

# 液相色谱-质谱联用法测定保健食品中 9种脂溶性维生素

王 聪, 梁瑞强, 曹 进\*, 王钢力, 丁 宏, 张庆生  
(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

**摘 要:** **目的** 建立同时测定保健食品中 9 种脂溶性维生素的液相色谱-质谱联用法。**方法** 用适合的有机溶剂充分溶解试样中的脂溶性维生素, 超声提取一段时间后, 经液相色谱-质谱联用仪进行测定。采用标准样品定量离子外标法定量, 以 ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱, 对色谱条件、质谱条件进行优化后, 通过分子离子峰、二级碎片、色谱保留时间等信息, 对片剂、软胶囊基质中的 9 种脂溶性维生素进行定量测定。**结果** 9 种脂溶性维生素标准品溶液浓度和检测响应的线性关系良好, 其相关系数  $r$  均大于 0.99; 检出限为 0.226~23.5  $\mu\text{g/L}$ , 定量限为 1.79~70.6  $\mu\text{g/L}$ , 方法准确度、精密度、重复性均可满足要求。**结论** 运用液相色谱质谱联用法可同时测定保健食品中的 9 种脂溶性维生素, 并在很大程度上简化了提取过程、提高了实验效率, 该方法快捷、简便、准确。

**关键词:** 保健食品; 脂溶性维生素; 液相色谱质谱联用法

## Determination of 9 kinds of fat-soluble vitamins in healthy foods by liquid chromatography-mass spectrometry

WANG Cong, LIANG Rui-Qiang, CAO Jin\*, WANG Gang-Li, DING Hong, ZHANG Qing-Sheng  
(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the simultaneous determination of fat-soluble vitamins in healthy foods by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). **Methods** The samples were extracted by ultrasonic in organic solvents, then determined by LC-MS. Quantitative ions of standards in external standard method were used as analysis of quantification. The chromatography and mass spectrometry was optimized using an ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> column. Nine kinds of fat-soluble vitamins added in health foods were determined qualitatively and quantitatively based on the information of molecular ion mass, specific fragment ions and chromatographic retention. **Results** The linearity of 9 kinds of fat-soluble vitamins was good with  $r > 0.99$ . Limits of determination of 9 kinds of vitamins were 0.226~23.5  $\mu\text{g/L}$ , and limits of quantitation were 1.79~70.6  $\mu\text{g/L}$ . Precision, accuracy and repeatability was all satisfied. **Conclusion** This method is simple and reproducible, which can be applied in analysis of fat-soluble vitamins in healthy foods.

**KEY WORDS:** healthy food; fat-soluble vitamin; liquid chromatography-mass spectrometry

\*通讯作者: 曹进, 研究员, 主要研究方向为分析化学。E-mail: caojin@nifdc.org.cn

\*Corresponding author: CAO Jin, Professor, Institute for Food and Cosmetics Control, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing, No.2, Tiantan Xili, Beijing 100050, China. E-mail: caojin@nifdc.org.cn

## 1 引言

维生素是维持人体正常的物质代谢和某些特殊生理功能不可缺少的一类低分子有机化合物。根据维生素的物理性质不同,可分为水溶性维生素和脂溶性维生素两大类。脂溶性维生素包括维生素 A、D、E、K 等。

胡萝卜素具有较强的抗氧化性,可有效阻断细胞内的自由基反应。胡萝卜素有多种构型,如  $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -胡萝卜素、番茄红素等,其中  $\beta$ -胡萝卜素的活性最高<sup>[1]</sup>。 $\beta$ -胡萝卜素可转化成维生素 A,因此也被称为前维生素 A、维生素 A 原。维生素 A 可促进机体生长并维持上皮组织正常机能,有 A<sub>1</sub>(视黄醇)和 A<sub>2</sub>(脱氢视黄醇)两种构型, A<sub>1</sub> 多存在于哺乳动物及咸水鱼肝脏中, A<sub>2</sub> 多存在于淡水鱼肝脏中且活性较低,通常所说的维生素 A 指维生素 A<sub>1</sub><sup>[2]</sup>。维生素 A 醋酸酯也称醋酸维生素 A、醋酸视黄酯等,是国家允许的营养强化剂维生素 A 化合物来源<sup>[3]</sup>。维生素 D 的活化形式为 1,25-二羟基维生素 D,主要包括维生素 D<sub>2</sub>(麦角钙化醇)和维生素 D<sub>3</sub>(胆钙化醇)。维生素 E 是苯并二氢吡喃衍生物,包括生育酚和生育三烯酚两类,每类有  $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -4 种结构<sup>[4]</sup>,有抗凝血、抗氧化、促进纤维素溶解、稳定细胞膜等作用。在常温下,其生物活性为  $\alpha > \beta > \gamma > \delta$ <sup>[5]</sup>。维生素 K 是 2-甲基-1,4-萘醌衍生物,对骨代谢及凝血具有重要作用。广泛存在于自然界中的维生素 K 包括维生素 K<sub>1</sub>、K<sub>2</sub>。

