

解决方案|液相色谱法测定婴幼儿食品和乳品中 β -胡萝卜素

β -胡萝卜素是一种天然色素，有多种异构体和衍生物，其中在分子结构中含有 β -紫罗宁残基的类胡萝卜素，在人体内可转化为维生素 A，称为维生素 A 源。它是人体重要的营养素，常用做食品着色剂、营养加强剂而添加于食品中。它还是一种有效的生物抗氧化剂，能淬灭单线态氧，捕获体内自由基，减少机体的氧化损伤。

本文根据 GB 5009.83—2016《食品安全国家标准 食品中 β -胡萝卜素的测定》建立了利用高效液相色谱测定奶粉中 β -胡萝卜素的方法，供食品行业相关分析人员参考。

实验部分

实验原理

试样经皂化后，使 β -胡萝卜素释放为游离态。用石油醚萃取二氯甲烷定容后，采用反相色谱法分离，外标法定量。

仪器及试剂

LC 5520 高效液相色谱仪（配有紫外检测器）

无水硫酸钠（ Na_2SO_4 ）；

抗坏血酸（ $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ）；

石油醚；

木瓜蛋白酶；

α -淀粉酶；

甲醇（ CH_4O ）；

乙腈（ $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$ ）；

二氯甲烷(CH_2Cl_2);
无水乙醇($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$);
氢氧化钾(KOH);
 β -胡萝卜素标准品。

仪器条件

色谱柱: C18 反相色谱柱 (粒径 5 μm , 250 mm \times 4.6 mm);
流动相: 三氯甲烷—乙腈—甲醇=3+12+85;
流 速: 2.0 mL/min;
检测波长: 450 nm;
柱温: 35 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$;
进样量: 20 μL 。

样品制备

溶解

称取混合均匀的固体试样约 1~5g 或液体试样 5~10g (均精确至 0.001 g), 置于 250 mL 三角瓶中加入 1.0 g 抗坏血酸。固体试样需用 50 mL 45 $^{\circ}\text{C}$ ~50 $^{\circ}\text{C}$ 的水溶解并混合均匀, 然后加入 0.5g 木瓜蛋白酶和 0.5g α -淀粉酶 (若无淀粉, 可不加淀粉酶), 置于 55 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴箱震荡。

皂化

将 75mL 无水乙醇加入到上述试样溶液中, 混匀后加入 25 mL 氢氧化钾溶液, 置于 53 $^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 水浴中皂化约 30min, 冷却到室温。

提取

将皂化液转入分液漏斗中, 加入 100 mL 石油醚萃取两次, 合并有机相, 用水洗至近中性。有机相加入无水硫酸钠干燥、过滤。滤液于 40 $^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 下减压浓缩至近干。最后氮气吹干。然后加入 5.0 mL 二氯甲烷使其溶解, 用 0.45 μm 膜过滤, 滤液备用。(注: 实验操作过程中应注意避光。)

