

面包中 7 种有机酸的提取与检测

背景

有机酸是分子结构中含有羧基的一类化合物，食品中常见的有机酸有柠檬酸、苹果酸、酒石酸、乳酸等。常见食品例如果汁、水果罐头中有机酸的测定，经过简单的提取即可使用仪器进行检测，但是例如蜂蜜、面包、糕点、果冻等基质较为复杂的样品则需要使用 SelectCore SAX 强阴离子交换固相萃取柱去除基质干扰后，才能进行仪器分析。在液相色谱分析时，参考国标方法，常见的 C18 分析柱针对丁二酸和富马酸的分离度不够，而纳谱分析的 ChromCore AR C18 是一款侧链保护的 C18 分析柱，不仅可以耐受较低 pH 的流动相，而且针对有机酸的分离也较为出色，保证了实验数据的准确性。同时本文优化了固相萃取步骤中的洗脱液条件，由原来的蒸发至近干再复溶优化为洗脱后直接定容，极大缩短了实验操作时间，提高实验效率。

适用范围

参照 GB 5009.157-2016 食品安全国家标准 食品有机酸的测定，本方法适用于果汁及果汁饮料、碳酸饮料、固体饮料、胶基糖果、饼干、糕点、果冻、水果罐头、生湿面制品和烘焙食品馅料中 7 种有机酸的测定。

实验步骤

1、试剂的准备

0.1%磷酸水溶液：准确量取磷酸 1.0 mL，加水至 1000 mL，混匀。

洗脱液：准确量取磷酸 2 mL，加水至 100 mL，混匀。

2、样品的制备

称取 5 g（精确至 0.01 g）均匀面包试样，放入 50 mL 离心管中，向其中加入 20 mL 水后在 15000 r/min 均质提取 2 min，在 4000 r/min 下离心 3 min 后，将上清液转移至 100 mL 容量瓶中，向残渣加入 20 mL 水重复提取 1 次，合并提取液于同一容量瓶中，用无水乙醇定容至刻线，摇匀。准确移取上清液 10 mL 于 100 mL 鸡心瓶中，向鸡心瓶中加入 10 mL 无水乙醇，在 80 °C ± 2 °C 下旋转浓缩至近干时，再加入 5 mL 无水乙醇继续浓缩至彻底干燥后，用 1 mL × 1 mL 水洗涤鸡心瓶 2 次，作为待净化液。

