

在线净化二维液相色谱快速检测食品中 维生素 A、D、E

陈建彪*

(通标标准技术服务(上海)有限公司, 上海 200223)

摘要: 目的 利用三泵两阀二维液相色谱系统, 建立食品中维生素 A、D、E 在线二维液相色谱快速检测方法。**方法** 采用中心切割方法搭建在线二维液相色谱分离系统, 以高聚合物为填料的具有耐强碱溶液能力的 PLRP-S 色谱柱作为净化样品皂化液的固相萃取(solid phase extraction, SPE)柱, 以 C₁₈ 为一维色谱柱分离维生素 A 和 E, 以多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH)色谱柱为二维色谱柱分离维生素 D₂ 和 D₃。一维色谱确立维生素 D 的切割时间, 由 C₁₈ 小柱捕获维生素 D, 建立在线二维液相色谱分析方法。利用样品和标品液对建立的方法进行方法学验证, 同时比较该方法与 GB 5009.82-2016 对实际样品的测试结果。**结果** 维生素 A、D、E 在试验标准曲线范围内线性系数 $r > 0.999$, 定量限分别为 30 $\mu\text{g}/100\text{g}$, 2 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 和 120 $\mu\text{g}/100\text{g}$, 与国标一致; 该方法 3 水平加标回收率为 90.4%~101.7%, 可以满足目前食品中维生素 A、D、E 的检测需求。**结论** 本文建立的测试方法操作简单高效、自动化程度高、准确度高、重复性好, 适合于大批量样品的测试。

关键词: 维生素; 在线净化; 二维液相色谱

Rapid detection of vitamin A,D and E in food by on-line purification two-dimensional high performance liquid chromatography

CHEN Jian-Biao*

(SGS-CSTC Standards Technical Services Co., Ltd., Shanghai 200223, China)

ABSTRACT: Objective To establish an on-line two-dimensional liquid chromatographic method for the determination of vitamins A, D and E in food by using a three-pump and two-valve two-dimensional liquid chromatographic system. **Methods** An on-line two-dimensional liquid chromatography separation system was set up by central cutting method. The PLRP-S column with high polymer as filler which had strong alkali resistance was used as the solid phase extraction (SPE) column for purifying saponification solution of samples. Vitamin A and E were separated by C₁₈ as one-dimensional column, and vitamin D₂ and D₃ were separated by polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) as two-dimensional column. One-dimensional chromatography confirmed the cutting time of vitamin D, VD was captured by C₁₈ column, and then established on-line two-dimensional liquid chromatography analysis method. Samples and standard solutions were used to conduct the validation of the established method, and the test results of actual samples were compared by using established method and GB 5009.82-2016. **Results** The linear coefficients of vitamin A, D and E were all more than 0.999 in the range of standard curves. The limits of quantitation were 30 $\mu\text{g}/100\text{g}$, 2 $\mu\text{g}/100\text{g}$ and 120 $\mu\text{g}/100\text{g}$, which were consistent with the national standard GB

*通讯作者: 陈建彪, 硕士, 主要研究方向为食品检测。E-mail: 410071841@qq.com

*Corresponding author: CHEN Jian-Biao, Master, SGS-CSTC Standards Technical Services Co., Ltd., No 889, Yishan Road, Xuhui District, Shanghai 200233, China. E-mail: 410071841@qq.com

5009.82-2016. The recoveries of vitamin A, D and E at 3 levels of this method were all between 90.4% and 101.7%, which could meet the detection requirements of vitamin A, D and E in food. **Conclusion** The method is simple, efficient, highly automated, accurate and reproducible, which is suitable for the determination of large quantities of samples.

KEY WORDS: vitamin; on-line purification; two-dimensional liquid chromatography

1 引言

维生素是人体生长发育所必需的一类微量元素,通常作为辅酶或辅酶前体物质参与体内的新陈代谢过程。其中维生素 A、D、E(vitamin A, D, E; VA,VD,VE)作为人体必需的脂溶性维生素主要通过饮食摄入来满足人体需求^[1]。VA 是指具有与全反式视黄醇相同生物活性的一类物质,主要以视黄醇、视黄醛和视黄酸形式存在^[1,2]。具有促进细胞生长、分裂,维持视觉功能,增强免疫能力,调节基因表达等功能^[1-4]。VD 主要以维生素 D₂(vitamin D₂, D2)和维生素 D₃(vitamin D₃, D3)2 种形式存在,主要存在于动物和水产品中^[1-4], VD 具有促进骨骼的钙、磷吸收、控制部分基因的表达等功能^[1,2]。VE 以生育酚和生育三烯酚的 8 种形式存在,其中 alpha-、delta-和 gamma-3 种生育酚形式较为常见,常用于营养加强型食品中^[1,2]。VE 具有抗氧化活性、可影响酶活性、基因表达、神经功能和细胞信号传导等^[1,2]。VA、VD 和 VE 虽为人体必需物质,但其摄入量需要控制在一定水平^[5]。否则若摄入量不足会引起夜盲症、佝偻病、细胞膜受损等,若摄入量过量则会引起皮肤干裂、头痛、脑水肿、高钙尿等疾病^[1,2,6,7]。因此建立食品中 VA、VD 和 VE 的快速检测方法对于指导人们合理膳食具有显著的现实意义。

