

# 分子荧光光谱法检测氨基酸配方和蛋白质水解配方特殊医学用途配方食品中的维生素 C 含量

张海红<sup>1,2</sup>, 王文特<sup>1,2</sup>, 田洪芸<sup>1,2</sup>, 任雪梅<sup>1,2</sup>, 王 骏<sup>1,2\*</sup>

(1. 山东省食品药品检验研究院, 济南 250101;

2. 山东省特殊医学用途配方食品质量控制工程技术研究中心, 济南 250101)

**摘要: 目的** 优化前处理方法提取氨基酸配方和蛋白质水解配方特殊医学用途配方食品中的维生素 C, 并采用分子荧光光谱法进行测定。**方法** 通过氧化后的维生素 C 与邻苯二胺反应生成荧光物质, 利用分子荧光光谱进行外标法定量, 考察了含有不同乙醇浓度的偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理方法的方法学参数, 同时在不同基质的样品中对确定的最佳前处理方法进行了实验验证。**结果** 采用 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 提取的前处理方法能够有效沉淀氨基酸和多肽, 所得处理液易于过滤且滤液澄清。样品在 10 mg/100 g、50 mg/100 g 和 100 mg/100 g 添加水平的加标回收率为 90.7%~96.8%, 相对标准偏差为 2.73%~3.66%。**结论** 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 的前处理方法快速、准确、灵敏, 适用于批量测定氨基酸配方和蛋白质水解配方特殊医学用途配方食品中维生素 C。

**关键词:** 乙醇溶液; 分子荧光; 维生素 C; 氨基酸配方和蛋白质水解配方

## Determination of vitamin C content in special medical formula food with amino acids and protein hydrolysate by molecular fluorescence spectrometry

ZHANG Hai-Hong<sup>1,2</sup>, WANG Wen-Te<sup>1,2</sup>, TIAN Hong-Yun<sup>1,2</sup>, REN Xue-Mei<sup>1,2</sup>, WANG Jun<sup>1,2\*</sup>

(1. Shandong Institute of Food and Drug Control, Jinan 250101, China; 2. Shandong Quality Control Engineering Technology Research Center of Foods for Special Medical Purpose, Jinan 250101, China)

**ABSTRACT: Objective** To optimize the pretreatment method for extracting vitamin C from amino acid formula and protein hydrolysis formula for special medical use formula, and detect the vitamin C content by molecular fluorescence spectrometry. **Methods** The oxidized vitamin C reacted with o-phenylenediamine to form a fluorescent substance, and the molecular fluorescence method was used for quantitative analysis by external standard method. The method parameters of the pre-treatment method of the metaphosphoric acid-acetic acid solution A containing different ethanol concentrations were investigated. The determined optimal pretreatment method was experimentally verified in the sample of the matrix. **Results** The pretreatment method could effectively precipitate amino acids and polypeptides using 50% ethanol-metaphosphoric acid-acetic acid solution A, and the obtained treatment liquid was easy to filter and the filtrate was clarified. The recoveries of the spiked samples at 10 mg/100 g, 50 mg/100 g and 100 mg/100 g were 90.7%~96.8%, and the relative standard deviations were 2.73%~3.66%. **Conclusion** The pretreatment method of 50% ethanol-metaphosphoric acid-acetic acid solution A is fast, accurate

\*通讯作者: 王骏, 研究员, 主要研究方向为食品色谱质谱分析技术研究。E-mail: 13953105081@163.com

\*Corresponding author: WANG Jun, Professor, Shandong Institute of Food and Drug Control, Jinan 250101, China. E-mail: 13953105081@163.com

and sensitive, and it is suitable for batch determination of vitamin C in amino acid formula and protein hydrolysis formula for special medical use formula.

