

技术与方法

植物组织中糖与糖醇乙酰化及毛细管气相色谱分析^①

^{1,3}胡磊 ²郭蓓 ^{1,3}陆海 ¹邹祥旺 ^{1,3}李悦 ^{1,3}蒋湘宁^②

¹(北京林业大学生命科学与技术学院 北京 100083) ²(北京农学院生物技术系 北京 102206)

³(国家林业局树木花卉育种生物工程重点开放实验室 北京 100083)

摘要 介绍了一种用1-甲基咪唑为溶剂和催化剂、盐酸羟胺和乙酸酐为脎化和乙酰化试剂,对植物样品中糖与糖醇进行乙酰化衍生化后的气相色谱分离和质谱鉴定的分析方法。并对糖与糖醇乙酰化影响较大的反应温度、反应时间、反应物组成和反应物浓度等条件进行了比较研究,确定了糖与糖醇乙酰化各步反应的最佳反应温度和反应时间,分析了各组间相互作用及其用量对衍生化效率的影响。对多种糖与糖醇乙酰化产物进行毛细管气相色谱分离、FID检测及GC-MS结构鉴定。研究证明,在合适条件下应用此方法对糖与糖醇进行乙酰化,反应完全,产物单一,能得到理想的分离、检测和定量分析效果。适用于微量植物组织中多种单糖、双糖及其糖醇的定量分析。

关键词 1-甲基咪唑, 糖与糖醇, 乙酰化, 气相色谱, 气质联用(GC-MS)

Gas Chromatographic Analysis of Sugar and Sugar Alcohol Derivatives Through 1-Methylimidazole Catalyzed Acetylation

^{1,3}HU Lei ²GUO Bei ^{1,3}LU Hai ¹ZOU Xiang-Wang ^{1,3}LI Yue ^{1,3}JIANG Xiang-Ning^②

¹(College of Life Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083)

²(College of Biotechnology, Beijing Agriculture College, Beijing 102206)

³(Tree Breeding and Biotechnology Laboratory of National Forestry Administrative, Beijing 100083)

Abstract Sugars and sugar alcohols are widely distributed natural compounds with high boiling and melting points. Chemical and instrumental analysis of sugars and sugar alcohols needs to derivate them into their derivatives. In this study, 1-methylimidazole was used as solvent and catalyst, hydroxylamine hydrochloride and acetic anhydride were used as reagent for oximization and acetylation, respectively. The optimal temperature and time for the reaction of derivation were determined through the experiments. The effect of the components and the proper dosage of sugar and sugar alcohol were discussed. The products of the derivation reaction were separated effectively by gas chromatography with a capillary column, detected by a FID detector and structurally identified and characterized by GC-MS. The result of GC-FID and GC-MS shows that sugars and sugar alcohols can be acetylated

①国家重大基础研究 973 项目(G1999016005)资助。

②通讯作者。Author for correspondence. E-mail: jiangxn@bjfu.edu.cn

收稿日期: 2003-09-22 接受日期: 2004-07-22 责任编辑: 白羽红

completely under optimized conditions. The result of GC-FID analysis shows that sugars and sugar alcohols can be separated, detected and quantitatively determined.

Key words 1-methylimidazole, Sugar and sugar alcohol, Acetylation, Gas chromatography, GC-MS

单糖、双糖及其糖醇广泛存在于自然界各种生物中。植物体内的糖醇具有提供能量、清除多余自由基和调节植物细胞渗透压从而提高植物抗逆性等生理功能(Loescher, 1987)。许多学者试图阐明糖醇类物质与植物抗逆性的相关性及其作用机理。但是植物组织中糖醇类物质浓度相对较低,采用一般的粗测定的方法很难得到其准确含量,因而很有必要建立一种快速且灵敏的糖醇类物质分析方法。

采用毛细管气相色谱法测定糖与糖醇具有速度快、分离效果好以及灵敏度高优点。在气相色谱分析之前,需将糖与糖醇制备成易挥发且热稳定的衍生物。常用的衍生化方法有三甲基硅烷化(TMS)、甲基化和乙酰化,这3种方法各有利弊。TMS化方法简便,成本低廉,但其衍生化产物分子量大,往往会影响分离效果(苏桂琴等, 1988)。而且TMS化对无水条件要求较高,产物极易水解。糖与糖醇甲基化衍生是可行的,但分析特异性低,对于某些物质的分离效果不理想(方一苇, 1994)。糖和糖醇经乙酰化后分子量适中,对一些常见的糖类物质均能有效分离,但目前在制备糖腈乙酯时人们多用吡啶作溶剂,反应耗时太长(李铁林等, 1981)。用1-甲基咪唑作溶剂和催化剂,衍生化反应仅需10 min即可结束(Chen *et al.*, 1981),而且花费不高,前人在不同衍生化条件下应用过此法(Chen *et al.*, 1981; 王慧中等, 2000),但对于该衍生化方法的最佳反应条件还未见报道。本研究以葡萄糖、甘露醇、山梨醇和核糖醇为标准样品对该乙酰化反应条件进行对比研究,试图确定该方法的最佳反应条件,并拟定适用于微量植物样品中多种糖与糖醇的快速、准确的定性和定量分析方法。

