

# 采用在线 SPE-中心切割液相色谱法对食品中的维生素 A、D、E 进行测定

## 作者

陈刚, 杨新磊, 周洁, 李浪  
安捷伦科技(中国)有限公司

## 前言

有关食品中维生素 A、D、E 分析的新国家标准方法<sup>[1]</sup>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。但是该标准方法中规定的样品前处理过程极其复杂、测定方法多样(同一成分有不同的检测方法)、检测周期长、目标化合物回收率低且重复性差, 极大降低了分析效率。为解决该国标方法所存在的难点和不足, 需要开发一种同时测定维生素 A、D、E 的稳定高效的二维液相色谱方法。

本方法参照现有的文献方法<sup>[2-4]</sup>, 基于二维液相色谱并串联在线固相萃取(online SPE)技术, 成功建立了食品中维生素 A ( $V_A$ )、维生素 D ( $V_D$ ) 及三种维生素 E ( $V_E$ ) 异构体的中心切割快速分析方法。此方法将前处理皂化液直接进样, 省去了液液萃取等复杂的前处理过程。第一维液相色谱对  $V_A$  和  $V_E$  进行分析, 同时对  $V_D$  进行初步净化; 第二维液相色谱对  $V_D$  进一步分离, 整个分析过程只需一次进样, 即可完成样品中  $V_A$ 、 $V_D$  和  $V_E$  的测定。该方法不仅可以节省大量的样品前处理时间, 同时可以避免复杂的样品前处理过程导致的回收率不稳定现象。实验结果准确、重现性好, 表明该方法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

$V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  分析方法包含四个阶段: 第一阶段为进样/SPE 净化, 此时阀 1 的位置为 1-6, 阀 2 的位置为 1-6; 第二阶段为 SPE 洗脱/检测  $V_A$ , 此时阀 1 (左阀) 的位置为 1-2, 阀 2 (右阀) 的位置为 1-6; 第三阶段为捕获  $V_D$ , 第二维检测  $V_D$ , 此时阀 1 的位置为 1-6, 阀 2 的位置为 1-2; 在第四阶段, 第一维液相色谱继续检测  $V_E$ , 第二维液相色谱检测  $V_D$ , 此时阀 1 的位置为 1-6, 阀 2 的位置为 1-6。四个阶段阀切换示意图见图 1。