**KEY WORDS:** ethanol solution; molecular fluorescence; vitamin C; amino acid and protein hydrolysates

## 1 引言

维生素 C 又名抗坏血酸, 属于人体必需的水溶性维生素, 必须通过外界获得<sup>[1]</sup>。对于婴幼儿配方食品和特殊医学用途配方食品, 维生素 C 属于产品中必需的营养素, 国际食品法典委员会 (Codex Alimentarius Commission, CAC)、美国及欧盟等国际组织和国家均规定了其限量<sup>[2,3]</sup>。由于维生素 C 具有遇水、热、光、氧易发生降解或分解的特性<sup>[4]</sup>, 准确检测产品中维生素 C 含量, 对保障产品质量具有重要意义。

目前, 维生素 C 检测方法主要有分子荧光法<sup>[5,6]</sup>、2,6-二氯酚酚滴定法<sup>[6,7]</sup>、高效液相色谱法<sup>[8-11]</sup>、紫外分光光度法<sup>[12]</sup>和光学快速检测卡法<sup>[13]</sup>等。对于特殊医学用途配方食品中维生素 C 的测定, 我国现行相关检测方法标准为 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》<sup>[5]</sup>, 该标准适用于乳制品和婴幼儿配方食品中维生素 C 的测定, 适用范围不包含特殊医学用途配方食品。在日常检验工作中发现, 对于氨基酸配方和蛋白质水解配方特殊医学用途配方食品, 存在以下缺点: (1) 与活性炭反应后的样品溶液难以过滤, 过滤时间比较长(3 h 以上), 影响了实验效率和批量化要求; (2) 过滤下来的滤液不澄清, 不满足荧光比色的溶液要求, 严重影响荧光物质的测定, 加标回收率普遍小于 80%。因为氨基酸和小分子量多肽是小分子, 普通滤纸不能过滤掉, 甚至会堵塞滤纸孔, 导致过滤速度慢和溶液浑浊。

本研究在 GB 5413.18-2010 标准的基础上, 利用不同比例的乙醇溶液<sup>[14-16]</sup>沉淀氨基酸和多肽, 对前处理方法加以改进, 克服以上缺点, 建立了氨基酸配方和蛋白质水解配方特殊医学用途配方食品中维生素 C 的检测方法, 并对圣元优博、贝因美、青岛瀚姆、雅培、雀巢、纽迪希亚等 6 家以上国内外生产企业的氨基酸配方和蛋白质水解配方特殊医学用途配方食品或试制品进行测定, 拟为这类特殊医学用途配方食品的质量安全监管和质量控制提供技术支持。

## 2 材料与与方法

### 2.1 仪器与试剂

F-7000 荧光分光光度计 (日本日立公司); SB-800DTD 超声波震荡清洗器 (宁波新芝生物科技股份有限公司)。

维生素 C 标准品: 纯度  $\geq 98.9\%$  (德国 Dr.Ehrenstofer 公司)。

活性炭 (化学纯, 美国 Sigma 公司); 乙酸、乙酸钠、偏磷酸、硼酸、邻苯二胺 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 定性快速滤纸 (杭州特种纸业有限公司)。

氨基酸配方、乳蛋白深度水解和乳蛋白部分水解配方特殊医学用途配方食品均为日常工作中的检验样品, 来自 YB、SMY、SLL、YPYM、YPYJ、YPYB 等 6 家以上国内外生产企业。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 溶液配制

维生素 C 标准溶液配制: 称取 0.050~0.055 g (精确至 0.0001 g) 维生素 C 标准品, 分别用偏磷酸-乙酸溶液 A、25%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 和 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 溶解并定容至 50 mL, 再分别准确吸取 5.0 mL 上述溶液, 分别用相对应的偏磷酸-乙酸溶液 A、25%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 和 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 稀释并定容至 50 mL, 临用前配制。

偏磷酸-乙酸溶液 A: 称取 15 g 偏磷酸及 40 mL 乙酸 (体积分数为 36%) 于 200 mL 水中, 超声溶解后稀释至 500 mL 备用。于 4 °C 冰箱可保存 7~10 d<sup>[6]</sup>。