1 材料与方法

1.1 材料

使用的试剂有1-甲基咪唑(sigma公司)、盐酸羟胺、乙酸酐和无水硫酸钠(R.A)。

糖和糖醇标准物为D-葡萄糖(Glu)、甘露醇(Man)、D-山梨醇(Sor)和核糖醇(Rib),以上标准物均为分析纯。

器材包括真空浓缩仪、Varian CP-3800型气相色谱仪、VOYAGER气相色谱-质谱仪和微量注射器等。

1.2 衍生化条件分析

糖类的乙酰化衍生,实质经历了两步反应:脎化反应和乙酰化反应,不同的脎化反应条件、乙酰化反应条件、各组份间的相互作用及用量多少均属反应条件之列。

1.2.1 脎化条件分析 为了获得脎化反应的最佳温度和反应时间,分别在室温、50℃和80℃条件下反应2、5、10、20 min或更长时间,试验方法如下:

取16支小玻璃管,每一小管中均用微量进样器加入0.4 mg·mL⁻¹甘露醇和葡萄糖水溶液各10 μL,混匀后真空浓缩干燥,加入盐酸羟胺溶液(1-甲基咪唑为溶剂,100 mg·mL⁻¹) 25 μL,其中8支在室温条件下分别反应2、5、10、20、30、60、120和720 min,4支放入50℃水浴中分别反应2、5、10和20 min,4支放入80℃水浴中分别反应2、5、10和20 min,各

管反应到达预定时间之后分别加入 25 μL 乙酸酐，混匀，室温反应 5 min，用 200 μL 氯仿萃取产物，500 μL 水洗 3~4 遍，最后用无水硫酸钠吸去残余水分。取适量混合衍生化产物和适量内标混匀，封装于毛细管中，保证内标终浓度为 0.01 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

1.2.2 乙酰化条件分析 取 6 支小管，每一小管中均用微量进样器加入 0.4 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 甘露醇和葡萄糖水溶液各 10 μL 混匀后真空浓缩干燥，加入盐酸羟胺溶液 25 μL ，放入 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 5 min；取出后加入乙酸酐，其中一管加入乙酸酐混匀后立即加入 200 μL 氯仿，其余 5 管分别反应 3、5、10、20 和 30 min 后再加氯仿提取，水洗后用无水硫酸钠干燥，加适量内标(0.01 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)封装于毛细管中。

1.2.3 不同组分对衍生化反应效率的影响 为了解各反应物之间在衍生化反应过程中是否存在相互影响或竞争作用，取 5 支小玻璃管，按表 1 分别加入糖或糖醇样品，葡萄糖、甘露醇和山梨醇水溶液浓度均为 0.4 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，抽真空浓缩干燥后分别加入 25 μL 盐酸羟胺溶液，80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 5 min，取出加 25 μL 乙酸酐反应 5 min，200 μL 氯仿萃取衍生化产物，此后操作同上。

1.2.4 糖与糖醇用量对衍生化反应效率的影响 为确定该衍生化方法的最佳糖与糖醇用量，取 9 支小玻璃管均加入葡萄糖、甘露醇和山梨醇 3 个组分，各管中样品用量(各组分用量相同)分别为 0.002、0.004、0.008、0.016、0.032、0.064、0.128、0.256 和 0.512 mg。分别加入 25 μL 盐酸羟胺，80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 5 min，取出加 25 μL 乙酸酐反应 5 min，均用 200 μL 氯仿提取，水洗后加适量内标(0.01 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)混匀封装于毛细管中，用于气相色谱分析。

1.3 毛细管气相色谱、气质联用分析与检测条件

美国 Varian 公司 CP-3800 型气相色谱仪，FID 检测器，检测器温度为 300 $^{\circ}\text{C}$ ，进样器温度为 250 $^{\circ}\text{C}$ ，BP-15 柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm)， N_2 、 H_2 和空气气压均为 16 psi，初始温度 50 $^{\circ}\text{C}$ ，15 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温到 220 $^{\circ}\text{C}$ ，保留 3 min，25 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温到 280 $^{\circ}\text{C}$ ，保留 10 min。

VOYAGER GC/MS 仪，TRACE GC 仪，检测器温度为 300 $^{\circ}\text{C}$ ，进样器温度为 250 $^{\circ}\text{C}$ ，BP-15 柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm)，载气 He 0.8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ，初始温度 50 $^{\circ}\text{C}$ ，20 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温到 200 $^{\circ}\text{C}$ ，10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温到 280 $^{\circ}\text{C}$ ，保留 10 min。

1.4 糖与糖醇定量分析

取植物鲜样 0.02~0.5 g，加入 0.02 mg 内标，液氮研磨成细碎粉末或加少许石英砂研磨至匀浆，加入 1~4 mL 碳水化合物抽提液(甲醇:氯仿:水= 12:5:3) (Tarczynski *et al.*, 1992; 王慧中等, 2000)，随后加入等体积水，混匀，静置片刻，将上清液过滤转入浓缩瓶中，抽真空浓缩至干，待其冷却后加少许 1- 甲基咪唑悬浮。加入 0.1 mL 盐酸羟胺溶液，混匀 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 5 min，取出加入 0.15 mL 乙酸酐，混匀室温反应 5 min，加入 1 mL 氯仿萃取衍生化产物，然后用二倍体积水洗 3~4 遍，用无水硫酸钠吸去残余水分后，直接封装于毛细管中，待测。

