

HPLC-UV 分析有机酸类化合物

前言

有机酸通常作为防腐剂和稳定剂添加到食品或饮料产品中，例如苹果酸、抗坏血酸和柠檬酸，以丰富食品的香气和味道。所以，有机酸的检测对于产品生产中的质量控制以及产品的评价都是至关重要的，避免其过度的添加使用。本应用介绍了一种使用单波长紫外检测器分析有机酸的定性定量方法。使用 ODS 色谱柱能有效地分离水溶液中的极性化合物。

实验部分

实验方法采用赛里安 LC6000 液相色谱仪（配备紫外检测器），及 ODS 反相色谱柱。此外表 1 中列出了 10 种目标待测化合物，以及校正曲线范围。将商品谷醋和苹果醋用纯水以 1:50 比例稀释，然后进行过滤分析。分析条件如表 2 所示。在开发次分析方法过程中，分析了不同色谱柱温度对于分离的影响。图 1 为两种不同柱温的比较。

Table 1. Target compounds and concentration of calibration standards

| Peak Number | Compound | Calibration Concentration |
|-------------|-------------------|---------------------------|
| 1 | Tartaric Acid | 2.5-500mg/L |
| 2 | Formic Acid | 5-1000mg/L |
| 3 | Malic Acid | 5-1000mg/L |
| 4 | Lactic Acid | 5-1000mg/L |
| 5 | Acetic Acid | 5-1000mg/L |
| 6 | Pyroglutamic Acid | 0.5-100mg/L |
| 7 | Citric Acid | 5-1000mg/L |
| 8 | Fumaric Acid | 0.05-10mg/L |
| 9 | Succinic Acid | 5-1000mg/L |
| 10 | Propionic Acid | 5-1000mg/L |

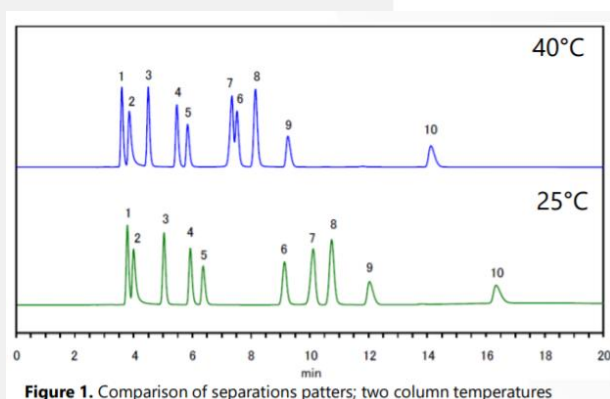


Figure 1. Comparison of separations patters; two column temperatures

Table 2. Analytical Conditions of HPLC-UV

| Conditions | |
|---------------|---|
| Column | C18-AQ 5 μ m x 4.6mm ID x 250mm |
| Column Temp | 25°C |
| Mobile Phase | 1mmol/L Sulphuric Acid + 8mmol/L Sodium Sulphate (pH 2.8) |
| Flow Rate | 1mL/min |
| Injection Vol | 10 μ L |
| UV | 210nm |

实验结果

如图 1 所示，在 40°C 的柱温下进行分析时，柠檬酸和焦谷氨酸的分离效果较差。通过将色谱柱温度降低至 25°C，可以实现所有目标化合物的分离，而分析时间仅需再增加 2 分钟。故柱温为 25°C 用于此应用。

根据目标化合物，在各种浓度范围内分析校准标样。图 2 显示了乙酸的校准曲线，代表了所分析的所有有机酸。即使在很宽的浓度范围内，SCION HPLC-UV 系统也能对所有目标化合物表现出出色的线性。校正标准色谱图见图 3

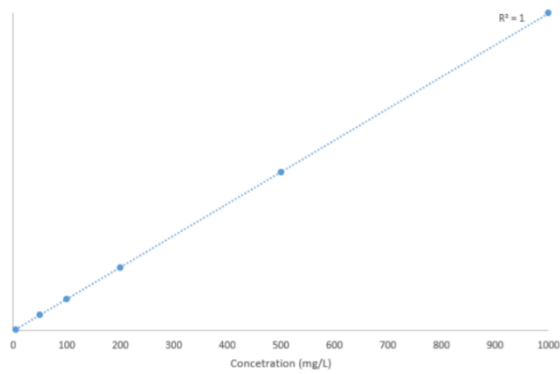


Figure 2. Calibration curve of Acetic Acid; 5mg/L to 1000mg/L

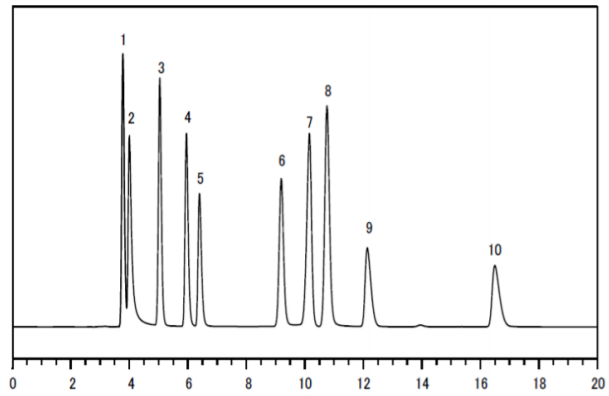


Figure 3. Chromatogram of analytical standard

在相同条件下分析了两种市售醋，谷类醋和苹果醋。它们各自的色谱图如图 4 和图 5 所示。分析的两个醋样品仅包含两种有机酸，主要成分是乙酸（峰 5）。此外苹果醋样品中鉴定出的苹果酸是导致果味变酸的常见食品添加剂。

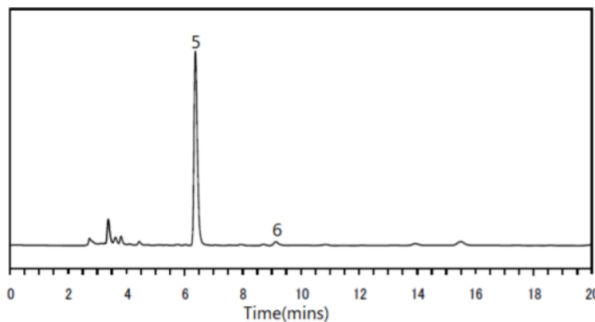


Figure 4. Chromatogram of grain vinegar sample

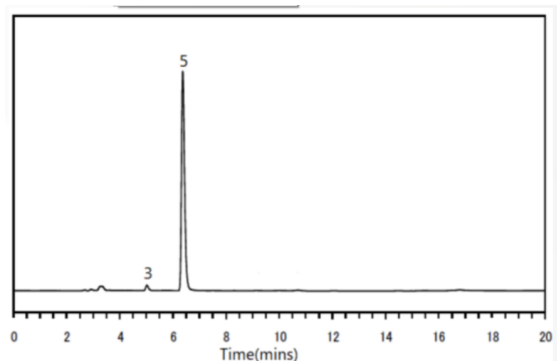


Figure 5. Chromatogram of apple cider vinegar sample

实验结论

本应用介绍了一种使用赛里安 LC6000 液相色谱仪分析测定 10 种有机酸的检测方法，各成分能够的到有效分离且具备出色的线性。