

## 实验技术与方法

在线净化-二维液相色谱法测定特殊医学用途配方食品中  
维生素A、D、E

韦娟,张昊,王溪,霍宗利,吉文亮

(江苏省疾病预防控制中心,江苏南京 210009)

**摘要:**目的 利用双阀三泵中心切割二维液相色谱技术,建立了一种在线净化-二维液相色谱法,用于测定特殊医学用途配方食品中维生素A、D、E(VA、VD、VE)的含量。方法 样品在经过皂化处理后,进入二维液相色谱系统。采用耐强碱溶液的PLRP-S小柱作为在线固相萃取柱,用于净化样品皂化液。随后,SPE泵反向洗脱目标物到一维色谱系统。选择全氟苯基柱作为分离VA和4种VE的一维色谱柱。同时,以C18小柱作为VD的捕获柱,多环芳烃柱作为分离VD2和VD3的二维色谱柱。结果 VA、VD、VE在不同浓度范围内呈现出良好的线性关系,其线性范围分别为0.010 0~1.000、0.001 00~0.100、0.200~20.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,相关系数均高达0.999 9。检出限分别为4.8、0.8和48  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ,定量限分别为12、2和120  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 。低、中、高3个不同加标水平下,VA、VD、VE的平均回收率表现良好,范围为85.9%~114.0%,相对标准偏差范围为0.6%~9.2%。结论 该方法操作简便,具有高灵敏度和良好的准确度,适用于特殊医学用途配方食品中VA、VD、VE的常规快速检测。

**关键词:**在线净化;二维液相色谱;维生素A;维生素D;维生素E;特殊医学用途配方食品

**中图分类号:**R155 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2024)09-1017-07

**DOI:**10.13590/j.cjfh.2024.09.004

**Determination of Vitamin A, Vitamin D and Vitamin E in formulas for special medical purposes  
by online purification-two-dimensional liquid chromatography**

WEI Juan, ZHANG Hao, WANG Xi, HUO Zongli, JI Wenliang

(Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Nanjing 210009, China)

**Abstract: Objective** To determine vitamin A (VA), vitamin D (VD) and vitamin E (VE) in formulas for special medical purposes, the online purification-two-dimensional liquid chromatography technique with dual-valve triple-pump center-cutting was established. **Methods** After the saponification, the samples were introduced into a two-dimensional liquid chromatography system. A PLRP-S column, which was resistant to strong alkaline solutions, was used as an online solid phase extraction column for the clean-up of the sample solution. Subsequently, SPE pumps were reversed to elute the target to the one-dimensional chromatographic system. A perfluorophenyl column was used as the 1D column for the separation of VA and the four VE species. Meanwhile, a C18 column was used as a capture column for VD and a polycyclic aromatic hydrocarbon column was used as a two-dimensional chromatographic column for the separation of VD2 and VD3. **Results** VA, VD and VE exhibited good linearity within different concentration ranges. The linear ranges were 0.010 0-1.000, 0.001 00-0.100, 0.200-20.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , and the correlation coefficients were all as high as 0.999 9. The limits of detection (LODs) were 4.8, 0.8 and 48  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ , and the limits of quantification (LOQs) were 12, 2 and 120  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ . The average recoveries of VA, VD and VE were good with the ranges of 85.9%-114.0%, and the relative standard deviations (RSDs) ranged from 0.6% to 9.2% for the different spiked levels of low, medium and high. **Conclusion** The method is easy to operate, with high sensitivity and good accuracy, and it is suitable for the routine rapid determination of VA, VD and VE in formulas for special medical purposes.

**Key words:** Online purification; two-dimensional liquid chromatography; vitamin A, vitamin D, vitamin E; formulas for special medical purposes

收稿日期:2024-03-28

基金项目:江苏省科学技术厅社会发展面上项目(BE2023772)

作者简介:韦娟 女 主管技师 研究方向为食品安全工作 E-mail:1326673879@qq.com

通信作者:吉文亮 男 主任技师 研究方向为理化检验 E-mail:641827872@qq.com

维生素 A、D、E (Vitamin A、vitamin D、vitamin E, VA、VD、VE) 是人体必须通过食物摄入来维持正常生长发育的脂溶性维生素。这些维生素在人体内具有重要的生理功能,包括维持正常的视觉功能、提高免疫功能、具有抗氧化和抗衰老的作用等。当摄入不足时,可能会导致器官受损;而摄入过量则会引发健康问题,因为这些维生素会在体内积聚而不会随尿液排出<sup>[1-3]</sup>。特殊医学用途配方食品,简称特医食品,是特定状态人群补充维生素的重要途径。因此,快速准确地测定这些食品中 VA、VD、VE 的含量对于保障特定状态人群的营养摄入至关重要<sup>[4]</sup>。

