

水果糖中有机酸的测定

实验背景:

苹果酸, 又名 2-羟基丁二酸, 由于分子中有一个不对称碳原子, 有两种立体异构体。大自然中, 以三种形式存在, 即 D-苹果酸、L-苹果酸和其混合物 DL-苹果酸。白色结晶体或结晶状粉末, 有较强的吸湿性, 易溶于水、乙醇。有特殊愉快的酸味。苹果酸主要用于食品和医药行业。酒石酸是一种羧酸, 存在于多种植物中, 如葡萄和罗望子, 也是葡萄酒中主要的有机酸之一, 作为食品中添加的抗氧化剂, 可以使食物具有酸味。柠檬酸是一种重要的有机酸, 又名枸橼酸, 无色晶体, 常含一分子结晶水, 无臭, 有很强的酸味, 易溶于水。其钙盐在冷水中比热水中易溶解, 此性质常用来鉴定和分离柠檬酸。结晶时控制适宜的温度可获得无水柠檬酸。在工业, 食品业, 化妆业等具有极多的用途。本实验主要针对水果糖中有机酸的含量测定

参考标准:

《GB 5009.157-2016 食品安全国家标准食品有机酸的测定》

实验步骤:

0.1%磷酸溶液: 量取磷酸 0.1mL, 加水至 100mL, 混匀

2%磷酸-甲醇溶液: 量取磷酸 2mL, 加甲醇至 100mL, 混匀

(1) 样品提取:

称取 1g 粉碎的水果糖试样于 50mL 离心管中, 加入 20mL 水, 震荡提取 5min 后, 4000r/min 离心 3min, 转移上清液至 100mL 容量瓶中, 重复提取一次, 合并两次提取液, 加乙醇定容至刻度。

移取 10mL 提取液加入 10mL 无水乙醇, 浓缩至近干, 用 2mL 水溶解待净化。

(2) 样品净化:

Welchrom® SAX, 1000mg/6ml

活化: 6mL 甲醇, 6mL 水

上样: 将上述待净化样以 2-3mL/min 的速度通过小柱, 弃液

淋洗: 用 5mL 水淋洗, 弃液

洗脱: 5mL 磷酸-甲醇溶液 (2%) 洗脱收集至鸡心瓶中, 旋转蒸发浓缩至近干, 然后用 5mL 乙醇溶解旋干, 用 1mL 0.1%磷酸溶液溶解, 过 0.45 μm 滤膜, HPLC 分析。

(3) 仪器条件:

HPLC 条件

色谱柱: Ultimate AQ-C18 4.6×150mm, 5μm

流动相: A: 甲醇 B: 0.1%磷酸溶液 等度洗脱: A: B (1:99)

