

婴幼儿配方食品和乳粉中维生素 C 的测定

孟慧琴*, 徐琴, 宫萍, 郝鹏飞, 徐丽, 吕宁, 翟丽娜

(山东出入境检验检疫局食品农产品检测中心, 青岛 266002)

摘要: **目的** 建立一种前处理简单、仪器条件稳定、准确高效的婴幼儿配方食品和乳粉中维生素 C 的检测方法。**方法** 用含有三(2-羧乙基)膦(TCEP)的三氯乙酸(TCA)对样品中的维生素 C 进行提取, C18 柱色谱分离, 流动相为含 TCEP 与癸胺作为离子对试剂和 pH 5.4 的醋酸钠的混合水溶液, 然后在紫外检测器 265 nm 处进行检测。**结果** 本方法的相对标准偏差($n=6$)在 0.36%~3.2% 之间, 平均回收率为 88.5%~97.9%, 线性相关系数 r^2 大于 0.9999。**结论** 本方法实验前处理简单, 干扰因素少; 仪器条件稳定, 灵敏度高, 重复性好; 适合婴幼儿配方食品和乳粉复杂基质样品的测定。

关键词: 维生素 C; 高效液相色谱法; 婴幼儿食品

Determination of vitamin C in foods for infants and young children, milk and milk products

MENG Hui-Qin*, XU Qin, GONG Ping, HAO Peng-Fei, XU Li, LV Ning, ZHAI Li-Na

(Food and Agricultural Products Testing Agency of Shandong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Qingdao 266002, China)

ABSTRACT: Objective An accurate and efficient method was developed in order to solve problems existed in the detection of vitamin C in milk powder and formula foods for infant and young children, which had simple pretreatment and stable instrument conditions. **Methods** Vitamin C was extracted from samples by trichloroacetic acid (TCA) with tris (2-carboxyethyl) phosphine (TCEP) as a reducing agent, and then determined by ultraviolet detector at 265 nm. Samples were separated by a C₁₈ column with sodium acetate (pH=5.4) as the eluent, combined with TCEP and decylamine as an ion-pairing agent. **Results** The relative standard deviation ($n=6$) of this method was between 0.36%~3.2%, the average recovery was 88.5%~97.9%, and the linear correlation coefficient was greater than 0.9999. **Conclusion** The established method is simple with less interference factors, and instrument conditions are stable, sensitive with good repeatability, which is suitable for the detection of vitamin C in complex sample matrix such as infant formula milk powder.

KEY WORDS: vitamin C; high performance liquid chromatography; foods for infants and young children

1 引言

维生素 C 是一种酸性己糖衍生物^[1], 是烯醇式己糖酸内酯, 其分子结构见图 1; 化学名: 2,3,4,5,6-五羟基-2-己烯酸-4-内酯, 分子式: C₆H₈O₆, 分子量: 176.13, 熔点:

190~192 °C, 易溶于水, 比旋度: +20.5°至+21.5°; 有抗坏血病的作用, 所以被人们称做抗坏血酸^[2], 在婴幼儿配方食品和乳粉中也是被营养强化的指标之一。但维生素 C 不稳定, 遇水、热、光、氧都会被破坏。所以检测方法越快简便越好。

*通讯作者: 孟慧琴, 工程师, 主要研究方向为食品检测。E-mail: menghuiqin@yeah.net

*Corresponding author: MENG Hui-Qin, Engineer, Food and Agricultural Products Testing Agency of Shandong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Qingdao 266002, China. E-mail: menghuiqin@yeah.net

