

相和稀释液,测得回收率与变异系数如表2所示。

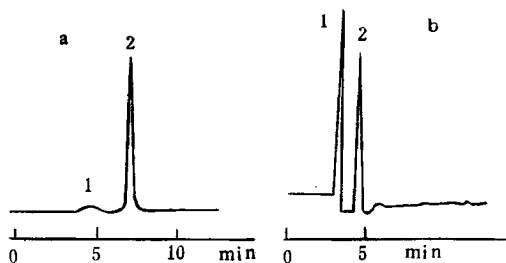


图2 标准 L-AsA 色谱图

a. 流动相:  $5 \times 10^{-3}$  mol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 2.40, 样品溶剂: 0.05%  $\text{HPO}_3$  + 流动相; b. 流动相: 2%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 2.40, 样品溶剂: 5%  $\text{HPO}_3$ ; 峰: 1.  $\text{HPO}_3$ , 2. L-AsA.

综上所述,选择流动相  $5 \times 10^{-3}$  mol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 2.40 既避免了高离子强度带来的干扰,又可用它作样品稀释液。加大进样量到 5 $\mu$ l 得标准色谱图(图 2a),大大改进了原方法所得色谱图(图 2b)。

参考文献

[1] 李述信等译,《AOAC 分析方法手册》,下册,中国光学学会光谱专业委员会, P. 568, 1984.

[2] 聂洪勇等,《维生素及其分析方法》,上海科技文献出版社, P. 230, 1987.  
 [3] 彭玉麟等,生物化学与生物物理进展, 16(3), 230 (1989).  
 [4] 刘海坤,食品与发酵工业, 4, 43(1986).  
 [5] H. S. Lee, G. A. Coates, J. Micronutr. Anal., 3, 199 (1987).

(收稿日期:1991年10月11日,修回日期:12月20日)

Measuring L-Ascorbic Acid in Orange Juice by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Ding Haibiao and Zhang Shenghua, Food Science and Technology Department, Huazhong Agricultural University, Wuhan, 430070

A reversed-phase HPLC method was developed for the determination of L-ascorbic acid in orange juice. Under the chromatographic conditions selected by this paper, the determination for L-AsA is favorable at lower ionic strength, lower pH and lower concentration of metaphosphoric acid. Average recovery and variation coefficient were 102.5% and 2.23%, respectively.

## 高效液相色谱法测定食品中有机酸

陈尚文 胡 谦

(华南热带作物学院分析测试中心,海南儋县,571737)

### 前 言

有机酸是食品重要的组成成分之一,它与食品加工、贮存、质量评价等密切相关,因此越来越受到人们的重视。近年来,高效液相色谱(多采用离子色谱和离子交换色谱)已广泛应用于食品中有机酸的分析<sup>[1-4]</sup>。

本文采用反相色谱,以 0.6%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH 2.65) 为流动相,测定了酱油、黄酒、豆奶中的八种有机酸,取得了很好的分离效能。此法具有灵敏度高、重现性和回收率好、流动相价格便宜等特点。

### 实验部分

#### (一) 仪器与试剂

美国 Waters 公司 HLPC 仪,510 高压泵,481 型紫外检测器,U6K 通用进样阀,730 数据处理机。

$\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、 $\text{NaCl}$ 、浓盐酸、乙醚均为 AR 级。

#### (二) 样品的前处理

1. 酱油、黄酒样品 准确移取酱油或酒样 10.0ml 于分液漏斗中,加入 20ml 饱和氯化钠溶液,用 3 $\times$ 10ml 无水乙醚提取三次,合并乙醚层;乙醚层用 2 $\times$ 10ml 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液提取三次,所得 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液用浓盐酸酸化至 pH 3,待其冷却后,再用 3 $\times$ 10ml 无水乙醚提取三次,合并乙醚层,在 K·D 浓缩器中浓缩至干,然后用流动相定容至 1.0ml,再用 0.45 $\mu$  滤膜过滤后,即可上机测定。

2. 豆奶样品 将 500ml 豆奶装入 1000ml 蒸馏瓶中,在 70 $^\circ\text{C}$  下真空减压蒸馏,用四级冷阱收集馏出液。第一级用冰盐浴,其余采用液氮冷却。合并所有馏出液,取约 20ml 馏出液,按照酱油样品进行前处理后即可上机测定。

