

基于超高效液相色谱仪（UPLC）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, 黑龙江 哈尔滨 150006; 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: 用超高效液相色谱法(UPLC-MS)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°C, 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 Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)

Du Yuchen¹, Yi Ying²

(1. College of Agriculture, Northeast Agricultural University heilongjiang haerbin 150006; 2. Major Platform Center of Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100089;)

Abstract: Ultra performance liquid chromatography (UPLC-MS) 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、核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：皖仪超高效液相色谱仪（皖仪 P3600B 二元高压输液泵、AS3600 自动进样器、CT3600 柱温箱、皖仪 ELSD3200 检测器、硅莱空气发生器），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)。



皖仪超高效液相色谱仪

乙腈(色谱纯,美国赛默飞公司产品),乙酸铵(纯度 $\geq 98\%$,蔗糖、果糖、葡萄糖标样购 sigma-aldrich 贸易有限公司,德国 CNW 公司产品)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 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，进样体积 $5\text{ }\mu\text{l}$ ，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 $1\text{ml}50\%$ 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]。

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 50 $\mu\text{g/L}$ ，100 $\mu\text{g/L}$ ，200 $\mu\text{g/L}$ ，500 $\mu\text{g/L}$ ，1000 $\mu\text{g/L}$ ，2000 $\mu\text{g/L}$ ；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]。

