

正己烷提取-高效液相色谱法及其串联质谱法分别测定婴幼儿配方奶粉中维生素 A、D₃ 含量

田良良, 黄冬梅, 蔡友琼, 王媛, 孔聪*

[中国水产科学研究院东海水产研究所, 农业农村部水产品质量监督检验测试中心(上海), 上海 200090]

摘要: **目的** 建立正己烷提取, 高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)和高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)分别测定婴幼儿配方奶粉中维生素 A (vitamin A, VA)和维生素 D₃ (vitamin D₃, VD₃)含量的方法。**方法** 样品中加入 VD₃-d₃ 内标后皂化, 正己烷提取, 采用去离子水清洗正己烷提取液以去除提取液中的氢氧化钾。加入氯化钠促进水和正己烷两相分层, 将洗至中性的正己烷提取液浓缩至干。加入甲醇定容至 10 mL, 取 1 mL 溶液用高效液相色谱法测定 VA。剩余的 9 mL 定溶液浓缩至干后再用 1 mL 甲醇复容, 采用高效液相色谱-串联质谱法测定 VD₃。**结果** VA 的线性范围为 0.2~6.0 μg/mL, 方法检出限为 30 μg/100 g, 方法定量限为 100 μg/100 g; VD₃ 的线性范围为 0.01~0.20 μg/mL, 方法检出限为 0.5 μg/100 g, 方法定量限为 1.0 μg/100 g。批内相对标准偏差和批间相对标准偏差均小于 5%。使用该方法成功通过了 2020 年婴幼儿配方奶粉中 VA、VD₃ 样品能力验证考核。**结论** 该方法所用提取试剂少且操作简单快捷, 适用于婴幼儿配方奶粉中 VA 和 VD₃ 的测定。**关键词:** 婴幼儿配方奶粉; 维生素 A; 维生素 D₃; 正己烷; 高效液相色谱法; 高效液相色谱-串联质谱法

Determination of vitamin A and D₃ in infant formula milk powder by n-hexane extraction-high performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry

TIAN Liang-Liang, HUANG Dong-Mei, CAI You-Qiong, WANG Yuan, KONG Cong*

[Aquatic Product Quality Inspection and Test Center (Shanghai), Ministry of Agriculture and Rural Affairs of PR China, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China]

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of vitamin A (VA) and vitamin D₃ (VD₃) in infant formula milk powder by high performance liquid chromatography (HPLC) and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). **Methods** The sample was saponified after the addition of VD₃-d₃ as internal standard, and was further extracted with n-hexane, cleaned with deionized water to remove potassium hydroxide in the extract. Sodium chloride was added to promote the two-phase stratification of water and n-hexane, and the n-hexane extract washed to neutrality was concentrated to dryness. Ten millilitres of methanol was added to dissolve the dried sample, and 1 mL of the solution was sampled for the determination of VA by HPLC. The remaining 9 mL of the fixed solution was concentrated to dryness and reconstituted with 1 mL of

*通信作者: 孔聪, 博士, 副研究员, 主要研究方向为水产品质量安全与控制。E-mail: kongc@ecsf.ac.cn

*Corresponding author: KONG Cong, Ph.D, Associate Professor, Key Laboratory of East China Sea Fishery Resources Exploitation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China. E-mail: kongc@ecsf.ac.cn

methanol for the determination of VD₃ using HPLC-MS/MS. **Results** The linear range of VA was 0.2–6.0 µg/mL, the method limit of detection was 30 µg/100 g, and the method limit of quantitation was 100 µg/100 g; the linear range of VD₃ was 0.01–0.20 µg/mL, the method limit of detection was 0.5 µg/100 g, and the method limit of quantitation was 1.0 µg/100 g. The relative standard deviations within and between batches were less than 5%. The method has been successfully used to verify the capability of VA and VD₃ samples in infant formula milk powder in 2020. **Conclusion** This method has the advantages of less extraction reagents and simple and quick operation, and is suitable for the determination of VA and VD₃ in infant formula milk powder.

