

· 实验技术 ·

在线柱切换-液相色谱法快速测定禽蛋及其制品中的维生素D₃

王印¹, 黄百芬², 潘晓东²

1. 诸暨市疾病预防控制中心毒理科, 浙江 诸暨 311800; 2. 浙江省疾病预防控制中心, 浙江 杭州 310051

摘要: **目的** 建立在线柱切换-液相色谱法测定禽蛋及其制品中维生素D₃的定量方法。**方法** 样品在抗氧化剂保护下, 经皂化, 乙酸乙酯-正己烷(体积比6:4)提取, 进行二维液相色谱测定。一维色谱系统采用UniChiral® OD-5H色谱柱(4.6 mm×100 mm, 5 μm), 乙腈-甲醇(体积比75:25)和水作为流动相梯度洗脱, 流速1.00 mL/min, 以完成对维生素D的净化; 二维色谱选择Agilent Eclipse PAH色谱柱(2.1 mm×100 mm, 3.5 μm), 柱温35 ℃, 检测波长264 nm, 对维生素D₃的和内标维生素D₂进行分离和测定, 内标法定量。**结果** 维生素D₃在2.5~100 ng/mL范围内线性关系良好, 相关系数 $r^2 > 0.999$, 蛋黄粉中维生素D₃的平均加标回收率为101.23%~102.08%, 相对标准偏差为3.91%~5.85%, 检出限为1.5 μg/100 g, 定量限为4.9 μg/100 g; 全蛋液中维生素D₃检出限为0.15 μg/100 g, 定量限为0.49 μg/100 g。**结论** 该方法操作简单、快速、准确度和灵敏度高、重复性好, 适用于禽蛋及其制品中维生素D₃的快速定量测定。

关键词: 在线柱切换; 液相色谱; 维生素D₃; 禽蛋

中图分类号: R155.5 文献标识码: A 文章编号: 2096-5087 (2022) 12-1289-06

Rapid determination of vitamin D₃ in poultry eggs and their products by on-line column switching liquid chromatography

WANG Yin¹, HUANG Baifen², PAN Xiaodong²

1. Department of Toxicology, Zhuji Center for Disease Control and Prevention, Zhuji, Zhejiang 311800, China;

2. Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou, Zhejiang 310051, China

Abstract: Objective To establish an on-line column switching liquid chromatography for quantitative determination of vitamin D₃ in poultry eggs and their products. **Methods** Antioxidant-protected samples were saponified, extracted with a mixture of ethyl acetate-n-hexane mixture (6:4, v/v) and subjected for determination using two-dimensional liquid chromatography. One-dimensional chromatography was performed with the UniChiral® OD-5H column (4.6 mm × 100 mm, 5 μm), acetonitrile: methanol (75:25, v/v) and water as a mobile phase for gradient elution at a flow rate of 1.00 mL/min to complete vitamin D purification, and two-dimensional chromatography was performed with the Agilent Eclipse PAH column (2.1 mm × 100 mm, 3.5 μm, column temperature of 35 ℃), detection wavelength of 264 nm for separation and determination of vitamin D₃ and internal standard vitamin D₂ with the internal standard method. **Results** Vitamin D₃ had a good linear relationship within the range of 2.5 to 100 ng/mL, with r^2 of >0.999. The mean spiked recovery rate of vitamin D₃ was 101.23% to 102.08% in egg yolk powder, with relative standard deviation (RSD) of 3.91% to 5.85%, detection limit of 1.5 μg/100 g, and quantitative limit of 4.9 μg/100 g, and the limits of detection and quantitation of vitamin D₃ were 0.15 μg/100 g and 0.49 μg/100 g in whole egg liquids. **Conclusions** The method is simple, rapid, highly accurate, sensitive and reproducible, which is suitable for rapid and quantitative determination of vitamin D₃ in poultry eggs and their products.