偏磷酸-乙酸溶液 B: 称取 15 g 偏磷酸及 40 mL 乙酸 (体积分数为 36%) 于 100 mL 水中, 超声溶解后稀释至 250 mL 备用。

25%( $V_{乙醇}/V_{总}$ )乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A: 将 100 mL 无水乙醇、100 mL 水与 200 mL 偏磷酸-乙酸溶液 B 混合均匀, 备用。

50%( $V_{乙醇}/V_{总}$ )乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A: 将 500 mL 无水乙醇与 500 mL 偏磷酸-乙酸溶液 B 溶液等体积混匀, 备用。

酸性活性炭: 称取粉状活性炭 (化学纯, 80~200 目) 约 200 g, 加入 1 L 体积分数为 10% 的盐酸, 放置于电炉上加热至沸腾后取下, 冷却, 减压抽滤; 过滤时使用铺有两张定性快速滤纸的布氏漏斗, 用水润湿滤纸紧贴漏斗底部, 过滤时, 一次性倒入活性炭不超过漏斗高度的 1/2, 用水清洗至滤液中无铁离子为止 (总水用量在 2 L 以上), 取出清洗后的活性炭置于 1000 mL 烧杯中, 在 110~120 °C 烘箱中干燥 10 h 后备用。检验铁离子的方法: 普鲁士蓝反应。将 20 g/L 亚铁氰化钾与体积分数为 1% 的盐酸等量混合, 将上述洗出滤液滴入, 如有铁离子则产生蓝色沉淀。

20 g/L 亚铁氰化钾溶液: 称取 2 g 亚铁氰化钾, 加水

溶解并全部转移至 100 mL 容量瓶中, 用水定容。

10%盐酸溶液: 移取浓盐酸 100 mL 至 900 mL 水中

乙酸钠溶液: 用水超声溶解 500 g 三水乙酸钠, 并稀释至 1 L。

硼酸-乙酸钠溶液: 称取 3 g 硼酸, 用乙酸钠溶液超声溶解并稀释至 100 mL, 临用前配制。

邻苯二胺溶液: 称取 50 mg 邻苯二胺, 用水溶解并稀释至 100 mL, 临用前配制并避光。

### 2.2.2 样品前处理

#### ①试样提取

称取混合均匀的固体试样约 1.5 g, 分别用偏磷酸-乙酸溶液 A, 25%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 和 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 溶解并定容至 50 mL, 混匀。

将上述 3 种试样溶液于避光条件下超声提取 30 min, 并保持超声水浴温度不超过 35 °C。

#### ②测定液的制备

将试样溶液及维生素 C 标准溶液分别转移至预先称有 1.1 g 酸性活性炭的 250 mL 三角瓶中, 剧烈振动三角瓶 10~15 min, 使其充分反应, 用定性快速滤纸过滤, 弃去 5 mL 初滤液, 收集剩余滤液即为试样及标准溶液的滤液。

移取 5 mL 硼酸-乙酸钠溶液至 25 mL 和 50 mL 具塞比色管中, 移取 5 mL 试样的滤液置于上述 25 mL 具塞比色管中, 移取 5 mL 标准溶液的滤液置于上述 50 mL 具塞比色管中, 分别混匀, 静置 30 min, 用水定容。以此作为试样及标准溶液的空白溶液。

在空白溶液静置的时间内, 移取 5 mL 乙酸钠溶液至新的 25 mL 和 50 mL 具塞比色管中, 再分别加入约 13 mL 水; 移取 5 mL 试样的滤液置于上述 25 mL 具塞比色管中, 移取 5 mL 标准溶液的滤液置于上述 50 mL 具塞比色管中, 加水定容至刻度。以此作为试样溶液及标准溶液。

分别移取上述标准溶液 0.50、1.00、1.50、2.00 mL 置 15 mL 离心管中, 再分别补水至 2.00 mL, 同时移取标准溶液的空白溶液 2.00 mL 于 15 mL 离心管中。分别移取 2 mL 试样溶液及试样的空白溶液于 15 mL 离心管中。以此作为待测液。