KEY WORDS: infant formula milk powder; vitamin A; vitamin D₃; n-hexane; high performance liquid chromatography; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

0 引言

维生素 A (vitamin A, VA) 和维生素 D (vitamin D, VD) 都属于脂溶性维生素, 是人体必需的营养物质。VA 又名视黄醇, 对于婴幼儿的视力和骨骼的生长发育有很重要的作用, 缺乏会得夜盲症, 过量则会引起腹痛、厌食、呕吐、视觉模糊、头痛及新生儿和婴儿凶门突起等疾病^[1]。VD 有助于钙的吸收, 对保持人体钙磷平衡具有重要作用, 缺乏可导致佝偻病、软骨病等多种疾病, 过量则会导致高钙血症和高钙尿症^[1]。具有生物活性的 VD 主要是维生素 D₂ (vitamin D₂, VD₂) 和维生素 D₃ (vitamin D₃, VD₃), 虽然两者都有强化食品中 VD 的功能, 但联合国粮食及农业组织及世界卫生组织发布的标准 CODEX STAN 72—1981《婴儿配方食品和特殊医疗用途婴儿配方》中规定, 婴儿配方奶粉通常添加 VD₃, 所以对于婴幼儿配方奶粉主要是监测 VD₃ 的含量。由于婴幼儿食物来源单一, 为了保证婴幼儿的健康, 我国 GB 10767—2010《食品安全国家标准 较大婴儿和幼儿配方食品》和 GB 10765—2010《食品安全国家标准 婴儿配方食品》对婴幼儿配方食品中的营养成分进行了规定, 其中维生素是必须强化的营养物质之一, VA 的限量范围为 14~54 µg/kJ, VD 的限量范围为 0.25~0.75 µg/kJ。按照每 100 g 婴幼儿配方奶粉大约 2000 kJ 计算, 婴幼儿配方奶粉中 VA 限量范围为 280~1080 µg/kg, VD₃ 的限量范围为 5~15 µg/kg。

目前关于 VA 常用的检测方法主要有正相液相色谱法^[2-3]、反相液相色谱法^[4-5]、液相色谱-质谱/质谱法^[6-9], 关于 VD₃ 常用的检测方法主要有液相色谱法^[4,10-11]、液相色谱-质谱/质谱法^[6,12-15], 其他已报道的方法还有探针法^[16]和电化学传感器法^[17-18]等, 关于 VA 和 VD 共同测定的方法也有报道^[4,6,9,19-21]。对于婴幼儿配方奶粉中 VA 和 VD₃ 同时检测的方法主要是液相色谱法^[4,19]、液相色谱-串联质谱法^[6,9,20-21]。液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿配方奶粉中的 VA 对净化效果要求较高, 而我国标准中婴幼儿配方奶粉中 VA 的最低限量为 280 µg/kg, 数值较高, 采用液相色谱法即可满足要求。对于 VD, 采用液相色谱法测定时, 还需要正相色谱或

者二维色谱进行分离才可以满足液相色谱法测定的要求, 方法复杂, 仪器性能要求高, 而我国标准中婴幼儿配方奶粉 VD₃ 的最低限量为 5 µg/kg, 数值较低, 采用液相色谱-串联质谱法测定会更为简单准确。所以对于婴幼儿配方奶粉中 VA 的测定采用液相色谱法较好, VD₃ 的检测采用液相色谱-串联质谱法较好。目前已报道的关于婴幼儿配方奶粉中 VA 和 VD₃ 的检测方法中, 提取试剂用量较大、前处理方法操作耗时。鉴于此, 本研究建立正己烷提取后, 分别采用高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 及高效液相色谱-串联质谱法 (high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS) 测定婴幼儿配方奶粉中 VA、VD₃ 含量的检测方法, 以期对婴幼儿配方奶粉中 VA、VD₃ 含量的准确测定提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

VA (纯度 ≥ 99%, 中国 BePure 公司); VD₃ (纯度 ≥ 99.6%, 德国 Dr. Ehrenstorfer 公司); VD₃-d₃ (1.039 mg/mL, 美国 IsoSciences 公司); VA 和 VD₃ 的质控样品 (VA 的特性区间范围为 496~633.6 µg/100 g, VD₃ 的特性区间范围为 8.517~11.381 µg/100 g, 中国检验检疫科学研究院测试评价中心); 正己烷、无水乙醇、甲醇 (色谱纯, 美国 J.T Baker 公司); 抗坏血酸 (纯度 ≥ 99.0%, 美国 Sigma 公司); 2,6-二叔丁基对甲酚 (色谱纯, 美国 Aldrich 公司); 氢氧化钾、无水硫酸钠、氯化钠 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

