

单糖高效液相色谱法检测技术研究进展

Research progress in monosaccharide detection by high performance liquid chromatography

热孜万古力·赛买提 陈士恩 高丹丹

SAIMAITI Reziwanguli CHEN Shi-en GAO Dan-dan

武中庸 车敏娜 李明生

WU Zhong-yong CHE Min-na LI Ming-sheng

(西北民族大学, 甘肃 兰州 730030)

(Northwest Minzu University, Lanzhou, Gansu 730030, China)

摘要: 高效液相色谱法因操作简单、高效和灵敏度高成为单糖分析的重要方法之一。文章介绍几种常用单糖分析的高效液相色谱方法, 即液相色谱示差折光检测法、液相色谱蒸发光散射检测法、PMP 柱前衍生化检测法、对氨基苯甲酸柱前衍生法、邻氨基苯甲酸衍生法、柱后衍生法, 指出它们的优缺点, 并从灵敏度、操作方法、精确度等方面进行分析比较。

关键词: 高效液相色谱法; 柱前衍生; 柱后衍生; 单糖

Abstract: High performance liquid chromatography (HPLC) is one of the most important factors in monosaccharide analysis due to its simple operation, and high efficiency and sensitivity. In this study, several commonly used methods were described, for the analysis of monosaccharides by high performance liquid chromatography, i.e., liquid chromatography differential refractive index detection, liquid chromatography evaporative light scattering detection, PMP pre-column derivatization detection, para-aminobenzoic acid pre-column derivatization, the o-aminobenzoic acid derivative method and post-column derivatization method. Moreover, the advantages and disadvantages of these methods were demonstrated, and the sensitivity, operation method, and accuracy were compared and analyzed among these methods.

Keywords: High performance liquid chromatography (HPLC); pre-

column derivation; post-column derivation; monosaccharide

糖类又称碳水化合物, 是生物体维持生命正常活动所需能量的主要来源, 分布于自然界^[1]。糖类主要是以单糖、双糖、低聚糖和多糖 4 种形式存在。多糖具有降血糖血脂、抗病毒、抗肿瘤、抗感染、抑菌及美白保湿等多种生物活性^[2]。多糖的生物活性与其化学结构密切相关, 因此研究多糖的单糖组分对研究其生物活性具有重要意义。目前, 测定单糖的方法较多, 如毛细管电泳法^[3]、高效液相色谱法^[4]、气相色谱法^[5]和高效阴离子交换色谱法^[6]等, 其中高效液相色谱法应用最为广泛^[7]。

单糖极性较强, 结构相近, 且缺乏光学活性, 为了改善其分离选择性和提高检测灵敏度需要在检测前对其进行衍生, 本文介绍并比较几种常用单糖分析的高效液相色谱方法, 以期对单糖研究提供一定帮助。

1 样品前处理方法

1.1 柱前衍生

由于糖链没有紫外或者荧光基团, 无法用紫外检测器和荧光检测器直接检测, 单糖的结构限制了检测模式。折射率检测等相关方法往往不能满足现代的要求关于灵敏度或选择性的痕量水平分析, 化学衍生技术是规避这个问题至关重要的工具。所以检测前需要对糖进行衍生化处理, 使糖链带上紫外或者荧光基团, 极性发生改变, 将难分离的几种单糖分开, 从而更好地检测出单糖^[8-9]。柱前衍生化的优点是能选择反应条件、衍生化的副产物能消除其干扰, 不需要特定的仪器, 成本低, 可以选择多种柱前衍生剂, 缺点是产生的副产物可能对色谱分离造成困扰, 衍生过程中会引入一些杂质^[10]。

基金项目: 国家民委专项综合改革试点(编号:10019141); 国家科技支撑计划项目(编号:2015BAD29B05); 西北民族大学“双一流引导专项”(编号:10018704); 西北民族大学中央高校基本科研业务费专项资金(编号:31920170178); 甘肃省兰州市城关区科技计划项目(编号:2017KJGG0024); 甘肃省科技计划资助(编号:17YF1WA166)

作者简介: 热孜万古力·赛买提, 女, 西北民族大学在读硕士研究生。

通信作者: 陈士恩(1964—), 男, 西北民族大学教授, 硕士生导师。

E-mail: chshien@163.com

收稿日期: 2017-11-25

柱前衍生法的原理是分析前使分析物与衍生剂反应,反应产物在分析柱上进行分离,实际上分离检测的为衍生产物。目前常用的柱前衍生剂有对氨基苯甲酸(*p*-aminobenzoic acid, PABA)、邻氨基苯甲酸(*O*-aminobenzoic acid)、1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(3-Methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one, PMP)、异氰酸苯酯(ABEE)等。

