

应用纪要

用于食品基质中水溶性维生素分析的快速、 简便的样品净化解决方案

Yi Lin, Tan

Waters Corporation



这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

维生素分析对于维生素强化食品的标示至关重要。这项检测虽然为食品制造商的必做项目，但对他们而言仍是一个大难题；众所周知，食品基质非常复杂，通常包含大量不需要的干扰物。更糟糕的是，不同维生素的化学性质不同，导致样品净化过程更加复杂。本应用简报介绍了一种简单而高效的方法，使用快速直通式固相萃取(SPE)技术净化方便面以分析其中的水溶性维生素。

优势

开发出一种简单高效的一步直通式SPE方案，用于分析方便面样品中的水溶性维生素。

简介

维生素是在维持人类和动物的整体健康和福祉方面具有重要作用的营养成分，可能天然存在于牛奶和水果等食物中，也可以添加到粮食和谷物等强化食品中，摄入不足可能会对健康造成不利影响。由于维生素对整体健康的重要性，食品制造商必须验证其食品的维生素标示量。测定食品中维生素含量的常用技术包括微生物分析和液相色谱法(LC)。这些技术各有利弊，但基于LC的方法具有快速、准确、能够在单次运行中鉴定各种形式维生素的额外优势¹。因此，AOAC或USP关于维生素分析的传统参考方法一直在朝着现代化迈进，以加入基于LC或LC-MS/MS的解决方案^{2,3,4,5,6}。

虽然基于LC或LC-MS/MS的方法非常有用，但在进样前需要进行中等程度的净化以降低样品复杂性，从而提高数据质量、延长色谱柱使用寿命并大幅延长系统正常运行时间。在样品净化方面，SPE技术与蛋白沉淀法和液液萃取法等常用的同类技术相比，可提供更高水平的洁净度。但SPE技术有一个缺点：涉及的方法开发通常比上述技术多。分析方便面中的水溶性维生素时，我们尝试使用一种简单、快速的直通式方案，其采用SPE净化这种富含蛋白质和脂肪的基质。直通式程序可大幅减少方法开发操作，同时仍然提供高效且快速的样品净化。Oasis PRiME HLB小柱内含吸附剂填料，有助于去除常见的食品基质干扰物质（例如脂肪和磷脂）。

结果与讨论

水溶性维生素存在于强化小麦粉中，这是方便面的主要成分。为评估Oasis PRiME HLB小柱在本应用中的性能，首先应检查不存在基质的情况下使用该小柱获得的维生素回收率。为此，在溶液中制备维生素B1、B3、B6、B12和维生素C标准品，加入甲醇，并使其直接通过Oasis PRiME HLB小柱。根据加标前和加标后的峰响应计算回收率。图1所示色谱图展示了直通式方案结束时洗脱液中存在的维生素。比较加标前和加标后结果，上述水溶性维生素的回收率列于表1中。一般而言，这种采用Oasis PRiME HLB的直通式方案对于测试的大多数水溶性维生素而言都可使回收率高于80%。而维生素C的回收率低于50%，可能是因为它在溶液中的稳定

