

# 离子色谱法测定饮料中的柠檬酸盐

胡平<sup>1</sup> 刘贺彬<sup>2</sup> 任永红<sup>1</sup><sup>(1)</sup>石家庄市疾病预防控制中心 石家庄 050011; <sup>(2)</sup>河北师范大学 石家庄 050021)

**摘要** 研究了固相萃取-离子色谱法测定饮料中柠檬酸盐含量。将样品稀释后以4mL/min的流速通过DIONEX OnGuard II RP固相萃取柱去除脂肪等疏水性化合物后,经0.2 $\mu$ m滤膜过滤,直接进样测定。用35mM的KOH溶液等度淋洗,流速为1.0mL/min,采用AS11-HC型阴离子色谱柱进行分析。在此检测条件下,柠檬酸盐有很好的线性( $r^2 = 0.9998$ )。该方法的最小检出限为0.036 $\mu$ g/mL,回收率为96%~102%,精密度<1.5%。实验结果表明,该方法简便、快速,且检测结果准确。

**关键词** 固相萃取;离子色谱;饮料;柠檬酸盐

**中图分类号** O657.7

柠檬酸和柠檬酸盐作为酸味剂、调味剂、防腐剂及保鲜剂广泛用于饮料行业中。但是柠檬酸是一种较强的有机酸,即使是食品级柠檬酸,在应用于饮料行业作为添加剂时也必须限量,欧盟国家对其用量和使用范围都有严格的规定,绝不允许超标准使用。因此,建立对饮料中柠檬酸盐含量的测定方法很有必要。

离子色谱<sup>[1]</sup>(IC)自1975年问世以来发展很快,已在环境监测、电力、半导体工业、食品、石油化工、医疗卫生和生化等领域得到广泛的应用<sup>[2]</sup>,其最大贡献就在于检测阴离子和有机酸<sup>[3]</sup>。对有机酸的检测已经有很多报道<sup>[4-6]</sup>,鉴于饮料中柠檬酸主要以柠檬酸盐形式存在,采用抑制电导检测的离子色谱法进行检测,不但得到较低的检出限,而且操作简便,检测结果准确。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与试剂

离子色谱仪:ICS-2000型,附淋洗液发生器EG50、自动进样器AS50(美国Dionex公司);Chromleon 6.5色谱工作站。

固相萃取柱:DIONEX OnGuard II RP,1cc;

离心机:10000r/min;

分析天平:万分之一;

超声震荡器;

柠檬酸标准品:Bellefonte,PA16823-0048 USA;

氢氧化钾溶液:10g/L;

去离子水:18.2M $\Omega$ ·cm。

### 1.2 离子色谱条件

色谱柱:AG11-HC+AS11-HC(4mm);

柱温:30 $^{\circ}$ C;

流动相:DIONEX EGC-KOH,35mM;

流速:1.0mL/min;

抑制器:ASRS-4mm阴离子抑制器,抑制电流90mA;

检测器:电导检测器;

进样量:50 $\mu$ L。

### 1.3 标准储备液和标准液的配制

#### 1.3.1 标准储备液的配制

1000 $\mu$ g/mL柠檬酸盐溶液(以柠檬酸根计):称取柠檬酸标准品100mg,溶解稀释,并用10g/L的KOH溶液调pH为7,定容至100mL。

#### 1.3.2 标准液的配制

分别取0,100 $\mu$ L,400 $\mu$ L,800 $\mu$ L,1.20mL,1.60mL,2.00mL标准储备液至7个100mL容量瓶中并定容,得到0,1.00,4.00,8.00,12.0,16.0,20.0 $\mu$ g/mL系列标准溶液。

### 1.4 样品溶液制备

#### 1.4.1 固相萃取柱准备

先用5mL甲醇溶液以4mL/min的流速通过固相萃取柱,再用10mL去离子水以4mL/min的流速通过固相萃取柱,备用。

#### 1.4.2 样品制备

将未知样品至少稀释100倍(对于含有气体的样品应预先放在烧杯中超声振荡20min),以4mL/min的速度通过备用的固相萃取柱,再经0.2 $\mu$ m滤膜过滤,弃去前3mL滤液。收集剩余样品滤液至样品瓶中,待测。

收稿日期:2008-07-30

作者简介:胡平,(1972-),女,副主任检验师,本科,主要从事离子色谱检测工作。

### 1.5 样品测定

将样品瓶放入自动进样器,编辑样品表,按1.2离子色谱条件进行测定,外标法定量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 标准曲线

