

· 研究简报 ·

2-去氧-D-葡萄糖的离子色谱法分析

洪碧红^{1,2}, 易瑞炆¹, 方 华¹, 戴李宗^{2*}

(1. 国家海洋局第三海洋研究所, 福建 厦门 361005; 2. 厦门大学材料学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 开发一种分析 2-去氧-D-葡萄糖样品的离子色谱方法, 该方法可准确定量 2-去氧-D-葡萄糖样品的含量. 经色谱分离条件优化, 选用 DIONEX CarboPac PA10 (4 mm × 250 mm) 色谱柱, 以 18 mmol/L NaOH 溶液为流动相, 流速为 0.8 mL/min, 用脉冲安培检测器检测, 实现 2-去氧-D-葡萄糖、葡萄糖和氨基葡萄糖 3 种结构极为相似单糖的高效分离, 建立起 2-去氧-D-葡萄糖的离子色谱法. 2-去氧-D-葡萄糖在 0.618~61.8 μg/mL 范围内呈现良好的线性关系, 相关系数为 0.998 6, 最低检测限为 27.2 μg/L, 最低定量限为 216.3 μg/L, 平均回收率 101.3%, 实验结果表明该离子色谱法检测 2-去氧-D-葡萄糖, 简单、灵敏, 测定结果准确, 是测定 2-去氧-D-葡萄糖含量的有效方法.

关键词: 2-去氧-D-葡萄糖; 离子色谱法; 脉冲安培检测器

中图分类号: O 657.7

文献标识码: A

文章编号: 0438-0479(2010)06-0886-03

2-去氧-D-葡萄糖为葡萄糖类似物, 有抑制病毒、病菌及癌细胞生长等多种生理药理效应^[1-3], 在医药、保健品、化妆品行业用途广泛, 发展前景良好.

目前, 糖类物质的测定方法主要有化学分析方法、气相色谱法、高效液相色谱法和离子色谱法. 化学分析方法, 由于无法对样品中的各种单糖进行预先分离, 所测为总糖含量, 不具备选择性, 无法满足检测的要求. 单糖醇类物质沸点高、挥发性低、难气化, 采用气相色谱法必须经过衍生化步骤才能分离, 操作过程较繁琐, 且衍生形成的副产物可能对色谱分离造成干扰, 影响定量分析的准确性^[4]. 高效液相色谱法应用于糖类物质分析测定的检测器包括示差折光检测(RID)、蒸发光散射检测(ELSD)、紫外(UV)检测、二极管阵列检测(DAD)等. RID 与 ELSD 在糖类物质分析中应用普遍, 但灵敏度较低, 检出限仅达微克级^[5]. 经 UV 扫描, 2-去氧-D-葡萄糖为末端吸收, 若直接采用 UV 检测, 会导致测定结果偏差. 离子色谱法是近年发展起来分析糖类物质的方法之一: 于泓等^[6]测定了氨基酸注射液中的 17 种氨基酸和葡萄糖, 王荔等^[7]实现了烤烟中的水溶性葡萄糖、果糖和蔗糖的快速分离和测定, 欧云付等^[8]测定了叶马尾藻粗糖水水解产生的木糖、半乳糖、阿拉伯糖、葡萄糖、鼠李糖和果糖. 李超等^[9]对天麻多糖水解液中的鼠李糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露单糖

组成进行分析, 李仁勇等^[10]检测了几种常见类型酱油中阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、果糖及蔗糖, 侯玉柱等^[11]测定了糕点中的水溶性的半乳糖、葡萄糖、木糖、果糖、蔗糖、乳糖和麦芽糖.

以离子色谱法分析测定 2-去氧-D-葡萄糖含量未见报道. 2-去氧-D-葡萄糖样品中的主要杂质为葡萄糖和氨基葡萄糖, 这 3 种物质结构上的差别仅在于 2-位基团, 结构极为相似, 这为分离及准确定量带来一定的困难. 本文在参考相关文献的基础上优化色谱分离条件, 实现了 3 种类似单糖的高效分离, 建立了准确定量 2-去氧-D-葡萄糖的离子色谱方法. 同时, 对建立的 2-去氧-D-葡萄糖的离子色谱法进行了分析方法验证.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

DIONEX 离子色谱仪(ICS-3000), 脉冲安培检测器, AgCl 参比电极. 2-去氧-D-葡萄糖(自制), 盐酸氨基葡萄糖(浙江金壳生物化学有限公司), 葡萄糖(AR, 汕头西陇化工厂), NaOH 溶液(Fisher Scientific), 超纯水(电阻率 $\geq 18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$, 自制).

1.2 色谱分离条件

保护柱为 CarboPac PA10 (4 mm × 50 mm), 分析柱 CarboPac PA10 (4 mm × 250 mm) (DIONEX); 流动相 18 mmol/L NaOH 溶液, 流速 0.8 mL/min, 柱温 25 °C. 2-去氧-D-葡萄糖的分离色谱图见图 1.

