

# 液相色谱法测定淀粉中马来酸与马来酸酐总量及富马酸含量

LC-113

**摘要:** 本文建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-20A 测定淀粉中马来酸与马来酸酐总量和富马酸含量的方法。样品前处理采用 50% 甲醇水溶液提取, 氢氧化钾皂化, 方法简单快速, 回收率高, 重复性好。使用二元高压梯度系统在 15 min 内实现快速分析。实验结果表明: 线性范围 0.01 mg/L~0.5 mg/L, 相关系数大于 0.9999; 方法的定量检出限为 10 mg/kg。0.02 mg/L、0.2 mg/L 两个浓度标样连续 6 次进样的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.06~0.12% 和 0.19~1.41% 之间, 仪器精密度良好。10 mg/kg、20 mg/kg 和 60 mg/kg 三水平加标实验考察方法的回收率及重复性 (n=5), 回收率在 98.7%~110.4%, RSD% 在 1.9%~8.4% 之间。空白淀粉中未检出马来酸和富马酸。

**关键词:** 马来酸 马来酸酐 富马酸 毒淀粉

2013 年 3 月份, 台湾嘉义县曝光了顺丁烯二酸掺入的“毒淀粉”, 许多著名的台湾小吃卷入其中, 在台湾掀起轩然大波。顺丁烯二酸 (英文名 Maleic acid) 又名马来酸, 并不在《GB 2760-2011 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》中, 不属于食品添加剂。合法的变性淀粉添加剂为醋酸酯变性淀粉。而马来酸酐变性淀粉广泛用于工业制革及建材等行业, 其制备工艺简单, 成本低廉, 具有黏度高, 糊化温度高, 其透明度及柔软度也好于天然淀粉。不法分子将马来酸酐变性淀粉替代醋酸酯变性淀粉, 谋取暴利。长期食用毒淀粉制成的食品,

将损害肾脏。

反丁烯二酸 (英文名 Fumaric acid) 又名富马酸, 是马来酸的顺反异构体, 在植物体内天然存在, 是一种合法的食品添加剂, 用来调节食品的酸味。大陆尚未检测到马来酸添加的毒淀粉, 但是不表明肯定没有。由于马来酸不属于合法的食品添加剂, 目前没有国标检测方法可以参考。亟需开发淀粉中马来酸的检测方法。

本文使用岛津液相色谱仪同时检测了淀粉中马来酸与马来酸酐总量和富马酸含量, 供相关检测人员参考。

## 实验条件

### 1.1 仪器

本实验使用岛津高效液相色谱仪 LC-20A 二元高压梯度系统。具体配置为 LC-20AD 输液泵, DGU-20A3R 在线脱气机, SIL-20AC 自动进样器, CTO-20AC 柱温箱, SPD-M20A 二极管阵列检测器, CBM-20A 系统控制器, LabSolutions Ver. 5.54 色谱工作站。

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱: GL Inertsil ODS-4 4.6 mm I.D. × 150 mm L., 5 μm

流动相: A - 0.1% 磷酸水溶液

B - 甲醇

流速: 1.0 mL/min

进样体积: 20 μL

柱温: 30°C

检测波长: 214 nm (波长范围: 190~370 nm)

洗脱方式: 2% B 相等度洗脱

### 1.3 样品制备

标准溶液配制: 分别用去离子水配制 500 mg/L 的马来酸和富马酸标准储备液。用去离子水配制 100 mg/L 的马来酸和富马酸的混合标准储备液。用水稀释成 0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.2 mg/L 和 0.5 mg/L 的混合标准工作液。

样品前处理方法: 准确称取 1.0 g 淀粉 (精确至 0.001 g), 加入 25 mL 50% 甲醇水溶液, 漩涡混合 2 min, 振荡混合 30 min 后, 加入 20 mL 0.5 N 氢氧化钾溶液, 混匀, 振荡皂化 2 小时。加入约 2 mL 的 5 N 盐酸溶液至 pH 中性, 去离子水定容至 50 mL。4000 rpm 离心 10 min。取 100 μL 上清液, 去离子水稀释 10 倍后经 0.45 μm 针式滤器过滤后进样。

## 实验结果

### 2.1 标准样品的色谱图

混合标准样品的色谱如图 1 所示，马来酸的保留时间为 4.48 min，富马酸的保留时间为 6.62 min。马来酸和富马酸的最大吸收波长均为 214 nm。

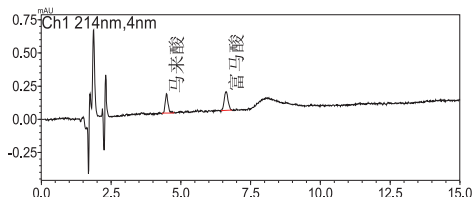


图 1 0.01 mg/L 标准溶液的色谱图

### 2.2 线性关系

将 6 个不同浓度的标准工作液，按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法制作校准曲线，如图 2 ~ 3 所示。马来酸线性方程为  $Y = 98698.2X + 70.2594$ ，线性范围 0.01~0.5 mg/L，相关系数大于 0.9999，线性关系良好。富马酸线性方程为  $Y = 144832X - 96.3210$ ，线性范围 0.01~0.5 mg/L，相关系数大于 0.9999，线性关系良好。

