·综　述·

人体血液维生素E检测技术进展

陈莹琦[1]，辛佳芮[1]，黄百芬[2]，胡崇高[2]综述；杨磊[1]审校

1.杭州师范大学公共卫生学院，浙江 杭州 311121；2.浙江省疾病预防控制中心，浙江 杭州 310051

摘要： 人体血液维生素E主要有8种形式，即α-生育酚、β-生育酚、γ-生育酚、δ-生育酚、α-三烯生育酚、β-三烯生育酚、γ-三烯生育酚和δ-三烯生育酚。α-生育酚是人体分布最广泛、含量最丰富、活性最高的形式，是国内外公认判定人体维生素E营养状况的指标。不同形式的维生素E具有不同的生物活性，实现人体血液维生素E不同形式之间的分离检测有利于进一步探索维生素E与疾病的关系。本文从样本前处理技术和分离检测技术2个方面介绍人体血液维生素E检测技术的研究进展，样本前处理技术包括固相萃取、液液萃取、分散液相微萃取、固相支撑液液萃取和直接蛋白沉淀法，分离检测技术包括自动生化分析法、酶联免疫吸附法、气相色谱法、液相色谱法和超高效超临界流体色谱法。本文对上述检测方法的特点和适用范围进行综述，为检验技术人员选择合适的方法提供参考。

关键词： 维生素E；生育酚；三烯生育酚；检测技术

中图分类号： R115　　**文献标识码：** A　　**文章编号：** 2096-5087（2022）01-0046-07

Research progress on approaches for detection of vitamin E in human blood

CHEN Yingqi[1], XIN Jiarui[1], HUANG Baifen[2], HU Chonggao[2], YANG Lei[1]

1.School of Public Health, Hangzhou Normal University, Hangzhou, Zhejiang 311121, China; 2. Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou, Zhejiang 310051, China

Abstract: There are eight forms of vitamin E in human blood, including α-, β-, γ-, δ-tocopherols and α-, β-, γ-, δ-tocotrienols. As the most abundant and active form of vitamin E, α-tocopherol is widely accepted as a reliable indicator for nutritional assessment of body vitamin E status across the world. Considering that different vitamin E forms have diverse biological activities, separation and detection of different vitamin E forms in human blood facilitates the understanding of the association between vitamin E and diseases. In this review, the advances in sample-pretreatment techniques and detection techniques for vitamin E in human blood were presented. Currently, the sample-pretreatment techniques include solid-phase extraction, liquid-liquid extraction, dispersive liquid-phase microextraction, supported liquid extraction and direct protein precipitation; the detection techniques include automatic biochemical analysis, enzyme-linked immunosorbent assay, gas chromatography, liquid chromatography and ultra-high performance supercritical fluid chromatography mass spectrometry. This review summarizes the characteristics and scope of above-mentioned techniques used for detection of vitamin E in human blood, so as to provide insights into the selection of an appropriate method for inspection technicians.

Keywords: vitamin E; tocopherol; tocotrienol; detection technique

维生素 E 是一类含苯并二氢吡喃结构的物质，包括天然维生素 E 和合成维生素 E。根据甲基基团的数量和位置不同，维生素 E 又可分为 α-生育酚、β-生育酚、γ-生育酚、δ-生育酚、α-三烯生育酚、β-三烯生育酚、γ-三烯生育酚和 δ-三烯生育酚 8 种形式。近年来对维生素 E 的研究除抗氧化活性外，重点在于对这 8 种形式生物活性的探索[1-5]。研究发现，生育酚和三烯生育酚均对恶性肿瘤有预防作用，且三烯生育酚的抗癌活性可能独立于其抗氧化活性[1-2]。此外，三烯生育酚还具有抗炎和改善非酒精性脂肪肝、2 型糖尿病等作用[3-5]。鉴于不同形式的维生素 E 有不同的生物学作用，在人体组织水平实现维生素 E 不同形式之间的微量分离检测具有重要

DOI： 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2022.01.010

作者简介： 陈莹琦，硕士，主要从事公共卫生检验检测工作

通信作者： 杨磊，E-mail：yanglei62@hznu.edu.cn

意义。本文通过对中国知网、万方数据、PubMed 和 Web of Science 等中英文数据库的系统检索，综述 2015—2021 年有关人体血液中维生素 E 检测技术的研究进展。

1 样本前处理技术

维生素 E 具有脂溶性，通常与脂类物质（如细胞膜、脂蛋白等）共存，检测前需要对生物样本进行提取处理[6]。除了经典的固相萃取和液液萃取外，分散液相微萃取、固相支撑液液萃取和直接蛋白沉淀法等新型前处理技术近年来也得到应用发展。

