生命科学仪器 2011 第9卷/10月刊

婴儿配方奶粉中叶黄素测定

陶大利

（黑龙江省农垦乳品检测中心，黑龙江省哈尔滨 150078 ）

摘要 建立高效液相色谱法测定婴儿配方奶粉中叶黄素的检测方法。采用色谱柱为 Carotenoid C30 色谱柱 (250.0 mm × 4.6 mm，5 μm)，流动相为甲醇和甲基叔丁基醚，梯度洗脱，紫外检测器，检测波长 445nm。结果表明，叶黄素浓度在 0.05 ~ 2.0 μg/mL 之间呈线性关系，线性方程为：y=379874.03X+14289.56, 相关系数 R^2=0.9990；奶粉的含量为 50 ~ 500 μg/100 g 时，回收率在 92.8 ~ 103.5% 之间，RSD% 在 1.2 ~ 3.5% 之间；检出限为 5 μg/100 g。该方法操作快捷简便，结果准确。

关键词 高效液相色谱；奶粉；叶黄素；萃取

叶黄素（Lutein）（3,3–二羟基–α–胡萝卜素）是一种萜，分子式：C40H56O2,分子量：568.85。[1] 它是一种广泛存在于蔬菜、花卉、水果与某些藻类生物中的天然类胡萝卜素，其色泽鲜艳，着色力强，抗氧化性好，安全无毒害，具有丰富的营养价值，被广泛的应用于食品、保健品、化妆品、医药、烟草和动禽类饲料的多个领域。[2] 近些年的研究表明，叶黄素是帮助眼睛发育的关键营养元素，它具有过滤蓝光和抗氧化的作用，是婴幼儿的“隐形太阳镜”。所以叶黄素被广泛的添加到婴幼儿配方奶粉中。本文以GB/T23209–2008（奶粉中叶黄素的测定 液相色谱–紫外检测器）为基础，对方法进行了改进，提高了对奶粉中叶黄素的提取效率。

1 实验部分

1.1 试剂

甲醇：色谱纯；甲基叔丁基醚：色谱纯；丙酮：优级纯；2,6–二叔丁基对甲酚（BHT）：纯度大于99%；叶黄素标准品；

1.2 仪器与材料

PE高效液相色谱仪（带钨灯）；分析天平：感量0.1mg；漩涡振荡器；高速离心机；

1.3 方法

1.3.1 处理步骤

准确称取奶粉样品0.5–1g（精确到0.1 mg）到30mL的塑料离心管中，加入5mL 40℃水充分溶剂，用铝箔纸包裹离心管外部（避光），加入10mL含0.1%2,6–二叔丁基甲酚（BHT）的丙酮溶液，分数次涡旋震荡5min,使水溶液和丙酮溶液能充分混合，再超声10 min,向离心管中加入4 g氯化钠，分数次涡旋震荡5 min，以4000转/min，离心5 min,上清液过0.45 μm有机滤膜过滤，上机。样品含量低时可吸取上清液5 mL 30℃氮气吹干浓缩至近干，再用含0.1%2,6–二叔丁基甲酚（BHT）的丙酮溶液定容至1 mL。

1.3.2 仪器条件

a)色谱柱：C_{30}色谱柱4.6 × 250,5 μm；

b)柱温：30℃；

c)流速：1.0 mL/min；

d)波长：445nm；

e)进样量：40 μL；

f）流动相：A(甲醇)，B（甲基叔丁基醚）梯度洗脱见表1

表1 梯度洗脱

时间/min	A/%	B/%	Curve
0	88	12	0
6	75	25	1
1	10	90	1
2	10	90	1
1	88	12	1
9	88	12	1

1.3.3 测定条件

用叶黄素标准工作液分别进样，叶黄素的参考保留时间为5.47min，以标准系列工作液浓度为横坐标，峰面积为纵坐标绘制标准工作曲线。用标准工作曲线计算未知样品的浓度，进行结果计算，用以上条件得到的叶黄素色谱图入下图：图1为叶黄素标准品图谱，图2为婴儿配方奶粉谱图