加入 5 mL 邻苯二胺溶液于盛有上述待测液的 15 mL 离心管中, 摇匀, 在避光条件下放置 60 min 后测定。

### 2.2.3 测定

将反应后的标准溶液及其空白测定液和试样及试样空白测定液立即移入荧光分光光度计的 1 cm 石英比色皿中, 于激发波长 350 nm, 激发狭缝宽度 5 nm, 发射波长 430 nm, 发射狭缝宽度 5 nm 条件下测定其荧光值。以标准系列荧光值分别减去标准溶液的空白荧光值为纵坐标, 对应的维生素 C 质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线。试样荧光值减去试样的空白荧光值后在标准曲线上查得对应的维生素 C 质量浓度。

## 3 结果与分析

### 3.1 方法的线性曲线和检出限

#### 3.1.1 方法的线性曲线

分别将维生素 C 标准品配制成为偏磷酸-乙酸溶液 A、25%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A、50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 共 3 种浓度约 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准溶液, 3 种溶液的标准曲线结果见图 1、图 2 和图 3。在 0~12  $\mu\text{g}/\text{mL}$  维生素 C 浓度范围内, 3 种前处理方法的标准曲线均具有比较好的线性, 线性相关系数  $r^2 > 0.999$ , 含乙醇前处理方法标准曲线的斜率较大, 说明荧光强度随维生素 C 浓度变化更灵敏, 尤其对于低维生素 C 含量的液体特殊医学用途配方食品, 含乙醇的前处理方法的灵敏度更好。3 种溶液的荧光强度最高点均在标准曲线的下方, 可能是由于荧光物质含量较高, 会造成一定的荧光猝灭<sup>[17]</sup>。因此确定本方法的线性范围是 0~900 mg/100 g。

