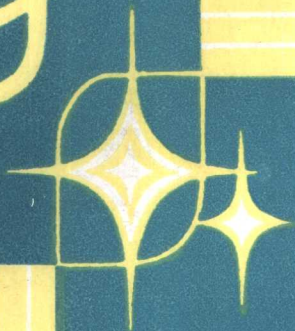




全国高等农业院校教材

全国高等农业院校教材指导委员会审定



作物品质分析

● 牛森 主编

● 作物和植保类专业用

农业出版社



全国高等农业院校教材

作物品质分析

牛 森 主编

作物和植保类专业用

农 业 出 版 社

(京)新登字060号

全国高等农业院校教材

作物品质分析

牛 森 主编

* * *

责任编辑 张兴瓚

农业出版社出版 (北京市朝阳区农展馆北路2号)

新华书店北京发行所发行 农业出版社印刷厂印刷

787×1092mm16开本 16印张 325千字

1992年5月第1版 1992年5月北京第1次印刷

印数 1—2,000册 定价 4.20元

ISBN 7-109-02066-5/S·1359

内 容 简 介

本书详细介绍了作物中的蛋白质与氨基酸、脂肪与脂肪酸、碳水化合物、维生素以及矿物质等营养品质的分析,也介绍了作物中有害物质的分析、作物食用品质的分析以及作物组织形态的超微结构分析等原理和技术。

在分析方法上,主要介绍国家标准方法或目前国内外流行的先进方法,并着重于介绍现代仪器分析方法,包括气相色谱、高效液相色谱、薄层色谱、紫外吸收光谱、荧光光谱、原子吸收光谱以及透射电镜和扫描电镜等现代分析仪器的原理及用于作物品质分析的方法。

根据目前我国农科学学生的接受能力和需要,将现代仪器技术融合于作物品质分析实验之中,使学生在分析技术、提高实验技能的同时,提高对现代科学仪器的运用能力。

本书适用于高等农业院校作物、植保类专业,也可作为土壤化学、园艺、畜牧、食品等专业或其他分析技术人员的参考书。

主 编 牛 森 (沈阳农业大学)
副主编 蒋式洪 (浙江农业大学)
编 写 周艳明 (沈阳农业大学)
主 审 严国光 (北京农业大学)

前 言

近十年来, 仪器分析作为一种新技术和新学科, 在国际上迅速发展起来, 它为农业科学提供了一个崭新的手段, 已使农业科学取得了一系列的重大成果和惊人的突破。农业科学的发展, 也对分析测试提出了越来越高的要求。因此尽快在我国农业教育和科研中加强仪器分析的教育和应用, 将对我国农业科学早日赶上世界先进水平起推动作用, 同时也有助于提高学生对现代科学仪器的运用能力及实验技能。使之更适应现代科学及社会生产力发展的需要。近年来, 引进了大批的现代科学仪器, 使我国农业教育和科研在仪器装备的主要方面迅速赶上了世界先进水平, 这既为仪器分析的教育提供了坚实的物质基础, 同时, 对如何使这批现代科学仪器和技术尽快与农业科学紧密结合, 发挥效益, 也成为仪器分析教学更紧迫的任务。以上正是编写本教材的主要目的。

现代仪器分析的内容主要包括光谱分析、色谱分析、电化学分析和质谱、波谱分析及电子显微镜技术等。本教材结合高等农业院校作物、植保类专业对作物品质分析技术的需要, 深入浅出地介绍了光谱分析、色谱分析及电子显微镜技术等现代仪器分析技术的基本原理和仪器结构, 并详细介绍了它们在作物品质分析中的具体应用和实验操作步骤, 力求使仪器分析原理的介绍与作物品质分析的实践紧密结合。以作物品质分析的项目为线索, 将仪器分析的介绍溶于其中, 成为一体, 避免脱节。

本教材以介绍仪器分析方法为主 (这也是当前分析测试领域发展的趋势), 也对同一分析项目并列了1—2个化学分析方法, 以照顾分析目的和设备条件的差异。主要介绍国家标准方法、国际推荐方法或当前国内外较流行的方法。