仪器型号: Waters2695+PDA2998

柱温: 35°C

流速：0.8 mL/min
进样体积：10 μ L
检测波长 210nm

(4) 实验图谱及结果

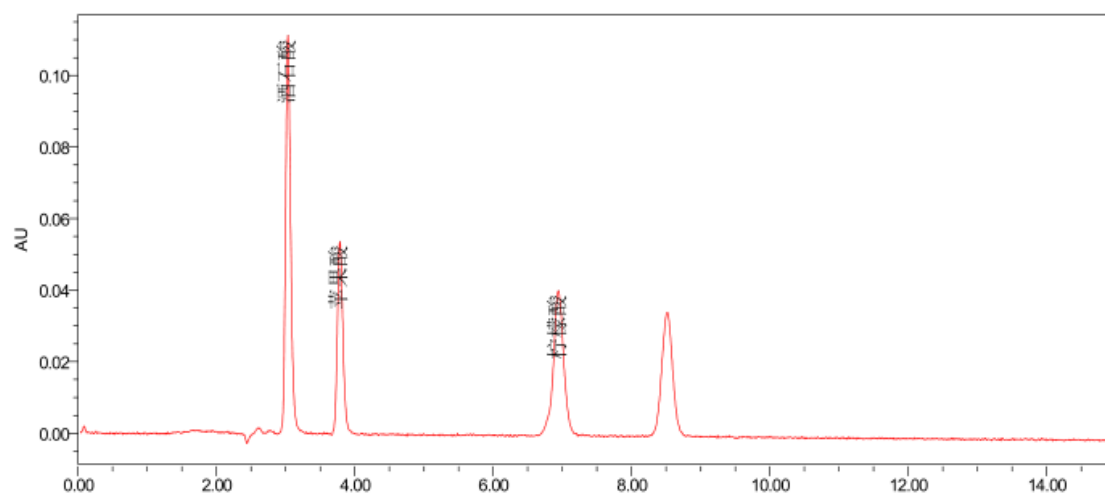


图 1 三种有机酸样品加标 2g/kg 液相色谱图，1: 酒石酸 2: 苹果酸 3: 柠檬酸

Fig 1. liquid chromatogram of organic acid samples at 2g/kg

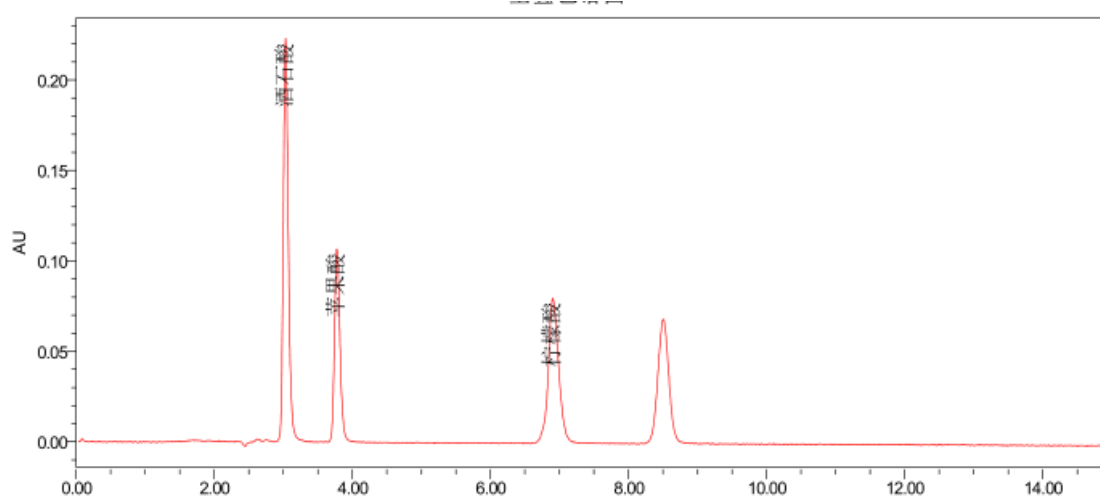


图 2 三种有机酸样品加标 4g/kg 液相色谱图，1: 酒石酸 2: 苹果酸 3: 柠檬酸

Fig 2. liquid chromatogram of organic acid samples at 4g/kg

由表 3 可知，采用固相萃取结合液相色谱法检测 3 种有机酸，加标量为 2g/kg 和 4g/kg 加标回收率为 71.32%~86.66%，能够满足检测要求。由图 1 可看出经 SAX 固相萃取柱净化，采用月旭 Ultimate AQ-C18 色谱柱检测能够使将 3 种有机酸较好的分离开，且各物质峰形良好，保留时间稳定。

表 1 有机酸加标回收实验结果(n=10)

Tab.1 Results of recovery and precision of seven synthetic colorant samples

名称	加标量 (g/kg)	加标回收率 (%)	RSD(%)	RT(min)
酒石酸	2	79.62	5.17	3.033
	4	85.44	6.22	
苹果酸	2	72.66	5.81	3.776
	4	83.01	4.22	
柠檬酸	2	75.47	3.24	6.901
	4	80.23	5.76	

(5) 实际样品检测:

为了保证水果糖样品的代表性,从大润发、永辉、华联、家乐福、苏果、沃尔玛等超市以及菜场选择具有代表性的 10 个水果糖样品进行检测,结果均为未检出。

(6) 结论

本实验建立了三种有机酸检测的 HPLC 检测方法,对于加标量为 2g/kg 和 4g/kg 的样品进行了检测,回收率在 72.66%~85.44%,符合国标要求,固相萃取方法稳定并且色谱柱重现性良好,说明本方法能够用于检测食品中的合成着色剂含量。

(7) 订购指南

产品名称	包装规格	订货号
Welchrom® SAX	1000mg/6ml, 30pk	00513-11007
Ultimate AQ-C18	5.0um, 4.6×150mm	00207-31041