

酪氨酸	13.44	苯丙氨酸	13.31
赖氨酸	13.46	组氨酸	5.51
精氨酸	20.5		

色氨酸未测

3. 微量元素

测定仪器US—ICP

结果:

名称	ppm	名称	ppm	名称	ppm
磷	111.1	钴	0.0053	铷	0.0459
钙	99.66	铬	0.0586	镍	0.0004
锌	50.78	铜	0.8377	铅	0.2133
镁	64.18	硼	0.0231	钡	0.0153
铁	0.0613	钢	1.0007	硅	12.16
铝	2.589	铈	0.4446	锶	0.2656
钡	0.1075	锰	0.1033	钨	0.9004

铍 0.0012 钼 0.0315 钛 0.0001

钒 0.0091 钇 0.0083 锆 0.001

(四) 讨论

以软骨制造的饮料原料液营养丰富, 且具有一定生理及药效活性, 无毒无副作用长期饮用对心血管具有保健及延缓衰老功能。原液属天然制品, 无臭、无味、色泽明亮宜人, 可加与其它植物抽提液、维生素、葡萄糖等制成不同风味液体饮料, 也可选用砂糖、速溶大豆晶、奶粉、果汁作载体制成固体饮料。软骨在国内食品行业 (尤其是饮料) 尚未开发利用, 多数作为废弃物抛弃, 软骨来源广, 容易采集、运输和保管, 如能开发利用, 将会产生不可估量的社会和经济效益。

高效液相色谱法测定强化维生素 牛奶中的 V_{D_2} V_{D_3}

北京化纤工学院 李立平
北京西郊乳品厂 崔景泰
北京工业大学 王守兰

摘 要

本文介绍了强化维生素牛奶中的 V_{D_2} 、 V_{D_3} 的检测方法。样品皂化后, 用有机溶剂提取, 洗涤过的提取液浓缩定容后可用于HPLC分析。该方法步骤简单, 样品用量少, 重现性好。 V_{D_2} 回收率为90.2 $\pm$ 6.3%, CV%为7.0%; V_{D_3} 回收率为94.5 $\pm$ 7.9%, CV%为8.4%。

维生素D为形成正常骨骼所必需的营养物质。由于天然食物中 V_D 的含量较低, 所以强化食品不断出现。近年来, 北京市民饮用的强化 V_{D_2} 、 V_{D_3} 牛奶就是一种。但 V_{D_2} 的日摄入量达50~100 μ g或连续较高的摄入都会引起中毒^[1,2], 所以要准确控制添加量并建立分析方法。(市售强化牛奶 V_{D_2} 600IU/l, V_{D_3} 800IU/l, 1 μ g相当于40IU)

由于牛奶中大量蛋白质的干扰, 使 V_D 的检测困难。近年较多使用HPLC法^[3,7], 但需要经过样品皂化、萃取、浓缩、柱层析分离, 再次浓缩后用于HPLC分析, 前处理麻烦。也有不经皂化直接提取的报导^[8,9], 步骤简化, 但萃取时易形成乳化液。本文介绍的方法省去了柱层析预分离步骤, 并在保证检测灵敏度的条件下, 尽量减少样品用量, 既节省溶剂又减轻柱

容量,提高了分离度。经对大量强化 V_D 牛奶分析取得较好结果。

实 验 部 分

1. 仪器与试剂

Waters公司生产的高效液相色谱仪。包括6KA恒流泵、U6K进样器、M480紫外检测器、M-730数据处理机。

旋转蒸发器。北京玻璃总厂。

乙醇、氢氧化钾、石油醚(60~90℃)、无水乙醚、异丙醇、无水硫酸钠、焦枞酚均为分析纯。

V_{D2} 、 V_{D3} 标准储备液, V_{D2} 、 V_{D3} 由Sigma公司生产,用流动相配成1.5mg/l(V_{D2})、2.0mg/l(V_{D3}),储于冰箱内。

2. 色谱条件

柱:3.9×300mm不锈钢柱,内填 μ porasil 10 μ 。流动相为石油醚—异丙醇(100:0.5),UV256nm,流速1.0ml/min。

3. 样品处理

准确吸取5ml强化 V_D 牛奶于三角瓶中,加5ml乙醇和2.5gKOH,0.05g焦枞酚,加塞于暗处皂化10h。皂化液转入250ml分液漏斗中,用20ml水分两次洗三角瓶,并到分液漏斗中,再加5ml乙醇,然后用石油醚—乙醚(1:1)混合溶剂30ml振荡萃取约1min(若分层缓慢可加数滴乙醇),静止分层后放下水层于另一个分液

