

# HPLC 法同时测定谷氨酸发酵尾液中 8 种有机酸的含量

郑明欣<sup>1</sup>, 李亚瑜<sup>1\*</sup>, 刘尊奇<sup>2\*</sup>, 岳继生<sup>3</sup>, 涂永峰<sup>3</sup>, 赵冬梅<sup>3</sup>

(1. 新疆农业大学化学化工学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆农业化学与生物材料重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830052; 3. 新疆慧尔农业集团股份有限公司, 新疆 昌吉 831100)

**摘要:**建立了高效液相色谱法(HPLC)同时测定谷氨酸发酵尾液中 8 种有机酸含量的方法。对谷氨酸发酵尾液中有有机酸含量进行测定,结果表明,样品经 Copure SAX SPE 固相萃取柱净化后,采用 Agilent ZORBAX SB-C18(150 mm×4.6 mm, 5 μm) 进行分离,优化后的色谱条件为:光电二极管阵列检测器检测波长为 210 nm,流动相为 V(pH=2.7 的磷酸二氢钾溶液):V(甲醇)=99:1,流速 0.7 mL/min,柱温 35℃,进样量 10 μL。在此优化条件下,8 种有机酸在 6 min 内均能很好地分离和定量,各有有机酸标准曲线相关系数  $R^2 > 0.9995$ ,检出限为 0.13~3.66 mg/L,定量限为 0.44~12.20 mg/L,回收率为 107.63%,相对标准偏差(RSD)均 < 5%。该方法线性关系良好,且简便快速、精密度高、准确度高,可用于谷氨酸发酵尾液中有有机酸含量的快速测定。

**关键词:**谷氨酸发酵尾液;固相萃取;高效液相色谱法;有机酸;色谱优化

中图分类号:O657.7

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2025)03-0260-07

DOI:10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2025.03.046

## Simultaneous determination of eight organic acids in glutamic acid fermentation tailings by HPLC method

ZHENG Ming-xin<sup>1</sup>, LI Ya-yu<sup>1\*</sup>, LIU Zun-qi<sup>2\*</sup>, YUE Ji-sheng<sup>3</sup>, TU Yong-feng<sup>3</sup>, ZHAO Dong-mei<sup>3</sup>

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China;

2. Xinjiang Key Laboratory of Agricultural Chemistry and Biomaterials, Urumqi 830052, China;

3. Xinjiang Huier Agricultural Group Co., Ltd., Changji 831100, China)

**Abstract:** A high performance liquid chromatographic (HPLC) method is established for the simultaneous determination of eight kinds of organic acids in glutamic acid fermentation tailings. Prior to be separated by an Agilent ZORBAX SB-C18 (150 mm×4.6 mm, 5 μm), the samples are cleaned up by a Copure SAX SPE solid phase extraction column. The chromatographic conditions are optimized as follows: the detection wavelength of the photodiode array detector is 210 nm, the mobile phase is V(potassium dihydrogen phosphate solution at pH=2.7):V(methanol)=99:1, the flow rate of mobile phase is 0.7 mL·min<sup>-1</sup>, the column temperature is 35℃, and the injection volume is 10 μL. Under these optimized conditions, the eight kinds of organic acids can be well separated and quantified within 6 min. The correlation coefficient of the standard curve for each acid  $R^2 > 0.9995$ . The limit of detection (LOD) ranges from 0.13 mg·L<sup>-1</sup> to 3.66 mg·L<sup>-1</sup>, and the limit of quantification (LOQ) ranges from 0.44 mg·L<sup>-1</sup> to 12.20 mg·L<sup>-1</sup>. The recoveries of eight organic acids are 107.63%. Relative standard deviations (RSD) are all less than 5%. This method exhibits good linearity, and is simple, rapid, precise and accurate for the rapid determination of organic acid content in glutamic acid fermentation tailings.

**Key words:** glutamic acid fermentation tailings; solid phase extraction; high performance liquid chromatography; organic acids; chromatography optimization

味精的生产过程大致分淀粉水解糖的制取、谷氨酸发酵、谷氨酸的提取与分离和谷氨酸精制 4 个部分。在谷氨酸发酵过程中,谷氨酸生产菌以葡萄糖为碳源,经 EMP 途径、HMP 途径、TCA 循环、乙醛酸循环、回补途径、氨的同化等过程在体内大量积累谷氨酸<sup>[1]</sup>。有机酸来源于微生物生长以及合成谷氨酸的过程,其含量能够对工业菌株的代谢状态进行表征,在谷氨酸发酵代谢领域的研究中存在着很高的价值。此外,我国每年味精生产企业排放的谷氨酸发酵尾液高达 5 000 万 m<sup>3</sup> 以上,这些难处理的

