

乳粉中维生素 K₁ 高效液相色谱 测定方法的改进

赵建国¹, 耿 聪², 齐懿鸣³

- (1. 农业部乳制品质量监督检验测试中心, 黑龙江 哈尔滨 150078;
2. 黑龙江省北大荒商贸集团有限责任公司, 黑龙江 哈尔滨 150036;
3. 完达山乳业股份有限公司, 黑龙江 密山 158307)

摘要: 通过改进流动相和样品处理方法, 确定了最佳的流动相比, 缩短了分析时间($R_t=11$ min 左右), 降低了检出限(0.02 $\mu\text{g}/100\text{g}$), 维生素 K₁ 的最小检出浓度达到 0.20 $\mu\text{g}/100\text{g}$.

关键词: 维生素 K₁; 高效液相色谱; 奶粉

中图分类号: O657.2

文献标识码: B

文章编号: 1006-3757(2005)04-0311-03

关于食品和乳品中维生素 K₁ 的测定方法在国家标准^[1,2]中已经有规定, 但较复杂, 保留时间长(约 55 min), 样品干扰峰分不开, 检出限高(大于 10 $\mu\text{g}/100\text{g}$)。而本方法操作简便, 改进了流动相(己腈+甲醇+异丙醇=20+65+15)和样品处理, 保留时间小于 11 min, 检出限(0.20 $\mu\text{g}/100\text{g}$)较低, 并且有较宽的线性范围(1~1 000 $\mu\text{g}/100\text{g}$), 适合乳粉样品中维生素 K₁ (一般在 20 $\mu\text{g}/100\text{g}$) 的检测。

1 实验部分

1.1 标准

维生素 K₁ (标准物质, sigma 公司) 标准溶液: 6.5 mg/mL (用流动相定容), 维生素 K₁ 标准工作液: 65 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (用流动相定容)。

1.2 试剂

己腈、甲醇(色谱纯), 异丙醇(分析纯), Taka-淀粉酶(1.68 U/g, sigma 公司), 脂酶(1140 U/mg, 加拿大 rugosa 公司), 磷酸缓冲溶液(pH=7.4, 与脂酶一致), 氯化钠(分析纯, 天津海光公司)饱和溶液。

1.3 仪器

液相色谱仪二极管阵列检测器(Series200, 波长范围: 190~700 nm,) 紫外-可见光检测器(Series

200, 190~360 nm), 四元泵, 柱温箱, 自动进样器, 以上仪器均为美国 Perkin Elmer 公司生产。

旋转蒸发器(RE52-98, 上海亚荣生化仪器厂), 高速离心机(HERMLE, Z-323, 德国), C18 色谱柱(Diamonsil, 5 μm , 250 mm \times 4.6 mm, 迪马公司, 流速: 1.0 mL/min, 波长: 270 nm, 进样量: 10 μL , 温度: 40 $^{\circ}\text{C}$, 流动相: 己腈+甲醇+异丙醇=20+65+15。

1.4 测试步骤

1.4.1 样品处理

精密称取乳粉^[3,4] 10 g, 首先按照参考文献[2]中 5.1-5.2.7 步骤进行, 之后再加入正己烷 1.0 mL 于 10 mL 的试管中, 在冰箱中冷冻 2 h, 取出后, 吸上清液 0.4 mL, 用氮气吹干, 再用异丙醇 1.0 mL 定容。在超声波震荡器上震荡约 5 min, 于离心机上离心 5 min (转速 5 000 r/min)。

1.4.2 样品测定

把标准工作液和待测样品液分别加入样品瓶中, 设定进样体积为 10 μL , 进样测定, 运行时间 35 min。

1.4.3 计算公式^[2]

样品中维生素 K₁ 的含量($\mu\text{g}/100\text{g}$)。

$$S \times C_0 \times 100 \times 2.5 / S_0$$

式中: S 为样品溶液的峰面积, S₀ 为标准溶液的峰

收稿日期: 2005-07-20; 修订日期: 2005-09-10。

作者简介: 赵建国(1964—), 工程师, 主要从事粮油、食品和乳品的分析和研究。

面积, C_0 为标准工作液的浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$.