食品中脂溶性维生素测定的现行国家标准或行业标准方法主要为高效液相色谱法,样品前处理过程复杂,样品需经皂化、多次萃取、旋转蒸发、氮气吹干、净化等多个步骤处理后才可进行检测,费时费力,一次仅可测定 1-3 种维生素成分<sup>[6-15]</sup>。目前尚无关于保健食品中脂溶性维生素测定的国家标准。由于液相色谱-质谱联用法(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)具有比高效液相色谱法更高的选择性、特异性和灵敏度,并且与一般食品相比,保健食品的基质成分相对简单,因此可简化提取过程。本研究系统地建立了液相色谱-质谱联用法,将样品用有机溶剂提取,使维生素充分溶解后,同时对 9 种脂溶性维生素进行测定,方法灵敏度高、特异性好,极大地提高了实验效率,为保健食品中维生素的测定提供了技术支持。

## 2 材料与方法

### 2.1 仪器与材料

超高效液相色谱-串联质谱仪(1290 Infinity, 6460 Triple Quad LC-MS, Agilent Technologies); 1/1 分析天平(AL204, Mettler Toledo); 1/10 分析天平(XP205, Mettler Toledo)。

甲醇、乙腈(质谱纯, Fisher); 异丙醇(色谱纯, Fisher); 丙酮、二甲基亚砜、二氯甲烷(分析纯, 北京化工厂)。

多维营养素片成人型(批号 MT4S153068, 江苏艾兰得营养品有限公司); 维生素 AD 软胶囊(批号 10244002, 国药控股星鲨制药厦门有限公司)。

维生素 A(批号 LGA0031, 纯度 95%, 北京百灵威科技有限公司); 维生素 A 醋酸酯(批号 31010, 纯度 98.3%, Dr. Ehrenstorfer GmbH); 维生素 D<sub>2</sub>(批号 23417, 纯度 100%, Accu Standrad); 维生素 D<sub>3</sub>(批号 40916, 纯度 99.9%, Dr. Ehrenstorfer GmbH); 维生素 E(批号 23414-02, 纯度 100%, Accu Standrad); 维生素 E 醋酸酯(批号 41203, 纯度 98.5%, Dr. Ehrenstorfer GmbH); 维生素 K<sub>1</sub>(批号 41107, 纯度 99.9%, Dr. Ehrenstorfer GmbH); 维生素 K<sub>2</sub>(批号 LC10207, 纯度 99.9%, Supelco);  $\beta$ -胡萝卜素(批号 SLBG6787V, 纯度 95%, Sigma)。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 色谱条件

ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7  $\mu$ m), 柱温 35  $^{\circ}$ C, 流速 0.5 mL/min, 进样量: 5  $\mu$ L, 测定维生素 A、维生素 A 醋酸酯、维生素 D<sub>3</sub>、维生素 E、维生素 E 醋酸酯、维生素 K<sub>1</sub>、维生素 K<sub>2</sub>、 $\beta$ -胡萝卜素的流动相及梯度洗脱条件见表 1, 测定维生素 D<sub>2</sub> 的流动相条件为 100% 流动相 B。表 1 中流动相 A、B 两种溶剂的比例均为体积比。

表 1 流动相及梯度洗脱条件  
Table 1 Gradient elution procedures

时间(min)	流动相 A(乙腈:水=10:90, V:V)%	流动相 B(甲醇:乙腈=50:50, V:V)%
0.00	15.0	85.0
3.00	0.0	100.0
8.50	0.0	100.0
8.51	15.0	85.0
10.00	0.0	85.0

### 2.2.2 质谱条件

大气压化学电离源, 正离子扫描, 雾化气为氮气, 雾化气压力 45 psi, 喷雾电压 4500 V, 干燥器流速 6 L/min, 电晕电流 10  $\mu$ A。测定维生素 D<sub>2</sub> 时干燥气温度、蒸发器温度分别为 200  $^{\circ}$ C、300  $^{\circ}$ C, 测定其余 8 种脂溶性维生素时干燥气温度、蒸发器温度分别为 350  $^{\circ}$ C、500  $^{\circ}$ C。各维生素选择反应检测的优化条件见表 2。