Keywords: on-line column switching; liquid chromatography; vitamin D₃; poultry egg

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2022.12.019

基金项目: 国家卫生健康委员会食品安全国家标准修订项目
(spaq-2018-047)

作者简介: 王印, 本科, 技师, 主要从事卫生检验工作

通信作者: 黄百芬, E-mail: bfhuang@cdc.zj.cn

维生素 D 对骨骼生长发育, 促进钙磷吸收具有重要意义。海鱼、动物肝脏和蛋黄等食物中维生素 D 含量均较高^[1-2], 经人体摄入后多以维生素 D₂ 和维生素 D₃ 形式存在。研究表明, 全球超过 50% 的人口面临维生素 D 缺乏风险^[3-4], 摄入或吸收减少、阳光照射不足以及内源性合成减少是维生素 D 缺乏的主要原因^[5]。

目前, 国内外多采用液相色谱法^[6-7]和液相色谱-串联质谱法^[6-10]测定食品中维生素 D 含量, 但液相色谱-串联质谱法因仪器设备昂贵, 对实验操作人员技术要求高, 在基层推广具有一定的难度。二维液相色谱技术具有峰容量高、分离效果好等优点, 通过在线柱切换技术, 可有效分析复杂基质样品中的目标组分或全组分^[11-16]。本研究通过优化皂化温度、萃取溶剂等前处理条件, 建立在线柱切换-液相色谱法测定禽蛋及其制品中维生素 D₃ 的准确定量方法。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 液相色谱仪 (1260 Infinity II, 美国 Agilent 公司); 涡旋振荡器 (Multi Reax, 德国 Heidolph 公司); 高速离心机 (Allegra™ X-22R, 美国 BECKMAN COULTER 公司); 分析天平 (AL204, 瑞士 METTLER TOLEDO 公司); 氮吹仪 (N-EVAP™112, 美国 Organomation Associates 公司); Agilent Poroshell 120 EC-C8 色谱柱 (4.6 mm×100 mm, 4 μm, 美国 Agilent 公司); Agilent Poroshell PFP 色谱柱 (4.6 mm×100 mm, 2.7 μm, 美国 Agilent 公司); Agilent Eclipse PAH 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 3.5 μm, 美国 Agilent 公司); UniChiral® OD-5H 色谱柱 (4.6 mm×100 mm, 5 μm, 中国纳谱公司); 捕获柱 Agilent Poroshell 120 EC-C18 (4.6 mm×5 mm, 4 μm, 美国 Agilent 公司); 维生素 D₂ 标准品 (含量 99%, 批号: 47768, Sigma 公司); 维生素 D₃ 标准品 (含量 99%, 批号: 47763, Sigma 公司); 乙腈、甲醇 (色谱纯, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 乙酸乙酯、正己烷 (色谱纯, 韩国 DUKSAN PURE CHEMICALS 公司); 氢氧化钾 (KOH)、石油醚、无水乙醚、无水乙醇、2,6-二叔丁基对甲酚 (BHT) 和抗坏血酸 (分析纯, 上海凌峰化学试剂有限公司); 去离子水 (18.2 MΩ·cm, 采用 Think-lab Corporation 纯水机制得); 鸭蛋黄粉 (杭州市售鸭蛋分取蛋黄搅匀, 经冷冻干燥制得); 其他禽蛋及其制品从杭州市场购买, 去壳后取全蛋搅匀。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液配制 分别称取 10.0 mg 维生素 D₂ 和维生素 D₃ 标准品于 10 mL 棕色容量瓶, 用无水乙醇溶解并定容至刻度线, 浓度均为 1.00 mg/mL。分别吸取维生素 D₂、维生素 D₃ 标准储备液 100 μL 于 10 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇定容至刻度线, 得到维生素 D₂、维生素 D₃ 标准中间液, 均为 10.0 μg/mL。分别吸取维生素 D₂、维生素 D₃ 标准中间液 1.00 mL 于 10 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇定容, 此时标准使用液浓度均 1.00 μg/mL。维生素 D₂ 用作维生素 D₃ 测定的内标。

