研究和相关食品质量监管以及保障消费者安全具有重要意义。

目前,FOS的检测方法主要有高效液相色谱法(High performance liquid chromatography, HPLC)、高效液相色谱-质谱联用法(High performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)、高效阴离子交换色谱-脉冲安培检测器法(High performance anion exchange chromatography-pulsed ampere detector, HPAEC-PAD)和核磁共振波谱法(Nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR)等^[20-23]。由于FOS缺乏生色团,无紫外光吸收,多数不产生荧光,无法直接采用紫外或荧光检测器进行检测,因此,采用HPLC法检测FOS时常用的检测器主要为示差折光检测器(Refractive index detector, RID)、蒸发光散射检测器(Evaporative light scattering monitor, ELSD)和电雾式检测器(Charged aerosol detector, HPLC-CAD)。FOS定量检测策略可分为基于酶解法的间接定量分析法和基于FOS单体标准品的直接定量分析法,相较于间接定量分析法,直接定量分析法具有更高的特异性和准确度,是未来发展的主要趋势。我国2021年实施的国家标准《GB/T 23528.2—2021 低聚糖质量要求 第二部分:低聚果糖》^[20]采用FOS单体标准品对FOS进行直接定量检测,然而,由于FOS结构的多样性及其相关单体标准品的匮乏,开发FOS高准确度直接定量分析方法面临挑战。目前,有关FOS定量检测方法的综述缺乏对近年来发展较快的分析技术(如HPLC-CAD和NMR等)的总结评述,并且未对FOS定量检测方法发展方向以及面临的难题进行探讨^[21-25]。本文总结了近十年来FOS定量检测方法的研究进展,讨论了FOS定量检测当前存在的问题和挑战,以为后续FOS的定量检测技术的发展提供参考。

1 FOS的定量检测

1.1 提取方法

目前,FOS定量检测方法研究涉及的基体主要包括奶粉^[26-31]、植物^[32-37]、益生菌粉^[38]以及饲料^[39]等。FOS的提取多采用水、乙腈、乙醇、氯仿或它们的混合物作为提取溶剂,不同基体中FOS提取方法在提取时间、提取次数、提取温度以及提取溶剂的组成等方面有所不同。Li等^[40]将菊芋块茎样品研磨

煮沸过滤,在滤液中加 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 去除蛋白质,再采用乙醇提取 FOS,用于研究菊芋成长过程中 FOS 聚合度(DP)的变化。为提高提取效率,也有研究者采用微波或超声技术辅助提取。张媛媛等^[41]采用脱脂、热水超声提取和亚铁氰化钾-乙酸锌法沉淀蛋白的前处理流程提取奶粉和米粉样品中的 FOS,回收率为 95.20%~100.15%。对于不溶于水的样品基质,则是利用有机溶剂体系提取,如采用乙醇-水(60:40, V/V)混合溶液提取牛蒡粉中的 FOS^[42],经离心、过滤后检测,方法回收率为 99.2%~102.6%。

1.2 定量检测策略

FOS 的定量检测策略可分为间接定量(酶解法)检测和直接定量检测两类。目前,有关 FOS 定量检测的相关标准方法均采用间接定量策略,美国分析化学家协会 1997 年实施的《AOAC 997.08 Fructans in Food Products Ion Exchange Chromatographic Method》^[43]中采用酶解法检测食品中的果聚糖含量,首先采用沸水提取食品中的果聚糖,再向提取液中加入淀粉葡萄糖苷酶水解除去淀粉,然后加入菊粉酶将菊粉水解成葡萄糖和果糖,最后采用 HPAEC-PAD 法测定初始提取液以及第一次水解液(淀粉水解)和第二次水解液(菊粉酶水解)中葡萄糖和果糖的含量,通过计算获得食品中的果聚糖含量。《AOAC 999.03 Measurement of Total Fructan in Foods Enzymatic/Spectrophotometric Method》^[44]也采用酶解法间接测定食品中的果聚糖含量,与前者不同的是,该方法将提取液中的蔗糖和淀粉酶解成还原糖,采用碱性硼氢化物将蔗糖和淀粉水解产生的还原糖还原为糖醇,再加入果聚糖酶将果聚糖水解为还原糖(葡萄糖和果糖),使用对羟基苯甲酸酰肼(PAHBAH)法测定还原糖。我国于 2017 年实施的《GB 5009.255—2016 食品安全国家标准 食品中果聚糖的测定》^[45]基于上述两种方法并进行了改进和简化,样品经热水浸提,其中的蔗糖经蔗糖酶水解成葡萄糖和果糖,经硼氢化钠还原生成相应的糖醇,样品的果聚糖经过果聚糖酶水解成果糖和葡萄糖,采用 HPAEC-PAD 方法测定果糖含量,间接测得果聚糖的含量。间接法定量 FOS 存在一些弊端,如无法准确测定基质中 FOS 单体的含量、难以保证 FOS 酶解或酸解完全以及容易受到其它糖干扰等。