#### (三) 回收率的测定

在10ml 酱油、黄酒样品中加入各有机酸标样0.05—0.5mg,然后按样品前处理方法进行处理,测各有机酸的回收率。

(四) 色谱条件

$\mu$ Bondapak C<sub>18</sub> (10 $\mu$ m) 300  $\times$  3.9mm i. d. 不锈钢柱(Waters), 预柱为 SEP-PAK C<sub>18</sub> Cartridge (Waters), 紫外检测器481型, 波长214nm, 灵敏度0.05AUFS, 流动相为0.6%KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>溶液, 用H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>调pH至2.65, 流速为1.0ml/min, 进样量5.0 $\mu$ l, 外标法定量。

测得标样和样品中有机酸色谱图见图1—3, 各有机酸保留时间和最小检测器见表1。

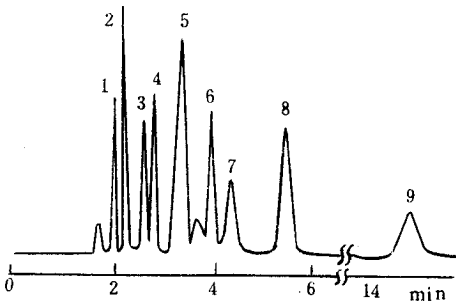


图1 混合标样色谱图

0.6%KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(pH 2.65)为流动相。

表1 各有机酸的保留时间和最小检测量

峰号	组分	保留时间 (min)	最小检测量 ( $\mu$ g)
1	甲酸	1.94	0.1
2	(+)苹果酸	2.22	0.05
3	乳酸	2.77	0.08
4	乙酸	3.02	0.02
5	柠檬酸	3.47	0.04
6	(-)苹果酸	3.90	0.04
7	丁二酸	4.27	0.08
8	丙酸	5.68	0.12
9	丁酸	14.75	0.20

结果与讨论

以保留时间定性, 峰面积定量, 测得酱油、黄酒、豆奶中有机酸含量见表2, 回收率见表3。

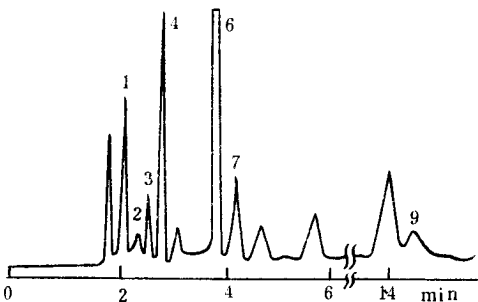


图2 黄酒样品中有机酸色谱图

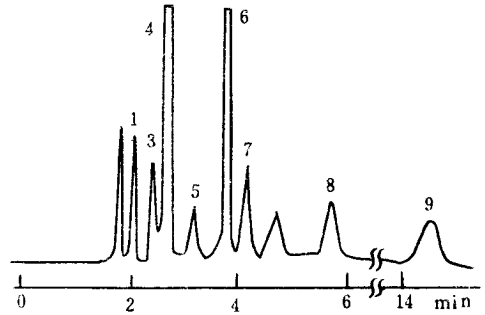


图3 酱油样品中有机酸色谱图

表2 酱油、黄酒、豆奶中有机酸含量( $\mu$ g/ml)

组分	黄酒(菠萝)	酱油	豆奶
甲酸	27.0	26.4	23.2
(+)苹果酸	0.6		
乳酸	1.2	28.8	47.5
乙酸	162	73.1	28.5
柠檬酸		14.6	
(-)苹果酸	87.5	31.1	37.6
丁二酸	94.7	1.8	14.6
丙酸		13.2	18.5
丁酸	12.7	16.8	28.7

表3 酱油、豆奶中有机酸回收率(%)<sup>\*</sup>

组分	酱油	豆奶
甲酸	96.25	95.57
(+)苹果酸	93.93	94.23
乳酸	99.39	94.63
乙酸	95.77	96.36
柠檬酸	97.42	90.87
(-)苹果酸	93.28	95.40
丁二酸	102.20	103.30
丙酸	105.50	109.10
丁酸	94.06	94.20

\* 以上结果是三次不同加入量的平均值。

(一) 改变流动相的浓度可大大改变有机酸的分离效能。本实验原采用0.5%KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(pH2.65)为流动相, 结果(-)苹果酸与丁二酸完全不能分开, 分离效果不佳, 后改用0.6%KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(pH 2.65)为流动相, 分离效果大大改善。

(二) 流动相 pH 值对分离效能影响不大。通过实验发现, pH 值在2.65—2.87之间时, 色谱峰的分离效能未见大的改变。

(三) 用乙醚提取时, 酱油样品可能发生严重乳化现象。这时可适当减少样品量, 增大 NaCl 饱和溶液的量, 可减少乳化现象。

参考文献

[1] 朱 岩、杨更生, 色谱, 8(1), 43(1990)。

- [2] 李 强,食品与发酵工业,(2),1(1986).  
 [3] 冯建军,食品与发酵工业,(1),1(1986).  
 [4] D. Tusseau, C. Benoit, J. Chromatogr., 395, 323 (1987).