### 2.2.3 对照品溶液制备

维生素 K<sub>1</sub> 标准储备液: 取维生素 K<sub>1</sub> 对照品约 10 mg, 置于 100 mL 棕色容量瓶中, 加入 5.0 mL 丙酮充分溶解, 用甲醇定容至刻度, 摇匀;

$\beta$ -胡萝卜素标准储备液: 取  $\beta$ -胡萝卜素对照品约 5 mg, 置于 50 mL 棕色容量瓶中, 加入二氯甲烷充分溶解并定容至刻度, 摇匀;

维生素 A、维生素 A 醋酸酯、维生素 D<sub>2</sub>、维生素 D<sub>3</sub>、维生素 E、维生素 E 醋酸酯、维生素 K<sub>2</sub> 标准储备液: 取各维生素标准物质约 10 mg, 分别置于 100 mL 棕色容量瓶中, 加入甲醇充分溶解并定容至刻度, 摇匀。

分别吸取维生素 A、维生素 A 醋酸酯、维生素 E 标准储备液 0.50 mL, 维生素 E 醋酸酯、维生素 K<sub>2</sub> 标准储备液 0.25 mL, 维生素 K<sub>1</sub> 标准储备液 0.20 mL, 维生素 D<sub>2</sub> 标准储备液 0.40 mL,  $\beta$ -胡萝卜素、维生素 D<sub>3</sub> 标准储备液 2.50 mL 于 10 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 为混合标准中间溶液, 临用时配制。

### 2.2.4 供试品制备

片剂样品: 取 20 粒以上片剂试样研磨混匀, 准

确称取均匀试样约 1.0 g 于 100 mL 棕色容量瓶中。加入 3 mL 二甲基亚砷、10 mL 二氯甲烷, 超声提取 10 min 后取出, 放至室温后, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 经 0.22  $\mu$ m 滤膜, 取滤液备用。

软胶囊样品: 取 20 粒以上软胶囊试样, 将内容物混匀, 准确称取均匀试样约 0.1 g 于 100 mL 棕色容量瓶中, 加入异丙醇 5 mL、二氯甲烷 10 mL 充分溶解, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 经 0.22  $\mu$ m 滤膜, 取滤液备用。

### 2.2.5 空白实验

分别取甲醇、不含 9 种维生素的空白基质按上述色谱及质谱条件测定。

### 2.2.6 标准工作曲线的建立

吸取适量混合标准中间溶液, 用甲醇稀释, 配制以下浓度的混合标准工作溶液, 测定并建立标准曲线。实际测定时需将空白基质按 2.2.4 项制备成溶液后, 加入混合标准中间溶液形成系列基质对照溶液, 制备工作曲线。

维生素 A、维生素 A 醋酸酯、维生素 E: 0.010、0.020、0.050、0.10、0.20、0.50  $\mu$ g/mL;

维生素 E 醋酸酯、维生素 K<sub>2</sub>: 0.0050、0.010、0.025、0.050、0.10、0.25  $\mu$ g/mL;

维生素 K<sub>1</sub>: 0.0040、0.0080、0.020、0.040、0.080、0.20  $\mu$ g/mL;

维生素 D<sub>2</sub>: 0.0080、0.016、0.040、0.080、0.16、0.40  $\mu$ g/mL;

$\beta$ -胡萝卜素、维生素 D<sub>3</sub>: 0.050、0.10、0.25、0.50、1.00、2.50  $\mu$ g/mL。

表 2 选择反应监测的优化条件

Table 2 The retention time, qualitative ion pair and quantitative ion pair of vitamins

维生素	保留时间/min	定性离子	定量离子	毛细管电压/V	碰撞能量/V
维生素 A	1.750	269/93; 269/81	269/93	135	22; 22
维生素 A 醋酸酯	2.335	269/93; 269/81	269/93	135	22; 22
维生素 D <sub>2</sub>	1.634	397/107; 397/69	397/69	135	18; 35
维生素 D <sub>3</sub>	3.796	385/367; 385/259	385/367	135	5; 5
维生素 E	4.200	431/165; 431/137	431/165	135	5; 40
维生素 E 醋酸酯	4.575	473/207; 473/165	473/207	100	8; 30
维生素 K <sub>1</sub>	4.925	451/187; 451/57	451/187	135	20; 30
维生素 K <sub>2</sub>	3.559	445/187; 445/81	445/187	135	20; 40
$\beta$ -胡萝卜素	7.397	538/177; 538/121	538/177	150	10; 20