Agilent 1200 液相色谱仪 (配紫外检测器, 美国 Agilent 公司); Qtrap 5500 液相色谱串联三重四极杆质谱仪 [配有电喷雾离子源 (electrospray ionization, ESI), 美国 AB SCIEX 公司]; RE-52AA 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂)。

1.3 溶液配制

VA 标准储备溶液配制: 准确称取 25.0 mg VA 标准物质, 用无水乙醇溶解后转移入 50 mL 容量瓶中, 定容至刻度。将溶液转移至棕色试剂瓶中, 冷冻密封保存。临用前将溶液回

温至 20 °C, 并按照标准 GB 5009.82—2016《食品安全国家标准 食品中维生素 A、D、E 的测定》附录 B 进行浓度校正。

VD₃ 标准储备溶液配制: 准确称取 10.0 mg VD₃ 标准物质, 用无水乙醇溶解后转移入 100 mL 容量瓶中, 定容至刻度。将溶液转移至棕色试剂瓶中, 冷冻密封保存。临用前将溶液回温至 20 °C, 并按照标准 GB 5009.82—2016 附录 B 进行浓度校正。

内标 VD₃-d₃ 标准中间液配制(1.0 μg/mL): 准确量取 96.2 μL 1.039 mg/mL 的 VD₃-d₃ 内标溶液加入 100 mL 容量瓶中, 用甲醇定容。将溶液转移至棕色试剂瓶中, 冷冻密封保存。临用前将溶液回温至 20 °C。

VA 标准中间液配制(10.0 μg/mL): 根据校正的储备液浓度, 准确吸取一定量的储备液于 25 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度。冷冻密封避光保存。

VD₃ 标准中间液配制(1.0 μg/mL): 根据校正的储备液浓度, 准确吸取一定量的储备液于 25 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度。冷冻密封避光保存。

VA 标准系列工作液配制: 分别吸取 VA 标准中间液 0.20、0.50、1.00、2.00、4.00、6.00 mL 于 10 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 混匀。此标准系列工作液质量浓度分别为 0.20、0.50、1.00、2.00、4.00、6.00 μg/mL。

VD₃ 标准系列工作液配制: 分别吸取 VD₃ 标准中间液 0.10、0.20、0.50、1.00、1.50、2.00 mL 于 10 mL 棕色容量瓶中, 各加入 VD₃-d₃ 内标标准中间液 1.00 mL, 用甲醇定容至刻度, 混匀。此标准系列工作液质量浓度分别为 0.01、0.02、0.05、0.10、0.15、0.20 μg/mL。

氢氧化钾溶液(50 g/100 g): 称取 50 g 氢氧化钾, 加入 50 mL 水溶解, 冷却后, 储存于聚乙烯瓶中。

1.4 实验方法

1.4.1 皂化

准确称取(2.00±0.05) g 奶粉于 50 mL 离心管中, 加入 100 μL VD₃-d₃ 标准中间液、0.4 g 抗坏血酸和 0.1 g 2,6-二叔丁基对甲酚, 加入 6 mL 温水, 将奶粉充分溶解, 混匀; 加入 10 mL 无水乙醇和 6 mL 氢氧化钾溶液(50 g/100 g), 充分振荡混匀, 80 °C 皂化 30 min, 冷却。

1.4.2 提取

加入 10 mL 正己烷充分振荡提取, 静置, 取上清液移入另一 50 mL 离心管中, 再加入 10 mL 正己烷提取一次, 合并正己烷。

1.4.3 洗涤

在正己烷提取液中加入 10 mL 水, 振荡, 加入 2 g 氯化钠, 振荡溶解氯化钠, 静置分层, 去掉下层水, 再加入 10 mL 水清洗一次。

1.4.4 浓缩

将上层正己烷转移入另一 50 mL 离心管中, 加入适量无水硫酸钠, 充分振荡, 静置, 将正己烷转移入棕色鸡心

瓶中, 40 °C 减压蒸干, 用甲醇分次将蒸发瓶中的残留物溶解并转移至 10 mL 容量瓶, 定容, 取 1 mL 进行 HPLC 测定 VA, 剩余的 9 mL 定溶液浓缩后再用 1 mL 甲醇复容, HPLC-MS/MS 测定 VD₃。