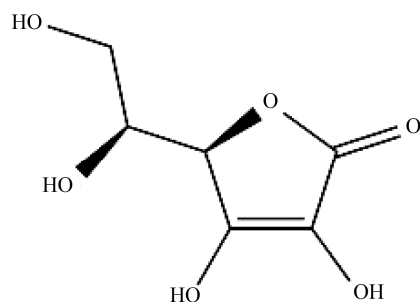


图 1 维生素 C 结构图

Fig. 1 The structure of vitamin C

目前研究维生素 C 测定方法主要有荧光比色法^[3,4]、2,6-二氯酚滴定法^[5]、紫外分光光度法^[6]、光学快速检测卡法^[7]、及高效液相色谱法^[8,9]等。国家强制标准 GB 5413.18-2010 采用荧光比色法, 而 AOAC 2012.22 用的是高效液相色谱法, 荧光比色法虽是国家强制标准, 但前处理复杂, 实验的重复性和线性都不理想, 不利于批量检测。本文在 AOAC 2012.22 的基础上, 结合实验室现有仪器, 对前处理方法和仪器条件加以改进, 建立对婴幼儿配方食品和乳粉中维生素 C 的快速检测方法, 为进出口婴幼儿食品的安全监控提供技术支持。

2 材料与方法

2.1 试剂材料

乙腈(色谱纯, 美国 Honey Well 公司); 抗坏血酸标准品(纯度 99.4%, 美国 Supelco 公司); 癸胺、三(2-羧乙基)膦(TCEP)(优级纯, 美国 Fluka 公司); 磷酸(85%)、TCA(优级纯, 美国 Merk 公司); 超纯水: 由 Milli-Q 制备; 三水合乙酸钠(分析纯, 国药集团)。

乙酸钠溶液(pH 5.4): 34.0 g 三水合乙酸钠溶于水, 用冰乙酸调 pH 值为 5.4, 定容至 500 mL; TCA(15%), 75.0 g TCA, 到 500 mL 水定容; TCEP(250 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 125 mg TCEP-HCl 加入 500 mL 水, 定容。流动相: 在 250 mL 容量瓶中, 分别加 0.4 g 癸胺, 2.5 mL 乙腈, 25 mL 乙酸钠(浓度为 500 mmol/L, pH 5.4), 205 mL 水, 然后再加入 10 mg TCEP, 定容。

2.2 仪器与设备

XS 205 天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); SG.2 pH 计(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); 液相柱: Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm \times 150 mm, 5 μm); SN: USKH091089。

2.3 试验方法

2.3.1 标准溶液配置^[9]

标准溶液储备液(500 $\mu\text{g}/\text{m}$): 称取 12.5 mg 标准品于 25 mL 棕色容量瓶中, 溶解并用 TCEP 溶液定容。该储备液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光条件下可储存 3 个月。

标准中间液(50 $\mu\text{g}/\text{mL}$): 取 1 mL 标准溶液在 10 mL 棕色容量瓶中, 用 TCEP 定容。该溶液 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光条件下可储存 1 个月。

标准工作液: 标准曲线浓度分别为 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 标准工作曲线用流动相进行稀释配置。

2.3.2 样品前处理

称取 5 g 粉末在 50 mL 离心管中, 加 4 mL 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 TCEP 溶液, 加入温水(40 $^{\circ}\text{C}$)溶解, 确保没有结块, 定容后混匀。

取 2 mL 上述制备好的样品在 10 mL 的棕色玻璃容量瓶中。加 4 mL TCEP 溶液和 2 mL TCA(15%), 用水定容, 滤纸过滤, 然后取 1 mL 滤液于 10 毫升的棕色容量瓶中, 加 1 mL 乙酸钠(pH 5.4), 然后用流动相定容到刻度。取 1 mL 过 0.22 μm 水系滤膜(希波氏)后进行液相色谱分析。

2.3.3 样品添加回收

在待测样品中添加 3 个水平的维生素 C 标准储备液, 每个水平做 6 个平行样, 按照 2.3.2 的样品处理方法进行处理。

2.3.4 液相色谱条件

色谱条件: 进样量 10 μL ; 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$, 流速 1.0 mL/min, 运行时间 5 min; 流动相: 含 50 mmol/L 乙酸钠, 癸胺 1.6 g/L, 乙腈 1% 和 40 mg/L 的 TCEP; 检测波长 265 nm。以保留时间定性, 峰面积外标法定量。