在所分析测定的作物品种上, 主要以大田作物为主, 也兼顾了果树、蔬菜, 以扩大其适用范围。

《作物品质分析》是根据农业部“七·五”教材规划的安排编写的。参加编写的有沈阳农业大学牛森、周艳明及浙江农业大学蒋式洪。编写分工如下: 第二章、第七章第四、五节、第八章第六节及第十章, 由牛森编写; 第一章、第七章第一、二、三、六节及第八、九章由蒋式洪编写; 第三、四、五章由周艳明编写; 第六章由蒋式洪和周艳明编写。本书牛森任主编, 蒋式洪任副主编, 周艳明除编写部分章节外, 还承担了本书的统稿、定稿、修改、润色工作, 严国光 (北京农业大学) 担任本书主审。

《作物品质分析》教材在我国农业院校是一门新课, 本教材的编写也是一个新的尝试, 加之编写时间和编者水平的限制, 难免有谬误之处, 希读者指正。

牛 森

1990.3

目 录

前言

第一章 样品采取与处理	1
第一节 样品的采取和制备	1
一、正确采取样品的意义	1
二、正确采取和制备样品的方法	1
第二节 样品的处理	4
一、样品的提取	5
二、提取液的净化	6
三、提取液的浓缩	7
第二章 脂肪及脂肪酸的测定	9
第一节 粗脂肪的测定	9
一、油重法	10
二、残余法	11
第二节 气相色谱法及脂肪酸的测定	11
一、气相色谱法	12
二、脂肪酸的测定	28
第三章 碳水化合物的测定	31
第一节 旋光仪及粗淀粉的测定	31
一、旋光仪	31
二、旋光测定法	32
第二节 直链淀粉与支链淀粉的测定	34
一、紫外-可见分光光度计及直链淀粉与支链淀粉的测定	34
二、混合标准曲线法	43
第三节 可溶性糖总量的测定	44
一、还原糖的测定(斐林比色法)	44
二、非还原糖的测定	46
第四节 高效液相色谱法及可溶性糖的分离测定	47
一、高效液相色谱法	47
二、可溶性糖的分离测定	61
第五节 纤维素的测定	62
一、酸碱醇醚法	62
二、比色法	64
三、酸性洗涤剂法	65
第四章 蛋白质与氨基酸的测定	67

第一节 总氮及粗蛋白的测定	67
一、半微量凯氏法	68
二、自动定氮仪定氮法	70
第二节 蛋白氮与非蛋白氮的测定	73
一、方法原理	74
二、仪器和试剂	74
三、操作步骤	74
第三节 全氨基酸的测定	74
一、高速氨基酸分析仪法	75
二、高效液相色谱法	82
第四节 赖氨酸的测定	85
一、染料结合法 (DBL法)	85
二、荧光法	87
第五节 色氨酸的测定	88
一、荧光法	88
二、对-二甲氨基苯甲醛法	88
第六节 蛋氨酸、胱氨酸的测定	90
第七节 游离氨基酸测定样品的制备	91
第五章 维生素的测定	94
第一节 维生素C的测定	95
一、二氯酚靛酚滴定法	95
二、荧光法	97
第二节 维生素B ₁ 的测定 (荧光法)	106
第三节 维生素B ₂ 的测定 (荧光法)	108
第四节 维生素B ₆ 的测定	111
第五节 维生素B ₁₂ 的测定	112
第六节 β -胡萝卜素的测定	114
第七节 维生素B ₁₁ 的测定 (荧光法)	116
第八节 维生素E的测定	118
一、荧光法	118
二、高效液相色谱法	120
第六章 有机酸的测定	122
第一节 总酸度的测定	123
一、果、蔬中总酸度的测定	123
二、粮食酸度的测定	124
第二节 有效酸度 (pH值) 的测定	125
第三节 挥发酸总量的测定	127
第四节 几种有机酸的分离测定	128
第七章 水分、灰分及无机元素的测定	131
第一节 水分的测定	131
一、常压恒温烘干法	131

