

高效液相色谱法测定食品中叶黄素含量

LC-401

摘要：本文参照 GB 5009.248-2016《食品安全国家标准 食品中叶黄素的测定》，建立了食品中叶黄素含量测定的方法。结果表明：叶黄素在 0.05~5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的范围内，线性关系良好，所得校准曲线相关系数在 0.9999 以上，各校准点准确度在 94.5%~102.4% 之间。叶黄素保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05% 和 1.40% 以内，加标回收率在 106.9%~118.4% 之间。

关键词：高效液相色谱法 食品 叶黄素

技术特点：

- ❖ 与 GB 5009.248-2016《食品安全国家标准 食品中叶黄素的测定》相比，线性范围更宽。
- ❖ 灵敏度高，进样体积 10 μL 即可满足定量要求。

叶黄素，别名植物黄体素，属于类胡萝卜素一种，是存在于人眼视网膜黄斑区的主要色素。人类等哺乳动物不能自行合成叶黄素，因此外来食物是叶黄素唯一的摄入来源，在蔬菜、水果、花卉等植物中广泛存在。叶黄素其吸收光谱含有近蓝紫光，能够帮助眼睛的视网膜抵御紫外线，因而对于眼睛来说，叶黄素是一种重要的抗氧化剂。为了促进婴幼儿的视力发育，使其顺利形成对色彩的敏感感触，叶黄素常作为添加剂被

添加到婴幼儿配方奶粉中。

关于叶黄素的检测方法常用的有高效液相色谱法和紫外-可见分光光度法。本文采用岛津高效液相色谱仪，参照 GB 5009.248-2016《食品安全国家标准 食品中叶黄素的测定》，对食品中的叶黄素进行测定，本方法灵敏度高、重现性好，可为食品行业相关人员提供参考。

实验部分

1.1 仪器

岛津高效液相色谱仪。配置信息如下：

系统控制器：	CBM-40	输液泵：	LC-40D XR
自动进样器：	SIL-40C XR	柱温箱：	CTO-40C
检测器：	SPD-40V	工作站：	LabSolutions Ver. 5.101

1.2 分析条件

色谱柱：	SHIMSEN VD C30 (250 mm×4.6 mm I.D., 3 μm)， 岛津（上海）实验器材有限公司，P/N: 380-01000-01		
流动相：	A 相 - 甲基叔丁基醚（含 0.1%BHT） B 相 - 甲醇（含 0.1%BHT）		
波长：	445 nm	进样量：	10 μL
流速：	0.8 mL/min	柱温：	30°C
洗脱方式：	梯度洗脱，B 相初始浓度为 100%，洗脱程序见表 1		

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
18.00	Pumps	B.Conc	10
18.10	Pumps	B.Conc	100
30.00	Controller	Stop	

1.3 标准工作溶液的制备

参照 GB 5009.248-2016《食品安全国家标准 食品中叶黄素的测定》，采用乙醇（含 0.1%BHT）将叶黄素标准品先后溶解、稀释，配制成浓度为 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准工作溶液。