目前的 VA、VD 和 VE 的检测方法主要有液相色谱法(high performance liquid chromatography-diode array detector, HPLC-DAD)、液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)^[8-13]。采用此类分析方法的样品需要经过皂化、萃取、洗涤、浓缩、复溶等多个步骤,整个过程费力、耗时,且过多处理极易造成目标物的降解和损失,同时串联 MS 检测器会显著增加测试成本^[8]。近年来随着二维液相色谱的发展普及,该色谱方法用于检测 VA、VD 和 VE 的文献也时有报道。二维液相色谱的应用显著缩减 VD 测试的样品处理步骤(VD 测试方法由一代升级为二代,样品处理省略正相制备步骤)^[12,14]。但此方法测试 VA、VD 和 VE 仍需要样品经皂化、萃取、洗涤、浓缩和复溶等多步骤处理,依然耗时、费力、重复性不好、没有明显降低测试成本,且无法满足当前国内食品安全检测的需求。

本研究采用三泵两阀搭建在线二维液相色谱分离系统,建立 VA、D2、D3、alpha-VE、gamma-VE、delta-VE 快速

分析方法,升级 VD 的二代测试到三代测试方法。与二代测试方法相比,该法样品经皂化后可直接进行仪器分析。该测试方法快速、高效、准确、安全、低污染、低成本,完全迎合了目前食品安全检测中 VA、VD 和 VE 的检测需求,有利于推进食品安全机构对食品中 VA、VD 和 VE 日常监控工作的开展。

2 材料与方法

2.1 材料、试剂与仪器

VA(CAS 号 68-26-8, 纯度 99.6%)、D2(CAS 号 50-14-6, 纯度 98.5%)、D3(CAS 号 511-28-4, 纯度 99.9%)(德国 Dr.E 公司); delta-VE(CAS 号 119-13-1, 纯度 97%)、alpha-VE(CAS 号 10191-41-0, 纯度 96.8%)(美国 Supelco 公司); gamma-VE(CAS 号 54-28-4, 纯度 96%, 美国 Sigma 公司); 乙腈、甲醇、无水乙醇(色谱纯, 迪马科技有限公司); 氢氧化钾、抗坏血酸、2,6-二叔丁基甲酚(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); alpha-淀粉酶(酶活力 ≥ 3700 U/g, 美国 Sigma 公司)。

Agilent1260 液相(配有 3 个四元泵、3 个两位六通阀、2 个紫外检测器、进样器、柱温箱)、poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱(3.0 mm*100 mm, 2.7 μ m)、ONLINE PLRP-S 固相萃取柱(15~20 μ m, 4.6 mm*12.5 mm)、poroshell 120 EC-C₁₈ 色谱柱(3.0 mm*50 mm, 2.7 μ m)、Eclipse PAH 色谱柱(2.1 mm*100 mm, 3.5 μ m)(美国 Agilent 公司); ME204 天平(美国梅特勒-托利多公司); vortex-genie2 涡旋混合器(美国 Scientific Industries 公司); Milli-Q Reference 纯水系统(德国默克密理博公司); 电热恒温水浴锅(中国上海一恒科技有限公司); UV-5800(PC)型紫外可见分光光度计(中国上海元析仪器有限公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 样品的前处理

固体样品取 5 g 或液体样品取 20 g, 样品前处理按照 GB 5009.82-2016^[10]方法—5.2.1 中的皂化步骤处理。样品皂化冷却至室温后, 用 50%乙醇转移并定容至 100 mL 棕色容量瓶中, 混匀后, 溶液过滤膜待测。

2.2.2 标准品的配制

分别取 VA、D2、D3、alpha-VE、delta-VE 和 gamma-VE

各 20 mg 于 10 mL 棕色容量瓶中, 无水乙醇溶解并定容。按照 GB 5009.82-2016 附录 B 对 VA、VD 和 VE 标准液浓度校正。根据校准后溶液浓度配制混合标准液工作曲线。混合标准曲线浓度如表 1 所示。

表 1 维生素 A、D、E 工作曲线浓度(ng/mL)
Table 1 Working curve concentration of vitamins A, D and E (ng/mL)

级别	VA	D2	D3	alpha-VE	gamma-VE	delta-VE
1	10	1	1	50	50	50
2	20	2	2	100	100	100
3	50	5	5	200	200	200
4	200	10	10	500	500	500
5	500	20	20	1000	1000	1000
6	2000	50	50	2000	2000	2000
7	5000	100	100	5000	5000	5000

2.2.3 仪器条件

色谱柱信息:

BE ONLINE PLRP-S 皂化液净化柱(15~20 μm , 4.6 mm*12.5 mm)

poroshell 120 EC-C₁₈ 一维分析柱预柱(3.0 mm*5 mm, 2.7 μm)

poroshell 120 EC-C₁₈ 一维分析柱(3.0 mm*100 mm, 2.7 μm)

poroshell 120 EC-C₁₈ VD 捕获柱: (3.0 mm*50 mm, 2.7 μm)

Eclipse PAH 二维分析柱(2.1 mm*100 mm, 3.5 μm)

进样量: 100 μL , 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长: 一维检测器: 325 nm, 294 nm; 二维检测器: 264 nm。流动相条件见表 2,

阀切换时间见表 3。

3 结果与分析

3.1 在线二维色谱的构建和色谱切割时间的确定

试验借鉴 VD 二代测试色谱系统, 采用中心切割方法分别在一维、二维分离 VA、VE 和 VD, 与二代测试色谱系统不同之处为样品皂化液的净化浓缩由在线 SPE 净化系统完成^[12,14]。皂化液进样后经在线 SPE 柱净化, 目标物被吸附, 样品基质和强碱溶液经两位六通阀切换到废液管路排出色谱系统外, 不对二维色谱系统造成任何破坏。此时系统处于上样阶段, 一维和二维系统处于平衡状态, SPE 柱经六通阀切换, 转入一维分离系统。此时 SPE 柱与一维色谱柱串联作为一维分离系统, VA、VD 和 VE 从 SPE 柱洗脱到一维分离柱上并开始分离。通过另一个两位六通阀切割一维色谱分离中 VD 流路时间段到 VD 捕获柱上, 捕获 VD 后再切换 VD 捕获柱到二维分离系统, 此时 VD 捕获柱与二维分离柱串联开始分离 D2 和 D3, 同时一维系统继续分离 alpha-VE、delta-VE 和 gamma-VE。不同阶段的在线二维色谱管路系统示意图、标液和样品的一维和二维分离色谱图见图 1~6。

中心切割时间由 VD 在一维色谱上的保留时间确定, 所切割流路中的 VD 被吸附到 C₁₈ 捕获柱上。此处采用 C₁₈ 柱作为捕获柱取代二代系统的 500 μL 定量环, 可以显著增加 VD 的捕获时间段, 可确保 VD 在一维色谱上保留时间存在较大偏差的情况下仍不影响测试结果。在本试验确定的洗脱条件下, VD 在 2.5 min 切割时间段内会保留在 C₁₈ 捕获柱上。试验连续 5 d 对批量样品(30~35 样/24 h)分离后, VD 在一维色谱的保留时间偏差在 0.2 min 内, 较宽范围的切割时间段满足了 VD 保留时间存在偏差的需求。系统 2 个两位六通阀的切换说明见表 3。

表 2 三泵梯度洗脱程序
Table 2 Gradient programs of 3 pumps

时间/min	上样泵			一维分析泵			二维分析泵		
	乙腈/%	水/%	流速/(mL/min)	乙腈/%	水/%	流速/(mL/min)	乙腈/%	甲醇/%	流速/(mL/min)
0.0	40	60	1.0	80	20	1.0	10	90	0.4
4.0	40	60	1.0	80	20	1.0	10	90	0.4
6.0	95	5	0.2	80	20	1.0	10	90	0.4
10	95	5	0.2	90	10	1.0	90	10	0.4
15	95	5	0.2	90	10	1.0	90	10	0.4
20	95	5	0.2	100	0	1.0	90	10	0.4
30	40	60	1.0	100	0	1.0	90	10	0.4
35	40	60	1.0	80	20	1.0	90	10	0.4