1.1 固相萃取 固相萃取是一种基于选择性吸附和洗脱的柱色谱分离原理的前处理技术，应用较为广泛[7]。固相萃取柱根据填料的不同分为多种类型，适用于不同极性物质的分析研究[8]。KR-MOVÁ 等[9]通过 C18 固相萃取柱提取，并检测血样中 α-生育酚、γ-生育酚等 5 种维生素，方法的回收率≥77.10%，峰面积精密度（RSD）<2.26%。ZHANG 等[7]通过比较 3 种不同填料（C8、C18 和聚合物）的固相萃取柱，最终确定以聚合物为填料的萃取柱的萃取效果最佳；将填料应用于 96 孔板提取 100 μL 儿童血浆，并采用超高效液相色谱-串联质谱法检测维生素 A、25-羟基维生素 D_3 和 α-生育酚，其中 α-生育酚检测方法的日内和日间回收率分别为 99.05%~126.54% 和 113.10%~117.89%，RSD<6.96%。MATA-GRANADOS 等[10]发明了全自动在线固相萃取-高效液相色谱法检测血清脂溶性维生素，其中分离了 α-生育酚和 γ-生育酚 2 种形式，实现了自动样品制备与分析检测同步进行，大大提高了检测效率；对 2 种形式维生素 E 的加标回收率均≥97.2%，RSD<3.6%。

固相萃取的优点在于实际试剂用量少，不需要分离操作，可集除杂和富集于一体；但提取过程耗时长，在批量处理样品时重复性难以保证，且固相萃取柱无法重复使用，实验成本较高，因此较少用于大批量人群血清维生素 E 的前处理提取。在线固相萃取和 96 孔固相萃取板可实现高通量检测，在同一时间内提取大批量样品，检测更为快速，在实际应用中有更好的前景。

1.2 液液萃取 液液萃取是一种利用待测物在不同溶剂中的不同溶解度进行分离或提取的技术。目前血清维生素 E 最常用的提取剂是正己烷[11]，部分学者采用其他的非极性试剂优化液液萃取效果，如正己烷/叔丁基甲醚混合液[12-13]、异辛烷/氯仿混合液[14]等。PILA-OVÁ 等[15]发现以 100 μL 血清作为本底量分析时，使用 400 μL 正己烷/二氯甲烷（体积比 80∶20）提取效果最佳，回收率为 80%~120%，经超高效超临界流体色谱质谱法实现了 8 种形式维生素 E 的分离。GIUSEPPONI 等[12]通过优化提取混合试剂的比例，最终确定以正己烷/叔丁基甲醚混合液（体积比 4∶1）为提取剂，上清液经合并挥干复溶后采用液质联用法检测，并采用认证标准材料 NIST SRM®1950 对方法进行验证，回收率均≥70%，偏移为 5.3%，RSD 为 8.3%。

与固相萃取相比，液液萃取操作简便，无特殊设备要求，适合在基层实验室和临床进行推广；但该法混合液易形成乳化现象，且需要多次重复提取以提高回收率，因此采用正己烷等高效提取剂是实现快速实验操作的关键。为保证实验的可重复性和可操作性，降低成本，液液萃取仍是目前最常用和有效的提取技术。

1.3 分散液相微萃取 分散液相微萃取是在液液萃取基础上发展起来的，通过样品与萃取剂之间的比表面积增大达到分配平衡，实现快速萃取，近年来广泛应用于医药、环境、食品等行业，逐步取代液液萃取成为高效新型前处理技术[16-17]。张小敏等[18]首次将该技术应用于人体血清维生素 A 和维生素 E 的分析检测，通过比较二氯甲烷和三氯甲烷作为萃取剂的提取回收率，最终以 50 μL 三氯甲烷为微萃取剂，50 μL 甲醇为分散剂即可对 20 μL 血清样品完成维生素 A 和维生素 E 的有效提取，经高效液相色谱-紫外检测器检测维生素 E 的检出限为 0.096 μg/mL，3 个水平加标回收率为 81.09%~92.21%，RSD 为 4.81%。

与液液萃取相比，分散液相微萃取可实现微量前处理提取，生物样本量和试剂使用量较少；但所用微萃取剂有较强毒性，在大批量样品处理时不利于实验人员自身保护，有必要寻找更环保、安全的微萃取剂。该技术目前较少用于血清维生素的提取检测，回收率不太理想，微量萃取对实验人员的操作能力要求较高，因此该法有待进一步验证和发展。

1.4 固相支撑液液萃取 固相支撑液液萃取是以液液萃取为基础，结合固相萃取支撑体易于分离的特点发展起来的一种高通量提取技术，已广泛应用于食品中脂溶性维生素的提取，但在生物样品中的应用较少[19]。该技术以 96 孔板为载体，在重力/正压作用下吸附样品后进行真空洗脱，蒸发干燥洗脱剂，复溶并密封混匀，离心得到进样分析品[20]。QI 等[20]采用响应面设计优化了固相支撑液液萃取过程的 3 个

