

婴幼儿配方奶粉中维生素A、D、E的含量测定 在线固相萃取-二维高效液相色谱法

——参考《T/SHFCA 002-2024 特殊医学用途配方食品中维生素A、D、E的测定 在线固相萃取-二维液相色谱法》

背景

维生素是婴幼儿配方奶粉中的必需营养成分，对婴儿生长发育至关重要。依据国家标准《GB 10765-2021 食品安全国家标准 婴幼儿配方食品》和《GB 10766-2021 食品安全国家标准 较大婴儿配方食品》等的规定，婴幼儿配方奶粉中必须添加14种维生素，其中包括脂溶性维生素A、D、E。维生素A具有支持视力发育和免疫系统完善（如预防夜盲症）的功效；维生素D可促进钙吸收，强化骨骼发育；维生素E又名生育酚，是 α 、 β 、 γ 和 δ -生育酚以及 α 、 β 、 γ 和 δ -生育三烯酚等脂溶性维生素的总称，具有抗氧化作用，可保护细胞免受损伤。

本报告参考《T/SHFCA 002-2024 特殊医学用途配方食品中维生素A、D、E的测定 在线固相萃取-二维液相色谱法》，采用在线固相萃取方法，使用悟空K2025二维液相色谱系统，同时测定婴幼儿配方奶粉中维生素A、D、E的含量。该方法摒弃了复杂的样品前处理步骤，在保证分析结果准确性的前提下，显著优化了样品分析流程，大幅提升了样品分析效率。

实验原理

试样经皂化后，皂化液经离心、过滤后注入二维液相色谱系统；试样通过在线固相萃取柱浓缩净化后，经一维色谱柱分离维生素A和维生素E（ α 、 β 、 γ 和 δ -生育酚）；再通过中心切割，维生素D经阀切换、捕集后由二维色谱柱分离为维生素D₂和D₃。通过保留时间定性，外标法定量。

仪器配置与色谱条件



图1 悟空K2025二维液相色谱系统

(续上表)

SPE泵		一维泵		二维泵
柱温	35℃			
切换阀	时间（min）	A阀状态	B阀状态	
	0.0	6-1, 2-3, 4-5	6-1, 2-3, 4-5	
	4.6	1-2, 3-4, 5-6	6-1, 2-3, 4-5	
	7.2	6-1, 2-3, 4-5	6-1, 2-3, 4-5	
	17.5	6-1, 2-3, 4-5	1-2, 3-4, 5-6	
	19.0	6-1, 2-3, 4-5	6-1, 2-3, 4-5	
检测波长	/	时间（min）	波长（nm）	264nm
		0.0~19.0	325	
		19.0~35.0	294	

实验结果

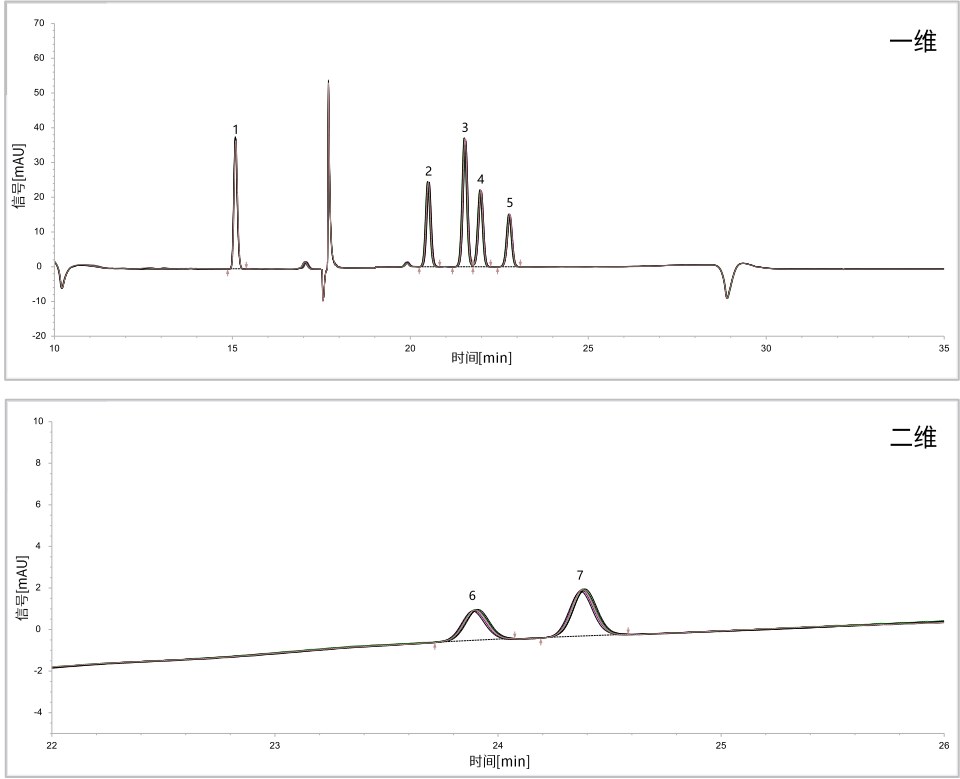


表2 混合标准溶液测试数据

No.	目标物	分离度
1	VA	-
2	δ-VE	26.73
3	β-VE	4.36
4	γ-VE	1.76
5	α-VE	3.18
6	VD2	-
7	VD3	2.35

