

# 高效液相色谱法分析酸枣中的有机酸和维生素 C

孙延芳<sup>1</sup>,梁宗锁<sup>2</sup>,杨开宝<sup>3</sup>,刘 政<sup>1</sup>

(1. 辽宁工程技术大学 理学院, 辽宁 阜新 123000; 2. 西北农林科技大学 生命学院, 陕西 杨凌 712100; 3. 西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:**为更好地开发利用酸枣资源,采用 Waters XB-C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),以 0.05 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸氢二钠溶液为流动相,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,紫外检测器检测波长 210 nm,建立高效液相色谱(HPLC),对酸枣(干果、鲜果及其果酱)中有机酸和维生素 C 进行测定分析。结果表明:色谱图在 10 min 内可很好地实现 7 种有机酸和维生素 C 的基线分离,并且酸枣(干果、鲜果和果酱)中草酸、酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸和维生素 C 含量差别很大。该方法具有分析速度快、线性范围宽、灵敏度高、重复性好等优点,适用于酸枣有机酸和维生素 C 的检测。

**关键词:**酸枣;有机酸;高效液相色谱

**中图分类号:**S665.1

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2011)08-0080-03

酸枣 [*Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou] 别名山枣、野枣、棘、葛针等,英文名: Sour jujube, wild jujube, 鼠李科 (Rhamnaceae) 枣属 (*Ziziphus*) 植物<sup>[1]</sup>。种仁为传统的名贵中药材<sup>[2]</sup>;果实为核果,大多为圆形和椭圆形,成熟后变为红色或紫红色,气味酸甜<sup>[3]</sup>。中医典籍《神农本草经》记载,酸枣“味酸平。主心腹寒热邪结气,四肢酸疼,湿痹。久服安五脏,轻身延年”,具有很大的药用价值。酸枣被证明具有防病抗衰老与养颜益寿的作用,常喝酸枣汁则可以益气健脾、改善肤色<sup>[4]</sup>;因此,酸枣是一种重要的野生果树和药用植物资源,具有很大的开发潜能。

有机酸和维生素 C 是酸枣果重要的组成成分,起到调节风味和增加营养的功能,也是影响酸枣风味加工和利用的重要因素<sup>[5]</sup>,故研究酸枣及其加工产品中的有机酸和维生素 C 对于酸枣的开发利用具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

酸枣(鲜果和干果)采于陕北延安黄土高原地区,经西北农林科技大学生命学院植物教研室张

跃进副教授鉴定为野生酸枣;酸枣果酱为陕北常泰药业有限公司生产的产品。

Waters1525 二元高效液相色谱仪, Waters 2996 二极管阵列检测器, Waters UV-2487 紫外检测器, Waters XB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), Empower 2 色谱分析软件(美国 Waters 公司), Milli-Q 超纯水系统(上海优普科技公司), 旋转蒸发器 RE-52AA(上海亚荣生化仪器厂), KQ-250B 型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

草酸、酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸和抗坏血酸标准品均购自 Sigma 公司。磷酸二氢钠为分析纯,磷酸为优级纯。

### 1.2 方法

1.2.1 色谱条件 参照有关文献色谱条件<sup>[6-8]</sup>, 采用 Waters XB-C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为 0.05 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸氢二钠缓冲液(pH=2.8),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 20 μL,柱温 30℃,紫外检测器检测波长 210 nm,采用峰面积外标法定量。

1.2.2 样品测定 准确称取鲜果 5 g 加入液氮研磨,0.05 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸氢二钠溶液超声提取 30 min,过滤后定容 25 mL 备用;干果粉末和果酱同以上方法提取。进样前经 0.45 μm 滤膜过滤,分别计算各有机酸和维生素 C 的含量。

1.2.3 线性关系分析 分别吸取不同浓度的有机酸标准溶液进样分析,测定峰面积,以有机酸浓度为纵坐标,峰面积为横坐标,建立线性回归

收稿日期:2011-05-03

基金项目:中国科学院知识创新资助项目(KZCX2-XB2-05-01);国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2008BAD98B08)

第一作者简介:孙延芳(1979-),女,山东省枣庄市人,博士,讲师,主要从事药用植物天然活性成分研究。E-mail: katherineyfs@gmail.com。