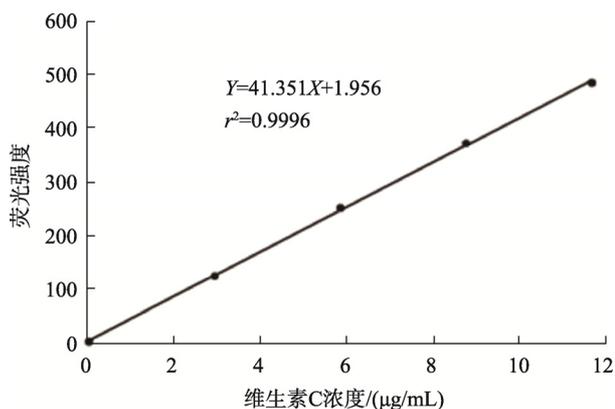


图1 偏磷酸-乙酸溶液 A 的标准曲线

Fig.1 Standard curve of metaphosphoric acid-acetic acid solution A

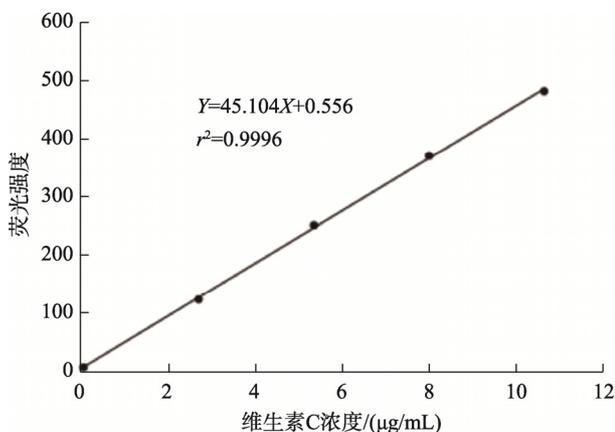


图2 25%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 的标准曲线

Fig.2 Standard curve of 25% ethanol-metaphosphate-acetic acid solution A

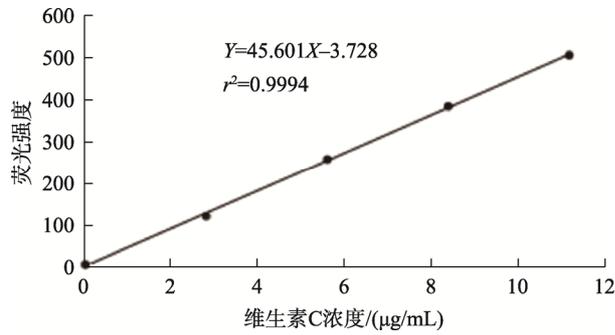


图 3 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 的标准曲线

Fig.3 Standard curve of 50% ethanol-metaphosphate-acetic acid solution A

3.1.2 方法的检出限及定量限

采用空白标准偏差法确定检出限。将采用 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理后的样品空白溶液独立测定 20 次, 计算检测结果的标准偏差。确定本方法维生素 C 检出限为 1 mg/100 g, 定量限为 3 mg/100 g。维生素 C 属于常量营养元素, 该方法的检出限和定量限能够满足实验要求。样品空白具体检测结果见表 1。

3.2 前处理条件优化

利用乙醇能够与水互溶, 并且能够沉淀氨基酸和多肽的性质<sup>[15]</sup>, 考察不同浓度的乙醇沉淀效果。选用一种婴幼儿配方乳粉 R(该样品为符合 GB 10765 的婴儿配方乳粉, 不是蛋白质水解配方的特殊医学用途配方食品)和一种氨基酸配方特殊医学用途配方食品 A, 将分别采用 25%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 和 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理后的检测结果与国标偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理后的检测结果进行对比, 具体数据见表 2。对于婴幼儿配方乳粉 R, 随乙醇浓度的增加, 维生素 C 含量有稍微下降趋势, 在国标要求的误差范围内(绝对差值不得超过算术平均值的 10%), 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD) < 1.54%, 说明 3 种体系的实验数据离散程度和重复性较好。

对于氨基酸配方特殊医学用途配方食品 A, 随着乙醇浓度的增大, 维生素 C 含量显著增大, 并且相对标准偏差 RSD 由 5.92%明显减小至 1.67%, 这说明 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 处理后的实验数据的离散程度和重复性最好, 符合实验室质量控制要求。

表 1 维生素 C 空白样品的测定结果  
Table 1 Determination results of vitamin C blank sample

样品	测定值 /(mg/100 g)	平均值 /(mg/100 g)	标准偏差 /(mg/100 g)
1	1.6		
2	1.85		
3	1.40		
4	2.88		
5	0.13		
6	1.43		
7	1.25		
8	1.39		
9	2.43		
10	2.64		
11	0.15	1.98	1.05
12	2.68		
13	2.78		
14	3.22		
15	3.06		
16	3.69		
17	2.43		
18	2.66		
19	0.15		
20	1.68		

表 2 3 种前处理方法的维生素 C 检测结果  
Table 2 Test results of vitamin C of 3 pretreatment methods

基质	1 /(mg/100 g)	2 /(mg/100 g)	3 /(mg/100 g)	4 /(mg/100 g)	5 /(mg/100 g)	6 /(mg/100 g)	平均值 /(mg/100 g)	RSD /%	
偏磷酸-乙酸溶液 A	106.0	105.3	105.9	106.3	104.6	103.4	105.2	1.04	
婴幼儿配 方乳粉 R	25%乙醇-偏磷酸- 乙酸溶液 A	104.3	103.3	103.1	100.6	101.9	100.7	102.3	1.47
	50%乙醇-偏磷酸- 乙酸溶液 A	103.9	102.0	102.8	101.3	99.3	102.5	102.0	1.54
氨基酸配 方特殊医 学用途配 方食品 A	偏磷酸-乙酸溶液 A	89.0	81.2	92.1	82.6	89.9	94.3	88.2	5.92
	25%乙醇-偏磷酸- 乙酸溶液 A	117.2	112.6	114.9	118.6	108.2	110.5	113.7	3.51
	50%乙醇-偏磷酸- 乙酸溶液 A	121.5	126.8	125.3	123.3	126.9	124.8	124.8	1.67