1.1.1 对氨基苯甲酸衍生法 对氨基苯甲酸是苯甲酸的苯环上的对位被氨基取代后形成的化合物,具有中等毒性。对氨基苯甲酸与单糖反应后产生能够被检测的物质,该方法操作比较简便,灵敏度较高,可以准确、快速地检测出待测样品,但因对氨基苯甲酸具有毒性,应用较少^[11]。葡萄糖与对氨基苯甲酸的反应式见图1。

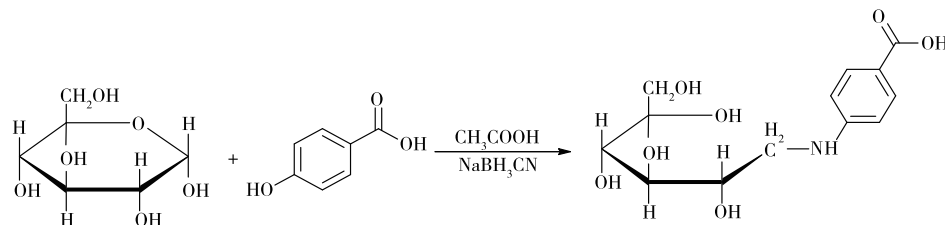


图1 葡萄糖和对氨基苯甲酸的反应示意图

Figure 1 Schematic representation of the reaction of glucose and *p*-aminobenzoic acid

郝桂堂等^[12]采用2种检测器分析了9种单糖,并优化衍生条件,比较了荧光检测法和紫外检测法,发现采用优化的衍生条件处理后51 h内,单糖的衍生化产物的峰面积基本不变,测得9种单糖的RSD均 $<4\%$, $r^2>0.997$,线性关系良好,但几种单糖分离度不好;梁军等^[13]建立了HPLC-FID法检测酸浆多糖中的单糖成分,进行梯度洗脱,几种单糖的分离效果良好,精密度、稳定性、重现性也都良好,用此方法检测单糖,操作简单,灵敏度较高,但是操作步骤比较麻烦;Fang等^[14]用HPLC-UV法检测植物细胞壁上的单糖含量,线性关系良好,精密度和准确度较高。

1.1.2 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP) 柱前衍生化 PMP是目前比较常用的衍生剂,其由苯肼和乙酰乙酸乙酯缩合而成,易溶于甲醇。PMP在碱性条件下与还原糖进行反应,1个糖分子还原端可与2分子PMP形成稳定的衍生物,反应结束后可以用酸中和^[15];衍生产物无立体异构体、分离度高、检测限低。PMP对糖链进行标记的条件很温和,唾液酸不丢失,对紫外吸收很强,不容易发生去糖基化现象^[16]。

Bai等^[17]以PMP作为衍生剂测了单糖与寡糖,回收率为93.13%~102.08%,优点是此衍生可以在温和条件下成功地完成,而不需要高温和长的衍生时间,成本较低,适用于普通实验室检测;李卫燕等^[18]建立了柱前衍生化高效液相色谱分析当归酸性多糖中的10种单糖的方法,该检测方法

简单、高效、准确、可靠、稳定,适合测定多种单糖,但pH、流动相的比例影响这几种单糖的分离度;王媛媛等^[19]建立了PMP柱前衍生化HPLC分析9种多糖中单糖的成分,对色谱条件进行优化,筛选出最优的色谱条件,对9种单糖进行分离,分离效果良好, $r^2>0.999$,此方法在分析多种单糖中具有显著的优势,弥补了示差折光检测器和蒸发光散射检测器灵敏度较低的不足;汪名春等^[20]分析了茛苳茎水溶性多糖中的8种单糖,其中半乳糖醛酸、半乳糖和阿拉伯糖是主要成分,摩尔比为22.60:30.42:17.88,并进行了免疫调节活性试验,发现多糖具有免疫调节活性;宋叶涵等^[21]用气相色谱法、高效液相色谱法、薄层色谱法分析了鲍鱼生殖腺多糖的组成,并进行比较,结果表明高效液相色谱法灵敏度较高,分离效果最好,弥补了气相色谱法和薄层色谱法分析单糖的缺点;段月等^[22]检测了不同生长期的枸杞多糖中单糖的组成,不同生长期单糖的成分有些差异,其中半乳糖醛酸的含量最高,该方法有效地分离出了几种单糖,但分离时间较长。PMP与葡萄糖的反应式见图2。