1.4.5 HPLC 分析 VA 的条件

色谱柱: Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温: 20 °C; 紫外检测器波长: 325 nm; 进样量: 10 μL; 流速: 1.2 mL/min; 流动相 A: 甲醇, 流动相 B: 水; 洗脱梯度见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序
Table 1 Mobile phase gradient elution program

时间/min	A/%	B/%	流速/(mL/min)
0.0	90	10	1.2
2.0	90	10	1.2
7.0	100	0	1.2
14.0	100	0	1.2
16.0	90	10	1.2
19.0	90	10	1.2

1.4.6 HPLC-MS/MS 分析 VD₃ 的条件

色谱条件: 色谱柱为 CAPCELL PAK MGII (100 mm×2.1 mm, 3 μm); 柱温: 40 °C; 进样量: 5 μL; 流速: 0.7 mL/min。流动相: A 为水(0.1%甲酸), B 为甲醇(0.1%甲酸); 梯度洗脱程序见表 2。

表 2 流动相梯度洗脱程序
Table 2 Mobile phase gradient elution program

时间/min	B/%	流速/(mL/min)
0.01	80	0.7
1.00	95	0.7
9.20	100	0.7
9.50	80	0.7
10.00	80	0.7

质谱条件: 离子化模式为电喷雾电离(electrospray ionization, ESI), 正离子模式; 扫描方式为选择反应监测(selective response monitoring, SRM), 选择反应监测母离子、子离子和碰撞能量见表 3; 喷雾电压为 5500 V; 温度为 550 °C; 气帘气为 40 psi; 喷雾气为 50 psi; 辅助加热气为 60 psi; 碰撞气为 medium。

表 3 选择反应监测母离子、子离子和碰撞能量
Table 3 Precursor ions, product ions and collision energy of SRM

目标化合物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能量/eV
VD ₃	385.4	259.5*	31
		159	45
VD ₃ -d ₃	388.4	259.5	30

注: *为定量碎片离子。

1.5 标准曲线绘制

将 VA 标准系列工作液采用高效液相色谱法测定, 以峰面积为纵坐标(Y)、以工作液浓度(X, μg/mL)为横坐标绘制标准曲线, 计算回归方程和相关系数, 外标法定量。

将 VD₃ 标准系列工作液采用高效液相色谱-串联质谱法测定, 以 VD₃ 与同位素内标的峰面积比值为纵坐标(Y), 以 VD₃ 工作液浓度(X, μg/mL)为横坐标绘制标准曲线, 计算回归方程和相关系数, 内标法定量。

1.6 检测结果计算

试样中 VA 或 VD₃ 的含量按式(1)计算:

$$X = \frac{C \times V \times f \times 100}{m} \quad (1)$$

式中: X, 维生素的含量, μg/100 g; C, 根据标准曲线计算得到维生素的浓度, μg/mL; V, 定容体积, mL; f, 稀释倍数, VD₃ 因其为内标法, 故稀释倍数为 1; 100, 换算系数; m, 称样量, g。

2 结果与分析

2.1 标准溶液的稳定性

使用标准溶液前, 将 VA 和 VD₃ 储备液按标准 GB 5009.82—2016 附录 B 进行浓度校正。在-20 °C 储存条件下, 发现随着储存时间的推移, 维生素标准储备液的浓度呈下降趋势, VA 标准储备液的浓度下降速度先快后慢, 9 d 浓度下降了 50% 以上; VD₃ 标准储备液的浓度下降相对缓慢, 27 d 浓度下降 10%, 见图 1。虽然 VA 浓度下降快, VD₃ 浓度下降慢, 但为了保证检测结果的准确性, 标准溶液都需要在使用前进行浓度校正, 以免造成误差。