### 3.3 回收率实验及精密度实验

选用婴幼儿配方乳粉 R 和氨基酸配方特殊医学用途配方食品 A, 在 10 mg/100 g、50 mg/100 g 和 100 mg/100 g 3 个添加水平下进行加标回收实验, 考察 25%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 和 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理后的样品加标回收率, 并与国标偏磷酸-乙酸溶液 A 进行对比。具体数据见表 3, 对于婴幼儿配方乳粉 R, 这 3 种前处理方法均能满足实验要求。

对于氨基酸配方特殊医学用途配方食品 A, 在 3 个添加水平下, 偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理后样品的加标回收率为 69.4%~78.2%, RSD 为 4.43%~5.69%, 加标回收率偏低, 数据离散程度大, 不符合维生素 C 标准的测定要求; 25%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理后样品的加标回收率为 82.6%~88.6%, RSD 为 3.54%~4.38%, 加标回收率偏低, 数据离散程度较大; 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理后样品的加标回收率为 90.7%~96.8%, RSD 为 2.73%~3.66%, 加标回收率比较好, 实验数据精密度高。对于氨基酸配方特殊医学用途配方食品 A, 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理方法的提取效率、稳定性和重复性最好。

### 3.4 实际样品测定

在日常食品检验工作中, 对多种品牌的氨基酸配方及蛋白质水解配方特殊医学用途配方食品或试剂样品, 采用 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理, 并与国标偏磷酸-

乙酸溶液 A 检测结果进行对比, 考查了本方法对维生素 C 的检测情况。

#### 3.4.1 不同基质样品的精密度实验

考察了 8 种氨基酸配方和蛋白质水解配方特殊医学用途配方食品, 分别采用 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 和偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理后的样品检测结果见表 4, 采用 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理的样品检测结果比偏磷酸-乙酸溶液 A 结果偏高, 精密度比较好(RSD 为 1.30%~3.14%), 说明 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 的前处理方法适用于多种品牌和基质的氨基酸配方及蛋白质水解配方特殊医学用途配方食品中维生素 C 的检测。

#### 3.4.2 不同基质样品的加标回收率实验

选取与样品维生素 C 含量相当的添加水平 100 mg/100 g 进行加标回收实验, 考察 5 种特殊医学用途配方食品采用 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 和偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理后的样品加标回收率, 样品加标回收率结果见表 5, 5 种样品采用 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理后的样品加标回收率为 99.2%~105.1%, RSD 为 1.76%~4.42%; 5 种样品采用偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理后的样品加标回收率为 71.1%~85.4%, RSD 为 3.90%~7.54%, 回收率偏低, 数据分离程度大。说明 50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A 前处理方法对多种品牌和基质的氨基酸配方及蛋白质水解配方特殊医学用途配方食品的维生素 C 有比较高的提取效率, 方法准确性和精密度均满足实验质量控制要求。

表 3 加标回收率和相对标准偏差( $n=6$ )  
Table 3 Recoveries and relative standard deviation( $n=6$ )

基质	加标量/(mg/100 g)	平均回收率/%	RSD/%	
婴幼儿配方乳粉 R	偏磷酸-乙酸溶液 A	93.9	4.83	
	25%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A	10	91.6	3.96
	50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A		89.6	3.47
	偏磷酸-乙酸溶液 A		100.8	1.77
	25%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A	50	94.4	2.98
	50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A		95.3	2.88
	偏磷酸-乙酸溶液 A		102.9	1.46
	25%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A	100	96.3	2.37
	50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A		95.9	2.46
氨基酸配方特殊医学用途配方食品 A	偏磷酸-乙酸溶液 A		69.2	5.69
	25%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A	10	82.6	4.38
	50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A		90.7	3.66
	偏磷酸-乙酸溶液 A		75.6	4.85
	25%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A	50	88.6	3.54
	50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A		94.9	3.24
	偏磷酸-乙酸溶液 A		78.4	4.43
	25%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A	100	87.0	3.65
	50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A		96.8	2.73

表 4 2 种前处理方法的维生素 C 检测结果  
Table 4 Test results of vitamin C in samples pretreated by 2 methods