发酵尾液给环境造成了严重污染<sup>[2-4]</sup>。味精生产企业排放的发酵尾液主要包括如下几种:提取味精后的发酵母液、浓缩结晶后的母液、原料与设备的洗涤废水、离子交换树脂洗涤/再生废水、消毒废水等。总体来说,谷氨酸发酵尾液具有“五高一低”的特点,即固体悬浮物(SS)高、化学需氧量(COD)高、生化需氧量(BOD)高、氨氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)高、硫酸盐高、pH 低,这些特点导致谷氨酸发酵尾液成为难以处理的工业废水之一<sup>[5-6]</sup>。谷氨酸发酵尾液中的有机酸含量不仅能够改变发酵尾液的酸度,而且还对发酵

收稿日期:2024-05-17;修回日期:2024-12-29

基金项目:新疆维吾尔自治区科技厅重点研发项目厅厅联动项目(2022B02049-3-3)

作者简介:郑明欣(1998-),女,硕士生;李亚瑜(1985-),男,博士,讲师,研究方向为生物质资源化利用及复合材料制备,通讯联系人,lyy@xjau.edu.cn;刘尊奇(1986-),男,博士,教授,研究方向为无机功能材料制备及应用研究,通讯联系人,lzq@xjau.edu.cn。

尾液处理工艺以及实现资源高效利用具有重要意义。所以,建立精准高效的方法检测谷氨酸发酵尾液中有机酸的含量至关重要。

现阶段,关于有机酸含量的不同测定方法,有酶法<sup>[7-8]</sup>、电泳法<sup>[9-10]</sup>、分光光度法<sup>[11]</sup>、气相色谱法<sup>[12-13]</sup>、离子色谱法<sup>[14-15]</sup>、高效液相色谱法(HPLC)<sup>[16-18]</sup>。在上述测定方法中,酶法只能对某一种有机酸进行检测,在大量样本检测中的时间成本很高;毛细管电泳法能够在短时间内对有机酸进行高效测定,然而在样本制备方面有所不足,在很大程度上受样本结构的影响;分光光度法只能测定有机酸的总酸度,灵敏度和准确度较差;气相色谱法必须采取衍生化操作才能够分离挥发性较差的有机酸,操作过程不够简便,缺乏应用前景;离子色谱法一般借助稀强酸来完成,会腐蚀检测设施,同时测定时间比较长。就现阶段而言,在有机酸分离分析领域,高效液相色谱法应用比较广泛,在操作难度、分离效率、精准性等方面均具备优势,被视作检测领域的一种主流方法。本实验对预处理条件、色谱条件进行了优化,建立了一种操作简便、灵敏度高、准确度高、稳定性好的测定有机酸含量的方法,以期为后续发酵尾液的高效利用提供科学依据。

## 1 试验部分

### 1.1 仪器与试剂

安捷伦 1260 型高效液相色谱仪(配有自动进样器、四元泵、真空脱气机、光电二极管阵列检测器、化学工作站),美国安捷伦科技有限公司;Copure SAX 固相萃取小柱(500 mg/3 mL),深圳逗点生物技术有限公司;AL204 电子天平,瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司;BG-08C 型超声波清洗仪,广东邦洁电子产品有限公司;MILLI-QInte-gral 5 超纯水仪器,德国默克公司;HPD-25 无油真空泵,天津汉高技术有限公司。

谷氨酸发酵尾液样品:由某味精生产企业提供。酒石酸、丙酮酸、焦谷氨酸(纯度均>98%),上海麦克林生化科技股份有限公司;柠檬酸、乳酸、抗坏血酸、磷酸、磷酸二氢钾、亚铁氰化钾、硫酸锌(均为分析纯),天津市鑫铂特化工有限公司;丁二酸(分析纯),上海山浦化工有限公司;乙酸(色谱纯),天津市大茂化学试剂厂;甲醇(色谱纯)、氢氧化钠(分析纯),天津市致远化学试剂有限公司;盐酸(分析纯),四川西陇科学有限公司;采用的超纯水电阻率为 18.2 M $\Omega$ ·cm。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 样品前处理的选择

本实验比较了 Copure C18、Copure SAX 2 种固相萃取(SPE)小柱对谷氨酸发酵尾液中有机酸萃取效果以及去除干扰物的效果。

##### (1) Copure C18 固相萃取小柱

取 5.0 mL 谷氨酸发酵尾液样品于 100 mL 的容量瓶中,并向其中添加质量分数分别为 10.6% 和 30% 的亚铁氰化钾溶液与硫酸锌溶液各 2.0 mL,混合均匀,加水定容,静置 60 min,再通过双层滤纸过滤,并将上述滤液过 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜。使用 3.0 mL 的甲醇和超纯水分别活化和平衡 Copure C18 固相萃取小柱,使样品溶液以 1.0 mL/min 的速度流经该小柱,弃去最初流出的 2.0 mL,收集其后的流出液 1.0 mL 用于 HPLC 分析。

