

糖类和多糖分析

GPC/SEC 和小粒径助您实现高分离度

作者

Jasmin Preis* 和

Günter Reinhold

* 安捷伦科技有限公司

摘要

使用 3 μm 和 5 μm 填料粒径 Agilent SUPREMA 色谱柱可以以极高分离度对各种糖类和多糖进行稳定、可靠的 GPC/SEC 分析。

前言

多糖是由单糖通过糖苷键连接构成的线性或支链大分子。多糖在自然界中广泛存在，并应用于食品、医疗和制药等领域。

葡聚糖被用于各种应用，其中分子量是决定最终产品性质的关键。准确测定分子量分布至关重要。

低摩尔质量的糖类在水果、蜂蜜和糖果等食品中也十分常见。低摩尔质量糖类包括单糖（葡萄糖、果糖）、二糖（乳糖、异麦芽糖、海藻糖）和三糖（麦芽三糖、异麦芽三糖）等。低摩尔质量多糖的分离和鉴定是一项挑战，因为这些化合物具有相同的化学式，仅存在细微的结构差异（例如，麦芽二糖、异麦芽糖、龙胆二糖、纤维二糖和海藻糖的化学式均为 $C_{12}H_{22}O_{11}$ ）^[1]。

实验部分

表 1. 仪器和样品条件

	条件
泵	等度泵 流速：0.5 或 0.25 mL/min 流动相：H ₂ O, 0.05% 叠氮化钠
进样系统	自动进样器 进样量：20 μ L
色谱柱	SUPREMA 3 μ m 100 \AA , 8 \times 300 mm (货号 SUA0830031e2) SUPREMA 5 μ m 100 \AA , 8 \times 300 mm (货号 SUA0830051e2) SUPREMA 低分子量组合： SUPREMA 5 μ m 预柱, 8 \times 50 mm (货号 SUA080505) 3 根 SUPREMA 5 μ m 100 \AA , 8 \times 300 mm (货号 SUA0830051e2)
温度	23 或 80 $^{\circ}$ C
样品浓度	1 mg/mL
校准	安捷伦葡聚糖校准试剂盒 (货号 PSS-DXTKIT)
检测器	示差折光 (RI) 检测器
软件	Agilent WinGPC

结果与讨论

柱上高分离度分离对于准确分析至关重要。在将 GPC/SEC 与质谱 (MS) 联用时，这一点尤为重要，因为 MS 检测器要求色谱柱具有较小的柱体积，并且可提供较高的分离度。与 10 μ m 填料相比，SUPREMA 色谱柱的填料粒径减小到 3 μ m

和 5 μ m，性能显著提升，可提供更高的分离度。这非常有利于分析寡聚多糖。图 1 显示了通过 SUPREMA 10 μ m 100 \AA 、SUPREMA 5 μ m 100 \AA 和 SUPREMA 3 μ m 100 \AA 色谱柱获得的 $M_w = 1260$ Da 的低分子量葡聚糖的分离度比较。