1.1.3 邻氨基苯甲酸衍生法 由于邻氨基苯甲酸具有毒性和刺激性,对环境和人体具有一定的危害,因此其应用较少。国外学者经常以邻氨基苯甲酸作为单糖的衍生试剂。此试剂具有简单、易得和灵敏度高的特点^[23]。半乳糖与邻氨基苯甲酸的反应式见图3。

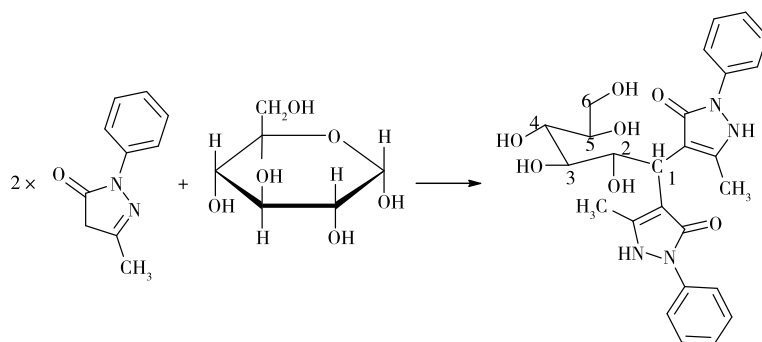


图2 PMP与葡萄糖的衍生化反应

Figure 2 Derivation of PMP and glucose

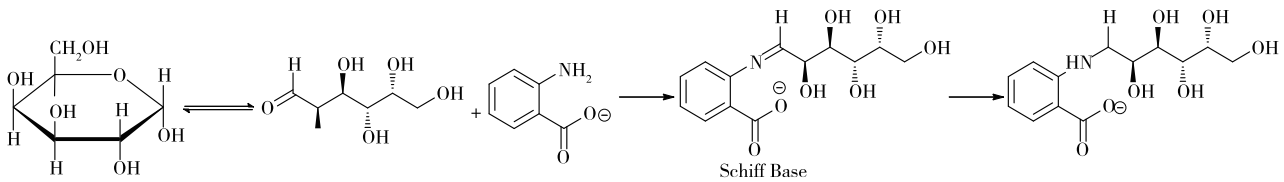


图 3 半乳糖与邻氨基苯甲酸的衍生化反应

Figure 3 Derivatization of galactose and *O*-aminobenzoic acid

程宾等^[24]以邻氨基苯甲酸作为衍生剂,用高效液相色谱法检测重组人促卵泡激素中的单糖,采用酸水解的方法将各糖分离,邻氨基苯甲酸衍生化,用荧光法检测,结果表明,精密密度试验中 4 种单糖的峰面积 RSD 分别为 0.96%,1.00%,0.83%,0.40%,稳定性试验中 4 种单糖的峰面积 RSD 分别为 1.80%,0.83%,0.18%,1.70%,加样回收率为 98%~104%,此方法重复性和回收率高。但是对流动相的要求比较高,由于衍生剂有毒性,使用范围较窄,衍生过程中需要严格操作。

1.2 柱后衍生法

柱后衍生化是分离物在分析柱中分离后在衍生池内与衍生剂发生反应,在检测处检测衍生产物,在柱子内分离出来的是目的物。目前关于柱后衍生高效液相色谱检测单糖的文献不多。赵鑫等^[25]采用柱后衍生的方法,用高效液相色谱荧光法检测了 4 种单糖。结果表明 *D*-葡萄糖、*D*-果糖、*D*-阿拉伯糖、山梨醇 4 种单糖的检出限分别为 46.880,1.381,3.856,0.921 μg/mL。测定的饮料和蜂蜜样品的回收率分别为 88%~96%,78%~103%,相对标准偏差(RSD)均低于 3% (*n*=6)。此方法具有较高的灵敏度,但因 1-萘硼酸具有毒性且衍生方法比较复杂限制了其应用范围。

柱前衍生成本低,但是衍生过程中会引入一些杂质,影响色谱分离,试验结果有一定的误差。柱后衍生法的优点是副产物的产生不会影响试验结果,不需要高的稳定性,缺点是需要额外的设备,成本高,反应条件有限。柱前衍生法与