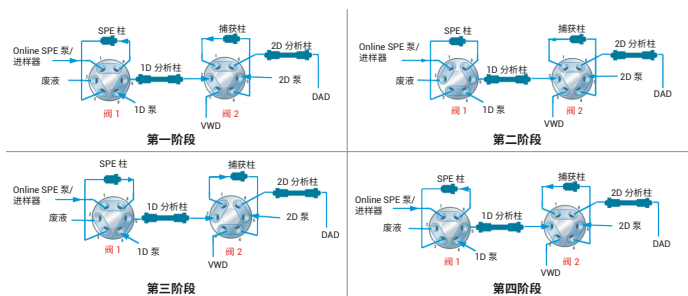


图 1. 在线 SPE-二维液相法分析  $V_A$ 、 $V_D$  与三种  $V_E$  的阀切换示意图

表 1. 仪器配置与方法设置

	SPE 泵	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 柱温箱, 部件号 G7116A, 内置 2 位 6 通阀 Agilent 1260 Infinity II 自动进样器, 部件号 G7129A	Agilent 1260 Infinity II 四元泵, 部件号 G7111B 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, 配备 60 mm 超高灵敏度流通池																																												
流动相	A: 乙醇:水 = 4:6; B: 乙腈:异丙醇 = 1:1	A: 水; B: 乙腈	A: 乙腈; B: 甲醇																																												
梯度	<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>4.0</td><td>0</td></tr> <tr><td>4.1</td><td>100</td></tr> <tr><td>11.</td><td>100</td></tr> <tr><td>11.1</td><td>0</td></tr> <tr><td>22.0</td><td>0</td></tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B%	0.0	0	4.0	0	4.1	100	11.	100	11.1	0	22.0	0	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0.0</td><td>50</td></tr> <tr><td>2.0</td><td>80</td></tr> <tr><td>6.0</td><td>80</td></tr> <tr><td>16.0</td><td>100</td></tr> <tr><td>19.0</td><td>100</td></tr> <tr><td>19.1</td><td>50</td></tr> <tr><td>22.0</td><td>50</td></tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B%	0.0	50	2.0	80	6.0	80	16.0	100	19.0	100	19.1	50	22.0	50	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>B%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0.0</td><td>100</td></tr> <tr><td>5.0</td><td>100</td></tr> <tr><td>5.1</td><td>10</td></tr> <tr><td>20.0</td><td>10</td></tr> <tr><td>20.1</td><td>100</td></tr> <tr><td>22.0</td><td>100</td></tr> </tbody> </table>	时间 (min)	B%	0.0	100	5.0	100	5.1	10	20.0	10	20.1	100	22.0	100
时间 (min)	B%																																														
0.0	0																																														
4.0	0																																														
4.1	100																																														
11.	100																																														
11.1	0																																														
22.0	0																																														
时间 (min)	B%																																														
0.0	50																																														
2.0	80																																														
6.0	80																																														
16.0	100																																														
19.0	100																																														
19.1	50																																														
22.0	50																																														
时间 (min)	B%																																														
0.0	100																																														
5.0	100																																														
5.1	10																																														
20.0	10																																														
20.1	100																																														
22.0	100																																														
流速	0-11 min: 1 mL/min 11.1-20 min: 0.2 mL/min 20.1-22 min: 1 mL/min	1.5 mL/min	0.4 mL/min																																												
分析柱	PLRP-S, 4.6 × 12.5 mm, 15-20 μm	Poroshell 120 EC-C8, 4.6 × 100 mm, 4 μm	Zorbax Eclipse Plus PAH, 2.1 × 100 mm, 3.5 μm																																												
捕获柱	Poroshell 120 EC-C18, 4.6 × 5 mm, 4 μm																																														
进样量	100 μL																																														
柱温	35 °C																																														
检测波长	0-10 min: 325 nm; 10-13 min: 264 nm; 13-22 min: 294 nm 采集频率: 20 Hz		264 nm 采集频率: 2.5 Hz																																												
阀位置	阀 1: 0-4 min (位置 1-6); 4-6 min (位置 1-2); 6-22 min (位置 1-6) 阀 2: 0-12.1 min (位置 1-6); 12.1-12.6 min (位置 1-2); 12.6-22.0 min (位置 1-6) 阀 2 具体阀切换时间以实验中 VD 出峰时间为准																																														

