

# 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

李珉, 张莉, 余婷婷, 范志勇

(湖北省食品质量监督检验研究院, 湖北省食品质量安全检测工程技术研究中心, 湖北武汉 430000)

**摘要:** 本研究拟采用凝胶渗透色谱净化, 建立液相色谱串联质谱联用测定油脂性食品中脂溶性维生素含量的新方法。对试验条件进行优化后发现, 通过凝胶渗透色谱法以 PT785 Bio-BeadsS-X3 型为色谱柱, 环己烷-乙酸乙酯 (5:5, V/V) 溶液为流动相, 选择 5 mL/min 的流速进行样品前处理; 在质谱分析部分采用电喷雾离子源 (ESI)、正离子扫描方式, 以多反应监测 (MRM) 进行定性定量分析能满足油脂性食品中维生素 A、D、E 含量测定的需求。实验表明: 视黄醇、视黄醇醋酸酯、维生素 D<sub>2</sub>、维生素 D<sub>3</sub>、维生素 E 在 5~200 µg/L 的浓度范围内线性关系良好 (相关系数  $r$  均在 0.999 以上), 检出限分别为 2 µg/kg、1 µg/kg、5 µg/kg、2 µg/kg、10 µg/kg; 回收率为 93.1%~106.6%; 相对标准偏差 ( $n=6$ ) 1.09%~4.77%。该法具有准确度高、灵敏度高、分析周期短、操作简便等多重优势, 适合油脂性食品中维生素 A、D、E 的测定。

**关键词:** 油脂性食品; 维生素 A、D、E; 凝胶渗透色谱; 液相色谱串联质谱

文章编号: 1673-9078(2018)09-256-262

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.9.036

## Simultaneous Determination of Vitamins A, D and E in Oil-rich Foods using Gel Permeation Chromatography Coupled with MS

LI Min, ZHANG Li, YU Ting-ting, FAN Zhi-yong

(Hubei Provincial Institute for Food Supervision, Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Quality and Safety Test Office, Wuhan 430000, China)

**Abstract:** The vitamins A, D and E in oil-rich foods were simultaneously determined using high performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry (HPLC-MS/MS), after purified with a gel permeation chromatography (GPC). The optimal extraction conditions were achieved on the PT785 Bio-BeadsS-X3 column, with a cyclohexane - ethyl acetate mixture at ratio of 5:5 (V/V) as the mobile phase. The optimal MS condition was positive electrospray ionization (ESI+)-MS method under multiple reaction monitoring (MRM) mode. The results indicate that retinol, retinol acetate, vitamin D<sub>2</sub>, vitamin D<sub>3</sub>, vitamin E were all in good linear relationship with correlation coefficient above 0.999 in the concentration range of 5-200 µg/L; the limit of detection of this method were 2 µg/kg, 1 µg/kg, 5 µg/kg, 2 µg/kg and 10 µg/kg respectively; the recovery rate at four spiked levels range from 93.1 to 106.6% with relative standard deviations (RSD,  $n = 6$ ) above 1.09% and lower than 4.77%. The method is accurate, sensitive, rapid and easy, and can be applied to determine vitamins A, D and E in oil-rich foods.

**Key words:** greasy foods; vitamin A, D, E; gel permeation chromatography; liquid chromatography tandem mass spectrometry

维生素 A、D、E 极性较弱不溶于水, 易溶于有机溶剂, 属于脂溶性维生素 (Fat Soluble Vitamins), 是人体必需的营养素, 在食品及保健食品领域的研究和应用非常广泛。食用油脂中天然脂溶性维生素含量高

收稿日期: 2018-05-15

基金项目: 湖北省食品质量监督检验研究院自主立项科研项目 (ZZLX2015002)

作者简介: 李珉 (1987-), 女, 助理工程师, 研究方向: 食品安全检测与质谱分析

通讯作者: 余婷婷 (1985-), 女, 博士, 工程师, 研究方向: 食品安全检测与质谱分析

低是评价油品品质和营养价值的重要参数, 维生素 A、D 作为营养强化剂用于食用油中可提高其营养价值, 维生素 E 在油脂加工中作为天然抗氧化剂防止油脂氧化, 保障油品品质。保健食品中以油脂为载体加入维生素 A、D、E 用以预防夜盲症、佝偻病和抗衰老等<sup>[1]</sup>。然而, 脂溶性维生素在高温、高湿、光照、和极端 pH 值条件下易发生转化, 若在食品加工储存环节流失严重, 则无法达到预期的营养强化目的。同时脂溶性维生素的过量摄入还存在着蓄积中毒的风险, 如维生素 A 摄入过量可能导致胎儿畸形、维生素 D 摄入过量可能引起低热惊厥、维生素 E 摄入过量可能导致出血倾