柱后衍生法的不同点见表 1。

对 PMP、*p*-AMBA、*O*-aminobenzoic acid 3 种衍生剂的反应条件进行了总结,见表 2。

由表 1、2 可知,柱前衍生相对于柱后衍生简单,但是柱前衍生在衍生过程中会带入杂质,产生误差。柱后衍生法需要的成本较高。衍生剂中 PMP 是最理想的衍生剂,没有毒性,比较安全。

2 液相色谱检测在单糖分析中的应用

2.1 液相色谱示差折光检测法

示差折光检测器是根据流通池内的化合物折射率不同的原理而对样品进行检测。此法是中国测定单糖的现行国家标准方法(标准号:GB 5009.8—2016)。示差折光检测器是一种高度稳定的通用性检测器^[26],凡是与流动相折光率不同的样品组分都有响应,因此检测前无需要衍生处理,简化了操作,提高了效率且能有效分离各种组分,使用范围也更广泛^[27]。但该方法易受温度、流动相及流速等因素的影响,不可梯度洗脱,灵敏度低^[28]。

刘泰然等^[29]用高效液相色谱-示差折光检测法检测了保健品中的低聚木糖,被检样品浓度为 0.30~4.50 mg/mL,浓度与峰面积线性关系良好,精密度、精确度高且排除了干扰试验结果的因素,但加标回收率较低。于雷等^[30]建立了同时检测怀地黄中反相液相色谱示差折光检测法,并优化了检测条件,比较了鲜地黄与生地黄中糖类成分和不同品种不同

表 1 柱前衍生与柱后衍生比较

Table 1 Comparison of pre-column derivatization and post-column derivatization

衍生方法	衍生方式	分离物	检测对象	主要的衍生试剂	检测器
柱前衍生高效液相色谱法	柱前分析物与衍生剂反应	衍生产物	衍生产物	PMP、 <i>p</i> -AMB、 <i>O</i> -aminobenzoic acid	紫外检测器、荧光检测器
柱后衍生高效液相色谱法	柱后分析物与衍生剂反应	分析物	衍生产物	1-萘硼酸	荧光检测器

表 2 3 种衍生剂的特点比较

Table 2 Comparison of the characteristics of 3 derivatives

衍生剂	毒性	反应温度/℃	水浴时间/min	检测器	色谱柱	波长/nm	柱温/℃
PMP	无	70	100	紫外	C ₁₈	λ=250	30
<i>p</i> -AMBA	低毒	80	60	荧光	C ₁₈	λ _{ex} =230 λ _{em} =425	30
<i>O</i> -aminobenzoic acid	中等毒性	70	40	紫外、荧光	Sinochrom ODS-BP 柱、 C ₁₈	λ=303 λ _{ex} =313 λ _{em} =358	30

产地的地黄中单糖和低聚糖含量,结果表明鲜地黄和生地黄中糖类的分布情况有所差异,品种因素和环境因素对地黄中糖类含量有所影响,该方法不需要对单糖进行柱前衍生且分离效果良好;欧阳华学等^[31]用液相色谱示差折光检测法同时检测了枸杞中 3 种单糖和 2 种低聚木糖,测得这几种糖浓度为 10.0~400.0 mg/L,与峰面积有良好的线性关系,相对标准偏差均在 5% 以下,加标回收率为 92.27%~101.93%,但此方法中流动相的比例对试验结果有一定的影响,需要进行优化;刘潇潇等^[32]建立了参芪扶正注射液葡萄糖、果糖和蔗糖的检测方法,优化色谱条件,流速为 1 mL/min,温度为 40 ℃,在该条件下,这几种糖的分离效果较好,精密度、稳定性、回收率良好,但此方法中柱子温度超过室温,不好控制,而且温度太高容易出现基线漂移的现象;郑秀春等^[33]采用茚三酮-茚三酮法和高效液相色谱-示差折光检测法检测了奶粉中乳糖和蔗糖,结果表明 HPLC-RID 法较为准确,分析时间短,回收率高,但示差折光检测器对温度比较敏感,影响试验结果;张建杰等^[34]采用液相色谱示差折光检测法检测了水产品中的几种糖,核糖、葡萄糖、果糖等分离效果良好,这几个单糖的回收率在 70.2%~98.5%,此方法不需要衍生,简单,分离效果好,但是加标回收率较低,出现倒峰。

2.2 液相色谱蒸发光散射检测法

蒸发光散射检测器是通用型检测器之一,是示差折光检测器的升级。蒸发光散射检测器的原理为:检测器中高速氮气将待测物喷成雾状液滴,流动相挥发后形成微小颗粒,载气把这些颗粒带到检测器的散射室,从而检测出散射光的强

