



食品中降解糖的高灵敏、高选择性检测方法

No.LC-008

摘要： 本文使用岛津公司开发的以精氨酸为衍生剂的降解糖柱后衍生荧光检测系统，并选择配位体交换色谱法为分离手段，测试了6种降解糖的线性关系、最小检测限、重现性，同时测定了酱菜汁中的各种糖组分的含量。

关键词： HPLC 柱后衍生 食品中的降解糖

糖类作为生物的能量，具有重要的作用。因此它的检测，也受到大家的重视。目前采用最广泛的分析手段是高效液相色谱法。由于分离的目的不同，所以在液相色谱上开发出多种分离方法，例如空间排斥色谱法、分配色谱法、配位体交换色谱法和阴离子交换色谱法。而在检测手段上多用示差折光检测器。但因为这种检测器选择性差、灵敏度低，不适用于低浓度、复杂基底的样品分析，所以又开发出了多种糖类的柱后衍生系统。岛津公司为方便用户，也开发出以精氨酸为柱后衍生剂的降解糖分析系统。该柱后衍生法可与多种分离方法结合，共同完成降解糖的分离与检测。本篇文章以配位体交换色谱法为例，介绍了岛津的降解糖柱后衍生荧光检测系统。

HPLC流程图

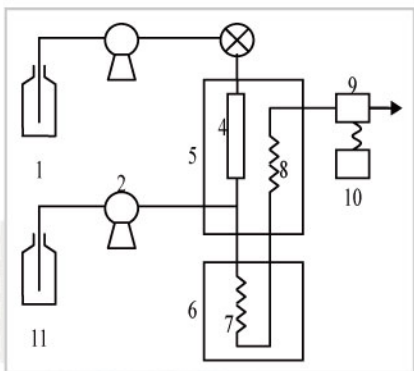


图1 降解糖分析系统

- 1: 流动相 2: 输液泵 3: 进样器
4: 分析柱 5: 柱温箱 6: 反应箱
7: 反应管 8: 冷却管 9: 荧光检测器
10: 数据处理装置

柱后衍生荧光检测法的分离检测条件

分析柱: Shim-pack SCR-101C
(7.9mm I.D × 300mm)

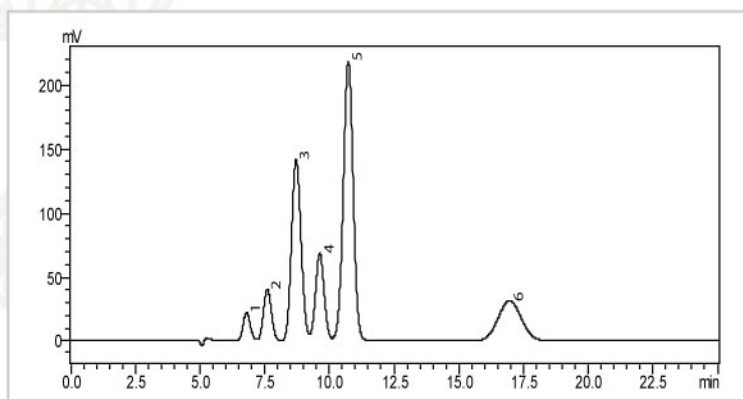
流动相: 蒸馏水
流速: 0.8mL/min,
温度: 80°C

检测条件

激发波长: 320nm 发射波长: 430nm
衍生液: 1%L-精氨酸, 3%硼酸
衍生液流速: 0.5mL/min
衍生温度: 150°C

分析结果

分别配制12.5ppm, 25ppm, 50ppm, 100ppm的标准品, 依次10 μL进样, 得到6种降解糖组分的工作曲线, 并根据3σ 计算出最低检测限(表2)。所有组分的相关系数都达到3个9以上, 最低检测限在16.66-135.33pmol之间。用25ppm的标准品连续进样6次, 每次进样10 μL, 得到该方法的重现性(见表3)。其中, 保留时间的重现性(%RSD)最小值为0.006, 最大值为0.052, 峰面积的重现性(%RSD)最小值为0.933, 最大值为4.771。标准品色谱图见图2。

图2 6种降解糖标准品 (100ppm, 10 μ L) 的色谱图

峰成分: 1、麦芽三糖; 2、蔗糖; 3、葡萄糖; 4、半乳糖; 5、果糖; 6、核糖

表2 6种降解糖工作曲线

组分名称	相关系数	最低检测限 LOD (pmol)
麦芽三糖	0.99985	57.14
蔗糖	0.99998	45.28
葡萄糖	0.99994	25.00
半乳糖	0.99997	51.67
果糖	0.99994	16.66
核糖	0.99987	135.33

表3 6种降解糖的保留时间和峰面积的重现性
(R=6次)

RSD%	保留时间 (min)	峰面积
麦芽三糖	0.026	4.771
蔗糖	0.020	0.933
葡萄糖	0.011	1.112
半乳糖	0.006	1.675
果糖	0.009	1.425
核糖	0.052	2.098

采用上述实验条件及前处理方法, 对酱菜汁中的降解糖进行了测定, 结果见表4和图3。保留时间5.912的峰在麦芽三糖前出, 为酱菜汁中的多糖。本次实验依据保留时间定性, 依据外标曲线和峰面积定量。

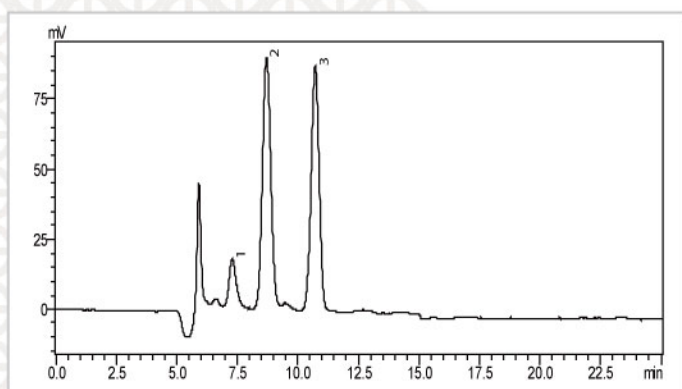


图3 稀释500倍的酱菜汁的色谱图

峰成分: 1、蔗糖 2、葡萄糖 3、果糖

表4 稀释500倍的酱菜汁的色谱

组分名称	蔗糖	葡萄糖	果糖
浓度值 (ppm)	121	85	46