前处理 方法	基质	1 /(mg/100 g)	2 /(mg/100 g)	3 /(mg/100 g)	4 /(mg/100 g)	5 /(mg/100 g)	6 /(mg/100 g)	平均值 /(mg/100 g)	RSD /%
50%乙醇- 偏磷酸- 乙酸溶液 A	YB 氨基酸配方	143.6	145.3	140.9	146.3	144.6	143.4	144.0	1.30
	YB 乳蛋白深度 水解配方	123.5	125.1	126.8	121.9	124.7	127.4	124.9	1.64
	YB 乳蛋白部分 水解配方	126.0	123.9	125.9	127.1	122.9	127.3	125.5	1.40
	SMY 乳蛋白深度 水解配方	119.6	122.3	121.7	120.5	124.4	121.1	121.6	1.37
	SLL 乳蛋白部分 水解配方	130.7	127.6	129.6	133.6	124.5	128.3	129.1	2.38
	YPYM 氨基酸配方	155.6	159.3	160.1	163.5	157.8	159.1	159.2	1.64
	YPYJ 乳蛋白深度 水解配方	175.3	166.5	168.7	177.6	163.7	168.3	170.0	3.14
	YPYB 乳蛋白部分 水解配方	213.5	221.0	226.3	218.5	230.1	219.6	221.5	2.66
偏磷酸- 乙酸溶液 A	YB 氨基酸配方	121.4	104.9	120.1	112.7	121.3	129.3	118.3	7.11
	YB 乳蛋白深度 水解配方	102.4	116.8	107.0	106.3	110.4	107.7	108.4	4.47
	YB 乳蛋白部分 水解配方	118.4	102.7	108.9	109.1	125.8	129.6	115.8	9.15
	SMY 乳蛋白深度 水解配方	105.8	117.2	107.6	106.2	109.4	106.8	108.8	3.94
	SLL 乳蛋白部分 水解配方	116.1	110.4	105.3	109.3	111.2	114.1	111.1	3.40
	YPYM 氨基酸配方	121.9	124.5	135.2	127.5	103.6	114.4	121.2	9.06
	YPYJ 乳蛋白深度 水解配方	131.2	125.8	126.8	143.5	103.4	126.5	126.2	10.3
	YPYB 乳蛋白部分 水解配方	158.3	124.2	168.1	142.3	170.3	153.8	152.8	11.3

表 5 2 种前处理方法的样品加标回收率和精密度结果(% , n=6)  
Table 5 Recoveries and relative standard deviation of spiked samples pretreated by 2 methods(% , n=6)

前处理方法	基质	1	2	3	4	5	6	平均值	RSD
50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液 A	YB 氨基酸配方	96.7	97.3	100.9	96.3	104.1	103.4	99.8	3.49
	YB 乳蛋白深度水解配方	103.9	105.8	99.8	111.9	104.7	104.4	105.1	3.73
	SMY 乳蛋白深度水解配方	99.6	96.1	101.3	100.5	98.6	99.3	99.2	1.82
	YPYM 氨基酸配方	95.6	99.6	98.1	103.5	107.8	98.1	100.5	4.42
	YPYB 乳蛋白部分水解配方	101.4	101.3	99.7	100.8	104.5	99.6	101.2	1.76
偏磷酸-乙酸溶液 A	YB 氨基酸配方	78.3	80.9	83.9	85.6	76.2	86.2	81.9	4.97
	YB 乳蛋白深度水解配方	83.9	84.7	76.8	89.6	83.7	80.6	83.2	5.15
	SMY 乳蛋白深度水解配方	87.9	84.8	82.4	88.7	87.8	80.6	85.4	3.90
	YPYM 氨基酸配方	72.2	75.8	70.7	78.8	82.1	74.7	75.7	5.57
	YPYB 乳蛋白部分水解配方	71.2	69.3	69.8	74.6	68.2	72.6	71.0	3.32