1.2.2 样品溶液制备 称取蛋黄粉 0.500 0 g 或全蛋液 5.000 0 g 于 50 mL 离心管中, 补加去离子水至 5 g, 加入 0.4 g 抗坏血酸, 涡旋混匀, 加入 200 μL 1.00 μg/mL 维生素 D₂ 内标使用液, 加入 6 mL 含 0.2%BHT 的乙醇溶液, 3 mL 50%KOH 溶液, 于 80 °C 加热皂化 30 min。结束后加入 6 mL 40% 乙醇水溶液, 5 mL 去离子水, 涡旋 3 min, 加入 20 mL 乙酸乙酯-正己烷 (体积比 6:4) 提取, 涡旋 10 min, 以离心半径 12.99 cm、8 000 r/min, 4 °C 离心 5 min。将上清液转移至另一 50 mL 离心管中, 向下层溶液中再加入 10 mL 乙酸乙酯-正己烷 (体积比 6:4) 提取, 涡旋 10 min, 以离心半径 9.21 cm、9 500 r/min, 4 °C 离心 5 min, 合并上清液, 加去离子水至 50 mL, 盖塞, 上下颠倒混匀 5 次, 以离心半径 9.21 cm、9 500 r/min, 4 °C 离心 5 min, 取上清液氮吹后, 用 7.5 mL 乙腈-甲醇 (体积比 75:25) 复溶, 涡旋 3 min, 超声 3 min, 加去离子水定容至 10 mL, 涡旋 3 min, 以离心半径 9.21 cm、9 500 r/min, 4 °C 离心 5 min, 过 0.22 μm 滤膜待测。

1.2.3 色谱条件 一维采用 UniChiral® OD-5H 色谱柱 (4.6 mm×100 mm, 5 μm) 为净化柱, 流动相 A: 水; 流动相 B: 乙腈-甲醇 (体积比 75:25); 流速 1.0 mL/min。梯度洗脱程序和六通阀切换时间见表 1。二维采用 Agilent Eclipse PAH 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 3.5 μm) 为分析柱, 流动相 A: 乙腈-水 (体积比 95:5); 流动相 B: 甲醇; 流动相 A 与流动相 B 按 95:5 进行等度洗脱; 流速 0.4 mL/min; DAD 检测器作为二维检测器, 进样量 50 μL, 柱温 35 °C; 检测波长 264 nm; 运行时间 30 min。捕获柱为 Agilent Poroshell 120 EC-C18 (4.6 mm×5 mm, 4 μm)。

1.2.4 放置损失率 维生素 D 在一定温度下会出现前体转化^[17-18], 将 10 μg/mL 维生素 D₂、10 μg/mL 维生素 D₃ 标准溶液分别置于相应的皂化温度与皂化时间下, 同时测定放置前后标准溶液的峰面积, 根据

表 1 一维系统洗脱程序和阀切换程序

Table 1 Elution program and valve switching program for one dimensional system

时间 Time/min	流动相 A Mobile phase A/%	流动相 B Mobile phase B/%	阀位置 Valve position
0	20	80	1→6
7.95	20	80	1→2
8.55	20	80	1→6
16.00	0	100	1→6
19.00	0	100	1→6
19.50	20	80	1→6

放置前后维生素 D₂ (维生素 D₃) 的峰面积之差与放置前维生素 D₂ (维生素 D₃) 峰面积的比值计算放置损失率。按照 GB 5009.82—2016《食品安全国家标准 食品中维生素 A、D、E 的测定》(80 °C放置 30 min)^[6]、BSEN 12831—2009 (80 °C放置 30 min)^[7]、ISO 20636—2018 (70 °C放置 60 min)^[9]、AOAC 2011.11 (25 °C放置 24 h)^[10] 对一样品进行前处理皂化并在相同色谱条件下依次进样, 计算不同皂化条件下维生素 D₂、维生素 D₃ 的放置损失率。