1.3.4 计算公式

$$X = \frac{C_S \times V}{m} \times 100$$

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

式中 X：样品中叶黄素的含量，μg/100g；
C:由标准曲线中查得的试样中叶黄素的浓度，μg/mL
V:试样稀释体积，mL；
m:试样的质量，g；

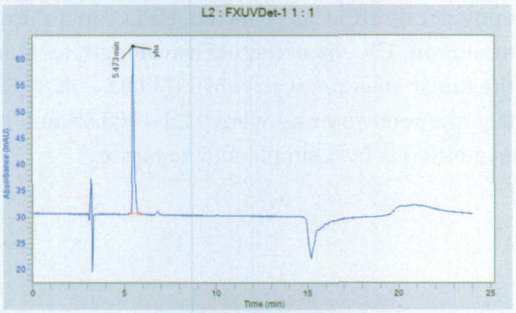

图1 叶黄素标准品图谱

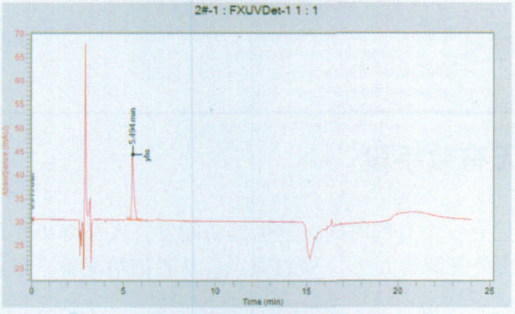

图2 婴儿配方奶粉谱图

2 结果

2.1 标准曲线

在选定的色谱条件下，将叶黄素标准溶液配制成浓度为0.05、0.1、0.2、0.4、1.0、2.0 μg/mL 6个浓度系列，在此浓度范围内，浓度与对应的峰面积呈线性关系，线性方程为：y=379874.03X+14289.56,相关系数R^2=0.9990如图3

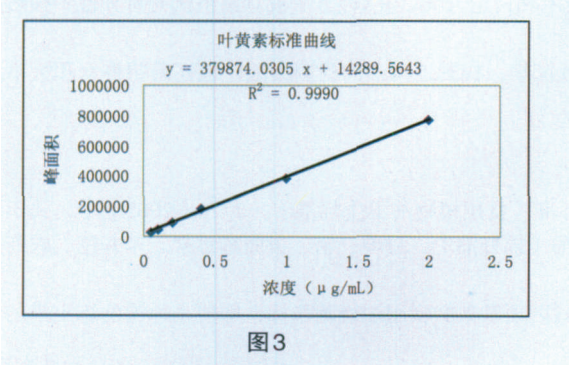

图3

2.2 精密度与重现性

选用含有叶黄素的婴儿配方奶粉（育儿康幼儿配方奶粉）进行6平行试验。结果如表2

表2

结果（μg/100g）	125.3	124.6	124.8	126.5	123.4	125.0
平均值（μg/100g）	124.9					
RSD%	0.80%					

2.3 回收率

选用同上的样品（育儿康幼儿配方奶粉）分别称取1g样品，两个做空白，分别在样品中加入0.5 μg、 1 μg、2 μg、5 μg三个梯度，每个梯度做4平行（n=4）结果如表3

表3 加标回收试验n=4

加入量μg	平均回收量μg	平均回收率%	RSD%
0.5	0.497	99.4	3.5
1	1.035	103.5	2.1
2	1.856	92.8	1.2
5	4.829	96.6	2.4

由表2得出，加标量在0.5 ~ 5 μg，折算成奶粉的含量为50 ~ 500 μg/100g时，回收率在92.8 ~ 103.5之间，RSD%在1.2 ~ 3.5之间

2.4 检出限

当称样量为1g，样品经浓缩5倍，进样量为40 μL时，以3倍信噪比S/N计算，该方法的检出限为5 μg/100g。

3 讨论

由于奶粉样品呈细小的颗粒状，如果按照标准GB/T 23209–2008中的处理方法，虽然也可以获得较高的回收率，但不能将样品包裹的叶黄素完全释放出来，造成样品的测试结果偏低很多，并且因为叶黄素在奶粉样品中包埋的程度不一致，使测试结果的重现性很差。解决这一问题可以先用温水将样品充分溶解，再用丙酮溶液提取，再用氯化钠去饱和水溶液［3］，离心使水相与丙酮溶液彻底分开。另外叶黄素遇到光照很容易损失，所以在整个处理过程中都应尽量避光，可以在离心管外部裹上铝箔纸来避免光照。

