

实验技术与方法

高效液相色谱法测定保健食品和饮料中维生素 C

张 培 冯慧予

(天津市疾病预防控制中心,天津 300011)

摘要:目的 建立保健食品及饮料中维生素 C 的高效液相色谱检测方法。方法 ODS C₁₈ 5 μm 反相色谱柱分离,流动相和试样提取液为 0.1% 草酸溶液,紫外检测器,流速 1.0 ml/min,检测波长 262 nm。结果 线性范围为 0.05 ~ 700.00 μg/ml,加标回收率为 84.2% ~ 94.9%,RSD < 10%,检出限为 0.05 μg/ml。结论 本方法操作简便、快速、数据可靠,适合于饮料及保健食品中的维生素 C 含量测定。

关键词:营养保健品; 饮料; 抗坏血酸; 色谱法, 高压液相

Determination of Vitamin C in Health Foods and Drinks by High Performance Liquid Chromatography

ZHANG Pei, FENG Hui-yu

(Tianjin Municipal Center for Disease Control and Prevention, Tianjin 300011, China)

Abstract: **Objective** To develop a RP-HPLC method to detect the content of vitamin C in health foods and drinks. **Method** The samples were extracted and eluted by 0.1% oxalic acid solution on a ODS C₁₈ 5 μm column at the flow rate of 1.0 ml/min at 262 nm. **Results** The good linear relationship was obtained over the range of 0.05 ~ 700 μg/ml. The average recovery ranged from 84.2% to 94.9%, and the RSD of the values of repeatability was less than 10%. The detection limit of the method was 0.05 μg/ml. **Conclusion** The method could be simple, fast and feasible, and it could be used to detect the content of vitamin C in health foods and drinks.

Key word: Dietary Supplements; Beverages; Ascorbic Acid; Chromatography, High Pressure Liquid

维生素 C 是机体正常生命活动所必需的有机化合物,作为一种理想的保健食品功能因子,被添加于各种保健食品及饮料中,因此对维生素 C 测定方法的研究也较多。目前常规的维生素 C 测定方法有紫外分光光度法、荧光分光光度法等。维生素 C 具有较强的还原性,在中性和碱性环境下不稳定,遇热迅速分解,检测方法操作步骤复杂,具有试剂和试样溶液不稳定、灵敏度低、费时等缺点,尤其是有颜色的试样,其溶液颜色背景干扰大,对最终数据有影响。高效液相色谱法具有高效、快速、稳定、灵敏度高的特点,能在较短时间内完成测定,本文探讨了高效液相色谱法测定保健食品及饮料中维生素 C 的方法。

1 材料与方 法

1.1 试剂 维生素 C,纯度 99.7%,天津科锐思精细化工有限公司生产;草酸,分析纯,天津市化学试剂三厂;纯净水,实验室自制。

1.2 仪器与色谱条件 LC-4A 岛津-高效液相色

谱仪、紫外检测器 日本岛津;UV-2501PC 紫外分光光度仪 日本岛津;色谱柱 ODS C₁₈ 5 μm 反相色谱柱,250 mm × 4.6 mm TIANHE;流动相 0.1% 草酸溶液;检测波长 262 nm。

KQ3200E 型超声波振荡仪 昆山市超声仪器有限公司。

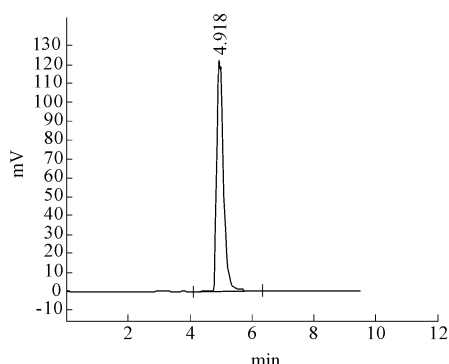
1.3 试样处理 试样为液体时,吸取适量体积试样原液用 20 ml 0.5% 草酸溶液作为稀释液,再用水定容至 100 ml;试样为固体时,称取试样 1 g,(试样液中维生素 C 含量约在 0.5 ~ 700.00 μg/ml 之内)用 0.1% 草酸溶液溶解,超声波振荡 5 min,再用 0.1% 草酸定容至 100 ml,过滤,用 0.45 μm 滤膜过滤,进样。

