

基于悟空高效液相色谱仪（HPLC）测定农作物中的 果糖、葡萄糖、蔗糖

杜羽晨¹, 仪莹²

(1.东北农业大学 农学院;2.中国农业科学院 作物科学研究所 重大平台中心,北京 100089)

摘要: 用高效液相色谱法(HPLC)检测农作物中的蔗糖、果糖、葡萄糖, 色谱柱为 Shodex NH2P-50 氨基柱, 检测柱温为 35℃, 流动相为甲醇: 水=3: 1, 检测流速为 1ml/min, 其检出限均为 5ug/L, 定量限均别为, 相对标准差分别为 2.5%-3.5%, 满足农作物中蔗糖、果糖、葡萄糖的检测要求。

关键词: 超高效液相色谱; 果糖; 葡萄糖; 蔗糖; 农作物

Determination of Fructose, Glucose and Sucrose in Crops by High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Du Yuchen Yi Ying

(1. College of Agriculture, Northeast Agricultural University; 2. Major Platform Center of Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100089;)

Abstract: High performance liquid chromatography (HPLC) is used to detect sucrose, fructose and glucose in crops. The chromatographic column is Shodex NH2P-50 amino column, the detection column temperature is 35 °C, the mobile phase is methanol: water=3:1, the detection flow rate is 1ml/min, the detection limit is 5ug/L, the quantitative limit is, and the relative standard deviation is 2.5% - 3.5%, meeting the detection requirements of sucrose, fructose and glucose in crops.

Keywords: Ultra high performance liquid chromatography; Fructose; glucose; Sucrose; crops

1 引言

糖在植物体内具有重要的作用,是结构物质、能量贮存物质、呼吸底物和许多生化过程的中间代谢物,长期以来作为信号分子调控植物的生长发育、生理代谢及植物对生物和非生物胁迫的响应等方面^[1,2]。同时糖代谢是整个生物代谢的中心,与蛋白质代谢、脂类代谢、

哈酸代谢及次生物质代谢密切相关^[3]。本实验以小麦不同时期叶片和茎段为实验材料，测量果糖、葡萄糖、蔗糖的含量。

2 材料与方法

仪器与试剂：悟空高效液相色谱仪，电子天平(BSA224S 型,赛多利斯科学仪器有限公司产品),KQ-250E 型超声波清洗器 (昆山禾创超声仪器有限公司产品),PICO17 型离心机(美国赛默飞公司产品)。

乙腈(色谱纯,美国赛默飞公司产品),蔗糖、果糖、葡萄糖标样购 sigma-aldrich 贸易有限公司，质谱用水为屈臣氏蒸馏水。

分析条件：色谱柱：Shodex NH2P-50 氨基柱，柱温 40 °C，进样体积 5 μ l，流动相、洗脱梯度和流速根据色谱柱特性确定^[4]。

样品制备：准确称取 100mg 样品于离心管中，加入 1ml50%乙醇溶液用超声波清洗机 40°C超声破壁 30min，离心，取上清液过膜待测^[5]。



图1 悟空高效液相色谱仪

3 结果与分析

3.1 线性范围与检出限

Shodex NH2P-50 氨基柱检测时, 果糖浓度为 $100\mu\text{g/mL}$, $200\mu\text{g/mL}$, $500\mu\text{g/mL}$, $1500\mu\text{g/mL}$, $2000\mu\text{g/mL}$; 葡萄糖、蔗糖与果糖浓度相同。按照优化后的色谱条件对每个点重复测定 3 次, 以标准品质量浓度为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 以标准曲线的第一个和最后一个点的质量浓度作为线性范围。