2 结果及讨论

2.1 谱图分析

谱图见图 1~3 所示. 图 2 为含有维生素 K_1 的

样品的谱图, 其保留时间为 11.02 min. 图 3 为原国标^[2]方法中维生素 K_1 标样的谱图, 维生素 K_1 的保留时间为 55 min, 从以上 3 个谱图的分析可以得出结论, 分析方法改进后, 维生素 K_1 的保留时间减少了近 40 min.

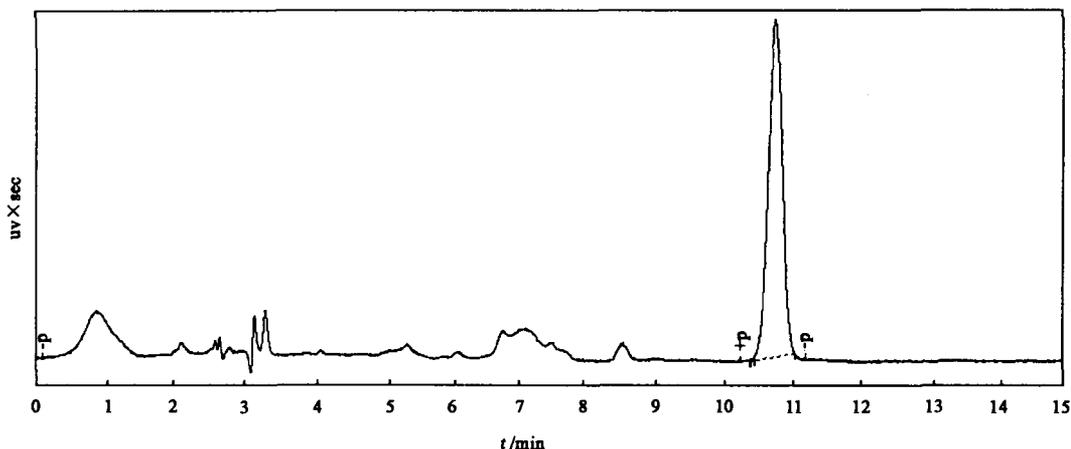


图 1 维生素 K_1 标准样品的色谱图 ($R_t=10.82$ min)

Fig. 1 Chromatogram of standard sample of vitamin K_1 ($R_t=10.82$ min)