## 2.2.7 检出限和定量限

将基质混合标准工作液逐级稀释,记录信噪比分别为3、10时的溶液浓度,以3倍信噪比作为检测限,10倍信噪比作为定量限。

## 2.2.8 精密度及稳定性

按供试品制备方法,分别在片剂、软胶囊空白基质中加入9种脂溶性维生素,按表3所示配制中浓度溶液,代入当日标准曲线计算含量及RSD,考察方法精密度和12h内的样品稳定性。

表3 9种脂溶性维生素浓度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )  
Table 3 Concentration of 9 vitamins( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

维生素	低浓度	中浓度	高浓度
维生素 A	0.050	0.20	0.40
维生素 A 醋酸酯	0.050	0.20	0.40
维生素 D <sub>2</sub>	0.040	0.16	0.32
维生素 D <sub>3</sub>	0.25	1.0	2.0
维生素 E	0.050	0.20	0.40
维生素 E 醋酸酯	0.025	0.10	0.20
维生素 K <sub>1</sub>	0.020	0.080	0.16
维生素 K <sub>2</sub>	0.025	0.10	0.20
$\beta$ -胡萝卜素	0.25	1.0	2.0

## 2.2.9 回收率

按供试品制备方法,分别在片剂、软胶囊空白基质中加入9种脂溶性维生素,按表3配制低、中、高浓度供试品溶液,代入当日标准曲线计算回收率及RSD。

## 2.2.10 含量测定及重复性

为验证方法的适用性,按供试品制备方法,制备6份供试品对男士多维矿物片、维生素AD软胶囊进行含量测定,样品中不含有的成分采用标准加入法进行测定。

## 3 结果与分析

## 3.1 空白实验

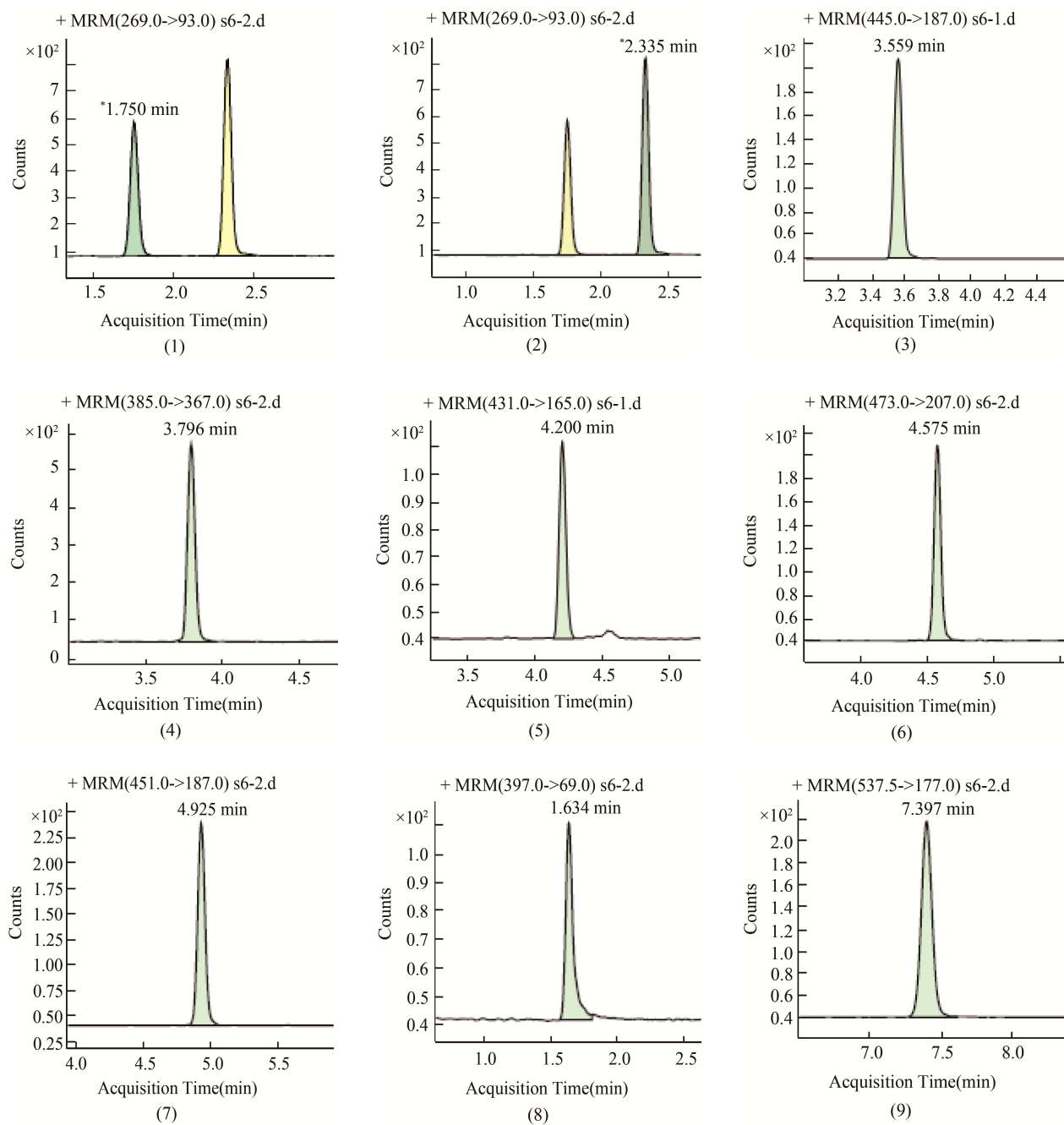
甲醇及不含9种脂溶性维生素的空白基质(片剂、软胶囊)在各维生素的提取色谱图中均无干扰。