用气相 - 质谱联用技术(气质联用 GC-MS)定性，用毛细管气相色谱法定量。定量时，以核糖醇为内标，分别作甘露醇、山梨醇和葡萄糖的标准曲线，内标在进样前一刻加入。标

表 1 各反应管中所加组分及其用量
Table 1 The compounds and their volume added into each reacting tube

编号 No.	1	2	3	4	5
组分					
Compound	10 μL Glu	10 μL Man	Glu 和 Man 各 10 μL	Man 和 Sor 各 10 μL	Glu、Man 和 Sor 各 10 μL

准曲线的制作以及最后的样品中目的物定量,直接借助于 Agilent 公司提供的分析软件。

2 结果与分析

2.1 初步定性和分离结果

按王慧中等(2000)所使用的方法将各样品衍生化,加入内标,进行气相色谱分析,验证其分离效果,然后用 GC-MS 进行定性分析,测定衍生化产物结构,结果如图 1~图 6。从图中可以看出各组分均能很好地分离,

其中甘露醇和山梨醇是同分异构体,二者仍能完全分离。从各检出物质谱图及其结构鉴定结果可知糖的醛基经肟化反应转变成腈基,糖和糖醇的各个羟基均被乙酰基取代,说明衍生化完全,该方法可行。因毛细管气相色谱和 GC-MS 升温程序稍有出入,故二者保留时间不一致,GC-MS 出峰时间大约提前 2.5 min。

2.2 衍生化条件试验

2.2.1 不同肟化温度和时间对衍生化反应的影响 将室温下不同肟化时间处理后得到的衍生

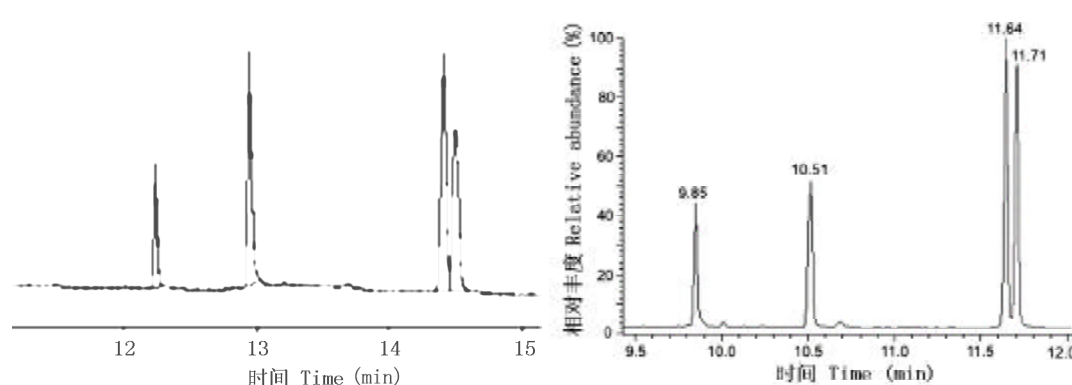


图 1 Glu、Man、Sor 和 Rib 衍生产物气相色谱图

Fig. 1 Gas chromatogram of derivated mixed standard sample

图 2 Glu、Man、Sor 和 Rib 衍生产物总离子流图

Fig. 2 Total ion current of derivated products of mixed standards by GC-MS

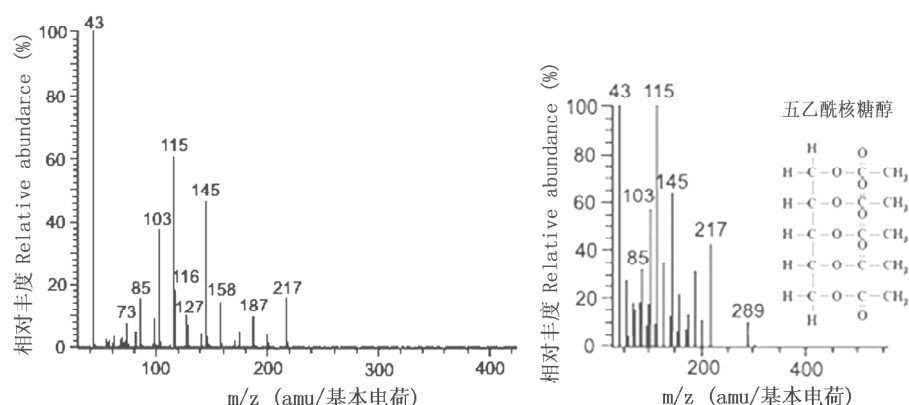


图3 混合标样衍生产物保留时间为9.85 min的质谱图(左)核糖醇乙酰化产物标准质谱图及其结构图(右)

Fig. 3 Mass spectrum of retention time of 9.85 min for derivated mixed standards by GC-MS (left) standard mass spectrum and structure of acetylated ribitol (right)

化产物进行气相色谱分析,结果发现反应时间短的除各样品对应的峰外,在 13.724 处增加了一种检出物,而反应时间长的出现的峰数与所加入的标准样品数相符,且保留时间与 2.1 结果相同(图 7 和图 8)。为确定该多余检出物的结构,另将此样品进行 GC-MS 分析,结果如图 9 和图 10。从质谱及结构图可以看出,13.724 处检出物是葡萄糖未经脗化而直接进行乙酰化的产物,充分说明这是脗化反应进行不完全的结果。不同脗化时间处理结果(图 11)表明,室温下脗化反应在 30 min 以前均有不完全反应产物产生,30 min 以后反应完全,且达到平衡。

