

# 进口保健食品中维生素检测方法现状及展望

杨大进 方从容 王竹天 蒋定国 马 兰

(中国疾控中心营养与食品安全所,北京 100021)

**摘要:**为介绍目前我国进口保健食品中维生素分析方法现状,归纳总结了维生素 A、维生素 D、维生素 E、胡萝卜素等脂溶性维生素,维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub>、维生素 B<sub>6</sub>、烟酸、烟酰胺、生物素、泛酸、维生素 B<sub>12</sub>、叶酸、维生素 C 等水溶性维生素,肉碱、辅酶 Q10、肌醇等类维生素在进口保健食品中的常用分析方法,对目前存在的问题和今后的分析发展方向提出了建议。通过对上述方法进行总结,为今后的维生素分析提供参考。

**关键词:**营养保健品;维生素类;化学;分析

## Methods for determination of vitamins in import health foods—the current situation and prospect

Yang Dajin, et al.

(National Institute for Nutrition and Food Safety, China CDC, Beijing 100021)

**Abstract:** To introduce the present detective methods of vitamins in import health foods, the health foods were compared with general domestic foods and vitamin pills about components and level of vitamins. The popular analyzing methods for import health foods were summarized. Some advice was given to overcome the difficulties in analysis and the developing trend of present methods was discussed. This summary may offer some reference in the use of detective methods for the analysis of vitamins.

**Key Words:** Dietary Supplement; Vitamins; Chemistry, Analytical

自保健食品审批制度实施以来,大量进口保健食品进入我国。由于保健食品是具有调节机体功能,不以治疗疾病为目的的食品,因此作为对人体机能具有重要辅助调节作用的维生素成为了保健食品重要组成,约占保健食品总数的 40% 左右,对其质量进行控制的检验方法也是保健食品功效成分研究的重点和难点,现将几年来检测方法研究的现状和经验教训进行阶段性总结,供相关研究人员参考使用。

### 1 保健食品与普通食品和药品中维生素的比较

保健食品、普通食品和药品中维生素及分析方法的比较见表 1 和表 2。从两表中可知保健食品是介于药品和普通食品之间的一类产品,兼有两者的特点,分析方法应综合考虑产品特点,以达到快速简便的目的。

### 2 保健食品中添加的维生素的分类

保健食品中添加的维生素按美国营养百科全书

表 1 保健食品与普通食品和药品中维生素的比较

	普通食品	保健食品	药品
基质	复杂	较简单	简单
维生素含量	低	较高	高
维生素形式	天然维生素,多种结构形式共存。	基本属于添加的合成维生素,结构形式单一。	基本属于添加的合成维生素,结构形式单一。

表 2 普通食品和药品中维生素分析方法的比较

	普通食品	药品
前处理方法	试样通常需要皂化、高压水解,某些特殊的反应等,达到富集、净化的目的。	基本不需要提取净化等前处理手段。
分析方法	荧光分光光度法、高效液相色谱—荧光检测法,有些难以进行化学分析。	多数可直接滴定、紫外光谱比色或高效液相色谱—紫外检测分析。

分为脂溶性维生素、水溶性维生素、类维生素 3 类。<sup>[1]</sup>其中脂溶性维生素有:维生素 A、维生素 D、维生素 E、胡萝卜素和维生素 K。保健食品中添加的水溶性维生素主要有:维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>2</sub>、维生素

基金项目:卫生部保健食品专项基金课题(BJ-01-20)。

作者简介:杨大进 男 副研究员

This work was supported by the Special Funds for Health Food of Ministry of Health, China. (BJ-01-20)

B<sub>6</sub>、烟酸、烟酰胺、生物素、泛酸、维生素 B<sub>12</sub>、叶酸、维生素 C。类维生素主要有：肉碱、辅酶 Q<sub>10</sub>、肌醇等。