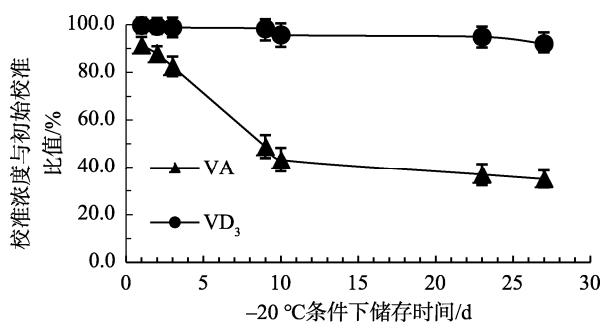


图 1 VA 和 VD₃ 储备液浓度在-20 °C 储存条件下的稳定性结果(n=3)

Fig.1 Stability results of concentration for VA and VD₃ stock solution at -20 °C (n=3)

2.2 皂化条件的选择

对比常温皂化过夜和 80 °C 皂化 30 min 2 种条件对质控样品的皂化效果, 发现常温皂化溶液的颜色呈浅棕色, 80 °C 皂化溶液的颜色呈深棕色, 2 种皂化条件下 80 °C 皂化

30 min 的测定值略高, 为了节省皂化时间, 采用 80 °C 皂化 30 min 的方法。

2.3 提取溶剂的优化

采用 VA 和 VD₃ 的质控样品对提取试剂石油醚和正己烷进行实验, 发现这 2 种试剂对 VA 的回收率都可以达到 90% 以上, 但采用石油醚提取时 VD₃ 的回收率不到 80%, 采用正己烷提取时 VD₃ 的回收率达到 90% 以上, 故选择正己烷作为提取溶剂。

2.4 净化方法的优化

采用水洗涤正己烷提取液后静置分层比较慢, 而且会出现乳化不分层现象, 为了解决这个问题, 本研究采用了加入 2 g 氯化钠的方法来达到破乳和加快分层的目的, 同时减小了水相和有机相互溶解的比例, 从而减少提取液损失, 有利于提高回收率。

2.5 VA 前处理方法的对比

通过表 4 中标准方法 GB 5009.82—2016 与本研究方法检测 VA 的对比可以看出, 本研究方法在所用的水、无水乙醇、氢氧化钾、提取试剂等的用量都减少了 2/3 以上, 相比于标准方法更为环保。同时由于本研究方法所用试剂比较少, 可以直接在 50 mL 离心管中进行皂化和提取, 不需要中间溶液的转移, 既简化了操作步骤, 又节约了时间。

表 4 标准方法 GB 5009.82—2016 与本研究方法检测 VA 的对比
Table 4 Comparison of GB 5009.82—2016 with this method for determination of VA

试剂用量对比	GB 5009.82—2016/mL	本研究方法 /mL
溶解用水	20	6
无水乙醇	30	10
氢氧化钾溶液	10~20	6
提取试剂	100	30
洗涤水	300	20

2.6 方法准确度和精密度

VA 的标准曲线方程为 $Y=56.9718828X+1.6728446$, $r^2=0.99976$, 线性范围为 0.2~6.0 μg/mL, 方法检出限为 30 μg/100 g, 方法定量限为 100 μg/100 g; VD₃ 的标准曲线方程为 $Y=0.01573X-0.37585$, $r^2=0.99753$, 线性范围为 0.01~0.20 μg/mL, 方法检出限为 0.5 μg/100 g, 方法定量限为 1.0 μg/100 g。本研究方法线性关系好, 灵敏度较高。

本方法是专门针对婴幼儿配方奶粉的方法, 婴幼儿配方奶粉按照国家规定 VA 限量范围为 280~1080 μg/kg, VD₃ 的限量范围为 5~15 μg/kg。由于质控样品的制作工艺与实际样品更为接近, 所以为了更为准确地验证方法的准确度和精密度, 选择了符合此区间要求的质控样品来进行方法验证。质控样品的 VA 的标准值区间为 496~

633.6 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, VD_3 的标准值区间为 8.517~11.381 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, 结果见表 5。该方法的测定值均在质控样品的质控区内,

且批内相对标准偏差和批间相对标准偏差均小于 5%, 说明该方法的准确度和精密度都满足要求。

表 5 VA 和 VD_3 的准确度和精密度 ($n=6$)
Table 5 Accuracy and their precisions of VA and VD_3 ($n=6$)

