

采用中心切割法快速分析食品中的维生素 A、四种维生素 E 异构体及微量维生素 D

作者

周洁、李浪、杨新磊、
余彦海、肖尧
安捷伦科技（中国）有限公司

前言

有关维生素 A、D、E 的新国家标准^[1]方法从 2017 年 6 月 23 日起实施，覆盖了婴幼儿食品、乳品、肉与肉制品、食用植物油、坚果、豆类和辣椒粉等多种食品基质，用于检测其中所含的维生素 A (V_A)、维生素 D (V_D) 和四种维生素 E (V_E) 异构体的含量。其中， V_D 由于本身含量低、基质干扰严重，该国家标准方法采用液质联用或半制备正相净化的方式对其进行分离检测。但液质联用方法复杂，维护成本相对较高；而正相净化方法易受流动相等条件影响，从而造成结果不准确。

本方法参照现有的文献方法^[2-3]，基于二维液相色谱技术，成功建立了食品中 V_A 、四种 V_E 异构体及微量 V_D 的中心切割快速分析方法。此方法第一维对 V_A 和四种 V_E 进行分析，并对 V_D 进行初步净化；第二维对 V_D 进行进一步分离，整个分析过程只需一次进样即可完成样品中 V_A 、四种 V_E 及微量 V_D 的测定。该方法不仅可以节省大量的样品前处理时间，同时可避免正相体系不稳定而导致的 V_D 含量检测不准确现象的发生。并且所得结果准确、重现性好，可以用于多种食品基质中脂溶性维生素的常规快速检测。

V_A、V_D、V_E 分析

该实验方法采用中心切割的二维液相方法^[3]对食品中 V_A、V_D 及 V_E 进行分析，该分析过程包含三个阶段：第一阶段为进样/检测 V_A，此时阀的位置为 1-2；第二阶段为净化/捕获 V_D，此时阀的位置为 1-6；第三阶段为第一维继续检测四种 V_E，第二维检测 V_D，此时阀的位置为 1-2，见图 1。（具体信息请参阅安捷伦应用简报 5991-5194CHCN）