性较差。

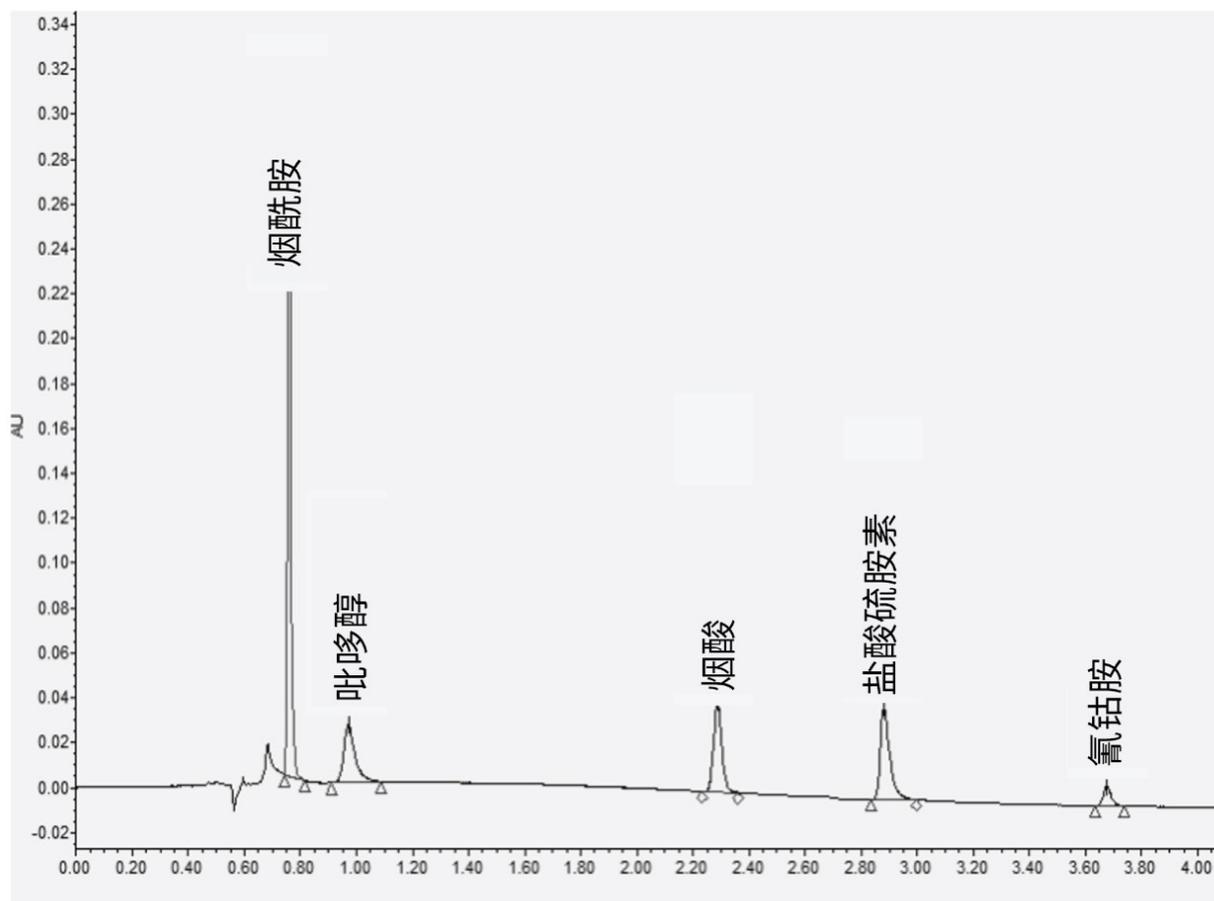


图1.使用Oasis PRiME HLB 3cc, 60 mg (186008056)进行直通式SPE后获得的溶液中水溶性维生素的色谱图。各种维生素在1.7 μ m ACQUITY UPLC BEH Amide色谱柱上通过HILIC色谱法得到分离。得到的峰按保留时间顺序显示：烟酰胺(B3)、吡哆醇(B6)、烟酸(B3)、盐酸硫胺素(B1)、氰钴胺(B12)。

维生素	回收率(%)
烟酰胺	85
吡哆醇	87
烟酸	86
盐酸硫胺素	87
氰钴胺	85

表1.回收率

利用标准品溶液获得良好的回收率后，继续使用相同的直通式SPE方案评估方便面样品中强化维生素的检测。简言之，从均质化方便面中提取维生素，向提取物中加入甲醇，使样品中存在的蛋白质沉淀。在提取步骤中，观察到上清液上方漂浮一层脂肪，这表明油炸方便面基质中存在脂肪。沉淀后，离心悬浮液，移取上清液并全部上样至Oasis PRiME HLB小柱中，以去除脂肪及其他基质干扰物（如图2所示），同时收集洗脱液进行分析。图3展示了空白方便面中维生素B1和B6的检测结果，方便面基质中维生素B1和B6的总回收率高于80%。

