



## 奶粉中抗坏血酸的分析方法

### AF10166

#### 应用及技术服务部

**摘要：**按照 GB5009.86-2016 (食品中抗坏血酸的测定) 方法，本实验建立了奶粉中抗坏血酸的检测方法。奶粉样品用偏磷酸超声提取 L(+)-抗坏血酸和 D(+)-抗坏血酸，样品中的 L-脱氢抗坏血酸经 L-半胱氨酸还原后测定总 L(+)-抗坏血酸含量。Venusil C18 Plus 色谱柱 (4.6 × 250 mm, 5 μm, 120 Å) 分离，用流动相为 pH 2.5 ~ 2.8 磷酸缓冲盐加甲醇 (98+2, V/V) 洗脱，外标法进行定量。结果表明，奶粉样品中 L (+)-抗坏血酸和 D (+)-抗坏血酸回收率在 93% ~ 105 % 之间，变异系数小于 4%，能够满足检测要求。

**关键词：**抗坏血酸；Venusil C18 Plus 色谱柱；L (+) 脱氢抗坏血酸

## 前言

维生素 C (Vitamin C, 又称 L-抗坏血酸) 为酸性己糖衍生物，是烯醇式己糖酸内酯，VC 主要来源新鲜水果和蔬菜，是高等灵长类动物与其他少数生物的必需营养素。VC 有 L-型和 D-型两种异构体，只有 L-型的才具有生理功能，还原型和氧化型都有生理活性。

本实验建立了高效液相色谱法检测食品中抗坏血酸的方法。

## 实验部分

### 仪器、试剂与材料

#### 主要仪器设备

高效液相色谱仪 (紫外检测器)；

#### 试剂材料

甲醇为色谱纯；偏磷酸、偏磷酸三钠、磷酸、磷酸二氢钾为分析纯，L-半胱氨酸为优级纯，实验用水为超纯水，标准品及化学式，CAS号见表1；



表1.抗坏血酸中文与英文名称、CAS号

序号	中文名称	英文名称	CAS 号
1	L (+)-抗坏血酸	L (+)-Ascorbic acid	51-81-7
2	D (+)-抗坏血酸	D (+)-Ascorbic acid	89-65-6

一次性无菌注射器；Nylon 针式过滤器 (0.22  $\mu\text{m}$ ，直径 13 mm) ；

## 样品制备

### 样品提取：

称取样品约 0.5 g ~ 2 g (精确至 0.001 g) 混合均匀的固体试样 (使所取试样含 L(+)-抗坏血酸约 0.03 mg ~ 6 mg) 于 50 mL 离心管中，用 20 g/L 的偏磷酸溶液，将试样转移至 50 mL 容量瓶中，震荡溶解并定容，摇匀后，全部转移至 50 mL 离心管中，超声提取 5 min 后，于 4000 r/min 离心 5 min，取上清液过 0.45  $\mu\text{m}$  水相滤膜，滤液待测 (由此试液可同时分别测定试样中 L(+)-抗坏血酸和 D(+)-抗坏血酸的含量)。

### 试样溶液的还原：

准确吸取 20 mL 上述离心后的上清液于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 40 g/L 的 L-半胱氨酸溶液，用 100 g/L 磷酸三钠溶液调节 pH 至 7.0 ~ 7.2，以 200 次/min 振荡 5 min。再用磷酸调节 pH 至 2.5 ~ 2.8，用水将试液全部转移至 50 mL 容量瓶中，定容到刻度。混匀后取此试液过 0.45  $\mu\text{m}$  水相滤膜后待测 (由此试液可测定试样中包括脱氢型的 L(+)-抗坏血酸总量)。

## 实验条件

### 液相条件

色谱柱：Venusil C18 Plus, 5  $\mu\text{m}$ , 120  $\text{\AA}$ , 4.6  $\times$  250 mm

流动相 A: 6.8 g 磷酸二氢钾，用水溶解并定容至 1 L (用磷酸调 pH 至 2.5 ~ 2.8) ，B: 100% 甲醇。按 A : B = 98 : 2 混合，过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜，超声脱气。

流速：0.7 mL/min

柱温：25 $^{\circ}\text{C}$

进样量：20  $\mu\text{L}$

检测波长：245 nm



## 结果与讨论

### 实验结果

表 2. 奶粉中抗坏血酸加标回收实验结果

物质名称	保留时间/min	添加水平/ $\mu\text{g/ml}$	回收率/%	CV/%
L (+)-抗坏血酸	7.071	20	105	2.6
D (+)-抗坏血酸	7.552	20	93	3.8