### 3 脂溶性维生素分析

鉴于脂溶性维生素的特点和样品基质情况,试样一般需要在皂化,经有机溶剂提取后测定。<sup>[2]</sup>

维生素 A 保健食品中一般添加视黄醇醋酸酯、视黄醇棕榈酸酯中两者之一或两种均添加。

通常情况下成分复杂的试样需采用皂化反应后测定其中的视黄醇。<sup>[2]</sup>成分相对简单的片剂和胶囊试样可采用异丙醇、己烷等溶剂提取,直接测定视黄醇醋酸酯和视黄醇棕榈酸酯。奶粉等产品使用胰酶和蛋白酶处理,己烷等溶剂提取后测定视黄醇醋酸酯或视黄醇棕榈酸酯。

由于视黄醇不稳定,前处理过程中容易被氧化,采用内标法才能保证结果的准确,但视黄醇醋酸酯和视黄醇棕榈酸酯相对稳定,采用外标法就能够保证分析结果。

维生素 E 一般情况下在保健食品中添加的是 - 维生素 E。

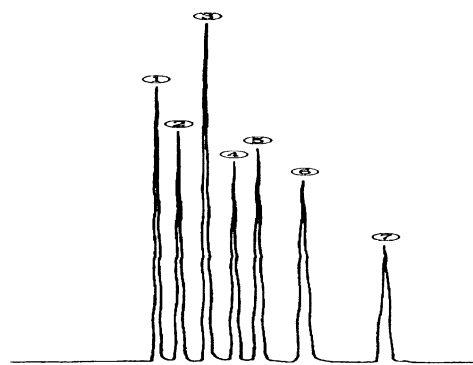
角鲨烯等成分简单的试样可用溶剂提取后直接测定。多数试样需要在皂化反应后测定其中的维生素 E。<sup>[2]</sup>

鉴于天然维生素 E 有 - 、 - 、 - 、 - 4 种形式,在反相色谱柱上 - 和 - 无法分离,因此要同时分析维生素 E 的 4 种结构并包括内标物,可参照表 3 中正相色谱柱及色谱条件。

其中内标物与 - 维生素 E 结构极其相似,只

表 3 天然维生素 E 分析参考条件

色谱柱	流动相	检测器
Nucleosil -NH <sub>2</sub> 4.6 mm ×250 mm, 5 μm	正己烷 + 二氯甲烷 = 85 + 15	紫外检测器, 295 nm
Zorbax SIL 4.6 mm ×250 mm, 5 μm	正己烷 + 二氯甲烷 + 异丙醇 = 98.5 + 10 + 5	紫外检测器, 295 nm
Lichrosorb -NH <sub>2</sub> 4.0 mm ×250 mm, 5 μm	正己烷 + 异丙醇 = 99 + 1	紫外检测器, 295 nm
YMC - PAC A - 600 (NH <sub>2</sub> ), 3 μm	正己烷 + 异丙醇 = 98 + 2	荧光检测器, Ex: 290 nm Em: 325 nm



1: - 生育酚; 2: - 三烯生育酚甘油醚; 3: 内标物; 4: - 生育酚;  
5: - 生育酚; 6: - 三烯生育酚甘油醚; 7: - 生育酚

图 1 天然维生素 E 色谱图  
(色谱条件为表 3 中第一项)

是 2 个 2 位取代基均为甲基。

维生素 D 通常在保健食品中添加的是维生素 D<sub>2</sub> 或者维生素 D<sub>3</sub>。

成分简单的钙 + 维生素 D 的试样可以采用溶剂提取、浓缩后测定,成分复杂的试样需要在皂化、提取后测定。<sup>[2]</sup>目前维生素 D 的分析尚不如维生素 A 和维生素 E 成熟,主要原因是维生素 D 含量低,不稳定,试样处理过程损失多,此外试样中维生素 E 要高出维生素 D 数百倍,且在一般色谱条件下与维生素 E 较难分离。目前通常用 250 mm 长的 Zorbax SB - C<sub>18</sub> 色谱柱,乙腈 + 甲醇 + 水 = 25 + 75 + 4 作为流动相,根据试样中维生素 D 的情况,选择维生素