环节，最终确定采用 100 μL 血清、200 μL 异丙醇、100 μL 水和 2 mL 乙酸乙酯（洗脱液）提取，利用高效液相色谱-光电二极管阵列检测法检测 9 种脂溶性维生素和类胡萝卜素，其中 α-生育酚可在 0.5～50 μg/mL 内实现线性分析，方法回收率为 102.5%～110.9%。PETRUZZIELLO 等[21]采用自动化固相支撑液液萃取和超高性能超临界流体色谱串联质谱法分离并检测了血浆中 7 种维生素 E、维生素 K_1 和 3 种类胡萝卜素，日内 RSD＜12%，α-生育酚的检出限为 3 200 ng/mL，其他形式维生素 E 的检出限低至 0.02 ng/mL；此外，该法可在 1 小时内处理 48 个样品，效率更高。

固相支撑液液萃取集提取和富集于一体，具有更高的萃取效率和回收率。传统固相萃取和液液萃取的回收率为 70% 以上[9, 12]，而固相支撑液液萃取的加标回收率可达 102%[20]，更接近真实值。自动化固相支撑液液萃取比手动处理更快速，且在一定程度上降低了人为操作引起的实验随机误差。目前固相支撑液液萃取对人体脂溶性维生素的提取应用较少，仍需进一步验证方法的可操作性和准确性。

1.5 直接蛋白沉淀法 由于维生素 E 见光易分解，上述前处理技术在制备时相对复杂烦琐，会增加实验出错率并降低提取率[22]，因此简单快速的直接蛋白沉淀法应运而生。该法通过向样品中加入蛋白沉淀剂，经充分混匀离心后取上清液直接进样检测。目前仅有 3 篇文献报道[22-24]使用该法检测样品中的视黄醇、α-生育酚等。LAZZARINO 等[24]以血清/蛋白沉淀剂体积比为 1∶2 进行前处理，利用液相色谱-光电二极管阵列检测法检测发现 α-生育酚和 γ-生育酚的检测下限分别为 20 nmol/L 和 10 nmol/L；分别采用直接蛋白沉淀法和液液萃取处理同一血样后，检测的 15 种脂溶性维生素和抗氧化剂浓度无明显差异，但未对这 2 种前处理方法进行方法学验证，且样本量较少，说服力不足。LE 等[23]对蛋白沉淀剂的选择及沉淀剂与血浆比进行优化，最终确定以乙腈为蛋白沉淀剂，且乙腈与血浆体积比为 3∶2 时可达到最佳提取效果，经液质联用法检测 2 水平加标回收率≥96.5%，基本满足检测要求。

直接蛋白沉淀法虽然简便，但是由于生物样本基质复杂，单步处理后基质中较多杂质会溶于沉淀剂中，影响检测结果（液相检测物质出峰峰型和方法精密度等）。目前使用直接蛋白沉淀法提取的研究都采用液质联用法检测，无其他检测方法进行比较，因此无法说明直接蛋白沉淀法提取维生素 E 比其他前处理技术更优异。就现有研究结果而言，该法适用于初步快速检测，对精密的痕量分析有待进一步验证，是否适用于非质谱检测器的检测有待进一步研究。

2 分离检测技术

人体维生素 E 的检测方法主要包括免疫法和色谱法，免疫法包括自动生化分析法和酶联免疫吸附法，色谱法包括气相色谱法、液相色谱法和超高效超临界流体色谱等。高效液相色谱法因快速、高效、高灵敏度和可同时检测多种维生素等优点，已基本取代其他检测技术。根据检测器不同，高效液相色谱法分为液相色谱-紫外检测法、液相色谱-光电二极管阵列检测法、液相色谱-荧光检测法和液质联用法等。

2.1 自动生化分析法 自动生化分析仪是由仪器按设定程序进行部分或全部自动化操作的实验方法，适用于常规生化项目、免疫球蛋白和激素的测定[25]。该法具有快速、简便、灵敏、准确和微量等特点；但精密度和特异度较差，容易在样品检测过程中形成交叉污染，且只能检测维生素 E 总量，无法区分维生素 E 的多种形式[26]。