收稿日期: 2010-03-16

基金项目: 海洋三所基本科研业务费专项资助项目(海三科 2008005)

* 通讯作者: lzdai@xmu.edu.cn

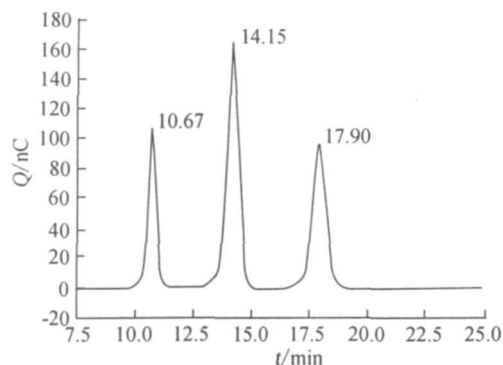


图1 2-去氧-D-葡萄糖与主要杂质分离色谱图

进样质量浓度为 $20 \mu\text{g}/\text{mL}$, 2-去氧-D-葡萄糖, 氨基葡萄糖和葡萄糖的保留时间依次为 10.67, 14.15, 17.90 min

Fig. 1 Separation chromatogram of 2-deoxy-D-glucose and impurities

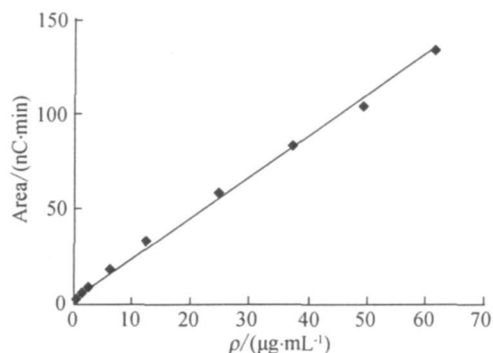


图2 2-去氧-D-葡萄糖标准曲线图

Fig. 2 Standard curve of 2-deoxy-D-glucose

2 结果与讨论

2.1 分离条件的优化

配制含有 2-去氧-D-葡萄糖、盐酸氨基葡萄糖、葡萄糖的混合溶液, 调节流动相 NaOH 溶液的浓度分别为 12.0, 18.0 和 24.0 mmol/L, 对混合溶液进行分析. 随着流动相 NaOH 溶液浓度的增大, 2-去氧-D-葡萄糖的响应值增大, 灵敏度提高, 但 2-去氧-D-葡萄糖和氨基葡萄糖的分离效果变差. 综合灵敏度、分离情况, 选用 18.0 mmol/L NaOH 溶液作为分离的流动相较为理想.

以 18.0 mmol/L NaOH 溶液作为流动相, 流速选择 0.8 mL/min, 考察柱温 (40, 30, 25 °C) 对混合溶液分离的影响. 随着柱温升高, 2-去氧-D-葡萄糖和氨基葡萄糖的分离效果变差. 因此, 优化的柱温为 25 °C.

以 18.0 mmol/L NaOH 溶液作为流动相, 柱温 25 °C, 考察流速 (0.6, 0.8, 1.0 mL/min) 对混合溶液分离的影响. 随着流速的降低, 响应值增大, 灵敏度提高, 分离效果变好, 但保留时间延长. 综合分离效果、分析时间等情况, 流速选择 0.8 mL/min.

2.2 最低检测限与定量限

配制不同浓度的 2-去氧-D-葡萄糖样品溶液, 进样量 25 μL , 使其主成分峰高为噪音峰高的 3 倍, 经检测, 其最低检测限为 27.2 $\mu\text{g}/\text{L}$; 若使主成分峰高为噪音峰高的 10 倍, 经检测, 其最低定量限为 216.3 $\mu\text{g}/\text{L}$.

2.3 精密度

取 2-去氧-D-葡萄糖对照溶液 (61.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 连

续进样 6 次, 测定样品浓度, 记录样品主峰峰面积, 考察方法的精密度, 实验结果峰面积的相对标准偏差 (RSD) 为 0.63%, 表明该方法精密度良好.

2.4 线性范围考察

配制 2-去氧-D-葡萄糖质量浓度在 0.618~61.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围, 作为供试品溶液. 取供试品溶液分别注入离子色谱仪, 进样量 25 μL , 按优化条件测定样品浓度, 记录峰面积, 以样品进样质量浓度 X ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 为横坐标, 样品色谱峰的峰面积积分值 Y ($\text{nC} \cdot \text{min}$) 为纵坐标, 绘制标准曲线 (图 2). 样品线性回归方程: $y = 2.1257x + 3.2872$, 相关系数 $r = 0.9986$, 结果表明采用离子色谱法, 2-去氧-D-葡萄糖在 0.618~61.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的质量浓度范围内呈良好线性关系.

2.5 溶液稳定性考察

分别取 2-去氧-D-葡萄糖对照溶液 (61.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 室温 (18~24 °C) 下放置, 于 0, 2, 4, 20 h 测定样品浓度, 记录主峰峰面积, 考察溶液的稳定性, 实验结果主峰峰面积的 RSD 为 0.45%, 表明室温放置 20 h, 样品溶液基本稳定.