(收稿日期:1991年9月26日,修回日期:1992年5月12日)

**Determination of Organic Acids in Foods by High Performance Liquid Chromatography** Chen Shangwen and Hu Qian, *The Centre of Analysis and Test South China College*

*of Tropical Crops, Danxian, Hainan, 571737*

This paper describes a new method for the determination of formic, acetic, lactic, malic, succinic, citric, propionic and butyric acids by high performance liquid chromatography. The recoveries were from 90.32% to 109.1%. This method is simple, selective and sensitive.

## 甲基键合硅胶荧光反相薄层板的研制及其性能

宋 晶

(济南重型汽车联营公司技术发展中心,250002)

李志萍 尹佩玉 陆懋菽

(青岛大学化学系,266071)

近年来,国外陆续推出各类键合硅胶荧光反相薄层板<sup>[1]</sup>,但价格昂贵,技术多属专利,目前国内尚无厂家生产。

我们曾用预制板与硅烷化试剂反应,制备了多种键合反相板<sup>[2,3]</sup>,但由于用荧光预制板与硅烷化试剂反应时,涂层表面的荧光被覆盖,因而不能用该法制备荧光板。本文采用甲基键合硅胶和荧光粉,以丙烯酸酯类为粘合剂,制成荧光键合薄层板。对板的各项性能进行了考察,结果表明该板分离性能良好,有实用价值。

### 实验部分

#### (一)试剂与仪器

甲苯(AR),石油醚(60—90℃),齐鲁石化公司研究院试剂厂产品,用分子筛干燥四天以上。二甲基二氯硅烷和六甲基二硅胺烷(CP),上海试剂一厂产品,用前蒸馏提纯。硅胶 G(10—40 $\mu$ ),青岛海洋化工厂产品。荧光粉,上海荧光材料厂产品。甲醇、乙醇、丙酮、丁酮均为 AR 级。阿斯匹林(A)、非那西汀(P)、咖啡因(C)纯品由山东新华制药厂提供。对羟基苯甲酸乙酯、丙酯、丁酯(AR),由上海试剂一厂提供。

玻璃毛细管点样器(自制)。展开缸,8.5cm×15cm 普通圆形缸。CS-930薄层扫描仪(日本岛津公司)。

#### (二)化学键合硅胶的合成

将一定量的硅胶 G 在 110℃ 下活化两小时后与一定量的硅烷化试剂甲苯或石油醚溶液回流两小

时,反应完成后用甲苯、石油醚或甲醇洗涤,溶剂挥发后,自然晾干即得。根据元素分析结果,计算键合量为 2.0mmol/g 硅胶。

#### (三)荧光键合反相薄层板的制备

将键合硅胶 粘合剂溶液按 1:3 的比例混合,加入 3% 荧光粉搅拌均匀后,用涂布器涂成 0.25mm 厚的薄层板,待溶剂自然挥发后,即可使用。

#### (四)色谱条件

薄层板的规格为 15cm×6.5cm 和 10cm×5cm,距底边 1cm 点样,室温下以上行法展层。

### 结果和讨论

#### (一)粘合剂用量对板性能的影响

由实验发现,将粘合剂溶液的浓度控制在 0.2—1.2% 范围内,试验样品的  $R_f$  值基本不变,对分离无影响。当浓度大于 1.2% 时,不好涂板,当浓度小于 1.2% 时,涂层不牢,易于脱落;当粘合剂浓度为 0.4—0.6% 时效果最佳。

#### (二)板的性能

1. 牢固程度 制备键合板时粘合剂的选择是一个关键问题。经过反复试验,选用丙烯酸酯类丁酮溶液作为粘合剂效果较好,粘牢固,荧光明显。用过的板经甲醇或无水乙醇浸洗,可多次使用。

2. 抗水性 据报道<sup>[4]</sup>,有些键合板如 KC<sub>18</sub>板,当展开剂中含水量>40%时,薄层会膨胀或脱落。我们制备的键合板抗水性较好,在展开剂为甲醇-水体系中,含水量达 60% 以上,薄层不膨胀和脱落,且分离