以上述色谱条件,对系列标准液进行分析,以峰

面积对柠檬酸盐浓度进行线性回归,回归方程为  $y = 0.0492x - 0.0072$ ,线性相关系数  $r^2 = 0.9998$ 。

### 2.2 组分定性和定量的精密度

将柠檬酸盐为  $8.70 \mu\text{g/mL}$  的标准液进样 10 次,标准色谱图见图 1,测定结果见表 1。由表 1 可知定性和定量的测定结果相对标准偏差分别为 0.10% 和 0.70%。

表 1 组分定性和定量的精密度试验结果 ( $n = 10$ )

Parameter	Found										RSD/%
$t/\text{min}$	6.477	6.473	6.477	6.477	6.473	6.463	6.470	6.457	6.470	6.473	0.10%
$\rho/(\mu\text{g/mL})$	8.67	8.69	8.61	8.76	8.78	8.74	8.75	8.78	8.69	8.63	0.70%

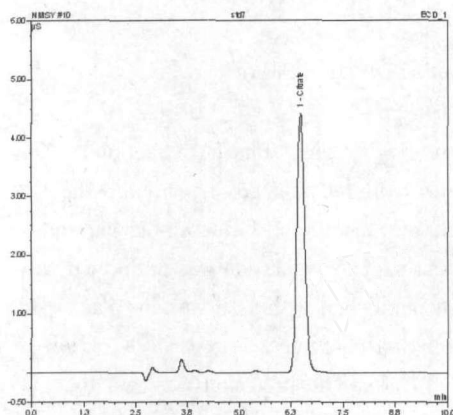


图 1 标准色谱图

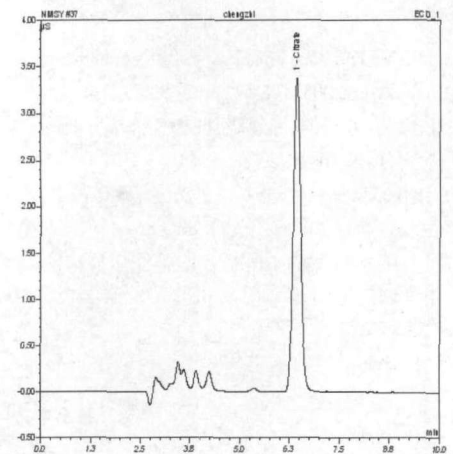


图 2 样品色谱图

### 2.3 方法的检出限

按 1.2 离子色谱条件,将  $1 \mu\text{g/mL}$  的低浓度标准液重复测定 7 次,得到柠檬酸盐离子浓度的标准偏差,乘以 3.143 (即置信水平在 99% 的  $t$  值),从而获得方法的检出限 (CDLs) 为  $0.036 \mu\text{g/mL}$ 。

### 2.4 方法精密度实验

按照上述实验方法,对 3 个不同浓度样品进行精密度试验 (稀释 200 倍),色谱图见图 2,结果见表 2。由表 2 可知,该方法的精密度  $< 1.5\%$ 。

表 2 方法精密度的测定结果 ( $n = 5$ )

Sample No.	Found ( $\mu\text{g/mL}$ )					Ave ( $\mu\text{g/mL}$ )	RSD/%
1	14.8	15.1	15.1	15.4	15.3	15.14	1.5
2	2.37	2.38	2.43	2.41	2.45	2.408	1.4
3	6.22	6.23	6.21	6.25	6.28	6.238	0.4

### 2.5 方法准确度实验

按照上述实验方法,对 3 种不同实际样品进行不同浓度水平的加标回收试验,分别测定 3 次,取平均值。测定结果和回收率计算结果列于表 3。由表 3 可知,方法回收率为 96% ~ 102%。

表 3 回收实验结果

Sample No.	Original $/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	Added $/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	Found $/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	Recovery /%	RSD /%
1	6.25	2.0	8.23	0.99	0.98
2	11.3	2.0	12.8	0.96	1.1
3	2.79	0.50	3.30	1.02	1.8

### 2.6 固相萃取柱的选择

饮料中的疏水性化合物会附着在阴离子分离柱上,降低柱效,影响分离,并缩短分离柱使用寿命。因此在前处理过程中要去除。现有方法大多采用加入某种化学试剂或冷冻、离心等,也有使用 C18 柱的报道,这些方法虽然成本较低,但特异性和回收率都不很理想,特别是在样品溶液酸性较明显的条件下更是如此。因此我们采用 DIONEX OnGuard II RP 固相萃取柱。它对疏水性化合物尤其是不饱和化合物和芳香化合物具有高选择性,并且可在 pH 1 ~ 14 范围内保持稳定。由于柱填料中不含离子交换位点,因此不会对柠檬酸盐有所保留,在很宽的 pH 范围内均可获得很好的回收率。