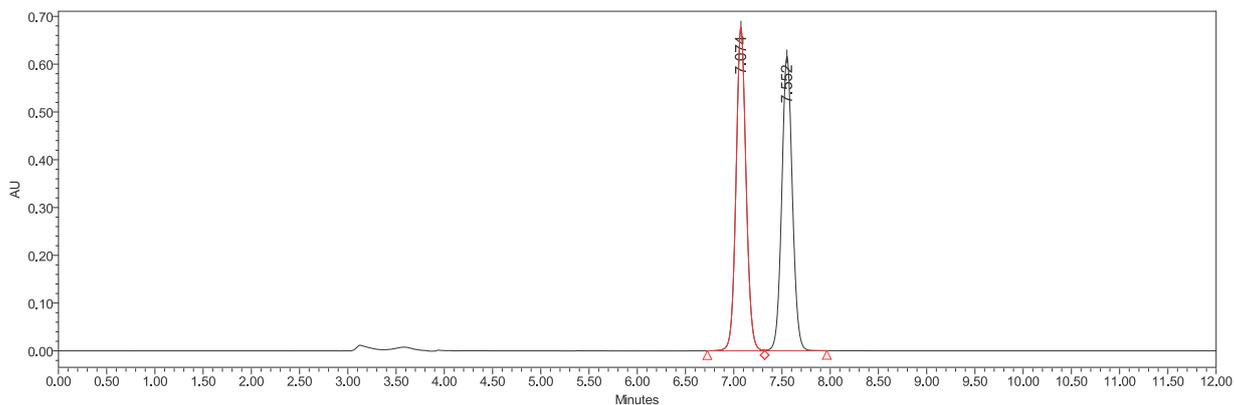


图1. L (+)-抗坏血酸和D (+)-抗坏血酸50  $\mu\text{g/ml}$ 标准溶液液相色谱图

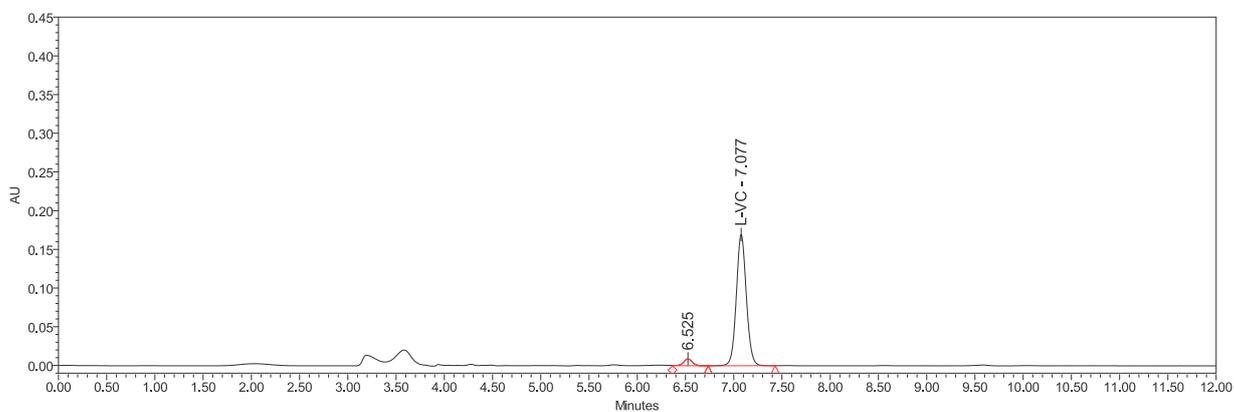


图2. 奶粉样品色谱图

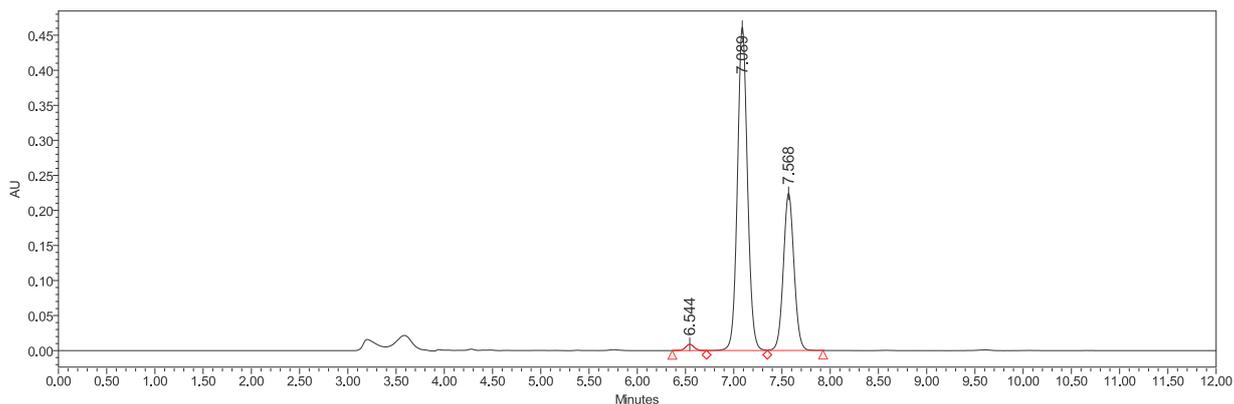


图3. 奶粉基质加标液相色谱图

## 结论

本实验建立了奶粉中抗坏血酸的检测方法，并结合高效液相色谱对奶粉中抗坏血酸含量进行测定。加标量终浓度为  $20 \mu\text{g/L}$  时，L (+) 抗坏血酸和 D(+)-抗坏血酸回收率在 93% ~ 105% 之间，变异系数小于 4%，符合实验要求。



## 附：相关产品

产品名称	规格描述	包装数量	订货号
Venusil C18 Plus	5 $\mu\text{m}$ , 120 $\text{\AA}$ , 4.6 $\times$ 250 mm	1 支	VPS952505-A
1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写处 32 $\times$ 11.6 mm	100/pk	1109-0519
1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫 45°Shore A; 1.0 mm	100/pk	0915-1819
Nylon 针式过滤器	单膜, 13 mm, 0.22 $\mu\text{m}$	200/pk	AS021320
一次性注射器	2 mL 无针头	100 支/包	LZSQ-2ML