对 50°C 水浴中不同脗化时间处理所得衍生化产物进行气相色谱分析,结果(表 2)表明,在 50°C 条件下进行脗化反应,2 min 以后即能反应完全,10 min 时衍生化效果最好,但此时反应未达平衡,约 20 min 时反应稳定。

80°C 水浴中不同脗化时间处理后,衍生化产物气相色谱分析结果(表 3)表明,在 80°C 条件

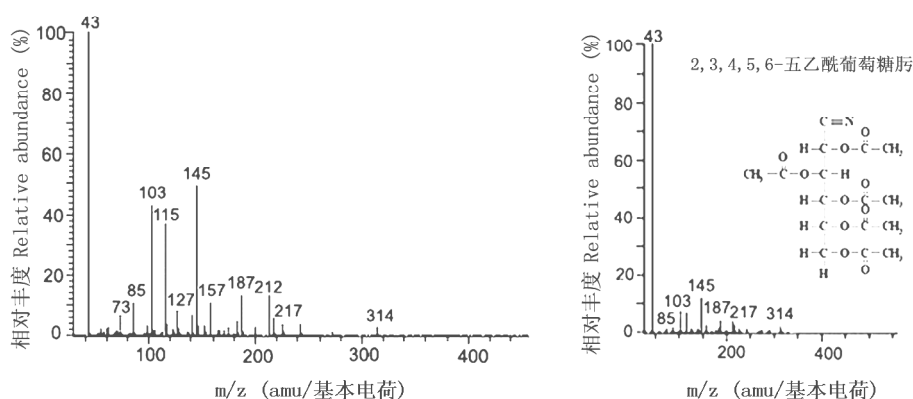


图4 混合标样衍生产物保留时间为10.51 min的质谱图(左)葡萄糖脗乙酰化产物标准质谱图及其结构图(右)

Fig. 4 Mass spectrum for derived mixed standards retention time: 10.51 min by GC-MS (left) standard mass spectrum and structure of acetylated glucose (right)

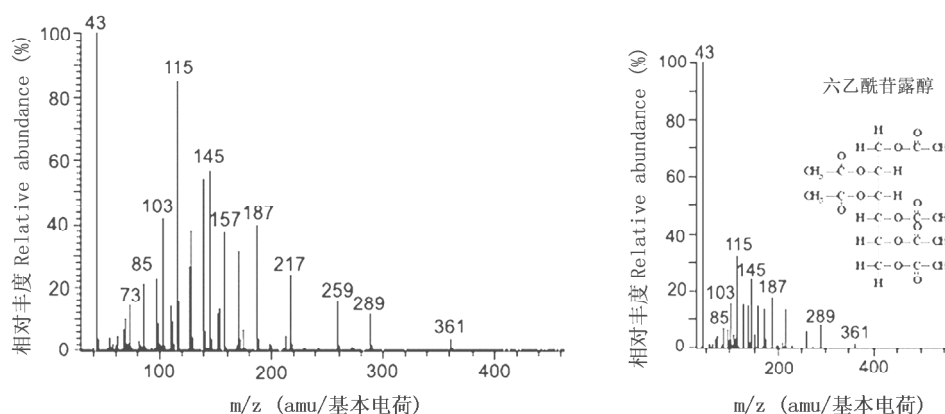


图5 混合标样衍生产物保留时间为 11.64 min 的质谱图(左)甘露醇乙酰化产物标准质谱图及其结构图(右)

Fig. 5 Mass spectrum for derived mixed standards retention time: 11.64 min by GC-MS (left) standard mass spectrum and structure of acetylated mannitol (right)

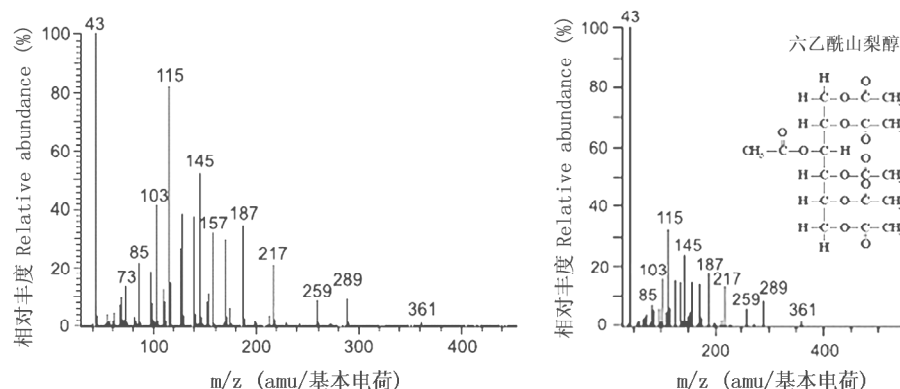


图6 混合标样衍生产物保留时间为 11.71 min 的质谱图(左)山梨醇乙酰化产物标准质谱图及其结构图(右)