1.2.5 定量分析 准确吸取维生素 D₃ 标准使用液 25、50、100、200、500、1 000 μL 于 10 mL 棕色容量瓶中, 分别加入 200 μL 1.00 μg/mL 维生素 D₂ 内标使用液, 用乙腈-甲醇 (体积比 75 : 25) 定容至刻度线。分别将浓度为 2.5、5、10、20、50、100 ng/mL 的维生素 D₃ 标准溶液, 维生素 D₂ 内标溶液 (20 ng/mL) 依次进样 50 μL, 以维生素 D₃ 标准溶液浓度与维生素 D₂ 内标浓度的比值为横坐标, 以维生素 D₃ 与维生素 D₂ 内标的峰面积比值为纵坐标, 绘制线性回归方程。考虑禽蛋及其制品中均含有维生素 D₃, 但未检出维生素 D₂, 而维生素 D₂ 与维生素 D₃ 具有相似的紫外吸收特征, 故本研究采用在蛋黄粉和全蛋液中添加低水平的维生素 D₂ 评估方法的检出限和定量限。取蛋黄粉 0.500 0 g, 全蛋液 5.000 0 g, 各加入 25 ng 维生素 D₂, 按照 1.2.2 样品溶液制备方法进行皂化和提取, 蛋黄粉、全蛋液各取样重复测定 11 次, 按维生素 D₂ 的信噪比 (S/N) ≥3 和信噪比 (S/N) ≥10 评估维生素 D₃ 的检出限和定量限^[12]。

1.2.6 加标回收率 称取 0.500 0 g 蛋黄, 各加入 200 μL 浓度为 1.00 μg/mL 维生素 D₂ 内标使用液, 再添加 100、200、400 μL 浓度为 1.00 μg/mL 的维生素 D₃ 标准使用液, 按照 1.2.2 样品溶液制备方法测定维生素 D₃ 含量, 每个水平重复 6 次, 计算平均

加标回收率。

2 结果

2.1 前处理条件优化

2.1.1 皂化处理 从图 1 可见, 温度越高, 维生素 D 越容易损失, 但维生素 D₂ 与维生素 D₃ 的放置损失率之差可维持在 1% 以内, 维生素 D 的热不稳定将直接影响测定结果。由于本实验选择维生素 D₂ 做内标, 且 80 °C皂化时间较短, 大大缩短了前处理时间, 故本研究选择 80 °C放置 30 min 进行皂化。

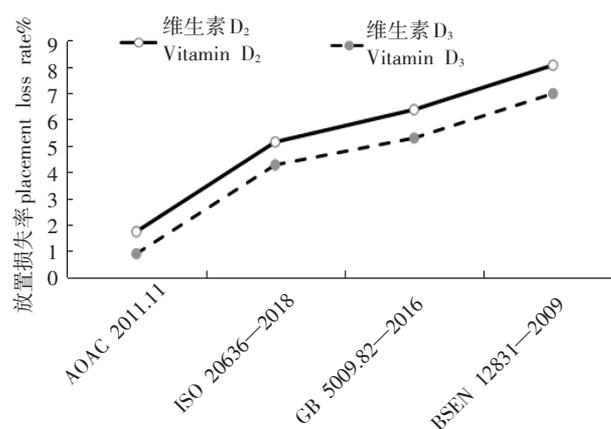


图 1 不同皂化条件维生素 D 放置损失率

Figure 1 Vitamin D placement loss rate under different saponification conditions

2.1.2 样品提取溶剂的选择 以蛋黄粉为研究基质, 21.60 ng/g 维生素 D₂ 为内标, 分别用乙醚、石油醚-乙醚混合溶液、乙酸乙酯、正己烷和不同比例的乙酸乙酯-正己烷混合溶液进行提取, 每组试剂重复测定 3 份。如图 2 所示, 采用乙酸乙酯-正己烷 (体积比 8 : 2 或 6 : 4) 与乙醚提取效果相当。然而乙酸乙酯-正己烷 (体积比 8 : 2) 提取氮吹时间较长, 乙酸乙酯-正己烷 (体积比 6 : 4) 浓缩速度快, 可有效缩短样品前处理时间, 故本研究选用乙酸乙酯-正己烷 (体积比 6 : 4) 为萃取溶剂。

2.2 色谱条件优化

2.2.1 色谱柱选择 比较 Agilent Poroshell 120 EC-C8 色谱柱 (4.6 mm×100 mm, 4 μm)、UniChiral® OD-5H 色谱柱 (4.6 mm×100 mm, 5 μm) 和 Agilent Poroshell PFP 色谱柱 (4.6 mm×100 mm, 2.7 μm) 在各自合适的梯度淋洗程序下对蛋黄粉中维生素 D 的分离效果。Agilent Poroshell 120 EC-C8 色谱柱 (4.6 mm×100 mm, 4 μm) 不能较好地分离维生素 D₂ 与