■ 样品前处理

样品前处理参照 GB 5009.248-2016《食品安全国家标准 食品中叶黄素的测定》。

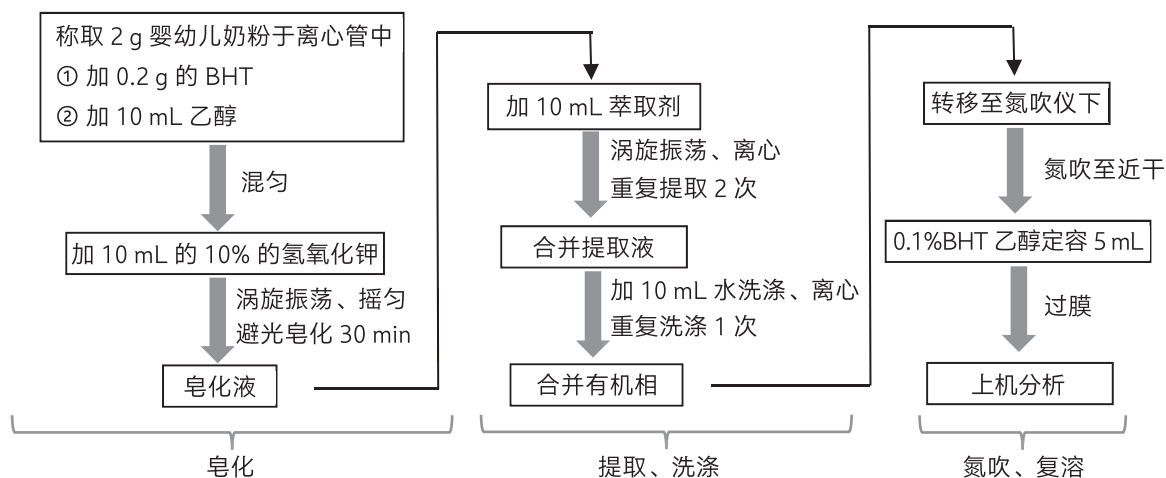


图 1 婴幼儿配方奶粉样品提取流程图

■ 结果与讨论

3.1 色谱图

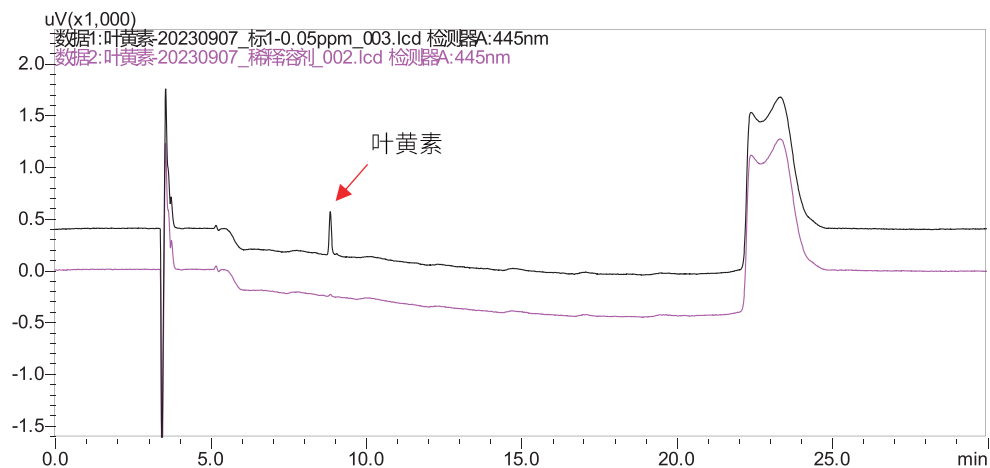


图 2 空白稀释溶剂与标准溶液（0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）色谱图

3.2 校准曲线、检出限及定量限

将“1.3 标准工作溶液”按“1.2 分析条件”进行测定。以目标物峰面积为纵坐标，对应的浓度为横坐标，绘制校准曲线，如图 3 所示。所得校准曲线相关系数大于 0.9999，准确度在 94.5%~102.4% 之间，Labsolutions 软件依据信噪比自动计算检出限 (S/N=3) 及定量限 (S/N=10)。线性方程、检出限及定量限结果见表 2。

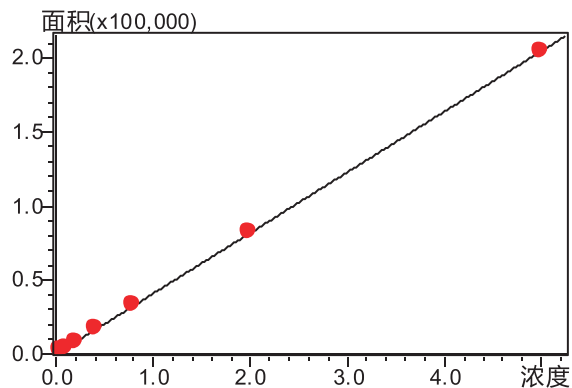


图 3 校准曲线

表 2 线性方程、检出限及定量限

目标物	校准曲线	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	相关系数 R	准确度 %	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)	定量限 ($\mu\text{g/mL}$)
叶黄素	$Y = 40879.9X + 232.038$	0.05~5.0	0.9999	94.5~102.4	0.006	0.02

3.3 精密度结果

分别采用 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 和 2.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作溶液连续测定 6 次，考察仪器的精密度。结果如表 3 所示，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05% 和 1.40% 以内，显示仪器精密度良好。