## 3.2 标准工作曲线的建立

9种脂溶性维生素的标准样品色谱图见图1。9种脂溶性维生素的空白标准曲线及基质标准曲线见表4。9种脂溶性维生素标准品的工作液浓度和检测响应值具有出良好的线性关系,其相关系数 $r$ 均大于0.996。

表4 9种脂溶性维生素线性关系及线性范围  
Table 4 Regression equation of 9 kinds of vitamins

维生素	空白(甲醇)		片剂基质		软胶囊基质	
	线性方程	线性范围( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	线性方程	线性范围( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	线性方程	线性范围( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
维生素 A	$Y=3516.8X+13.8$	0.0100~0.502	$Y=2605.6X-5.6$	0.0100~0.502	$Y=2808.3X+0.8$	0.0100~0.502
维生素 A 醋酸酯	$Y=4910.2X+23.8$	0.0105~0.523	$Y=3187.7X+9.9$	0.0105~0.523	$Y=3396.5X+8.4$	0.0105~0.523
维生素 D <sub>2</sub>	$Y=1386.9X+6.5$	0.00812~0.406	$Y=2768.5X-6.7$	0.00812~0.406	$Y=2637.5X-5.7$	0.00812~0.406
维生素 D <sub>3</sub>	$Y=517.5X+20.3$	0.0706~3.53	$Y=333.1X-6.4$	0.0578~2.89	$Y=415.9X+3.1$	0.0578~2.89
维生素 E	$Y=458.9X+1.3$	0.0113~0.565	$Y=685.7X-1.2$	0.0219~0.548	$Y=305.2X-2.2$	0.0226~0.565
维生素 E 醋酸酯	$Y=2035.7X+19.3$	0.00583~0.292	$Y=1202.5X+6.4$	0.0117~0.292	$Y=1387.1X+10.3$	0.00583~0.292
维生素 K <sub>1</sub>	$Y=7119.9X+2.5$	0.00424~0.212	$Y=4094.4X-3.2$	0.00425~0.212	$Y=4802.2X-2.3$	0.00425~0.212
维生素 K <sub>2</sub>	$Y=2141.9X+8.1$	0.00537~0.269	$Y=1272.6X-7.4$	0.0107~0.269	$Y=1236.6X-2.6$	0.0107~0.269
$\beta$ -胡萝卜素	$Y=344.2X-2.5$	0.0550~2.75	$Y=358.5X-8.9$	0.0507~2.54	$Y=331.9X-11.9$	0.0507~2.54



注: (1)~(9)分别为维生素 A、维生素 A 醋酸酯、维生素 K<sub>2</sub>、维生素 D<sub>3</sub>、维生素 E、维生素 E 醋酸酯、维生素 K<sub>1</sub>、维生素 D<sub>2</sub>、 $\beta$ -胡萝卜素。图中横坐标为时间, 纵坐标为丰度。

图 1 9 种脂溶性维生素的液相色谱-质谱提取离子色谱图

Fig. 1 MRM of 9 kinds of vitamins

### 3.3 检出限、定量限

分别以 3 倍信噪比、10 倍信噪比时的样品浓度为检出限、定量限, 结果见表 5。9 种维生素的检出限为 0.226~23.5  $\mu\text{g/L}$ , 定量限为 1.79~70.6  $\mu\text{g/L}$ 。

### 3.4 精密度与稳定性

片剂中维生素 A 及其醋酸酯、维生素 D<sub>2</sub>、维生素 D<sub>3</sub>、维生素 E 及其醋酸酯、维生素 K<sub>1</sub>、维生素 K<sub>2</sub>、胡萝卜素的混合标准工作溶液室温放置 12 h 的