3 结果与分析

3.1 线性关系

浓度为 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准工作曲线, 按上述的仪器条件进行 HPLC 测定。设定仪器自动以质量浓度 X 为横坐标, 色谱峰面积 Y 为纵坐标来绘制标准曲线, 二者呈线性关系($r^2 > 0.9999$)线性方程和相关系数见图 2。

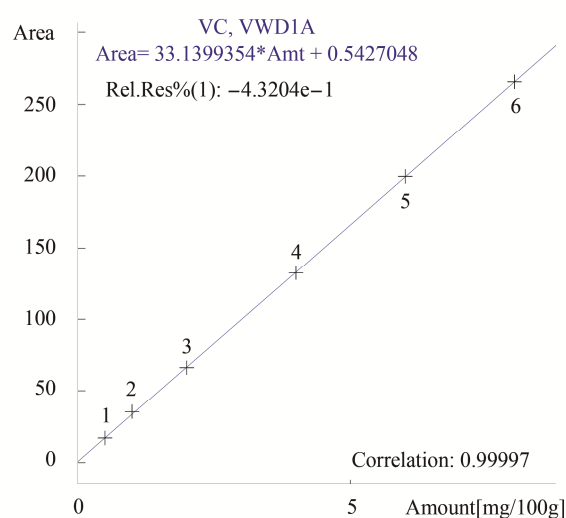


图 2 维生素 C 的标准曲线

Fig. 2 Standard curve of vitamin C

表 1 维生素 C 的平均回收率和相对标准偏差($n=6$)
Table 1 Recoveries and relative standard derivations of vitamin C ($n=6$)

样品	本底值(mg/100g)	添加水平(mg/100g)	测得平均值(mg/100g)	平均回收率(%)	RSD(%)
乳粉	32.0	20	17.7	88.5	3.2
		50	47.3	94.6	0.92
		100	97.9	97.9	0.36

3.2 样品加标回收率与精密度

在上述样品前处理和仪器条件下,以待测样品为基质,测定了 20、50、100 mg/100 g 3 个添加水平下维生素 C 的回收率,每个水平平行测定 6 次,计算回收率和相对标准偏差(RSD),结果见表 1,其平均回收率在 88.5%~97.9% 之间,相对标准偏差在 0.36%~3.2% 之间,可见改进后的方法准确可靠。

3.3 实际样品的测定

在商场购得的奶粉、米粉、饼干、液体奶等样品采用本方法对上述市售样品进行测定,根据保留时间定性,峰面积外标法定量,其中浓度 6.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准品色谱图如图 3 所示;某奶粉中维生素 C 的检出含量为 125 mg/100 g,符合 GB 10765-2010^[10]和 GB 10767-2010^[11]上下限的要求,也符合大于标签值 80% 的要求,其色谱图见图 4。某米粉中维生素 C 的检出含量为 16.3 mg/100 g,不符合 GB 10769-2010^[12](食品安全国家标准 婴幼儿谷类辅助食品)中的要求,也不符合大于营养标签值 80% 的要求,为不合格产品,其色谱图见图 5。