Fig. 6 Mass spectrum for derivated mixed standards retention time: 11.71 min by GC-MS (left) standard mass spectrum and structure of acetylated sorbitol (right)

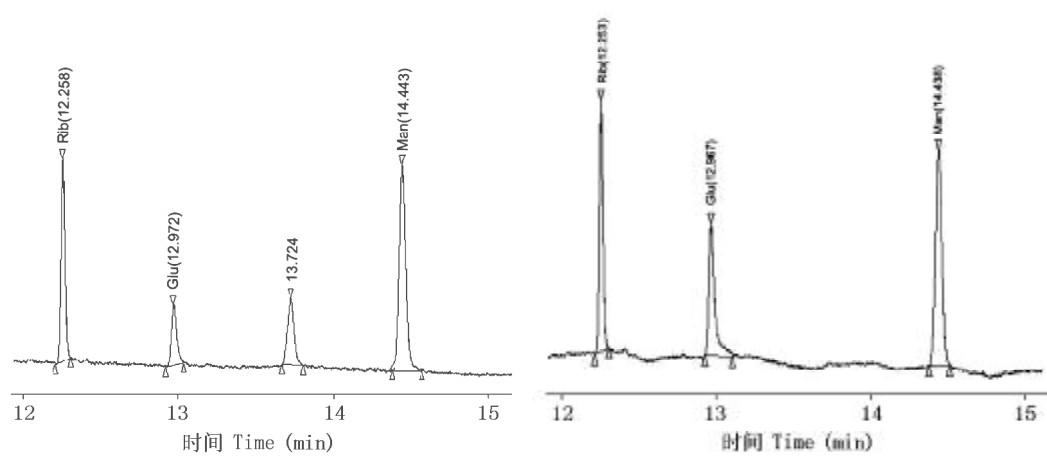


图7 室温脗化 5 min 所得衍生化产物色谱图

Fig. 7 Chromatogram of mixed standards after oximized for 5 min and acetylated

图8 室温脗化 30 min 所得衍生化产物色谱图

Fig. 8 Chromatogram of mixed standards after oximized for 30 min and acetylated

下脗化反应能迅速完成, 且很快即能达到平衡。

综合上述实验结果可以得出以下结论: 室温下脗化反应耗时太长, 而且衍生化效率很低; 50°C水浴中反应速度较快, 能在 10 min 内达到最高衍生化效率, 但反应不够稳定, 时间稍短可能达不到最佳反应效果, 时间稍长反应即向反方向进行, 约在 20 min 左右反应方可达到平衡; 80°C水浴中反应 2 min 内即能达到平衡, 且反应完全, 5 min 时反应更趋稳定, 为节省时间, 减小实验误差, 拟采用 80°C水浴 5 min 作为最佳脗化条件。

2.2.2 反应时间对乙酰化的影响 将脗化后的糖与糖醇进行不同时间的乙酰化处理, 得到的衍生化产物经气相色谱分析后所得结果如图 12 所示。结果显示, 3 min 时糖与糖醇的乙酰化反应产物峰面积达到最大值, 3 min 后开始降低, 5 min 后几乎持平。所以为保证各次反应较好的重复性, 减小实验误差, 加入乙酸酐后最佳反应时间为 5 min。

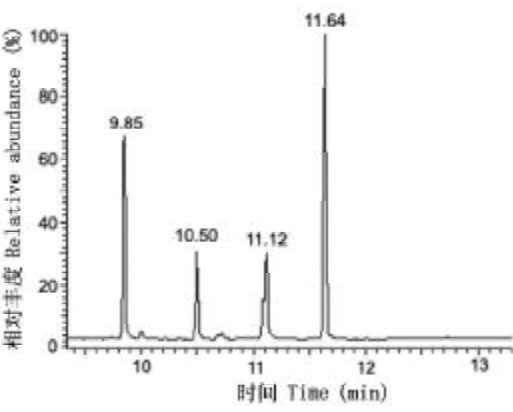


图9 室温肟化 5 min 所得衍生化产物总离子流图

Fig. 9 Total ion current of mixed standards after oximized for 5 min and acetylated