二、减压低温烘干法	133
三、蒸馏法	133
第二节 粗灰分的测定	135
第三节 原子吸收分光光度计及钾、钠、钙、镁、铜、锌、铁、锰的测定	136
一、原子吸收分光光度计	137
二、样品的灰化方法	143
三、钾和钠的测定	145
四、钙和镁的测定	148
五、铁、锰、铜、锌的测定	149
第四节 全磷的测定	152
一、钼蓝法	152
二、钼钒黄法	154
三、流动注射分析仪及磷的流动注射分析法	155
第五节 硒的测定	160
一、2,3-二氨基萘荧光法	160
二、邻菲罗啉铁比色法	162
三、3,3'-二氨基联苯胺比色法	164
第六节 碘的测定	165
一、碱灰化-比色法	166
二、容量法	167
第八章 有害物质的测定	169
第一节 单宁的测定	169
一、Folin-Denis法	170
二、锌沉淀-EDTA络合滴定法	171
第二节 植酸的测定	172
第三节 棉酚的测定	174
一、三氯化锑比色法	174
二、苯胺法(游离棉酚)	175
三、紫外分光光度法	177
第四节 芥酸及硫代葡萄糖甙的测定	177
一、芥酸的测定	177
二、硫代葡萄糖甙的测定	178
第五节 硝酸盐及亚硝酸盐的测定	183
一、酚二磺酸比色法	183
二、镉柱还原法	185
第六节 黄曲霉毒素的测定	188
一、薄层色谱法	189
二、高效液相色谱法	192
第七节 农药残留量的测定	193
一、农药残留量测定的基本技术	193
二、六六六、滴滴涕残留量的测定方法	198
三、有机磷农药残留量的测定方法	202

第九章 作物食用品质的测定	205
第一节 稻米食用品质的测定	205
一、蒸煮和食味品质的评定	205
二、糊化温度的测定	205
三、胶稠度的测定	206
四、米粒延伸性的测定	207
第二节 小麦食用品质的测定	207
一、面筋含量的测定	207
二、面筋性质的测定	208
三、 α -淀粉酶的测定	212
第三节 水果食用品质的测定	213
一、水果品质的感官鉴别	213
二、水果中可溶性固形物的测定	214
三、水果中酸度的测定	215
四、水果中还原糖及可溶性总糖的测定	215
五、果胶物质的测定	216
六、乙醇和乙醛的测定	218
第四节 油脂食用品质的测定	220
一、感官鉴定	220
二、比重的测定	221
三、折射率的测定	222
四、酸价的测定	222
五、碘值的测定	223
六、皂化值的测定	225
七、氧化值的测定	226
八、过氧化值的测定	227
第十章 电子显微镜及作物组织超微结构的观察	229
第一节 透射电子显微镜及作物组织切片的观察	229
一、电子显微镜的原理	229
二、电子显微镜的结构	230
三、透射电镜样品的制备	233
四、透射电镜的样品观察	237
第二节 扫描电镜及作物组织表面结构形态的观察	238
一、扫描电镜的原理	238
二、扫描电镜的结构	239
三、扫描电镜样品的制备	241
四、扫描电镜样品的观察	243
参考文献	244

第一章 样品采取与处理

第一节 样品的采取和制备

一、正确采取样品的意义

作物样品的品质主要是指感官品质（包括色泽、果形、食味和气味等）和内含成分（包括营养成分和有害成分），其质量的好坏直接关系到它的商品价值以及人、畜的营养水平和健康状况。

作物品质分析的对象，主要包括农作物及其收获物，如粮食作物及油料作物的籽粒；水果的果实；蔬菜的叶、茎、根、瓜类和茄果类；茶叶、桑叶的叶片以及作物不同生育期的整个植株或某些合适部分的组织等。各种样品的采取和制备方法各不相同，本节将作分别介绍。

作物品质分析的首要工作是采取供分析用的样品。采取就是从一大批作物样品中取出一小部分，通过分析这一小部分样品，来衡量这批作物样品的质量。采样方法是否得当，直接影响分析结果的准确性。

因为各种作物样品的品种、土壤、气候、栽培条件、成熟程度、储藏方式等情况各不相同，即使是同一作物样品，这一部分与那一部分也会有差别。采样时如果不考虑这些情况，就会使取得的分析样品失去代表性，那么，不管以后的操作多么认真、仔细，不管仪器多么精密，都不能得到正确的分析结果，甚至可能得到错误的结论，给生产或科研带来损失。因此，采取样品时，应该注意使采样误差尽可能减少至最低限度，才能得到有代表性的样品。