##### (2) Copure SAX 固相萃取小柱

取 5.0 mL 的谷氨酸发酵尾液样品放在 100 mL 的烧杯中,并加入 40 mL 的水,再添加质量分数为 10% 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 8.2,最后定容至 100 mL 容量瓶。分别依次加入 3.0 mL 的甲醇、超纯水活化和平衡 Copure SAX 固相萃取小柱,供后续使用。取 0.5 mL 样品溶液,使其自然地流过 Copure SAX 固相萃取小柱,待上述溶液完全被吸附后,用 3.0 mL 超纯水淋洗(流速 3 mL/min),再用 2.0 mL 的盐酸(1+20)洗脱(流速 1 mL/min)。收集洗脱液过 0.22  $\mu$ m 的微孔滤膜,滤液供 HPLC 分析。

#### 1.2.2 标准溶液的制备

制备浓度为 0.02 mol/L 的 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 溶液,并通过磷酸将溶液的 pH 调节至 2.7,依次准确称取一定量的标准品酒石酸、丙酮酸、抗坏血酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、焦谷氨酸及丁二酸,并使用缓冲溶液溶解定容至 100 mL 容量瓶中,混合均匀后放在 4℃ 环境中避光存放。取适量混合标准溶液,通过磷酸盐缓冲溶液稀释,得到稀释倍数为 2、5、10、50 的混合标准工作溶液。

#### 1.2.3 色谱条件

色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C18(150 mm×4.6 mm,5  $\mu$ m);流动相:V(pH=2.7 的磷酸二氢钾):V(甲醇)=99:1;磷酸二氢钾溶液浓度为 0.02 mol/L;流速为 0.7 mL/min;柱温为 35℃;进样量为 10  $\mu$ L;检测波长为 210 nm。

#### 1.2.4 色谱条件的优化

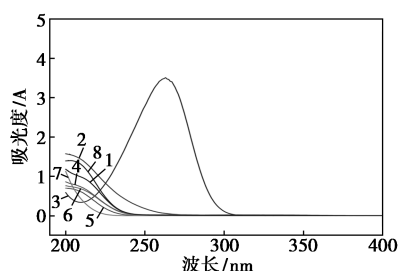
对磷酸盐缓冲溶液的 pH、流动相组成比例、流速以及柱温等进行调节。依次设置 pH 为 2.5、2.7、

2.9; 甲醇体积分数为 1%、3%、5%; 流速为 0.5、0.7、0.9 mL/min; 柱温为 25、30、35℃。

## 2 结果与分析

### 2.1 检测波长的确定

本实验通过紫外分光光度计依次对酒石酸、丙酮酸、抗坏血酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、焦谷氨酸以及丁二酸标准溶液进行扫描, 得到了对应的紫外光谱图, 如图 1 所示。由图可知, 在波长 210 nm 左右, 这些有机酸均有较大的吸收, 因此本实验采用的检测波长为 210 nm。

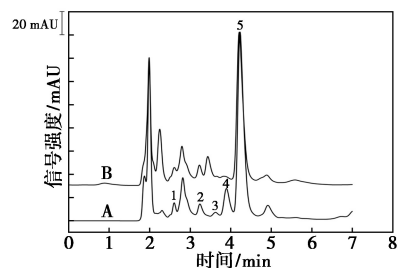


1—酒石酸; 2—丙酮酸; 3—抗坏血酸; 4—乳酸; 5—乙酸;  
6—柠檬酸; 7—焦谷氨酸; 8—丁二酸

图 1 8 种有机酸的紫外光谱图

### 2.2 固相萃取小柱的选择

在测定发酵尾液有机酸的过程中, 去除蛋白质之后, 色谱柱还可能会被样品中的色素污染。本实验选取了 2 种固相萃取小柱, 其中 Copure C18 固相萃取小柱对发酵尾液的脱色效果较好, 处理后样品呈无色透明状; Copure SAX 固相萃取小柱采取阴离子交换法, 可以对有机酸进行吸附, 同时可避免吸附蛋白质或色素。Copure C18、Copure SAX 2 种固相萃取小柱对发酵尾液预处理后的分离效果如图 2 所示。Copure C18 固相萃取小柱的净化效果较差且对有机酸的吸附作用不强, 乙酸、焦谷氨酸的回收率无法达到试验要求, 也不能保留柠檬酸; 强阴离子交换