2.2 酶联免疫吸附法 酶联免疫吸附法是利用抗原、抗体特异性结合进行免疫反应的定性和定量检测方法，检测维生素 E 常采用双抗体夹心法，处理后的样品经酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度，并通过标准曲线计算样品维生素 E 浓度。郭冰杰等[27]采用酶联免疫吸附法检测孕妇血清维生素 A 和维生素 E，批间和批内变异系数均＜5%，说明方法可靠准确。酶联免疫吸附法操作复杂，容易产生交叉污染，需按试剂盒说明书进行规范操作，且试剂盒保存条件较为严格。试剂盒的质量和分析人员的准确操作是决定检测结果准确性的重要条件。该法也不能对维生素 E 的不同形式进行分辨和检测，在灵敏度和精密度方面远不及色谱法。

2.3 气相色谱法 气相色谱法是以气体作为流动相的分析方法，主要利用物质的沸点、极性及对固定相吸附性质的差异实现混合物的分离，适用于易挥发有机化合物的定性、定量分析。气相色谱法仍是目前测定食品中维生素 E 的主要方法之一。张伟利等[28]研究发现气相色谱法测定血中 α-生育酚时受胆固醇干扰，需对血样进行预处理，但过多的前处理操作会造成目标检测物一定程度的损失；采用内标法并预先去除胆固醇后检测，回收率为 76.4%。谢宝英[29]采用气相色谱法和液相色谱法同时测定血浆维生素 E，结

果显示采用内标法定量的气相色谱法回收率达95.55%。由于维生素 E 的 β-/γ-生育酚和三烯生育酚互为同分异构体，2 种形式沸点相近、极性相似，气相色谱法无法实现这 4 种物质的分离检测[30]，因此该法不再适用于临床测定人体维生素 E 含量，已逐渐被液相色谱法取代。

2.4 *液相色谱-紫外检测法* 紫外检测器是基于朗伯-比尔定律计算目标物质浓度的检测器，适用于具有紫外吸收性质的物质。光电二极管阵列检测器是紫外检测器的一种，可同时在不同波长下进行分析检测，比紫外检测器的使用范围大，可同时实现多种物质的分析检测。张小敏等[18]利用 C18 色谱柱、紫外检测器可在 16 min 内完成人体血清维生素 A 和维生素 E 的分离检测，其中维生素 E 的线性相关系数为 0.999 7，检出限为 0.096 μg/mL，3 水平加标回收率为 81.09%~92.21%，RSD 为 4.81%。QI 等[20]采用 C30 色谱柱、反相液相色谱-紫外检测法分离并检测人体血清类胡萝卜素和脂溶性维生素，其中维生素 E 仅关注 α-生育酚，结果显示 α-生育酚在 0.5~50 μg/mL 之间呈线性相关，方法检出限为 0.3 μg/mL，3 水平加标回收率为 102.5%~110.9%，日内和日间 RSD 分别为<7.5% 和<10.1%。

由于除 α-生育酚以外的其他形式维生素 E 在人体内含量较低，难以在生物基质中做到 8 种形式维生素 E 的检测[18, 20, 24]。若研究仅关注 α-生育酚含量，则液相色谱-紫外检测法不失为一种高效、快速的检测方法。

2.5 *液相色谱-荧光检测法* 荧光检测器仅适用于具有荧光性能物质的分析检测。维生素 E 具有较强荧光性能，在 295 nm 的紫外线波长下被激发后在 325 nm 附近产生荧光，因此荧光检测器更适用于维生素 E 的检测分析。CHE 等[31]以 PMC（2, 2, 5, 7, 8-pentamethyl-6-chromanol）为内标物质，对 3 名服用三烯生育酚的男性志愿者血浆进行正己烷液液萃取处理后，用正相液相色谱-荧光检测法在 30 min 内实现了三烯生育酚 4 种形式的完全分离检测，线性相关系数≥0.999 4，检出限低至 0.025 5 μg/mL，加标回收率为 90.11%~112.81%，方法日内和日间 RSD<3.97%。赵莹等[32]以乙腈作为蛋白沉淀剂、正己烷作为提取剂进行液液萃取，并利用 C18 色谱柱建立了一种荧光检测器在线变换波长的高效液相色谱法，以维生素 A 醋酸酯为内标分离检测了血清中维生素 A、α-维生素 E、β-（γ-）维生素 E 和 δ-维生素 E，该法在 0~8 min 检测维生素 A，在 8~15 min 检测维生素 E，15 min 内完成包括内标物质在内的 5 种物质的分离检测，各物质在一定范围内呈线性相关，相关系数均≥0.999 6，方法检出限为 0.02 μg/mL，定量限为 0.05 μg/mL，日内和日间 RSD<2.73%。CERVINKOVA 等[33]优化了反相液相色谱-荧光检测法的色谱条件，采用新一代五氟苯基丙基色谱柱在 45 ℃柱温下实现了包括内标物质在内的生育酚 4 种形式和视黄醇的完全分离，结果显示 β-生育酚和 γ-生育酚之间的分离度为 1.35，略小于完全分离标准的 1.5，其余各物质之间均可实现完全分离；生育酚 4 种形式的线性相关系数均≥0.999 9，方法检出限低至 0.006 μmol/L（即 0.025 8 μg/mL），日内 RSD<5.14%，不同分析人员操作结果的 RSD<3.6%。这提示该方法适用于生物材料的分析检测，且不同分析人员的检测结果之间均准确可靠。