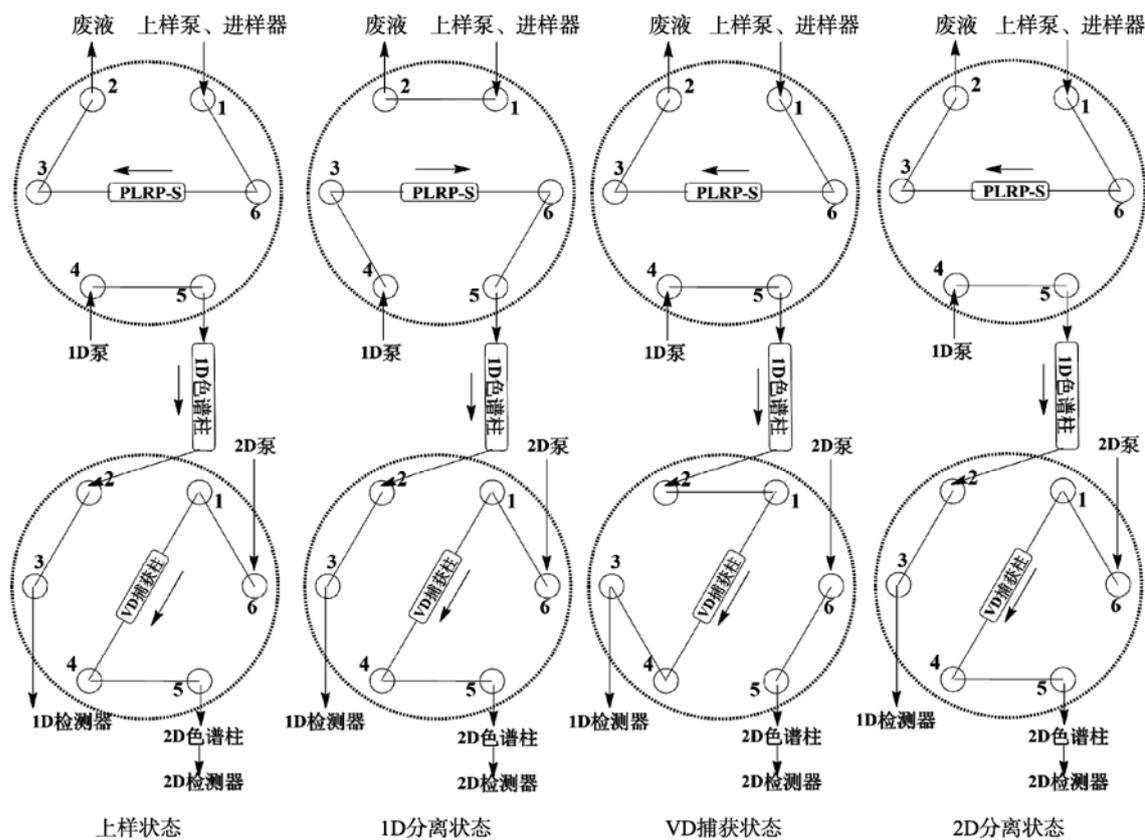


图 1 各阶段在线二维色谱流路示意图
Fig.1 On-line two-dimensional chromatographic flow chart for each stage

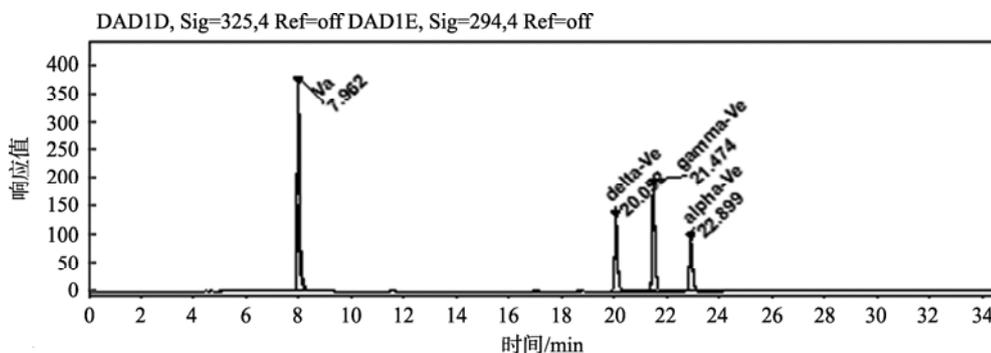


图 2 标准溶液的一维色谱图(检测波长 325 nm 和 294 nm)
Fig.2 One-dimensional chromatogram of standard solution ($\lambda=325$ nm, 294 nm)

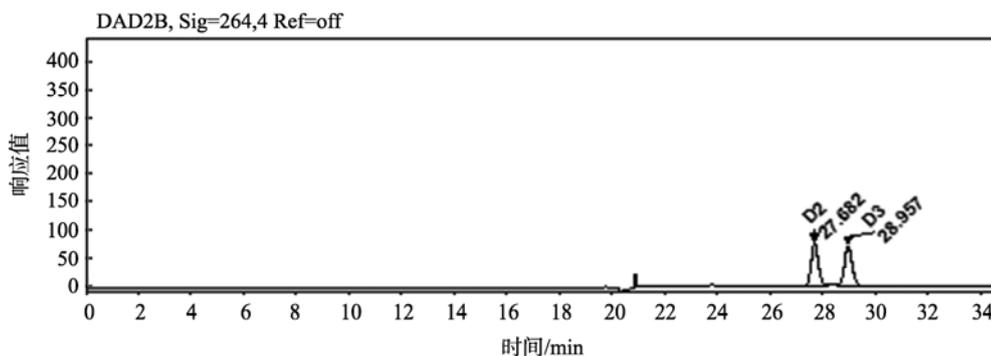


图 3 标准溶液的二维色谱图(检测波长 264 nm)
Fig.3 Two-dimensional chromatogram of standard solution ($\lambda=264$ nm)