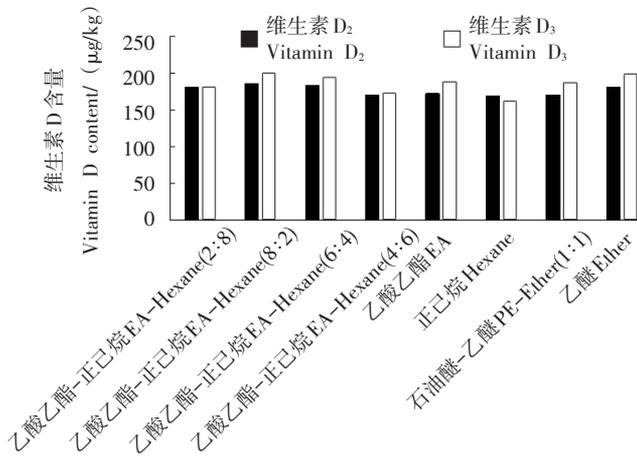
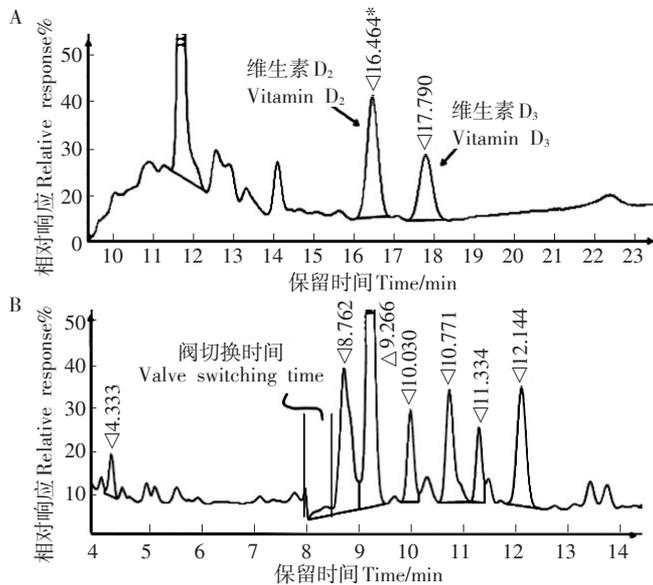


图2 不同提取溶剂维生素D提取效果比较

Figure 2 Comparison of solvent extraction effects on vitamin D

胆固醇分离, 禽蛋及其制品中含有丰富的胆固醇, 故会对维生素D的测定产生干扰; 经 Agilent Poroshell PFP 色谱柱 (4.6 mm×100 mm, 2.7 µm)^[17] 分离, 维生素D一维色谱峰前伸, 保留时间起始点间距较大, 阀切换时间难以把握; UniChiral® OD-5H 色谱柱 (4.6 mm×100 mm, 5 µm) 作一维色谱柱时, 可达到较好的净化效果。因此本研究选择 UniChiral® OD-5H 色谱柱 (4.6 mm×100 mm, 5 µm) 作为一维色谱柱, Agilent Eclipse PAH 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 3.5 µm) 作为二维色谱柱。蛋黄粉中维生素D₃测定的一维和二维色谱图见图3。



注: A, 二维色谱图; B, 一维色谱图。Note: A, two-dimensional chromatogram; B, one-dimensional chromatogram.