直接定量法采用 FOS 各单体标准品通过外标法对产品中的 FOS 进行定量检测,是食品中 FOS 定量检测的未来发展方向。我国于 2022 年 7 月 1 日实施的《GB/T 23528.2—2021 低聚糖质量要求 第二部分:低聚果糖》^[20]推荐使用 HPLC 法和 HPAEC 法检测样品中 FOS 单体的含量,通过加和得到准确的 FOS 总含量。由于 FOS 组成和结构高度多样化,相应单体标准品的分离纯化难度大、成本高,因此该标准提到在无法获得对应单体标准品时可使用对照品通过计算相对校正因子定量检测其它目标物。王智民等^[46]在 2006 年首次提出这种定量检测方法,也称为“一测多评”,已被用于药物分析领域。该方法的原理是选择一个性质稳定且易制备的成分作为内参物,在相应的线性范围内,研究内参物与其它待测成分在特定检测器上的响应关系,通过计算相对校正因子实现多个成分的同步测定。该方法适用于对照品制备难度大、成本高或对照品不稳定的多成分定量检测,为 FOS 的高效、高准确度定量检测开拓了思路。

1.3 定量检测方法

1.3.1 HPLC-RID法

RID 是连续检测样品流路与参比流路之间液体折光指数差值的检测器,基于试样成分与流动相的折射率的差别实现检测。目前, HPLC-RID 已广泛应用于糖类物质的检测,包括大蒜中的果聚糖^[36]、牛奶中的乳糖和乳果糖^[47](乳果糖又名 4-O- β -D-吡喃半乳糖基-D-果糖,是由半乳糖和果糖组成的二糖,与乳糖互为同分异构体,不能被人体消化吸收,属于功能性糖)、植物和饲料中提取的多种糖单体和果聚糖^[48]等。潘城^[39]采用 HPLC-RID 法对饲料中的 FOS(GF₂、GF₃ 和 GF₄)进行定量检测,采用 Welch XB-NH₂ 色谱柱分离,以乙腈-水(65:35, V/V)为流动相进行等度洗脱,3 种 FOS 的仪器检出限为 30.0~50.0 $\mu\text{g/g}$ 。Lima 等^[49]采用 HPLC-RID 法对葡萄酒和葡萄汁中的 FOS(GF₂ 和 GF₃)进行定量检测,采用带有极性端基封尾的 C₁₈ 色谱柱分离,以超纯水作为流动相,GF₂ 和 GF₃ 的仪器检出限分别为 90.0 和 74.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

由于 RID 的稳定性受环境温度和流动相组成等因素的影响较大,梯度洗脱耐受性差, HPLC-RID 法常采用乙腈-水流动相体系等度洗脱分离 FOS,目前主要应用于 DP 为 3~5 的 FOS 的定量检测。

1.3.2 HPLC-ELSD法

ELSD 主要由雾化器、加热漂移管和散射池组成。液相色谱流出液经过雾化器和加热漂移管后,流

动相挥发,而溶解在流动相中不易挥发的溶质形成颗粒物,这些颗粒物在气体的推动下进入光散射池,经光束散射后被检测器检测,产生电信号。由于产生光散射的仅为溶质颗粒,排除了流动相的干扰,相比于 RID, ELSD 具有更好的梯度洗脱兼容性^[50],可同时分析更宽 DP 范围的 FOS。Cui 等^[51]采用 HPLC-ELSD 法对巴戟天寡糖胶囊中的 9 种菊粉型 FOS(DP 为 3~11)进行定量检测,使用 Waters XBridgeAmide 柱梯度洗脱,在 50 min 内实现了 FOS 化合物的分离。该方法的仪器检出限为 25.3~93.3 $\mu\text{g/mL}$, 定量限为 42.0~144.7 $\mu\text{g/mL}$, 回收率为 96.48%~100.84%。Hao 等^[35]采用 HPLC-ELSD 方法同时测定巴戟天中果糖、葡萄糖、蔗糖和 10 种菊粉型 FOS,使用 Waters Acquity UPLC BEH Amide 色谱柱进行分离,以水(含 0.1%氨水)和乙腈(含 0.1%氨水)作为流动相进行梯度洗脱,在 10 min 内实现了各化合物分离,仪器检出限为 10.8~33.4 $\mu\text{g/mL}$, 定量限为 35.9~124.8 $\mu\text{g/mL}$, 精密度($\text{RSD} < 4.76\%$)和准确度(回收率为 98.59%~103.67%)高。综上,与 HPLC-RID 相比, HPLC-ELSD 具有更高的灵敏度,并可设置梯度洗脱程序,实现 DP 为 3~15 的 FOS 的分离和检测。此外, ELSD 作为一种通用型检测器,理论上其产生的响应只与化合物的质量有关,不同结构的化合物的响应因子较接近。基于此, Zhuang 等^[32]利用 HPLC-ELSD 建立了以 GF_4 为内参物的白术根茎中 FOS(DP 为 3~15)的定量检测方法,检测结果与采用各单体标准品的外标法定量检测结果的相对偏差小于 13.76%。Zhou 等^[52]建立了巴戟天中 FOS 的一测多评方法,以 GF_3 为内参物,采用 HPLC-ELSD 法对 8 种 FOS 单体进行了定量检测,并与外标法定量检测结果进行了比较,相对误差在 -0.58%~ -0.20% 之间。然而,上述研究中采用的 FOS 单体标准品纯度较低,并且纯度量值缺乏溯源性,实验获得的相对校正因子的准确性有待考证。