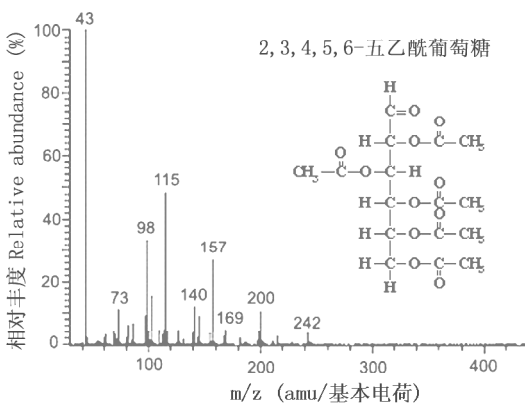


图10 衍生产物保留时间为11.12 min的质谱及结构图

Fig. 10 Mass spectrum for derivated products retention time: 11.12 min

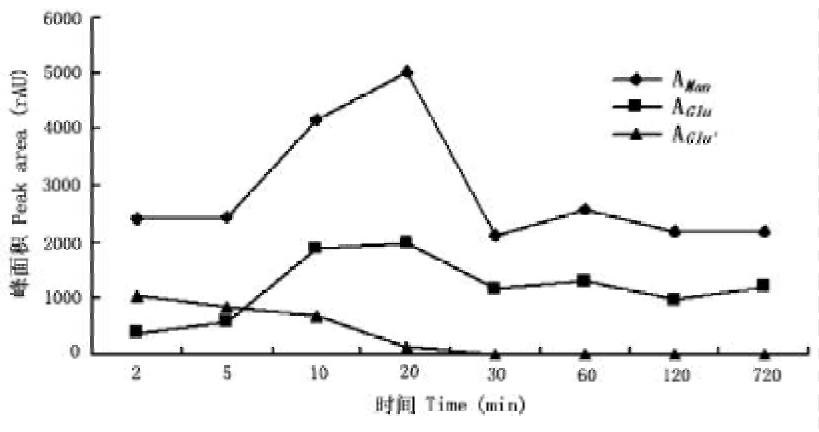


图11 室温下肟化时间对衍生化效果的影响

A_{Glu} 代表谱图中葡萄糖衍生物峰面积, A_{Man} 代表谱图中甘露醇衍生物峰面积, $A_{Glu'}$ 代表谱图中葡萄糖肟化不完全产物峰面积。制备样品时保证各组样品所加内标终浓度相同, 故以核糖醇衍生物峰面积为基准可以将因进样量和进样手法引起的误差降到最低限度

Fig. 11 Result of the reactions after oximization for different time at room temperature

A_{Glu} refers to the peak area of glucose derivative and A_{Man} refers to that of mannitol derivative. $A_{Glu'}$ refers to the peak area of the derivated product of incomplete oximization for glucose. Ribitol was used as the internal standard for the samples. Based on the peak area of ribitol derivative, the error caused by injection and manipulation can be controlled at the lowest level

表2 50℃水浴中肟化时间对反应的影响			
Table 2 Result of reactions after oximization for different time in bath of 50℃			
编号 No.	反应时间 Time (min)	A_{Glu}	A_{Man}
1	2	2337.04	4976.79
2	5	2234.50	4690.88
3	10	3048.28	6235.93
4	20	2214.42	4828.20

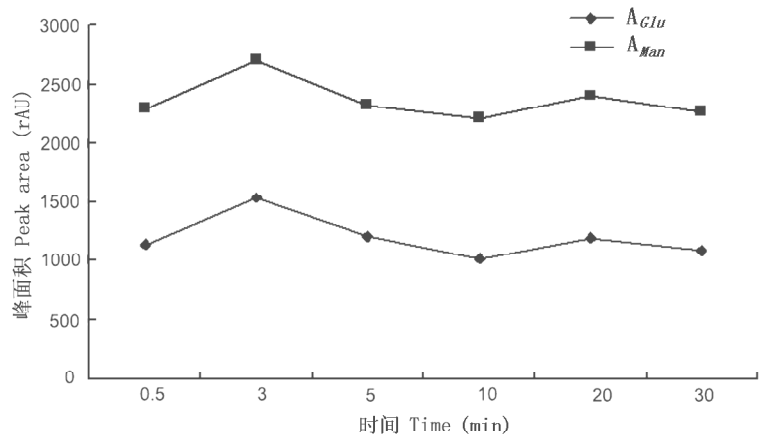


图 12 乙酰化时间对衍生化效率的影响
Fig. 12 Result of derivative reactions after acetylation for different time

2.2.3 组分间的作用对衍生化效率的影响 不同组分组合衍生化反应结果(表 4)表明, 各组分之间有协同衍生化反应的作用, 即糖或糖醇组分越多, 衍生化效果越好。在含葡萄糖的多组分样品中, 各组分衍生化效率比不含葡萄糖的样品高 12% 左右。分析其原因可能是各组分分子之间产生相互作用促进脎化或乙酰化反应; 或某一糖分的反应产物可作为另一组分脎化或乙酰化的催化剂。

2.2.4 糖和糖醇用量对衍生化效率的影响 各反应体系中盐酸羟胺和乙酸酐用量均相同, 根据反应式和各物质分子量计算, 当葡萄糖、甘露醇和山梨醇同时存在, 且用量均达 0.512 mg 时, 25 μ L 盐酸羟胺和 25 μ L 乙酸酐仍能使其反应完全。由图 13 可以看出各组分用量低于 0.256 mg 时, 衍生化产物峰面积随反应物用量增大而接近成比例增加, 用量大于 0.512 mg 时衍生化产物峰面积显著降低。由此可见, 在脎化试剂和乙酰化试剂大大过量时, 参与反应的糖与糖醇量不影响衍生化效率, 但糖与糖醇的量接近理论上完全反应所需糖与糖醇用量时, 衍

表 3 80℃水浴中脎化时间对反应的影响
Table 3 Result of reactions after oximization for different time in bath of 80℃

编号 No.	反应时间 Time (min)	A_{Glu}	A_{Man}
1	2	2031.73	4693.16
2	5	2094.33	4447.13
3	10	2063.39	4441.84
4	20	2012.50	4725.00

表 4 组分间的作用对衍生化效率的影响
Table 4 Result of reactions with different group of sugar and sugar alcohol

编号 No.	组分 Compound	A_{Glu}	A_{Man}	A_{Sor}
1	Glu	1072.64	-	-
2	Man	-	1974.67	-
3	Glu,Man	1182.27	2253.34	-
4	Man,Sor	-	2048.03	2090.46
5	Glu,Man,Sor	1341.20	2314.86	2344.26

