

# 气相色谱定量分析单糖的研究

杨精干 张宏书

(中国科学院广州化学研究所)

单糖糖脎乙酰酯制备简单,性质稳定,是气相色谱分析葡萄糖、半乳糖、木糖、阿拉伯糖、甘露糖等醛糖的较理想衍生物。本文研究了XE-60和OS-138两种固定液对糖脎乙酰酯的分离,以求配制出适用单糖含量有数量级差别的糖样分析柱;选用4,4'-二异丙基联苯为内标,研究反应条件对糖脎乙酰酯得率的影响;测定阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖(衍生成糖脎乙酰酯)对内标的相对响应值以用于单糖的定量分析。

## 实验部分

### (一) 仪器

SIGMA 2B气相色谱仪

### (二) 气相色谱分析

1. 2m × 4mm 不锈钢色谱柱,分别填充3%XE-60/102,3% OS-138/102和3% XE-60/102(1.4m) + 3%OS-138/102(0.6m)固定相。分析条件:汽化温度250℃;检测器温度230℃;氮气流速30ml/min;柱温200℃和210℃。

### 2. 糖脎乙酰酯的制备

配制含糖和盐酸羟胺各为50mg/ml的吡啶溶液,用4,4'-二异丙基联苯为内标,于不同条件下制备糖脎乙酰酯,定时取样作色谱分析,考察反应条件对其得率的影响。

(1) 取试样三份,在90℃脎化30分钟,再加等体积醋酐,分别在80°、90°和100℃温度乙酰化。

(2) 取试样三份,第一、二份再加与试样同体积的吡啶,三者都在90℃脎化30分钟,第一份加入与试样同体积醋酐,第二、三份加入两倍试样体积醋酐,都在90℃乙酰化。

(3) 取定量试样,使其含水100mg/ml,90℃脎化30分钟,加与试样等体积醋酐,在90℃乙酰化。

## 结果与讨论

(一) 色谱柱对糖脎乙酰酯的分离效能

图1和图2为3%XE-60/102及3%OS-

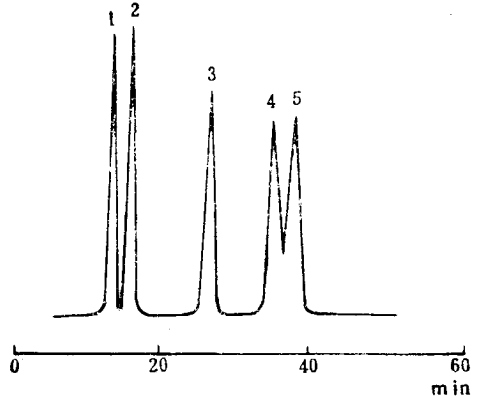


图1 3%XE-60色谱柱糖脎乙酰酯流出图

1. 阿拉伯糖, 2. 木糖, 3. 甘露糖, 4. 葡萄糖, 5. 半乳糖。  
 $R_{1/2}^{(1,2)} = 4.35, R_{1/2}^{(3,4)} = 5.36, R_{1/2}^{(4,5)} = 1.72.$

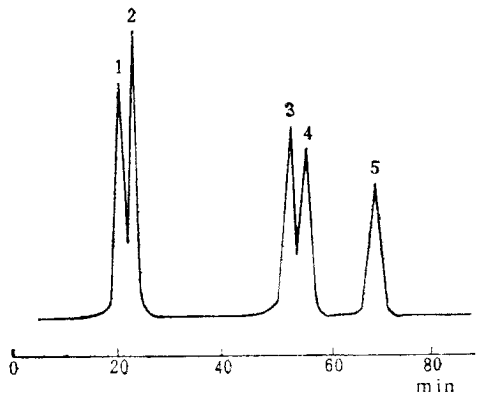


图2 3%OS-138色谱柱糖脎乙酰酯流出图

1. 阿拉伯糖, 2. 木糖, 3. 甘露糖, 4. 葡萄糖, 5. 半乳糖。  
 $R_{1/2}^{(1,2)} = 1.80, R_{1/2}^{(3,4)} = 1.50, R_{1/2}^{(4,5)} = 4.14.$

138/102 色谱柱分离糖腈乙酯的色谱图。  
 色谱柱温度200℃。

色谱图表明，在两种色谱柱上，五种糖腈乙酯的流出次序相同，但 OS-138 色谱柱的分离时间较长，色谱柱的分离效能，采用半峰宽分离度来表示<sup>(1)</sup>：

$$R_{1/2} = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{1}{2}(y_{1/2,1} + y_{1/2,2})} \quad (1)$$