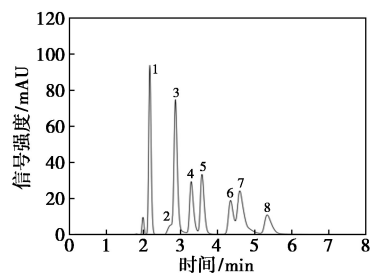
A—Copure SAX SPE; B—Copure C18 SPE; 1—丙酮酸;  
2—乳酸; 3—乙酸; 4—柠檬酸; 5—焦谷氨酸

图 2 2 种 SPE 柱选择 HPLC 色谱图

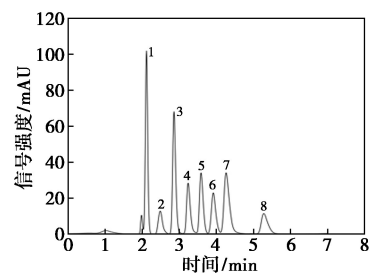
柱 Copure SAX 固相萃取小柱的净化效果较好, 能较好减少杂质峰的干扰, 有机酸的保留能力也都优于 Copure C18 固相萃取小柱, 且回收率满足试验要求, 因此本实验选择 SAX 固相萃取小柱对样品进行净化富集处理。

### 2.3 流动相 pH 的选择

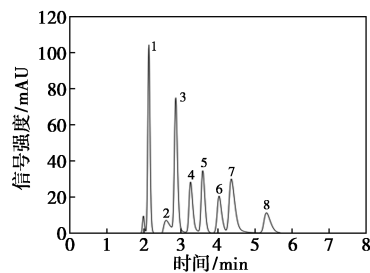
有机酸都属于弱酸, 会在溶液里发生解离, 解离的强弱由水溶液的 pH 决定。通过增加流动相  $H^+$  的浓度, 能够有效降低有机酸解离的程度, 增加有机酸在色谱柱上的保留程度, 进而改善分离效果, 因此应选择低 pH 缓冲溶液为流动相进行有机酸测定<sup>[19]</sup>。采用流动相 pH 2~3, 调整 0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液的 pH 分别为 2.5、2.7、2.9, 其他条件不变 [流动相比例为  $V(0.02 \text{ mol/L 磷酸二氢钾}) : V(\text{甲醇}) = 99 : 1$ , 流速为 0.7 mL/min、柱温为 35℃], 以比较不同 pH 对 8 种有机酸分离效果的影响, 如图 3 所示。当 pH=2.5 时, 丙酮酸和抗坏血酸



(a) pH=2.5



(b) pH=2.7



(c) pH=2.9

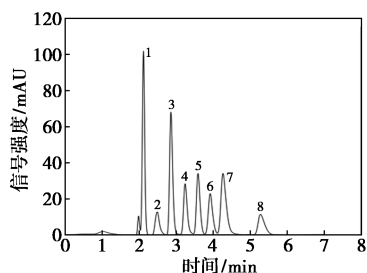
1—酒石酸; 2—丙酮酸; 3—抗坏血酸; 4—乳酸; 5—乙酸;  
6—柠檬酸; 7—焦谷氨酸; 8—丁二酸

图 3 不同 pH 磷酸盐缓冲溶液作为流动相有机酸混合标准品的 HPLC 色谱图

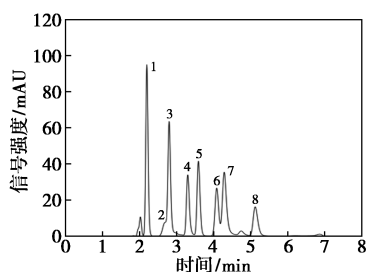
无法实现分离,而且柠檬酸与焦谷氨酸也分离不完全;当 $\text{pH}=2.9$ 时,丙酮酸与抗坏血酸、柠檬酸与焦谷氨酸均分离不完全;当 $\text{pH}=2.7$ 时,有机酸混合标样均能较好地分离。因此,最终确定流动相 $\text{pH}$  2.7。