VA、VD、VE 不溶于水,易溶于有机试剂,且在光照、酸性等条件下不稳定。它们通常以各种形态分布在样品中,而样品前处理往往易受环境和实验条件的影响而降低数据准确性。目前,高效液相色谱法和液相色谱-串联质谱法是主要的检测方法<sup>[5-10]</sup>。传统高效液相色谱法中 VA、VD、VE 往往无法同时检测,还需进行复杂的样品前处理,包括皂化去除脂溶性物质,然后进行提取、净化等操作步骤,这些步骤操作烦琐、费时,大大降低了检测效率。而串联质谱法的高仪器成本也会增加检测成本。随着二维液相色谱技术的发展,该类技术在配方奶粉、乳粉、米粉等多种食品 VA、VD、VE 的常规检测中得到了广泛应用<sup>[11-15]</sup>。该类技术将一维色谱系统中无法分离的 VD2 和 VD3,通过切割至捕集柱完成捕集和浓缩,然后进入二维色谱系统完成 VD 的分离分析,实现了 VA、VD、VE 的同时检测。然而,虽然这一方法减少了 VD 的正相半制备步骤,但仍需进行皂化、提取、分离等多个操作步骤,因此操作烦琐、费时、重复性差,不适合快速检测需求。目前已有在线净化二维液相色谱技术在测定配方奶粉、维生素片、米粉等食品中 VA、VD、VE 的分析和同时检测的相关研究报道<sup>[16-21]</sup>,但是对于特医食品特别是液体基质的研究相对较少。

本研究旨在基于二维液相色谱技术基础上,采用在线固相萃取代替传统的手动液-液萃取、洗涤、浓缩等方式,建立了一种同时测定特医食品中 7 种化合物 (VA、VD2、VD3、 $\alpha$ -VE、 $\beta$ -VE、 $\gamma$ -VE、 $\delta$ -VE) 的检测方法。样品经皂化后直接进样,一次进样即可自动完成 7 种目标化合物的分离分析,极大地减少了样品处理和分析时间,具有快速、安全、操作简单等优点,以期为特医食品中 VA、VD、VE 的快速测定提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器与试剂

Agilent 1260 Infinity II 二维液相色谱系统(美

国 Agilent 公司,配备一个自动进样器(进样范围 $\leq 100 \mu\text{L}$ )、三个独立输液泵、一个柱温箱、一个紫外检测器和一个光程 $\geq 60 \text{ mm}$ 的二极管阵列检测器;高速离心机(转速不低于  $10\,000 \text{ r/min}$ )、MS205DU 型电子天平(美国梅特勒-托利多公司);UV-2550 型紫外可见分光光度计(日本岛津公司);水浴锅(上海精宏实验设备有限公司)。

全反式 VA(纯度 99.0%)、DL- $\alpha$ -VE(纯度 99.8%)、 $\beta$ -VE(纯度 99.0%)、 $\gamma$ -VE(纯度 99.6%)、 $\delta$ -VE(纯度 94.5%)(上海安谱瑞世标准技术服务有限公司);维生素 D2(纯度 98.0%, Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司);维生素 D3(美国 SIGMA 公司);乙腈、甲醇、无水乙醇、甲基叔丁基醚、2,6-二叔丁基对甲基苯酚(色谱纯,上海安谱实验科技股份有限公司);磷酸(色谱纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);无水乙醇、抗坏血酸、氢氧化钾(分析纯,南京化学试剂有限公司);实验用水(娃哈哈牌纯净水)。市售特医食品(7 份固体和 1 份液体食品)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 样品前处理

取 5 g 固体或 20 g 液体样品(精确至 0.001 g),按照 GB 5009.82—2016<sup>[6]</sup>第一法 5.2.1 操作步骤处理。皂化液避光冷却至室温后,用 50% 乙醇水溶液转移并定容至 100 mL 棕色容量瓶中。混匀后,以  $10\,000 \text{ r/min}$  离心 5 min,取上清液过滤膜待测。

#### 1.2.2 标准品的配置

##### 1.2.2.1 标准储备溶液

分别称取 7 种维生素标准品各 10.0 mg(精确至 0.1 mg),分别置于 10 mL 棕色容量瓶中,用无水乙醇溶解并定容至刻度。按照 GB 5009.82—2016<sup>[6]</sup>附录方法进行浓度校正。

##### 1.2.2.2 混合标准使用溶液

加入少量 50% 乙醇水溶液至 50 mL 棕色容量瓶中,分别准确移取经过校正的各标准储备溶液适量,用 50% 乙醇水溶液定容至刻度,得到以下混合标准使用溶液:VA(1.00  $\mu\text{g/mL}$ ),VD2、VD3(0.100  $\mu\text{g/mL}$ ), $\alpha$ -VE、 $\beta$ -VE、 $\gamma$ -VE、 $\delta$ -VE(20.0  $\mu\text{g/mL}$ )。