3、固相萃取方法

活化：SelectCore SAX 1000mg/6mL 固相萃取柱，依次使用 5.0 mL 甲醇、5.0 mL 水活化；

上样：取步骤 2 中制备好的待净化液上样至固相萃取柱上，弃去流出液；

淋洗：使用 5.0 mL 水淋洗，弃去淋洗液；

洗脱：用 5.0 mL 洗脱液洗脱，收集全部洗脱液，并用水定容至 10.0 mL，混匀后使用液相色谱仪进行测定。

4、液相色谱仪器条件

酒石酸、苹果酸、乳酸、柠檬酸、丁二酸和富马酸的测定

Column: ChromCore AR C18, 5 μm

Dimension: 4.6×250 mm

Mobile Phase: A) 0.1%磷酸水溶液

B) 甲醇

Gradient: t(min)	A	B
0	97.5	2.5

10	97.5	2.5
11	0	100
16	0	100
17	97.5	2.5
22	97.5	2.5

Flow rate: 1.0 mL/min

Temperature: 40 °C

Injection: 20 µL

Detection: UV 210 nm

己二酸的测定

Column: ChromCore AR C18, 5 µm

Dimension: 4.6×250 mm

Mobile Phase: 0-10 min: 75/25 v/v 0.1%磷酸水溶液/甲醇

Flow rate: 1.0 mL/min

Temperature: 40 °C

Injection: 20 µL

Detection: UV 210 nm

实验谱图

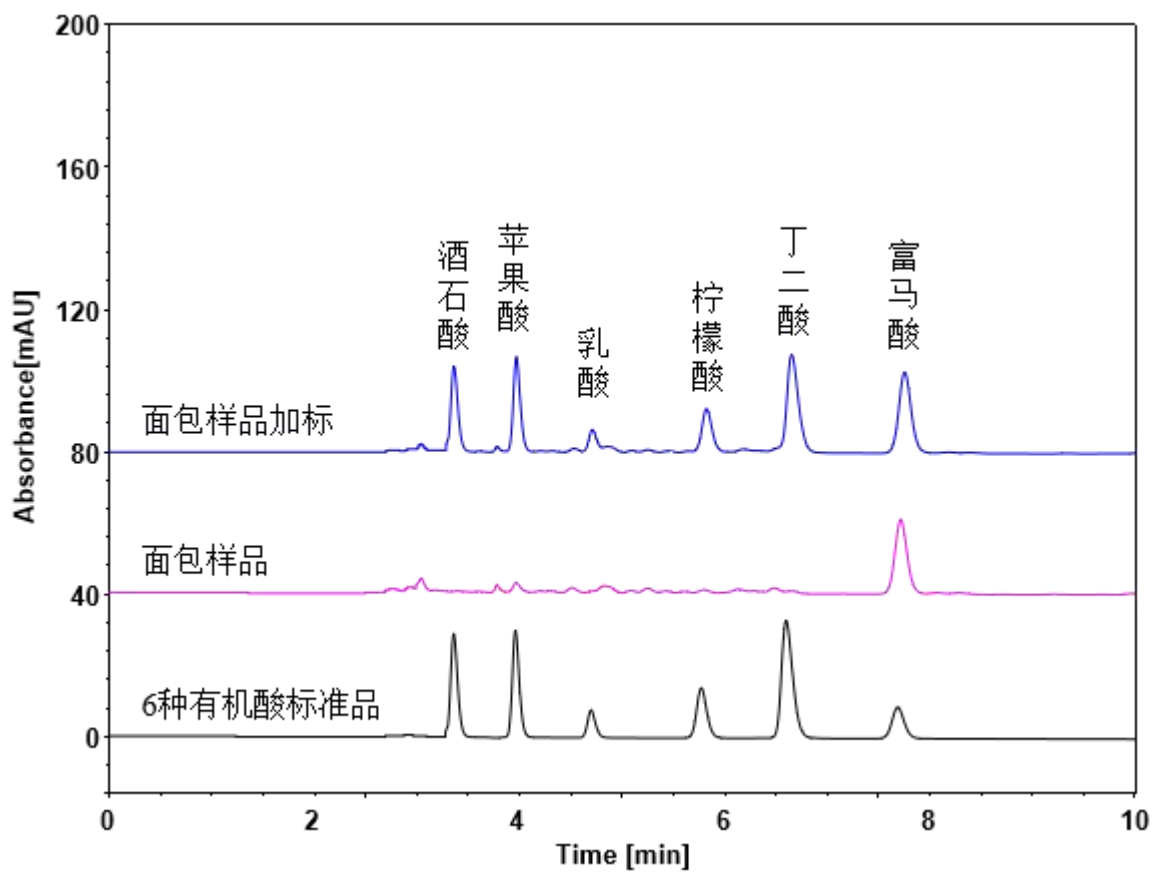


图 1 6 种有机酸标准品、面包样品、面包样品加标对比图

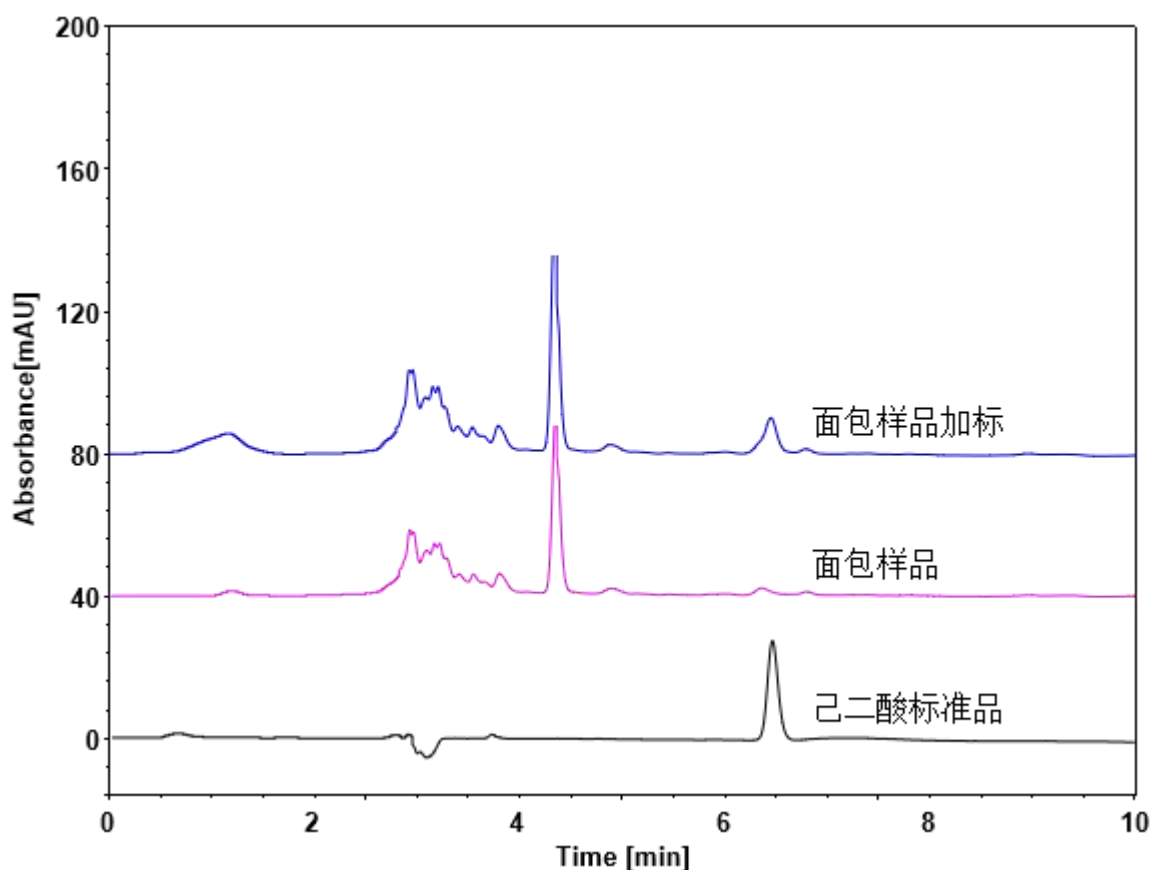