1.3.3 HPLC-CAD法

CAD 的检测原理是样品溶液经雾化和干燥后与带电气体混合,通过静电检测计检测带电颗粒从而实现目标物的检测^[53]。与 ELSD 类似, CAD 也属于通用型检测器,产生的响应不依赖分析物的光谱或物理化学性质,在糖类物质的检测领域具有独特的应用优势,已用于多种糖类的定量检测,如蘑菇中的游离糖和糖醇^[54]、饮料中的三氯蔗糖^[55]和巴戟天中的 GF_3 、 GF_4 和蔗果六糖(GF_5)^[56]等。Li 等^[34]采用 HPLC-CAD 法对白术和蒲公英等样品中 DP 为 3~13 的 11 种 FOS 进行定量检测,采用 Waters XBridge Amide 柱进行分离,以水和乙腈作为流动相进行梯度洗脱,仪器检出限和定量限分别为 0.4~0.6 $\mu\text{g/mL}$ 和 1.4~2.3 $\mu\text{g/mL}$, 回收率在 94.0%~114.4% 之间。Chen 等^[37]也采用该方法定量检测了菊科、桔梗科和茜草科植物样品中 DP 为 3~13 的 11 种 FOS。与 ELSD 相比, CAD 具有更高的灵敏度和更宽的动态范围,以及更优异的待测物响应一致性^[57]。Liu 等^[58]研究了不同化合物在 CAD 检测器上的响应一致性,对于葡萄糖和果糖等糖类化合物,在进样相同质量目标物的条件下, CAD 响应差异仅为 1%(图 2),因此,

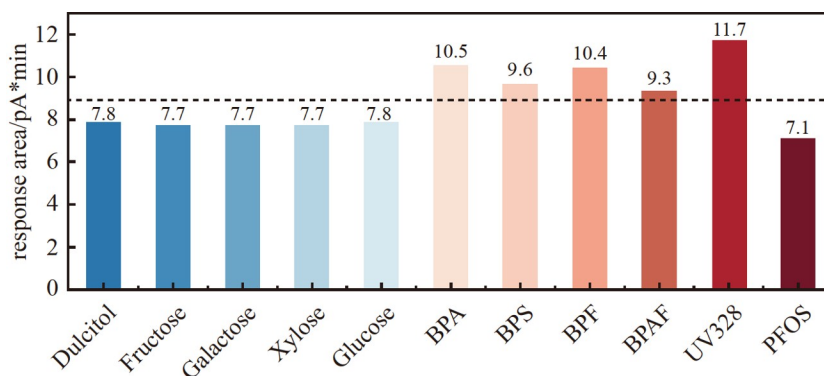


图2 以相同进样质量(2.5 μg)连续直接注射 11 种化合物的电雾式检测器(CAD)响应结果^[58]

BPA: 2,2-二(4-羟基苯基)丙烷; BPS: 4,4'-二羟基二苯砜; BPF: 4,4-二羟基二苯基甲烷; BPAF: 2,2-双-(4-羟基苯基)六氟丙烷; UV328: 2-(2'-羟基-3', 5'-二特戊基苯基)苯并三唑; PFOS: 全氟辛烷磺酰基化合物

Fig.2 The charged aerosol detector (CAD) response results of 11 kinds of compounds directly injected continuously with the same injection mass (2.5 μg)

BPA: 2,2-bis (4-hydroxyphenyl) propane; BPS: bis (4-hydroxyphenyl) sulfone; BPF: 4,4'-dihydroxydiphenylmethane; BPAF: 2,2-bis (4-hydroxyphenyl) hexafluoropropane; UV328: 2-(2H-benzotriazol-2-yl)-4,6-ditertpentylphenol; PFOS: perfluorooctane sulphonate

HPLC-CAD 在 FOS 一测多评方法开发中具有很大的应用前景,虽然目前文献报道中还未见基于 HPLC-CAD 的 FOS 一测多评方法,但在中药领域应用广泛。Wu 等^[59]利用 HPLC-CAD 建立的一测多评方法对芪参益气滴丸进行多组分定量检测,检测结果与外标法定量的检测结果的标准化均数差小于 4.8%。