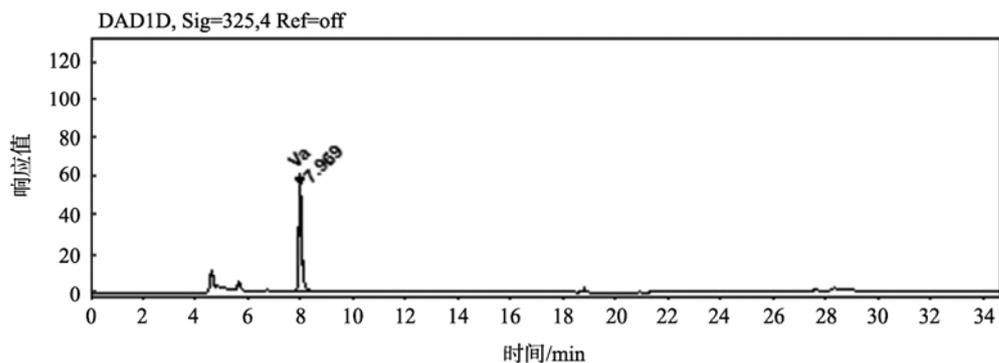


图 4 奶粉样品的一维色谱图(检测波长 325 nm)

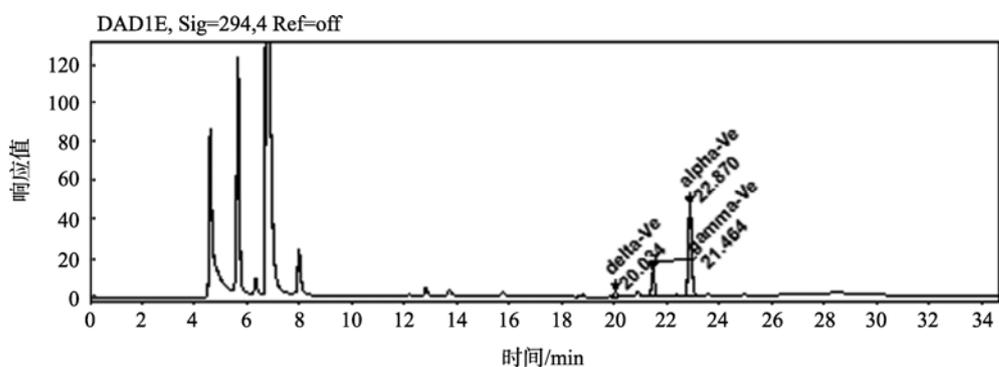
Fig.4 One-dimensional chromatogram of milk powder sample ($\lambda=325$ nm)

图 5 奶粉样品的一维色谱图(检测波长 294 nm)

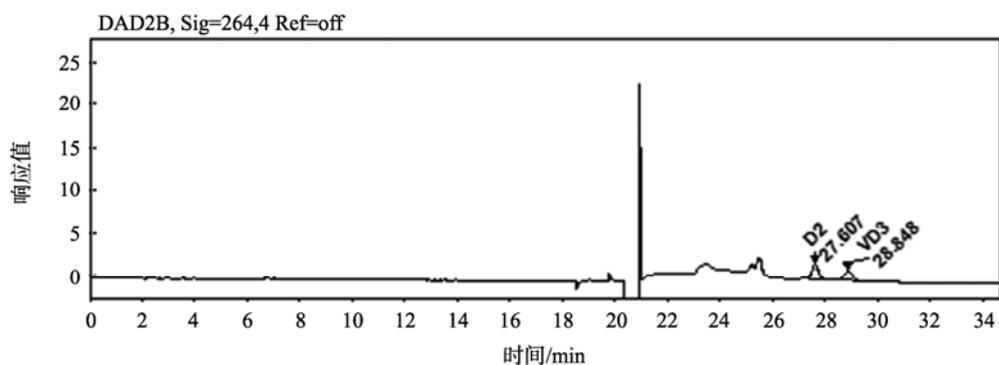
Fig.5 One-dimensional chromatogram of milk powder sample ($\lambda=294$ nm)

图 6 奶粉样品的二维图谱(检测波长 264 nm)

Fig.6 Two-dimensional chromatogram of milk powder sample ($\lambda=264$ nm)

表 3 两位六通阀的切换说明

Table 3 Switching instructions for two-position six-way valves

阀位置	切换时间/min	阀切换位置	说明
	0~4	1~6	皂化液经 PLRP-S 净化, 目标物被保留, 碱液和样品基质被洗脱到废液中。
柱温箱外阀	4.1~6	1~2	PLRP-S 串联到一维分离柱, 目标物被洗脱到一维分离柱
	6.1~30	1~6	PLRP-S 柱吸附的目标物被洗脱到一维柱后切换到上样系统, 进行冲洗和平衡
	0~17.4	1~6	一维进行分离 VA、VD 和 VE; VD 捕获柱在二维系统处在平衡状态。
柱温箱内阀	17.5~18.9	1~2	捕获柱与一维分离柱串联捕获 VD。此时 2.5 min 内 D2 和 D3 不会从捕获柱上洗脱。
	19~30	1~6	捕获柱与二维分离柱串联分离 D2 和 D3, 一维在分离 VE。