图3 蛋黄粉中维生素D₃测定色谱图

Figure 3 Chromatograms of vitamin D₃ in egg yolk powder

2.2.2 六通阀切换时间的确定 结合多次进样 50 ng/mL 维生素D标准溶液、蛋黄粉加标样中的维生素D一维色谱峰保留时间, 确定 UniChiral® OD-5H 色谱柱 (4.6 mm×100 mm, 5 µm) 为一维色谱柱, 在流速为 1.0 mL/min 条件下的阀切换时间为 7.95~8.55 min。经多次实验得知: 根据维生素D色谱峰在一维色谱图上的起始点确定, 在 7.95 min 时将六通阀位置端口从 1 更改至 2, 8.55 min 切换阀位置端口从 1 更改至 6, 见表 1 和图 3。

2.2.3 进样量的选择 比较柱温在 35 °C, 进样量为 50 和 100 µL 条件下的一维色谱图。当 50 ng/mL 维生素D标准溶液的进样量为 100 µL 时, 由于溶剂效应导致一维色谱峰展宽, 阀切换时间难以控制; 进样量为 50 µL 时, 一维色谱峰位置相对稳定, 峰形对称。故选择 50 µL 作为试样溶液和标准溶液的进样量。

2.2.4 柱温的优化 测定 50 ng/mL 维生素D标准溶液、蛋黄粉加标试样在柱温 30 °C、35 °C、40 °C 下的维生素D含量。UniChiral® OD-5H 色谱柱 (4.6 mm×100 mm, 5 µm) 作一维色谱柱时, 柱温对样品中维生素D在一维色谱柱上的保留位置影响不大, 蛋黄粉加标试样中维生素D的一维色谱峰保留时间与标准溶液一致; 但 40 °C 条件下, 维生素D的一维色谱峰展宽, 峰形不对称。本实验选择柱温 35 °C。

2.3 定量方法的选择与优化 采用外标法 [室温过夜皂化 (16±2) h] 和维生素D₂ 作为内标 (80 °C 加热皂化 30 min) 的内标法测定蛋黄粉中维生素D₃ 的加标回收率分别为 (86.78±5.51)% 和 (101.23±4.04)%。故选择内标法测定禽蛋及其制品中的维生素D₃。

2.4 方法 在 2.5~100 ng/mL 范围内, 维生素D₃ 的相关系数 r² 为 0.999 7, 线性回归方程 y=1.442 9x-0.032 9, 线性关系良好; 蛋黄粉中维生素D₃ 的检出限为 1.5 µg/100 g, 定量限为 4.9 µg/100 g; 全蛋液中维生素D₃ 的检出限为 0.15 µg/100 g, 定量限为 0.49 µg/100 g。在 10.20 µg/100 g、20.40 µg/100 g 和 40.80 µg/100 g 加标浓度下, 平均加标回收率为 101.23%~102.08%, 相对标准偏差 (RSD) 为 3.91%~5.85%。见表 2。

2.5 与国标液相色谱-串联质谱法的检测结果比较 选择均匀性较好的蛋黄粉, 分别用本方法与 GB 5009.82—2016 《食品安全国家标准 食品中维生素A、D、E 的测定》液相色谱-串联质谱法重复测定 6 次, 在线柱切换-液相色谱法测定维生素D₃ 为

表 2 蛋黄粉中维生素 D₃ 的加标回收率

Table 2 The spiked recovery rates of vitamin D₃ in egg yolk powder

重复次数 Repeats	加标 10.20 μg/100 g		加标 20.40 μg/100 g		加标 40.80 μg/100 g	
	测定值 Concentration/ (μg/100 g)	回收率 Recovery rate/%	测定值 Concentration/ (μg/100 g)	回收率 Recovery rate/%	测定值 Concentration/ (μg/100 g)	回收率 Recovery rate/%
1	32.06	105.10	41.12	96.96	60.25	95.37
2	31.34	98.04	42.68	104.61	61.71	98.95
3	31.33	97.94	40.19	92.40	61.89	99.39
4	31.95	104.02	42.98	106.08	63.24	102.70
5	32.12	105.69	43.21	107.21	64.24	105.15
6	31.27	97.35	42.81	105.25	64.53	105.60

(21.34±0.89) μg/100 g, 液相色谱-串联质谱法为 (21.71±0.91) μg/100 g。采用 SAS jmp 10.0 软件统计分析, 两者的测定结果差异无统计学意义 (P=0.893)。