二、正确采取和制备样品的方法

（一）粮食与油料籽粒样品的采取和制备

1. 粮食与油料籽粒样品的采取

袋装样品的采取 粮食和油料的食用部分大多是籽粒，收获后往往是袋装或堆装。要从一大批同一种籽粒样品中取出少量样品时，必须要有代表性，袋装的不能只从一袋中取样，要多取几袋，每袋要从上、中、下三层取出三份样品，组成原始样品。决定原始样品的数量要看全部样品的差异性，差异大的多取几袋，差异小的可以少取。一般取全部产品总袋数或总重量的5—10%。将取出的原始样品充分混合均匀后，在塑料布上平摊，成厚度约3cm正方形，划上两条对角线把样品分成四份，取对角的二份，再如上混合，平分四

份,取对角的二份。这样直到缩分至所需数量为止,一般取 500g 左右,作为平均样品,这种取样方法称为四分法。

堆装样品的采取 从散装堆中取样,由于堆的部位不同,引起水分、挥发性成分含量变化,贮藏期间腐烂程度(霉变)有轻有重,因此要均匀设点,随机取样。点数不宜太少,至少有五点,每点同样须由上、中、下三层取样,把底层虫蚀、结块、发霉的弃去。

田间植株上采样 当某项研究(如育种)需要从试验小区或大田植株上采取种子时,要考虑栽培条件的一致性,挑选植物的长势、形态和成熟度比较均匀的样株,进行收获、脱粒、混匀,再按上述用四分法缩分混合样品,最后取约 250g。有些籽粒较大,如花生、大豆、玉米、向日葵等可取500g。

油脂液体样品采集 油脂样品由于是液体并多为桶装,采取时须充分搅拌均匀,用取样管以虹吸方法分层取样,每层各取 500ml 左右,装入小口瓶中混匀。同样,取桶数不得少于总数的5%,桶点要分布均匀。

2. 粮食与油料籽粒样品的制备 样品的制备是根据样品的性质与分析要求,将平均样品进行搅拌(液体类、组织捣碎机捣碎(果蔬类)、磨碎(粮油籽粒、植株组织与饲料等)和过筛等又一次混合均匀的过程。其目的是使样品充分均匀,在分析时取用任何一部分都能代表全部样品的成分,同时也便于分析,加快反应速度,样品制备的方法因样品种类不同而异。

粮食籽粒样品的制备 将采取的平均籽粒样品,拣除杂质和不完善的籽粒,风干。水分多的样品可放在60—65℃烘干,脱壳(必要时精白),用磨粉机磨碎、过筛。样品过筛细度视称样量而定,称量1—2g时,过0.5mm筛;称样量小于1g时,过0.25mm筛。未能过筛的少量样品必须继续磨碎,直到全部过筛(不得任意弃去未能过筛的样品)。磨细过的样品,要贮存在密封的容器中,在分析前,应将样品在60—65℃下烘干24h。

油料籽粒样品的制备 含油量较少的样品如大豆,可以像粮食籽粒一样直接用磨粉机磨碎,过0.5mm筛。

含油量较高的带壳油料种子如核桃、花生、蓖麻籽、棉籽等,应剥去果壳或种皮分别称量,计算出仁率。然后用小刀或切片机将种仁切成0.5mm以下的薄片。棉籽壳很难剥掉,可先用水浸4—6h,再用刀片将种子切成两半,取出种仁,切碎,尽量不使油被挤出。

小粒油料种子,如油菜籽、芝麻等在粉碎过程中容易损失油分,故不宜研磨。可放在70—80℃干燥15—18h(要注意控制温度和时间,温度过高或时间过长都可使不饱和脂肪酸氧化或油脂挥发而影响结果,或使油脂氧化难以提取)。然后在瓷研钵中用棒击碎(注意不要留有整粒),立即混合均匀,装入磨口瓶中,贴上标签备用。

