

## 食品中維生素A(視網醇)之檢驗方法

### Method of Test for Vitamin A (Retinol) in Foods

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於嬰兒配方奶粉中維生素A(視網醇)(vitamin A, retinol)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經皂化及萃取後，以高效液相層析儀(high performance liquid chromatograph, HPLC)分析之方法。
  - 2.1. 裝置：
    - 2.1.1. 高效液相層析儀：
      - 2.1.1.1 檢出器：光二極體陣列檢出器(photodiode array detector)。
      - 2.1.1.2 層析管：GL Sciences InertSustain C18，5  $\mu\text{m}$ ，內徑4.6 mm  $\times$  25 cm，或同級品。
    - 2.1.2. 水浴(Water bath)。
    - 2.1.3. 振盪器(Shaker)。
    - 2.1.4. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
    - 2.1.5. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
  - 2.2. 試藥：氫氧化鉀、乙醇、石油醚、無水硫酸鈉及維生素C均採用試藥特級；甲醇採用液相層析級；去離子水(比電阻於25 $^{\circ}\text{C}$ 可達18  $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ 以上)；維生素A棕櫚酸酯(retinyl palmitate)對照用標準品。
  - 2.3. 器具及材料：
    - 2.3.1. 皂化瓶：250 mL，褐色。
    - 2.3.2. 迴流冷凝管：長約30 cm，褐色。
    - 2.3.3. 分液漏斗：250 mL，褐色。
    - 2.3.4. 濃縮瓶：250 mL，褐色。
    - 2.3.5. 容量瓶：10 mL及100 mL，褐色。
    - 2.3.6. 樣品瓶：16 mL，褐色，附PP瓶蓋。
    - 2.3.7. 濾膜：孔徑0.45  $\mu\text{m}$ ，PVDF材質。
  - 2.4. 7.5%氫氧化鉀之乙醇溶液：

稱取氫氧化鉀15 g，以乙醇溶解使成200 mL。
  - 2.5. 移動相溶液之調製：

取甲醇950 mL，加去離子水使成1000 mL，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。
  - 2.6. 標準溶液之配製：

取維生素A棕櫚酸酯對照用標準品約10 mg，精確稱定，置於樣品瓶中，以7.5%氫氧化鉀之乙醇溶液5 mL溶解，移入皂化瓶中，再以7.5%氫氧化鉀之乙醇溶液5 mL清洗樣品瓶，洗液併入皂化瓶，加入7.5%氫氧化鉀之乙醇溶液20 mL及維生素C 0.5 g於皂化瓶中，旋渦混合，於95 $^{\circ}\text{C}$

水浴中皂化30分鐘。取出冷卻至室溫，移入分液漏斗中，每次以去離子水10 mL清洗皂化瓶3次，洗液併入分液漏斗。加入石油醚40 mL，振盪1分鐘，靜置分層，收集上層液，下層液再加入石油醚40 mL，重複上述萃取步驟2次，合併上層液，加入去離子水50 mL，振盪1分鐘，靜置分層，去除水層，再加入去離子水50 mL，重複上述清洗步驟至洗液為中性。加入少量無水硫酸鈉，脫水後移入濃縮瓶中，每次以石油醚30 mL清洗分液漏斗2次，洗液併入濃縮瓶中，於40°C水浴減壓濃縮至乾，以乙醇溶解並定容至100 mL，作為標準原液。臨用時取適量標準原液，以乙醇稀釋至0.375~10 µg RE/mL<sup>(註)</sup>，供作標準溶液。

註：RE (Retinol Equivalent)為視網醇當量，1 µg維生素A棕櫚酸酯相當於0.546 µg RE。

## 2.7. 檢液之調製

取檢體2~5 g (油脂含量不超過1 g)，精確稱定，置於皂化瓶中，加入7.5%氫氧化鉀之乙醇溶液30 mL及維生素C 0.5 g，旋渦混合，於95°C水浴中皂化30分鐘。以下步驟同2.6節，於40°C水浴減壓濃縮至乾，以乙醇溶解並定容至10 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