#### 2.4 流动相甲醇比例的选择

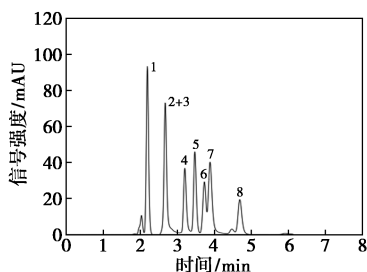
在流动相里面添加有机改性剂,能抑制有机酸疏水端和色谱柱固定相之间的相互作用,这样不仅会使得保留时间缩小,同时还能改善色谱峰的峰形<sup>[20]</sup>。选择不同比例 $V(0.02\text{ mol/L 磷酸二氢钾}):V(\text{甲醇})=99:1、97:3、95:5$ 作为流动相,其他条件不变,比较分离效果,结果如图4所示。随着甲醇比例增加,对丙酮酸和抗坏血酸、柠檬酸和焦谷氨酸的分离效果影响越来越大, $V(0.02\text{ mol/L 磷酸二氢钾}):V(\text{甲醇})=99:1$ 时分离效果最好。



(a) 1% 甲醇



(b) 3% 甲醇



(c) 5% 甲醇

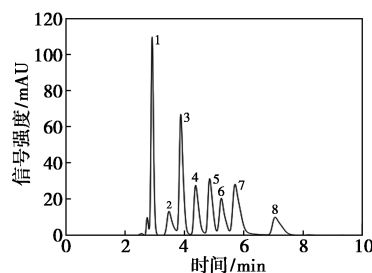
1—酒石酸;2—丙酮酸;3—抗坏血酸;4—乳酸;5—乙酸;  
6—柠檬酸;7—焦谷氨酸;8—丁二酸

图4 不同甲醇比例情况下有机酸混合标准品的HPLC色谱图

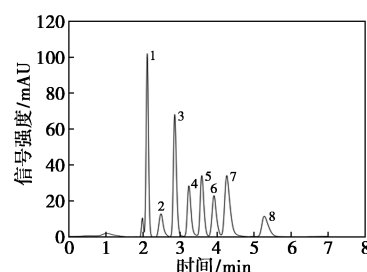
#### 2.5 流速的选择

在HPLC色谱分离过程中,溶质和色谱柱固定

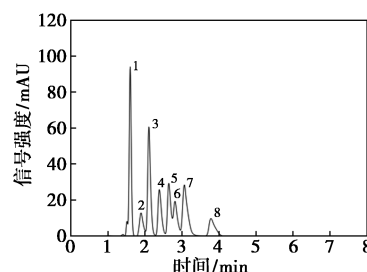
相的相互作用会受到流速的影响,进而使得有机酸保留时间发生变化。如果采用过高的流速,则会引起过大的柱压,从而会破坏色谱柱的稳定性;相反,如果采用过低的流速,则会导致有机酸长时间留存于色谱柱上,引起色谱峰形态改变,造成拖尾情况。由此可见,采取适宜的流速对于分离有机酸的效果至关重要。在本实验中,分别考察了流速为0.5、0.7、0.9 mL/min的情况下有机酸分离的程度,同时保持其他条件固定不变,如图5所示。当流速为0.5 mL/min时,各有机酸分离效果较好,但峰形有拖尾现象;当流速为0.7 mL/min时,能够实现所有有机酸最佳的分离状态,且对应的峰形也较好;当流速为0.9 mL/min时,8种有机酸的保留时间与分析时间均减少,但丙酮酸和抗坏血酸、乙酸和柠檬酸有重叠;因此,最终确定流速为0.7 mL/min。



(a) 0.5 mL/min



(b) 0.7 mL/min



(c) 0.9 mL/min

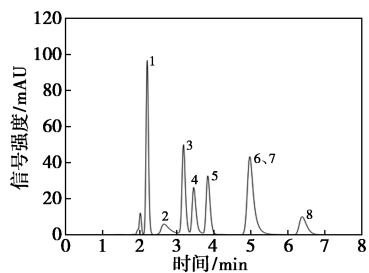
1—酒石酸;2—丙酮酸;3—抗坏血酸;4—乳酸;5—乙酸;  
6—柠檬酸;7—焦谷氨酸;8—丁二酸

图5 不同流速下有机酸混合标准品的HPLC色谱图

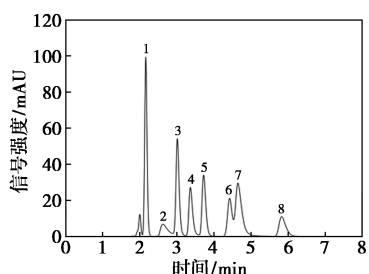
#### 2.6 柱温的选择

色谱理论指出,柱效与分离度也会受到柱温的

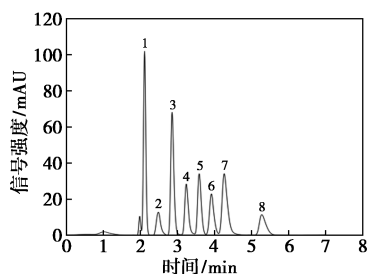
影响,增加柱温能够减小流动相的黏度和提升传质效率,降低保留时间,然而过大的柱温会使得有机酸分离效果变差,且会对色谱柱造成一定程度的破坏<sup>[21]</sup>。本实验依次对 25、30、35℃ 3 个柱温条件进行了考察,其他条件固定不变,如图 6 所示。25℃ 时,柠檬酸与焦谷氨酸无法实现分离;