(二) 水果与蔬菜样品的采取和制备

1. 采取方法 瓜果、浆果、块根和块茎等成熟期延续较长,一般在主要成熟期取样,也可在成熟过程中采样2—3次,每次应在试验区域地块中随机采取10株以上,取簇位相

同、成熟度一致的果实组成平均样品。在果园里取样时，首先要进行全面调查，选择品种、树龄、树势、生长量、果色和高地条件等相对相似果树上取样。从同一品种的果树中选取3—5株为代表株，在每株果树的树冠外围中部采取大、中、小、向阳、背阴、成熟度适中的果实10—15个组成混合平均样品。在进行果实品比时，要选择具有该品种典型特征的样品，才能比较品种的品质。不能取被虫食、病害或机械破损等原因造成不正常的果实。采取的样品要在田间马上记下样品号、样品名称、取样日期、取样部位、取样地点和树的健壮程度等。

组成平均样品的数量，要看样品个形的大小。小的如青椒40个左右，番茄和洋葱等20个左右，黄瓜、茄子等约15个；大的如西瓜约10个，可以切取果实的1/4，混匀，再按照四分法缩减混合样品。

2. 制备方法 水果、蔬菜多为新鲜产品供食用，故水果和蔬菜的分析都用新鲜样品，而且某些组成成分如维生素C极易氧化，应在采样后的当天进行测定，试验证明：放置3天与采收当天的苹果相比，其维生素C可降低60—70%。由于果实表面常会附着尘垢、肥料和农药等杂质污染，必须在采样后立即用含0.1%洗涤剂的水洗，然后用自来水冲掉洗涤剂，再用去离子水洗干净，擦干。但要注意不能在贮存后再洗或是果实变得软缩以后洗，洗涤时间要短，也不能将果实浸泡在水中，以免果实中的养分有损失。

如果鲜样太多，可切取一部分，但切取部分的各种组织比例要与全部样品相当。对于苹果、梨、桃子、西瓜等新鲜水果，切取每个果实中部的纵、横剖面各一片，再用不锈钢刀切碎，柑桔取每个果实对角线的两瓣；浆果取每个果穗的上、中、下、左、右各方位果实数个。

样品带回实验室后，若不能及时进行分析，可将样品装入塑料袋里，短期贮存在3—5℃冷藏箱中保持新鲜，在洗涤时养分不致被淋洗损失，亦可带上一个冰壶，将样品装入冰壶中保存。

对果皮和果肉进行分析测定时，对不易去皮的果实要用不锈钢刀薄薄削下，果皮全部留作分析用。当分析容易去皮的果实时，如桔子不仅可以去掉外果皮，也可以去掉里面的桔络和果核，视分析目的而定。

果汁样品的制备 将果皮和果核去掉，取可食部分置于压榨机内榨汁，通过脱脂棉过滤，混匀，置试剂瓶中，保存在冰箱中备用。

浆状样品的制备 将样品的可食部分切成1—2cm见方的小块，用高速组织捣碎机(或研钵)打成匀浆，置广口瓶内，保存于冰箱中备用。在做维生素C分析时，应按一定比例加入2—10%草酸或偏磷酸溶液，一起捣碎或匀浆。

粉状样品的制备 制备粉状样品必须采取快速干燥方法，以保存样品的成分不变质。快速干燥一般用高温通风干燥的办法，将鲜样先在110—120℃的鼓风干燥箱中(此时样品温度达100—105℃)烘20—30min，再在60—65℃下烘至样品变脆，以利进一步磨细过筛。也可用不锈钢刀将果实切成1—2cm见方小块，放在蒸发皿中，在80℃下鼓风干燥，

再磨成粉末，保存在广口瓶中备用。果实小的，可将整个果实用蒸气杀酶15—20min，再在60—65℃烘干，注意温度过高容易烘焦，温度过低容易霉烂。

(三) 植株组织样品的采取和制备 采取植株组织样品同样要选择具有代表性的样株。从大田或试验小区中挑选密度、形态长势、生育期等尽可能一致的样株，多点采取，组成混合平均样品。样株数量视作物种类、株形大小、生育期而定，株形小的如水稻和麦类可采取50株左右，株形大的如玉米和棉花只需15—20株。采样部位要根据分析目的采取具有指示意义的组织部位，一般在苗期多采取整个地上部分，在生殖生长开始后常采取主茎或主枝顶部新成熟的功能叶（幼嫩组织的养分变化大不宜采用），但当开始结实后，营养组织部位的养分转化很大，不宜再作叶片分析。如果是研究施肥等措施对作物品质的影响，则还是要在成熟期同时采取茎叶和籽粒样品。对于果树与林木等多年生植物的养分研究通常采用叶片分析比较方便，有些植物如葡萄、棉花则常常采取叶柄分析。