1.3.4 HPAEC-PAD法

PAD 是一种通过测量在适当的施加电位下电化学活性物质在工作电极表面发生氧化或还原反应时所产生的电流变化而对物质进行分析测定的检测技术,广泛应用于糖类检测领域^[60]。常规的 HPLC 法很难实现 FOS 异构体的分离,特别是菊粉来源的 FF_n 型和 GF_n 型 FOS 的混合物,但 HPAEC-PAD 可进行 FOS 异构体的高效分离分析。魏远安等^[29]采用 Thermo Fisher CarboPac PA20 色谱柱实现了菊粉来源 FOS 中各组分(GF_n 型、 FF_n 型和菊粉新型)的有效分离,并基于 HPAEC-PAD 法对不同食品基质(糖浆、糖粉原料样品、含蛋白质和脂肪等样品)中的 FOS(GF_2 、neo- GF_2 、 GF_3 和 GF_4)进行定量检测,方法检出限在 0.13~0.41 $\mu\text{g/g}$ 之间。Pohnl 等^[33]分别采用 HPAEC-PAD 和 HPLC-ELSD 检测洋葱中的 FOS,结果表明,HPAEC-PAD 法的仪器检出限为 0.038~0.76 $\mu\text{g/mL}$,HPLC-ELSD 法的仪器检出限为 11.24~22.54 $\mu\text{g/mL}$ 。综上,HPAEC-PAD 不仅能实现 FOS 异构体的分离,并且具有更高的灵敏度。此外,HPAEC-PAD 方法采用水溶液体系作为流动相,无需考虑高 DP FOS 的溶解度问题,但采用 HPAEC-PAD 方法时,各化合物之间的响应系数差别较大,因此采用 HPAEC-PAD 对 FOS 进行直接定量检测的前提是具有各 FOS 单体标准品。

1.3.5 LC-MS法

MS 利用化合物电离产生的特征离子对化合物进行定性和定量检测,具有高灵敏度及高选择性^[61]。目前,应用于 FOS 检测的质谱仪主要有三重四极杆质谱仪(Triple quadrupole mass spectrometer, QQQ-MS)^[62]、单四极质谱仪(Single quadrupole mass spectrometer, Q-MS)和飞行时间质谱仪(Time-of-flight mass spectrometer, TOF-MS)^[63]等。甄振鹏等^[64]采用 HPLC-MS/MS 建立了乳粉中 FOS(GF_2 、 GF_3 、 GF_4 和 GF_5)的定量检测方法,乳粉样品经乙醇-水提取后,采用 XBridge Amide 柱在 35 min 内实现了各化合物的分离,使用电喷雾离子源在负离子模式下采用多反应监测(MRM)模式对 FOS 各单体进行定量检测。该方法回收率为 90.8%~95.8%,精密度(RSD)<9%,方法检出限和定量限分别为 0.022~0.054 $\mu\text{g/g}$ 和 0.073~0.18 $\mu\text{g/g}$ 。刘芸等^[30]采用高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱(HPLC-Q/Orbitrap HRMS)建立了奶粉中 FOS(GF_2 、 GF_3 和 GF_4)的定量检测方法,采用 Agilent Carbohydrate 色谱柱在 10 min 内实现了各化合物的分离,使用电喷雾离子源在正离子模式下采用 MRM 模式对 FOS 各单体进行定量检测,方法检出限为 0.055~0.100 $\mu\text{g/g}$ 。LC-MS 法分析 FOS 具有较高的灵敏度,同时 LC-MS 法可利用特征离子对 FOS 进行定性分析。目前,LC-MS 法分析 FOS 的难点在于 FOS 异构体的分离和准确定量检测。研究 FOS 异构体的质谱裂解机理、剖析不同 FOS 单体的特征离子碎片将有助于推进 LC-MS 法在 FOS 异构体分析中的应用。LC-MS 法既可实现糖类异构体的分离,又能对化合物进行定性鉴别,在糖的分离分析方面具有良好的应用前景。

1.3.6 NMR法

NMR 具有无损、快速以及样品无需分离纯化等优点,早期在糖类物质研究领域的应用主要为糖异构形式、环结构和糖苷键连接方式等的结构解析^[65]。近年有研究者采用 NMR 对糖类物质进行定量检测。核磁共振氢谱(^1H NMR)的灵敏度远高于核磁共振碳谱(^{13}C NMR),因此 ^1H NMR 更常用于糖类物质的定量检测,如测定食品中的水苏糖及单双糖等^[66-67]。陈新启等^[68]以蔗糖为内标,氘代水为溶剂,采用 ^1H NMR 测定蔗果七糖(GF_6)、蔗果八糖(GF_7)和蔗果九糖(GF_8)原料的纯度,方法检出限为 22.2~26.4 $\mu\text{g/mL}$ 。 ^1H NMR 方法作为一种绝对定量方法,无需对样品进行分离纯化,仅需选择常见标准品作为内标即可实现对目标物的定量检测,但其灵敏度较低。采用 NMR 对复杂基质中的 FOS 进行定量检测时需对目标物特征峰进行精准确证,对实验人员的 NMR 谱图解析能力要求较高。另外,NMR 仪器价格昂贵,维护成本高,目前主要应用于前沿科学研究。

1.3.7 其它定量检测方法

除上述方法外,研究者还开发了一些简单快速、检测成本低的 FOS 检测方法,如薄层色谱法(TLC)