(a) 25℃



(b) 30℃



(c) 35℃

1—酒石酸;2—丙酮酸;3—抗坏血酸;4—乳酸;5—乙酸;  
6—柠檬酸;7—焦谷氨酸;8—丁二酸

图 6 不同柱温下有机酸混合标准品的 HPLC 色谱图

30℃ 时,柠檬酸与焦谷氨酸依旧不能完全分离;当柱温为 35℃ 时,有机酸混合标样均能较好地分离。因此,最终确定柱温为 35℃。

### 2.7 线性关系考察

根据以上优化实验条件的结果,本实验测定了不同有机酸溶液的质量浓度和峰面积的关系,以有机酸质量浓度为横坐标(x),峰面积为纵坐标(y)绘制标准曲线,进行线性拟合。根据信噪比(S/N=3)确定检出限,信噪比(S/N=10)确定定量限,所得各有机酸标准品的标准曲线和线性范围见表 1。由表 1 可知,所有有机酸的线性关系均较好,且相关系数  $R^2$  介于 0.999 5~0.999 9 之间,检出限和定量限的范围分别为 0.13~3.66、0.44~12.20 mg/L。

表 1 各有机酸对应的标准曲线方程、相关系数、线性关系、检出限以及定量限结果

有机酸	标准曲线方程	相关系数 $R^2$	线性范围/ (mg·L <sup>-1</sup> )	检出限/ (mg·L <sup>-1</sup> )	定量限/ (mg·L <sup>-1</sup> )
酒石酸	$y=1.364x-0.3975$	0.9999	10~500	2.73	9.09
丙酮酸	$y=9.571x+0.2644$	0.9999	2.5~125	0.13	0.44
抗坏血酸	$y=7.110x+0.9563$	0.9998	10~500	0.33	1.09
乳酸	$y=0.4291x+0.4897$	0.9995	50~2500	3.20	10.64
乙酸	$y=0.4804x+0.1448$	0.9999	100~5000	3.33	11.11
柠檬酸	$y=0.9004x+1.4658$	0.9997	25~1250	2.68	8.93
焦谷氨酸	$y=5.213x+1.0928$	0.9999	10~500	0.88	2.94
丁二酸	$y=0.4435x+0.4020$	0.9999	50~2500	3.66	12.20

### 2.8 精密度

由表 2、表 3 可知,8 种有机酸对应的保留时间、峰面积的 RSD 分别介于 0.00%~0.19%、0.09%~4.03% 范围内,均不超过 5%,这表明所采用的有机酸分析方法具有良好的精密度。

表 2 各有机酸的色谱保留时间

有机酸	保留时间/min						平均值/min	标准差/min	RSD/%
	1	2	3	4	5	6			
酒石酸	2.116	2.116	2.116	2.116	2.116	2.116	2.12	0.000	0.00
丙酮酸	2.498	2.500	2.499	2.499	2.499	2.496	2.50	0.001	0.06
抗坏血酸	2.846	2.854	2.853	2.853	2.850	2.845	2.85	0.004	0.12
乳酸	3.221	3.224	3.225	3.224	3.222	3.218	3.22	0.002	0.08
乙酸	3.569	3.573	3.573	3.572	3.571	3.566	3.57	0.003	0.07
柠檬酸	3.890	3.902	3.905	3.905	3.904	3.888	3.90	0.007	0.19
焦谷氨酸	4.226	4.234	4.235	4.235	4.234	4.220	4.23	0.006	0.14
丁二酸	5.270	5.279	5.286	5.289	5.280	5.263	5.28	0.009	0.17

表3 各有机酸的色谱峰面积

有机酸	峰面积/mAU						平均值/mAU	标准差/mAU	RSD/%
	1	2	3	4	5	6			
酒石酸	461.740	461.958	460.879	461.583	461.291	460.873	461.39	0.41	0.09
丙酮酸	139.081	138.131	138.658	131.851	131.892	131.989	135.27	3.37	2.49
抗坏血酸	420.343	418.807	418.493	428.332	427.060	426.108	423.19	4.06	0.96
乳酸	219.874	219.552	217.335	237.989	237.779	235.691	228.04	9.18	4.03
乙酸	241.755	241.130	234.109	239.603	239.103	236.654	238.73	2.63	1.10
柠檬酸	184.148	183.755	174.600	171.413	171.257	169.641	175.80	5.95	3.38
焦谷氨酸	343.186	340.163	331.101	321.820	322.227	322.158	330.11	8.82	2.67
丁二酸	142.872	140.360	141.331	140.592	140.718	139.869	140.96	0.96	0.68