图 2 己二酸标准品、面包样品、面包样品加标对比图

加标回收

率

化合物	加标量	SelectCore SAX 加标回收率	Competitor A SAX 加标回收率
酒石酸	5000 mg/kg	98.14%	91.43%
苹果酸	10000 mg/kg	97.93%	87.52%
乳酸	5000 mg/kg	96.58%	39.57%
柠檬酸	5000 mg/kg	95.37%	105.28%
丁二酸	25000 mg/kg	101.03%	79.12%
富马酸	25 mg/kg	98.55%	115.95%
己二酸	2500 mg/kg	109.51%	74.32%

实验过程中也对比了其他厂家 Competitor A SAX 固相萃取柱回收率结果，其中乳酸的回收率不足 40%，丁二酸和己二酸回收率不足 80%，无法满足检测要求。

实验结论

由实验谱图和加标回收率结果可以看出，SelectCore SAX 固相萃取柱可以有效去除面包样品基质干扰，并且

7种有机酸的回收率均符合检测要求，ChromCore AR C18 在分析有机酸时，峰型良好、杂质与目标物分离度良好，其中丁二酸与富马酸可以达到完全分离的效果。国标 GB 5009.157-2016 中固相萃取洗脱步骤为 2% 磷酸甲醇洗脱，收集洗脱液后旋转蒸发至近干，照此方法进行操作时，由于磷酸属于不挥发性酸，因此蒸发至近干所需时间过长，对于近干的状态很难控制，并且在复溶时容易出现复溶不完全导致回收率偏低的问题，故而将洗脱液优化为 2%磷酸水洗脱，洗脱液直接用水定容，缩短了实验操作时间，回收率得以保证。综合以上实验结论，选择纳谱分析的 SelectCore SAX 固相萃取柱和 ChromCore AR C18 可以快速、准确的进行食品中 7 种有机酸项目的检测。