向并影响机体免疫功能<sup>[2]</sup>。因此,实现快速准确地定性定量分析油脂性食品中的维生素 A、D、E 能够为油脂性食品质量安全监管及油脂抗氧化新工艺研究提供技术支持<sup>[3-5]</sup>。我国现行的检测方法标准<sup>[6-8]</sup>,国内<sup>[9-12]</sup>和国外<sup>[13-16]</sup>的研究表明,目前应用最为广泛的脂溶性维生素 A、D、E 的测定方法为皂化后液液萃取-液相色谱法,其中仅维生素 D 有现行国家标准方法可通过皂化后液液萃取后由质谱检测器检测结合内标法定。皂化后液液萃取法优点,一是样品净化较为彻底,二是统一了脂溶性维生素的检测形式;但操作步骤繁杂、耗时长,无法实现快速批量检测,同时过多的前处理操作环节极易影响结果的精密度。凝胶渗透色谱(Gel Permeation Chromatography, GPC)可用于对复杂基质样品中脂肪、色素和蛋白质等大分子干扰物质的处理净化,能够显著提高前处理的效率和结果的精密度<sup>[17]</sup>。质谱检测作为高灵敏度的定量检测技术,十分适用于油脂性食品中脂溶性维生素的精确定性和定量<sup>[18-22]</sup>。

本实验采用 GPC 技术对油脂性食品进行自动化的前处理,采用液相色谱串联质谱同时测定脂溶性维生素 A、D、E,从而显著提高油脂性食品中脂溶性维生素检测方法的分析效率。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器设备

乙酸乙酯(色谱纯),Merck 公司;甲醇(色谱纯)、甲酸(优级纯)、乙酸铵(优级纯)、视黄醇标准样品(纯度 95%),SIGMA-ALDRICH 公司;视黄醇醋酸酯标准样品(纯度 99.9%),Supelco 公司;DL- $\alpha$ -生育酚标准样品(纯度 99.0%),Dr.Ehrenstorfer GmbH 公司;维生素 D<sub>2</sub> 标准样品(纯度 99.1%),Dr.Ehrenstorfer GmbH 公司;维生素 D<sub>3</sub> 标准样品(纯度 98.9%),Dr.Ehrenstorfer GmbH 公司。

MS205DU 电子天平,梅特勒-托利多;Elmasonic S180H 超声仪,Elma Hans Schmidbaner GmbH & Co.KG 公司;Preplinc GPC+Accu Vap 凝胶净化渗透色谱仪,J2 Scientific 公司;配备紫外检测器、分离色谱柱 PT785 Bio-BeadsS-X3(填料质量 50 g)、环己烷(色谱纯),Merck 公司;TSQ Quantum Access Max 液相色谱串联质谱联用仪,Thermo 公司;配有电喷雾电离源(ESI),Thermo Xcalibur 质谱工作站;Milli-Q Reference 超纯水器,美国 Millipore 公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 配制标准溶液

分别准确称量视黄醇、视黄醇醋酸酯、DL- $\alpha$ -生育酚、维生素 D<sub>2</sub>、维生素 D<sub>3</sub> 标准样品 5 mg、5 mg、10 mg、10 mg、100 mg 至 10 mL 棕色容量瓶中,精确至 0.1 mg,加甲醇超声溶解后定容至刻度,作为标准储备溶液,于-4 °C 避光储存。

#### 1.2.2 仪器条件

##### 1.2.2.1 凝胶色谱条件

分离色谱柱:PT785 Bio-BeadsS-X3(填料质量 50 g);流动相:环己烷-乙酸乙酯(5:5, V/V)溶液,流速:5 mL/min,进样量:5 mL;洗脱时间:(0~15) min、收集流出液时间:(15~35) min、清洗时间:(35~45) min。