度^[35]。液相色谱蒸发光散射检测法不仅弥补了示差折光检测法不能梯度洗脱等不足之处,也弥补了紫外检测不能检测无紫外吸收或只有紫外末端吸收物质的缺陷^[36]。该方法可以进行梯度洗脱,同时也消除了流动相及温度变化带来的基线漂移问题,而且具有较高的灵敏度、重现性和稳定性;但不能使用非挥发性缓冲盐作为流动相且较高的检测成本也制约其应用范围^[37-38]。

Ding H 等^[39]用高效液相色谱-蒸发光散射检测法同时检测了食品中的 13 种糖,测得这 13 种糖的检出限为 0.1~5.0 g/mL,加标回收率为 96.1%~105.2%,相对偏差较低,此方法高效、简单、准确,为 HPLC-ELSD 提供了良好的试验基础和方法;沈少林等^[40]检测了 10 种蜂蜜中的果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖的含量,对色谱条件和检测器参数进行优化,发现 2 种单糖的检出限为 10 mg/L,是示差折光检测法高 10 倍以上,弥补了示差折光检测法的缺点;尚姝等^[41]建立了 HPLC-ELSD 法检测保健食品中的几种单糖和双糖的方法,检测时发现这几种糖的分离度都大于 2.0,比较适合检测多种单糖,但是对温度比较敏感,需要严格控制;刘倩等^[42]用 HPLC-ELSD 法分离和定量检测了啤酒中的糖类化合物,两种单糖浓度为 0.05~5.00 g/L,它验证该方法的回收率为 94~98.4%,果糖和葡萄糖的 RSD 分别为 2.78~2.89%,3.02~3.11%,此方法不需要衍生处理,简单、准确,适合测定啤酒中的单糖,但检测过程中出现了杂峰。

蒸发光散射检测器(HLSD)相对于示差折光检测器(RID)灵敏度高,不受其他因素的影响,这 2 种检测器的优缺点比较见表 3。

表 3 ELSD 与 RID 的比较
Table 3 Comparison of ELSD and RID

检测器	适用范围	灵敏度	对温度的敏感性	未知物	流动相	梯度洗脱	基线稳定性
ELSD	通用	高	很敏感	能检测	不影响	否	好
RID	通用	低	不敏感	能检测	影响	是	差

2.3 质谱法

近年来,液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)已经成为一种适用于大量分析微量有机混合物的创新分析技术。与气相色谱-质谱(GC-MS)的“传统”技术相比,LC-MS/MS 更易于使用,适用于相当多的相关分析物。液相色谱-质谱法在检测单糖过程中也广泛使用。天然糖由于具有高亲水性不能保留在烷基键合硅胶柱如 C₁₈ 上,因此它们的分离不可能使用反相液相色谱。在另一方面,已经提出了各种色谱方法来分离糖类和寡糖,包括配体交换层析^[43]、尺寸排阻层析^[44],以及在二氧化硅基粘合极性固定相上广泛使用的亲水色谱法^[45]。未衍生碳水化合物的分离需要特定类型的色谱柱,如烷基化硅胶^[46]或各种离子交换媒体^[47],其中特定的抗衡离子的添加影响分离。但是,大多数都有问题,尤其是在柱稳定性,寿命和分离重现性方面。因此,在此工作中使用 UPLC 酰胺 BEH 柱分离单糖和寡糖而无需预先衍生化。Ayman A 等^[48]用此方法检测了单糖和二糖,使用乙腈-水在 BEH 酰胺

柱上进行梯度洗脱,使用选择离子记录(SIR)采集模式进行采集检测,检出限分别为 0.25,0.69,0.82,3.58 lg mL⁻¹,有良好的线性关系。该方法比较快速,对 pH 不敏感,有良好的效率和重现性,能分离各种各样的高度极性化合物,但仪器成本高,对试剂的要求也很高。

3 展望

近年来,高效液相色谱法在单糖的分析中使用比较广泛,结合国内外现状看,单糖的分析情况与未来研究方向是:

(1) 直接检测法中液相色谱示差折光检测法是通用性的检测器,但是灵敏度较低、不能梯度洗脱;液相色谱蒸发光散射检测法无需衍生,灵敏度较高。这 2 种方法分离度较差,提高分离度是以后研究的方向。