## 2.9 回收率测定

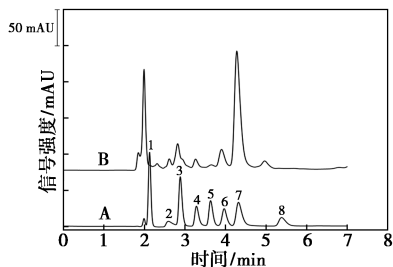
结合各有机酸的平均峰面积数据,利用标准曲线方程对有机酸含量进行确定,并和标准溶液的初始浓度作比较,最后计算出回收率为107.63%,这说明该方法有着较高的准确度,如表4所示。

表4 准确度试验结果

有机酸	测定峰面积 平均值/mAU	初始浓度/ (mg·mL <sup>-1</sup> )	测定浓度/ (mg·mL <sup>-1</sup> )	回收率/ %	回收率 均值/%
酒石酸	461.39	0.30	0.34	113.33	107.63
丙酮酸	135.27	0.01	0.01	100.00	
抗坏血酸	423.19	0.05	0.06	120.00	
乳酸	228.04	0.50	0.53	106.00	
乙酸	238.73	0.50	0.50	100.00	
柠檬酸	175.80	0.20	0.19	95.00	
焦谷氨酸	330.11	0.05	0.06	120.00	
丁二酸	140.96	0.30	0.32	106.67	

## 2.10 样品中有机酸含量的测定

采用优化后的预处理条件和液相色谱条件,分别测定了谷氨酸发酵尾液中各有机酸含量,如图7



A—有机酸标样;B—谷氨酸发酵尾液样品;1—酒石酸;  
2—丙酮酸;3—抗坏血酸;4—乳酸;5—乙酸;6—柠檬酸;  
7—焦谷氨酸;8—丁二酸

图7 有机酸标样和谷氨酸发酵尾液样品  
有机酸 HPLC 色谱图

所示。进行6组平行实验,结果见表5。由图表可知,尾液样品中检测到的有机酸有丙酮酸、乳酸、乙酸、柠檬酸和焦谷氨酸,其中乳酸、柠檬酸和焦谷氨酸的含量较高,丙酮酸和乙酸的含量较低。

表5 谷氨酸发酵尾液中各有机酸的含量(n=6)

		mg/mL	
样品	谷氨酸发酵尾液	样品	谷氨酸发酵尾液
酒石酸	—	乙酸	1.056±0.020
丙酮酸	0.162±0.001	柠檬酸	5.346±0.051
抗坏血酸	—	焦谷氨酸	6.425±0.095
乳酸	3.656±0.069	丁二酸	—

## 3 结论

本实验优化了样品的预处理条件和液相色谱条件,并采用优化后的条件同时测定了8种有机酸。样品经固相萃取小柱净化后,通过C18色谱柱分离,在流动相为V(pH=2.7的磷酸二氢钾溶液):V(甲醇)=99:1,流速0.7 mL/min,柱温35℃,紫外检测波长210 nm,进样量10 μL的条件下,可实现8种有机酸的分离和定量测定。8种有机酸标准曲线的R<sup>2</sup>为0.999 5~0.999 9,检出限为0.13~3.66 mg/L,定量限为0.44~12.20 mg/L,回收率为107.63%,相对标准偏差(RSD)均<5%,该方法线性关系良好,且精密度高、准确度高,可用于谷氨酸发酵尾液中有机酸的定量分析。分析结果对进一步研究有机酸的含量变化、产生机理以及尾液后续的高效利用都具有重要的意义。

## 参考文献

- [1] 刘志成,郑德平.HPLC法测定谷氨酸发酵中有机酸含量的方法研究[J].中国酿造,2009,(3):154-157.

