

# HPLC—ELSD 法快速测定甲基葡萄糖苷的含量

边德龙, 曾 宇, 谢通慧, 张永奎\*

(四川大学化学工程学院, 四川 成都 610065)

**摘要:**建立了高效液相色谱—蒸发光检测器(HPLC—ELSD)法检测甲基葡萄糖苷含量的方法。最佳色谱分析条件为: Alltech Apollo C18 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相 V(水): V(甲醇) = 5:95, 流速为 0.7 mL/min, 柱温为 30℃。ELSD 检测器漂移管温度为 104℃, 载气(空气)流速为 2.8 L/min。甲基葡萄糖苷在 2.5~12.5 μg/μL 之间具有良好的线性关系,  $r = 0.9991$ , 回收率为 100.0%~106.3%。该方法简便易行, 分析速度快, 具有良好的重复性和精密度, 适用于甲基葡萄糖苷的检测。

**关键词:** 高效液相色谱; 蒸发光散射; 甲基葡萄糖苷; 含量测定

中图分类号: 0657.7

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2015)08-0190-03

## Rapid determination of methyl glucoside by HPLC—ELSD

BIAN De-long, ZENG Yu, XIE Tong-hui, ZHANG Yong-kui\*

(College of Chemical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

**Abstract:** HPLC equipped with ELSD detector is used to determine the content of methyl glucoside. The optimal detection conditions are determined as follows: HPLC instrument fixed with Alltech Apollo C18 column (4.6×250 mm, 5 μm), the mobile phase water-methanol (5:95, v/v) pumped at a flow rate of 0.7 mL/min and 30℃ of the operating temperature of column. Drift tube temperature is set at 104℃ and the gas (air) flow rate is 2.8 L/min. The calibration curve is linear ( $r = 0.9991$ ) within the range of 2.5–12.5 μg/μL for methyl glucoside. The recoveries are in the range from 100.0% to 106.3%. This method is simple, accurate, highly sensitive and reproducible, which is suitable for the determination of methyl glucoside.

**Key words:** HPLC; ELSD; methyl glucoside; assay

甲基葡萄糖苷(简称 MEG)性质稳定, 无毒, 低刺激性, 相容性好, 是一种新型、绿色的非离子表面活性剂, 广泛应用于钻井液、树脂调节剂、食品添加剂、化妆品行业<sup>[1-4]</sup>。其分子结构式如图 1 所示。

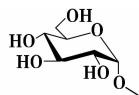


图 1 甲基葡萄糖苷分子结构式

淀粉、纤维素和葡萄糖作为天然可再生的资源被用于 MEG 的合成, 他们与甲醇在酸催化条件下直接缩合反应生成 MEG<sup>[5-8]</sup>。工业级 MEG 是一个复杂的混合物, 要确定其中 MEG 的含量, 经常使用 DNS 还原糖检测法, 通过检测水解前后还原糖的变化量来判断 MEG 的含量<sup>[9]</sup>, 但 MEG 合成通常在酸催化下进行, 而 DNS 法是在碱性条件下测定, 因此用 DNS 法测 MEG 含量会受到较大的影响。目前建立的气、液相色谱法一般用于检测烷基多糖苷, 未见专一性测定 MEG 的高效液相色谱法<sup>[10]</sup>。

HPLC 的传统检测器为示差折光检测器(RID)和紫外检测器(UV), 但 RID 检测灵敏度低, 受外界

因素影响较大<sup>[11]</sup>; MEG 这类糖苷物质紫外吸收很弱, 若要使用紫外检测器则需要对 MEG 进行衍生。蒸发光检测器(ELSD)基于不挥发性样品颗粒对光的散射程度与其质量成正比而进行检测, 对没有紫外吸收、荧光或电活性的物质以及产生末端紫外吸收的物质均能产生响应, 且无溶剂峰干扰, 弥补了 HPLC 传统检测器的不足, 适用于 MEG 的检测。因此笔者结合文献中对烷基糖苷的检测方法<sup>[12-14]</sup>, 对 HPLC—ELSD 测定 MEG 含量进行了探索, 建立了一种快速、准确、直接测定 MEG 的方法。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

