

# 气液色谱分析二元酸的简易方法

汪训明 殷基崇

(复旦大学生物系, 上海)

气液色谱法是分析二元酸的有效方法。我们采用的方法可以简化样品的制备, 缩短分析时间, 达到预期的目的。

## 一、方法和步骤

1. 仪器与试剂: 气相层析仪 100 型 (上海分析仪器厂出品); 三氟化硼醋酸或三氟化硼乙醚试剂等。

2. 癸二酸的制备: 发酵液用 8N 氢氧化钠调 pH 至 8.0。加热溶解癸二酸结晶, 过滤除菌体, 取一定体积的清液 (根据产酸高低定, 一般不超过 8 毫升), 放入 25 毫升带塞比色管中, 用 4N 硫酸酸化至 pH2, 再加水定容到 10 毫升, 然后加 15 毫升乙醚, 充分振荡萃取。取 10 毫升乙醚萃取液放入直径  $\times$  长 =  $18 \times 145$  (毫米) 的试管中, 水浴中蒸去乙醚, 剩下的白色结晶进行酯化反应。

3. 二元酸二甲酯的制备: 参照 Metcalf 的方法<sup>[1]</sup>, 并作了简化。在含有白色结晶的试管中加入 4 毫升甲醇 (如作定量分析, 必须在甲醇中预先加好一定浓度的内标物) 和 0.2 毫升三氟化硼醋酸试剂作为催化剂, 沸水浴中进行酯化反应 2 分钟, 最后用甲醇定容到 2.5 毫升, 即可注入气相色谱仪, 进行二元酸的测定。制作标准曲线时, 酯化方法同上。

4. 气相层析的条件: 固定液为 3% 丙二醇癸二酸聚酯; 担体为经酸洗硅烷化的 Celite (60—80 目); 层析柱为一根直径 6 毫米不锈钢层析柱, 长 1 米; 检测器用氢火焰检测器, 流量氢气 40 毫升/分, 空气 400 毫升/分; 载气用氮气, 25 毫升/分; 层析温度为 178℃, (作低碳数二元酸分析时温度为 145℃)。

## 二、简化和改进

为了简化癸二酸的抽提操作, 我们采用比

色管代替分液漏斗, 这样可以多根比色管一起萃取, 充分振荡, 到发酵液和乙醚分层以后, 吸取 10 毫升乙醚, 提取完毕。10 毫升占乙醚总体积的 2/3, 所以在换算到发酵液浓度时, 测得癸二酸含量还须乘 3/2。

酯化方法中我们用甲醇加少量三氟化硼醋酸或三氟化硼乙醚试剂来制备三氟化硼甲醇溶

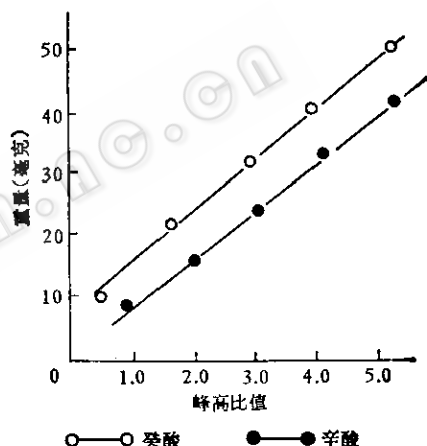


图 1 内标物为庚二酸时的结果

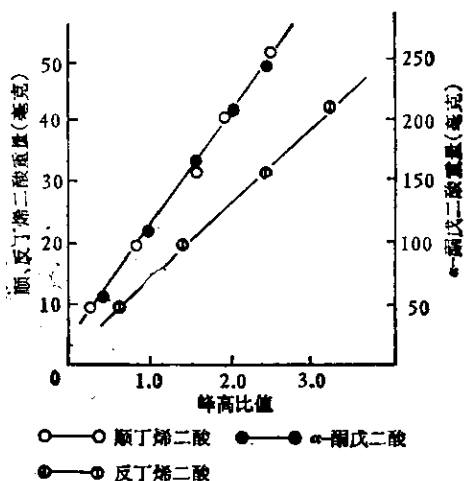


图 2 内标物为壬二酸时的结果

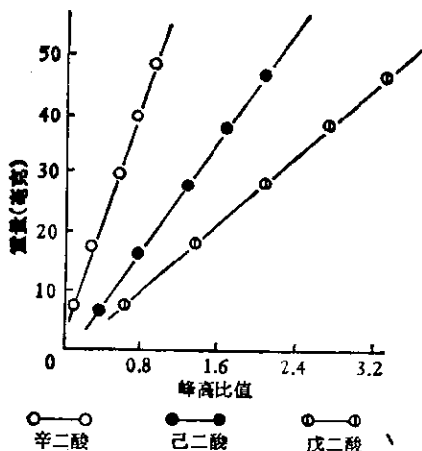


图3 内标物为庚二酸时的结果

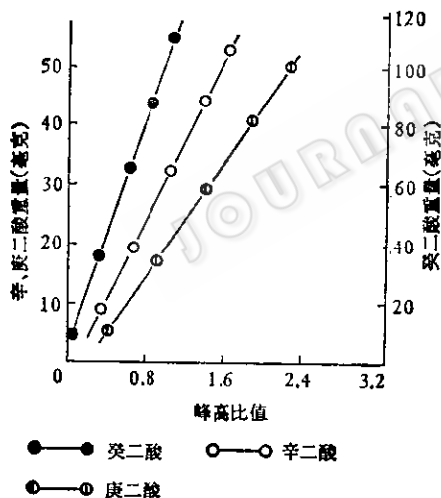


图4 内标物为壬二酸时的结果

定量分析的内标物，以一定的浓度配在甲醇中，定量吸取甲醇加入试管中就可以定量加入内标物，提高了准确性。

在层析过程中，减少层析柱长度可以缩短层析时间。4分钟就可测一个癸二酸发酵液的样品。

一般气相色谱内标法进行定量分析的计算公式是：
$$\frac{\text{样品含量}}{\text{内标物含量}} = C \frac{\text{样品峰面积}}{\text{内标物峰面积}}$$
。而在一定范围内峰高之比和含量之比同样有线性关系。所以就省略了半峰宽的测量和计算，公式为 
$$\frac{\text{样品含量}}{\text{内标物含量}} = C \frac{\text{样品峰高}}{\text{内标物峰高}}$$
 (C为系数，不同的样品有不同的系数；通过标准曲线测得)。进一步换算到发酵液浓度即：
$$\text{二元酸浓度 (毫克/毫升)} = \frac{\text{样品含量} \times 3/2}{\text{吸取发酵液的毫升数}}$$
 具体结果见图1—4。

### 三、讨论

利用以上方法，我们分别测定了4碳到10碳的二元酸，其线性关系都很好，同时还作了丁二酸酯化率的测定，酯化率为95%，也较稳定。还对辛酸、癸酸、反丁烯二酸、顺丁烯二酸、 $\alpha$ -酮戊二酸分别作了测定，获得了理想的结果，说明该方法也适用于其他一些有机酸的定量分析。

### 参 考 文 献

- [1] Metcalfe, L. D. et al.: *Anal. Chem.* **33**, 363—364, 1961.

液，发现比 Metcalfe 方法更简单，省去了水解和氯仿抽提步骤，用含有二元酸二甲酯的甲醇溶液直接进样，效果良好。