- [2] Ding J Y, Hu X Y, Feng Z H, *et al.* Environmental life cycle assessment of monosodium glutamate production in China; Based on the progress of cleaner production in recent ten years [J]. *The Science of the Total Environment*, 2021, 818: 151-706.
- [3] Zhao B Y, Liu X K, Li X L, *et al.* Effect of lignocellulose/montmorillonite immobilized *Bacillus* sp. on monosodium glutamate wastewater [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2023, 30(35): 83260-83269.
- [4] 黄继红, 蔡凤英, 关丹, 等. 中国味精工业 100 年综述 [J]. *中国调味品*, 2020, 45(3): 167-171.
- [5] 王睿, 王倩, 林樟楠, 等. 谷氨酸提取技术及其废液资源化清洁生产研究进展 [J]. *中国调味品*, 2021, 46(12): 196-200.
- [6] Chen H, Luo Z, Wei Y X, *et al.* Complex inhibitions on anaerobic degradation of monosodium glutamate in wastewater under low COD/sulfate ratios [J]. *International Biodeterioration Biodegradation*, 2023, 177: 105-526.
- [7] Liljeblad A, Kanerva L T. Enzymatic methods for the preparation of enantiopure malic and aspartic acid derivatives in organic solvents [J]. *Tetrahedron Asymmetry*, 1999, 10(22): 4405-4415.
- [8] Danielczuk J, Jakubowski A, Czarnecka A. Comparative examination of L-ascorbic acid determination by enzymatic method and methods according to the polish standards in selected fruit and vegetable juices [J]. *Prace Instytutów I Laboratoriów Badawczych Przemysłu Spożywczego (Poland)*, 2000, 3(5): 27-47.
- [9] 桑大席, 张孔海. 加压毛细管电色谱法分析调味果蔬汁饮品中 5 种有机酸 [J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(18): 177-182.
- [10] Laube H, Boden J, Schneider R. Capillary electrophoresis method for the analysis of organic acids and amino acids in the presence of strongly alternating concentrations of aqueous lactic acid [J]. *Bio-process Biosyst Eng*, 2017, 40(7): 981-988.
- [11] 牛金刚, 梁晓静, 刘霞, 等. 分光光度法测定水溶液中的有机酸含量 [J]. *应用化学*, 2010, 27(3): 342-346.
- [12] 范桂芳, 李佩佩, 齐立松, 等. 液液萃取-气相色谱法测定发酵液中的有机酸与乙醇 [J]. *农业工程学报*, 2018, 34(23): 227-231.
- [13] 沈艳飞, 赵常山, 赵立恒, 等. 微波辅助甲酯化-微型液液萃取-气相色谱法测定卷烟中的非挥发有机酸和脂肪酸 [J]. *化学试剂*, 2018, 40(3): 244-248.
- [14] 王睿, 王倩, 赵轩, 等. 味精生产中有机酸含量的抑制型离子色谱测定及焦谷氨酸产生原因分析 [J]. *中国酿造*, 2022, 41(10): 213-218.
- [15] 穆瑛琦, 吴奕萱, 王道, 等. 离子色谱-串联质谱法检测酒类产品中 10 种有机酸 [J]. *色谱*, 2022, 40(12): 1128-1135.
- [16] 王珍珍, 沙如意, 王高坚, 等. HPLC 法同时测定食用植物酵素中 12 种有机酸 [J]. *食品工业科技*, 2020, 41(19): 279-285.
- [17] 余松柏, 吴奇霄, 黄张君, 等. 基于 HPLC 结合多元统计方法分析不同种类酒中有机酸的差异 [J]. *中国酿造*, 2023, 42(2): 46-52.
- [18] 郝俊光, 陈婉玲, 杨丽, 等. 红茶菌发酵罗城毛葡萄 13 种有机酸的同时检测 [J]. *食品工业科技*, 2020, 41(22): 260-266.
- [19] 刘晨明, 曹宏斌, 曹俊雅, 等. 梯度洗脱高效液相色谱法快速检测厌氧菌代谢物中的有机酸 [J]. *分析化学*, 2006, 34(9): 1231-1234.
- [20] 赵欣, 武晋海, 牛晓峰. 基于 HPLC 法同时测定牛心柿汁中 5 种有机酸含量 [J]. *中国酿造*, 2022, 41(3): 232-237.
- [21] 张军, 韩英, 高年发, 等. HPLC 法测定葡萄酒中有机酸的色谱条件研究 [J]. *酿酒科技*, 2004, (2): 91-93. ■

## 中化蓝天四川新能源电解液工厂智能物流机器人投入试运行

近日,中化蓝天四川新能源年产 20 万 t 电解液(一期)工厂智能供应链物流机器人项目配合试生产小批量调试完成。预计今年 2 月投用后,工厂有望成为国内自动化程度最高、产品竞争力最强的电解液智能工厂之一。

该项目集成全厂制造执行系统、仓储管理系统和自动引导车搬运调度系统等多个生产过程自动化产品,实现生产计划和库存信息数据共享、流程同步、实时监控。项目投用后,工厂电解液吨桶信息可实现全流程追溯,进一步优化库存管理,显著提升数据准确性和信息透明度,有效避免出现吨桶混用、人工配送错误等情况。

(中化蓝天)