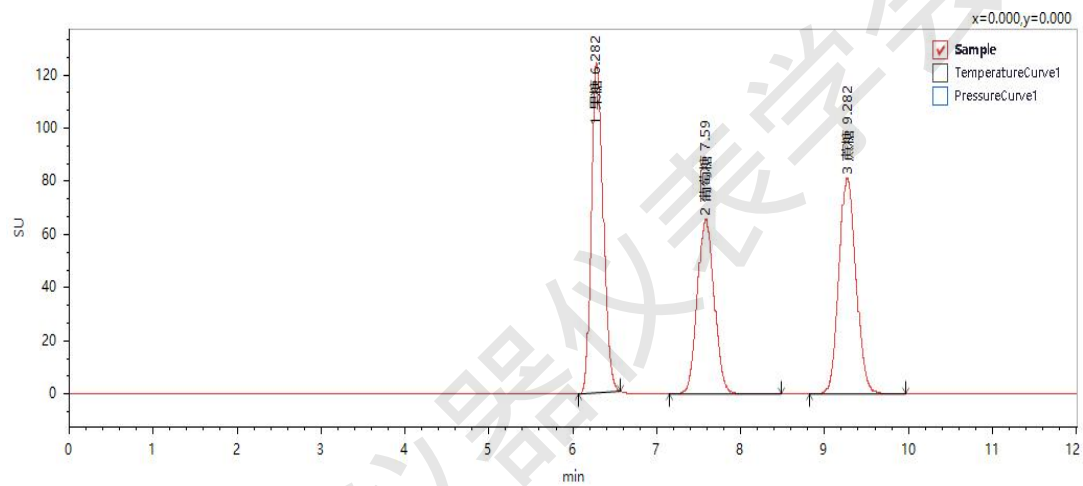


图1 混标 2000ppm 色谱图

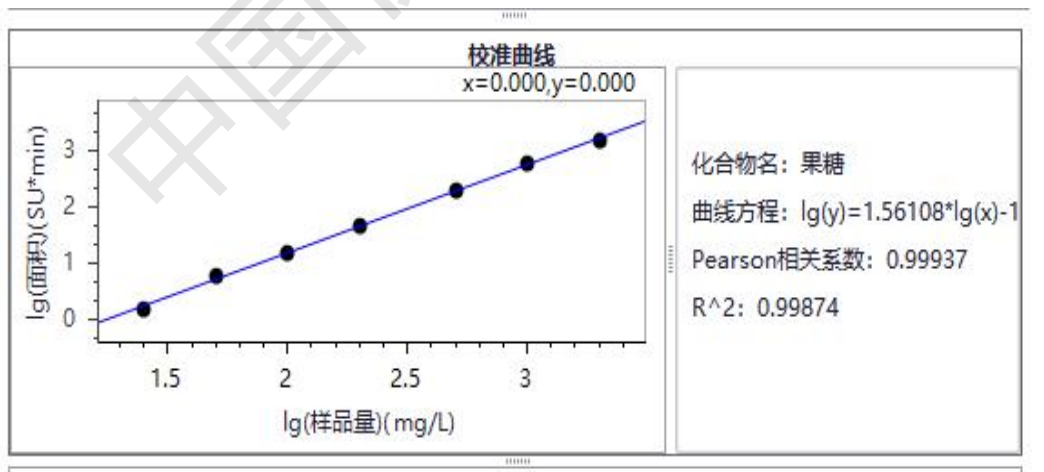


图2 果糖标准曲线