D<sub>2</sub> 和维生素 D<sub>3</sub> 互为内标的方法。

- 胡萝卜素 - 胡萝卜素主要存在植物提取物类保健食品中,分析方法相对成熟。<sup>[3]</sup>

根据目前试样的特点可用二氯甲烷提取,采用不同的波长将维生素 E、番茄红素和 - 胡萝卜素 3 种物质一次性分析。为保证试样组分不被氧化,在分析过程中需要加入 BHT 等抗氧化剂。流动相为甲醇 + 乙腈 = 50 + 50,色谱柱可使用 Supelcosil RP C<sub>18</sub>。

目前初步将其与 - 胡萝卜素一同分析。试样用丙酮进行提取,流动相为甲醇 + 甲基叔丁基醚 + 水 = 310 + 76 + 14,色谱柱使用 Symmetry C<sub>18</sub>,检测波长为 450 nm。

### 4 水溶性维生素分析

目前建立并推广了一套系统分析方法,通过选用离子对高效液相色谱可以解决维生素 B<sub>1</sub>、维生素 B<sub>6</sub>、烟酸、烟酰胺、维生素 C 的分析。生物素、泛酸、叶酸需采用单独的高效液相色谱分析条件。维生素 B<sub>2</sub> 采用荧光分光光度法分析。

维生素 B<sub>1</sub> (盐酸硫胺、硝酸硫胺) 分析维生素 B<sub>1</sub> 可用甲醇 + 水 + 磷酸提取液,流动相为硫酸月桂酸钠溶液 (5 g/530 mL) + 乙腈 + 磷酸 = 530 + 470 + 0.4,盐酸苯海拉明作为内标。<sup>[4]</sup>

维生素 B<sub>1</sub> (呋喃硫胺) 日本药典中特别指出

呋喃硫胺是维生素 B<sub>1</sub> 的活性结构,因此在韩国、日本等国家产品中有所使用。呋喃硫胺与盐酸硫胺、硝酸硫胺的色谱性质有较大区别。因此可使用甲醇 + 水 + 乙酸 + PigB<sub>6</sub> = 450 + 530 + 20 + 20 作为流动相,色谱柱采用  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub>,检测波长为 280 nm。

维生素 B<sub>6</sub> (吡哆醇)、烟酸、烟酰胺 保健食品中维生素 B<sub>6</sub> 使用吡哆醇形式,烟酸极少使用,基本使用烟酰胺。

试样分析同维生素 B<sub>1</sub>,采用甲醇 + 水 + 磷酸作为提取溶液,流动相为 1 - 癸烷磺酸钠溶液 (1.22 g/850 mL) + 乙腈 + 磷酸 = 850 + 150 + 0.4,检测波长 280 nm,利用愈创木酚甘油醚作为内标。该方法对于功能性饮料中添加的咖啡因和苯甲酸也可以同时检测。

维生素 C 除颜色较深、含量较低、天然植物干制品外,一般样品中的维生素 C 均可以采用药典中的碘溶液滴定法进行测定。

如用高效液相色谱法测定维生素 C 可采用 4.4 提供的流动相体系,因维生素 C 保留时间较短,可以将乙腈的比例降低至 5%。提取溶剂尽可能使用水,以避免在维生素 C 色谱峰前出现倒峰影响定量结果的准确性。检测波长为 254 nm。

维生素 B<sub>2</sub> 在保健食品中维生素 B<sub>2</sub> 一般以核黄素磷酸盐的形式存在。

有关维生素 B<sub>2</sub> 的色谱分析方法有报道,但在实际试样分析过程中因其保留时间较短且与其它峰难以较好分离,故多将其转化为光黄素后进行荧光分光光度法分析。<sup>[4]</sup>