2.6 实际样品检测分析 对市售的鹅蛋、鸽子蛋、鸭蛋、土鸡蛋、山鸡蛋、盐焗鸡蛋、五香卤蛋和卤鹌鹑蛋等样品按 1.2.2 进行样品处理, 并按 1.2.3 色谱条件平行测定 3 次。均检出维生素 D₃, 鸭蛋维生素 D₃ 最高, 为 11.13 μg/100 g; 鸽子蛋最低, 为 0.61 μg/100 g。见表 3。

表 3 在线柱切换-液相色谱法与液相色谱-串联质谱法维生素 D₃ 测定结果比较 (n=3, μg/100 g)

Table 3 Comparison of vitamin D₃ determination between on-line column switching liquid chromatography and liquid chromatography tandem mass spectrometry (n=3, μg/100 g)

样品 Sample	2D-LC	HPLC-MS	P 值
鹅蛋 Goose egg	3.43	3.72	0.992
卤鹌鹑蛋 Marinated quail egg	2.41	2.39	0.381
土鸡蛋 Native egg	4.20	4.70	0.982
山鸡蛋 Pheasant egg	4.04	4.28	0.994
鸭蛋 Duck egg	11.13	12.38	0.991
五香卤蛋 Spiced marinated egg	0.70	0.68	0.392
盐焗鸡蛋 Salt baked egg	1.93	2.45	0.998
鸽子蛋 Pigeon egg	0.61	0.62	0.351
蛋黄粉 Egg yolk powder	21.34	21.71	0.893

3 讨论

禽蛋黄富含脂肪、软磷脂、胆固醇、金属元素等营养成分, 样品基质复杂, 可干扰维生素 D 的测定, 需对样品进行前处理提取富集。乙醚和石油醚是食品

中脂溶性维生素测定常用的提取溶剂, 但其有刺激性气味且易挥发, 对实验操作人员有麻醉毒性, 危害较大; HUANG 等^[12] 曾用乙酸乙酯、正己烷作为萃取溶剂测定香菇中的维生素 D₂, 得到了较好的提取效果, 因此本实验比较了不同比例的乙酸乙酯和正己烷混合液对禽蛋黄中维生素 D 的提取效果。

禽蛋黄经一维色谱柱初步分离, 得到维生素 D 保留时间, 通过六通阀切换将含有维生素 D 的馏分切割至捕获柱, 结合捕获柱的柱容量, 将维生素 D 全部转移至二维液相色谱柱中。若切割时间窗口过宽, 易造成二维色谱柱中溶剂体积过大, 产生溶剂效应, 影响到维生素 D 在捕获柱上的保留; 若切割时间窗口太窄, 则会导致目标物损失。因此, 要准确把握六通阀切换时间, 以准确高效完成维生素 D 含量的测定。

对皂化温度和皂化时间的研究结果显示, 维生素 D 的热不稳定性直接影响测定结果。如用外标法, 宜选择室温过夜皂化 (16±2) h。室温皂化时间较长, 若能找到合适的内标, 仍可用加热皂化的方式, 缩短样品前处理时间。图 1 中不同皂化条件下维生素 D₂ 与维生素 D₃ 的损失率之差可维持在 1% 以内, 结合图 2 中不同提取溶剂对维生素 D₂ 和维生素 D₃ 具有相似的提取效率, 为选择维生素 D₂ 作为蛋黄粉中维生素 D₃ 的测定内标创造了条件。

本研究基于在线柱切换-液相色谱技术建立了禽蛋及其制品中维生素 D₃ 的快速定量方法。检测结果显示禽蛋及其制品中均含有维生素 D₃, 且与国标法测定结果无明显差异。本方法选用的萃取试剂为乙酸乙酯-正己烷 (体积比 6:4), 其萃取效率高, 试剂用量少, 浓缩速度快, 对检测人员及生态环境友好。本方法具有操作简单、快速, 测定结果准确, 重现性