表3 混合标准溶液连续进样6针重复性数据

目标物	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
VA	0.03	0.53
δ-VE	0.09	0.25
β-VE	0.09	0.49
γ-VE	0.08	0.41
α-VE	0.07	0.72
VD ₂	0.03	0.50
VD ₃	0.04	0.48

图3 混合标准溶液连续进样6针叠加色谱图
注: 1: VA; 2: δ-VE; 3: β-VE; 4: γ-VE; 5: α-VE; 6: VD₂; 7: VD₃

对V_A、V_D、V_E混合标准溶液进行测试及重复性考察(图4)，三种维生素均具有极佳的峰形；如表2所示，β-VE和γ-VE的分离度为1.76，VD₂和VD₃的分离度为2.35，均可实现良好分离。如表3所示，三种维生素保留时间RSD均小于0.09%，峰面积的RSD均小于0.72%，具有良好的定性定量重复性。

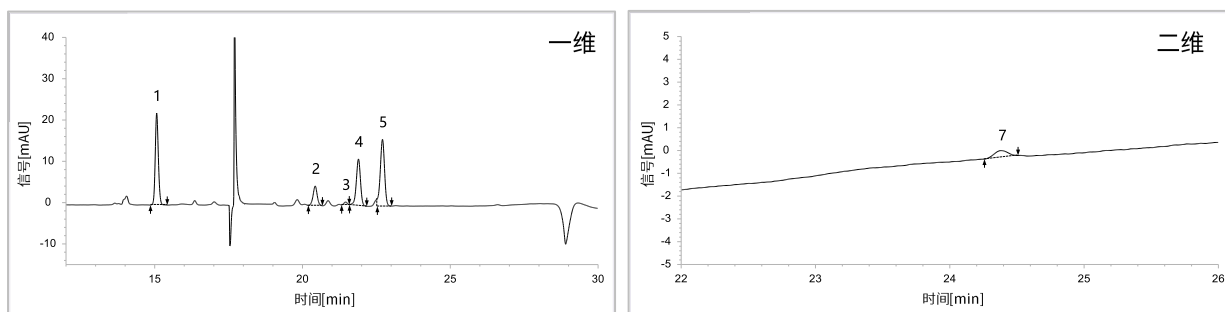


图4 婴幼儿配方奶粉样品一维和二维色谱图

注: 1: VA; 2: δ -VE; 3: β -VE; 4: γ -VE; 5: α -VE; 6: VD2; 7: VD3

标准品的 V_A 、 V_D 、 V_E 在其线性浓度范围内均呈现良好的线性关系，相关系数 R 均 >0.9999 。

婴幼儿配方奶粉试样中 V_A 、 V_D 、 V_E 的含量范围为 $0.0 \text{ mg}/100\text{g}$ ~ $10 \text{ mg}/100\text{g}$ ；两次独立测定结果的相对偏差范围为 -0.85% ~ 4.58% ，满足《T/SHFCA 002-2024 特殊医学用途配方食品中维生素A、D、E的测定 在线固相萃取-二维液相色谱法》中规定的在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算数平均值的15%的要求；加标回收实验中， V_A 、 V_D 、 V_E 的回收率范围为 98.0% ~ 106.0% 。

方法优势

高效，高通量

本方法通过阀切换实现皂化液直接进样净化，省去传统前处理的提取、净化、浓缩等繁琐步骤，大幅节省前处理时间，显著提升工作效率。

安全，成本低

无需大量使用有机试剂，一方面避免了有毒害试剂对实验人员的健康危害，降低实验操作风险；另一方面有效降低实验成本，符合绿色实验的需求。

自动，性能优

采用阀切换技术，自动化程度大幅提高，减少人工操作误差；同时方法重现性好，且在国标方法规定的检测低限浓度下，所有目标物质（维生素 A、D、E）均有良好响应，具备出色的检测灵敏度，能稳定可靠地完成测定。

注意事项

- 样品前处理过程中，滴加氢氧化钾溶液时需边加边振摇，避免局部过热；整个前处理过程需要尽快完成，避免试样长期暴露在空气中；
- 整个实验过程尽量减少光照，样品须在低温条件下保存；
- V_A 、 V_D 、 V_E 标准储备液配制后，可置于 -20°C 避光保存1个月。

悟空科学仪器（上海）有限公司
400 618 6188
wooking.com
扫码获取更多信息

