

单糖及氨基糖的毛细柱气相色谱分析

蒋秀瑛 陈明灿
(中国科学院上海有机化学研究所)

顾新 孙册
(中国科学院上海生物化学研究所)

本文报道了一组单糖(岩藻糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、半乳糖、葡萄糖)以及乙酰氨基糖(N-乙酰氨基半乳糖与N-乙酰氨基葡萄糖)的毛细柱GC分析方法。此方法已初步应用于测定蓖麻凝集素(Lectin一种糖蛋白)中糖的组成,结果表明其主要成分为甘露糖及氨基葡萄糖等,含糖量约为10%左右。本方法也为其他动植物糖蛋白的糖成分测定与结构分析提供了一种有效手段。本文还对甲醇解反应的稳定性、TMS衍生化的完全性以及定量误差的来源等问题进行了讨论。

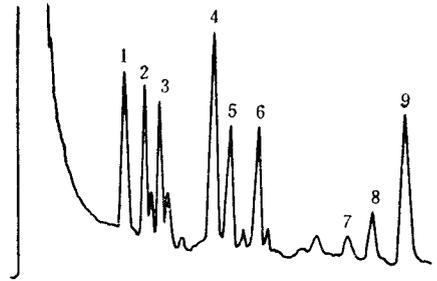


图1 标准样品分离谱图
色谱峰: 1. 岩藻糖, 2. 阿拉伯糖, 3. 木糖, 4. 甘露糖, 5. 半乳糖, 6. 葡萄糖, 7. N-乙酰半乳糖, 8. N-乙酰葡萄糖, 9. 肌醇。
色谱条件: $\phi 0.22\text{mm} \times 20\text{m OV-101}$ 毛细柱; 分流比: 10:1; 程序升温: 145 $^{\circ}\text{C}$ (2分钟) $\xrightarrow{4^{\circ}\text{C}/\text{分}}$ 190 $^{\circ}\text{C}$ $\xrightarrow{1^{\circ}\text{C}/\text{分}}$ 220 $^{\circ}\text{C}$ 。

实验与主要结果

将单糖及乙酰氨基糖按文献(1)进行甲醇解反应,并将反应产物单糖糖苷与N-乙酰甲基氨基糖苷做成三甲基硅醚衍生物(2)进行色谱分析。在HP5750带FID检测器上,以肌醇作内标,测定了单糖及乙酰氨基糖的相对校正因子,并对蓖麻凝集素中糖组分作了定量测定。结果见图1,2及表1,2。

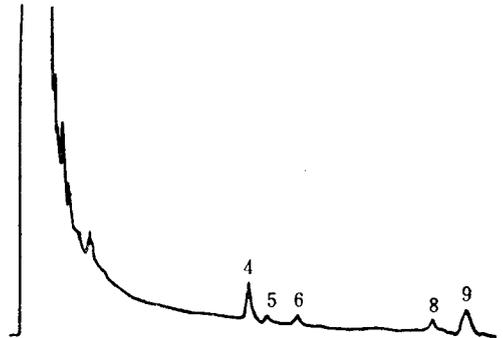


图2 蓖麻凝集素分离谱图
色谱峰: 4. 甘露糖, 5. 半乳糖, 6. 葡萄糖, 8. N-乙酰葡萄糖, 9. 肌醇。
色谱条件: 同图1。

表1 单糖及乙酰氨基糖的定量测定结果

含量%	样品编号	A			B			C		
		理论	实测	偏差	理论	实测	偏差	理论	实测	偏差
*校正因子										
岩藻糖(3.51)		8.37	10.52	+2.15	10.12	8.30	-1.82	—	—	—
阿拉伯糖(3.88)		8.56	8.14	-0.42	9.30	7.22	-2.03	10.27	9.93	-0.29
木糖(3.49)		10.12	12.71	+2.59	11.28	9.34	-1.44	11.76	8.98	-2.70
甘露糖(2.47)		13.84	15.24	+1.90	13.95	11.49	-2.46	11.30	9.60	-1.70
半乳糖(2.64)		7.72	8.29	+0.57	10.58	9.63	-0.95	9.02	6.14	-2.88
葡萄糖(2.42)		9.66	12.56	+2.90	14.19	15.71	+1.52	12.56	11.33	-1.23
乙酰氨基半乳糖(5.00)		13.62	15.43	+1.81	11.63	13.01	+1.38	13.70	14.55	+0.85
乙酰氨基葡萄糖(3.84)		10.13	10.22	+0.19	13.37	13.56	+0.19	14.50	15.41	+0.91