2 结果

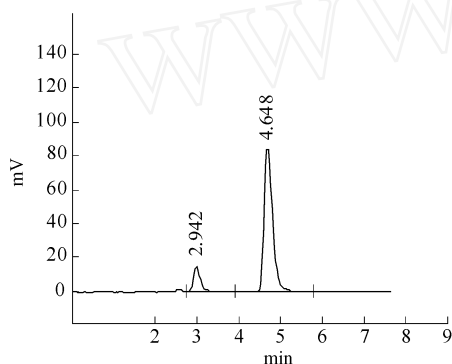
2.1 校正曲线和线性范围 维生素 C 标准溶液配制:准确称取 0.1159 g 维生素 C,用 0.1% 草酸溶液溶解,超声波振荡 5 min,再用 0.1% 草酸定容至 50 ml,此标准溶液浓度为 2.318 mg/ml,分别吸取标准溶液 0.05、0.10、0.50、1.00、2.00、3.00 ml 于 10 ml 比色管中,用 0.1% 草酸溶液定容,进样测定,此校正

作者简介:张培 女 副主任技师

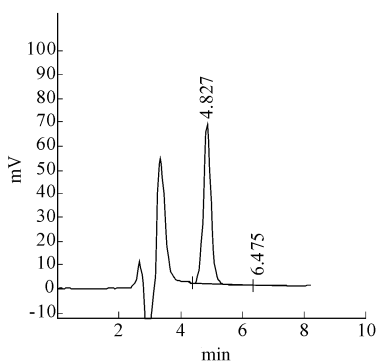
曲线相关系数为0.9979,线性回归方程为 $y = 5.303x + 2.248$ 。本方法最低检出浓度按3倍信噪比计算为0.05 $\mu\text{g/ml}$,最高检出浓度为700.00 $\mu\text{g/ml}$ 。维生素C标准品和样品色谱图见图1。



A: 维生素C标准品色谱图



B: 样品1减肥胶囊维生素C色谱图



C: 样品2浓缩混合果汁维生素C色谱图
图1 维生素C标准品和样品色谱图

2.2 准确度试验 本底试样为减肥胶囊,平均含量为4.32%。本试验做了低、中、高3个浓度的加标回收,每个浓度各做6个。回收率范围在84.2%~94.9%,见表1。

表1 准确度实验 (n=6)

加标量 ($\mu\text{g/ml}$)	回收率(%)						平均值 (%)	平均 回收 率(%)
140	79.2	85.3	89.0	84.2	88.1	79.4	84.2	
284	100.4	96.8	91.5	85.2	95.0	87.7	90.6	
626	106.9	97.7	107.0	84.0	82.6	91.3	94.9	

注: n为检测次数。

2.3 精密度试验 本底试样同为减肥胶囊,对同一浓度的3个试样做不同时间的6次重复测定,其RSD(%)分别为7.09、3.35、4.82。见表2。

表2 精密度实验 (n=6)

样品号	测定含量($\mu\text{g/ml}$)						\bar{x}	s	RSD(%)
1	4.42	4.02	4.00	4.15	4.80	4.40	4.30	0.305	7.09
2	4.51	4.47	4.62	4.30	4.26	4.28	4.41	0.148	3.35
3	4.72	4.60	4.21	4.19	4.46	4.34	4.42	0.213	4.82

注: n为检测次数。

2.4 检测波长的选择 将维生素C标准溶液用UV-2501PC紫外分光光度仪进行光谱扫描,紫外检测波长为262nm时有最大吸收,检测灵敏度最高,因此我们在实验中选择262nm。

2.5 试品放置时间的选择 维生素C是强还原剂,易被光及空气氧化,另外标准及试样在测定时所用草酸提取液浓度为0.1%,比文献资料报道中使用的浓度要低,因此做了放置时间试验,分别在放置0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0h后测定,响应值变化为-0.51%、-1.21%、-0.96%、-2.37%、-2.06%、-2.56%、-3.0%、-3.2%。结论为在标准溶液或样品溶解后放置4h内测定,最大测定响应值变化为-3.2%,因此在4h内是稳定的。在实际测定时4h足够用。

2.6 流动相的选择 分别以1%乙酸、甲醇+水(60+40)、0.1%草酸为流动相,对保健食品和饮料维生素C测定的色谱峰比较显示,由于保健食品和饮料所添加的成分较多,以1%乙酸或甲醇+水(60+40)为流动相时,各组分有时分离较差,色谱峰峰形不太好,有时甚至分不开。用0.1%草酸为流动相,其峰形好,各种试样基本都能达到分离好的要求。