采样时间，由于生长在田间的植物是个活体，体内的各种物质特别是易变化的成分如硝态氮、氨基态氮、还原糖等，不仅在不同生育期含量有很大差异，就是在一天之内也有显著变化，因此，在分期采样时，取样时间应当一致，通常以上午8—10时为宜，因为这时植物根系吸收养分速率与地上部光合作用强度接近动态平衡，比较能说明问题。

采回的植株样品如需将其不同部位分别测定，就应立即将其剪开，以免养分转移。

制备方法，可参看水果与蔬菜样品的制备方法。将采好的植株样品及时洗涤、烘干、磨细和过筛。当用于测定易变化的成分时，同样须用新鲜样品。

供微量元素分析的样品，要防止在干燥和粉碎过程中仪器对样品的污染，例如干燥箱中烘干时，防止金属粉末等的污染，粉碎样品应选用不锈钢粉碎机和尼龙网筛，如要准确分析铁，必须在玛瑙研钵中研磨。

第二节 样品的处理

作物样品本身的组成成分非常复杂，它包括各种有机与无机成分，其中有的待测成分在样品中含量极微，在分析测定时对它们往往有较大干扰。因此，在测定之前，需对样品进行预处理。样品在处理过程中，既要消除对待测成分的干扰因素，又要不使被测成分损失，而且还有利于提高测定的灵敏度，这样才能使测定得到理想的结果。所以样品的处理是整个分析测定的重要步骤。

样品的处理方法，可以根据样品种类的特点，待测组份和被测物质的理化性质来加以选择，常用的有提取、净化及浓缩的方法。测定某些成分总量时需要使有机物质分解的湿法消煮与干灰化法将在第七章中作详细介绍，有些测定项目需要采用两种或两种以上的处理方法结合使用，也将在有关章节的测定步骤中详细叙述。这里不再重复。

一、样品的提取

样品的提取,是利用样品中各成分在同一溶剂的溶解度不同这一性质,用溶剂将待测成分从样品中提取到溶剂中来,而大部分的非测定成分则不被提取。

提取的方法很多,一般固体样品多用浸提法、索氏提取法和洗脱法,液体样品则多用液-液萃取的方法。可酌情选用。

(一) 浸提法 从作物有机组织中提取某种成分时,一般采用浸泡的方法,称为浸提法。即将制备好的样品置于磨口三角瓶中,加入一定量的提取溶剂,塞上瓶塞,在振荡器上振摇一定时间,然后过滤或离心分出提取液。对于含有一定水分的新鲜样品,如水果和蔬菜等,可在样品中加入一定量的吸水剂(如无水 Na_2CO_3),先在研钵中充分研碎,再移入磨口三角瓶中提取。也可将这类新鲜样品放在组织捣碎机中与提取溶剂混合,以高速充分切碎,可增加提取溶剂与样品的接触面积,这样就可以在较短的时间将待测成分提取完全。组织捣碎机混合浸提法的提取效率高于一般振荡法,但高速捣碎时往往会出现乳化现象,这时可用高速离心机来分离提取液。

(二) 索氏提取法 即在索氏浸提器中,应用液-液萃取原理反复浸提样品中的待测成分。图1—1是改良索氏提取器,当提取溶剂受热后,溶剂不断蒸发,到达冷凝管时在管壁上凝结成液体,滴入样品管中进行浸提,样品管中的溶剂逐渐上升达到一定高度时,因虹吸作用又自动流回提取瓶中,如此反复多次浸提。应用此法浸提样品中的待测成分,其优点是提取比较完全,操作简便,可在同一个仪器内直接浓缩而得到浓缩液;缺点是浸提时间比较长,一般需要4—8h。