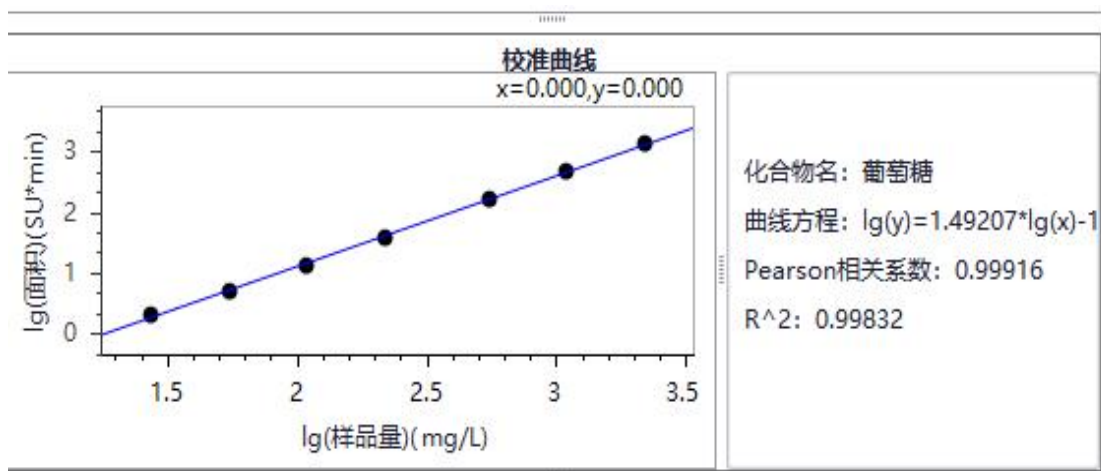


图3 葡萄糖标准曲线

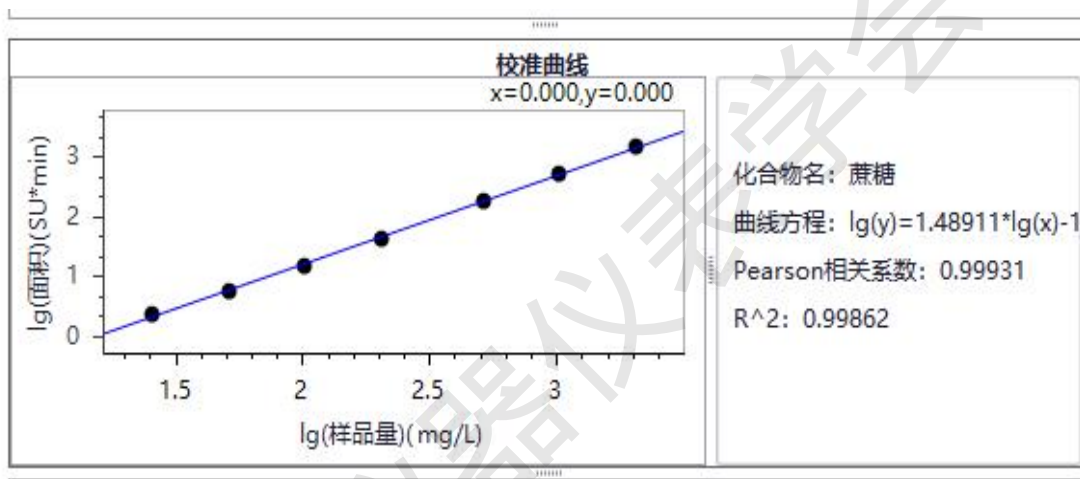
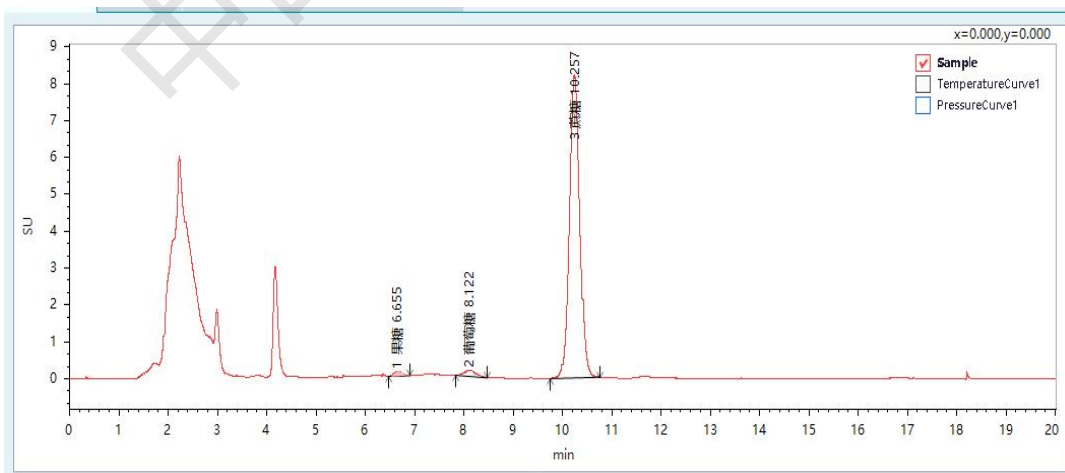