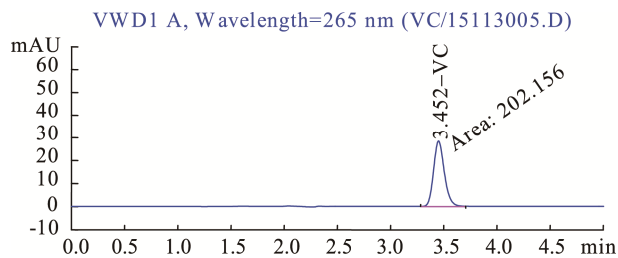


图 3 标准品的 Vc 色谱图
Fig. 3 Chromatogram of standard

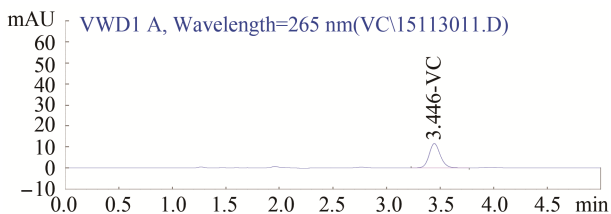


图 4 某奶粉的 Vc 色谱图
Fig. 4 Chromatogram of one kind of milk powder

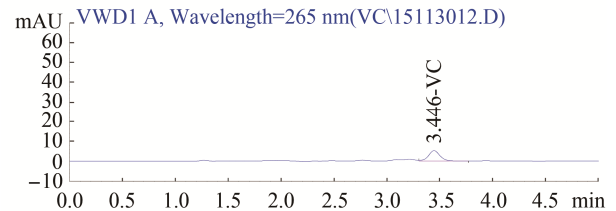


图 5 某米粉的 Vc 色谱图
Fig. 5 Chromatogram of one kind of rice powder

4 结论

用含有 TCEP 的三氯乙酸(TCA)对样品中的维生素 C 进行提取,前处理方法简单,干扰因素少。通过 Eclipse XDB-C₁₈ 柱分离,流动相为含 TCEP 与癸胺作为离子对试剂和 pH 5.4 的醋酸钠的混合水溶液,检测波长为 265nm。本方法的相对标准偏差($n=6$)在 0.36%~3.2% 之间,平均回收率在 88.5%~97.9% 之间,线性相关系数 r^2 大于 0.9999。线性、准确度和精密度均获得满意的结果。本方法仪器条件稳定,灵敏度高,重复性好;适合婴幼儿配方食品和乳粉等复杂基质样品的测定。

参考文献

- 汪东风. 食品化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.
Wang DF. Food chemistry [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2009.
- 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.
- GB 5413.18-2010 食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中维生素 C 的测定[S].
GB 5413.18-2010 National food safety standard Determination of vitamin C in foods for infants and young children, milk and milk products [S].
- GB/T 9695.29-2008 肉制品 维生素 C 含量的测定[S].
GB/T 9695.29-2008 Meat-products Determination of vitamin C content [S].
- SN/T 0869-2000 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准进出口饮料中维生素 C 的测定方法[S].
SN/T 0869-2000 Method for the determination of vitamin C in beverages for import and export [S].
- 陆茜, 陈凤群, 万昆, 等. 紫外分光光度法测定维生素 C 含量[J]. 江汉大学学报, 2005, 33(2): 68-69.

- Lu Q, Chen FQ, Wan K, *et al.* The Determination of ascorbate by ultraviolet spectrophotometry [J]. *J Jiangnan Univ*, 2005, 33(2): 68–69.
- [7] 左春艳, 何保山, 王丹, 等. 维生素光学快速检测卡研究 [J]. *食品科技*, 2012, 37(4): 281–285.
- Zuo CY, He BS, Wang D, *et al.* Optical strip card for rapid detection of vitamin C [J]. *Food Sci Technol*, 2012, 37(4): 281–285.
- [8] 闫龙宝, 刘艳琴, 王浩, 等. HPLC 法测定婴幼儿配方奶粉中维生素 C [J]. *食品科技*, 2008, 32(6): 184–185.
- Yan LB, Liu YQ, Wang H, *et al.* Vc detection in infant milk powder by HPLC [J]. *Food Sci Technol*, 2008, 32(6): 184–185.
- [9] AOAC Official Method 2012.22 Vitamin C in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formula [S].
- [10] GB 17065-2010 国家食品安全标准 婴儿配方食品[S].
GB 17065-2010 National food safety standard Infant formula [S].
- [11] GB 17067-2010 国家食品安全标准 较大婴儿和幼儿配方食品[S].
GB 17065-2010 National food safety standard Older infants and young children formula [S].
- [12] GB 17069-2010 食品安全国家标准 婴幼儿谷类辅助食品[S].
GB 17065-2010 National food safety standard Cereal-based complementary foods for infants and young children [S].

(责任编辑: 金延秋)

作者简介



孟慧琴, 工程师, 主要研究方向为食品检测。

E-mail: menghuiqin@yeah.net