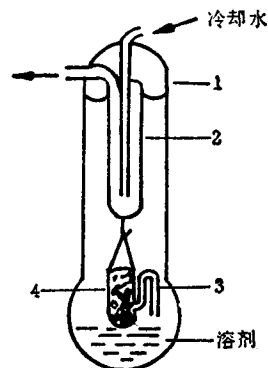


图1—1 改良索氏提取器

1. 磨面 2. 冷凝管
3. 虹吸管 4. 样品管

(三) 洗脱法 将粉碎的样品与活化的硅胶(在 600°C 以上灼烧数小时活化)拌合,装入色谱管,用选定的洗脱溶液进行洗脱。此时,待测成分随着溶剂被洗脱出来,而样品中的非测定成分如脂肪、色素及不溶性的杂质等则被硅胶吸附或阻留。洗脱法的优点是避免了浸提法中可能出现的乳化现象,并可在较短的时间内完成对待测成分的提取。

(四) 萃取法 对于液体样品中待测成分的提取,一般采用液-液萃取的方法。要从溶液中提取某一组分时,所选用的溶剂必须与原溶剂互不相溶,但能溶解待测组分。当这种溶剂与样品溶液混合后,待测成分则在这两种互不相溶的溶剂中分配,经多次萃取即可将待测物质分离出来。萃取的仪器比较多,如各种各样的分液漏斗。

当分配比较大时,多使用分液漏斗来萃取,即把欲萃取的待测溶液移入分液漏斗中,然后加入溶剂,塞上用水润滑的磨砂玻璃塞,注意旋转磨砂玻璃塞,关闭塞上的小孔,轻轻振荡2—3次后,徐徐打开塞孔以解除内压,然后再关闭塞孔,充分振荡。当用溶剂相

分离良好时,一般振摇40—60次即可。振摇完毕后,将分液漏斗搁置在漏斗架上。为防止内压喷掉塞子,应把磨砂玻璃塞的小孔放开,使其压力释放,然后静置到萃取溶液完全分离。如果这时萃取液呈现乳浊状,久置后仍无法分离为两层时,通常可用追加溶剂重复萃取;或者添加少量酒精或无机盐,也可用离心机离心分离或用滤纸过滤。

从溶液中萃取某一组分时,将萃取溶剂全部一次使用,其效果显然不如将定量溶剂分数次进行萃取的好。

对于分配比较小的物质,当使用比重较水轻的溶液从水溶液中萃取待测组分时,适用于采用连续液体萃取器,其仪器的结构原理与改良索氏提取器相仿。溶剂受热后,产生的蒸气上升至冷凝器,液化后滴于样液管,使欲萃取的液层上升,此时发生萃取作用。萃取液上升到一定高度又回流至原烧瓶中,溶剂再次气化,这样继续反复萃取达完全提取组分为止。

二、提取液的净化

作物样品经过浸提处理之后,获得的提取液中,除了待测定成分外,常常还伴有各种非测定成分存在。由于所用提取方法的不同,提取液中存在的非测定成分的种类和含量也不相同。它们的存在,将干扰待测成分的测定。因此,在测定待测成分之前,还必须将样品提取液经过适当“净化处理”。净化的目的是除去干扰物质,而又不使待测组分受到损失。净化的方法随样品性质不同而异,本节介绍柱色谱法和盐析法。

(一) 柱色谱法 柱色谱法是净化样品提取液的常用方法之一。在使用此法时,调整吸附剂的活性及选用极性强弱适宜的溶剂是净化效果好坏的关键。柱色谱法有吸附色谱法及分配色谱法。使用较多的是吸附色谱法,吸附色谱法常用硅镁型吸附剂、氧化铝、活性炭和硅胶等作吸附剂,分配色谱法常用硅藻土作担体。本节仅介绍吸附色谱法。

吸附色谱法是利用吸附剂表面对样品中不同组分吸附性能的差异而使待测组分与干扰物质分离从而达到净化的方法。它是在一支柱状玻璃管中装入具有适当吸附性能的固体物质(如氧化铝、硅胶等)作为固定相,此玻璃管称为色谱柱或层析柱,将欲净化的样品提取液加入色谱柱中,由于提取液中各组分与固定相吸附剂的吸附能力强弱有差异,各组分就被吸附在色谱柱的不同部位,再选择一种适当的溶剂作流动相,以一定的速度从上端注入色谱柱。经过流动相一定时间的冲洗,各组分经过反复多次的吸附,能吸附作用而产生差速迁移,与固定相吸附力差的组分迁移速度较快位于柱的下端,而与固定相吸附力强的组分迁移速度较慢位于柱的上端,从而达到彼此分离。进一步冲洗,吸附较弱的组分就被冲洗下来,而吸附较强的组分则被留在色谱柱中,适当选择固定相与流动相,使待测成分较易冲出而干扰物质留在柱中,达到净化目的。