液相色谱-荧光检测法可实现 4 种生育酚和 4 种三烯生育酚的分离检测，与液相色谱-紫外检测法相比，特异度和灵敏度更高，检出限更低，线性相关系数更优，更适用于低水平生物基质中维生素 E 多种形式的分离检测。在临床实际应用中，液相色谱-荧光检测法也在逐步替代液相色谱-紫外检测法，若研究需关注多种形式维生素 E 含量，液相色谱-荧光检测法是首选方法。

2.6 *液质联用法* 质谱法是近年来快速发展的检测技术，在维生素 E 检测中大量应用。质谱法不仅可以定性、定量分析，还能分析物质的分子量结构等，比其他检测器灵敏度更高、检出目标物耗时更短。质谱法主要有电喷雾电离（electrospray ionization，ESI）和大气压化学电离（atmospheric pressure chemical ionization，APCI）2 种电离方式[34]。另有一种新型电离方式 UniSpray（US）也用于检测，可在一定程度上减少基质效应[35]。GIUSEPPONI 等[13]建立了一种正离子 ESI（ESI^+）的液质联用法，以 d_6-α-生育酚和 d_6-γ-生育酚为内标可实现 α-生育酚和 γ-生育酚及其代谢物的有效分离检测；为减少基质背景影响，通过收集不同人血浆制备大样本并进行多次加标实验验证，结果显示方法的批内和批间精密度和准确度 RSD<13%，偏差范围为-2%~10%，加标回收率≥80%。HINCHLIFFE 等[36]通过对 118 例临床血清样本的检测发现 ESI^+液质联用法和液相色谱-紫外检测法的一致性较好，表明 2 种方法在实际应用中具有可比性；ESI^+液质联用法对 α-生育酚的加标回收率为 89.5%，方法定量下限为 0.26 μmol/L，远低于液相色谱-紫外检测法的 1.16 μmol/L，批内和批

间的变异系数＜10%。PEERSMAN 等[22]通过 10 份外部质控样本和 20 份患者样本的分析检测，比较了 US 与传统 ESI，结果显示对于 α-生育酚，ESI 源观察到显著的基质效应而 US 源未观察到，方法在 0.22～55.56 mg/L 之间呈线性相关，US 源对 α-生育酚的定量下限（0.22 mg/L）显著低于 ESI 源（5 mg/L），且变异系数＜5.0%，说明 US 可能更适用于维生素 E 的分离检测，可在一定程度上降低基质效应。

液质联用法广泛应用于维生素 E 异构体的分离，主要采用 ESI^+方式[13，22，36-37]，采用同位素内标可减少实验误差且分析时间短。与液相色谱-荧光检测法相比，液质联用法在方法检出限上并无明显优势，说明维生素 E 不同形式的电离效率与其荧光性能相当。此外，液质联用法使用的仪器昂贵，操作相对复杂，对实验人员的要求较高，不适合在基层医院和检测中心普及。

2.7 *超高效超临界流体色谱法*　超临界流体色谱是集气相色谱和液相色谱于一体的分离技术，在分离非极性或中极性化合物方面表现出良好的选择性，被广泛用于食品组分、农药残留等物质的分析研究[38]。在现代超临界流体色谱法中，流动相不仅含有 CO_2，还含有少量有机极性改进剂和添加剂，实现超高效工作，这种新方法称为超高效超临界流体色谱法[16]。超临界流体色谱法需要与检测器联合进行分析检测，常见的检测器有紫外检测器、荧光检测器和质谱仪等。PILA-OVÁ 等[15]首次将超高效超临界流体色谱-质谱法应用于人体血清中 8 种形式维生素 E的分离，利用液液萃取进行前处理，通过优化仪器条件同时开发了高速和高分辨率 2 种模式，前者在 2.5 min 内实现分离检测，检出限低至 0.083 μg/mL，定量下限低至 0.25 μg/mL，加标回收率为 84.9%～128.4%，RSD＜21.7%；后者在 4 min 内实现分离检测，检出限低至 0.17 μg/mL，定量下限低至 0.05 μg/mL，加标回收率为 78.8%～113.9%，RSD＜13.4%。PETRUZZIELLO 等[21]通过比较 6 种超高效超临界流体色谱法的专用色谱柱和条件优化，最终建立了以固相支撑液液萃取为前处理条件、以 Viridis HSS C18 SB 柱为色谱柱的超高效超临界流体色谱-质谱法，可在 8 min 内实现血浆中包括维生素 E 异构体在内的 14 种脂溶性维生素和类胡萝卜素的分离检测；其中维生素 E 的 7 种异构体得到分离，线性相关系数≥0.99，α-生育酚的检出限为 3 200 ng/mL，其他形式维生素 E 的检出限为 0.02～0.04 ng/mL，对 7 种形式维生素 E 的 3 水平标准混合物的日内 RSD＜10.3%，日间 RSD＜14.0%。