##### 1.2.2.3 混合标准工作溶液

加入适量 50% 乙醇水溶液至 10 mL 棕色容量瓶中,分别取 0.10、0.20、0.50、1.00、2.00、5.00 mL 混合标准使用溶液,用 50% 乙醇水溶液定容至刻度,得到以下混合标准工作溶液:VA(0.010 0、0.020 0、0.050 0、0.100 0、0.200 0、0.500 0、1.00  $\mu\text{g/mL}$ ),VD2、VD3(0.001 00、0.002 00、0.005 00、0.010 0、0.020 0、0.050 0、0.100  $\mu\text{g/mL}$ ), $\alpha$ -VE、 $\beta$ -VE、 $\gamma$ -VE、 $\delta$ -VE(0.200、0.400、1.00、2.00、4.00、10.0、

20.0 μg/mL)。

1.2.3 色谱条件

在线固相萃取柱(SPE, Agilent PLRP-S, 4.6×12.5 mm, 15~20 μm);一维色谱柱(Agilent Poroshell 120 PFP, 4.6×100 mm, 4 μm);二维色谱柱(Agilent Zorbax Eclipse Plus PAH, 2.1×100 mm, 3.5 μm);捕获

柱(Agilent Poroshell 120 EC-C18, 4.6×5 mm, 4 μm)。柱温:35℃。进样量:100 μL。检测波长:一维检测器:0.0~18.5 min:325 nm, 18.5~20.5 min:264 nm, 20.5~30 min:294 nm;二维检测器:264 nm。三泵流速及梯度洗脱见表1,阀位置及柱连接图见图1。阀位置切换时间及说明见表2。

表1 三泵流速及梯度洗脱程序

Table 1 Flow rates and gradient elution programs of the three pumps

SPE泵					一维泵				二维泵				
时间/min	流速/(mL/min)	A/%	B/%	C/%	D/%	时间/min	流速/(mL/min)	A/%	B/%	时间/min	流速/(mL/min)	A/%	B/%
0.0	1.0	20	0	80	0	0.0	0.5	70	30	0.0	0.4	0	100
4.0	1.0	20	0	80	0	6.5	0.5	70	30	5.0	0.4	0	100
4.1	1.0	10	90	0	0	7.0	1.0	25	75	6.0	0.4	90	10
8.0	1.0	10	90	0	0	16.0	1.0	20	80	26.0	0.4	90	10
8.5	1.0	0	100	0	0	23.5	1.0	10	90	26.5	0.4	0	100
15.0	1.0	0	100	0	0	24.0	1.0	0	100	30.0	0.4	0	100
16.0	1.0	0	80	0	20	26.5	1.0	0	100				
20.0	1.0	0	80	0	20	27.0	1.0	70	30				
21.0	1.0	0	0	100	0	30.0	1.0	70	30				
22.0	1.0	0	0	100	0								
22.1	1.0	20	0	80	0								
30.0	1.0	20	0	80	0								

注:流动相:SPE泵:A:水,B:乙腈,C:甲醇,D:甲基叔丁基醚;一维泵:A:0.1%磷酸水溶液,B:甲醇;二维泵:A:乙腈,B:甲醇

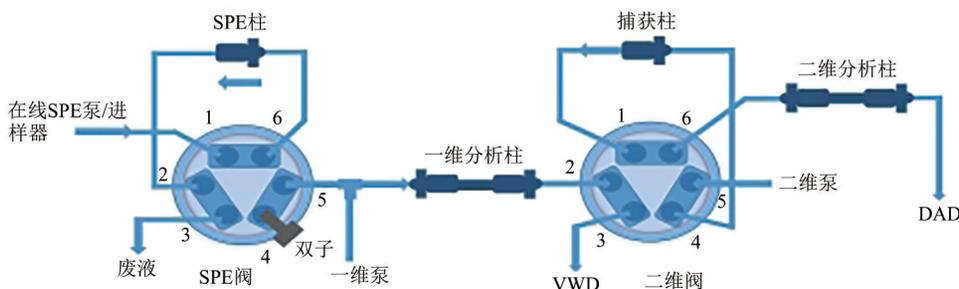


图1 在线净化-二维液相色谱连接图

Figure 1 On-line purification - 2D liquid chromatography connection diagram

表2 阀位置切换时间及说明

Table 2 Valve position switching time and description

时间/min	SPE 阀位置	二维阀位置	说明
0.0	1_6	1_6	SPE 泵上样, 去除样品皂化液中水溶性基质和强碱, 保留目标物
4.5	1_2	1_6	SPE 泵反向洗脱目标物至一维分析柱
5.9	1_6	1_6	一维分离分析 VA 和 4 种 VE, 并净化 VD
19.0	1_6	1_2	切割 VD 至捕获柱
19.7	1_6	1_6	二维分离分析 VD2 和 VD3, 清洗、平衡 SPE 柱

2 结果

2.1 色谱系统的构建和 VD 切割时间的确定

通过二维液相色谱技术,采用在线固相萃取的方法,成功构建了在线 SPE-二维液相色谱系统。在线 SPE-二维液相色谱技术对于目标化合物的富集净化分离分析的研究已经相当成熟,因此本文参考了文献[16-21]中所使用的最优色谱柱作为本研究对于目标物的富集净化分离分析色谱柱。在该系统中,样品在经皂化处理后直接进样,随后通过 PLRP-S 小柱实现了对脂溶性 VA、VD 和 VE 的吸附