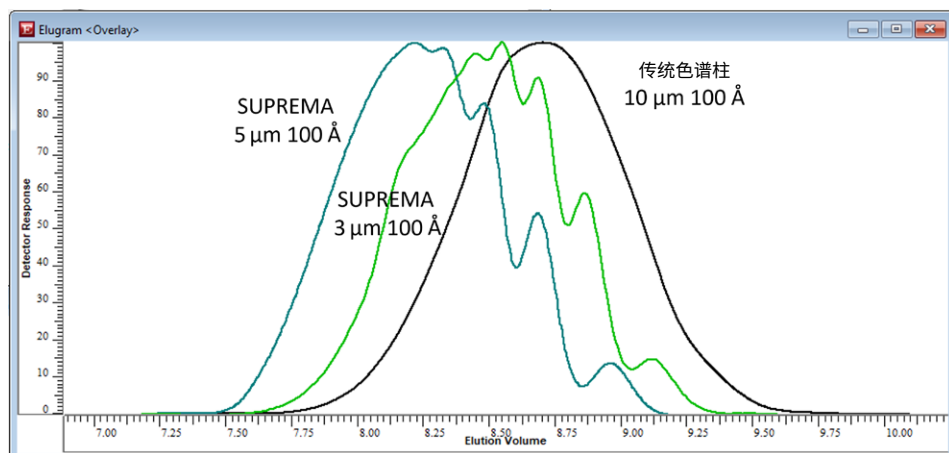


图 1. 葡聚糖 ($M_w = 1260$ Da) 的 RI 曲线 (归一化检测器响应) 和洗脱体积 (mL) 的曲线叠加图，以 H₂O、0.05% NaN₃ 为流动相，流速为 0.5 mL/min (黑色：典型 10 μ m 100 \AA 色谱柱，深绿色：Agilent SUPREMA 5 μ m 100 \AA ，浅绿色：Agilent SUPREMA 3 μ m 100 \AA)

使用由三根 SUPREMA 5 μm 100 \AA 色谱柱组成的 SUPREMA 低分子量组合分析相同的葡聚糖样品 (Mw: 1260 Da), 获得的结果表明, 在保持相同色谱柱类型的同时增加色谱柱长度, 分离度提高 (见图 2)。低分子量区域的低聚物 (至低聚物 P10) 分离良好。叠加葡萄糖的色谱图作为参考。

结论

3 μm 和 5 μm 粒径 Agilent SUPREMA 色谱柱可用于从约 100 Da 开始的分子量区域中众多中性和阴离子水溶液应用。3 μm 和 5 μm 小粒径可提供高分离度分离, 特别是在低摩尔质量范围, 从而实现高质量分析。

参考文献

1. Karlson, P. Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler, Georg Thieme Verlag Stuttgart, **1988**

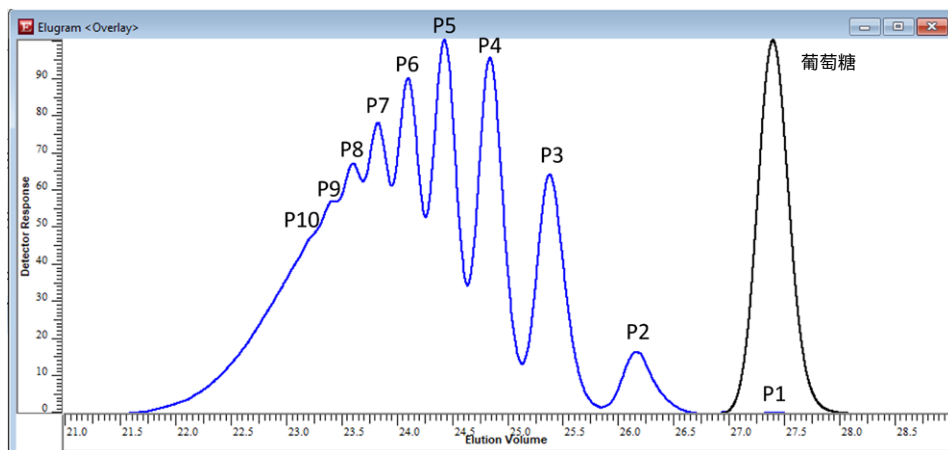


图 2. 使用三根 Agilent SUPREMA 5 μm 100 \AA 色谱柱获得的葡聚糖 (Mw: 1260 Da, 蓝色) 和葡萄糖 (分子量: 180 Da, 黑色) 的 RI 曲线 (归一化检测器响应) 和洗脱体积 (mL) 的曲线叠加图, 以 H_2O 、0.05% NaNO_3 为流动相, 流速 0.25 mL/min, 温度 80 $^\circ\text{C}$

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

RA44973.5715856481

本文中的信息、说明和指标如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2020, 2023
2023 年 3 月 3 日, 中国出版
5994-5702ZHCN