漏斗中,再用90ml混合溶剂提取三次,合并四次提取液,依次用50ml水,50ml50%乙醇水溶液,50ml水洗涤。提取液经无水硫酸钠滤入蒸发瓶中,在50℃水浴下旋转蒸发到干,再用20ml乙醚洗蒸发瓶,洗涤液加到浓缩瓶中,通 N_2 吹干,用流动相定容到0.5ml,进样50 μ l,用外标法定量。

结 果 与 讨 论

1. 色谱条件的选择

Thompson等^[10]使用150mm的硅胶柱,正己烷—环己烷—异丙醇(50:50:0.5)为流动相测定牛奶中的 V_D ,实验中我们发现该条件不能使 V_D 与干扰物质分离,使分析结果偏高。我们换成300mm长的硅胶柱,并用石油醚代替价高的正己烷和环己烷,加入少量异丙醇。异丙醇的浓度增高, V_D 的保留时间减少分离度变差,异丙醇的浓度降低, V_D 的保留时间增加分离度也增加,符合吸附色谱的一般规律,最后确定石油醚—异丙醇为100:0.5。见图1。对 V_D 峰的定性,采用与标准物保留时间对照和标准添加法视峰面积增加的方法,确定 t_R 为19.70min的峰为 V_D 。并且将19.70min的峰收集起来,蒸去流动相用甲醇溶解后在YWG—C18(10 μ)的柱上以甲醇—水(95:5)为流动相,在反相体系上测定保留时间与标准物对照见图2。证明 V_{D2} 、 V_{D3} 在硅胶柱上有相

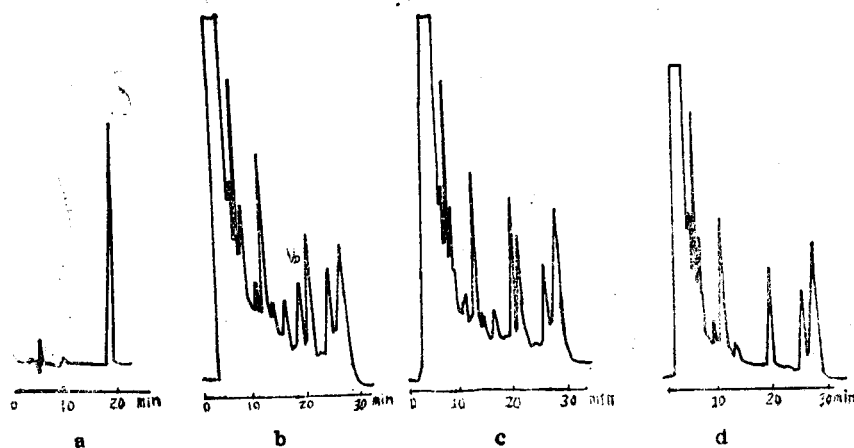


图 V_{D2} 、 V_{D3} 的HPLC谱图

a, 标准 V_{D2} V_{D3} ; b, 强化 V_{D2} 或 V_{D3} 牛奶 c 标准添加 d. 普通牛奶

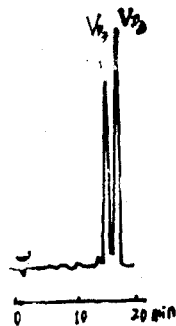


图2. V_{D2} 、 V_{D3} 的HPLC谱图
柱: $3.9 \times 300\text{mm}$ 内装YWG- C_{18} (10μ)
流动相:甲醇—水(95:5)
检测器:UV265nm;流速1.0ml/min
矮峰是 V_{D2} ,高峰是 V_{D3}

同的保留时间而在 C_{18} 柱上保留时间不同。所以采用硅胶柱既可以检测 V_{D2} 也可检测 V_{D3} ,但对两者的混合物会导致分析误差,还必须定量收集后再于 C_{18} 反相体系分别测定。

2. 线性范围

将标准储备液用流动相稀释成 $0.15\mu\text{g/l}$ 、 $0.20\mu\text{g/l}$ 的 V_{D2} 、 V_{D3} 标准工作溶液,在30—100 μl 范围内进样,做峰面积与进样量的回归方程。并进行最低测量实验,见表1。

3. 回收率测定

在未强化牛奶中添加一定量的 V_{D2} 或 V_{D3} ,使添加量与强化量相近,按上述样品处理与色谱条件测定回收率,见表2。

4. 样品测定

取市售强化 V_{D2} 或 V_{D3} 牛奶按上述条件测定,结果见表3。

表1. 线性关系和最低检测量

组 分	浓度范围 (ng)	回 归 方 程	相 关 系 数	检测限 (ng)	最低检测浓度 ($\mu\text{g/l}$)
V_{D2}	4.5~15	$y=3.59 \times 10^{-5}X+1.22 \times 10^{-3}$	$r=0.9985$	2.0	6.0
V_{D3}	6~20	$y=7.36 \times 10^{-5}X+1.55 \times 10^{-3}$	$r=0.9967$	2.5	8.0