和红外光谱法(FTIR)等^[69-71]。Marquez 等^[72]开发了一种 TLC 联合图像分析法对食品中的 FOS 进行检测,根据斑点面积和浓度的关系实现半定量检测,方法检出限低于 200 $\mu\text{g/mL}$ 。Cassani 等^[73]开发了一种基于 FTIR 测定 FOS 的方法,与多变量分析相结合,可同时定量分析 DP 为 3 和 5 的 FOS。但是,这两种方法灵敏度低,并且为半定量方法,难以实现 FOS 的高准确度定量检测。

2 结论与展望

FOS 在食品及营养领域有非常广阔的应用前景,我国也发布了相关的产品标准以促进 FOS 相关产品质量提升,但是 FOS 精准定量检测方法发展相对滞后。目前, FOS 的定量分析策略已从酶法间接定量检测逐渐发展到基于高纯单体标准品的高准确度直接定量检测。然而,由于缺乏相关单体标准品,目前 FOS 直接定量分析法的单体覆盖度低,大部分集中在 GF_2 、 GF_3 和 GF_4 的定量检测;另外,现有的单体标准品纯度量值缺乏溯源性,难以保证 FOS 定量检测的准确度。在未来的 FOS 定量检测方法研究中,一方面,需开发高准确度纯度定值方法,研制具有量值溯源性的 FOS 单体标准物质,为 FOS 准确定量溯源提供物质基础;另一方面,开发高准确度一测多评方法可解决因标准品不易获得而产生的定量分析难题。

References

- [1] ROBERFROID M B. J. *Nutr.*, 2007, 137(11): 2493S-2502S.
- [2] SHARMA A D, GILL P K. J. *Food Eng.*, 2007, 79(4): 1172-1178.
- [3] MATROS A, PEUKERT M, LAHNSTEIN J, SEIFFERT U, BURTON R. *Ann. Plant Rev. Online*, 2019, 2: 1-39.
- [4] PRAZNIK W, LOPPERT R, CRUZ RUBIO J M, ZANGGER K, HUBER A. *Carbohydr. Res.*, 2013, 381: 64-73.
- [5] LIVINGSTON D P, HINCHA D K, HEYER A G. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2009, 66(13): 2007-2023.
- [6] LASSEUR B, LOTHIER J, DJOUMAD A, CONINCK B D, SMEEKENS S, LAERE A V, MORVAN-BERTRAND A, ENDE W V D, PRUD'HOMME M P. J. *Exp. Bot.*, 2006, 57(11): 2719-2734.
- [7] WIENBERG F, HOVELS M, DEPPENMEIER U. *AMB Express*, 2022, 12(1): 144.
- [8] NOBRE C, SIMOES L S, GONCALVES D A, BERNI P, TEIXEIRA J A. *Curr. Dev. Biotechnol. Bioeng.*, 2022: 109-138.
- [9] BENKEBLIA N. J. *Chromatogr. A*, 2013, 1313: 54-61.
- [10] FLORES-MALTOS D A, MUSSATTO S I, CONTRERAS-ESQUIVEL J C, RODRIGUEZ-HERRERA R, TEIXEIRA J A, AGUILAR C N. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 2016, 36(2): 259-267.
- [11] CAETANO B F, DE MOURA N A, ALMEIDA A P, DIAS M C, SIVIERI K, BARBISAN L F. *Nutrients*, 2016, 8(7): 436.
- [12] JIANG Mao-Ting, LIU Na, ZHANG Guang-Wen, WANG Chao, HUANG Xue-Song. J. Chin. Inst. Food Sci. Technol., 2022, 22(8): 374-385.
蒋茂婷, 刘娜, 张广文, 王超, 黄雪松. 中国食品学报, 2022, 22(8): 374-385.
- [13] AN Lei, WANG Ke, SUN Yu-Chen, YIN Hang, ZHANG Wei, HUANG Xiao-Long, WANG You-Sheng. J. Chin. Inst. Food Sci. Technol., 2019, 19(10): 34-39.
安磊, 王珂, 孙雨辰, 尹航, 张维, 黄小龙, 王友升. 中国食品学报, 2019, 19(10): 34-39.
- [14] REZENDE E S V, LIMA G C, NAVES M M V. *Nutrition*, 2021, 89: 111217.
- [15] PUSCEDDU M M, MURRAY K, GAREAU M G. *Curr. Pathobiol. Rep.*, 2018, 6(1): 1-13.
- [16] AZPIROZ F, DUBRAY C, BERNALIER-DONADILLE A, CARDOT J M, ACCARINO A, SERRA J, WAGNER A, RESPONDEK F, DAPOIGNY M. *Neurogastroenterol. Motil.*, 2017, 29(2): e12911.
- [17] GB 14880—2012. National Food Safety Standard-Standard for Use of Food Nutritional Fortifier. National Standards of the People's Republic of China.
食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准. 中华人民共和国国家标准. GB 14880—2012.
- [18] WANG Jin-Hai, FENG Shan, ZHU Hong-Yang, LI Yong-Ning, LIN Wei-Ling. *Strait Pharm. J.*, 2015, 27(7): 7-9.
王金海, 冯珊, 朱宏阳, 李泳宁, 林伟铃. 海峡药学, 2015, 27(7): 7-9.
- [19] GB 1903.40—2022. National Food Safety Standard-Food Nutrition Reinforcement-Fructooligosaccharide. National Standards of the People's Republic of China.
食品安全国家标准 食品营养强化剂 低聚果糖. 中华人民共和国国家标准. GB 1903.40—2022.
- [20] GB/T 23528.2—2021. Quality Requirements for Oligosaccharides-Part2: Fructooligosaccharide. National Standards of the People's Republic of China.
低聚糖质量要求 第二部分: 低聚果糖. 中华人民共和国国家标准. GB/T 23528.2—2021.
- [21] CATENZA K F, DONKOR K K. *Food Chem.*, 2021, 355: 129416.