方程。

1.2.4 方法学分析 分别对试验的精密度、稳定性、重复率和样品回收率进行分析。

2 结果与分析

2.1 标准品色谱

按照色谱条件对有机酸标准品进样分析(见图 1),在 10 min 内可实现对 7 种有机酸很好的基线分离。

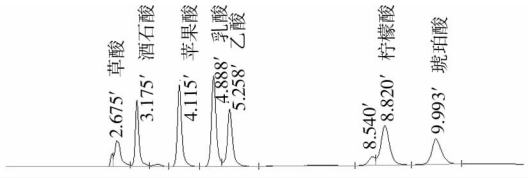


图 1 有机酸标准品色谱图

从左至右依次为:草酸、酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸和琥珀酸

2.2 线性关系

各有机酸回归方程和相关系数见表 1。线性相关系数为 0.998 6~0.999 9。

表 1 有机酸的标准曲线、线性范围和相关系数

有机酸	标准曲线方程	线性范围 /mg·mL <sup>-1</sup>	相关系数
草酸	$Y=0.07X+2.9673$	0.002~20	0.9986
酒石酸	$Y=0.06X+3.8961$	0.002~20	0.9992
苹果酸	$Y=0.05X+18.5112$	0.002~40	0.9992
乳酸	$Y=0.05X+17.5203$	0.002~20	0.9995
乙酸	$Y=0.05X+12.8034$	0.002~50	0.9999
柠檬酸	$Y=0.05X+23.571$	0.005~50	0.9995
琥珀酸	$Y=0.05X+11.5722$	0.002~20	0.9997
抗坏血酸	$Y=0.09X+9.0683$	0.002~40	0.9998

2.3 样品测定结果

按供试样品溶液制备方法 & 色谱条件进行测定,以外标法计算含量,色谱图见图 2。结合有机酸标准品和色谱图可看出:酸枣干果有机酸主要有草酸、酒石酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸和琥珀酸(图 2A);酸枣鲜果有机酸主要有草酸、酒石酸、苹果酸、抗坏血酸、乙酸、柠檬酸和琥珀酸(图 2B);酸枣果酱有机酸主要有草酸、酒石酸、苹果酸、抗坏血酸、乳酸、乙酸、柠檬酸和琥珀酸(图 2C)。但酸枣干果、鲜果和果酱中有机酸和维生素 C 含量有很大的差异(见表 2),说明酸枣在干燥和加工的过程中会造成一定量有机酸和维生素

C 的损失,这与有机酸和维生素 C 化学不稳定有关,因此,在实际生产中要注意加工条件,尽可能地减少损失。

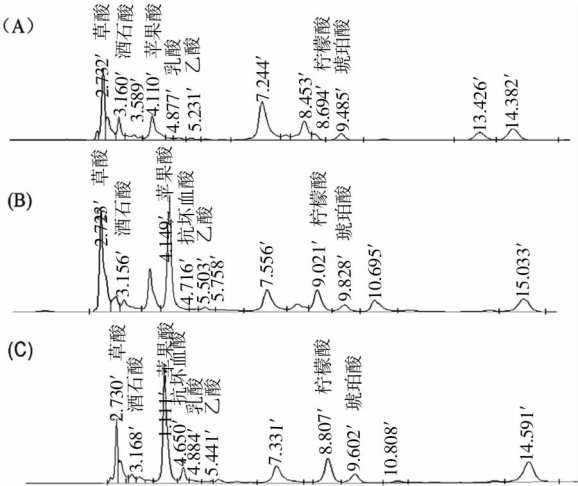


图 2 酸枣中有机酸的色谱图

(A)干果;(B)鲜果;(C)果酱

2.4 方法学分析

2.4.1 精密度 取同一标准品溶液,按照“1.2.1”色谱条件,平行测定 5 次,计算分离度好的组分峰相对于内参峰的相对保留时间和相对峰面积值。结果表明,有机酸共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.042%~0.183%,相对峰面积的 RSD 为 0.556%~1.983%,表明仪器精密度良好。

2.4.2 重复性 取同一样品溶液 5 份,按照“1.2.1”色谱条件进行测定,计算分离度好的组分峰相对于内参峰的相对保留时间和相对峰面积值。结果表明,各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.039%~0.247%,相对峰面积的 RSD 为 0.256%~1.853%,表明样品溶液重复性较好。

2.4.3 稳定性 取同一样品溶液,按照“1.2.1”色谱条件,分别于 0,2,4,8,12,24 h 进行测定,计算分离度好的组分峰相对于内参峰的相对保留时间和相对峰面积值。结果表明,各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.025%~0.270%,相对峰面积的 RSD 为 0.156%~1.568%,表明样品至少在 24 h 内是稳定的。