由色谱图按式(1)算得的  $R_{1/2}$  值标在相应的色谱图中。这些  $R_{1/2}$  值表明，XE-60 对阿拉伯糖和木糖、甘露糖与葡萄糖的糖腈乙酯有较高的分离效能，而 OS-138 则对葡萄糖与半乳糖糖腈乙酯有较好的分离效果。但 XE-60 不能把葡萄糖和半乳糖糖腈乙酯完全分开，OS-138 对阿拉伯糖与木糖、甘露糖与葡萄糖糖腈乙酯的分离也不够理想。

相邻色谱峰中，对较小峰来说，其分析误差  $E_A$  与分离效能指标  $R_{1/2}$ 、峰高比  $\phi$  的关系为<sup>(1)</sup>：

$$E_A = \frac{1}{2} \left[ 1 - \operatorname{erf} \left( \sqrt{\ln 2} R_{1/2} - \frac{\ln \phi}{4\sqrt{\ln 2} R_{1/2}} \right) \right] - \frac{1}{2} \phi \left[ 1 - \operatorname{erf} \left( \sqrt{\ln 2} R_{1/2} + \frac{\ln \phi}{4\sqrt{\ln 2} R_{1/2}} \right) \right] \quad (2)$$

若样品中单糖含量有数量级差别，如  $\phi$  为10或100，这样要使面积定量误差小于1%，则由(2)式算得  $R_{1/2}$  值需分别在1.97和2.37以上，可见单独使用 XE-60 和 OS-138 色谱柱都不能满足要求。

根据两种固定液的特点，实验采用分段装柱法，前段1.4m装 XE-60，后段 0.6m 装 OS-138，取两者之所长，以期满足样品含单糖有数量级差别的定量分析。

图3是3%XE-60/102(1.4m) + 3%OS-138/102(0.6m) 色谱柱的分离色谱图，分离条件与图1相同。

由图3所算得的  $R_{1/2}$  都大于2.37，可满足样品中上述单糖含量有两个数量级差，且分析误差小于1%的定量分析。

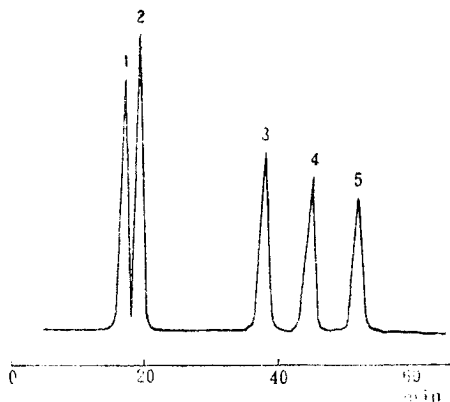


图3 3%XE-60(1.4m)+3%OS-138(0.6m)色谱柱糖腈乙酯流出图

1. 阿拉伯糖, 2. 木糖, 3. 甘露糖, 4. 葡萄糖, 5. 半乳糖。

$R_{1/2}(1,2) = 3.25, R_{1/2}(3,4) = 3.85, R_{1/2}(4,5) = 2.50$ 。

图4为分段装填柱温提高到210℃的色谱图。

柱温升高，总分离效能虽有所降低，但分析时间约为200℃时的  $\frac{2}{3}$ ，30分钟内就能将上述五种糖腈乙酯完全分开。按图4算得  $R_{1/2}$  值最小为2.38，假如相邻峰高比仍为100不变，仍满足分析误差小于1%的要求。

