

婴幼儿食品中8种脂溶性维生素的定量分析

Quantitation of 8 Fat Soluble Vitamins in Formula Infant Milk

Triple Quad™液相色谱-三重四极杆/线性离子阱质谱

叶儿翠 朱怀恩

SCIEX Sciex Labs, 中国

关键词：高效液相色谱-串联质谱、脂溶性维生素、同位素稀释、维生素A、维生素D、维生素E、维生素K

Key Words: Liquid chromatography-mass spectrometry; Fat-soluble vitamin; Isotope dilution; Vitamin A; Vitamin E; Vitamin K; Vitamin D

前言

维生素 A(Retinol)、D(Vitamin D2 和 Vitamin D3)、E(Tocopherol)、K1(Phytomenadione) 是机体维持正常代谢和机能的所必需的一类脂溶性维生素，尤其是婴幼儿食品所必需的营养元素。GB10675-2010 中规定了各维生素的含量区间及相关分析方法，准确测定维生素含量对控制食品营养和安全有重要意义。

各维生素化学性质及乳粉中含量的差异使得所有维生素同时提取和分析极具挑战性。GB 5009.82-2016 及 GB5009.158-2016 方法测定维生素 A、D、E、K，需要一套液相、一套 LC-MS/MS 系统及两位熟练的操作人员才能完成。本文使用 SCIEX QTRAP® 4500 液相色谱质谱联用系统，成功建立了仅使用一套检测系统就能完成脂溶性维生素检测的定量方法。

方法特点：

1. 样品处理参考GB 5009.82-2016及GB5009.158-2016方法，简化了实验操作，无需固相萃取或二维液相，提高了分析效率，降低了检测成本。
2. 实现一个系统完成脂溶性维生素A、D、E、K快速分析，成功分离维生素E同分异构体，节省了样品分析时间。



图1. 乳粉中维生素A、D、E、K的样品前处理流程。

相比于需要大体积皂化和液液萃取等溶剂消耗大、操作繁琐的国标方法，本方法简化了实验操作，仅需一个 15 mL 离心管，即可完成皂化(或酶解)及提取过程。尤其是对于维生素D的检测，由表1可知，采用国标方法，平均每日仅能处理约10个样品。而本法能实现维生素D与维生素A、E同时测定，无需再进行一步硅胶固相萃取或二维液相，每日至少可处理50个样品。同时在检测成本上，耗材成本可节约约70%，人力成本可节约约80%。

表1. 维生素D的分析时间比较。

步骤	时间 /min	
	GB5009.82-2016	本法
样品提取	皂化	30
	提取	30
样品净化	活化平衡	10
	过柱上样	20
	淋洗	10
	洗脱	10
	氮吹、定容	20
样品制备总时间	130	
上机分析	20	

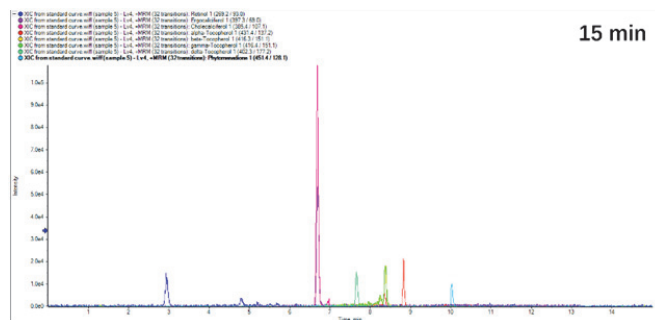


图2. 15 min内8种脂溶性维生素的色谱图。

根据国标 GB5009.82-2016 及 GB5009.158-2016 方法, 实现脂溶性维生素 A、D、E、K 的测定需要一套液相, 一套 LC-MS/MS 系统及两位熟练的操作人员完成。不仅分析成本高, 对工作人员技术水平要求也较高。本方法成功实现了仅用一套检测系统就能分析脂溶性维生素。并且可以在 15min 内成功分离了几种生育酚 (维生素 E) 的同分异构体, 从而简化了脂溶性维生素分析。