表2. V_{D2} 、 V_{D3} 回收率的测定

加 入 量	15.0 μg (V_{D2})					20.0 μg (V_{D3})				
回收率 %	95.3	102.7	88.0	85.3	83.3	87.0	90.0	93.0	88.0	96.0
	90.0	94.7	89.3	81.3	92.0	85.5	110.5	97.5	104.5	93.0
平均回收率 %	90.2					94.5				
SD %	6.3					7.9				
CV %	7.0					8.4				

表3. 强化牛奶中 V_{D2} 、 V_{D3} 的分析结果

生产工厂	测定成分	规定含量IU/l	规定含量 $\mu\text{g/l}$	测定量 $\mu\text{g/l}$		
A	V_{D2}	600	15.0	13.2 ± 1.2	12.7 ± 0.8	16.1 ± 0.9
B	V_{D2}	600	15.0	14.1 ± 0.9	13.9 ± 1.1	17.1 ± 0.8
C	V_{D2}	600	15.0	17.6 ± 0.8	14.5 ± 0.7	14.5 ± 0.9
D	V_{D3}	600	20.0	23.1 ± 1.4	21.9 ± 0.9	18.8 ± 1.1

(表中数据为平均值 $\pm$ 标准偏差 $n=4$)

参考文献

- [1] Committee on Nutrition Pediatrics, 40, 1050—1061, 1967.
- [2] Recommended Dietary Allowances, National Academy of Science, Washington DC, 90th.ed.1980.
- [3] S.K Henderson et al, J.Assoc.off.Anal. Chem., 62, 1358—1362, 1979.
- [4] D.Sertl et al, JAOAC., 68, 177—182, 1985.
- [5] S.L.Reynolds et al, Analyst, 109, 489—494, 1984.
- [6] B.Borsje, et al, JAOAC, 65, 1225—1229, 1982.
- [7] A.Wichroski, et al, JAOAL, 67, 62—68, 1984.
- [8] S.Okeefe, et al, J.of Chromatography, 445, 305—311, 1988.
- [9] W.Landen, JAOAC, 68, 183—192, 1985.
- [10] J.N.Thompson, et al, JAOAC, 65, 624—631, 1982.

乳化剂OP对铜测定的影响

淮海工学院食品化工学部 徐茂军 马卫兴 孙正利

摘 要

本文研究了在乳化剂OP存在的情况下,铜试剂(二乙基二硫代氨基甲酸钠)与铜的显色反应。结果表明,在水相中乳化剂OP对铜试剂与铜的显色反应具有强烈的增敏效应,对生成的有色体具有明显的增稳保护作用。利用乳化剂OP的胶束增溶作用,以铜试剂与铜的水相反应体系直接比色测定了乳粉样品中的微量铜,回收率及精密度都符合食品检测要求,测定结果与有机溶剂萃取法一致。

铜的测定方法很多,目前我国经常使用的有原子吸收光谱法、铜试剂法等^[1]。其中铜试剂法由于不需要特殊的仪器而被广泛采用。由于铜试剂(简称DDC,下同)与铜在水相中显色反应的灵敏度较差,反应产物在水相中的稳定性差,因此,用铜试剂法测定样品中微量铜时,必需以有机溶剂萃取以提高测定灵敏度,防止反应产物沉淀。有机溶剂萃取法不但操作繁琐,增加操作误差,而且大多数有机溶剂对人体都有较强的毒害作用。本文研究了在乳化剂OP存在的情况下,DDC与铜在水相中的反应特性。结果表明,在水相中OP对DDC与铜的显色反应具有强烈的增敏作用,同时,乳化剂OP对DDC与铜反应所生成的二乙基二硫代氨基甲酸铜(简称DDC—Cu)黄色化合物具有较强的增溶及增稳保护作用。在本文试验条件下,

铜含量在0~40 $\mu\text{g}/25\text{ml}$ 范围内符合比耳定律,表观摩尔吸光系数 $\Sigma_{460}=2.12\times 10^4\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ 。分别以有机溶剂萃取法和Cu-DDC—OP水相反应体系直接比色法测定了样品中铜含量,对乳粉样品五次测定平均值的相对偏差在0.63~1.77%,结果基本一致。

实验部分

(一) 主要仪器及试剂

722型分光光度计

铜标准溶液:准确称取硫酸铜($\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 0.1964g溶于2 NH_2SO 中,并定容至500ml。临用前取10毫升以2 NH_2SO_4 稀释至100毫升,配成浓度为10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的铜使用液。

0.1%DDC水溶液(保存于棕色瓶中)

20%柠檬酸铵—EDTA溶液