上述研究均显示超高效超临界流体色谱-质谱法具有精密度良好，检测结果准确可靠，且方法检出限可与液相色谱-荧光检测法、液质联用法相当，可应用于生物样本不同形式维生素 E 的检测。但由于该法使用的仪器设备较为特殊，对使用者要求较高，在实际临床应用中不易普及。

3　结论与展望

随着维生素 E 不同形式的生理活性被研究发现，研究者们开始关注除了 α-生育酚以外的其他形式维生素 E 在人体内的含量及作用，因此如何准确定量检测人体内维生素 E 不同形式的含量成为研究者们关注的问题。本文对血液维生素 E 的前处理提取技术和分析检测技术进行了综述。目前有报道的前处理技术包括液液萃取、固相萃取、分散液相微萃取、固相支撑液液萃取和直接蛋白沉淀法，可根据不同的检测要求和可操作性，在确保结果真实可靠的情况下进行选择。自动生化分析法、酶联免疫吸附法、气相色谱法已逐步被液相色谱法取代，目前主要的分析检测技术是高效液相色谱法，其中荧光检测法的检测限低且灵敏度高，是目前针对血清/血浆中维生素 E 检测的首选方法，适用于维生素 E 异构体的微量痕量分析检测；若研究仅关注 α-生育酚，则紫外检测法仍是一种高效快速的检测方法；液质联用法虽然比 U 紫外检测法和荧光检测法更为快速简便，但由于设备价格昂贵而难以有效普及。超高效超临界流体色谱-质谱法作为一种新型检测方法，虽然有研究表明可在低水平实现维生素 E 不同形式的分离检测，但涉及的仪器设备较为特殊，有待进一步发展推广。

目前绝大多数分析研究仍仅关注 α-生育酚，检测方法对维生素 E 的分离尚未得到实际临床样本的应用检测，因此无法评判已有的方法是否适用于大批量临床实际样本的分析检测。随着各种前处理和分析检测技术的发展，将两者有效结合形成一种准确有效的检测人体血液维生素 E 含量的方法，将有利于从多维度评估人群维生素 E 的营养状况，为进一步探索维生素 E 不同形式与疾病之间的关系提供检测技术支持。

参考文献

[1]　JU J，PICINICH S C，YANG Z，et al.Cancer-preventive activities of tocopherols and tocotrienols［J］.Carcinogenesis，2010，31（4）：533-542.

［2］ YANG C S，LUO P，ZENG Z，et al.Vitamin E and cancer prevention：studies with different forms of tocopherols and tocotrienols［J］.Mol Carcinog，2020，59（4）：365-389.

［3］ PERVEZ M A，KHAN D A，SLEHRIA A U R，et al.Delta-tocotrienol supplementation improves biochemical markers of hepatocellular injury and steatosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease：a randomized，placebo-controlled trial［J/OL］.Complement Ther Med，2020，52［2021-11-10］. https://doi. org / 10.1016/j.ctim.2020.102494.

［4］ SHEN J J，YANG T，XU Y Z，et al.δ-tocotrienol，isolated from rice bran，exerts an anti-inflammatory effect via MAPKs and PPARs signaling pathways in lipopolysaccharide-stimulated macrophages［J/OL］.Int J Mol Sci，2018，19（10）［2021-11-10］. https://doi.org/10.3390/ijms19103022.

［5］ KIM Y，WANG W，OKLA M，et al.Suppression of NLRP3 inflammasome by γ-tocotrienol ameliorates type 2 diabetes［J］.J Lipid Res，2016，57（1）：66-76.

［6］ CERVINKOVA B，KRCMOVA L K，SOLICHOVA D，et al. Recent advances in the determination of tocopherols in biological fluids：from sample pretreatment and liquid chromatography to clinical studies［J］. Anal Bioanal Chem，2016，408（10）：2407-2424.

［7］ ZHANG H，QUAN L，PEI P，et al.Simultaneous determination of vitamin A，25-hydroxyl vitamin D_3 α-tocopherol in small biological fluids by liquid chromatography-tandem mass spectrometry［J］. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci，2018，1079：1-8.