- [22] ZHANG Li-Jun. *Sci. Technol. Food Ind.*, 2015, 36(23): 395-399.
张丽君. *食品工业科技*, 2015, 36(23): 395-399.
- [23] YU Xiao-Jin, QIU Kai, XIONG Zheng-He. *Food Res. Dev.*, 2013, 34(20): 125-129.
于晓瑾, 仇凯, 熊正河. *食品研究与开发*, 2013, 34(20): 125-129.
- [24] LIU Yu-Feng, XU Jia-Jia, CUI Ya-Juan, LI Quan-Xia, ZHAO Zhen, LI Dong, LIN Hui. *J. Food Saf. Food Qual.*, 2019, 10(10): 2843-2848.
刘玉峰, 徐佳佳, 崔亚娟, 李全霞, 赵祯, 李东, 林慧. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(10): 2843-2848.
- [25] LI Li, XUE Wei-Feng, CAO Wen-Jun. *J. Dairy Sci. Technol.*, 2019, 42(6): 46-50.
李莉, 薛伟锋, 曹文军. *乳液科学与技术*, 2019, 42(6): 46-50.
- [26] LI W, JIANG D F, CHEN J D, SUN Q H, LI F H, JIAO Y N, QU F. *Anal. Lett.*, 2014, 47(6): 934-943.
- [27] ZHANG Shu-Fen, BI Xiao-Li, YING Lu, ZHOU Zi-Yan, XING Jia-Li, MAN Zheng-Yin, SHEN Jian. *China Dairy Ind.*, 2018, 46(3): 45-48.
张书芬, 毕晓丽, 应璐, 周子焱, 邢家溧, 满正印, 沈坚. *中国乳品工业*, 2018, 46(3): 45-48.
- [28] ZHANG Li, ZHANG Jian-Hui, ZHANG Ji-Hong, CHANG Xiao-Tu, KANG Shao-Ying, ZHOU Xing-Wang. *J. Food Saf. Food Qual.*, 2017, 8(12): 4729-4735.
张丽, 张建辉, 张继红, 常晓途, 康绍英, 周兴旺. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(12): 4729-4735.
- [29] WEI Yuan-An, ZHENG Hui-Ling, WU Shao-Hui, WANG Guang-Yong, LIU Xue-Shu. *Food Sci.*, 2015, 36(14): 151-155.
魏远安, 郑惠玲, 吴少辉, 王光勇, 刘学术. *食品科学*, 2015, 36(14): 151-155.
- [30] LIU Yun, DING Tao, XU Su-Li, WU Bin, SHEN Chong-Yu, ZHANG Rui, WANG Yan, FEI Xiao-Qing. *Chin. J. Chromatogr.*, 2015, 33(10): 1040-1045.
刘芸, 丁涛, 徐素丽, 吴斌, 沈崇钰, 张睿, 王艳, 费晓庆. *色谱*, 2015, 33(10): 1040-1045.
- [31] GUO Fen. *Sci. Technol. Ind. Parks*, 2018, (1): 42.
郭玢. *中国高新区*, 2018, (1): 42.
- [32] ZHUANG D, QIN J, WANG H Y, ZHANG Y, LIU C Y, DING Q Q, LV G P. *BMC Chem.*, 2019, 13(1): 92.
- [33] POHNLT T, BOTTCHE C, SCHULZ H, STURTZ M, WIDDER S, CARLE R, SCHWEIGGERT R M. *J. Food Compos. Anal.*, 2017, 63: 148-156.
- [34] LI J, HU D, ZONG W, LV G, ZHAO J, LI S. *J. Agric. Food Chem.*, 2014, 62(31): 7707-7713.
- [35] HAO Q, NAN T G, ZHOU L, KANG L P, GUO L P, YU Y. *J. Sep. Sci.*, 2019, 42(13): 2222-2230.
- [36] TIAN Jie, WANG Qi-Zhang, ZHONG Qi-Wen. *J. Nucl. Agric. Sci.*, 2022, 36(6): 1204-1215.
田洁, 王启璋, 钟启文. *核农学报*, 2022, 36(6): 1204-1215.
- [37] CHEN L X, HU D J, XU W F, LI S P, ZHAO J. *World J. Tradit. Chin. Med.*, 2021, 7(1): 78-85.
- [38] WANG De-Wei, YOU Jing-Shui, YE Li-Hong, YE Shao-Wen. *J. Food Saf. Food Qual.*, 2015, 6(8): 3093-3097.
王德伟, 游景水, 叶礼红, 叶少文. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(8): 3093-3097.
- [39] PAN Cheng. *China Feed*, 2015, (3): 26-27.
潘城. *中国饲料*, 2015, (3): 26-27.
- [40] LI W C, ZHANG J, YU C W, LI Q, DONG F, WANG G, GU G D, GUO Z Y. *Carbohydr. Polym.*, 2015, 121: 315-319.
- [41] ZHANG Yuan-Yuan, ZHANG Bin, YU Long-Quan, ZHANG Wen-Na, HAN Ai-Yun, WANG Hui-Ying. *Food Res. Dev.*, 2015, 36(23): 131-134.
张媛媛, 张彬, 俞龙泉, 张文娜, 韩爱云, 王惠英. *食品研究与开发*, 2015, 36(23): 131-134.
- [42] LI J, LIU X M, BIN Z, ZHAO J, LI S P. *J. Agric. Food Chem.*, 2013, 61(24): 5888-5892.
- [43] AOAC Official Method 997.08. Fructans in Food Products Ion Exchange Chromatographic Method. Association of Official Analytical Chemists.
- [44] AOAC Official Method 999.03. Measurement of Total Fructan in Foods Enzymatic/Spectrophotometric Method. Association of Official Analytical Chemists.
- [45] GB 5009.255—2016. National Food safety Standard. Determination of Fructan in Foods. National Standards of the People's Republic of China.
食品安全国家标准 食品中果聚糖的测定. 中华人民共和国国家标准. GB 5009.255—2016.
- [46] WANG Zhi-Min, GAO Hui-Min, FU Xue-Tao, WANG Wei-Hao. *China J. Chin. Mater. Med.*, 2006, 31(12): 1925-1928.
王智民, 高慧敏, 付雪涛, 王维皓. *中国中药杂志*, 2006, 31(12): 1925-1928.
- [47] GONZAGA N, WATANABE L S, MAREZE J, MADEIRA T B, TAMANINI R, RIOS E A, NIXDORF S L, BELOTI V. *Food Sci. Technol.*, 2019, 113: 108288.
- [48] WEIB K, ALT M. *Fermentation*, 2017, 3(3): 36.
- [49] LIMA M D, NUNES P C, SILVA B D D, PADILHA C V D, BONFIM T H F, STAMFORD T L M, VASCONCELOS M A D, AQUINO J D. *J. Food. Sci. Technol.*, 2019, 56(10): 4575-4584.