RSD 值分别为 9.4%、8.5%、3.3%、6.3%、2.6%、7.2%、2.6%、7.1%、2.1%；软胶囊中 9 种维生素的混合标准工作溶液室温放置 12 h 的 RSD 值分别为 2.2%、3.0%、1.3%、3.8%、4.3%、6.8%、4.1%、4.4%、2.4%，说明样品工作液在 12 h 内可保持稳定。片剂中 9 种维生素的日内精密度分别为 0.9%、4.7%、3.3%、7.9%、6.3%、5.3%、4.1%、1.3%、2.5%；软胶囊中 9 种维生素的日内精密度分别为 3.0%、2.9%、2.2%、6.3%、4.9%、10.5%、5.3%、7.6%、4.6%；片剂中 9 种维生素的日间精密度分别为 5.6%、9.4%、5.4%、5.9%、2.2%、7.6%、2.8%、9.9%、14.6%；软胶囊中 9 种维生素的日间精密度分别为 2.2%、7.7%、4.2%、4.8%、5.9%、4.5%、4.2%、6.8%、12.7%，方法日内、日间精密度均小于 15%。

### 3.5 回收率实验

本研究通过在基质溶液中加入高、中、低浓度的脂溶性维生素标准品来测定加标回收率，实验结果见表 6、表 7。在片剂、软胶囊两种基质中，各维生素的回收率均在 80%~120% 之间，说明此方法准确度较好，可满足一般检测要求。

### 3.6 含量测定及重复性

分别对片剂、软胶囊这两种基质的样品进行测定，

结果见表 8、表 9。结果表明本方法用于维生素样品的测定时，方法重复性良好。

表 5 9 种脂溶性维生素检测限、定量限( $\mu\text{g/L}$ )  
Table 5 Limits of determination and quantitation of 9 kinds of vitamins( $\mu\text{g/L}$ )

维生素	片剂空白基质		软胶囊空白基质	
	检测限	定量限	检测限	定量限
维生素 A	3.34	10.0	3.34	10.0
维生素 A 醋酸酯	3.48	10.5	3.48	10.5
维生素 D <sub>2</sub>	4.06	8.12	0.812	8.12
维生素 D <sub>3</sub>	23.5	70.6	23.5	70.6
维生素 E	3.76	11.3	0.226	1.13
维生素 E 醋酸酯	0.583	1.94	1.94	5.83
维生素 K <sub>1</sub>	0.708	2.12	0.708	2.12
维生素 K <sub>2</sub>	0.537	1.79	1.79	5.37
$\beta$ -胡萝卜素	18.3	55.0	5.50	18.3

表 6 9 种脂溶性维生素回收率试验结果(片剂)(%)

Table 6 Recovery experiments of tablets (%)

维生素	低浓度			中浓度			高浓度			RSD
维生素 A	94.0	94.9	88.7	93.8	98.6	97.2	99.8	103.0	101.6	4.6
维生素 A 醋酸酯	98.1	100.9	92.6	100.5	97.7	96.3	102.3	100.8	98.8	3.0
维生素 D <sub>2</sub>	98.9	102.9	101.0	98.8	100.6	99.0	99.6	102.9	99.9	1.6
维生素 D <sub>3</sub>	109.1	116.7	117.0	106.9	100.1	99.2	106.7	106.3	103.4	5.9
维生素 E	104.0	102.5	105.8	102.7	111.7	106.8	104.2	97.7	97.1	4.3
维生素 E 醋酸酯	105.6	98.7	96.3	98.3	105.3	98.8	104.8	110.6	97.8	4.8
维生素 K <sub>1</sub>	111.2	98.9	99.8	99.8	104.1	99.4	107.7	107.6	103.8	4.3
维生素 K <sub>2</sub>	110.4	100.9	114.7	97.6	96.4	99.6	102.2	105.1	97.9	6.1
$\beta$ -胡萝卜素	90.7	94.0	89.5	92.7	94.1	91.3	99.2	101.5	95.3	4.2

表 7 9 种脂溶性维生素回收率试验结果(软胶囊)(%)  
Table 7 Recovery experiments of soft capsules (%)