* 校正因子为4次平均值。

表 2 蓖麻凝集素中糖组分测定

糖成分	测定次数	1	2	平均
	含量%	%	%	%
甘露糖		5.71	4.89	5.30
半乳糖		1.71	1.52	1.62
葡萄糖		1.74	1.48	1.61
乙酰氨基葡萄糖		2.32	2.26	2.29

结果讨论

(一) 甲醇解反应的稳定性问题: 由于单糖的结构不同, 在反应中活性各不相同, 对酸度和温度敏感性不同⁽³⁾, 我们选用较为激烈的条件, 以保证甲醇解完全。

(二) TMS 衍生物的完全性和稳定性问题: 我们做了乙酰氨基糖的 TMS 衍生物的红外光谱图, 无 -OH 峰吸收, 但有 -OSi(CH₃)₃ 吸收, 证明糖的 TMS 是基本完全的。另外, 该衍生物在潮湿空气中易水解, 故对该类化合物进行衍生化反应时须注意容器及试剂的干燥。

(三) 定量方法的误差来源: 1. 样品纯度问题: 我们选用的标准糖及内标物均为生化试剂, 其纯度不高, 给方法带来一定的系统误差。2. 糖的 TMS 衍生物对 FID 响应普遍较小⁽⁴⁾, 我们得到了与文献报道相同的结果。3. 峰面积采用半峰宽的人工测量是影响方法精度和准确度的主要因素之一。

参 考 文 献

[1] S. J. Rickert, J. Chromatogr., 147, 317(1978).

[2] Pigman Word, "The Carbohydrates Chemistry and Biochemistry, Physiology", Vol. IB, 2nd ed., Academic Press, N.Y., P.1464, 1980.
 [3] Akira Kobata, Biology of Carbohydrates, 2, 101(1984).
 [4] J. R. Hudson and S. L. Morgan, J.HRC & CC, 5, 285(1982).

(收稿日期: 1985年8月10日)

Capillary Gas Chromatographic Analysis of Sugars and Amino Sugars as Their Trimethylsilyl Ethers
Jiang Xiu-ying & Chen Ming-can, Shanghai Institute of Organic Chemistry, Academia Sinica; Gu Xin & Sun Ce, Shanghai Institute of Biological Chemistry, Academia Sinica

An investigation of a convenient quantitative method by capillary gas chromatography was made for analysis of sugars (fuctose, Arabinose, Xylose, Mannose, Galactose, Glucose) and amino sugars (N-Acetylgalactosamine, N-Acetylglucosamine).

Quantitative analysis was carried out on HP 5750 gas chromatograph with FID detector and fused silica capillary column coated with OV-101. The carrier gas was nitrogen with a velocity of 9cm/sec and a split ratio of 10:1. The temperature was programmed from 145°C to 190°C at a rate of 4°C/min, then to 220°C at a rate of 1°C/min. Inositol was used as internal standard. The maximum absolute error of the method was within 3%.

The method had been applied to determine the composition of sugars in lectin, and may be also used to determine the sugars composition and the structure of the glycoprotein in both plants or animals.

The stability of methanolysis, the perfectibility and the stability of the TMS derivatives and sources of the quantitative error were discussed.

汽油色谱模拟蒸馏 ASTM D-2887 的改进 以及我国标准蒸馏方法数据的关联

由源鹤 周雅曼
 (石油化工科学研究院, 北京)

汽油馏程测定为诸如重整、催化裂化等石油加工工艺提供了指导数据。美国 ASTM D-2887 气相色谱测定石油产品馏分沸点范

围分布标准方法, 为馏程测定建立了快速, 精确的标准方法⁽¹⁾。1973年提出以来, 在世界上逐渐得到推广。目前我国广泛用于测定