LabAlliance Series III 高效液相色谱泵, 美国 Alltech 公司生产; Alltech UVIS-201 紫外吸收检测器, 美国 Alltech 公司生产; Alltech ELSD 2000E 蒸发光散射检测器, 美国 Alltech 公司生产。

甲基- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷标准品, 质量分数为 98%, 上海晶纯生化科技股份有限公司生产; 甲基葡萄糖苷样品, 实验室合成; D-无水葡萄糖, AR, 成都科龙化工试剂厂生产; 蔗糖, AR, 成都科龙化工试剂

厂生产;甲醇,色谱纯,Fisher 公司生产;乙腈,色谱纯,Tedia 公司生产;超纯水。

## 1.2 溶液的制备

### 1.2.1 对照品溶液的制备

精密称取甲基葡萄糖苷标准品适量,置于 100 mL 容量瓶中,用超纯水溶解并定容,溶液质量浓度为 1 mg/mL,经 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤即为对照品溶液。

### 1.2.2 供试品溶液的制备

分别称取甲基葡萄糖苷样品、D-无水葡萄糖、蔗糖适量,置于 100 mL 容量瓶中,用超纯水溶解并定容,经 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤得到各供试品溶液;利用同样的方法制备甲基葡萄糖苷标准品、D-无水葡萄糖、蔗糖的混合溶液。

## 1.3 实验方法

分别对不同流动相的组成、流速及检测器参数等色谱条件进行优化,得出最佳的检测条件,建立标准曲线回归方程,并考察了该方法的精密度、重复性、稳定性和回收率。

## 2 结果与讨论

### 2.1 色谱条件的优化选择

由于甲基葡萄糖苷与其合成原料之一的葡萄糖性质相似,为保证良好的分离效果及尽量短的保留时间,对流动相的种类、流速以及检测器条件进行了优化。

#### 2.1.1 流动相种类的选择

测试了相同流速,不同比例的甲醇-水、乙腈-水作为流动相时甲基葡萄糖苷、葡萄糖、蔗糖的分离效果。结果发现,有机相含量较高时,葡萄糖与甲基葡萄糖苷无法有效分离;随着水相比例升高,分离效果变好。有机相选择甲醇或乙腈对分离效果影响不大,但甲醇略好于乙腈,考虑甲醇价格低于乙腈,选定流动相为:V(甲醇):V(水) = 5:95。

#### 2.1.2 流动相流速的选择

在流动相 V(甲醇):V(水) = 5:95 下,调节流速分别为 0.5、0.7、1.0 mL/min,分析流速对分离效果的影响。结果发现:流速为 0.7 mL/min 时,各组分基线分离,峰形良好。而流速太低时,峰形容易拖尾,太高则导致峰形的重叠,综合考虑选择流速为 0.7 mL/min。

#### 2.1.3 检测器的选择

为了验证紫外检测器不适用于 MEG 的检测,选择了紫外、ELSD 2 个检测器同时检测分离物。结果发现,即使通过调节不同的吸收波长,紫外检测器也

不能检测到信号,说明紫外检测器不适用于该体系,分析其原因是 MEG 是糖苷类物质,分子结构(如图 1)中不含有生色基团,故而无紫外吸收;而 ELSD 检测器灵敏度高,适用于甲基葡萄糖苷的检测。

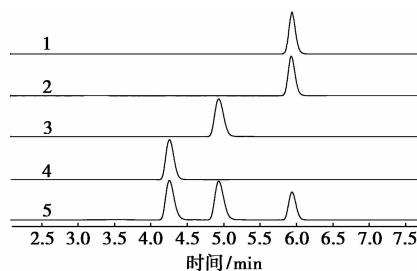
#### 2.1.4 ELSD 参数的选择

载气流速和漂移管温度是 ELSD 检测器的 2 个重要参数,其选择原则是使信噪比达到较好的水平。漂移管温度过高会导致噪音变大,温度过低则会使流动相挥发不完全从而导致基线升高,影响测定。实验中发现,漂移管温度为 104 $^{\circ}\text{C}$ ,载气流速为 2.8 L/min 时,噪音较小,信号最强。此时检出限为 50  $\mu\text{g/mL}$ 。