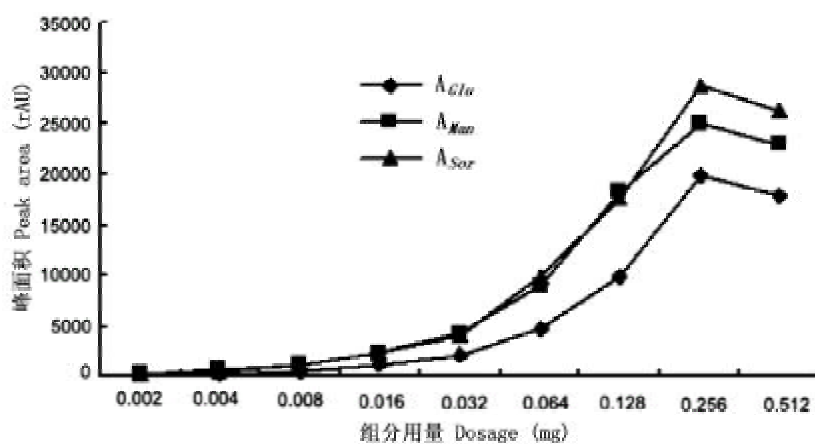


图 13 组分用量与峰面积关系

Fig. 13 Relation of compound dosage and peak area

生化反应明显被抑制, 因为衍生化产物增加会促进反应向逆方向进行。进一步分析曲线的线性相关性可知, 参与反应的糖与糖醇的用量不宜超过理论上与衍生化试剂完全反应所需量的 $1/2$ 。

2.3 定量分析

本方法以核糖醇为内标, 分别作甘露醇、山梨醇和葡萄糖的标准曲线, 以此对样品中相应组分进行定量分析。与一般采用的标准曲线校正法所不同的是, 做校准曲线时, 进样前加入同等浓度的内标, 这样可以将因进样量和进样手法引起的误差降低到最低限, 结果可以得到非常理想的校准曲线。

实验所用的气相色谱仪噪音峰高为 $14 \mu\text{V}$, 系统确认 3 倍峰高为各物质最小检测量, 根据最佳衍生化条件下各组分所出峰高和样品浓度、进样量和分流比计算出甘露醇、山梨醇和葡萄糖的最低检测量分别为 2.49×10^{-11} 、 2.94×10^{-11} 和 $4.04 \times 10^{-11} \text{ g}$ 。图 14 的上图所示为对照毛白杨植株茎中糖与糖醇气相色谱分析结果, 其葡萄糖、甘露醇和山梨醇含量分别为 0.31、0.08 和 $0.004 \text{ mg} \cdot \text{gwf}^{-1}$; 图 14 的下图所示为转基因毛白杨根中糖与糖醇气相色谱分析结果, 其葡萄糖和甘露醇含量分别为 0.33 和 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{gwf}^{-1}$, 山梨醇含量几乎为 0。经质谱鉴定图 14 的下图中未标记的主要几个峰分别为肌醇、肌醇的同分异构体和蔗糖等, 如果做相应物质的标准曲线, 同样可以对其进行定量分析。关于转基因植株和对照植株糖醇含量差异及其分析将另文报道。

3 结论

经过以上一系列衍生化条件试验得出, 用 1-甲基咪唑作为溶剂和催化剂对糖与糖醇进行乙酰化衍生的最佳衍生化条件为 80°C 水浴 5 min, 最佳乙酰化条件为室温反应 5 min, 而且实验结果显示参与反应各糖与糖醇之间存在正向促进作用, 组分越多越利于衍生化反应的进行, 但参与反应的糖与糖醇用量不宜超过理论上与衍生化试剂完全反应所需量的 $1/2$, 否则衍生化反应会受到抑制, 衍生化效率降低。