和保留,同时有效去除了皂化液中的无机强碱和水溶性基质等干扰物质。经过 SPE 柱和 SPE 阀的调控,SPE 泵实现了对 SPE 柱上 7 种目标化合物的反向洗脱,将其洗脱至一维 PFP 色谱柱。同时,一维泵采用高水相 70% 磷酸水溶液(0.1%)进行在线稀释,以减小溶剂效应,使目标化合物在一维色谱柱柱头富集。随后,SPE 阀再次切换,使得一维色谱系统能够有效分离 VA 和 4 种 VE,完成 VD 的净化。接着,C18 捕获柱通过二维阀的控制,将一维 PFP 色谱柱上无法分离的 VD2 和 VD3 进行富集浓缩。再次切换

二维阀,二维流动相将富集浓缩的VD反冲至二维色谱系统,实现VD2和VD3的进一步分离和分析。

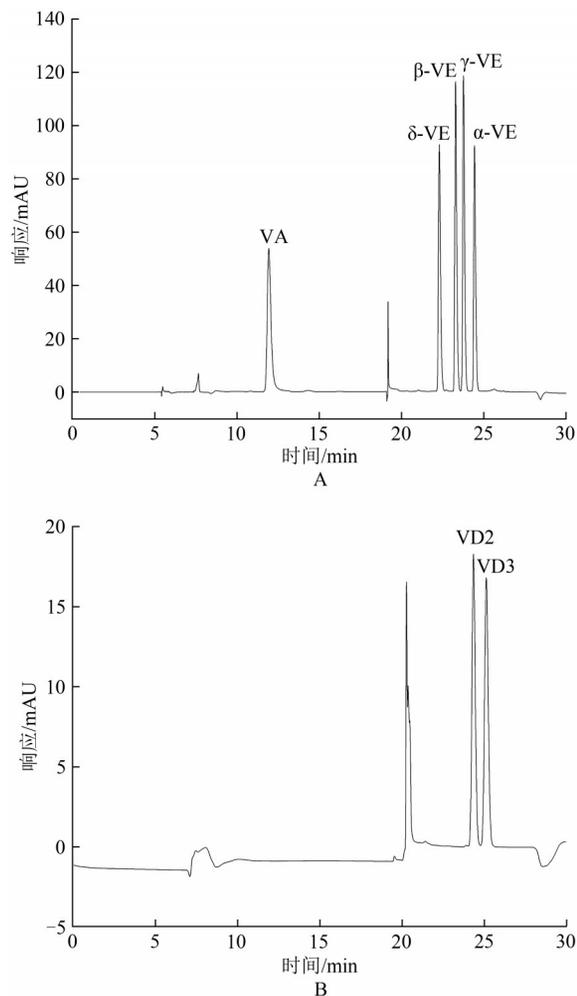
VD的切割时间是根据一维色谱系统中VD色谱峰的保留时间确定的。首先,根据1.2.3色谱条件(二维阀先不做切换),分别进空白溶液和混合标准工作溶液,在一维色谱系统中获得VD色谱峰的保留时间。通常情况下,一维色谱系统中VD色谱峰的峰底宽通常应小于0.5 min,以确保VD不被洗脱并在捕集柱上得到有效富集浓缩。然后,根据一维色谱系统中VD色谱峰的出峰起始和终止时间来设置二维阀的切换时间。考虑到食品中VD含量较低的情况,为了确保VD能够完全被捕集柱捕集,建议将切换开始和结束时间设置为峰的起始和回到基线的时间减去或加上0.1 min。

## 2.2 色谱条件的优化

参考团体标准 T/JAASS 18—2021<sup>[16]</sup> 色谱条件,选择不同的特医食品进行检测,结果表明,4种VE色谱峰出峰顺序是 $\delta$ -VE、 $\beta$ -VE、 $\gamma$ -VE、 $\alpha$ -VE,其中 $\delta$ -VE色谱峰保留时间为17.3 min,分离度0.49,存在无法基线分离的干扰。根据 $\delta$ -VE色谱峰保留时间,考察一维16 min后梯度洗脱流动相配比为0.1%磷酸水溶液:甲醇(15:85、18:22、20:80, V/V)对检测信号的影响。结果表明,0.1%磷酸水溶液:甲醇体积比为15:85时,目标峰 $\delta$ -VE分离度为1.05,无法基线分离,影响测定。而体积比为18:82、20:80时,目标峰 $\delta$ -VE分离度为1.30、1.39,能够基线分离。故选择一维16 min后梯度洗脱流动相配比为0.1%磷酸水溶液:甲醇(20:80, V/V)。同时还考察了一维流动相配比为0.1%磷酸水溶液:甲醇(10:90, V/V)时,梯度洗脱时间(23、23.5、26 min)对色谱行为的影响。结果显示, $\delta$ -VE色谱峰出峰时间为22.0、22.3、22.6 min,分离度为1.29、1.40和1.43。但从节约实验成本和检测时间的角度,最终选择流动相配比为0.1%磷酸水溶液:甲醇(10:90, V/V)时,梯度洗脱时间为23.5 min。标准色谱图见图2。