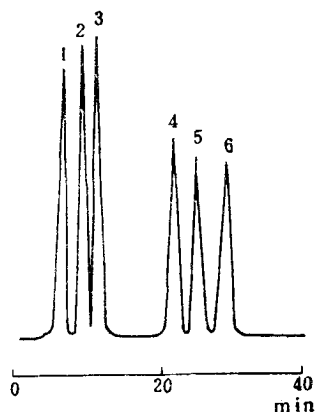


图4 3%XE-60(1.4m)+3%OS-138(0.6m)色谱柱糖腈乙酯流出图

1. 内标, 2. 阿拉伯糖, 3. 木糖, 4. 甘露糖, 5. 葡萄糖, 6. 半乳糖。

$R_{1/2}(1,2) = 3.00, R_{1/2}(3,4) = 3.19, R_{1/2}(4,5) = 2.38$ 。

本色谱柱用于分析糖腈乙酯时，其效果优于聚酯类<sup>(2-4)</sup>和氰烷基硅油类<sup>(5)</sup>等常用柱。它具有分析时间短、分离效能高的特

表 1 几种天然多糖水解产物的单糖组成

多糖	组成%	单糖						
		鼠李糖	岩藻糖	阿拉伯糖	木糖	甘露糖	葡萄糖	半乳糖
台糖134蔗渣5%KOH抽提半纤维素		—	—	8.03	90.88	0.11	0.78	0.20
苧麻2%NaOH抽提半纤维素		28.26	—	5.39	9.91	1.31	7.03	48.04
蔗渣造纸黑液酸沉木素碳水化合物		—	—	8.87	86.80	4.33	—	—
南洋杉树脂		7.78	4.90	13.82	10.66	—	0.86	61.98

点。表 1 为应用本色谱柱对几种天然多糖水解产物的糖份分析结果。对淀粉、纤维素等的醚化、接枝反应产中未起反应葡萄糖单元含量的测定，同样获得良好的效果。

(二) 糖腈乙酯制备条件对定量分析的影响 单糖衍生成糖腈乙酯时，其得率的高低和稳定性，直接影响分析的结果。糖腈乙酯的得率可用单糖（衍生成糖腈乙酯）与内标的相对响应值 S 来表示：

$$S_x = \frac{A_x/W_x}{A_{内}/W_{内}} \quad (3)$$

式中  $A_x$  和  $A_{内}$  分别为单糖糖腈乙酯和内标色谱峰的面积； $W_x$  和  $W_{内}$  是单糖内标在溶液中的浓度 (mg/ml)。

因选用的内标不参与糖腈乙酯制备过程的反应，故  $A_{内}/W_{内}$  在一定色谱分析条件下为恒值。S 值越大，说明生成的糖腈乙酯越多。单糖定量分析常用肌醇作内标，因内标参与衍生化反应，本身也有得率问题，这样，以其为基准算得的相对响应值的 S 大小，不能真正反映被研究单糖糖腈乙酯得率的高低。本文选用不参与反应的 4,4'-二异丙基联苯为内标，研究衍生化反应条件与糖腈乙酯得率的关系，以寻求得率高且稳定的适宜制备条件。

糖腈乙酯的制备，分单糖的脎化和乙酰化两个过程，脎化温度为 80°, 90° 和 100°C 的试验表明，脎化温度对 S 值影响不大，本实验采用脎化温度 90°C，脎化时间定为 30 分钟。

用阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖作衍生化条件试验，结果表明，它们的 S 值变化规律基本相同。以木糖为例，乙

酰化温度，吡啶及醋酐用量对其 S 值影响如图 5 所示。

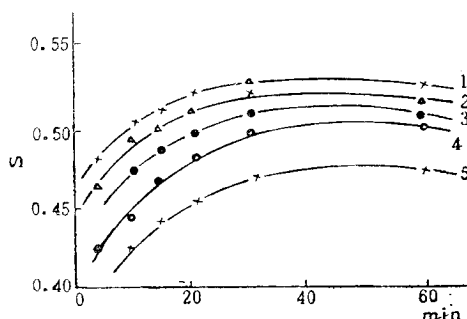


图 5 乙酰化温度及吡啶与醋酐用量比对木糖 S 值的影响

温度：1. 90°C, 2. 100°C, 3. 90°C, 4. 80°C, 5. 90°C。  
吡啶：醋酐：1:1, 1:1, 2:1, 1:1, 1:2。

图 5 表明，在实验范围内，较适宜的制备条件为，吡啶和醋酐用量比为 1:1，乙酰化温度为 90°C，该条件下，曲线相应点的 S 值较高。

表 2 为单糖脎化及乙酰化温度为 90°C，吡啶和醋酐用量比 1:1 时，几种单糖 S 值与反应时间的关系。

表 2 几种单糖相对于 4,4'-二异丙基联苯的响应值

乙酰化时间 (分)	单糖				
	阿拉伯糖	木糖	甘露糖	葡萄糖	半乳糖
20	0.51	0.53	0.56	0.49	0.49
30	0.50	0.54	0.58	0.50	0.49
60	0.51	0.54	0.57	0.50	0.50
平均	0.51	0.54	0.57	0.50	0.49

表 2 说明，乙酰化时间 20 分钟时，几种单糖对内标的相对响应值 S 接近恒定，30 分钟和 60 分钟的 S 值几乎一样。故选用 30 分钟的乙酰化时间，对五种单糖都是适宜的。在糖