##### 1.2.2.2 色谱条件

色谱柱:Thermo Hypersil GOLD(2.1 mm×100 mm,粒径 3  $\mu$ m);柱温:35 °C;进样体积:10  $\mu$ L;流速:0.4 mL/min;流动相:A:甲醇、B:0.1%甲酸 5 mmol/L 乙酸铵溶液,梯度洗脱程序:(0~1) min,50%A;(1~3) min,50%~95%A;(3~9) min,95%A;(9~10) min,95%~50%A;(10~11) min,50%A。

##### 1.2.2.3 质谱条件

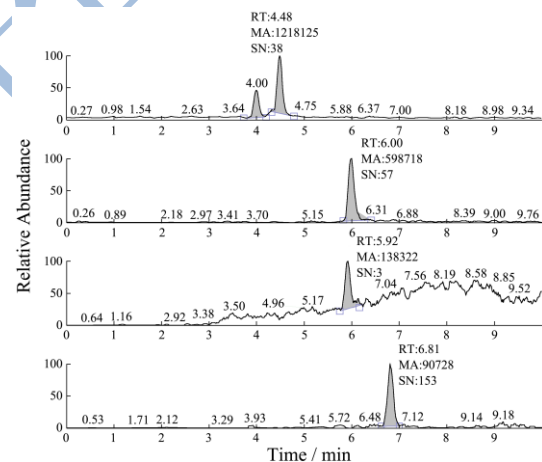


图1 各脂溶性维生素 MRM 色谱图

Fig.1 Multiple reaction monitoring chromatograms of fat soluble vitamins

离子源:电喷雾离子源(ESI);扫描方式:正离子模式;监测方式:多反应监测(MRM);喷雾电压:3800 V;雾化器温度:200 °C;鞘气压力:40 psi;辅助气:15 psi;毛细管温度:350 °C。

定性离子、定量离子及对应的碰撞能量、喷雾电压参数见表 1。图 1 为各脂溶性维生素 MRM 色谱图,其中视黄醇出峰时间为 4.00 min,视黄醇醋酸酯出峰时间为 4.48 min,维生素 D<sub>2</sub> 出峰时间为 5.92 min,维生素 D<sub>3</sub> 出峰时间为 6.00 min,维生素 E 出峰时间为 6.81 min。

表 1 脂溶性维生素的质谱分析参数

Table 1 MS/MS parameters for fat soluble vitamins

化合物	母离子	监测离子对 $m/z$	碰撞电压/V	喷雾电压/V
视黄醇	269.2	79.2*、91.1	35.35	78
视黄醇醋酸酯	269.2	79.2*、91.1	35.35	78
维生素 D <sub>2</sub>	397.3	91.0*、159.4	40.32	97
维生素 D <sub>3</sub>	385.3	259.1*、367.3	12.50	80
维生素 E	430.0	136.6*、164.4	36.31	88

注: \*标示为定量离子。

### 1.2.3 样品处理

油脂性食品:称取 0.3~0.5 g 试样于 10 mL 刻度离心管中,在避光条件下,加入环己烷-乙酸乙酯(5:5, V/V)溶液定容至 10 mL 刻度线,涡旋震荡 2 min,提取液用 0.22 μm 有机滤膜过滤后按照 1.2.2.1 项方法用凝胶色谱净化,流出洗脱液浓缩定容到 1 mL 待分析。

脂溶性维生素混和标准使用溶液:吸取标准储备液各 200 μL 于 10 mL 棕色容量瓶中,在避光条件下混匀后用环己烷-乙酸乙酯(5:5, V/V)溶液定容至刻度,提取液用 0.22 μm 有机滤膜过滤后按照 1.2.2.1 项方法用凝胶色谱净化,流出洗脱液浓缩定容 1 mL 待分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 GPC 分离条件的确定

油脂样品主要由高级脂肪酸的甘油酯组成,其分子量通常在 800 以上,而脂溶性维生素的分子量在 250~450 之间。GPC 技术是基于空间排阻的原理根据分子量大小的不同进行分离,因此本实验采用 GPC 为净化手段。可能对分离效果产生影响的主要因素包括色谱柱类型、柱容量、流动相流速、流动相组成和比例。商品化的凝胶渗透色谱柱通常规定了允许使用的流动相组成和比例,故本实验主要考虑的条件优化因素为色谱柱类型、色谱柱容量和流动相流速。