(2) 柱前衍生中,对氨基苯甲酸和邻氨基苯甲酸是有毒的衍生剂,其中 PMP 柱前衍生化使用范围最广泛且无毒,但是柱前衍生过程中衍生剂的添加,会引入一些杂质,对试验结果会造成误差,怎样减少误差是要解决的问题之一。

参考文献

- [1] GOMIS D B, TAMAYO D M, ALONSO J M. Determination of monosaccharides in cider by reversed-phase liquid chromatography[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2001, 436(1): 173-180.
- [2] 尤婷婷, 姜燕, 张海悦, 等. 蹄叶橐吾叶多糖提取工艺优化及单糖组成研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2016(1): 136-141.
- [3] RUIZ-CALERO V, PUIGNOU L, GÁLCELAN M T. Determination of glycosaminoglycan monosaccharides by capillary electrophoresis using laser-induced fluorescence detection [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2003, 791(1): 193-202.
- [4] ZOLLO F, IORIZZI M, FESTA C, et al. *L*-Cysteine (3-nitrophenyl)methyl ester hydrochloride: a new chiral reagent in the sugar analysis[J]. *Letters in Organic Chemistry*, 2017, 14(2): 69-73.
- [5] RUMPEL C, DIGNAC M F. Gas chromatographic analysis of monosaccharides in a forest soil profile: Analysis by gas chromatography after trifluoroacetic acid hydrolysis and reduction-acetylation[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38(6): 1 478-1 481.
- [6] 贾鹏禹, 孙蕊, 彭绪玲, 等. 配位体交换色谱法测定槐米废渣水解液单糖成分[J]. *天然产物研究与开发*, 2017(5): 800-804.
- [7] HAYES R, AHMED A, EDGE T, et al. Core-shell particles: preparation, fundamentals and applications in high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2014, 1 357: 36.
- [8] YOU Lv, YANG Xing-bin, ZHAO Yan, et al. Separation and quantification of component monosaccharides of the tea polysaccharides from *Gynostemma pentaphyllum* by HPLC with indirect UV detection [J]. *Food Chemistry*, 2009, 112(3): 742-746.
- [9] SINGH V, PANDA S, KAUR H, et al. Solvation behavior of monosaccharides in aqueous protic ionic liquid solutions: Volumetric, calorimetric and NMR spectroscopic studies[J]. *Fluid Phase Equilibria*, 2016, 421: 24-32.
- [10] AKABANE M, YAMAMOTO A, AIZAWA S, et al. Simultaneous enantioseparation of monosaccharides derivatized with *L*-tryptophan by reversed phase HPLC[J]. *Analytical Sciences the International Journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*, 2014, 30(7): 739.
- [11] 郭怀忠, 李胜男, 吴芳, 等. 单糖紫外衍生方法的改进与应用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017(2): 32-36.
- [12] 郝桂堂, 陈尚卫, 朱松, 等. 对氨基苯甲酸衍生化高效液相色谱法分析多糖中的单糖及糖醛酸组成[J]. *色谱*, 2007, 25(1): 75-79.
- [13] 梁军, 夏永刚, 杨炳友, 等. 基于氨基苯甲酸衍生化 HPLC-FLD 分析中药多糖单糖组成[J]. *中医药学报*, 2016, 44(6): 13-15.