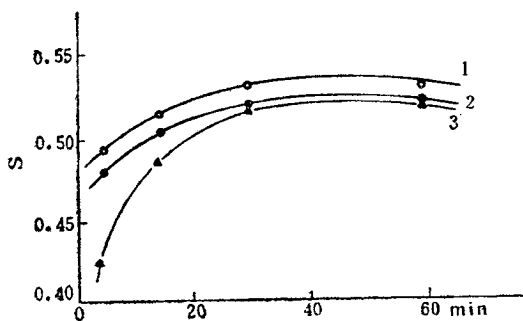


图6 单糖浓度及试样含水对木糖 S 值的影响

单糖浓度(mg/ml)	含水(mg/ml)
1. 25	100
2. 25	0
3. 12.5	0

糖乙酰酯制备条件与本文相同时,表2的 S 值可作为天然多糖水解产物色谱定量分析用。

图6为单糖浓度及试样含水与木糖 S 值的关系曲线。乙酰化温度90℃,吡啶和醋酐用量比为1:1。

图6表明,当单糖浓度降为12.5mg/ml时,其反应速度较慢,但30分钟之后,反应趋于平衡,这时 S 值曲线与浓度为25mg/ml的曲线几乎重合,这时单糖的浓度对糖腈乙酰酯的得率无影响。图6还表明,试样含少量水对糖腈乙酰酯得率影响甚微,其 S 值反略高于无水试样,两种试样的 S 值差值在0.02之内,糖腈乙酰酯得率接近,若试样含少量水,则可直接制备糖腈乙酰酯,无需再干燥。

### 结 论

(一) XE-60与OS-138两段固定相色谱柱,对糖腈乙酰酯的分离效能优于XE-60或OS-138单固定相色谱柱,适于天然多糖水解产物的定量分析。

(二) 单糖糖腈乙酰酯较适宜的制备条

(上接256页)

77, 222(1973).

(9) 李汉平, 轻工环保, (2), 8(1986).

(10) A.G.W. Bradbury et al., J. Chromatogr., 213, 146(1981).

(收稿日期: 1987年5月15日)

Capillary Gas Chromatographic Determination of Monosaccharides in the Hydrolysate of Corn Bran Residues Li Hanping Environmental Protection

件为: 脎化和乙酰化温度为90℃, 反应时间均为30分钟, 吡啶及醋酐用量比为1:1。试样若含少量水, 无需再干燥, 可直接制备糖腈乙酰酯。

### 参 考 文 献

- (1) 卢佩章, 《气相色谱法讲义》, 旅大化学学会, 1964.
- (2) B. A. Dmitriev, L.V. Backinowsky, O. S. Chizhov, B. M. Zolotarev, N.K.Kochetkov, Carbohydr. Res., 19, 432(1971).
- (3) J.K. Baird, M.J. Holroyde, D.C. Ellwood, Carbohydr. Res., 27, 464(1973).
- (4) R. S. Varma, R. Varma, W. S. Allen, A.H. Wardi, J. Chromatogr., 93, 221 (1974).
- (5) I. M.Morrison, Carbohydr. Res., 108, 361 (1975).

(收稿日期: 1987年6月11日)

Studies on the Quantitative Analysis of Monosaccharides by Gas Chromatography Yang Jinggan and Zhang Hongshu, Guangzhou Institute of Chemistry, Academia Sinica

Columns packed with 3%XE-60/102, 3%OS-133/102 or 3%XE-60/102 +3%OS-133/102 stationary phase were used for separating the acetylated aldonitrile mixture of arabinose, xylose, mannose, glucose and galactose. The results showed that XE-60 had a higher resolution for acetylated aldonitriles of arabinose and xylose, and OS-138 had higher resolution for acetylated aldonitriles of glucose and galactose, both had the same retention sequence for acetylated aldonitriles, but neither could separate all the five completely. The column packed sectionally with XE-60 and OS-138, however, can resolve all components mentioned above well. Using 4,4'-di-isopropyl diphenyl as the internal standard the condition of derivatization reaction and the response factors of the components have been studied. Under the optimum condition, the measured S values, relative to 4,4'-di-isopropyl diphenyl, of arabinose, xylose, glucose and galactose as acetylated aldonitriles are 0.51, 0.54, 0.57, 0.50 and 0.49 respectively.

Research Institute of the Ministry of Light Industry, Beijing

This paper describes the analysis of carbohydrates in corn bran residues by capillary GC. It is shown that carbohydrates are the main components of the corn bran residues and exist mainly in the form of hemicelluloses, and arabinoxylan is predominant of the hemicelluloses.