理论上,色谱柱容量越大、流动相流速越慢越能够改善混合物的分离度,但实际操作时还要考虑检测工作的时效性,因此通过交互设计,对两种不同长度的色谱柱在三种流速下分别进行试验,结果如下:

(1) 以环己烷-乙酸乙酯(5:5, V/V)溶液作为流动相,选择两种常用长度的色谱柱,分离色谱柱 1: Express GPC cleanup column (填料质量 20 g)、分离色谱柱 2: PT785 Bio-BeadsS-X3 (填料质量 50 g),分别比较流速 1 (5 mL/min)、流速 2 (3 mL/min)、流速 3 (2 mL/min) 三种不同流速下的脂溶性维生素与大豆油的分离度,在可接受的分离度下比较总分析时间,

选择合适分离度条件下分析时间最短的条件作为最佳方案。当分离度为 0.8 时,相邻两组分可达到 95% 的分离度,完全满足净化油脂的需要,本实验拟将分离度达到 0.8 作为可以接受的分离度。表 2 为分离度与总分析时间情况,综合考虑分离度和总分析时间指标,试验 1 和试验 2 的分离度小于 0.8,无法满足净化油脂的需求,试验 3、试验 4、试验 5、试验 6 的分离度均大于 0.8,且试验 4 所用分析时间最短,故选择试验 4 为以大豆油为基体分离脂溶性维生素的最佳分离方案。

分离度计算公式:  $R=2(t_2-t_1)/(W_1+W_2)$

注:  $t_2$ : 相邻两峰中后一色谱峰的保留时间;  $t_1$ : 相邻两峰中前一色谱峰的保留时间;  $W_1$ 、 $W_2$ : 此相邻两峰的峰宽。

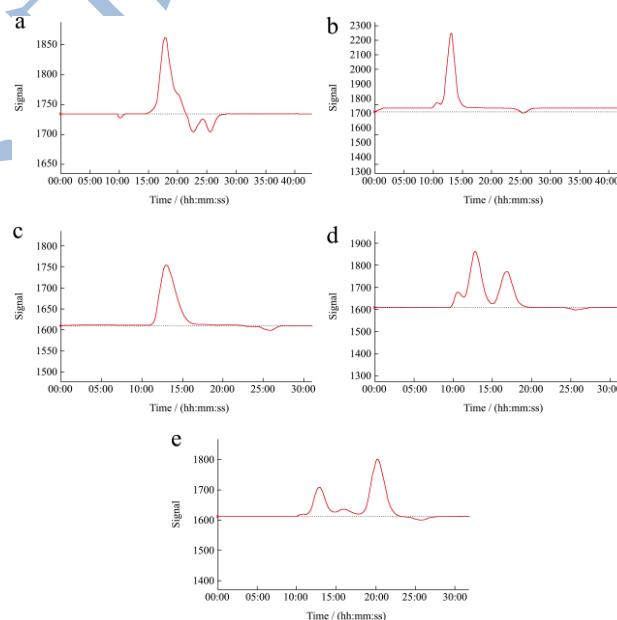


图 2 最佳分离条件下脂溶性维生素混合标准样品和不同油脂样品的 GPC 图谱

Fig.2 GPC chromatograms of fat soluble vitamins mixed standard samples and different oil samples at the optimal separation conditions

注: a: 脂溶性维生素混合标准样品 GPC 图谱;b: 大豆油 GPC 图谱;c: 黄油 GPC 图谱;d: 维生素 E 软胶囊 GPC 图谱;e: 鱼肝油软胶囊 GPC 图谱

(2)采用以上最佳分离条件对其他油脂样品如大豆油、动物油(黄油)、维生素E软胶囊、鱼肝油软胶囊进行分离度的测试,通过试验由图2可见,脂溶性维生素混合标准物质在15 min后流出,而大豆油、动物油(黄油)、维生素E软胶囊、鱼肝油软胶囊中

的油脂成分均在15 min前出峰流出,二者分离度均在0.8以上,结果表明该条件能够将其它品种油脂样品和脂溶性维生素进行很好地分离,满足实验需求,故选择15 min~35 min收集流出液。