实际应用表明, 采用该方法对植物组织中糖与糖醇进行衍生化, 用毛细管气相色谱法分

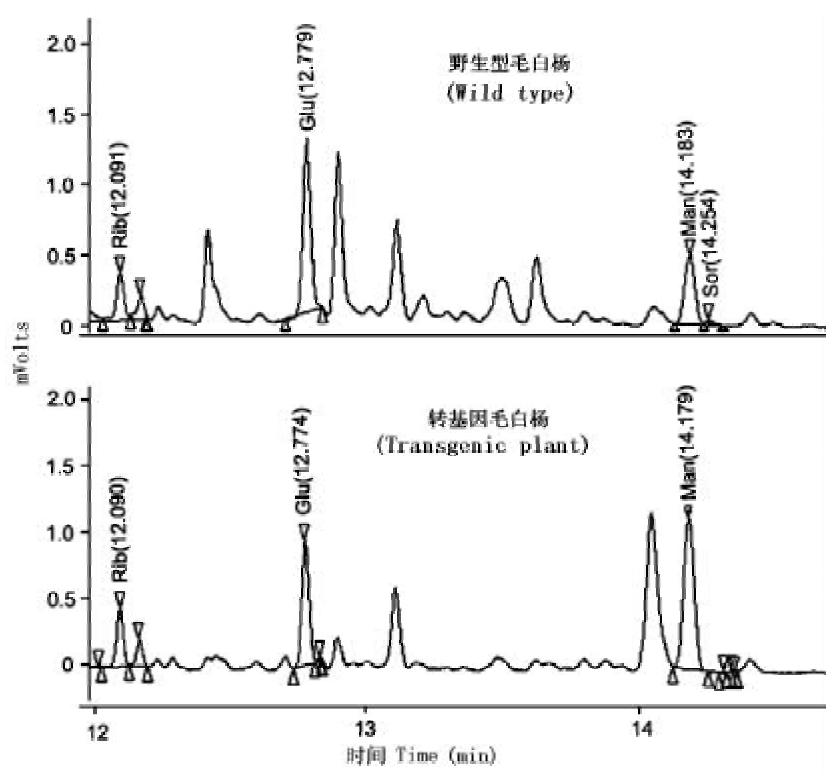


图 14 毛白杨组织(上：对照植株，下：转基因植株)中糖和糖醇气相色谱分析结果

Fig. 14 Gas chromatogram of derived sugars and sugar alcohols in transgenic and wild type *Populus tomentosa*

离，内标法定量，能得到理想的分离和定量效果。

4 讨论

该实验所应用的衍生化方法经历了肟化和乙酰化两步反应。肟化反应相对较复杂，需在一定温度条件下才能顺利向正反应方向进行，且反应持续的时间要恰到好处，时间太短，肟化不完全或反应未达平衡，时间太长，会影响实验进程。乙酰化反应是一放热过程，对温度要求不高，加入乙酸酐后室温下反应 5 min 即可。在前后短短的 10 min 反应之内，实质包括多个化学反应，其中任何一个中间产物受到外界干扰都会对衍生化反应产生相应的影响，这也是多种糖与糖醇同时参与反应时会提高衍生化效率的主要原因。当然，在一定温度条件下，各步反应都存在固定的反应平衡常数，因而参与反应的糖与糖醇用量存在一适宜的范围。本研究拟定的使用范围是根据实验结果较粗略地确定的，适于一般的应用型研究，对于基础的化学理论研究，还需进一步探讨。

从相关化学反应方程式可以看出，糖醇乙酰化不需要加盐酸羟胺进行肟化这一步反应。但在实际应用中，特别是在分析植物组织中糖醇含量时，糖和糖醇通常同时被抽提出来，所以将二者一起衍生化更具实际意义(Rumpho *et al.*, 1983)。如果只需对糖醇进行衍生化，可将糖醇溶于少量 1- 甲基咪唑，加入适量乙酸酐，室温放置 5 min 即可。

植物组织新陈代谢过程中有大量的各种单糖、双糖和糖醇类化合物参与，许多糖和糖醇

的存在对植物生长具有重要的生理意义。多年来,大批学者和研究人员都试图阐明各类糖和糖醇与植物生长及植物抗逆性的关系,但至今仍然没有一个完善而明确的解释。探索之路尤长,建立一种简便、快速和灵敏的糖醇类物质分析方法显得极为重要。本文所拟方法操作简单,衍生化反应迅速,对各糖醇类物质分离效果理想。而且本方法最小检测量可达 10^{-11} g (fg-ng 量级),只需几十毫克的植物鲜样即可完成其糖醇分析。应用该方法既可以准确地测出植物组织中糖醇类物质含量,又不至于对植物造成太大伤害。因此是分析植物组织中糖与糖醇含量的理想方法。此外,糖醇类物质具有溶解热低、粘度小、吸湿性大、甜度低、热量低和能抗氧化等特性,在食品工业和医药卫生等行业应用非常广泛(梁智, 2001),该方法也适用于上述行业的糖醇类物质分析。

致谢 本研究得到了北京林业大学仪器中心陈华君副教授和土壤学教研室吴金科老师的热情帮助, 谨致谢忱。

参 考 文 献

- 方一苇, 1994. 糖结构与质谱分析. 质谱学报, 16(1): 1~8
- 王慧中, 黄大年, 鲁瑞芳, 刘俊君, 钱前, 彭学贤, 2000. 转 *mtlD/gutD* 双价基因水稻的耐盐性. 科学通报, 45: 724~729
- 李铁林, 吴昌贤, 张燕霞, 1981. 糖和糖醇的气相色谱分析研究. 分析化学, 10: 272~276
- 苏桂琴, 高润雄, 殷元骥, 1988. 稀水溶液中葡萄糖和多元醇的气相色谱分析. 色谱, 6: 242~244
- 梁智, 2001. 糖醇. 中国食品添加剂, 3: 40~45
- Chen C C, McGinnis G D, 1981. The use of 1-methylimidazole as a solvent and catalyst for the preparation of aldonitrile acetates of aldoses. *Carbohydr Res*, 90: 127~130
- Loescher W H, 1987. Physiology and metabolism of sugar alcohols in higher plants. *Physiol Plantarum*, 70: 553~557
- Rumpho M E, Edwards G E, Loescher W H, 1983. A pathway for photosynthetic carbon flow to mannitol in celery leaves. *Plant Physiol*, 73: 869~873
- Tarczynski M C, Jensen R G, Bohnert H J, 1992. Expression of a bacterial *mtlD* gene in transgenic tobacco leads to production and accumulation of mannitol. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89: 2600~2604