- [14] FANG Jing-jing, QIN Guo-chen, MA Jun, et al. Quantification of plant cell wall monosaccharides by reversed-phase liquid chromatography with 2-aminobenzamide pre-column derivatization and a non-toxic reducing reagent 2-picoline borane [J]. *Journal of Chromatography A*, 2015, 1 414: 122-128.
- [15] 张璐瑶, 赵峡, 陈欢欢. 糖类化合物 PMP 衍生分析进展[J]. *分析测试学报*, 2016, 35(3): 367-372.
- [16] DAI Jun, WU Yan, CHEN Shang-wei, et al. Sugar compositional determination of polysaccharides from *Dunaliellasalina* by modified RP-HPLC method of precolumnderivatization with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 82(3): 629-635.
- [17] BAI Wei-dong, FANG Xiao-di, ZHAO Wen-hong, et al. Determination of oligosaccharides and monosaccharides in Hakka rice wine by precolumn derivation high-performance liquid chromatography[J]. *Journal of Food & Drug Analysis*, 2015, 23(4): 645.
- [18] 李卫燕, 李萍, 曹蔚. 柱前衍生化高效液相色谱法测定当归酸性多糖单糖组成的新方法[J]. *科学技术与工程*, 2015, 15(10): 151-154.
- [19] 王媛媛, 张晖, 杨俊松, 等. 柱前衍生化高效液相色谱法分析 9 种多糖中的单糖组成[J]. *济宁医学院学报*, 2016, 39(4): 241-244.
- [20] 汪名春, 聂陈志鹏, 朱培蕾, 等. 苘苣茎水溶性多糖的单糖组成及免疫调节活性研究[J]. *食品与机械*, 2016, 34(5): 148-151.
- [21] 宋叶涵, 李冬梅, 杨静峰, 等. 三种色谱法分析鮎鱼生殖腺多糖的单糖组成[J]. *食品与机械*, 2012, 28(2): 44-47.
- [22] 段月, 刘敦华, 李世瑶, 等. 不同生长期枸杞多糖变化规律及特性研究[J]. *食品与机械*, 2016, 32(12): 55-59.
- [23] MARKUS Windwarder, RUDOLF Figl, ELISABETH Svehla, et al. "Hypermethylation" of anthranilic acid-labeled sugars confers the selectivity required for liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Analytical Biochemistry*, 2016, 514: 24-31.
- [24] 程宾, 梁成盟, 杨化新. 柱前衍生化反相高效液相色谱法定量测定重组人促卵泡激素中的单糖[J]. *药物分析杂志*, 2008(9): 1 454-1 458.
- [25] 赵鑫. 1-萘硼酸柱后衍生高效液相色谱荧光法测定单糖的研究[D]. 石家庄: 河北师范大学, 2013: 50-55.
- [26] FANG Huo, ZHANG Zhi-mei, WANG Jian-jun, et al. Research advances in detection techniques of high performance liquid chromatography-refractive index detector[J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2014(2): 87-90.
- [27] LAKKA N S, PRAVEEN B N V V D, REDDY C S. Simple and sensitive RP-HPLC/RID method for the determination of triclofos sodium[J]. *Journal of the Indian Chemical Society*, 2017, 94: 53-58.
- [28] 姜红, 但晓梦, 胡远华, 等. HPLC-RID 法测定氨基葡萄糖的含量[J]. *中国药品标准*, 2013, 14(4): 259-263.
- [29] 刘泰然, 李洁, 刘平, 等. 高效液相色谱-示差折光法测定保健食品中的低聚木糖[J]. *中国食品卫生杂志*, 2012, 24(2): 132-135.
- [30] 于雷, 李晓坤, 张华锋, 等. RP-HPLC-RID 法同时测定怀地黄中单糖、低聚糖的含量[J]. *药物分析杂志*, 2013(6): 977-982.
- [31] 欧阳华学, 黎源倩, 肖全伟. 高效液相色谱法同时测定枸杞中