表2 分离度与总分析时间

Table 2 Resolution and total analysis time

	油脂保留时间/半峰宽	混合标样保留时间/半峰宽	分离度 R	分析时间/min
试验1(柱1流速1)	10.2/3.0	9.0/2.0	-0.24	25
试验2(柱1流速2)	16.0/3.5	21.0/4.0	0.67	35
试验3(柱1流速3)	21.0/3.5	27.0/3.0	0.92	45
试验4(柱2流速1)	13.0/2.0	18.0/2.5	1.11	40
试验5(柱2流速2)	30.0/4.0	44.0/6.0	1.40	60
试验6(柱2流速3)	34.0/4.0	46.0/6.0	1.20	70

## 2.2 色谱质谱条件的优化

### 2.2.1 流动相的优化

分别选择甲醇-甲酸水和乙腈-甲酸水作为流动相,试验表明:当以乙腈作为流动相时,其洗脱能力较强,视黄醇和视黄醇醋酸酯在液相部分难以分离;二者母离子和碎片离子信息完全一致,在质谱部分也无法分离;同时发现在乙腈条件下各标准样品的离子化程度均受到一定程度的抑制,且维生素D<sub>3</sub>无法检测,以甲醇作为流动相时的检测灵敏度提高2个数量级,且所有脂溶性维生素均可检测,故选择以甲醇作为流动相。本实验为正离子扫描模式,尝试在流动相中加入甲酸、乙酸铵以提高离子化效率及改善峰型,试验表明,0.1%的甲酸、5 mmol/L的乙酸铵体系能提供最佳离子化条件。

### 2.2.2 离子源选择

电喷雾离子源(ESI)是最常用的液相离子源,适用于极性较强的化合物,可用于热不稳定化合物的分析。大气压化学电离源(APCI)适用于中等极性或小分子量化合物,尤其是含杂原子的化合物,不适合热不稳定或在溶液中容易电离的化合物。虽然ESI源是常用的离子源,但由于脂溶性维生素极性较弱,从原理上可能APCI源具有更好的电离效果,故对两种离子源进行对比试验,结果表明APCI源在分析维生素D<sub>2</sub>和D<sub>3</sub>时比ESI源具有更高的灵敏度,但对维生素A和维生素E的分析不如ESI源,考虑到ESI源的通用性,本实验选择ESI源。

### 2.2.3 母离子确定

视黄醇是一个具有脂环的不饱和一元醇,其分子量为286.45,正离子扫描下理论分子离子峰应为287,

在研究质谱方法的过程中,未找到287的母离子。根据经验,脂肪族醇、胺、腈类及多支链化合物容易裂解,分子离子峰通常很弱或不出现,因此判断视黄醇在分析过程中可能发生了源内裂解,分析其分子结构,其容易发生脱氢重排脱去一分子水,形成质荷比为269的脱水峰,经试验,证实了这一判断,同时发现视黄醇醋酸酯也发生了同样的反应。

## 2.3 方法学实验

### 2.3.1 方法检出限和线性范围

取浓度分别为5、20、50、100、200 μg/L的系列标准溶液,以峰面积A对相应的质量浓度C进行线性回归,结果表明:视黄醇、视黄醇醋酸酯、维生素D<sub>2</sub>、维生素D<sub>3</sub>、维生素E在5~200 μg/L的浓度范围内均具有良好的线性关系,相关系数r均在0.999以上。按3倍信噪比计算得到样品中视黄醇、视黄醇醋酸酯、维生素D<sub>2</sub>、维生素D<sub>3</sub>、维生素E的检出限分别为2 μg/kg、1 μg/kg、5 μg/kg、2 μg/kg、10 μg/kg。

### 2.3.2 方法回收率

在不含有脂溶性维生素的大豆油基质中添加脂溶性维生素混合标准样品溶液,使大豆油中各脂溶性维生素含量为10.0、20.0、50.0、100.0 μg/kg;由于油脂中普遍含有维生素E,故维生素E回收率采用试剂空白加标进行测试。