## 4 结论

采用50%乙醇-偏磷酸-乙酸溶液A沉淀氨基酸和多肽,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。本方法的相对标准偏差小,加标回收率高,线性相关系数 $r^2$ 大于0.999。线性相关系数、准确度和精密度均获得满意的结果。本方法缩短了前处理时间,提高了检测效率,灵敏度高,重复性好,适合氨基酸配方和蛋白质水解配方特殊医学用途配方食品基质中维生素C的批量化检测。

## 参考文献

- [1] 乌尼尔,高娃,其其格,等. 婴幼儿奶粉中维生素C检测方法的研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(5): 1535-1538.  
Wu NE, Gao W, Qi QG, *et al.* Study on the method to determine vitamin C from infant milk power [J]. J Food Saf Qual, 2013, 4(5): 1535-1538.
- [2] 王冬梅,董砺节. 婴幼儿奶粉中维生素C稳定性的研究[J]. 食品工业, 2016, 37(6): 1-3.  
Wang DM, Dong LJ. Study on stability of vitamin C in infant formulas [J]. Food Ind, 2016, 37(6): 1-3.
- [3] 孟慧琴,徐琴,宫萍,等. 婴幼儿配方食品和乳粉中维生素C的测定[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(4): 1448-1451.  
Meng HQ, Xu Q, Gong P, *et al.* Determination of vitamin C in foods for infants and young children, milk and milk products [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(4): 1448-1451.
- [4] 李野,尹利辉,高尚,等. 食品和药品中维生素C含量测定方法的研究进展[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(5): 756-764.  
Li Y, Yin LH, Gao S, *et al.* Research progress of vitamin C content determination in food and drug [J]. J Pharm Anal, 2016, 36(5): 756-764.
- [5] 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].
- [6] GB 5009.86-2016 食品安全国家标准 食品中抗坏血酸的测定[S].  
GB 5009.86-2016 National food safety standard-Determination of vitamin C in foods [S].
- [7] SN/T 0869-2000 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].
- [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] 武中平,顾爱国,王伟,等. 前处理对液相色谱法测定婴幼儿配方奶粉中维生素C含量的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(4): 808-813.  
Wu ZP, Gu AG, Wang W, *et al.* Effect of pretreatment on determination of vitamin C in infant formula by liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(4): 808-813.
- [11] Silva MA, Albuquerque TG, Oliveira M, *et al.* Vitamin C evaluation in foods for infants and young children by a rapid and accurate analytical method [J]. Food Chem, 2018, (267): 83.
- [12] 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.* Determination of ascorbate by ultraviolet spectrophotometry [J]. J Jiangnan Univ, 2005, 33(2): 68-69.
- [13] 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.
- [14] 杜淑霞,司徒清泉,徐丽,等. 抗坏血酸棕榈酸酯测定方法的比较[J]. 粮油食品科技, 2014, 22(3): 64-66  
Du SX, Situ MQ, Xu L, *et al.* Comparison of the determination methods of ascorbyl palmitate [J]. Sci Technol Cere Oils Foods, 2014, 22(3): 64-66
- [15] 邵琪,魏丽娜,张东丽,等. 酪蛋白磷酸肽检测方法研究进展[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(3): 220-224.  
Shao Q, Wei LN, Zhang DL, *et al.* Research progress of the detection methods on casein phosphopeptides [J]. Food Res Dev, 2019, 40(3): 220-224.
- [16] GB 1886.230-2016 食品安全国家标准 食品添加剂 抗坏血酸棕榈酸酯[S].  
GB 1886.230-2016 National food safety standard-Food additive ascorbic palmitate [S].
- [17] 程奕昊. 荧光分光光度计在荧光录井中的应用[J]. 光谱仪器与分析, 2006, Z1: 90-94.  
Cheng YH. The application of fluorescence spectrophotometer in fluorescence logging[J]. Spectro Instru Anal, 2006, (Z1): 90-94.

(责任编辑: 韩晓红)

## 作者简介



张海红, 工程师, 主要研究方向为食品检测。

E-mail: zhanghaihong315@163.com

王 骏, 研究员, 主要研究方向为食品色谱质谱分析技术研究。

E-mail: 13953105081@163.com