- [50] LUCENA R, CARDENAS S, VALCARCEL M. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, 388(8): 1663-1672.
- [51] CUI X Y, WAN P, MO Y D, DING X Y, CHEN S Z, GUO H Z, HU Q, LI Z J. *J. Chin. Pharm. Sci.*, 2022, 31(1): 23-30.
- [52] ZHOU L H, NI H, ZHANG L L, WU W Y, ZHANG T Q, SU Q, ZHOU J, LONG H L, HOU J J, GONG J Y, WU W Y. *J. Anal. Methods Chem.*, 2022, 2022: 8022473.
- [53] VEHOVEC T, OBREZA A. J. *Chromatogr. A*, 2010, 1217(10): 1549-1556.
- [54] ŚLAWINSKA A, JABLONSKA-RYS E, STACHNIUK A. *Food Anal. Methods*, 2020, 14(2): 209-216.
- [55] HUANG Chao-Qun, LIU LU-Ye, LV Chun-Hua, LOU Cheng-Jie, JIN Yan. *Chin. J. Anal. Chem.*, 2014, 42(12): 1869-1870.
黄超群, 刘绿叶, 吕春华, 楼成杰, 金燕. *分析化学*, 2014, 42(12): 1869-1870.
- [56] CHI L D, CHEN L X, ZHANG J W, ZHAO J, LI S P, ZHENG Y J. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2018, 156: 125-132.
- [57] VERVOORT N, DAEMEN D, TOROK G. *J. Chromatogr. A*, 2008, 1189(1-2): 92-100.
- [58] LIU S, LU B L, PENG Z J, LIU C Y, LIU Y H, JIAO H, WU D, LI P H, ZHAO X C, SONG S J. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2023, 415(17): 3375-3384.
- [59] WU L L, ZHANG S N, ZHOU L H, XIONG H S, GONG X C, ZHANG S J, PAN J Y, QU H B. *Phytochem. Anal.*, 2021, 32(6): 942-956.
- [60] MOU Shi-Fen, YU Hong, CAI Ya-Qi. *Chin. J. Chromatogr.*, 2009, 27(5): 667-674.
牟世芬, 于泓, 蔡亚岐. *色谱*, 2009, 27(5): 667-674.
- [61] QI Dong-Qin, SONG Jiao, HE Ting-Ting. *Mod. Food*, 2022, 28(23): 84-86.
齐冬琴, 宋姣, 何婷婷. *现代食品*, 2022, 28(23): 84-86.
- [62] BEDRNICEK J, LAKNEROVA I, LORENC F, MORAES P P, JAROSOVA M, SAMKOVA E, TRISKA J, VRCHOTOVA N, KADLEC J, SMETANA P. *Foods*, 2021, 10(11): 2703.
- [63] HAO Qing-Xiu, KANG Li-Ping, ZHU Shou-Dong, YU Yi, HU Ming-Hua, MA Fang-Li, ZHOU Jie, GUO Lan-Ping. *China J. Chin. Mater. Med.*, 2018, 43(6): 1201-1208.
郝庆秀, 康利平, 朱寿东, 余意, 胡明华, 马方励, 周洁, 郭兰萍. *中国中药杂志*, 2018, 43(6): 1201-1208.
- [64] ZHEN Zhen-Peng, GAO Yu-Feng, PANG Yang-Hai, HUANG Min-Xing, WANG Xiao-Peng, YU Gou-Bin, GUO Jian-Xiong. *Sugarcane Canesugar*, 2017, (4): 59-63.
甄振鹏, 高裕锋, 庞扬海, 黄敏兴, 王小鹏, 余构彬, 郭剑雄. *甘蔗工业*, 2017, (4): 59-63.
- [65] JARRELL H C, CONWAY T F, PATRICK MOYNA, SMITH I C P. *Carbohydr. Res.*, 1979, 76(1): 45-57.
- [66] JI Xin, FAN Shuang-Xi, YANG Tong-Hui, LIU Yi-Nuo, ZHONG Qi-Ding. *Food Ferment. Ind.*, 2019, 45(19): 251-257.
吉鑫, 樊双喜, 杨彤晖, 刘一诺, 钟其顶. *食品与发酵工业*, 2019, 45(19): 251-257.
- [67] YANG Jing, HE Jing, ZHANG Yan-Yang, ZHANG Gai-Hong, BAI Bing, YANG Jing. *Food Sci. Technol.*, 2023, 48(6): 281-285.
杨静, 何静, 张衍杨, 张改红, 白冰, 杨靖. *食品科技*, 2023, 48(6): 281-285.
- [68] CHEN Xin-Qi, WU Shao-Hui, YUE Sheng-Feng, ZHANG Mei, HUO Jin-Hong, WANG Wei. *Phys. Test. Chem. Anal.*, Part B, 2023, 59(6): 637-642.
陈新启, 吴少辉, 乐胜锋, 张梅, 霍金洪, 王尉. *理化检验-化学分册*, 2023, 59(6): 637-642.
- [69] CHEONG K L, LI J, ZHAO J, LI S P. *J. Planar. Chromatogr.*, 2014, 27(4): 245-250.
- [70] TROLLOPE K M, VOLSCHENK H, GORGENS J F, BRO R, NIEUWOUDT H H. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2015, 407(6): 1661-1671.
- [71] UDOMKUN P, RUNGPICHAYAPICHET P, PHUANGCHEEN N, INNAWONG B. *J. Food Meas. Charact.*, 2021, 15(4): 3670.
- [72] MARQUEZ D B M, CERVANTES M A M, MARTINEZ A, AGUILAR CRISTOBAL, ZARATE PEDRO AGUILAR, PAZ J E W. *Turk J. Chem.*, 2022, 46(4): 1297-1305.
- [73] CASSANI L, SANTOS M, GERBINO E, MOREIRA M D, GOMEZ-ZAVAGLIA A. *J. Food Sci.*, 2018, 83(3): 631-638.