综上所述,甲基葡萄糖苷检测的最佳条件为:Alltech Apollo C18 色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相为 V(甲醇):V(水) = 5:95;流速为 0.7 mL/min;柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ ;蒸发光散射检测器漂移管温度为 104 $^{\circ}\text{C}$ ;载气(空气)流速为 2.8 L/min。

## 2.2 系统适用性试验

为确定优化的色谱条件能分离 MEG 合成反应中的物质,将配置的葡萄糖、蔗糖、甲基葡萄糖苷溶液及其混合溶液在确定的色谱条件下分别进样分析,结果如图 2 所示。其中葡萄糖是 MEG 合成反应常用原料,蔗糖代表体系中可能存在的二糖,用混合溶液模拟 MEG 反应液。



1—甲基葡萄糖苷标准品;2—甲基葡萄糖苷样品;  
3—蔗糖;4—葡萄糖;5—混合溶液

图2 甲基葡萄糖苷的高效液相色谱图

由图 2 中的谱线 1 和谱线 2 可知,实验室自制的甲基葡萄糖苷样品与标准品出峰一致,保留时间约为 5.9 min,分析时间短;由谱线 5 可知,甲基葡萄糖苷可以与葡萄糖、蔗糖基线分离,说明该条件可用于分析 MEG 合成反应的反应液。因此,该色谱条件适用于甲基葡萄糖苷含量的检测,也有望用于 MEG 合成反应的监测。

## 2.3 线性关系考察

取上述对照品溶液,分别进样 12.5、10、7.5、5、2.5  $\mu\text{L}$ ,以各对照品进样质量( $\mu\text{g}$ )的常用对数为横

坐标  $X$ , ELSD 峰面积的常用对数为纵坐标  $Y$ , 绘制标准曲线, 所得到的线性回归方程为:  $Y = 1.733\ 79X + 5.263\ 27$ ,  $r = 0.999\ 1$ 。线性范围为  $2.5 \sim 12.5\ \mu\text{g}$ 。

## 2.4 精密度和重复性试验

精密吸取同一甲基葡萄糖苷对照品溶液  $5\ \mu\text{L}$ , 按 1.2.2 的色谱条件重复进样 6 次, 测定 MEG 质量浓度并计算其相对标准偏差 ( $RSD$ ), 考察方法的精密度, 结果如表 1 所示。

分别精密称取同一批合成的甲基葡萄糖苷样品 6 份, 每份  $0.050\ \text{g}$ , 按照 1.2.1 的方法制备 6 份供试品溶液, 进样  $5\ \mu\text{L}$  测定 MEG 质量浓度并计算  $RSD$ , 考察方法重复性, 结果如表 1 所示。

表 1 精密度和重复性试验结果 ( $n = 6$ )

项目	甲基葡萄糖苷质量浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$						相对标准偏差/%
	1	2	3	4	5	6	
精密度	0.937	0.958	0.940	0.935	0.954	0.945	0.99
重复性	0.575	0.573	0.578	0.572	0.579	0.575	0.47

从表 1 可以看出, 精密度试验中  $RSD$  为  $0.99\%$ , 说明仪器精密性良好; 重复性试验中  $RSD$  为  $0.47\%$ , 表明该方法重现性良好。

## 2.5 稳定性试验

精密称取合成的甲基葡萄糖苷  $0.100\ \text{g}$ , 按 1.2.1 所述的方法制备供试品溶液, 分别在  $0, 2, 4, 6, 8, 12\ \text{h}$  进样测定峰面积, 计算  $RSD$  为  $0.68\%$ , 表明供试溶液  $12\ \text{h}$  内稳定性良好。

## 2.6 回收率试验

为了全面考察方法的正确性, 在定量的甲基葡萄糖苷样品中分别加入低、中、高不同添加水平的甲基葡萄糖苷标准品, 按供试品溶液的制备方法和测定条件测定甲基葡萄糖苷的含量, 结果如表 2 所示。

表 2 回收率实验结果 ( $n = 9$ )