按1.2方法进行预处理,表3为各脂溶性维生素回收率结果。结果表明:视黄醇的回收率在97.0%~102.3%;视黄醇醋酸酯的回收率在98.1%~102.3%;维生素D<sub>2</sub>的回收率在96.3%~106.6%;维生素D<sub>3</sub>的回收率在96.7%~103.2%;维生素E的回收率在93.1%~99.1%。

表3 各脂溶性维生素回收率结果

**Table 3 Results of recoveries of fat soluble vitamins**

化合物	添加量/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	回收率/%
视黄醇	10.0	100.7
	20.0	97.0
	50.0	102.3
	100.0	98.2
视黄醇醋酸酯	10.0	102.3
	20.0	100.2
	50.0	101.3
	100.0	98.1
维生素 D <sub>2</sub>	10.0	106.6
	20.0	97.6
	50.0	104.8
	100.0	96.3
维生素 D <sub>3</sub>	10.0	97.8
	20.0	101.1
	50.0	103.2
	100.0	96.7
维生素 E	10.0	97.9
	20.0	99.1
	50.0	95.8
	100.0	93.1

2.3.3 方法精密度

在不含有脂溶性维生素的大豆油基质中添加脂溶性维生素混合标准样品溶液,使大豆油中各脂溶性维生素含量为 20.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 维生素 E 采用试剂空白加标进行测试。

按 1.2 方法进行预处理,平行处理 6 次,进行 LC-MS/MS 分析,测定结果见表 4。结果表明:视黄醇、视黄醇醋酸酯、维生素 D<sub>2</sub>、维生素 D<sub>3</sub>、维生素 E 的相对标准偏差分别为:2.77%、1.09%、4.77%、2.13%、

2.60%。

表4 脂溶性维生素精密度测试结果

**Table 4 Precision of fat soluble vitamins (n=6)**

化合物	平行测定结果/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )				相对标准偏差 (RSD) /%
视黄醇	19.57	19.73	20.11	19.6	2.77
视黄醇醋酸酯	19.98	20.29	20.38	19.92	1.09
维生素 D <sub>2</sub>	20.38	20.57	19.56	21.71	4.77
维生素 D <sub>3</sub>	19.33	19.52	20.22	19.85	2.13
维生素 E	19.16	18.71	19.52	19.95	2.60

2.4 与皂化后液液萃取-液相色谱法的比较

2.4.1 检测对象比较

两种方法在检测对象上存在差异:皂化-液液萃取法在皂化处理过程中将维生素 A、维生素 E 的酯水解为单体形式,统一了脂溶性维生素的检测形式,因此无需配备各种酯化标准样品。GPC 为一种物理分离,在净化过程中不改变维生素的化学形式,在检测时需要了解维生素的添加形式,以选择合适的标准样品进行定性定量比较。

2.4.2 检测方法学指标比较

对凝胶渗透色谱-液相色谱串联质谱联用法(方法一)与皂化-液液萃取液相色谱法(方法二)测定油脂性食品中脂溶性维生素含量方法进行比较,方法学指标比较结果见表 5。结果表明:方法一与方法二在一定浓度范围内都有较好的线性关系,但方法一的检出限、回收率和精密度明显优于方法二。

表5 方法学指标比较结果

**Table 5 Comparison of methodology index**

	检出限/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		线性范围/( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		平均回收率/%		精密度/%	
	方法一	方法二	方法一	方法二	方法一	方法二	方法一	方法二
视黄醇	2	100		10~100	99.6	88.5	2.8	6.2
视黄醇醋酸酯	1	100		10~100	100.5	90.2	1.1	5.8
维生素 D <sub>2</sub>	5	300	0.005-0.2	10~100	101.0	83.6	4.8	8.7
维生素 D <sub>3</sub>	2	300		10~100	99.7	80.1	2.1	8.2
维生素 E	10	1000		10~1000	96.5	68.3	2.6	4.8

2.4.3 检测效率比较

采用方法一前处理环节需要 30 min,质谱分析时间为 15 min;方法二前处理环节需要皂化 45 min、冷却 10 min、液液萃取及去除水分环节约需 45 min、浓