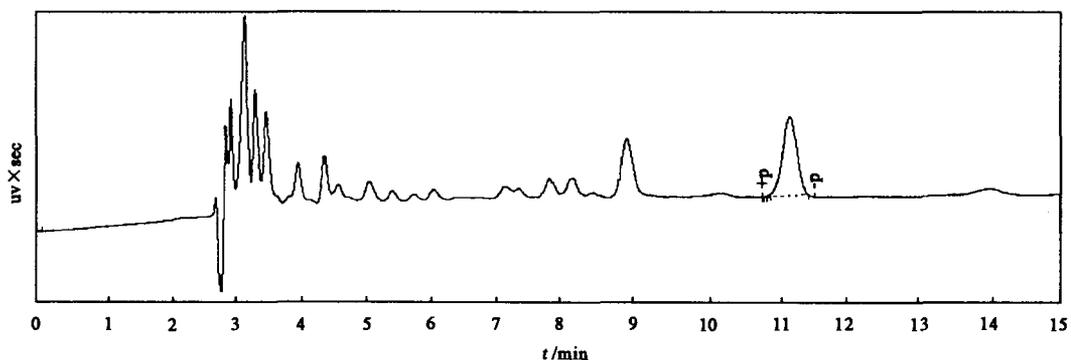


图 2 维生素 K_1 样品的色谱图

Fig. 2 Chromatogram of sample of vitamin K_1

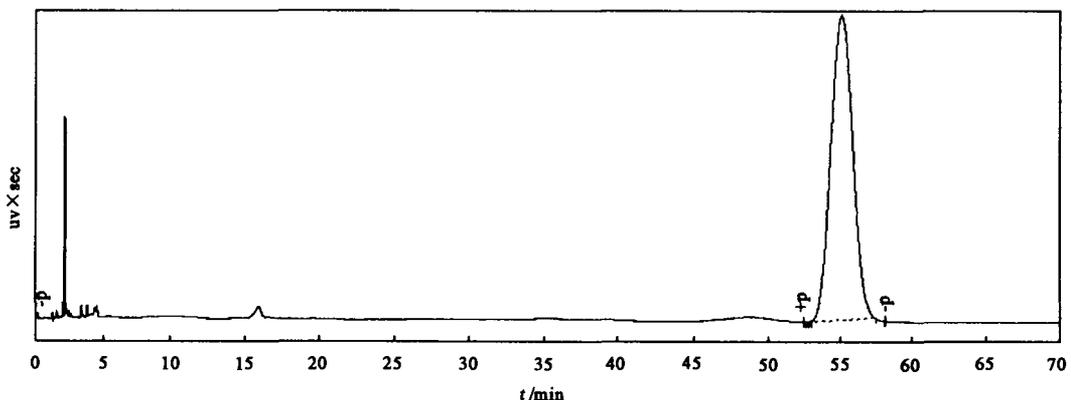


图 3 原国标方法中维生素 K_1 标样的色谱图 ($R_t=55$ min)

Fig. 3 Chromatogram of standard sample of vitamin K_1 in the original national standard method

2.2 加标回收率

本实验共对4个样品进行了加标回收率测定,回收率结果在93.3%~106.0%之间.见表1.

表1 回收率的测定结果

Table 1 Determination results of recovery

样品名称	样重/ μg	加标量/ μg	测定结果/ μg	回收率/%
1段奶粉	10 109 000	615.00	609.00	99.0
1段奶粉	10 055 300	615.00	574.00	93.3
2段奶粉	10 055 900	308.00	294.00	94.5
2段奶粉	10 216 600	308.00	326.00	106.0

2.3 标准曲线

标准曲线的线性回归方程是: $A = -4421 + 2898113C$.

2.4 方法的检出限和最小检出浓度

噪音面积极限的平均值(10次测定)是59,按照2倍的峰面积噪音极限来计算,以进样20 μL 计,则仪器的最小检出浓度为0.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$. 该分析方法的检出限为0.02 $\mu\text{g}/100\text{g}$,最小检出浓度为0.20 $\mu\text{g}/100\text{g}$.

2.7 方法的线性范围

通过试验确定,得到样品含量范围在1~1 000

$\mu\text{g}/100\text{g}$ 之间时,仍呈线性关系.

3 结论

该方法作为乳粉中维生素 K₁ 的检测方法,通过改进流动相组成和配比,具有较好的检出限和较宽的线性范围,方法稳定、适用.该方法比国标中的方法的检出限提高两个数量级以上,并且明显的改进了分离效果(原来方法的干扰组分的峰分不开,并且检出限也达不到),该方法的加标回收率在93.3%~106.0%之间,保留时间也比国标中的方法大大的缩短了(原方法为55 min,现在约为11 min).经过多次实验验证,该方法稳定、可行,能够比原国标方法更好地满足乳粉中维生素 K₁ 的检测要求.

参考文献:

- [1] 王竹,王光亚. 国家标准[R]. GB/T5009.158-2003.
- [2] 杨金宝,王芸,王心祥. 国家标准[R]. GB/T5413.10-1997.
- [3] 王世林. 高效液相色谱方法及应用[M]. 北京:化学工业出版社,2001.
- [4] 沈力钧. 食品分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,2002.

Determination of Vitamin K₁ in Milk Powder by HPLC

ZHAO Jian-guo¹, GENG Chong², QI Yi-ming³

(1. Milk Determination and Test Center of Agricultural Department, Harbin 150078, China;

2. Heilongjiang Province Beidahuang Trade and Business CO LTD, Harbin 150036, China;

3. Wonder Sun Milk and Stock Company, Mishan 158307, China)

Abstract: A new method to analyse and test vitamin K₁ in milk powder was reported, it not only saves testing time (the remain time is about 11 min, the old method is about 55 min), but also reduces the limits of determination (0.02 $\mu\text{g}/100\text{g}$), and neighborhood peaks can be separated completely. The mobile phase is composed of acetonitrile + methylalcohol + *iso*-propyl-alcohol = 20 + 65 + 15. The method is fit for the determination of vitamin K₁ in the milk powder.

Key words: vitamin K₁; HPLC; milk powder

Classifying number: O657.2