操作步骤:

(1) 装柱 吸附柱内应无气泡并且固定相应填充均匀,这是色谱分离好坏的先决条件。可参见图1—2,在色谱管的下端装入玻璃纤维或脱脂棉以堵塞柱管下端,加入少量溶

剂,然后在管子中段装入适量的吸附剂,上面再装入1—2cm厚的无水硫酸钠,最后加1—2cm厚的海砂,注意勿使其起泡,过剩的溶剂让其流出。吸附柱的直径与长度之比以1:10—20为宜。

(2) 加样与洗脱 在加样之前,应将色谱柱上端多余的洗脱剂放出,使液面降到吸附剂的表面,然后将样液沿色谱柱的管壁慢慢加入(使之以一定的速度流经吸附剂)。待样液液面降到吸附剂的表面时,将洗涤盛样品的容器的洗液也缓缓地加入柱中。待样液几乎全部流出色谱柱后,加入洗脱剂,按规定的流速进行洗脱,将洗脱下来的待测成分接收在收集瓶中,供测定用。

在整个操作过程中,必须注意色谱柱中的吸附剂表面保持一定高度的液面,不可流干,否则会使空气进入柱内,影响分离效果。还要注意控制加样的流速。流速过快或过慢,同样会影响分离效果。

柱色谱净化法,除了上述的单一吸附剂外,也可将多种吸附剂混合使用。有分段装柱法(图1—3),如用硅藻土,硅镁型吸附剂及活性炭等分段装柱;还有混合装柱法,即将各种吸附剂混合以后装柱,混合装柱法是充分利用各种吸附剂的特点,取长补短,可更有效地净化复杂组分的样品提取液。

(二) 盐析法 向提取液中加入某一物质,使溶质在原溶剂中的溶解度大大降低,从而从提取液中沉淀出来,这个方法称为盐析法。例如在欲测定蛋白质的提取液中,加入大量盐类,特别是加入重金属盐(氢氧化铜或碱性醋酸铅),使蛋白质沉淀析出,再经过滤,洗涤,达到分离净化蛋白质的目的。

在使用盐析方法时,应注意选择向提取液中加入的物质。这种物质是不会破坏提取液中所要析出的物质,否则达不到盐析净化的目的。盐析沉淀后,通常还要选择适当的分离方法,如过滤、离心分离或蒸发等。这要根据提取液、溶剂、析出物质的性质和实验要求来决定,还要注意掌握盐析时的pH值和温度等条件。

三、提取液的浓缩

样品经提取或净化后得到的待测液,有时由于溶液体积较大,其中待测定物质的浓度又较低,测定方法的灵敏度不够要求,这时还需要将样品液进行浓缩处理,以减小溶液体积,增加待测物质的浓度,达到测定方法的检测浓度范围。常用的浓缩方法有直接水浴浓缩法和减压蒸馏浓缩法。

(一) 直接水浴浓缩法 直接水浴浓缩法是用蒸发皿直接在热水浴上蒸发浓缩样品液。若要回收所蒸发的溶剂,则可用索氏提取器或多用蒸馏器(图1—4)。为了加快溶剂的挥发和浓缩过程,可将盛有样液的容器置于适当温度的水浴上,向容器中吹入空气或氮气,

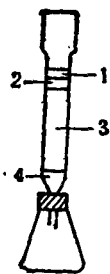


图1—2 色谱柱的装填

1.海砂 2.无水硫酸钠 3.吸附剂 4.玻璃棉

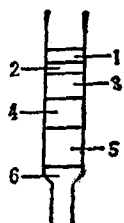


图1—3 分段装柱示意图

1.海砂 2.无水硫酸钠 3.酸性硅藻土 4.硅镁型吸附剂 5.酸性活性炭 6.玻璃棉