不同梯度的蔗糖、果糖、葡萄糖通过 NH2 氨基柱时在线性范围内呈现良好的线性关系; 系数均在 0.99 以上, 均符合实际分析的要求^[6]。

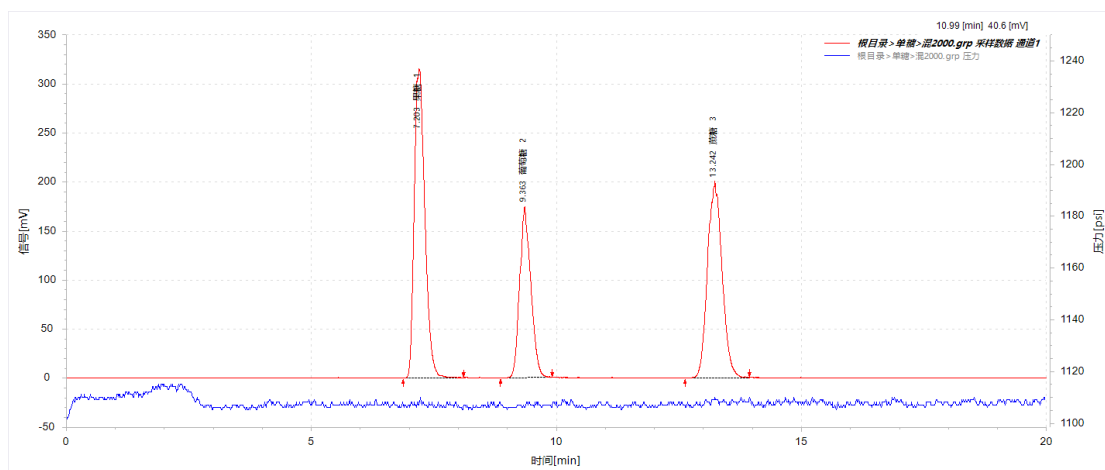


图2 混标 2000ppm 色谱图

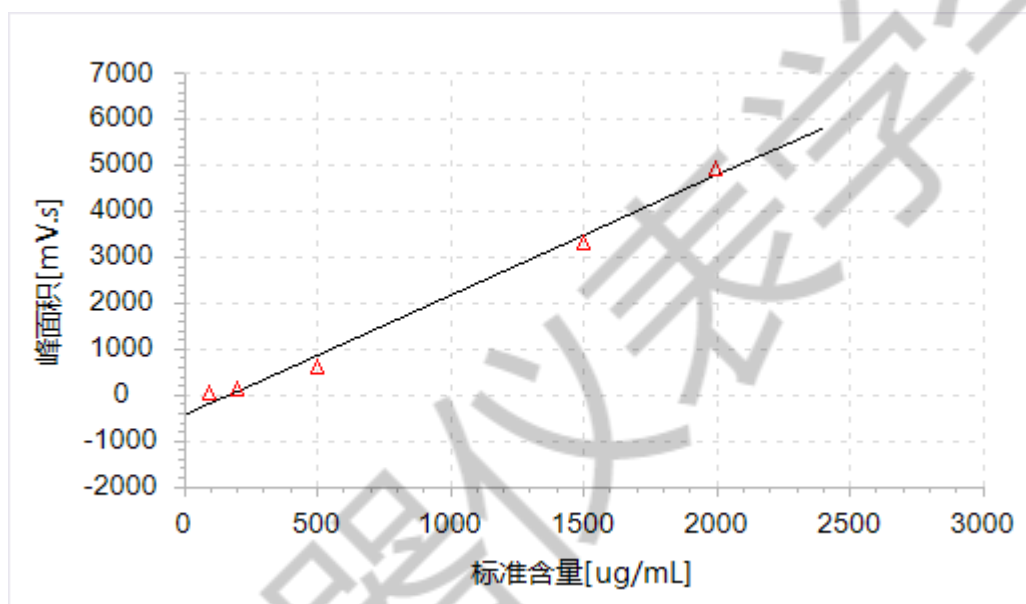


图3 果糖标准曲线

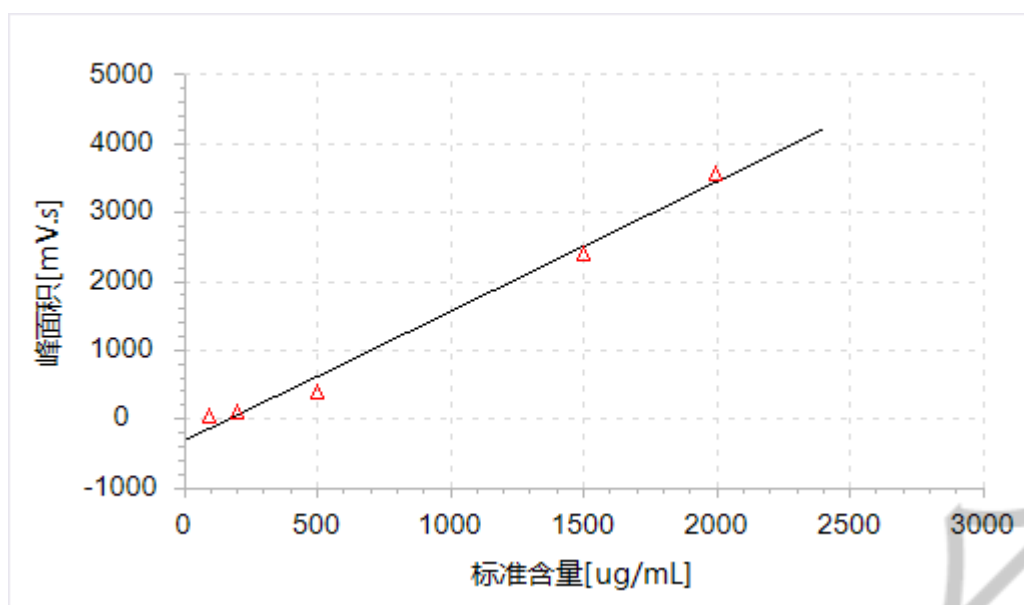


图4 葡萄糖标准曲线

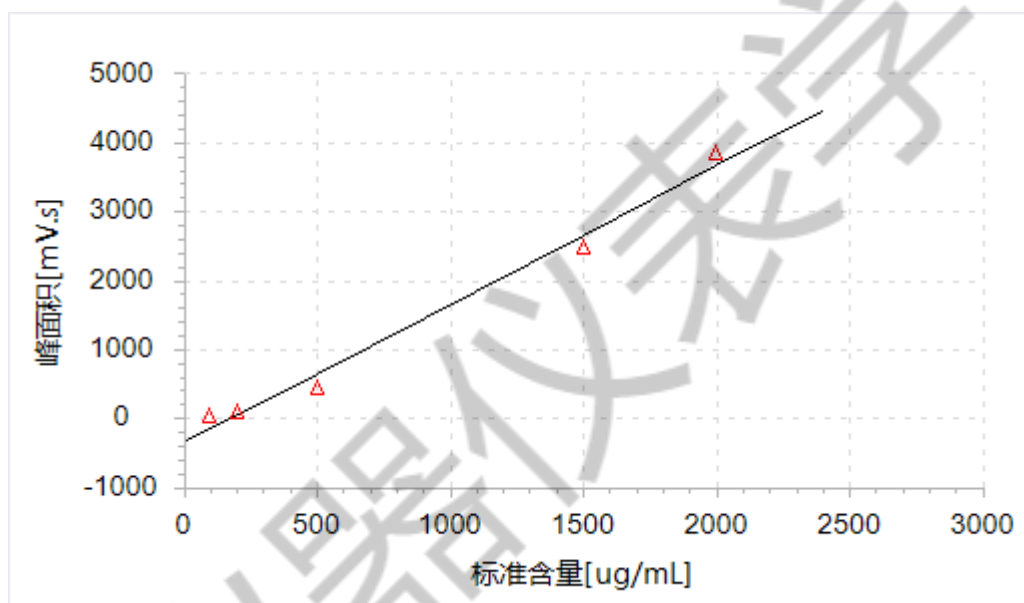


图5 蔗糖标准曲线

3.2 实际样品的测定

用建立的方法测定 72 份小麦类样品，叶片样品的色谱图如图所示。

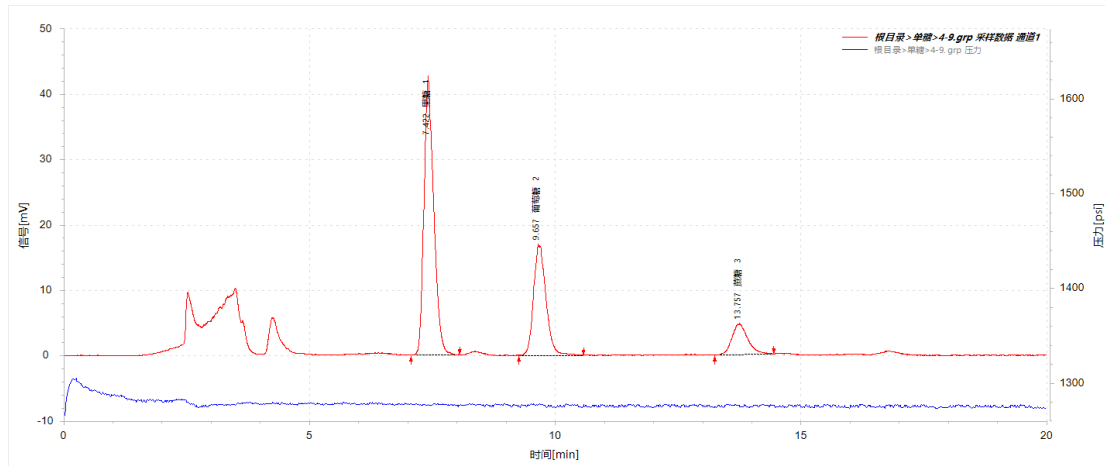


图6 小麦叶片 4-9

同一批次样品 3 次平行样得到的果糖、葡萄糖、蔗糖的 RSD 值小于 3%。说明处理方法可行，仪器稳定性良好。

分别对小麦、水稻、大豆等农作物叶片以及小麦茎段进行前处理提取实验，前处理方法简便可行，仪器性能可靠，满足对样品中果糖、葡萄糖、蔗糖的检测。

参考文献:

- [1] CIERESZKO 1. Regulatory roles of sugars in plant growth and development[J].Acta Societatis Botanicorum Poloniae 201887(2): 1-13 DOI:10.5586/ASBP.3583.
- [2] LASTDRAGER JHANSON JSMEEKENS S.Sugar signals and the control of plant growth and development[J].
- [3] Journal of Experimental Botany 201465(3):799-807.DOI: 10.1093/jxb/ert474.
- Norbert Sauer. Molecular physiology of higher plant sucrose transporters[J]. FEBS Letters, 2007, 581(12): 2309-2317.
- [4] 解楠,黄雨晴,郑国建. 亲水作用色谱法测定食品中 5 种糖[J].理化检验(化学分册), 2020, 56(12):1303-1306.
- [5] MATA A T, JORGE T F, FERREIRA J, et al. Analysis of low abundant trehalose-6-phosphate and related metabolites in Medicago truncatula by hydrophilic interaction liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2016, 1477:30-38.
- [6] SHAN S, MIN H, LIU T, et al. Structural insight into dephosphorylation by trehalose 6-phosphate phosphatase (OtsB2) from Mycobacterium tuberculosis[J]. The FASEB Journal, 2016,

30(12): 3989.

中国仪器仪表杂志