2.7 金属离子对测定的影响 在保健食品和饮料中,所添加的微量元素和金属离子种类较多,并且有资料表明重金属离子对维生素C的稳定性有影响。以某品牌维生素片为例,我们分别测定了纯维生素C溶液和加各种金属离子时放置时间与响应值的变化,所加金属离子与保健食品中各金属离子浓度相等。测定数据表明, Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 这些金属离子在2h内对维生素C测定基本无影响,其响应值变化很小,变化幅度为0.76%、-0.25%、-6.2%、-7.0%、-0.33%、-3.4%,都在10%以内。超过2h后 Ca^{2+} 对维生素C有较大影响,其响应值随时间增加而快速下降。因此在实际工作中,当样品量较大时,我们采取随处理样品随测定的方法,争取在最短时间内完成检测。

3 讨论

样品要随处理随检测,争取在最短时间内完成

实验技术与方法

ELISA 法检测食醋中黄曲霉毒素 B₁ 方法的改进

齐惠萍 吕建明 李常青

(太原市疾病预防控制中心,山西 太原 030001)

摘要:目的 优化试样提取条件,建立测定食醋中黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 的新的前处理方法。方法 将适量试样调酸后用甲醇+水直接定容,振荡、离心作为食醋试样的前处理方法,采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定。结果 改进后方法灵敏度达 0.1 μg/kg,平均回收率在 79.1%~95.5%,相对标准偏差小于 6.4%。结论 研究建立的新的前处理方法,简化了提取过程,并获得了优化的实验参数,可满足国标对食醋中的 AFB₁ 规定的安全限量的检测要求。

关键词:醋酸;黄曲霉毒素 B₁;酶联免疫吸附测定

Improvement on Pretreatment Method of Aflatoxin B₁ in Vinegar with Enzyme-linked Immunosorbent Assay

QI Hui-ping, LÜ Jian-ming, LI Chang-qing

(Taiyuan Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanxi Taiyuan 030001, China)

Abstract: **Objective** To optimize extractive conditions of samples, and to establish a new pretreatment method of aflatoxin B₁ in vinegar. **Method** The sufficient samples were directly metered volume by methanol-water after adjusting its acidity, and then vibrated and centrifuged, and determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The sensibility of the method reached 0.1 μg/kg. The average recovery was from 79.1% to 95.5%. The relative standard deviation was smaller than 6.4%. **Conclusion** The new pretreatment method could simply extractive procedures, and optimized experiment parameters. It could meet the detecting requirements of safety dose of AFB₁ in vinegar stipulated by national standard.

Key word: Acetic Acid; Aflatoxin B₁; Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

检测。

在实际检测中比色法的不便之处突出,有颜色的样品比色法检测出的数据容易偏离,用滴定法其检测数据往往偏高,用高效液相色谱法可以检测我们工作中所遇到的所有样品,没有发现因其他维生素干扰所出现的问题。

流动相、样品和标准品提取试剂使用的都是 0.1% 的草酸,既方便又容易得到。且试样处理过程操作简单,简化了实验过程。0.1% 草酸流动相溶液 pH=2.5,其值在色谱柱最适宜的操作范围之内,但考虑到 pH 值较低,从保护色谱柱角度出发,色谱柱用后用水清洗 30 min,再用甲醇冲洗 30 min。

本实验方法适用于保健食品中片剂、胶囊、口服

液、颗粒冲剂剂型;饮料中固体饮料、液体饮料、浓缩饮料、营养饮用水等。

整个检测过程注意适当避光。

参考文献

- [1] 高申. 食品中维生素 C 含量的测定[J]. 天津化工, 2002, (4): 39-40.
- [2] 冯德明,周晓霞. 用高效液相色谱法测定饮料中维生素 C 的含量[J]. 饮料工业, 2003, (1): 43-44.
- [3] 吴增茹,宋曙辉,武兴德,等. 高效液相色谱法测定苋菜等有色样品的维生素 C[J]. 现代仪器使用与维修, 1998, (4): 43-46.
- [4] 雍莉,黎源倩,李敏,等. 高效液相色谱法快速测定保健食品和果蔬中的 VitC[J]. 现代预防医学, 2005, (3): 247-248.

[收稿日期:2007-12-28]

中图分类号:R15;O657.72 文献标识码:B 文章编号:1004-8456(2008)04-0311-03

作者简介:齐惠萍 女 副主任技师