样品量/g	添标量/g	实测值/g	回收率/%	相对标准偏差/%
0.097	0.079	0.181	106.3	1.9
		0.178	102.5	
		0.179	103.8	
0.097	0.099	0.201	105.1	
		0.200	104.0	
		0.200	104.0	
0.097	0.120	0.220	102.5	
		0.218	100.8	
		0.217	100.0	

从表 2 可知, 在  $0.079 \sim 0.120\ \text{g}$  的添加范围内, 方法回收率为  $100\% \sim 106.3\%$ , 表明该检测方法准确可靠。

## 3 结论

采用 HPLC—ELSD 法检测甲基葡萄糖苷含量, 样品前处理简单、方便; 使用 Alltech Apollo C18 色谱柱 ( $4.6\ \text{mm} \times 250\ \text{mm}, 5\ \mu\text{m}$ ) 和 ELSD 检测器, 色谱条件为流动相:  $V(\text{甲醇}) : V(\text{水}) = 5 : 95$ ; 流速为  $0.7\ \text{mL}/\text{min}$ ; 柱温为  $30\ ^\circ\text{C}$ , ELSD 检测器漂移管温度为  $104\ ^\circ\text{C}$ ; 载气 (空气) 流速为  $2.8\ \text{L}/\text{min}$ 。甲基葡萄糖苷保留时间为  $5.7\ \text{min}$ , 与混合液中物质分离效果良好。采用外标法定量分析, 线性关系的相关系数为  $0.999\ 1$ ; 精密度、重复性及稳定性的  $RSD$  分别为  $0.99\%$ 、 $0.47\%$ 、 $0.68\%$ ; 回收率为  $100\% \sim 106.3\%$ , 其  $RSD$  为  $1.9\%$ , 具有良好的重复性和再现性, 是检测甲基葡萄糖苷含量的理想方法。该方法也能用于甲基葡萄糖苷合成反应中产物含量的快速直接监测。

## 参考文献

- [1] 周建国, 高连星, 薛玉志. 甲基葡萄糖苷的合成及在钻井液中的应用[J]. 精细石油化工进展, 2005, 08: 19-21.
- [2] 李明. 甲基葡萄糖苷的合成及其应用[J]. 沈阳化工, 1997, 03: 39-42.
- [3] 刘灯峰, 陈朗秋, 李宏伟, 等. 烷基- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷的合成与性能[J]. 应用化学, 2013, 10: 1120-1126.
- [4] 窦红梅, 许承阳. 甲基葡萄糖苷—超低渗透钻井液性能评价[J]. 钻井液与完井液, 2006, 06: 36-38+84.
- [5] 王军. 烷基多苷及衍生物[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001.
- [6] 王青宁, 张飞龙, 李澜, 等. 红薯淀粉烷基多糖苷生产工艺研究[J]. 精细化工, 2007, 06: 544-548.
- [7] Cadotte J E, Smith F, Spriestersbach D. A new synthesis of glycosides[J]. Journal of the American Chemical Society, 1952, 74(6): 1501-1504.
- [8] Nüchter M, Ondruschka B, Lautenschläger W. Microwave-assisted synthesis of alkyl glycosides[J]. Synthetic Communications, 2001, 31(9): 1277-1283.
- [9] 贾寿华, 曹晓群, 高吉刚. 分光光度法测定  $\alpha$ -甲基葡萄糖苷中的葡萄糖[J]. 日用化学工业, 2003, 04: 261-263.
- [10] 韩宝华, 程理. 烷基多糖苷的分析方法现状[J]. 理化检验(化学分册), 2009, 07: 881-884.
- [11] 李公斌, 辛秀兰. HPLC—ELSD 法测定酸奶中乳糖的含量[J]. 食品研究与开发, 2011, 11: 99-101.
- [12] 朱爱淑. 烷基糖苷的高效液相色谱法分析[J]. 化工科技, 2002, 01: 38-40.
- [13] Czichocki G, Fiedler H, Haage K, et al. Characterization of alkyl polyglycosides by both reversed-phase and normal-phase modes of high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 943(2): 241-250.
- [14] Svensson D, Adlercreutz P. Characterisation of a glycosylated alkyl polyglycoside produced by a cyclodextrin glycosyltransferase by HPLC-ELSD and-MS[J]. Journal of Chromatography B, 2011, 879(21): 1857-1860. ■