## 2.3 溶剂的选择

本试验考察不同的溶剂(50%乙醇水溶液、甲醇、乙醇)对色谱行为和检测信号的影响。结果显示,在相同质量浓度下,不同的溶剂对目标物VA色谱峰的峰形和峰高影响最为显著。当溶剂为50%乙醇水溶液时,VA色谱峰对称、尖锐,峰形最佳;而当溶剂为甲醇或乙醇时,VA色谱峰则出现明显的拖尾现象。故选择50%乙醇水溶液作为溶剂。具体色谱图见图3。此外,还同时考察了不同进样量(100、80、50  $\mu$ L)对色谱峰峰形和峰宽的影响。结



注:A:标准溶液一维色谱图;B:标准溶液二维色谱图

图2 标准溶液色谱图

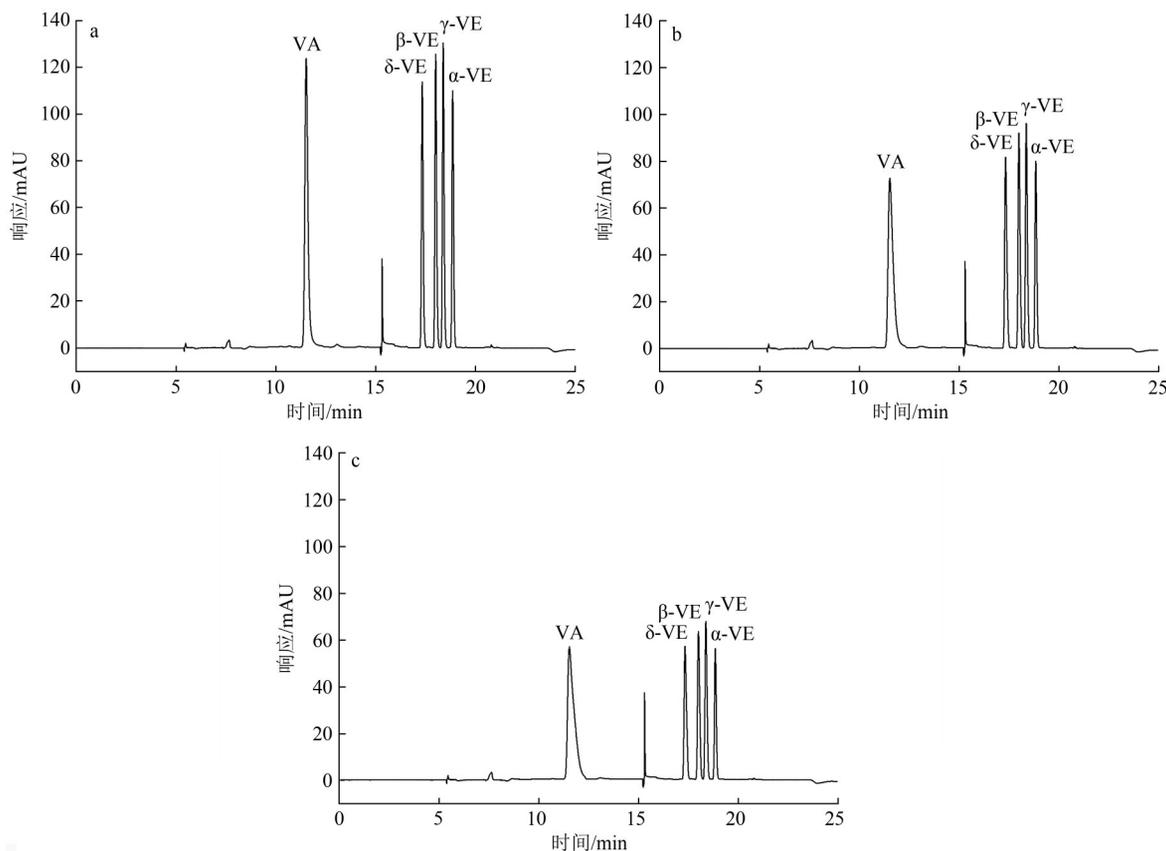
Figure 2 Chromatogram of the standard solution

果显示,在相同质量浓度下,不同进样量之间没有出现显著差异。考虑到特医食品中维生素含量较低的情况,为保证方法具有更高的灵敏度,因此选择100  $\mu$ L作为方法的进样量。