缩定容 20 min、液相色谱分析时间为 70 min。脂溶性维生素标准样品液相色谱图见图 3。

从单个样品总分析时间比较方法一和方法二单个样品净分析时间分别为:45 min 和 170 min;从人力

消耗上比较,方法一前处理环节可实现完全自动化、方法二除皂化过程外均需要人工操作。

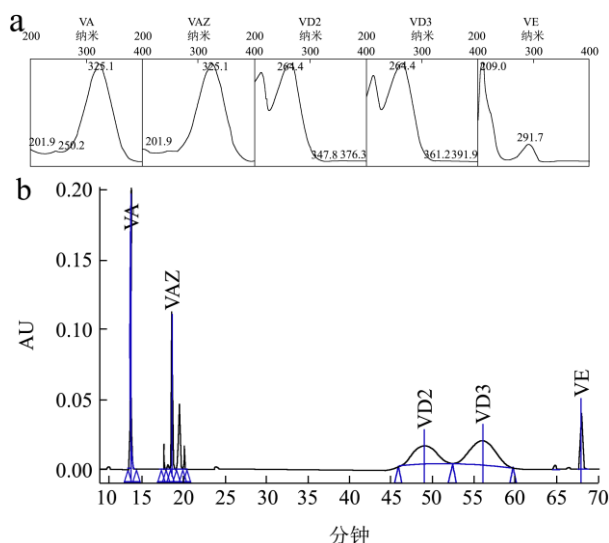


图3 为脂溶性维生素标准样品液相色谱图

Fig.3 Liquid chromatogram of fat soluble vitamins standard sample

### 3 结论

以 PT785 Bio-BeadsS-X3 (填料质量 50 g) 作为 GPC 分离色谱柱, 环己烷-乙酸乙酯 (5:5, V/V) 溶液作为 GPC 流动相, 流速为 5 mL/min 分离净化食用植物油、动物脂肪、油脂性保健食品中脂溶性维生素。以 0.1% 甲酸 5 mmol/L 乙酸铵水溶液和甲醇作为质谱流动相, 结合 ESI 源, 在正离子扫描模式条件下, 采用 LC-MS/MS 同时测定维生素 A、D、E 含量结果满意, 该法与皂化液液萃取-液相色谱法测定油脂性食品中维生素 A、D、E 含量方法相比具有准确性高、灵敏度高、自动化程度高和分析时间短等多重优势。

### 参考文献

- [1] 杨帆, 薛长勇. 常用食用油的营养特点和作用研究进展[J]. 中国食物与营养, 2013, 19(3): 63-66  
YANG Fan, XUE Chang-yong. Research advancement of nutrition characteristic and functions of common edible oils [J]. Food and Nutrition in China, 2013, 19(3): 63-66
- [2] 戴长云. 脂溶性维生素药物滥用的危害及合理使用分析[J]. 中国继续医学教育, 2017, 9(9): 204-206  
DAI Chang-yun. The harm of abuse for fat-soluble vitamins and its rational use [J]. China Continuing Medical Education, 2017, 9(9): 204-206
- [3] 文小青, 杨月欣. 食物中维生素 A、叶酸和维生素 E 分析方法研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2004, 16(1): 65-70  
WEN Xiao-qing, YANG Yue-xin. Progress in analytical

- methods of Vitamin A, Folate and vitamin E in foods [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2004, 16(1): 65-70
- [4] 杨大进, 方从容, 王竹天, 等. 进口保健食品中维生素检测方法现状及展望[J]. 中国食品卫生杂志, 2004, 16(1): 62-65  
YANG Da-jin, FANG Cong-rong, WANG Tian-zhu, et al. Methods for determination of vitamins in import health foods-the current situation and prospect [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2004, 16(1): 62-65
- [5] 颜景超, 任国谱, 安静, 等. 高效液相色谱法测定乳制品中维生素 A 的研究进展[J]. 中国乳品工业, 2011, 39(9): 43-46  
YAN Jing-chao, REN Guo-pu, AN Jing, et al. Research advances in determining Vitamin A in dairy products by high-performance liquid chromatography [J]. China Dairy Industry, 2011, 39(9): 43-46
- [6] 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 foods [S]
- [7] GB 5413.9-2010, 食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中维生素 A、D、E 的测定[S]
- [8] 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]
- [9] 姜兰芳, 周光明, 李艳艳. 分散液液微萃取-高效液相色谱法测定食品中的维生素 A 和 E[J]. 分析试验室, 2011, 30(2): 61-65  
JIANG Lan-fang, ZHOU Guang-ming, LI Yan-yan. Dispersice liquid-liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography for the determination of vitamins A and E in food [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2011, 30(2): 61-65
- [10] 刘红菊, 闫冲. 固相萃取 RP-HPLC 同时测定复合维生素注射液中的 VA 棕榈酸酯、VD<sub>3</sub> 和 VE 醋酸酯[J]. 药学实践杂志, 2007, 25(3): 162-164  
LIU Hong-ju, YAN Chong. Determination of retinol palmitate, colecalciferol and vitamin E acetate in multivitamin injection by solid phase extraction and RP-HPLC [J]. Journal of Pharmaceutical Practice, 2007, 25(3): 162-164
- [11] 陈树东, 林晓佳, 吴钟玲, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定植物油中的维生素 E[J]. 现代食品科技, 2011, 27(6): 710-712  
CHEN Shu-dong, LIN Xiao-jia, WU Zhong-ling, et al. Determination of vitamin E in vegetables oils by solid phase extraction-high performance liquid chromatography [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(6): 710-712