3.2 仪器条件的优化

有先前文献报道采用二维液相色谱法分离奶粉和维生素制剂中的 VA、VD 和 VE, 多采用传统的 C₁₈ 色谱柱用于一维色谱分离 VA、VD、和 VE, 同时采用 PAH 色谱柱用于二维色谱柱分离 D2 和 D3^[14]。本文采用在线净化、中心切割的方法建立分离系统, 对一维色谱柱存在高分离能力、小半峰宽和高耐压能力的要求。故借鉴前人研究成果, 改用高效的有较好耐压能力的 C₁₈ 多孔分离色谱柱, 来提高分离能力和缩短半峰宽以满足试验需求。试验分别选取了 poroshell 120 EC-C₁₈(3.0 mm*100 mm, 2.7 μm) 和 Kinetex C₁₈(3.0 mm*100 mm, 2.6 μm) 2 款色谱柱作为一维色谱柱进行调试分离方法, 结果显示 2 个色谱柱均能基线分离, VA、delta-VE、gamma-VE 和 alpha-VE 的分离度均大于 1.5, 且 2 个色谱柱承压均大于 1000 bar, 均能满足测试需求。由于本试验采用 Agilent 设备, Agilent 品牌的管线与 Agilent 品牌的色谱柱连接能最大程度减小系统死体积, 获得良好的色谱峰, 因此本试验最终采用 poroshell 120 EC-C₁₈(3.0 mm*100 mm, 2.7 μm) 色谱柱作为一维色谱柱。

试验采用在线 SPE 柱净化皂化液, 不仅显著减少了人工操作, 也极大缩短了样品前处理时间。但样品皂化液呈强碱性(pH > 12), 传统以二氧化硅为基础填料的净化柱无法承受强碱性溶液。而以刚性高聚合物为填料的 PLRP-S 净化柱不受净化液酸碱影响, 满足该试验中耐强碱需求; 同时 PLRP-S 色谱柱具有反相色谱吸附分离原理, 疏水键作用在填料与目标物吸附洗脱中起主要作用, 皂液中 VA、VD 和 VE 可以完全被吸附到 PLRP-S 柱上^[15-20]。因此试验采用 PLRP-S 作为皂化液净化柱, 强碱皂化液经过 PLRP-S 时目标物被保留, 碱液和极性样品基质被 40%乙腈冲洗到废液管路, 而净化柱和仪器系统不受任何破坏。PLRP-S 柱上吸附的 VA、VD 和 VE 可采用 80%乙腈进行洗脱。

3.3 方法学考察

3.3.1 线性、定量限、精密度、准确度的考察

以化合物峰面积为纵坐标、浓度为横坐标建立各化合物的标准曲线, 结果显示在标曲范围内, VA、D2、D3、

delta-VE、gamma-VE 和 alpha-VE 的线性系数均大于 0.999, 说明各化合物在标曲范围内有良好的线性关系。

分别取各化合物的标准溶液逐级稀释, 分别以 $S/N \geq 3$ 和 $S/N \geq 10$ 计算方法确定 VA、D2、D3、delta-VE、gamma-VE 和 alpha-VE 的仪器检出限和定量限; 按照试验 2.2 的条件确定各化合物的方法定量限(见表 4), 确定的方法定量限均不高于 GB 5009.82-2016 方法一和方法四的定量限, 因此该测试方法可满足目前食品中 VA、VE 和 VD 的检测。

选取配方奶粉、维生素片、植物油、有机米粉、固体饮料、营养面条、坚果等多种食品基质, 对 6 种不同化合物进行 6 次重复性试验, 结果如表 5 和表 6 所示测试结果一栏(由于实际样品中不含 D2, 表中 D2 的测定数据均为加标数据)。

分别以 VA、D2、D3、delta-VE、gamma-VE 和 alpha-VE 的定量限为基础, 进行 3 水平加标试验, 结果显示 6 种化合物的 3 水平加标的回收率均在 90.4%~101.7%之间, 3 次平行测试的相对偏差 0.57%~5.27%之间, 结果如表 7 所示。

3.3.2 实际样品的测定

选取配方奶粉、维生素片、植物油、有机米粉、固体饮料、营养面条、坚果等多种食品基质, 分别用本方法和 GB 5009.82-2016(第一法和第四法)对不同化合物进行测试, 结果显示 2 个方法测试结果相对差异(relative percent difference, RPD)均小于 10%, 如表 5 和表 6 所示。

4 结 论

本试验以三泵两阀搭建了 VA、VE 和 VD 的二维液相色谱检测方法, 确定了该检测方法 VA、VE 和 VD 的定量限分别为 30 μg/100 g、120 μg/100 g 和 2 μg/100 g。该定量限与 GB 5009.82-2016 的方法一、方法四的定量限一致, 经多种食品基质验证该法可满足食品中 VA、VE 和 VD 的检测。本研究建立的测试方法极大地改变了 VA、VE、VD 的耗时、费力和低效率的测试现状, 提高了测试的自动化水平, 适应了当前食品安全检测的需求。