种类	次数	平均值/ $(\mu\text{g}/100\text{ g})$	批内相对标准偏差/%	批间相对标准偏差/%
VA	1	540	2.27	2.46
	2	567	2.92	
	3	557	2.03	
VD_3	1	9.90	4.23	1.12
	2	9.82	2.97	
	3	10.0	3.78	

2.7 考核结果

采用该方法参加 2020 年国家市场监督管理总局组织开展的国家级检验检测机构能力验证计划中婴幼儿配方乳粉中维生素的测定项目(项目编号: CNCA-20-03), VA 检测值为 523 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 和 732 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, VD_3 检测值为 10.4 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 和 9.02 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, 结果合格, 通过测试。

3 结论

本研究建立了正己烷提取后, 分别采用 HPLC 和 HPLC-MS/MS 测定婴幼儿配方奶粉中维生素 A、 D_3 含量的检测方法。本方法所用的试剂溶液比标准 GB 5009.82—2016 第一法少 2/3, 对于 VD_3 的测定本研究不采用固相萃取柱, 简化了实验步骤。通过质控样品的验证, 方法准确度和精密度均满足方法要求。研究结果可为婴幼儿配方奶粉中维生素 A、 D_3 含量的准确测定提供参考。

参考文献

- [1] 毛绚霞, 蔡美琴. 脂溶性维生素安全性的临床研究(综述)[J]. 中国临床营养杂志, 2004, 12(4): 280-283.
MAO XX, CAI MQ. Clinical research on safety of fat-soluble vitamins [J]. Chin J Clin Nutr, 2004, 12(4): 280-283.
- [2] 徐锐, 陈中. 高效液相色谱法测定婴幼儿配方奶粉中维生素 A 和维生素 E 的含量[J]. 山东化工, 2019, 48(9): 136-139.
XU R, CHEN Z. Determination of vitamin A and vitamin E in infant formula milk powder by HPLC [J]. Shandong Chem Ind, 2019, 48(9): 136-139.
- [3] CHÁVEZ-SERVÍN JL, CASTELLOTE AI, LÓPEZ-SABATER MC. Simultaneous analysis of vitamins A and E in infant milk-based formulae by normal-phase high-performance liquid chromatography-diode array detection using a short narrow-bore column [J]. J Chromatogr A, 2006, 1122(1-2): 138-143.
- [4] 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、 D_3 和 E 的含量[J]. 食品工业科技, 2016, 37(20): 68-71.
LIN YZ, WU H, GUO RS, *et al.* Simultaneous determination of vitamin A, D_3 and E in infant formula milk powder and rice flour by two-dimensional liquid chromatography/double detector [J]. Sci Technol Food Ind, 2016, 37(20): 68-71.
- [5] TURNER C, MATHIASSEN L. Determination of vitamins A and E in milk powder using supercritical fluid extraction for sample clean-up [J]. J Chromatogr A, 2000, 874(2): 275-283.
- [6] 严华, 崔凤云, 别玮, 等. 稳定同位素稀释/液相色谱-串联质谱法同时测定婴幼儿配方奶粉中 5 种脂溶性维生素[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(23): 6130-6139.
YAN H, CUI FY, BIE W, *et al.* Simultaneous determination of 5 kinds of fat soluble vitamins in infant formula milk powder by stable isotope dilution/liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(23): 6130-6139.
- [7] 赵孔祥, 姜婷婷, 何佳, 等. 同位素稀释/液相色谱-串联质谱测定婴幼儿配方奶粉中脂溶性维生素[J]. 分析测试学报, 2015, 34(12): 1372-1376.
ZHAO KX, LOU TT, HE J, *et al.* Determination of fat vitamins in infant formula milk by isotope dilution/high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2015, 34(12): 1372-1376.
- [8] 黄挺, 张伟, 刘军, 等. 高效液相色谱法-同位素稀释质谱联用法对奶粉中维生素 A 含量的检测[J]. 分析测试学报, 2008, 27: 195-196.
HUANG T, ZHANG W, LIU J, *et al.* Determination of vitamin A in milk powder by high performance liquid chromatography-isotope dilution mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2008, 27: 195-196.
- [9] 朱姜, 张鹏, 杨嘉, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定奶粉中的维生素 A、维生素 D、维生素 E[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(11): 1733-1736.
ZHU J, ZHANG P, YANG J, *et al.* Determination of vitamin A, D, E in milk powder by HPLC-MS/MS [J]. Chin J Health Lab Technol, 2015, 25(11): 1733-1736.
- [10] CHEN LQ, LIU ZY, KANG XJ, *et al.* Determination of fat-soluble vitamins in food and pharmaceutical supplements using packed-fiber solid phase extraction (PFSPE) for sample preconcentration/clean-up [J]. Procedia Environ Sci, 2011, 8: 588-595.
- [11] GILL BD, ZHU XJ, INDYK KE. A rapid method for the determination of vitamin D_3 in milk and infant formula by liquid chromatography/tandem