维生素	低浓度			中浓度			高浓度			RSD
维生素 A	98.6	100.4	95.1	102.1	95.6	99.4	103.7	91.8	91.1	4.5
维生素 A 醋酸酯	101.0	98.3	99.2	104.7	101.6	101.5	104.2	99.5	100.2	2.2
维生素 D <sub>2</sub>	111.5	108.5	111.8	109.2	110.5	106.7	117.1	114.9	112.1	2.9
维生素 D <sub>3</sub>	92.7	102.3	93.2	97.2	98.0	104.2	92.5	95.7	99.7	4.3
维生素 E	101.5	92.3	106.0	86.1	94.6	94.3	102.6	111.5	90.7	8.3
维生素 E 醋酸酯	97.4	101.6	98.2	106.1	93.0	100.5	100.9	99.7	109.8	4.8
维生素 K <sub>1</sub>	106.1	93.2	93.3	109.1	108.3	99.5	102.0	101.3	97.3	5.9
维生素 K <sub>2</sub>	101.3	114.3	86.6	87.0	110.0	96.5	100.2	96.8	101.5	9.2
$\beta$ -胡萝卜素	109.7	111.6	106.3	109.0	111.4	114.1	116.1	115.5	110.0	2.9

表 8 片剂中 9 种脂溶性维生素的含量测定结果(mg/g)  
Table 8 The content of 9 kinds of vitamins in tables(mg/g)

维生素	1	2	3	4	5	6	平均	RSD(%)
维生素 A	0.491	0.485	0.474	0.537	0.490	0.494	0.495	4.3
维生素 A 醋酸酯	0.853	0.824	0.811	0.786	0.788	0.780	0.807	3.4
维生素 D <sub>2</sub>	0.213	0.202	0.206	0.235	0.211	0.200	0.211	6.1
维生素 D <sub>3</sub>	0.0132	0.0127	0.0128	0.0127	0.0136	0.0138	0.0132	3.8
维生素 E	0.284	0.297	0.294	0.294	0.284	0.299	0.292	2.2
维生素 E 醋酸酯	49.7	49.3	51.3	47.5	53.9	47.5	49.9	4.9
维生素 K <sub>1</sub>	0.0819	0.0769	0.0736	0.0695	0.0697	0.0666	0.0730	7.7
维生素 K <sub>2</sub>	0.224	0.220	0.218	0.231	0.239	0.247	0.230	4.9
$\beta$ -胡萝卜素	0.264	0.263	0.243	0.260	0.250	0.257	0.256	3.2

表 9 软胶囊剂中 9 种脂溶性维生素的含量测定结果(mg/g)  
Table 9 The content of 9 kinds of vitamins in soft capsules(mg/g)

维生素	1	2	3	4	5	6	平均	RSD(%)
维生素 A	9.09	9.56	9.59	9.11	9.27	8.67	9.22	3.7
维生素 A 醋酸酯	45.2	46.8	45.3	44.3	44.8	44.0	45.0	2.2
维生素 D <sub>2</sub>	0.513	0.542	0.557	0.541	0.486	0.518	0.526	4.9
维生素 D <sub>3</sub>	8.51	8.14	9.66	8.34	8.30	8.74	8.62	6.4
维生素 E	9.99	9.84	8.92	9.26	9.40	9.18	9.43	4.4
维生素 E 醋酸酯	10.5	10.3	10.3	10.5	11.7	10.7	10.7	4.8
维生素 K <sub>1</sub>	10.3	9.89	10.3	9.87	10.3	9.36	10.0	3.7
维生素 K <sub>2</sub>	11.3	12.0	11.1	10.9	11.0	10.3	11.0	4.9
$\beta$ -胡萝卜素	10.6	11.3	11.2	11.1	10.5	11.4	11.0	3.5

## 4 讨 论

本研究采用大气压化学电离源,检测时,高流速比低流速具有更好的灵敏度。研究中发现,当流速为 0.2 mL/min 时,维生素 E、维生素 E 醋酸酯、 $\beta$ -胡萝卜素的峰形较差,难以准确定量,提高流速有助于改善峰形。流速增加时,系统压力也会随之增加,综合考虑色谱柱和系统耐压性,本方法采用 0.5 mL/min 的流速,不仅缩短了测定时间,且可获得令人满意的峰形。

维生素 A 醋酸酯的分子量为 328,经脱酯、脱水后,形成质荷比为 269 的母离子。维生素 A 的分子量为 286,经脱水后,也形成质荷比为 269 的母离子,因此,维生素 A 及其醋酸酯具有相同的母离子和碎片离子,需通过色谱条件将其分离,在反相色谱系统中,维生素 A 先出峰,见图 1。类似的,部分维生素 E 醋酸酯也会发生脱酯反应,出现在维生素 E 的碎片离子峰中,可通过不同的保留时间区分二者。