## 2.4 方法学验证

### 2.4.1 方法的线性范围、检出限、定量限考察

通过测定7个不同浓度的混合标准工作溶液,绘制了标准曲线,其中目标物的质量浓度(C)作为横坐标、峰面积(A)作为纵坐标。结果显示,7种目标化合物在标准曲线范围内线性关系良好,相关系数 $r > 0.9999$ 。向不含目标物的空白特医食品样品中准确加入一定量的各标准溶液,按照1.2.1方法进行样品处理。通过 $S/N=3$ 的方法计算检出限, $S/N=10$ 的方法计算定量限。最终确定,在取样量为5 g,定容体积为100 mL的条件下,VA的检出限为4.8  $\mu$ g/100 g,定量限为12  $\mu$ g/100 g; $\alpha$ -VE、 $\beta$ -VE、 $\gamma$ -VE、 $\delta$ -VE的检出限为48  $\mu$ g/100 g,定量限为120  $\mu$ g/100 g;VD2、VD3的检出限为0.8  $\mu$ g/100 g,定量限为2  $\mu$ g/100 g。这些结果均优于GB 5009.82—2016<sup>[6]</sup>



注:a:标准溶液,50%乙醇水溶液;b:标准溶液,甲醇;c:标准溶液,乙醇

图3 标准色谱图

Figure 3 Standard chromatogram

表3 线性范围、线性方程、相关系数、检出限和定量限

Table 3 Linear range, linear equation, correlation coefficient, limit of detections, and limit of quantifications

目标物	线性范围/( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	线性方程	相关系数 $r$	检出限/( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	定量限/( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )
VA	0.010 0~1.000	$A=874.429\ 0C-2.398\ 2$	0.999 9	4.8	12
VD2	0.001 00~0.100	$A=2\ 503.348\ 1C-0.430\ 2$	0.999 9	0.8	2
VD3	0.001 00~0.100	$A=2\ 541.581\ 0C-0.430\ 5$	0.999 9	0.8	2
$\alpha$ -VE	0.200~20.0	$A=35.947\ 8C-1.571\ 5$	0.999 9	48	120
$\beta$ -VE	0.200~20.0	$A=46.245\ 3C-1.452\ 2$	0.999 9	48	120
$\gamma$ -VE	0.200~20.0	$A=46.503\ 7C-1.641\ 0$	0.999 9	48	120
$\delta$ -VE	0.200~20.0	$A=40.419\ 7C-1.105\ 0$	0.999 9	48	120

方法,并且能够满足特医食品的检测要求。具体结果见表3。

#### 2.4.2 方法的准确度、精密度考察

分别在固体空白样品(取样量 5 g)和液体空白样品(取样量 20 g)中准确加入一定量的各标准溶液,按照 1.2.1 方法进行低、中、高浓度的加标试验,每个浓度水平平行测定 6 次。结果显示,3 个不同浓度加标平均回收率、相对标准偏差范围分别为 85.9%~114.0%、0.6%~9.2%,见表 4。

#### 2.4.3 样品检测

分别用本方法和 GB 5009.82—2016<sup>[6]</sup>方法对市售的 7 种固体和 1 种液体特医食品中 VA、VD 和 VE 的含量进行了测定。结果显示,VD2 未被检出,而 VA、VD3 和 VE 均被检测到。与 GB 5009.82—2016<sup>[6]</sup>方法相比,各化合物结果偏差均小于 15%。

应用 Mann-Whitney 检验对两组测定数据进行了比较,两组测定数据无显著差异,这表明本方法具有准确可靠的特点,可用于实际样品的检测。然而,我们发现本方法检测结果明显高于 GB 5009.82—2016<sup>[6]</sup>方法的检测结果。这可能是因为 GB 5009.82—2016<sup>[6]</sup>方法的前处理较为复杂,需要经过皂化、萃取、洗涤等操作步骤,这些步骤可能导致目标化合物的损失较多,从而影响了最终的检测结果。具体结果见表 5。

### 3 讨论

本研究在二维液相色谱技术上探索,采用在线固相萃取的方法,成功搭建了在线净化二维液相色谱系统。该系统具有操作简单、快速、安全以及重复性好等优点。样品在经过皂化处理后可直

表4 加标回收率和精密度( $n=6$ )Table 4 Spike recovery and precision ( $n=6$ )

目标物	固体样品			液体样品		
	加标量/( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	平均回收率/%	RSD/%	加标量/( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	平均回收率/%	RSD/%
VA	12	93.1	9.2	3	95.5	8.5
	200	94.4	4.3	50	109.2	2.7
	1 000	102.8	1.1	250	105.9	2.3
VD2	2	85.9	8.6	0.5	101.0	2.7
	20	94.9	4.0	5	102.8	1.9
	100	95.8	0.8	25	97.9	2.7
VD3	2	87.7	3.2	0.5	112.8	5.4
	20	94.9	5.2	5	101.9	1.9
	100	95.3	0.8	25	97.5	2.8
$\alpha$ -VE	120	107.1	4.7	30	94.3	2.0
	4 000	104.0	3.7	1 000	108.9	2.1
	20 000	102.0	0.6	5 000	103.3	2.5
$\beta$ -VE	120	112.8	2.7	30	110.2	4.7
	4 000	106.5	3.6	1 000	109.6	2.0
	20 000	103.1	0.7	5 000	104.6	2.6
$\gamma$ -VE	120	106.1	1.1	30	114.0	1.9
	4 000	103.4	3.4	1 000	109.0	2.1
	20 000	101.6	1.8	5 000	102.4	1.5
$\delta$ -VE	120	107.0	2.0	30	95.1	2.0
	4 000	105.3	3.6	1 000	109.5	2.3
	20 000	103.6	1.2	5 000	104.7	2.2