本方法处理简单，易操作，回收率和重现性好，适合婴儿配方奶粉中叶黄素的测定。

参考文献

[1] 梅益，中国百科全书（化学卷）Ⅱ［M］.北京：中国百科全书出版社，1989.1098–1099
[2] 孙晓霞刘云凤，章鹏飞，叶黄素在食品中的应用.中国食品添加剂，1006–2513（2007）4–0127–05
[3] GB/T 5009.20–2003 食品中有机磷农药残留的测量，6.2净化

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Determination of lutein in infant formula milk powder

TAO DA-LI

(1.Heilongjiang Agriculture Dairy Testing Center , Harbin 150078,China)

Abstract A method for determination of lutein in infant formula milk powder by HPLC is reported. HPLC on a Carotenoid C30 column (250.0 mm × 4.6mm,5 μm) with methanol– MTBE gradient elution, UV–vis detector ,wavelength at 445nm for determenation of lutein. Linear ranges of lutein was 0.05 ~ 2.0 μg/mL,the linear equation was:y=379874.03X+14289.56, relevant index R^2=0.9990;the content of milk powder were 50 ~ 500 μg/100g ,the recovery rate were 92.8 ~ 103.5%,and relative standard deviation was 1.2 ~ 3.5,the detectabke value is 5 μg/100g. This method is fast, simple and accurate.

Keywords HPLC; milk powder; l utein; extraction

新闻动态

卫生部：地沟油检测尚无有效手段

2011年10月13日， 距离9月中旬公安部公布破获跨省地沟油大案已有一个月的时间，卫生部新闻发言人邓海华昨日透露，目前征集到的5种地沟油检测方法特异性不强，有关部门将再向社会公开征集方法。 资料显示，从各国情况看，目前，地沟油并无特效的检测技术。

5种方法均分不出地沟油

9月18日，卫生部曾发布消息，正全力组织科研攻关研究鉴别地沟油检验方法。但是，记者昨日了解到，目前，已经征集到7家技术机构研制的5种地沟油检测方法，但在专家论证后，发现这些方法特异性不强。

“特异性不强是指没有很好地分辨出哪些是地沟油，哪些是食用油。”卫生部有关负责人解释说，征集到的方法，尚不能作为地沟油的有效判断手段。

据悉，此次地沟油检验方法论证方案，由卫生部组织科技部、工商总局、质检总局、食品药品监管局、粮食局，以及中国疾控中心等方面共同制定。

邓海华说，除上述机构外，还包括油脂加工、食品安全、卫生检验、化学分析等13名专家组成了检验方法论证专家组，对相关技术机构研发的检验方法进行科学论证。

将继续向社会征集攻关

记者了解到，多部门还研究制定了地沟油检测方法公开征集技术和讨论方案，在5种方法被专家组认为特异性不强后，目前，有关部门还在继续研究论证，并向社会公开征集,协同攻关。

邓海华表示，卫生部将继续组织部门专家，并准备向社会继续征集，找到地沟油的检测方法。他还希望群众积极举报涉地沟油的违法行为。

■ 背景

地沟油无检测标准

目前国内尚未有检测地沟油的统一标准。现行的国家强制性标准《食用植物油卫生标准》（2716—2005）中，关于食用油的理化指标检测包括酸价、过氧化值、浸出油溶剂残留、游离酚（棉籽油）、总砷、铅、黄曲霉毒素、苯并芘、农药残留共9项指标，分别对植物原油和植物食用油进行不同的标准检测。

但是植物原油、植物食用油均不是地沟油。而专家称，标准里这9项基本的食用油检测指标，即使是地沟油炼出来的油也都可能合格，根本无法针对地沟油去进行辨别性检测。

■ 分析

“北京的检测方法也行不通”

专家称北京食品安全监控中心的检测指标难识别地沟油

昨日，卫生部新闻发言人邓海华透露，此次对地沟油检测方法的认定，专家们采用了专业化的“双盲”实验。“双盲”实验经常被用在新药的效果实验中。中国疾控中心有关人士向记者解释，在此次验证过程中，一组是食用油，另一组是

转至 P42

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net