泛酸 (维生素 B<sub>3</sub>) 保健食品中添加的泛酸以泛酸钙形式存在。

目前采用液相色谱分析法进行检测,试样用水提取,流动相为 0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液 + 乙腈 = 95 + 5, pH = 3.0。色谱柱使用  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> 4.6 mm  $\times$  300 mm,检测波长 200 nm。

生物素 保健食品中生物素的分析处于初步摸索阶段,目前采用 pH = 3.5, 0.25 mol/L 磷酸盐缓冲溶液 + 甲醇 = 77 + 23 的流动相,检测波长 200 nm。

目前需要解决的问题是保留时间较长,大约在 30 min 左右,此外灵敏度较低。

叶酸 一般使用弱碱性水溶液提取,为保证提取效果可以在 50 °C 水浴中加热 10 min,具体方法可参照药典。<sup>[5]</sup>

实际试样检测中发现,在 280 nm 波长处叶酸的响应明显比通常报道的 254 nm 高许多,因此检测波长选择 280 nm。

通过大量实际试样检测分析,发现在虫草等天

然产物中存在与叶酸色谱保留时间完全一致的物质;此外不少试样中叶酸含量较低,拟采用固相萃取等技术作为前处理手段进行富集净化。

维生素 B<sub>12</sub> 目前保健食品分析中维生素 B<sub>12</sub> 的化学分析还是一个难以逾越的障碍,对于含量较高,组成简单的原料进行高效液相色谱分析技术可行,但对含量较低、成分复杂的多种维生素试样的分析方法目前尚在摸索之中。

虽然维生素 B<sub>12</sub> 有 278、361、550 nm 3 个特征波长,但试样在不经处理的情况下也很难分析。在溶液中钴胺素很容易出现氰钴胺素、甲钴胺素、羟钴胺素等几种形式共存的现象。为避免出现上述问题,需更好地去除样品中的干扰杂质并对试样中的维生素 B<sub>12</sub> 进行富集,目前采用加入表面活性物质、盐析、有机溶剂萃取等方法去除杂质,再通过固相萃取法进行富集、净化。

## 5 类维生素分析

### 方法概况

保健食品中肉碱可参照维生素 B<sub>6</sub>、烟酸、烟酰胺的分析方法,辅酶 Q<sub>10</sub> 采用液相色谱分析方法,肌醇采用气相色谱分析方法。

肉碱 (维生素 B<sub>T</sub>) 目前在保健食品检测中使用高效液相色谱法代替繁杂的分光光度法检测肉碱,使测定简单。利用高效液相色谱法测定肉碱同样可以使用测定维生素 B<sub>6</sub> (吡哆醇)、烟酸、烟酰胺的流动相体系。肉碱色谱保留时间虽比维生素 C 长但仍相对较短,因此流动相可以同维生素 C 一样。提取溶剂尽可能使用水或 pH = 5 ~ 6 的水,以避免在肉碱色谱峰前面出现倒峰影响定量结果的准确,检测波长 210 nm。

辅酶 Q<sub>10</sub> 辅酶 Q<sub>10</sub> 的检测采用液相色谱分析法。试样中辅酶 Q<sub>10</sub> 使用正己烷作为提取溶剂,色谱柱可用 TSK Gel - C<sub>18</sub>,流动相为乙腈 + 四氢呋喃 + 水 = 55 + 40 + 4,检测波长 280 nm。

肌醇 肌醇的检测现建立了一套衍生化—气相色谱分析法,具体方法可参考相关文献。<sup>[6]</sup>

## 6 保健食品中维生素检测方法需要解决的问题及今后的发展方向

试样前处理技术 不少油性胶囊样品中加入了水溶性维生素或水溶性维生素经处理成为脂溶性,需要解决提取、净化问题。

对于含量较低,干扰较大的试样需要解决如何应用固相萃取等手段进行富集,以提高检测效果。

目前采用超声 10 min 以上,用含甲醇、乙醇的

提取溶液作为前处理手段检测大量进口样品,尚未遇到微囊化对检测的影响,因此原料微囊化制作的检测问题是否已经解决?有些需要酶解的成分是否也能通过上述前处理手段加以破解还需进一步验证。