研究中发现,当干燥气及蒸发器温度较低时,维生素 E、维生素 E 醋酸酯及  $\beta$ -胡萝卜素的峰拖尾、分叉严重。提高温度时,上述 3 种维生素的峰形有所改善,当干燥气温度、蒸发器温度分别为 350 °C、500 °C 时,可获得满意的峰形,且三者标准曲线线性良好。而较高的干燥气、蒸发器温度会影响维生素 D<sub>2</sub> 定量,尽管维生素 D<sub>2</sub> 具有良好的峰形,但随着其浓度升高,峰面积并不成成线性增加。降低干燥气、蒸发器温度时,维生素 D<sub>2</sub> 具有良好的线性。干燥气、蒸发器温度对其余几种维生素的影响不大。

## 5 结 论

本研究建立了液相色谱-质谱串联同时检测保健食品中 9 种脂溶性维生素的方法。该方法前处理简单,提高了检测效率,降低了检测成本。本方法具有较好的线性范围,准确度、精密度均能满足一般检测要求。

### 参考文献

- [1] 吴翠栓,黄晶晶,艾秀丽,等.  $\beta$ -胡萝卜素的研究进展[J]. 中国医院药学杂志,2008,28(16): 1381.  
Wu CS, Huang JJ, Ai XL, *et al.* The review of research of  $\beta$ -carotene [J]. Chin Hosp Pharm J, 2008, 28(16): 1381.

- [2] 林仕梅. 维生素 A 和  $\beta$ -胡萝卜素在动物营养研究中的新进展[J]. 中国饲料, 1998, 13: 17.  
Lin SM. The review of research of vitamin A and  $\beta$ -carotene in animal nutrition [J]. China Feed, 1998, 13: 17.
- [3] GB 14880-2012 食品营养强化剂使用标准[S].  
GB 14880-2012 Standard for the use of nutritional fortification substances in foods [S].
- [4] 查锡良. 生物化学(第 7 版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.  
Zha XL. Biochemistry (Seventh edition) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House Co., Ltd, 2010.
- [5] 姜波, 胡文忠, 刘长建, 等. HPLC 法同时测定植物油中维生素 A 和不同构型维生素 E 含量[J]. 食品工业科技, 2015, 36(3): 320-321.  
Jiang Bo, Hu WZ, Liu CJ, *et al.* Simultaneous determination of vitamin A and different configuration of vitamin E in vegetable oils by HPLC [J]. Sci Technol Food Ind, 2015, 36(3): 320-321.
- [6] GB/T 5009.82-2003 食品中维生素 A 和维生素 E 的测定[S].  
GB/T 5009.82-2003 Determination of retinol and tocopherol in foods [S].
- [7] GB 5413.9-2010 婴幼儿食品和乳品中维生素 A、D、E 的测定[S].  
GB 5413.9-2010 Determination of vitamin A, D, E in foods for infants and young children, milk and milk products [S].
- [8] GB/T 9695.26-2008 肉与肉制品 维生素 A 含量测定[S].  
GB/T 9695.26-2008 Meat and meat products-Determination of vitamin A content [S].
- [9] GB/T 5009.83-2003 食品中胡萝卜素的测定[S].  
GB/T 5009.83-2003 Determination of carotene in foods [S].
- [10] GB 5413.35-2010 食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中  $\beta$ -胡萝卜素的测定[S].  
GB 5413.35-2010 National food safety standard-Determination of  $\beta$ -carotene in foods for infants and young children, milk and milk products [S].
- [11] NY 82.15-1988 果汁测定方法  $\beta$ -胡萝卜素的测定[S].  
NY 82.15-1988 Determination of  $\beta$ -carotene in juice [S].
- [12] GB/T 9695.30-2008 肉与肉制品 维生素 E 含量测定[S].  
GB/T 9695.26-2008 Meat and meat products-Determination of vitamin E content [S].
- [13] NY/T 1598-2008 食用植物油中维生素 E 组分和含量的测定[S].  
NY/T 1598-2008 Determination of tocopherol content in edible vegetable oils [S].



- [14] GB/T 5009.158-2003 蔬菜中维生素 K<sub>1</sub> 的测定[S].  
GB/T 5009.158-2003 Determination of vitamin K<sub>1</sub> in vegetables [S].
- [15] GB 5413.10-2010 食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中维生素 K<sub>1</sub> 的测定[S].  
GB 5413.10-2010 National food safety standard-Determination of vitamin K<sub>1</sub> in foods for infants and young children, milk and milk products [S].

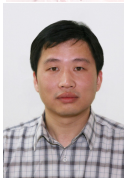
(责任编辑: 杨翠娜)

### 作者简介



王 聪, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为食品化学检测。

E-mail: wangcong351@126.com



曹 进, 博士, 研究员, 主要研究方向为分析化学。

E-mail: caojin@nifcd.org.cn