

$$\text{氨基酸总量 (mg/L)} = \frac{m}{V \times 1000} \times 1000$$

式中 m ——从标准曲线上查得氨基酸的质量, μg
 V ——试样体积, mL

第四节 多 糖

1. 原理

采用液相色谱法, 以D-木糖作为内标, 以乙腈、水和甲醇作为流动相, 使用示差折射检测器, 在10min内测定试样中的糖类(果糖、葡萄糖和蔗糖)的含量。

2. 试剂

(1) 乙腈。

(2) 甲醇。

(3) 糖标准溶液 称取D-木糖、D-果糖、D-葡萄糖和蔗糖, 用水配成每微升 $5\mu\text{g}$ 的各种标样的混合溶液。另取D-木糖配成每微升含 $25\mu\text{g}$ 为内标溶液。

3. 仪器及条件

液相色谱仪: 具有示差折射检测器。

记录积分仪: 量程 4mV , 衰减0, 纸速 5cm/min 。

色谱柱: 日本岛津PNH2—10/S250不锈钢色谱柱。

流动相: $V(\text{乙腈}) : V(\text{甲醇}) : V(\text{水}) = 82 : 12 : 6$ 。

4. 试验程序

(1) 校正因子 f_i 的测定 取标准混合糖液 $10\mu\text{L}$ 进入色谱柱, 记录色谱图, 确定各组分保留时间及峰面积, 测量内标物及各组分峰面积, 按下式计算各组分校正因子:

$$f_i = \frac{A_s}{A_i}$$

式中 A_s ——混合标样中内标物的峰面积
 A_i ——混合标样中组分 i 标准物的峰面积

(2) 样品测定 吸取试样2mL移入10mL容量瓶中, 加入2mLD-木糖内标液, 用水稀释到刻度摇匀, 用微量注射器吸取10 μ L注入色谱柱, 记录色谱图。

5. 计算

$$\text{组分i的含量}(\mu\text{g/L}) = \frac{f_i \times A_i}{A_s} \times \frac{m_s}{V} \times 10^6$$

式中 f_i ——组分i标样的峰面积相对于内标峰面积的校正因子

A_i ——组分i的峰面积

A_s ——内标峰面积

m_s ——进入色谱柱内样液中内标物质量, μg

V ——进入色谱柱内样液中样品体积, μL

第五节 维生素A

1. 原理

维生素A与三氯化锑三氯甲烷(氯仿)溶液作用产生蓝色化合物, 此蓝色的深浅与样品溶液中所含维生素A的量成正比, 可以求出样品中维生素A的含量。

2. 试剂

(1) 三氯甲烷(氯仿)。

(2) 20%三氯化锑三氯甲烷溶液。

(3) 维生素A标准溶液 标准溶液甲(1000IU/mL): 称取乙酸维生素A 0.1g (1g=1000000IU), 用三氯甲烷溶解, 移入100mL容量瓶中, 用三氯甲烷定容; 标准溶液乙(100IU/mL): 准确吸取维生素A标准溶液甲10mL, 置于100mL容量瓶中, 用三氯甲烷定容, 临用时配制; 标准溶液丙(10IU/mL): 准确吸取维生素A标准溶液乙10mL, 置于100mL容量瓶中, 用三氯甲烷定容, 临用时配制。

3. 试验程序

(1) 标准曲线绘制 采用分光光度计, 在波长620nm处, 用