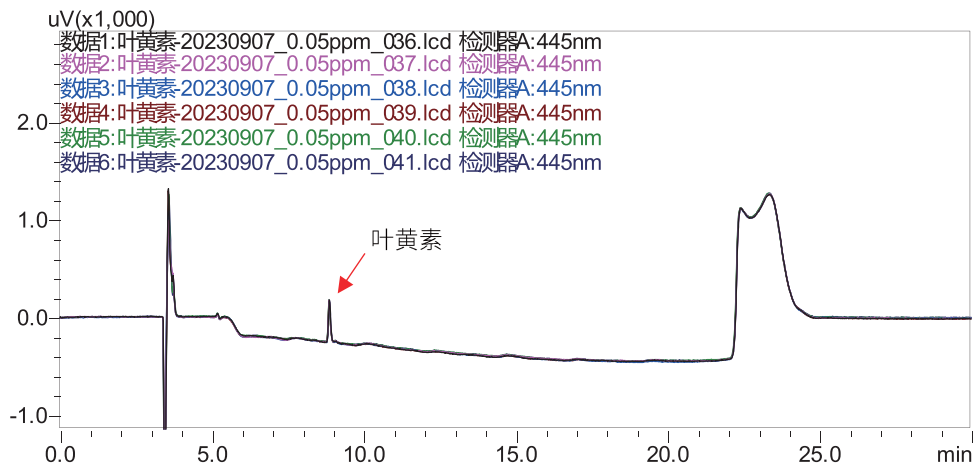


图 4 标准溶液 (0.05 $\mu\text{g/mL}$) 重复性色谱图

表 3 精密度结果 (n=6)

目标物	理论浓度 (µg/mL)	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
叶黄素	0.05	0.05	1.40
	2.0	0.05	0.22

3.4 样品测定结果

取某品牌婴幼儿配方奶粉样品 2 g, 每批次 6 样品, 按照“2. 样品前处理”方法处理及“1.2 分析条件”进行测定, 样品中叶黄素检出量低于定量下限。

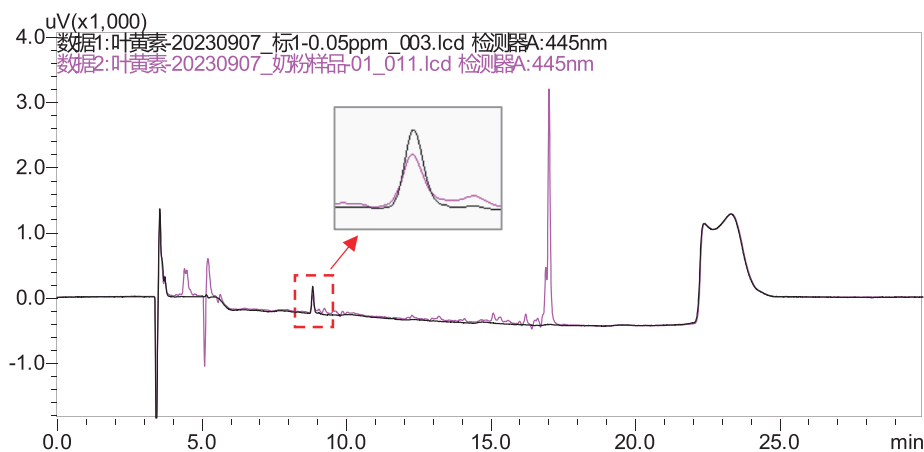


图 5 样品色谱图

3.5 加标回收率

准确称取某品牌婴幼儿配方奶粉样品 2 g, 向样品中加入低、中和高三个浓度的叶黄素标准溶液, 按照“2. 样品前处理”方法处理后上机分析, 加标回收率结果见表 4。结果显示: 不同加标浓度下, 叶黄素的加标回收率在 106.9%~118.4% 之间。

表 4 加标回收率结果 (n=6)

目标物	样品本底浓度 (mg/kg)	添加浓度 (mg/kg)	实测浓度 (mg/kg)	平均回收率 (%)	RSD (%)
叶黄素	<LLOQ*	0.25	0.39	118.4	0.36
		1.00	1.16	106.9	0.55
		5.00	5.75	113.2	0.32

注: *<LLOQ 表示检出, 但低于定量下限。

■ 结论

本应用采用岛津高效液相色谱仪, 参照 GB 5009.248-2016《食品安全国家标准 食品中叶黄素的测定》, 建立了食品中叶黄素含量测定的方法, 本方法灵敏度较高、重现性较好, 可为食品行业相关人员提供参考。

岛津应用云