- 单糖和低聚糖的含量[J]. 四川大学学报: 医学版, 2007, 38(6): 1 040-1 042.
- [32] 刘潇潇, 戴慧贤, 刘学华, 等. HPLC 示差折光检测法同时测定参芪扶正注射液中单糖和寡糖的含量[J]. 中国药房, 2012(12): 1 139-1 141.
- [33] 郭秀春, 郭小白, 张苗苗, 等. 莱茵-埃农氏法和高效液相色谱-示差折光法检测奶粉中乳糖和蔗糖的比较研究[J]. 食品科学, 2016, 37(12): 139-143.
- [34] 张进杰, 顾伟钢, 闫永芳, 等. HPLC 示差折光法测定水产品中还原糖、磷酸化单糖和蔗糖[J]. 食品与生物技术学报, 2011, 30(4): 576-582.
- [35] LIN Chun-hua, LEI Zhi-wei, LIU De-yong, et al. Determination of four kinds of monosaccharides and disaccharides in honey by ultra performance convergence chromatography with evaporative light scattering detector[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2016, 44(12): 1 912-1 918.
- [36] 王巧娥, 丁明玉. 蒸发光散射检测技术研究进展[J]. 分析测试学报, 2006, 25(6): 126-132.
- [37] 姜辉, 王斌, 高家荣. 高效液相色谱法-蒸发光散射检测器同时测定肝乐颗粒中黄芪甲苷和芍药苷的含量[J]. 安徽中医药大学学报, 2015, 34(3): 86-89.
- [38] 杨俊, 刘江生, 蔡继宝, 等. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定烟草中的水溶性糖[J]. 分析化学, 2005, 33(11): 1 596-1 598.
- [39] DING Hong-liu, LI Can, JIN Peng, et al. Simultaneous determination of monosaccharides, disaccharides, oligosaccharides and sugar alcohols in foods by high performance liquid chromatography with evaporative light-scattering detection[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2013, 31(8): 804.
- [40] 沈少林, 陆文琪, 张惠雄. 高效液相色谱-蒸发光散射法同时测定蜂蜜中果糖、葡萄糖、蔗糖和麦芽糖[J]. 理化检验: 化学分册, 2015, 51(9): 1 330-1 332.
- [41] 尚姝, 冯有龙. 高效液相色谱蒸发光散射检测器测定保健食品中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖和木糖[J]. 西北药学杂志, 2014(1): 27-31.
- [42] LIU Qian, LUCIANA C Nogueira, FILIPE Silva, et al. Separation and quantification of carbohydrate compounds in beer using high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detector[J]. Bee Tech, 2016(5): 65-68.
- [43] STEFANSSON M, WESTERLUND D. Ligand-exchange chromatography of carbohydrates and glycoconjugates[J]. Journal of Chromatography A, 1996, 720(1/2): 127-136.
- [44] CHURMS S C. Recent progress in carbohydrate separation by high-performance liquid chromatography based on size exclusion[J]. Journal of Chromatography A, 1996, 720(1/2): 151-166.
- [45] ALPERT A J, SHUKLA M, SHUKLA A K, et al. Hydrophilic-interaction chromatography of complex carbohydrates[J]. Journal of Chromatography A, 1994, 676(1): 191-122.
- [46] KLEIN A, CARNOY C, LO-GUIDICE J M, et al. Separation of mucin oligosaccharide-alditols by high performance liquid chromatography on alkylamine-bonded silica columns. Effects of structural parameters[J]. Carbohydr Res, 1992, 236(26): 9-16.
- [47] LIU Ying, URGONKAR S, VERKADE J G, et al. Separation and characterization of underivatized oligosaccharides using liquid chromatography and liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1 079(1/2): 146.
- [48] GHAFAR A A, WABAIIDUR S M, AHMED A Y, et al. Simultaneous determination of monosaccharides and oligosaccharides in dates using liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2015, 176: 487-492.
- (上接第 142 页)
- [5] 张洪磊, 谢晶, 林永艳, 等. 贮藏温度对打孔保鲜袋包装青椒品质的影响[J]. 食品与机械, 2012, 28(4): 179-181.
- [6] 林永艳, 谢晶, 朱军伟, 等. 真空预冷对青菜贮藏品质的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(21): 314-317.
- [7] 任小青, 于弘慧, 马佃珍. 利用 LF-NMR 研究猪肉糜冷藏过程中品质的变化[J]. 食品研究与开发, 2015(15): 120-123.
- [8] 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007: 31.
- [9] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001: 164-248.
- [10] 朱军伟, 谢晶, 林永艳, 等. 贮藏温度对薄膜包装菠菜品质的影响[J]. 食品与机械, 2011, 27(6): 219-221.
- [11] KEBITSAMANG J M, MIN Z, ARUN S M, et al. Effects of ultrasound and microwave pretreatments of apple before spouted bed drying on rate of dehydration and physical properties[J]. Drying Technology, 2014, 32(15): 1 848-1 856.
- [12] XU C, LI Y, YU H. Effect of far-infrared drying on the water state and glass transition temperature in carrots[J]. Journal of Food Engineering, 2014, 136(6): 42-47.
- [13] 隋媛媛, 于海业, 张蕾, 等. 温室黄瓜病虫害的叶绿素荧光光谱分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(5): 1 292-1 295.
- [14] SAKURABA Y, SCHELBERT S, PARK S Y, et al. STAY-GREEN and chlorophyll catabolic enzymes interact at light-harvesting complex ii for chlorophyll detoxification during leaf senescence in arabidopsis[J]. Plant Cell, 2012, 24(2): 507.
- [15] SHIN Y, LIU R H, NOCK J F, et al. Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry[J]. Postharvest Biology & Technology, 2007, 45(3): 349-357.
- [16] 芦航, 高建晓, 胡花丽, 等. 6-苄氨基嘌呤对采后空心菜品质及其活性氧代谢的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(4): 266-271.
- [17] 王艳颖, 胡文忠, 金黎明. 茉莉酸甲酯对鲜切水晶梨营养品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(6): 209-212.
- [18] 古荣鑫, 胡花丽, 曹宏, 等. 不同薄膜包装对冷藏空心菜采后品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(3): 237-243.
- [19] 张立奎, 陆兆新, 郁志芳. 臭氧水处理鲜切生菜贮藏期间的品质变化[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(3): 128-131.