表 4 方法定量限
Table 4 Limits of quantification of the method

	VA	D2	D3	delta-VE	gamma-VE	alpha-VE
仪器检出限/(ng/mL)	2.2	0.3	0.3	10.0	9.2	15.0
仪器定量限/(ng/mL)	8.8	0.8	0.8	39.0	41.0	40.0
方法检出限/(μg/100 g)	4.4	0.6	0.6		30	
方法定量限/(μg/100 g)	17.6	1.6	1.6		85.0	
GB 定量限/(μg/100 g)	30	2	2		120 (方法一)	

GB 5009.82-2016方法中含有beta-VE的测试,本试验由于PLRP-S材料性质和4个VE化合物性质的限制无法对4个VE进行分离^[2,15,18]。试验后期更换一维色谱柱、二维色谱柱及调节流动相条件完成了4个VE的同时分离,但采用一次切割无法完成一针同时分离VA、D2、D3和4种VE共7个化合物;由于材料和化合物性质的限制,完成

7种脂溶性维生素的测试需对一维色谱上D2、D3和beta-VE、gamma-VE 2对化合物进行2次切割,才能完成一针分析7个化合物,但此系统的硬件配置会明显增加测试成本,由于仪器硬件成本原因,本试验未进行2次分割系统的搭建;因此本试验测试化合物中没有涵盖beta-VE的测试。

表5 VA和VD测试结果($\mu\text{g}/100\text{g}$, $n=3$)
Table 5 Test result of VA and VD($\mu\text{g}/100\text{g}$, $n=3$)

化合物		配方奶粉	维生素片	有机米粉	面制品	固体饮料
VA	试验结果	721.08±3.64	8885.67±8.82	516.95±2.18	732.65±6.33	1055.85±35.65
	GB结果	690.80	8650.50	505.40	701.50	998.57
	RPD/%	4.28	2.68	2.26	4.33	5.56
D2	试验结果	8.27±0.22	18.97±0.47	6.52±0.12	3.52±0.19	2.93±0.14
	GB结果	7.80	18.10	6.30	3.20	2.70
	RPD/%	5.80	4.65	3.36	9.45	8.28
D3	试验结果	11.45±0.24	91.97±1.07	7.00±0.11	7.26±0.06	2.80±0.06
	GB结果	10.50	88.40	6.60	6.70	2.60
	RPD/%	8.60	3.93	5.93	8.09	7.41

表6 VE测试结果($\text{mg}/100\text{g}$, $n=3$)
Table 6 Test result of VE ($\text{mg}/100\text{g}$, $n=3$)

化合物		配方奶粉	鸡蛋(delta-, alpha-VE) 维生素片(gamma-VE)	营养素胶囊	玉米油	坚果
delta-VE	试验结果	1.42±0.03	0.27±0.01	10.35±0.35	2.87±0.11	1.24±0.03
	GB结果	1.32	0.25	9.85	2.69	1.19
	RPD/%	7.17	8.81	4.96	6.67	4.44
gamma-VE	试验结果	3.62±0.03	0.50±0.02	42.47±0.67	65.13±0.76	4.16±0.07
	GB结果	3.45	0.48	38.57	60.29	4.08
	RPD/%	4.65	4.71	9.7	7.77	1.96
alpha-VE	试验结果	24.21±0.16	193.29±1.77	2027.63±44.19	15.39±0.21	7.57±0.05
	GB结果	23.41	189.37	1887.29	14.57	7.52
	RPD/%	3.36	2.04	7.12	5.53	0.71

表7 3水平加标回收率 ($n=6$)
Table 7 Recoveries of 3 spiked levels ($n=6$)

化合物	加标水平/ $(\mu\text{g}/100\text{g})$	平行 1/%	平行 2/%	平行 3/%	平均值/%	RSD/%
VA	30	100.2	90.5	91.8	94.2	5.27
	60	91.5	93.1	89.5	91.4	1.80
	150	90.5	91.5	93.8	91.9	1.69
D2	2	103.1	100.5	101.4	101.7	1.32
	4	91.4	92.3	96.2	93.3	2.55
	10	92.7	95.4	98.1	95.4	2.70
D3	2	101.4	100.7	102.3	101.5	0.80
	4	94.8	93.7	94.0	94.2	0.57
	10	96.4	98.1	93.9	96.1	2.11

续表 7

化合物	加标水平/($\mu\text{g}/100\text{g}$)	平行 1%	平行 2%	平行 3%	平均值/%	RSD/%
delta-VE	120	95.4	93.7	97.5	95.5	1.90
	240	92.5	90.4	92.8	91.9	1.31
	600	92.7	94.8	96.7	94.7	2.00
gamma-VE	120	92.6	93.4	91.2	92.4	1.11
	240	92.7	91.8	91.3	91.9	0.71
	600	90.8	94.5	96.0	93.8	2.68
alpha-VE	120	89.4	90.4	91.5	90.4	1.05
	240	90.5	94.8	91.9	92.4	2.19
	600	92.3	94.8	95.1	94.1	1.54