- [12] 杨建锐,黄丽娜,黄光亮,等.微乳液相色谱法同时测定 4 种脂溶性维生素[J].色谱,2011,29(10):995-999  
YANG Jian-rui, HUANG Li-na, HUANG Guang-liang, et al. Simultaneous determination of four fat-soluble vitamins by microemulsion liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2011, 29(10): 995-999
- [13] Brown-Thomas J M, Moustafa A A, Wise S A, et al. Determination of fat-soluble vitamins in oil matrices by multidimensional high-performance liquid chromatography [J]. Analytical Chemistry, 1988, 60(18): 1929
- [14] Barba F J, Esteve M J, Frígola A. Determination of vitamins E ( $\alpha$ -,  $\gamma$ - and  $\delta$ -tocopherol) and D (cholecalciferol and ergocalciferol) by liquid chromatography in milk, fruit juice and vegetable beverage [J]. European Food Research & Technology, 2011, 232(5): 829-836
- [15] Beldean-Galea M S, Horga C, Coman M V. Separation and determination of tocopherols in vegetable oils by solid phase extraction on porous polymers SPE cartridges and capillary gas chromatography analysis [J]. Central European Journal of Chemistry, 2010, 8(5): 1110-1116
- [16] Taguchi K, Fukusaki E, Bamba T. Simultaneous analysis for water- and fat-soluble vitamins by a novel single chromatography technique unifying supercritical fluid chromatography and liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2014, 1362: 270-277
- [17] 穆同娜,许华,李伟.凝胶渗透色谱-气相色谱法测定食用油脂中抗氧化剂 BHA、BHT[J].食品工业科技,2007,1:228-230  
MU Tong-na, XU Hua, LI Wei. Determination of antioxidants BHA、BHT in edible oil by GPC and GC-FID [J]. Science and Technology of Food Industry, 2007, 1: 228-230
- [18] 曾义.高效液相色谱-质谱法检测血清中维生素 D 含量[J].中国药业,2013,22(20):17-18  
ZENG Yi. HPLC-MS for detecting vitamin d content in serum [J]. China Pharmaceuticals, 2013, 22(20): 17-18
- [19] 曹慧,陈小珍,王瑾,等.同位素稀释-超高效液相色谱-串联质谱技术分析婴儿配方奶粉中的维生素 D[J].质谱学报,2012,33(4):232-236  
CAO Hui, CHEN Xiao-zhen, WANG Jing, et al. Determination of Vitamin D in infant milk powder by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with isotopes dilution [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2012, 33(4): 232-236
- [20] Heudi O, Trisconi M J, Blake C J. Simultaneous quantification of vitamins A, D3 and E in fortified infant formulae by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1022(1): 115-123
- [21] Tim P, Craige T V, Domenico C. The simultaneous determination of vitamins A, E and  $\beta$ -carotene in bovine milk by high performance liquid chromatography-ion trap mass spectrometry (HPLC-MSn) [J]. Food Chemistry, 2012, 134 (1): 559-563
- [22] Schadt H S, Gössl R, Seibel N, et al. Quantification of vitamin D3 in feed, food, and pharmaceuticals using high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Journal of Aoac International, 2012, 95(5): 1487-1494