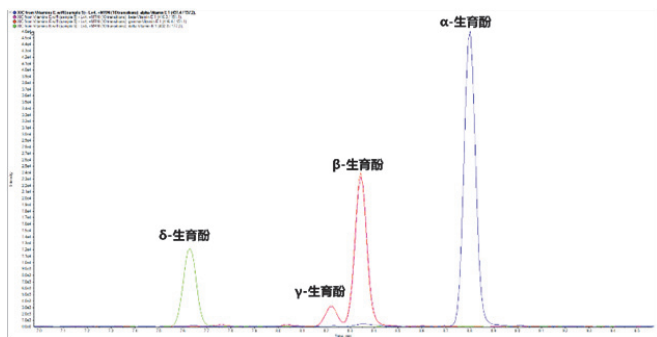


图3. 维生素E同分异构体的色谱分离图。

3. 同位素稀释技术保证定量结果稳定可靠。

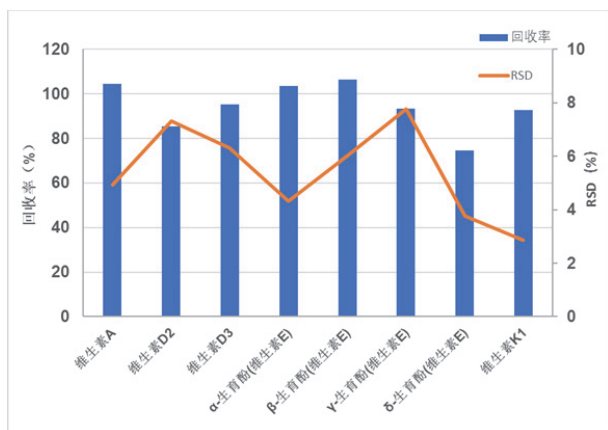


图4. 8种脂溶性维生素的加标回收率数据。

由于维生素 A、D、E、K 稳定性较差, 易受到光照、温度等环境因素的影响, 在整个实验的前处理过程中, 应注意避光操作, 并尽可能缩短前处理的时间, 处理完毕后立即上机分析。本方法使用同位素内标进行定量, 可校正前处理过程的损失, 降低基质效应的影响, 提高定量的准确性。图 4 为乳粉中的加标回收率及 RSD 值结果, 以维生素 D3 为例, 加标水平为 5、10 $\mu\text{g}/100\text{g}$, 其平均加标回收率为 95.32%, 低水平重复实验 6 次, 其 RSD 值为 6.32%。可见该方法具有良好的准确性和稳定性。

4. 方法灵敏度高, 线性范围广, 满足日常实验室脂溶性维生素的检测需求。

4.1 满足 GB1075-2010 检测要求。

表 2 为 vMethod 方法测定婴幼儿食品中维生素 A、D、E、K 的线性范围、线性关系及灵敏度考察结果。

图3. 8种脂溶性维生素的线性范围、相关系数及灵敏度。

序号	名称	CAS 号	线性范围 (ng/mL)	r	LOQ ($\mu\text{g}/100\text{g}$)
1	维生素 A	68-26-8	2~2000	0.99986	1
2	维生素 D2	50-14-6	2~2000	0.99978	1
3	维生素 D3	67-97-0	2~2000	0.99979	1
4	α -生育酚 (维生素 E)	10191-41-0	2~2000	0.99962	20
5	β -生育酚 (维生素 E)	148-03-8	2~100	0.99769	20
6	γ -生育酚 (维生素 E)	54-28-4	2~100	0.99572	20
7	δ -生育酚 (维生素 E)	119-13-1	2~100	0.99596	20
8	维生素 K1	84-80-0	2~2000	0.99942	1

4.2 本方法比国标方法的灵敏度更高。

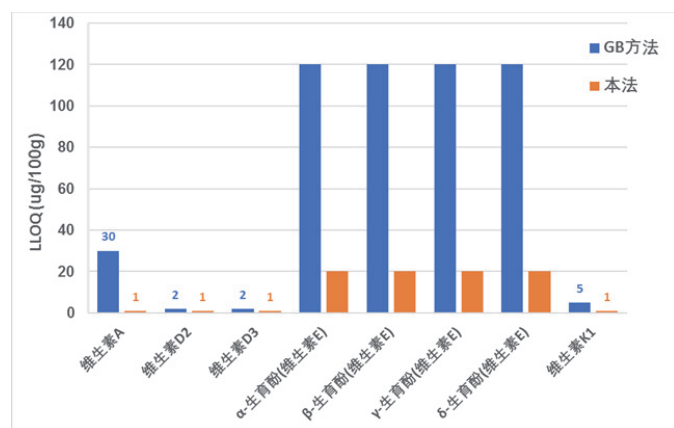


图4. 本法与国标方法的灵敏度比较。

4.3 某市售的奶粉中脂溶性维生素检测值, 与标签值无显著差异, 可应用于日常样品的分析检测。

表3. 某市售奶粉中脂溶性维生素的实测值。

序号	名称	检测值 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	
		乳粉 1	乳粉 2
1	维生素 A	392.5	359
2	维生素 D3	6.9	6.3
3	维生素 E(α -生育酚)	13652	12560
4	维生素 K1	56	49

结论

本文建立了一套测定婴幼儿食品中脂溶性维生素的定量方法，该方法简化了国标方法的处理步骤，结合同位素稀释技术，成功实现仅用一套检测系统就能完成维生素 A、D、E、K 快速分析。定量结果准确可靠，节省了人力、物力，可用于实验室日常样品的分析检测。

Answers for Science. Knowledge for Life.™

AB Sciex is doing business as SCIEX.

© 2018 AB Sciex. For research use only. Not for use in diagnostic procedures. The trademarks mentioned herein are the property of the AB Sciex Pte. Ltd. or their respective owners. AB SCIEX™ is being used under license.

RUO-MKT-02-8602-ZH-A



SCIEX中国公司

北京分公司

地址：北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层

电话：010-5808 1388

传真：010-5808 1390

全国免费垂询电话：800 820 3488, 400 821 3897

上海公司及亚太区应用支持中心

地址：上海市长宁区福泉北路518号
1座502室

电话：021-2419 7200

传真：021-2419 7333

网址：www.sciex.com.cn

广州分公司

地址：广州市天河区珠江江西路15号
珠江城1907室

电话：020-8510 0200

传真：020-3876 0835

微博：@SCIEX