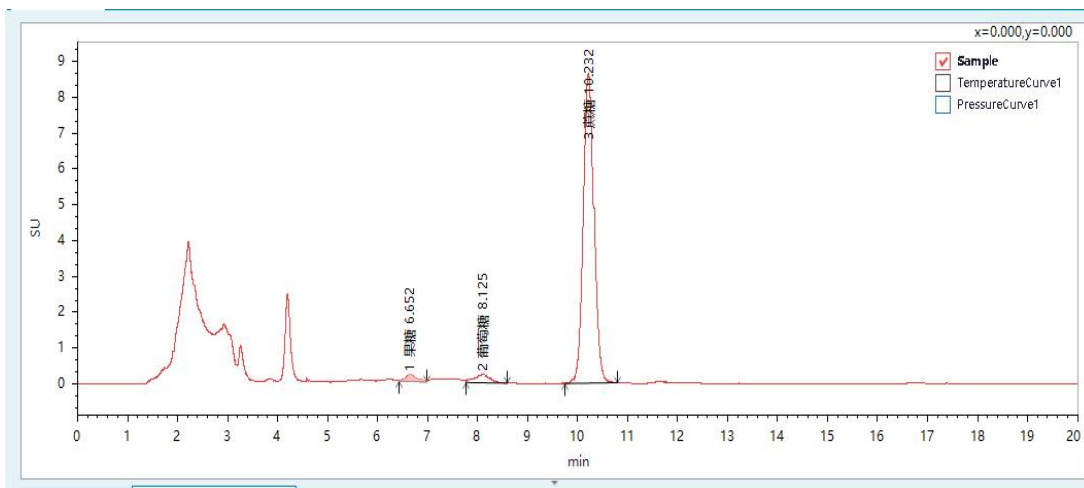
图4 蔗糖标准曲线

3.2 实际样品的测定

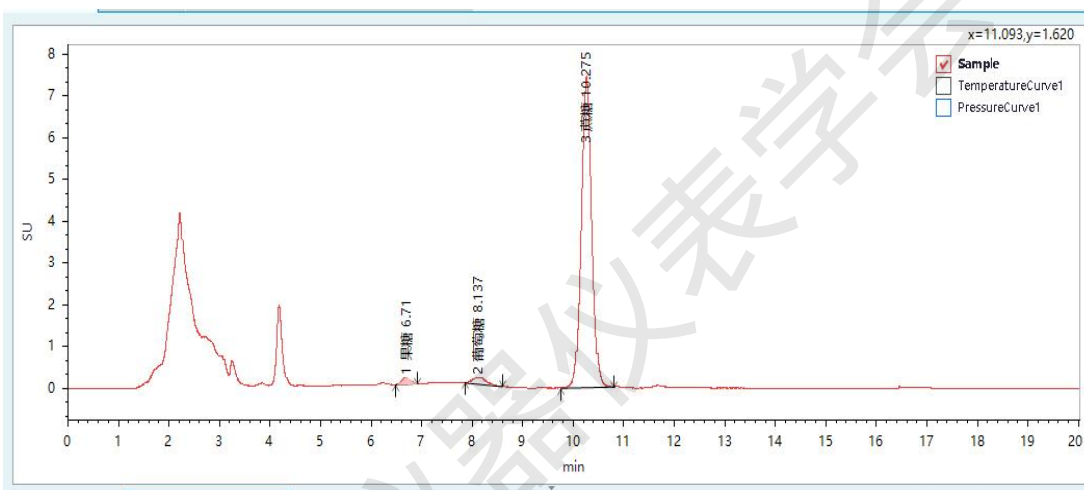
用建立的方法测定 72 份小麦类样品，部分叶片和茎段样品的色谱图如图所示。



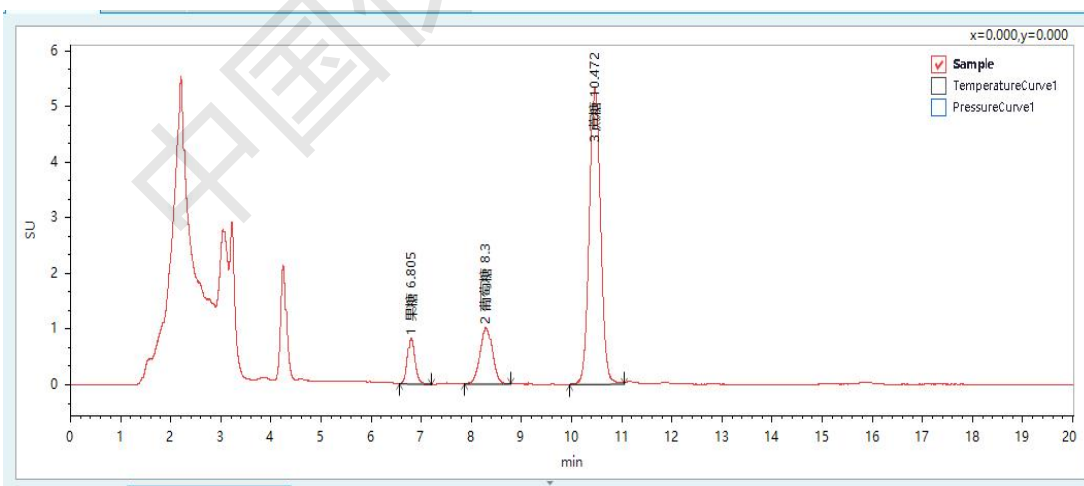
小麦叶片 C1



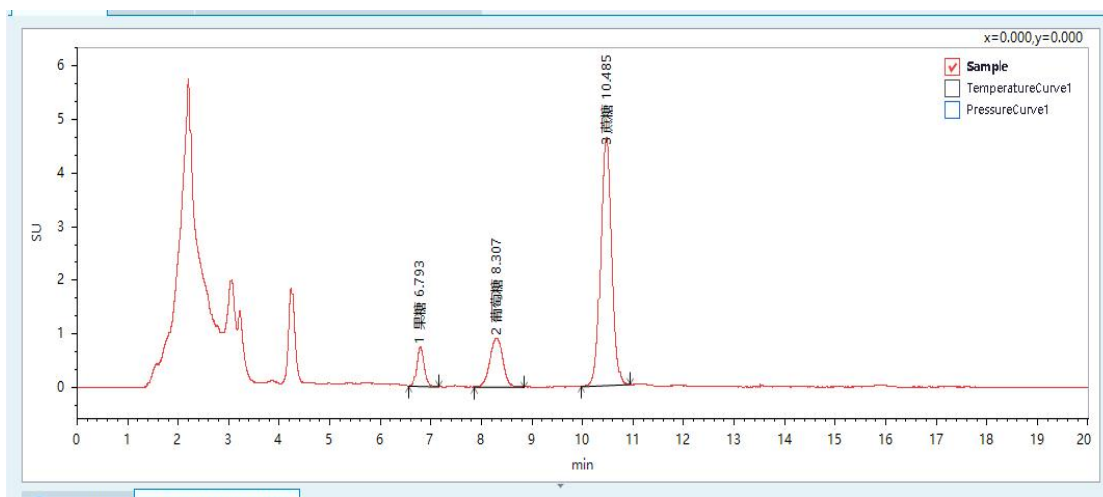
小麦叶片 C2



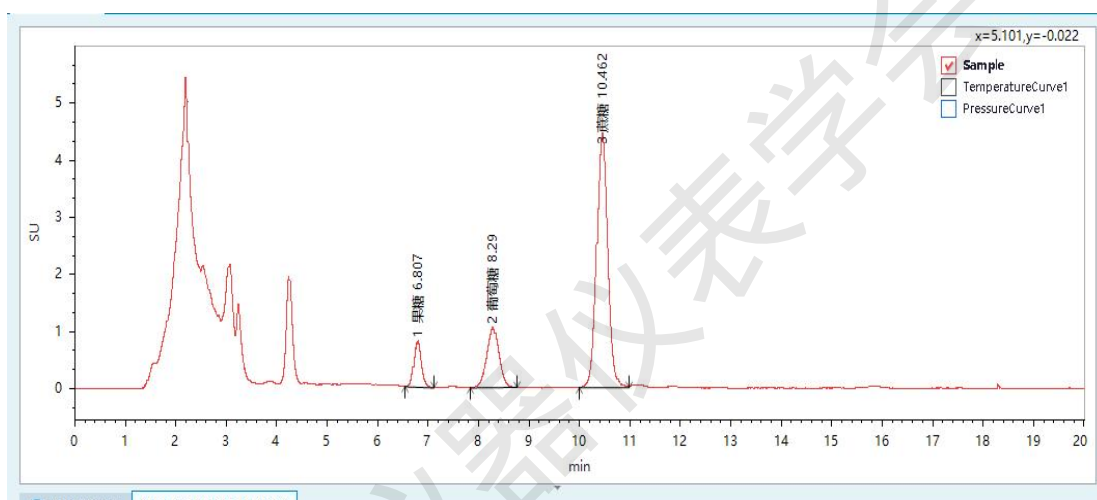
小麦叶片 C3



小麦茎段 J8-1



小麦茎段 J8-2



小麦茎段 J8-3

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

表 1 小麦叶片和茎段中果糖的测定

样品名称	保留时间	峰面积	峰面积%	峰高	峰高%	峰宽	半峰宽	样品量
C1	6.655	1.64583	1.072	0.128	1.498	0.276	0.162	23.765mg/L
C2	6.652	1.68037	2.113	0.187	2.069	0.339	0.199	23.808mg/L
C3	6.71	1.65468	1.458	0.145	1.874	0.303	0.178	23.703mg/L
J8-1	6.805	8.43702	7.81	0.829	11.532	0.262	0.154	67.298mg/L
J8-2	6.793	8.64953	8.091	0.746	11.882	0.264	0.155	68.203mg/L
J8-3	6.807	8.31351	8.766	0.81	12.798	0.264	0.155	66.665mg/L

表 2 小麦叶片和茎段中葡萄糖的测定

葡萄糖								
样品名称	保留时间	峰面积	峰面积%	峰高	峰高%	峰宽	半峰宽	样品量
C1	8.122	2.79028	2.222	0.162	1.906	0.45	0.265	35.033mg/L
C2	8.125	2.90074	3.596	0.227	2.509	0.538	0.316	36.099mg/L