## 2.8. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各5 µL，分別注入高效液相層析儀中，依下列條件進行分析。就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及吸收圖譜比較鑑別之，並依下列計算式求出檢體中維生素A之含量(µg RE/100 g)：

$$\text{檢體中維生素A之含量}(\mu\text{g RE}/100\text{ g}) = \frac{C \times V \times 100}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中維生素A之濃度(µg/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

高效液相層析條件<sup>(註)</sup>：

光二極體陣列檢出器：定量波長325 nm。

層析管：GL Sciences InertSustain C18，5 µm，內徑4.6 mm × 25 cm。

層析管溫度：40°C。

樣品槽溫度：10°C。

注入量：5 µL。

移動相溶液：依2.5.節調製之溶液。

流速：1.2 mL/min。

註：上述測定條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

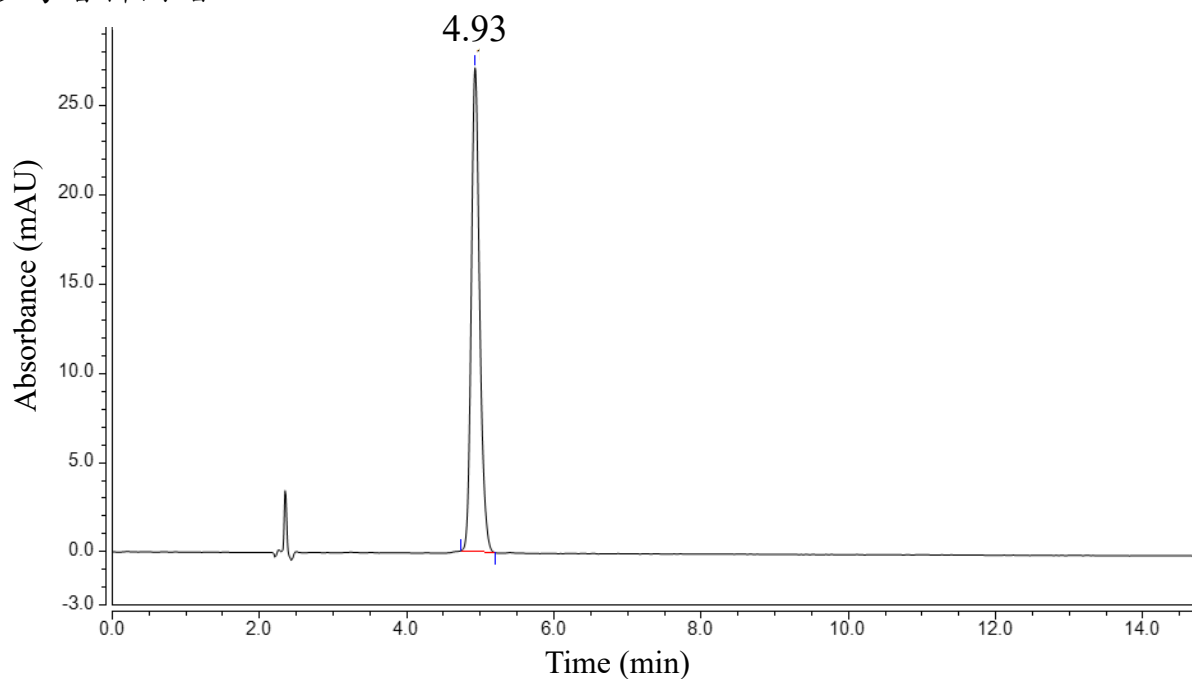
附註：1. 本檢驗方法之定量極限為0.75 µg RE/g。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

1. AOAC International. 2001. Vitamin A (Retinol) in Foods. AOAC Official Method 2001.13.
2. Trisconi, M. J., Campos-Gimenez, E., Jaudzems, G. and Dowell, D. 2012. Determination of vitamin A in infant formula and adult nutritionals by UPLC-UV: First Action 2011.07. J. AOAC Int. 95(2): 301-306.

參考層析圖譜



圖一、維生素A棕櫚酸酯標準品經皂化後之維生素A之HPLC圖譜