［8］ HASHEMI B，ZOHRABI P，SHAMSIPUR M. Recent developments and applications of different sorbents for SPE and SPME from biological samples［J］.Talanta，2018，187：337-347.

［9］ KR-MOVÁ L，URBÁNEK L，SOLICHOVÁ D，et al. HPLC method for simultaneous determination of retinoids and tocopherols in human serum for monitoring of anticancer therapy［J］.J Sep Sci，2009，32（15/16）：2804-2811.

［10］ MATA-GRANADOS J M，QUESADA GÓMEZ J M，LUQUE DE CASTRO M D.Fully automatic method for the determination of fat soluble vitamins and vitamin D metabolites in serum［J］. Clin Chim Acta，2009，403（1/2）：126-130.

［11］ LEE M J，FENG W，YANG L，et al.Methods for efficient analysis of tocopherols，tocotrienols and their metabolites in animal samples with HPLC-EC［J］.J Food Drug Anal，2018，26（1）：318-329.

［12］ GIUSEPPONI D，GALARINI R，BAROLA C，et al.LC-MS/MS assay for the simultaneous determination of tocopherols，polyunsaturated fatty acids and their metabolites in human plasma and serum［J］.Free Radic Biol Med，2019，144：134-143.

［13］ GIUSEPPONI D，TORQUATO P，BARTOLINI D，et al.Determination of tocopherols and their metabolites by liquid-chromatography coupled with tandem mass spectrometry in human plasma and serum［J］.Talanta，2017，170：552-561.

［14］ MIDTTUN Ø，MCCANN A，AARSETH O，et al.Combined measurement of 6 fat-soluble vitamins and 26 water-soluble functional vitamin markers and amino acids in 50 μL of serum or plasma by high-throughput mass spectrometry［J］. Anal Chem，2016，88（21）：10427-10436.

［15］ PILA-OVÁ V，GOTTVALD T，SVOBODA P，et al.Development and optimization of ultra-high performance supercritical fluid chromatography mass spectrometry method for high-throughput determination of tocopherols and tocotrienols in human serum［J］. Anal Chim Acta，2016，934：252-265.

［16］ RRZAEE M，YAMINI Y，FARAJI M.Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method［J］. J Chromatogr A，2010，1217（16）：2342-2357.

［17］ 聂宏骞，石慧，易长文，等 . 分散液液微萃取法在食品分析中应用的研究进展［J］. 职业与健康，2021，37（5）：714-720.
NIE H Q，SHI H，YI C W，et al. Research advancements of dispersive liquid-liquid microextraction in food analysis［J］. Occup Health，2021，37（5）：714-720.

［18］ 张小敏，王洁，王淑静，等 .DLPME-HPLC 法同时测定人血清中维生素 A 和维生素 E 含量［J］. 医学信息，2019，32（20）：161-163.
ZHANG X M，WANG J，WANG S J，et al. Simultaneous determination of vitamin A and vitamin E in human serum by DLPME-HPLC［J］. Med Inf，2019，32（20）：161-163.

［19］ CHIARA F，GIOVANNI D，SALVATORE F，et al.Advanced analytical techniques for fat-soluble vitamin analysis［J］. Trends Analyt Chem，2017，87：82-97.

［20］ QI F F，TAO L M，DAI Y M，et al.Optimization and application of high-throughput supported liquid extraction for simultaneous determination of carotenoids and fat-soluble vitamins in serum［J/OL］. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci，2021，1173（2021-03-24）［2021-11-10］. https://doi. org / 10.1016 / j. jchromb.2021.122672.

［21］ PETRUZZIELLO F，GRAND-GUILLAUME PERRENOUD A，THORIMBERT A，et al.Quantitative profiling of endogenous fat-soluble vitamins and carotenoids in human plasma using an improved UHPSFC-ESI-MS interface［J］. Anal Chem，2017，89（14）：7615-7622.

［22］ PEERSMAN N，ELSLANDE J V，LEPAGE Y，et al.UPLC-MS/MS method for determination of retinol and α-tocopherol in serum using a simple sample pretreatment and UniSpray as ionization technique to reduce matrix effects［J］. Clin Chem Lab Med，2020，58（5）：769-779.

［23］ LE J，YUAN T F，ZHANG Y，et al.New LC-MS/MS method with single-step pretreatment analyzes fat-soluble vitamins in plasma and amniotic fluid［J］.J Lipid Res，2018，59（9）：1783-1790.

［24］ LAZZARINO G，LONGO S，AMORINI A M，et al.Single-step preparation of selected biological fluids for the high performance liquid chromatographic analysis of fat-soluble vitamins and antioxidants［J］.J Chromatogr A，2017，1527：43-52.