Recent Advances in Quantitative Analysis of Fructooligosaccharide

LIU Yu-Rong^{1,2}, LI Xiu-Qin², CHEN Zhi^{*1}, ZHOU Xia^{*2}, ZHANG Qing-He^{*2}

¹(College of Materials and Chemistry, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China)

²(Division of Chemical Metrology and Analytical Sciences, National Institute of Metrology, Beijing 100029, China)

Abstract Fructooligosaccharide (FOS) has a variety of physiological functions, such as regulating intestinal flora and lowering blood glucose level. As a kind of functional oligosaccharide, FOS is widely used in fields of food and nutrition, which is often added to infant formula food and cereal-based complementary food for infants and young children. In recent years, the techniques for the separation and analysis of FOS in plants and food have been developed, however, the diversity of FOS structure and composition poses challenges for its accurate quantitative analysis. The establishment of accurate quantitative methods for FOS is particularly necessary for its quality enhancement, efficacy research and quality regulation of related food. In this review, the research advances and current issues in quantitative analysis of FOS were summarized, and the challenges and future perspectives were also discussed.

Keywords Fructooligosaccharide; Prebiotics; Dietary fiber; Quantitative analysis; Food matrix; Quantitative analysis of multi-components by single marker; Review

(Received 2023-05-29; accepted 2024-01-18)

Supported by the National Key Research and Development Program of China (No. 2022YFF0710402) and the Fundamental Research Funds for the Central Public-Interest Scientific Institution (No. AKYZD2306-1).