2.4.4 加样回收率 精确称取已烘干至恒重的酸枣粉末 5 份,提取液分别加入有机酸标准品,按照“1.2.1”色谱条件进行测定,平均回收率为 105.20%,RSD 为 2.8%。

表2 酸枣中有机酸的含量  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 

有机酸	干果	鲜果	果酱
草酸	7.223	9.321	5.639
酒石酸	2.215	1.829	0.996
苹果酸	3.575	6.786	9.785
乳酸	0.145	—	—
乙酸	0.126	0.161	0.112
柠檬酸	3.021	3.727	4.112
琥珀酸	0.625	0.711	0.693
抗坏血酸	—	10.721	3.022

注：“—”未检测出。

### 3 结论与讨论

#### 3.1 酸枣(鲜果、干果和果酱)中有机酸提取

采用超声提取酸枣有机酸,避免了加热、普通溶剂法提取对有机酸造成的损失。

#### 3.2 高效液相色谱分析

为了抑制有机酸的离解,采用磷酸氢二钠溶液作为酸性的流动相,但为了保护色谱柱,最终选择 pH 为 2.8,结果表明有机酸分离的效果较好。同时为了避免干扰有机酸的检测,210 nm 作为有机酸紫外检测波长,选用在紫外区无吸收的磷酸氢二钠溶液作为有机酸的洗脱液。

综上所述,该方法有机酸和维生素 C 分离效果良好,符合色谱分析的要求,分析方法是可靠的。方法操作简便,结果准确,对于酸枣中有机酸

和维生素 C 的定量和定性分析有很好的适用性。

#### 参考文献:

- [1] Johnston M C. The species of *Ziziphus* indigenous to United States and Mexico[J]. American Journal Botany, 1963, 50: 1020-1027.
- [2] 中国药典[S]. 国家药典委员会, 2005.
- [3] Sun, Y F, Liang Z S, Shan C J, et al. Comprehensive evaluation of natural antioxidants and antioxidant potentials in *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou fruits based on geographical origin by TOPSIS method[J]. Food Chemistry, 2011, 124(4): 1612-1619.
- [4] Guo S, Tang Y P, Duan J A, et al. Two new terpenoids from fruits of *Ziziphus jujuba* [J]. Chinese Chemical Letters, 2009, 20(2): 197-200.
- [5] 孔祥虹, 付兴隆, 姚秉华, 等. 固相萃取-反相高效液相色谱法同时测定浓缩果汁中的 11 种有机酸[J]. 食品科技, 2010, 35(7): 291-295.
- [6] 陈意光, 邓穗兴, 柯振华, 等. 高效液相色谱法同时测定果汁中 13 种有机酸和白芦醇[J]. 现代食品科技, 2010, 26(12): 1387-1390.
- [7] Ribeiro B, Rangel J, Valentao P, et al. Organic acids in two Portuguese chestnut (*Castanea sativa* Miller) varieties[J]. Food Chemistry, 2007, 100(2): 504-508.
- [8] 吕旭聪, 黄志清, 黄若兰, 等. 反相高效液相色谱法同时快速测定黄酒和葡萄酒中有机酸的含量[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(6): 132-136.

## Analysis of Organic Acids and Vc in Sour Jujube by High Performance Liquid Chromatography

SUN Yan-fang<sup>1</sup>, LIANG Zong-suo<sup>2</sup>, YANG Kai-bao<sup>3</sup>, LIU Zheng<sup>1</sup>

(1. Science College of Liaoning Technical University, Fuxin, Liaoning 123000; 2. Life Science College of Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shanxi 712100; 3. Resources and Environment College of Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shanxi 712100)

**Abstract:** In order to better develop and utilize sour jujube resources, an Waters XB-C<sub>18</sub> column was used and 0.05 mol·L<sup>-1</sup> phosphate buffer solution as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, and the detection wavelength was 210 nm. The organic acids and Vc by HPLC in sour jujube (fresh fruit, dry fruit and jam) were determined and analyzed. The result showed that organic acids and Vc were successfully separated within 10 min, but the content of organic acids and Vc in sour jujube (fresh fruit, dry fruit and jam) were very different. The method was fast, sensitive, reproducible and practical for the routine analysis of organic acids and Vc in sour jujube.

**Key words:** sour jujube; organic acids; high performance liquid chromatography (HPLC)