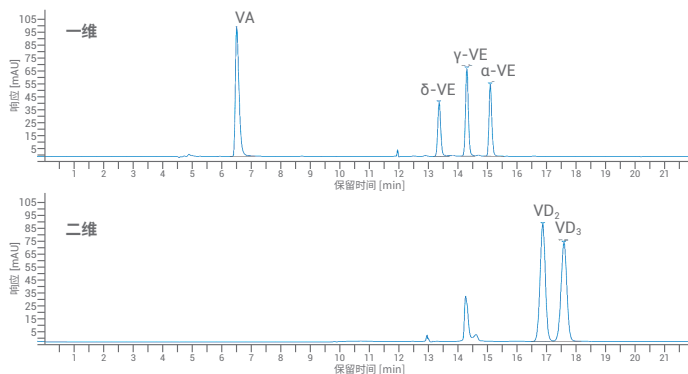


图 2.  $V_A/V_E$  和  $V_D$  标准品色谱图

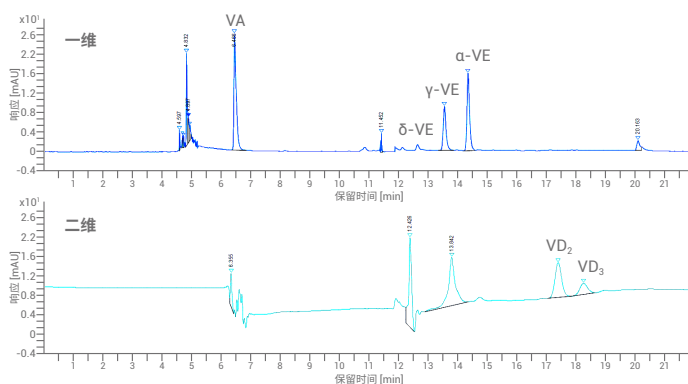


图 3.  $V_A/V_E$  和  $V_D$  奶粉样品色谱图

图 2 所示的标准品色谱图表明: 在第一维色谱柱上,  $V_A$ 、 $V_E$  异构体以及杂质得到了良好分离; 在第二维色谱柱上, 两种  $V_D$  与杂质得到了良好分离, 同时  $V_D$  检测灵敏度良好。图 3 所示的奶粉样品色谱图表明: 样品中  $V_D$  检测灵敏度良好, 同时样品中杂质产生的干扰较小。

对标准品的线性范围进行考察, 结果发现  $V_A$ 、 $V_D$  和  $V_E$  分别在 0.006-1.2 μg/mL、1-200 ng/mL 和 0.06-12 μg/mL 的浓度范围内表现出良好的线性关系, 线性系数均大于 0.9995。

连续 6 次标准品进样, 对方法重现性进行考察, 结果如图 4 所示。从中可以看出, 所有目标分析物的峰面积与保留时间相对标准偏差 (RSD) 均小于 0.5%, 表明该方法具有良好的重现性。

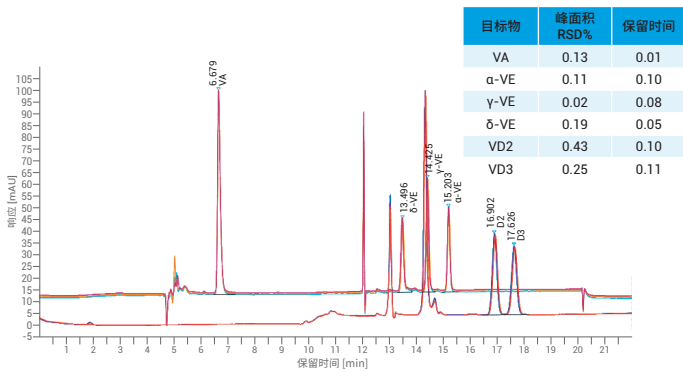


图 4.  $V_A/V_E$  和  $V_D$  标准品连续进样 6 次色谱图

实验结果表明，新的维生素检测方法具有以下优势：

- 样品分析通量大幅提高。皂化液直接进样方法与国标方法相比，样品前处理时间由原来的 2-3 小时缩短为 30 分钟左右，分析通量提高 5 倍以上
- 省去了前处理提取步骤，溶剂使用量大大减少，降低了实验成本，也避免有机试剂对实验人员造成危害。阀切换方法代替繁琐的净化、浓缩等过程，自动化程度大幅提高
- 按照国标方法的检测低限浓度，考察方法的灵敏度，分析图谱表明所有物质在最低限均有良好响应

## 参考文献

1. GB 5009.82-2016. 食品安全国家标准 食品中维生素 A、D、E 的测定
2. Lang Li, Zhanlei Xing. Online SPE method on determination of vitamin A, D, E in milk powder simultaneously. 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
4. 周洁, 李浪, 杨新磊, 余彦海, 肖尧. 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. 5991-9381ZHCN

查找当地的安捷伦客户中心:

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价:

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)



微信搜一搜

安捷伦视界

[www.agilent.com](http://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, 2019  
2019年10月21日, 中国出版  
5994-1498ZHCN