C3	8.137	3.16629	2.79	0.163	2.097	0.515	0.303	38.130mg/L
J8-1	8.3	17.53925	16.236	1.011	14.065	0.451	0.265	120.100mg/L
J8-2	8.307	17.9898	16.913	0.902	14.361	0.464	0.273	122.882mg/L
J8-3	8.29	17.60666	18.566	1.053	16.639	0.432	0.254	120.409mg/L

表 3 小麦叶片和茎段中蔗糖的测定

蔗糖								
样品名称	保留时间	峰面积	峰面积%	峰高	峰高%	峰宽	半峰宽	样品量
C1	10.257	121.42579	96.706	8.221	96.596	0.387	0.227	385.569mg/L
C2	10.232	128.50416	94.291	8.644	95.422	0.389	0.229	400.522mg/L
C3	10.275	125.65755	95.752	7.453	96.029	0.381	0.224	388.849mg/L
J8-1	10.472	70.05313	75.954	5.346	74.403	0.4	0.235	266.343mg/L
J8-2	10.485	70.90004	74.995	4.632	73.757	0.399	0.234	268.650mg/L
J8-3	10.462	68.91259	72.667	4.465	70.562	0.4	0.235	263.569mg/L

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，满足对样品中海藻糖、六磷酸海藻糖的检测。

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]. Journal of Experimental Botany 201465(3):799-807. DOI: 10.1093/jxb/ert474.
- [3] 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.

中国仪器仪表学会