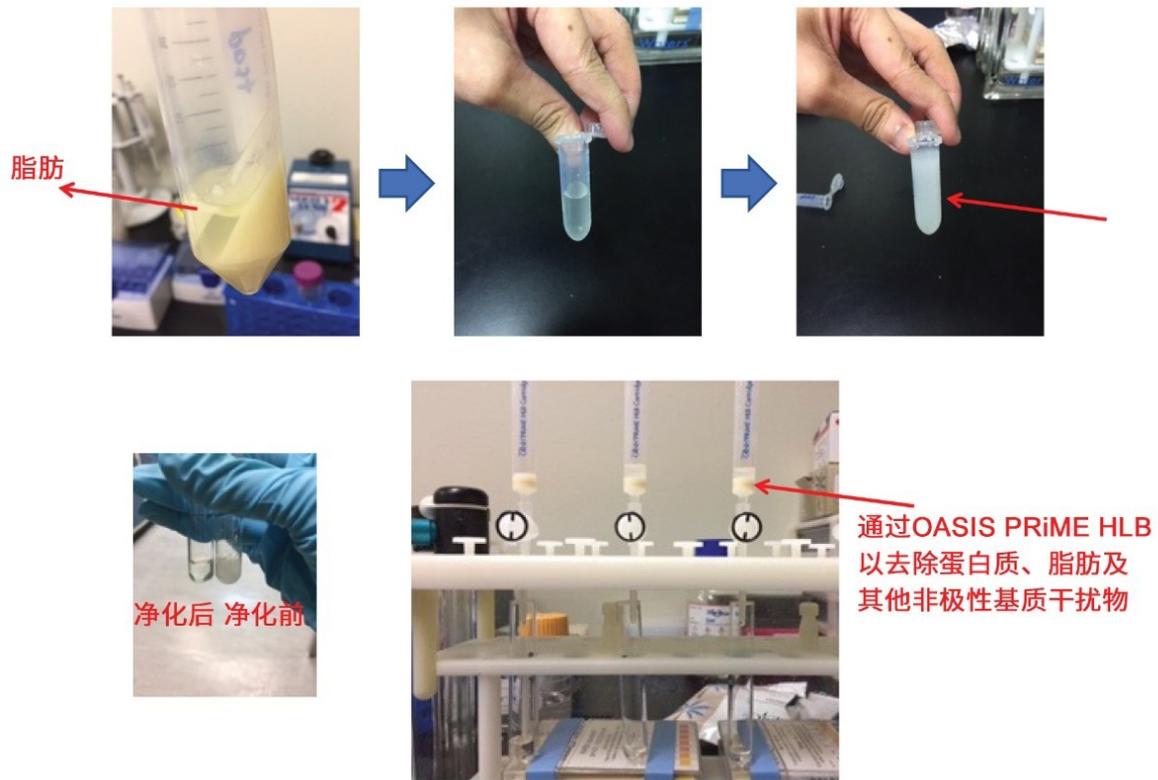
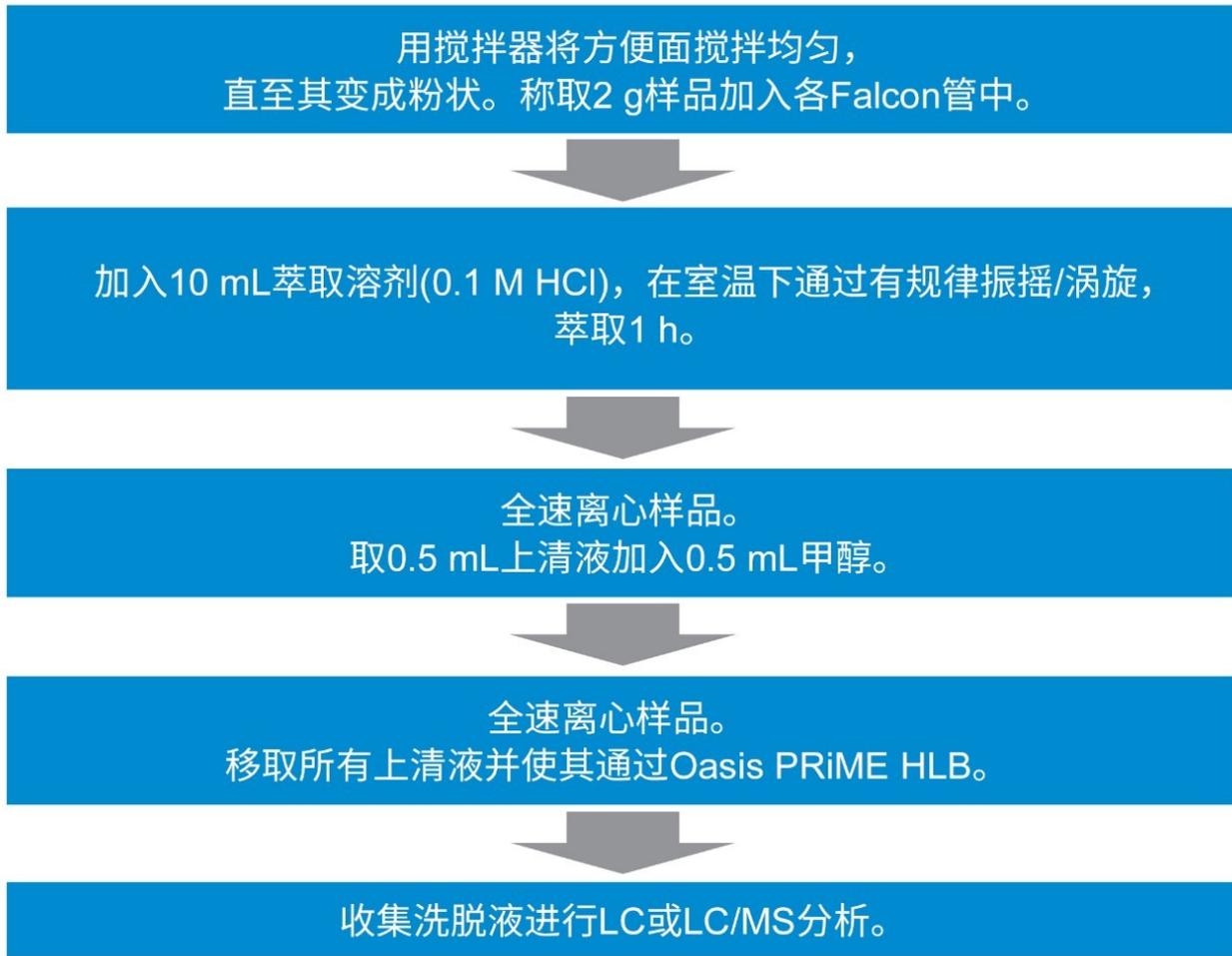