- mass spectrometry [J]. *J AOAC Int*, 2015, 98(2): 431–435.
- [12] 严丽娟, 李文斌, 洪煜琛, 等. 液相色谱-大气压化学电离串联质谱法测定婴幼儿配方奶粉中的维生素 D[J]. *色谱*, 2017, 35(4): 427–431.
YAN LJ, LI WB, HONG YC, *et al.* Determination of vitamin D in infant formula using liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2017, 35(4): 427–431.
- [13] GOMES FP, SHAW PN, WHITFIELD K, *et al.* Simultaneous quantitative analysis of eight vitamin D analogues in milk using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 891: 211–220.
- [14] 霍艳敏, 王骏, 段文增, 等. HPLC-APCI(+)-MS/MS 测定乳制品中的维生素 D₂ 及 D₃[J]. *分析测试学报*, 2016, 35(3): 327–331.
HUO YM, WANG J, DUAN WZ, *et al.* Determination of vitamin D₂ and vitamin D₃ in dairy products by HPLC-APCI(+)-MS/MS [J]. *J Instrum Anal*, 2016, 35(3): 327–331.
- [15] GILL BD, ABERNETHY GA, GREEN RJ, *et al.* Analysis of vitamin D₂ and vitamin D₃ in fortified milk powders and infant and nutritional formulas by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: single laboratory validation, first action 2016.05 [J]. *J AOAC Int*, 2016, 99: 1321–1330.
- [16] SAFARI S, AMIRI A, BADI EI A. FRET probe for selective and sensitive detection of vitamin A by cadmium free quantum dots (ZnS) [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2020, 231: 118062.
- [17] ANUSHA T, BHAVANI KS, KUMAR J, *et al.* Designing and fabrication of electrochemical nanosensor employing fullerene-C60 and bimetallic nanoparticles composite film for the detection of vitamin D₃ in blood samples [J]. *Diam Relat Mater*, 2020, 104: 107761.
- [18] CHAUHAN D, KUMAR R, PANDA AK, *et al.* An efficient electrochemical biosensor for vitamin-D₃ detection based on aspartic acid functionalized gadolinium oxide nanorods [J]. *J Mater Res Technol*, 2019, 8(6): 5490–5503.
- [19] 张艳海, 朱晓艳, 曹国洲, 等. 在线二维柱切换-高效液相色谱法同时测定婴幼儿强化奶粉中维生素 A、D₃ 和 E 的含量[J]. *分析化学*, 2013, 41(5): 771–775.
ZHANG YH, ZHU XY, CAO GZ, *et al.* Simultaneous qualification of vitamins A, D₃ and E in fortified infant formulae by liquid chromatography coupled with fully automated online two-dimensional column switching method [J]. *Chin J Anal Chem*, 2013, 41(5): 771–775.
- [20] 李珉, 张莉, 余婷婷, 等. 基于凝胶渗透色谱及液相色谱串联质谱测定油脂性食品中的维生素 A、D、E[J]. *现代食品科技*, 2018, 34(9): 256–262.
LI M, ZHANG L, YU TT, *et al.* Simultaneous determination of vitamins A, D and E in oil-rich foods using gel permeation chromatography coupled with MS [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2018, 34(9): 256–262.
- [21] HEUDI O, TRISCONI MJ, BLAKE CJ. Simultaneous quantification of vitamins A, D₃ and E in fortified infant formulae by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1022(1-2): 115–123.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



田良良, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为水产品质量安全与控制。
E-mail: liangliangjia@126.com



孔聪, 博士, 副研究员, 主要研究方向为水产品质量安全与控制。
E-mail: kongc@ecsf.ac.cn