参考文献

- [1] Stillwell W. An Introduction to biological membranes (second edition) [M]. Amsterdam: Elsevier Science, 2016.
- [2] Finley JW, Demand JM. Principles of food chemistry [Z].
- [3] Debelo H, Novotny JA, Ferruzzi MG. Vitamin A [J]. *Adv Nutr*, 2017, 8(6): 992-994.
- [4] Fujita M, Rendon M. Nutrition in Infancy: Volume 1 [M]. New Jersey: Humana Press, 2013.
- [5] 中国营养学会. 中国居民膳食营养素参考摄入量[M]. 北京: 北京科学出版社, 2013.
Chinese Society of Nutrition. Reference intake of dietary nutrients for Chinese residents [M]. Beijing: Beijing Science Publishing Press, 2013.
- [6] Elizabeth DFD, Mesquita-Martinião LV, Lopes-Lima LL, *et al.* Acute kidney injury due to excessive and prolonged intramuscular injection of veterinary supplements containing vitamins A, D and E: A series of 16 cases [J]. *Nefrologia*, 2017, 37(1): 61-67.
- [7] Niki E. Role of vitamin E as a lipid-soluble peroxy radical scavenger: *In vitro* and *in vivo* evidence [J]. *Free Rad Biol Med*, 2014, 66(8): 3-12.
- [8] Fanali C, D'Orazio G, Fanali S, *et al.* Advanced analytical techniques for fat-soluble vitamin analysis [J]. *Trac-Trend Anal Chem*, 2017, (87): 82-97.
- [9] 郑熠斌. 食品中维生素 A, D, E 的检测方法研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2016.
Zheng YB. Study on the analysis methods of vitamin A, Vitamin D and Vitamin E in food [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2016.
- [10] GB 5009.82-2016 食品安全国家标准 食品中维生素 A, D, E 的测定[S]. GB 5009.82-2016 National food safety standard-Determination of Vitamin A, D, E in food [S].
- [11] Woollard DC, Bensch A, Indyk H, *et al.* Determination of vitamin A and vitamin E esters in infant formulae and fortified milk powders by HPLC: Use of internal standardization [J]. *Food Chem*, 2016, 197(A): 457-465.
- [12] 张艳海, 张大伟, 曹莹, 等. 在线二维反相色谱法快速测定维生素 AD 制剂中维生素 A、D 的含量[J]. *分析测试学报*, 2016, 35(1): 28-34.
Zhang YH, Zhang DW, Cao Y, *et al.* Simultaneous determination of Vitamins A, D in Vitamin A and D pharmaceutical by online two-dimensional reverse-phase liquid chromatography [J]. *J Instrum Anal*, 2016, 35(1): 28-34.
- [13] Plozza T, Trenerry VC, Caridi D. The simultaneous determination of vitamins A, E and β -carotene in bovine milk by high performance liquid chromatography-ion trap mass spectrometry (HPLC-MSⁿ) [J]. *Food Chem*, 2012, 134(1): 559-563.
- [14] 林玉宙, 吴宏, 郭荣烁, 等. 二维液相色谱双检测器法同时测定婴幼儿配方奶粉、米粉中维生素 A, D3 和 E 的含量[J]. *食品工业科技*, 2015, 37(20): 68-77.
Lin YZ, Wu H, Guo RS, *et al.* Simultaneous determination of vitamin A, D₃ and E in infant formula milk powder and rice flour by two-dimensional liquid chromatography/double detector [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2015, 37(20): 68-77.
- [15] Davankov V, Tsyurupa M. Chapter 13 - hypercrosslinked polystyrene as column packing material in HPLC [J]. *Compreh Anal Chem*, 2011, (56): 503-521.
- [16] Dzhabiya SA, Kurbatova SV. Sorbent effect on retention of benzotriazoles in RP HPLC [J]. *Russ J Phys Chem A*, 2015, 89(10): 1907-1913.
- [17] Sychow CS, Ilyin MM, Davankov VA, *et al.* Elucidation of retention mechanisms on hypercrosslinked polystyrene used as column packing material for high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1030(1-2): 17-24.
- [18] Davankov VA, Tsyurupa MP. Structure and properties of porous hypercrosslinked polystyrene sorbents styrosorb [J]. *Pure Appl Chem*, 1989, 61(11): 1881-1888.
- [19] Saifutdinov B, Davankov V, Petukhova G, *et al.* Thermodynamics of liquid-phase adsorption on hypercrosslinked polystyrene networks with ultimate degrees of crosslinking [J]. *Dokl Phys Chem*, 2015, 462(2): 135-139.
- [20] Wu D, Nedev GK, Lucy CA. Retention mechanism of hypercrosslinked polystyrene silica hybrid phase in normal phase chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2014, (1370): 50-55.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介

陈建彪, 硕士, 主要研究方向为食品的检测研究。

E-mail: 410071841@qq.com