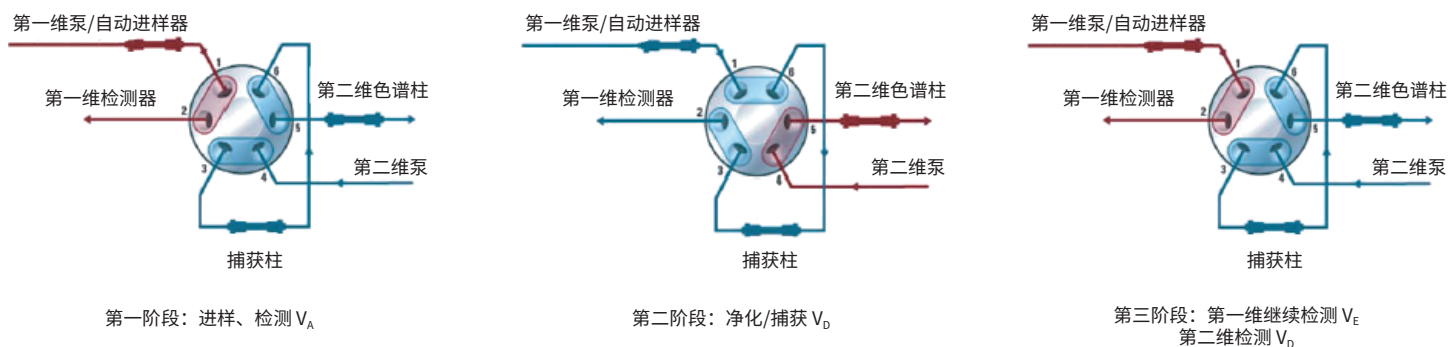


图 1. 中心切割法同时分析 V_A、V_D 与四种 V_E 的阀切换示意图

表 1. 仪器配置与方法设置

	第一维	第二维																								
仪器配置	Agilent 1260 Infinity II 四元泵, 部件号 G7111B Agilent 1260 Infinity II 自动进样器, 部件号 G7129A Agilent 1260 Infinity II 柱温箱, 部件号 G7116A, 内置 2 位-6 通阀 Agilent 1260 Infinity II 紫外检测器, 部件号 G7114B	Agilent 1260 Infinity II 二元泵, 部件号 G7112B Agilent 1260 Infinity II 二极管阵列检测器, 部件号 7117C, 配 60 mm 超高灵敏度流通池																								
流动相	A: H ₂ O; B: MeOH	A: ACN; B: MeOH																								
梯度	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0.0</td><td>80</td></tr> <tr><td>9.0</td><td>100</td></tr> <tr><td>10.0</td><td>100</td></tr> <tr><td>11.0</td><td>80</td></tr> <tr><td>15.0</td><td>80</td></tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B (%)	0.0	80	9.0	100	10.0	100	11.0	80	15.0	80	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0.0</td><td>0</td></tr> <tr><td>4.5</td><td>0</td></tr> <tr><td>4.6</td><td>30</td></tr> <tr><td>9.0</td><td>30</td></tr> <tr><td>9.1</td><td>0</td></tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B (%)	0.0	0	4.5	0	4.6	30	9.0	30	9.1	0
时间 (min)	B (%)																									
0.0	80																									
9.0	100																									
10.0	100																									
11.0	80																									
15.0	80																									
时间 (min)	B (%)																									
0.0	0																									
4.5	0																									
4.6	30																									
9.0	30																									
9.1	0																									
流速	1 mL/min	0.3 mL/min																								
分析柱	Agilent Poroshell 120 PFP, 4.6 × 100 mm, 2.7 μm	Agilent Zorbax Eclipse PAH, 2.1 × 100 mm, 3.5 μm																								
捕获柱	Agilent Poroshell 120 EC C18, 4.6 × 5 mm, 4 μm																									
进样量	10 μL																									
柱温	35 °C																									
检测波长	0-4 min: 325 nm (4 nm, 参比波长关闭) 4-15 min: 294 nm (4 nm, 参比波长关闭), 20 Hz	264 nm (4 nm, 参比波长 360 nm, 100 nm), 20 Hz																								
阀位置	0-5.3 min: 位置 1-2 (第一阶段) 5.3-5.5 min: 位置 1-6 (第二阶段) 5.5-15 min: 位置 1-2 (第三阶段)																									

参考文献

1. GB 5009.82-2016. 食品中维生素 A、D、E 的测定.
2. Lang Li, Xing Zhanlei. Online SPE method on determination of vitamin A, D, E in milk powder simultaneously [R]. 2nd Dalian International Symposium and Exhibition on Chromatography and Related Techniques. 2011: 444
3. 杨新磊, 余彦海, 李浪, 肖尧. 中心切割法快速分析婴幼儿配方奶粉中的维生素 A、维生素 E 及微量维生素 D. 5991-5194CHCN

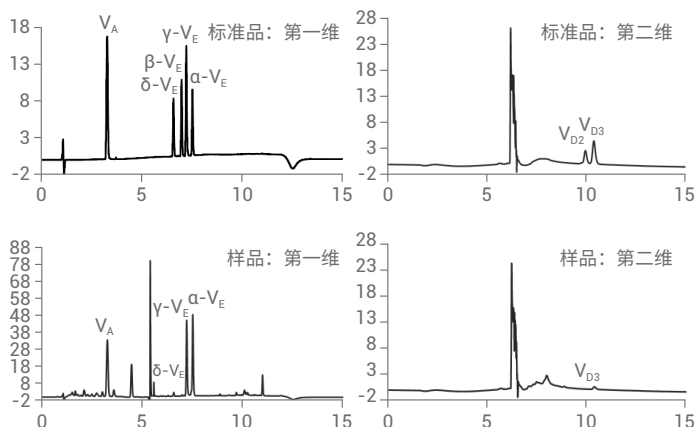


图2. 标准品及样品色谱图 (标样 V_A 浓度为 $1 \mu\text{g/mL}$, V_E 浓度为 $10 \mu\text{g/mL}$, V_D 浓度为 $0.1 \mu\text{g/mL}$)

由该色谱图表明, 一维色谱柱可获得 V_A 、四种 V_E 异构体以及杂质的良好分离, 第二维可获得 2 种 V_D 与杂质的良好分离, 同时 V_D 检测灵敏度良好。

在实际样品中, V_A 和 V_E 含量较高, V_D 含量较低且测定时存在物质干扰, 因此本文主要针对 V_A 、 V_D 和 V_E 进行线性考察, 并对 V_D 进行定量限考察。本方法中, V_A 与 4 种 V_E 为一组混合标准样品, 2 种 V_D 为一组混合标准样品。 V_A 在 $0.1\text{--}10 \mu\text{g/mL}$ 内线性相关系数为 0.9999, V_D 在 $0.05\text{--}1 \mu\text{g/mL}$ 内线性相关系数为 0.9997, V_E 在 $1\text{--}100 \mu\text{g/mL}$ 内线性相关系数为 0.9996。实验测得 V_D 在浓度为 $0.025 \mu\text{g/mL}$ 时, 信噪比 $S/N = 49$, 按 $S/N = 3$ 计算得到 V_D 检测限为 1.5 ng/mL , 当取样量为 10 g 时, 换算为奶粉样品中 V_{D3} 的含量为 $0.15 \mu\text{g}/100 \text{ g}$, 按 $S/N = 10$ 计算, V_D 定量限为 5 ng/mL , 当取样量为 10 g 时, 换算为奶粉样品中 V_{D3} 的含量为 $0.5 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ 。该方法不仅可满足国家标准^[1]中液相方法 $50.0 \mu\text{g/L}$ 最低标曲浓度点的检测要求, 还能满足质谱方法中 $10.0 \mu\text{g/L}$ 最低标曲浓度点的检测要求。

利用二维液相色谱的技术不仅避免了 V_D 正相净化的繁琐步骤, 提高了结果的准确性, 同时可实现新的食品国标^[1]中四种 V_E 异构体的良好分离。因此, 该方法是快速分析食品基质中脂溶性维生素的有效手段。

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2018
2018年5月15日，中国出版
5991-9381ZHCN