### 3 结论

采用离子色谱法测定饮料中的柠檬酸盐,并结合固相萃取的样品前处理技术,简便、快速、灵敏度高,且结果准确。

### 参考文献

- [1] 牟世芬, 刘克纳. 离子色谱方法及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 6-7
- [2] 牟世芬, 梁立娜. 离子色谱的最新进展和几个热点应用. 现代科学

仪器, 2006, 1: 35-39

- [3] 吴飞燕, 贾之慎, 朱岩. 离子色谱电导检测法测定酒中的有机酸和无机阴离子, 浙江大学学报: 理学版. 2006, 33(3): 312-315
- [4] CHEN J. Determination of organic acids in industrial streams by ion chromatography after solid phase extraction [J]. Journal of Chromatography A, 1996, (739): 273-280
- [5] SHARMA A K, CLAUSS S A, MON G G M, et al. Analysis and quantification of organic acids in simulated han ford tank waste and hand ford tank waste [J]. Journal of Chromatography A, 1998, (805): 101-107
- [6] BAZIRAMA KENGA R, SIMARD R R, LEROUX GD. Determination of organic acids in soil extracts by ion chromatography [J]. Soil Biol Biochem, 1995, 27(3): 349-356

## Determination of Citrate in Beverage by SPE - ion Chromatography

Hu Ping<sup>1</sup>, Liu Hebin<sup>2</sup>, Ren yonghong<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Shijiazhuang Center for Disease Prevention and Control, Shijiazhuang 050011, China)

(<sup>2</sup>Hebei Teachers College, Shijiazhuang 050021, China)

**Abstract** The method for determination of citrate in beverage by the SPE (Solid Phase Extraction) - ion chromatography was researched on the basis of experiment. The sample was diluted and passed through the DI-ONEX OnGuard II RP sample pretreatment cartridge at a flow rate of 4 mL/min to wipe off fat and other hydrophobic compound, then was filtered by 0.2 μm filters and was determined directly. The separation was performed with 35 mM KOH as isocratic mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min and accomplished with a Dionex Ion Pac AS11 - HC column. The calibration curve of citrate was linear. And the correlation coefficient was 0.9998. Limit of detection for the method was 0.036 μg/mL. The recoveries were 96% ~ 102%. The precision was less than 1.5%. The method was simple, rapid and accurate.

**Key words** SPE; ion chromatography; beverage; citrate

(上接 60 页) 对于油脂含量较多的样品的前处理, 用正己烷去除提取液中的油脂; 而对于油脂类样品, 则用正己烷溶解, 乙腈萃取后作为测试液。

### 参考文献

- [1] Jiang L., Delinda J., Marcus C., Lynda W., Clive S. and Jeffrey J. Stabilization of Nrf2 by tBHQ Confers Protection against Oxidative Stress - Induced Cell Death in Human Neural Stem Cells, Toxicological Sciences 2005, 83, 313 - 328
- [2] D. Bera, D. Lahiri, A. Nag, Studies on a natural antioxidant for sta-

bilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants, Journal of Food Engineering 2006, 74, 542 - 545

- [3] 刘红河, 陈卫, 康莉, 仲岳桐, 陈春晓, 气相色谱法同时测定食品中 3 种抗氧化剂, 现代预防医学, 2006, 33(12): 2307-2309
- [4] 岳振峰, 蓝芳, 谢丽琪, 气相色谱 - 质谱法测定 XO 酱中 BHA、BHT 和 TBHQ, 中国粮油学报, 2004, 19(5): 83-85
- [5] 郝鹏鹏, 倪晋仁, 孙卫玲, 黄文, 液相色谱/离子阱质谱法检测不同食用植物油中的叔丁基对苯二酚 (TBHQ), 质谱学报, 2005, volume 26, issue 4, 221-227
- [6] 《进出口油脂中抗氧化剂的测定——液相色谱法》, 标准号 SN/T1050-2002

## Determination of Tertiary Butylhydroquinone in Foods by HPLC

Lu Yeju, Cheng Jing, Jiang Junshu

(National Center for Quality Supervision and Test of Agricultural - Avocation Processed Food, Hefei, 230051, China)

**Abstract** In this paper, the preprocessing method that China allows the use of TBHQ in food samples was studied in detail. A HPLC - FD analytic method was developed for determination tert - butylhydroquinone (TBHQ) in food. The optimized conditions of determination were studied. The sample was extracted by acetonitrile after crushing and picking - up TBHQ. The clear liquid was separated by C18 and determined by HPLC - FD and quantified by the ratio of sample area between standard sample area. This method can avoid the interference and has better selectivity than the existing methods. The detection limits of this method are 0.05 mg/L and the range of determination was 0.1 mg/L - 10 mg/L. This method is sensitive, and can effectively detect TBHQ accurately in food.

**Key words** Food; Tert - butylhydroquinone (TBHQ); Determination