**色谱多组分分析技术** 在目前现有的维生素 B 多组分分析技术的基础上,如何能将维生素 B<sub>1</sub> 并入维生素 B<sub>6</sub> 系列之中或创建新的流动相体系,再囊括维生素 B<sub>2</sub> 和叶酸等是今后研究的重要方面。

**分析过程快速化** 在目前大量试样检测的基础上应归纳总结出试样前处理方法指南,确定试样组成和前处理方法之间的关系。

#### 参考文献:

- [1] A H 恩斯明格, M E 恩斯明格, J E 康兰德, 等. 营养素 [A]. 见: 美国《食物与营养百科全书》选辑 (4) [C]. 北

京: 农业出版社, 1991.

- [2] GB 12388—1990. 食物中维生素 A 和维生素 E 的测定方法[S].  
[3] 杨祖英, 李良学. 高压液相色谱法测定食品中 - 胡萝卜素[J]. 食品与发酵工业, 1994, 6: 57—61.  
[4] 王竹天, 杨大进, 方从容. 高效液相色谱法检测 B 族维生素及咖啡因的研究[J]. 中国食品卫生杂志, 1998, 10 (6): 9—11.  
[5] 王永芳, 韩宏伟, 赵馨, 等. 光黄素荧光法测定保健食品中维生素 B<sub>2</sub> 的方法研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2000, 12(2): 20—22.  
[6] 中华人民共和国药典[M]. 2000 年版, 二部.  
[7] 杨大进, 方从容, 王竹天. 保健食品中肌醇含量测定方法的研究[J]. 中国食品卫生杂志, 1999, 11(2): 1—3.

[收稿日期: 2003 - 03 - 06]

中图分类号: R15; TS218; O652 文献标识码: E 文章编号: 1004 - 8456(2004)01 - 0062 - 04

## 食物中维生素 A、叶酸和维生素 E 分析方法研究进展

文小青 杨月欣

(中国疾控中心营养与食品安全所, 北京 100050)

**摘要:** 对食物中 3 种重要的维生素: 维生素 A、叶酸和维生素 E 的常用分析方法进行了综述。指出了不同分析方法的适用范围以及各自的优缺点。着重介绍了高效液相色谱法在此 3 种维生素分析中的应用。并提出了分析方法的发展趋势是高效液相色谱法(包括正相高效液相色谱法、反相高效液相色谱法和非水反相高效液相色谱法)、高效液相 - 质谱法、气相色谱 - 质谱法和离子色谱 - 质谱法等方法。

**关键词:** 维生素 A; 叶酸; 维生素 E; 色谱法; 高压液相

### Progress in analytical methods of vitamin A, folate and vitamin E in foods

Wen Xiaoqing, et al.

(National Institute for Nutrition and Food Safety, China CDC, Beijing 100050)

**Abstract:** The development of the common analytical methods of three important vitamins (vitamin A, folate and vitamin E) in foods were reviewed. The range of applicability and the advantage and disadvantage of these different analytical methods was discussed. The author emphasized the application of high-performance liquid chromatography (HPLC) in the analysis of the three vitamins. It was concluded that the current tide of analytical methods is the application of HPLC (including normal-phase and reversed-phase gradient high-performance liquid chromatography analysis, NRHPLC), HPLC-MS, GC-MS and IC-MS.

**Key Words:** Vitamin A; Folic Acid; Vitamin E; Chromatography, High Pressure Liquid

作者简介: 文小青 女 硕士

维生素 A、叶酸和维生素 E 是 3 种十分重要的维生素, 存在着多种的结构形式, 它们是评价食品价