［25］ 孔琳 . 浅谈自动生化分析仪的发展趋势及在医学检验中的应用［J］. 世界最新医学信息文摘，2015，15（59）：29，32.
KONG L. Introduction to the development trend of automatic bio-

chemical analyzer and its application in medical test［J］. World Latest Med Inf，2015，15（59）：29，32.

［26］ 阴春霞，肖贺丽，姜巍，等．妊娠早期孕妇血清中维生素 A、D 及 E 水平与早发型子痫前期的相关性［J］．中国妇幼保健，2021，36（19）：4418-4420.
YIN C X，XIAO H L，JIANG W，et al. Vitamin A，D and E levels in serum in pregnant women in the early stages of pregnancy were associated with early hair pre-eclampsia［J］. Matern Child Health Care China，2021，36（19）：4418-4420.

［27］ 郭冰杰，杨彩梅．子痫前期孕妇的血脂、血糖与维生素 A、E 的水平及其临床意义［J］．广西医学，2017，39（10）：1474-1476，1479.
GUO B J，YANG C M.Expression levels and clinical significance of blood lipids，blood glucose，vitamin A and E in pregnant women with preeclanpsia［J］. Guangxi Med J，2017，39（10）：1474-1476，1479.

［28］ 张伟利，陈瑞冠，任安林．气相色谱法测定人体血中维生素 E［J］．营养学报，1984，6（4）：355-358.
ZHANG W L，CHEN R G，REN A L. Gas chromatography measures vitamin E in human blood ［J］. Acta Nutrimenta Sin，1984，6（4）：355-358.

［29］ 谢宝英．两种测定人血浆中维生素 E 方法的比较分析［J］．中国现代药物应用，2021，15（14）：234-237.
XIE B Y.The comparative analysis of two determination method of vitamin E in human plasma［J］. Chin J Mod Drug Appl，2021，15（14）：234-237.

［30］ 魏雪缘，沈伟健，张睿，等．食用植物油中生育酚和生育三烯酚检测方法的研究进展［J］．食品安全质量检测学报，2016，7（2）：686-692.
WEI X Y，SHEN W J，ZHANG R，et al.Research progress on the determination methods of tocopherols and tocotrienols in edible vegetable oils［J］. Food Safe Qual Detec Technol，2016，7（2）：686-692.

［31］ CHE H L，TAN D M，MEGANATHAN P，et al.Validation of a HPLC/FLD method for quantification of tocotrienols in human plasma［J］.Int J Anal Chem，2015：1-7.

［32］ 赵莹，胡佳薇，赵静珺，等．高效液相色谱-多波长荧光检测法同时测定血清中维生素 A 和维生素 E 的含量［J］．卫生研究，2020，49（4）：585-590.
ZHAO Y，HU J W，ZHAO J J，et al. Determination of vitamin A and vitamin E in human serum by high performance liquid chromatography with fluorescence detection［J］. J Hyg Res，2020，49（4）：585-590.

［33］ CERVINKOVA B，KRCMOVA L K，KLABACKOVA S，et al. Rapid determination of lipophilic vitamins in human serum by ultra-high performance liquid chromatography using a fluorinated column and high-throughput miniaturized liquid-liquid extraction［J］.J Sep Sci，2017，40（17）：3375-3382.

［34］ 杨子辉．食品安全分析中快速质谱方法及应用研究［D］．长沙：湖南师范大学，2019.
YANG Z H.Research on rapid mass spectrometry method and its application in food safety analysis［D］.Changsha：Hunan Normal University，2019

［35］ LUBIN A，GEERINCKX S，BAJIC S，et al.Enhanced performance for the analysis of prostaglandins and thromboxanes by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using a new atmospheric pressure ionization source［J］.J Chromatogr A，2016，1440：260-265.

［36］ HINCHLIFFE E，RUDGE J，REED P.A novel high-throughput method for supported liquid extraction of retinol and alpha-tocopherol from human serum and simultaneous quantitation by liquid chromatography tandem mass spectrometry［J］. Ann Clin Biochem，2016，53（4）：434-445.

［37］ 陈曦，宫照龙，沈葹．超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱法测定血清中维生素 A 和维生素 E［J］．卫生研究，2021，50（2）：301-307.
CHEN X，GONG Z L，SHEN S. Determination of vitamin A and vitamin E in human serum by ultra-high performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry［J］. J Hyg Res，2021，50（2）：301-307.

［38］ ZHANG X，WEI W，TAO G，et al.Identification and quantification of triacylglycerols using ultraperformance supercritical fluid chromatography and quadrupole time-of-flight mass spectrometry：comparison of human milk，infant formula，other mammalian milk，and plant oil［J］.J Agric Food Chem，2021，69（32）：8991-9003.

收稿日期：2021-09-13　**修回日期：**2021-11-10　**本文编辑：**徐文璐