实验结果

标准曲线

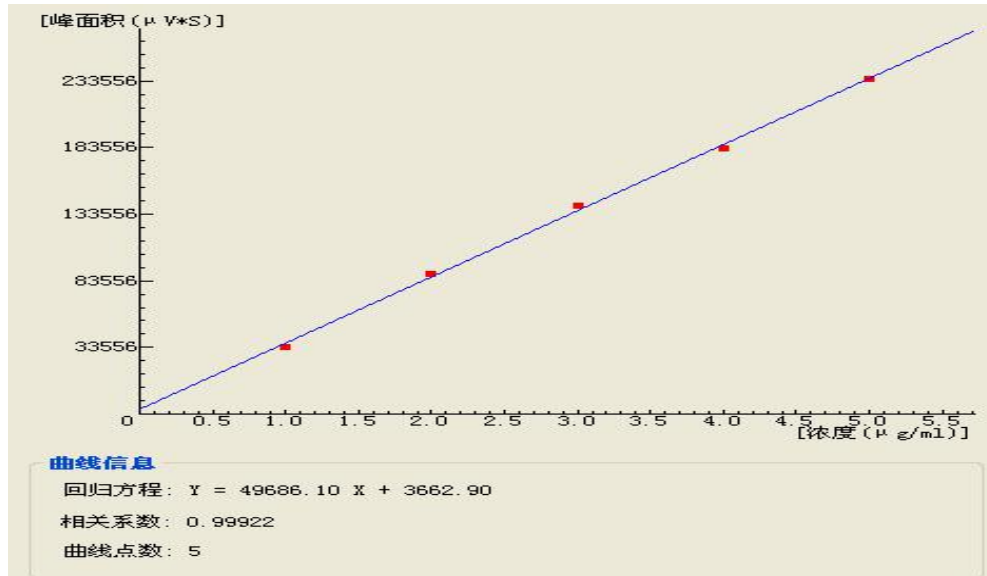


图1 β-胡萝卜素标准曲线

曲线方程: $Y=49686.10X+3662.90$

相关系数: $r=0.99922$

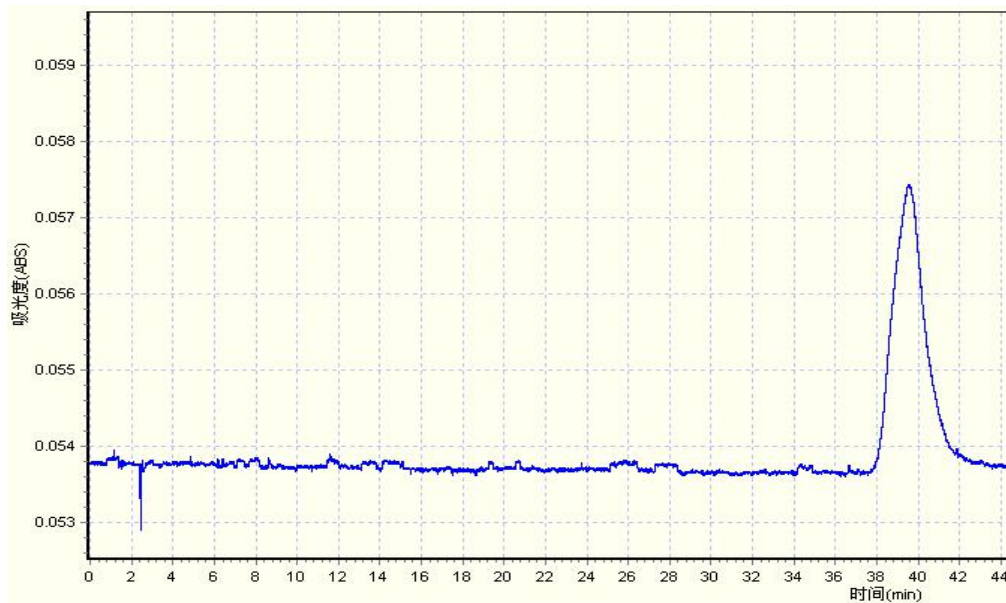


图2 4.0 μg/mL 标准工作液谱图

样品分析

将试样待测液进行色谱测定。记录组分色谱峰面积，根据标准曲线计算出试样待测液中 β -胡萝卜素的浓度。

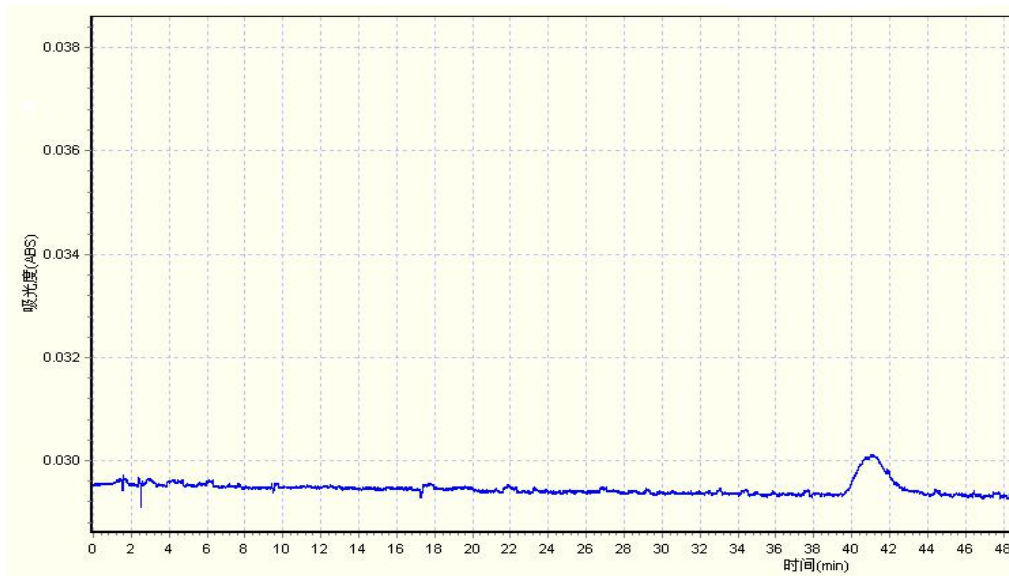


图 3 样品谱图

实验总结

本文根据国家标准 GB 5009.83—2016《食品安全国家标准 食品中 β -胡萝卜素的测定》，建立了利用东西分析 LC-5520 高效液相色谱测定奶粉中 β -胡萝卜素的方法。该方法操作简单、线性良好、结果准确，在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值未超过算术平均值的 10%，符合国标要求。