表5 8种特医样品测定结果

Table 5 Results of determination of 8 special medical samples

样品 编号	本方法			GB 5009.82—2016		
	VA ( $\mu\text{gRE}/$ 100 g)	VD ( $\mu\text{g}/$ 100 g)	VE ( $\text{mg}\alpha\text{-TE}/$ 100 g)	VA ( $\mu\text{gRE}/$ 100 g)	VD ( $\mu\text{g}/$ 100 g)	VE ( $\text{mg}\alpha\text{-TE}/$ 100 g)
1	474	8.56	12.4	431	8.27	11.0
2	565	6.94	7.58	518	6.60	6.60
3	358	5.51	4.84	323	5.09	4.24
4	339	6.77	17.1	305	5.88	14.8
5	768	8.43	17.2	663	8.39	14.9
6	774	6.08	16.5	724	6.10	15.1
7	689	8.38	13.9	595	7.54	12.3
8	123	2.94	5.32	119	2.77	4.96

接进行仪器分析,不仅大大简化了操作流程,也明显缩短了分析时间。其操作简便、高效,适用于特医食品中VA、VD、VE的快速定量测定。通过方法学验证,发现该方法在合适的测量条件下能够明显区分目标物信号,并且可以准确测量目标物的低浓度。该方法具有广泛的线性范围,可以在较宽的浓度范围内准确测量目标物。这些结果表明了该方法在分析目标物方面具有良好的灵敏度和可靠性。因此,本研究所开发的方法具有很好的推广应用前景,能够为特医食品中VA、VD、VE的定量分析提供高效、准确的解决方案,使得特医食品的质量监测更为便捷和可靠。

## 参考文献

[1] 刘莹,刘丽兰,王艳超,等.固相萃取-在线二维快速同时测定食品中维生素A、D和4种维生素E异构体的含量[J].中国标准化,2019(18):175-177.

LIU Y, LIU L L, WANG Y C, et al. Determination of vitamin A, D, and four isomers of vitamin E in food by solid phase extraction-online two-dimensional fast simultaneous analysis[J]. China Standardization, 2019(18): 175-177.

[2] 张敏,唐俊,黄丽.固相萃取-梯度高效液相色谱法同时测定婴幼儿食品中维生素A、D、E的含量[J].中国食品添加剂,2014(9):190-194.

ZHANG M, TANG J, HUANG L. Simultaneous determination of vitamins A, D, and E in infant food by solid phase extraction-gradient high performance liquid chromatography [J]. China Food Additives, 2014(9): 190-194.

[3] 蒋玉艳,陈兴乐.微量营养素与儿童健康关系的研究进展[J].江苏预防医学,2014,25(3):49-51.

JIANG Y Y, CHEN X L. Research progress on the relationship between trace nutrients and Children's health [J]. Jiangsu Journal of Preventive Medicine, 2014, 25(3): 49-51.

[4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.食品安全国家标准特殊医学用途配方食品通则:GB 29922—2013[S].北京:中国标准出版社,2013.

National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National standards for food safety general principles for formulas for special medical purposes: GB 29922—2013[S]. Beijing: China Standard Press, 2013.

[5] 魏帅,吕宁,梁成珠,等.婴幼儿配方乳粉中维生素A、E检测方法的比较研究[J].食品安全质量检测学报,2020,11(24):9083-9092.

WEI S, LYU N, LIANG C Z, et al. Comparative study on detection methods of vitamins A and E in infant formula powder [J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2020, 11(24): 9083-9092.

[6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.食品安全国家标准食品中维生素A、D、E的测定:GB 5009.82—2016[S].北京:中国标准出版社,2016.