图2.方便面的直通式净化程序。提取均质化方便面样品，向上清液层加入甲醇。将所得悬浮液上样至Oasis PRiME HLB小柱中并收集流出液。SPE净化前后的样品对比见左下图。



样品前处理流程图

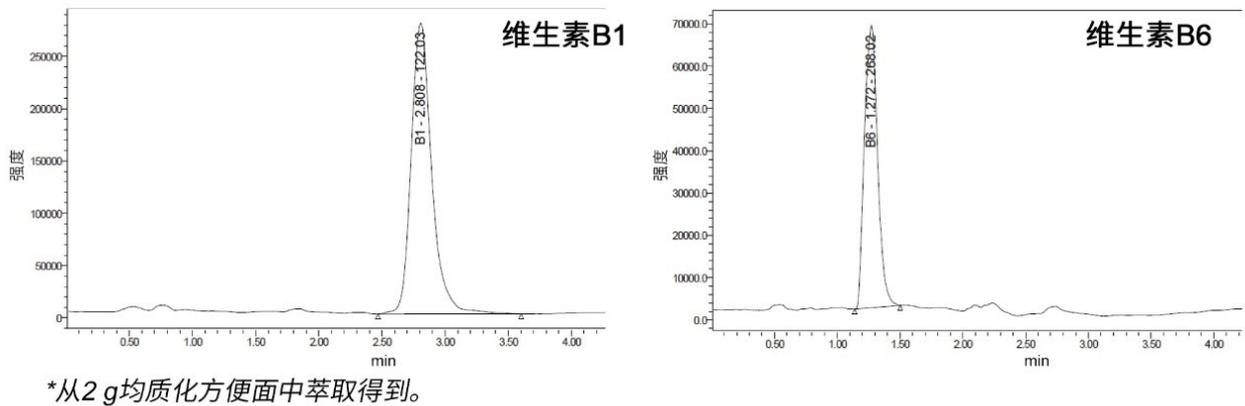


图3.使用所述SPE程序在空白方便面基质中检出维生素B1和B6。利用ACQUITY QDa质谱检测器进行检测。

结论

开发出一种使用Oasis PRiME HLB的简单直通式SPE方法，净化方便面中的水溶性维生素。这一快速简便的方案使一般的B族维生素回收率超过80%。该方案可能适合扩展至其他富含脂肪和蛋白质的基质，因为Oasis PRiME HLB小柱可以很好地去除这些干扰物。

参考资料

1. Eitenmiller, R.R. (1990), Strengths and Weaknesses of Assessing Vitamin Content Of Foods. Journal of Food Quality, 13: 7–20. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.1990.tb00002.x> <
<https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.1990.tb00002.x>> .
2. J AOAC Int. Mar-Apr 2012;95(2):301–6. doi: 10.5740/jaoacint.cs2011_07.
3. J AOAC Int. 2012 Mar-Apr;95(2):322–8. doi: 10.5740/jaoacint.cs2011_15.
4. J AOAC Int. 2012 Mar-Apr;95(2):307–12. doi: 10.5740/jaoacint.cs2011_08.
5. J AOAC Int. 2016 Jan-Feb;99(1):15–8. doi: 10.5740/jaoacint.15-0250. Epub 2016 Jan 27.
6. J AOAC Int. 2016 Jan-Feb;99(1):19–25. doi: 10.5740/jaoacint.15-0245.

特色产品

ACQUITY UPLC系统 <<https://www.waters.com/514207>>

ACQUITY QDa质谱检测器 <<https://www.waters.com/134761404>>

Empower色谱数据系统 <<https://www.waters.com/10190669>>

720007273ZH, 2021年6月