2.6 回收率实验

以超纯水分别配制成 16, 20, 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 2-去氧-D-葡萄糖溶液各 3 份, 进样量 25 μL , 进行检测, 实验结果见表 1. 2-去氧-D-葡萄糖平均回收率为 101.3%, RSD 为 0.91%, 表明回收率良好, 含量测定方法可行.

3 结论

建立了 2-去氧-D-葡萄糖的离子色谱分析方法, 该方法无需对单糖类样品 2-去氧-D-葡萄糖、氨基葡萄糖及葡萄糖等进行衍生化处理即可直接测定, 分离时间

表 1 回收率实验结果
Tab.1 Results of recovery

2-去氧-D-葡萄糖 加入量/mg	2-去氧-D-葡萄糖 测得量/mg	回收率/%
20.97	21.40	102.0
20.97	21.32	101.7
20.97	21.32	101.7
24.94	25.51	102.2
24.94	25.46	102.1
24.94	25.43	102.0
30.13	30.19	100.2
30.13	30.12	100.0
30.13	30.19	100.2

短,灵敏度高,是测定 2-去氧-D-葡萄糖含量的有效方法.

参考文献:

[1] Hyun T K, Eun S H. 2-Deoxyglucose: an anticancer and antiviral therapeutic, but not any more a low glucose mimetic[J]. Life Sciences, 2006, 78(12): 1392- 1399.

[2] Kloog Y, Goldberg L, Brownstein M. Cancer treatment using FTS and 2- deoxyglucose: USA , WO/2007/ 064448 [P]. 2007- 06- 07.

[3] Mohammad T, Mohammed A, Nabil B, et al. 2-Deoxy- D- glucose attenuates harmaline induced tremors in rats[J]. Brain Research, 2002, 945(2): 212- 218.

[4] 孙多志, 黄清发, 虞爱娜, 等. 秸秆稀酸水解液的气相色谱/ 质谱法研究[J]. 分析科学学报, 2008, 24(4): 409- 413.

[5] 徐秀珠, 徐根良. 糖和糖醇的高效液相色谱分析[J]. 分析化学, 1999, 27(5): 547- 550.

[6] 于泓, 丁永胜, 牟世芬. 阴离子交换色谱- 积分脉冲安培检测法分离测定氨基酸注射液中的氨基酸和葡萄糖[J]. 色谱, 2002, 20(5): 398- 402.

[7] 王荔, 陈巧珍, 宋国新, 等. 高效阴离子交换色谱- 脉冲安培检测法测定卷烟中的水溶性葡萄糖、果糖和蔗糖[J]. 色谱, 2006, 24(2): 201- 204.

[8] 欧云付, 伊平河, 赵玲. 半叶马尾藻粗糖中单糖的离子色谱法分析[J]. 色谱, 2006, 24(4): 411- 413.

[9] 李超, 王俊儒, 季晓晖, 等. 天麻多糖的分离及其单糖组成分析[J]. 中国农学通报, 2008, 24(7): 89- 92.

[10] 李仁勇, 梁立娜, 牟世芬, 等. 离子色谱- 脉冲安培检测法测定酱油中的糖[J]. 中国调味品, 2009, 34(7): 95- 98.

[11] 侯玉柱, 元晓梅, 蒋明蔚, 等. 离子色谱法测定糕点中的单、双糖的研究[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(2): 134- 137.

2-Deoxy-D- glucose Analysis Using Ion Chromatography

HONG Bihong^{1, 2}, YI Ruizao¹, FANG Hua¹, DAI Lizong^{2*}

(1. Third Institute of Oceanography State Oceanic Administration, Xiamen 361005, China;

2. College of Materials, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: An effective ion chromatographic method was developed to quantitative analyse 2- deoxy- D- glucose (2- DG). 2- DG, glucose and aminoglyucose are three monosaccharides with remarkably similar structures. So it is difficult to separate 2- DG and to detect the content of 2- DG accurately. By optimizing chromatographic separation conditions, the high efficient separation and quantitative analyse method of 2- DG was established. The optimal separation and quantitative analysis of 2- DG was performed on a DIONEX CarboPac PA10 Column (4 mm × 250 mm) with a mobile phase of sodium hydroxide solution (c = 18 mmol/L). The flow rate was 0. 8 mL/min and the detector was pulse amperometric detector (PAD). A good linearity was observed in the concentration range of 0. 618 μg/mL to 61. 8 μg/mL, and the correlation coefficient was 0. 998 6. The lowest detection and quantitative limits were 27. 2 μg/L and 216. 3 μg/L, respectively. The average recovery was 101. 3%. These results indicated that ion chromatographic method was a simple, sensitive, accurate and effective method for detection of 2- DG.

Key words: 2- deoxy- D- glucose; ion chromatographic method; pulse amperometric detector