- National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National standard for food safety determination of vitamins A, D, and E in food: GB 5009.82—2016[S]. Beijing: China Standard Press, 2016.
- [7] 张鹏, 朱姜, 周元元, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定保健食品中的维生素A、D、E[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(03): 322-326.
- ZHANG P, ZHU J, ZHOU Y Y, et al. Determination of vitamins A, D, and E in health foods by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2016, 28(3): 322-326.
- [8] 罗佳, 王春民, 李建. 同位素稀释-超高效液相色谱-串联质谱技术检测婴幼儿配方奶粉中维生素D[J]. 江苏预防医学, 2019, 30(2): 123-125.
- LUO J, WANG C M, LI J. Detection of vitamin D in infant formula powder by isotope dilution-ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Jiangsu Journal of Preventive Medicine, 2019, 30(2): 123-125.
- [9] MCMAHON A. Determination of vitamin E and vitamin A in infant formula and adult nutritionals by normal-phase high-performance liquid chromatography: collaborative study, final action 2012.10 [J]. Journal of AOAC International, 2016, 99(1): 223-241.
- [10] GILL B D, ZHU X, INDYK H E. A rapid method for the determination of vitamin D3 in milk and infant formula by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Journal of AOAC International, 2015, 98(2): 431-435.
- [11] 李贻, 贺君, 王晓洁, 等. 二维液相色谱同时检测特医食品中维生素A、E、D3含量[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2022, 35(1): 121-126.
- LI Y, HE J, WANG X J, et al. Simultaneous determination of vitamins A, E, and D3 in Special medical Food by two-dimensional liquid chromatography [J]. Journal of Yantai University (Natural Science and Engineering), 2022, 35(1): 121-126.
- [12] 许彬, 林金海, 陈程琳. 二维液相色谱法测定乳粉中维生素A、D、E含量[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(11): 212-217.
- XU B, LIN J H, CHEN C L. Determination of vitamins A, D, and E in milk powder by two-dimensional liquid chromatography [J]. Chinese Food Additives, 2022, 33(11): 212-217.
- [13] 李莲, 黄柳霞, 罗雪婷. 二维液相色谱法同时测定婴幼儿配方奶粉中的维生素A、D、E[J]. 海南师范大学学报(自然科学版), 2023, 36(1): 46-52.
- LI L, HUANG L X, LUO X T. Simultaneous determination of vitamins A, D, and E in infant formula powder by two-dimensional liquid chromatography [J]. Journal of Hainan Normal University (Natural Science Edition), 2023, 36(1): 46-52.
- [14] 黄百芬, 张京顺, 王梦莉, 等. 二维高效液相色谱法同时测定菜肴中维生素A、D和E[J]. 卫生研究, 2023, 52(2): 272-279.
- HUANG B F, ZHANG J S, WANG M L, et al. Simultaneous determination of vitamins A, D, and E in dishes by two-dimensional high performance liquid chromatography [J]. Health Research, 2023, 52(2): 272-279.
- [15] 龚树斌. 二维反相色谱法测定婴幼儿米粉中维生素A、D和E [J]. 福建轻纺, 2021(8): 13-17.
- GONG S B. Determination of vitamins A, D, and E in infant rice flour by two-dimensional reversed-phase chromatography [J]. Fujian Textile, 2021(8): 13-17.
- [16] 江苏省农学会. 液态乳及乳粉中维生素A、D、E的测定 在线固相萃取-中心切割二维液相色谱法: T/JAASS 18—2021 [S]. 江苏省农学会, 2021.
- Jiangsu Agricultural Society. Determination of vitamins A, D, and E in liquid milk and milk powder Online Solid Phase extraction-Center cut two-dimensional liquid chromatography: T/JAASS 18—2021 [S]. Jiangsu Agricultural Society, 2021.
- [17] 翟洪稳, 马红玉, 马俊美, 等. 在线固相萃取-二维液相色谱法同时测定特殊医学用途配方食品中VA、VD、VE的含量 [J]. 食品科学, 2023, 44(20): 315-320.
- ZHAI H W, MA H Y, MA J M, et al. Simultaneous Determination of vitamins A, D, and E in formula food for Special Medical Purposes by on-line Solid Phase Extraction and two-dimensional liquid chromatography [J]. Food Science, 2023, 44(20): 315-320.
- [18] 陈建彪. 在线净化二维液相色谱快速检测食品中维生素A、D、E[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(6): 1726-1733.
- CHEN J B. Rapid Detection of vitamins A, D, and E in food by online purification two-dimensional liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2019, 10(6): 1726-1733.
- [19] 黄燕, 林灵超, 蒋婷婷, 等. 在线固相萃取-二维液相色谱法同时测定儿童配方奶粉中维生素A、D、E[J]. 食品工业科技, 2023, 44(9): 317-323.
- HUANG Y, LIN L C, JIANG T T, et al. Simultaneous determination of vitamins A, D, and E in children's formula milk powder by online solid phase extraction-two-dimensional liquid chromatography [J]. Food Industry Science and Technology, 2023, 44(9): 317-323.
- [20] 朱洁. 在线固相萃取二维液相色谱法测定复合维生素片中的维生素A、D、E[J]. 中国食品添加剂, 2020, 31(10): 123-128.
- ZHU J. Determination of vitamins A, D, and E in compound vitamin tablets by online solid phase extraction-two-dimensional liquid chromatography [J]. China Food Additives, 2020, 31(10): 123-128.
- [21] 戴晓慧. 二维液相色谱法对特殊医学用途配方食品中维生素A、D、E含量的检测[J]. 食品安全导刊, 2023(34): 80-84.
- DAI X H. Detection of vitamins A, D, and E content in special medical purpose formula foods by two-dimensional liquid chromatography [J]. Food Safety Guide, 2023(34): 80-84.