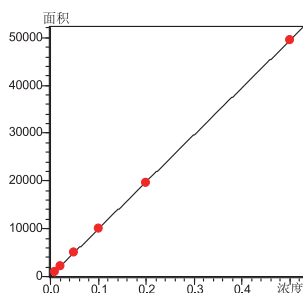


图 2 马来酸的标准工作曲线

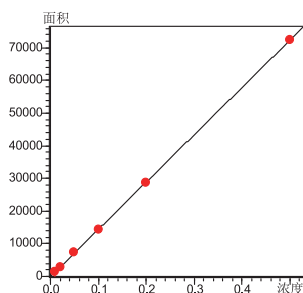


图 3 富马酸的标准工作曲线

### 2.3 定量限

10 mg/kg 的淀粉加标色谱图如下所示，本方法的定量限为 10 mg/kg。

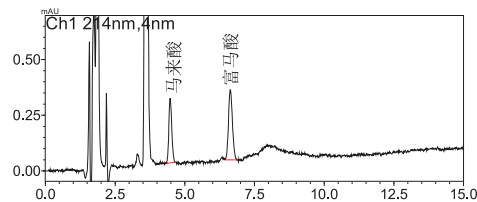


图 4 10 mg/kg 的淀粉加标色谱图

### 2.4 精密度实验

取标准工作液中 0.02 mg/L、0.2 mg/L 两个浓度，分别平行进样 6 次，目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06~0.12% 和 0.19~1.41% 之间，仪器精密度良好。

表 1 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

浓度 mg/L	马来酸		富马酸	
	RT RSD%	Area RSD%	RT RSD%	Area RSD%
0.02	0.06	1.31	0.08	1.41
0.2	0.12	0.19	0.09	0.22

### 2.5 基质加标实验

按照 1.3 中样品制备方法，在样品中添加标样，加标量分别为 10 mg/kg、20 mg/kg 和 60 mg/kg，平行 5 次。空白淀粉中未检出马来酸和富马酸。淀粉空白样品的色谱图如图 5 所示，40 mg/kg 淀粉加标样品的色谱图如图 6。60 mg/kg 淀粉加标样品的色谱图如图 7。三水平加标实验的回收率和重现性数据见表 2。

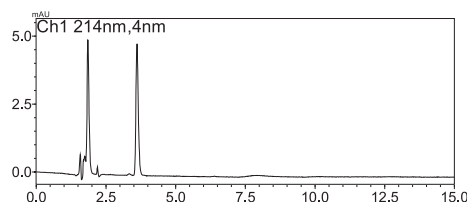


图 5 淀粉空白样品的色谱图

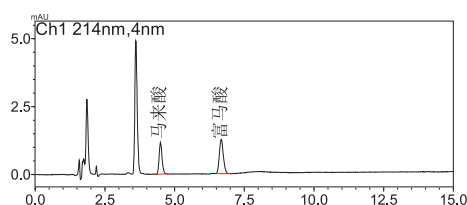


图 6 40 mg/kg 淀粉加标样品的色谱图

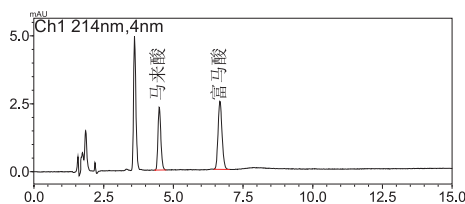


图 7 60 mg/kg 淀粉加标样品的色谱图

表 2 回收率和方法重现性结果(n=5)

加标量 mg/kg	马来酸		富马酸	
	回收率%	RSD%	回收率%	RSD%
10	98.7	1.9	108.1	7.0
20	101.0	4.8	105.8	3.6
60	108.9	8.4	110.4	6.7

## 实验总结和讨论

本方法前处理简单，分析快速。实验总结和讨论如下：

1、马来酸和富马酸是顺反异构体，富马酸会干扰马来酸的检测，需将两者分离。两者的极性较强，在C18柱上的保留较弱，使用GL Inertsil ODS-4 4.6 mm I.D. × 150 mm L 色谱柱，2% 甲醇洗脱，马来酸和富马酸的分离度达 9。

2、淀粉经过皂化反应，可以同时检测马来酸酐和马来酸的总量。三水平加标实验，方法具有良好的回收率和稳定的重现性。本方法的定量限为 10 mg/kg。