好,自动化程度高等特点,有利于食品营养监测大批量工作的开展,可在基层推广应用。

参考文献

- [1] 张京顺,黄百芬,蔡增轩,等.杭州市销售禽蛋及制品中脂溶性维生素含量[J].卫生研究,2020,49(6):984-989.
ZHANG J S, HUANG B F, CAI Z X, et al.Fat-soluble vitamins in different eggs and egg products in Hangzhou City [J]. J Hyg Res, 2020, 49 (6): 984-989.
- [2] 胡代花,李翠丽,陈旺,等.3种紫外辐照处理食用菌粉中维生素D₂及麦角甾醇热稳定性分析[J].食品研究与开发,2020,41(16):31-38.
HU D H, LI C L, CHEN W, et al.Thermal stability of vitamin D₂ and ergosterol in three edible mushrooms powder treated by UV irradiation [J]. Food Res Dev, 2020, 41 (16): 31-38.
- [3] HOLICK M F.Sunlight, ultraviolet radiation, vitamin D and skin cancer: how much sunlight do we need? [J/OL]. Adv Exp Med Biol, 2014, 624 [2022-09-07]. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77574-6_1.
- [4] DOMINGUEZ L J, FARRUGGIA M, VERONESE N, et al.Vitamin D sources, metabolism, and deficiency: available compounds and guidelines for its treatment [J/OL]. Metabolites, 2021, 11 (4) [2022-09-07]. https://doi.org/10.3390/metabo11040255.
- [5] 赵夏雨.影响人体维生素D水平的遗传因素[J].卫生研究,2021,50(2):327-333.
ZHAO X Y.Genetic factors affecting vitamin D levels in human [J]. J Hyg Res, 2021, 50 (2): 327-333.
- [6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.食品安全国家标准食品中维生素A、D、E的测定:GB 5009.82—2016[S].北京:中国标准出版社,2016.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, China Food and Drug Administration.National Food Safety Standard—determination of retinol and tocopherol in foods: GB 5009.82—2016 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2016.
- [7] European Committee for Standardization.Foodstuffs—determination of vitamin D by high performance liquid chromatography—measurement of cholecalciferol (D₃) or ergocalciferol (D₂): BS EN 12831-2009 [S].London: British Standards Institution, 2009.
- [8] HUANG M, WINTERS D, SULLIVAN D, et al.Application of ultra-high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry for the measurement of vitamin D in infant formula and adult/pediatric nutritional formula: First Action 2011.11 [J]. J AOAC Int, 2012, 95 (2): 319-321.
- [9] International Organization for Standardization. Infant formula and adult nutritionals—determination of vitamin D by liquid chromatography mass spectrometry: ISO 20636-2018 [S/OL]. [2022-09-07]. https://www.iso.org/standard/68605.html.
- [10] Association of Official Analytical Chemists. AOAC Official Method 2011.11—vitamin D in Infant formula and adult/pediatric nutritional formula ultra-high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry: First Action 2011 [S]. 2011.
- [11] 王智聪,傅荣杰,吉建国,等.高分辨采样二维液相色谱法同时测定金银花中绿原酸和木犀草苷含量[J].色谱,2019,37(2):201-206.
WANG Z C, FU R J, JI J G, et al.Simultaneous determination of chlorogenic acid and cynaroside contents in Lonicerae Japonica Flos by high resolution sampling [J]. Chin J Chromatogr, 2019, 37 (2): 201-206.
- [12] HUANG B F, PAN X D, ZHANG J S, et al.Determination of vitamins D₂ and D₃ in edible fungus by reversed-phase two-dimensional liquid chromatography [J/OL]. J Food Qual, 2020 [2022-09-07]. https://doi.org/10.1155/2020/8869279.
- [13] 叶佳明,王京,叶磊海,等.在线固相萃取—二维色谱快速测定配方奶粉、米粉中维生素D的含量[J].食品与发酵工业,2020,46(7):239-243.
YE J M, WANG J, YE L H, et al.Determination of vitamin D in infant formula and rice flour by online SPE column and two-dimensional liquid chromatography [J]. Food Fermentation Ind, 2020, 46 (7): 239-243.
- [14] 张丽媛,戚绿叶,周明昊.柱切换法液相色谱测定保健食品中的VA、VD、VE[J].食品科学,2022,43(4):225-230.
ZHANG L Y, QI L Y, ZHOU M H.Determination of vitamins A, D and E in health foods using column-switching liquid chromatography [J]. Food Sci, 2022, 43 (4): 225-230.
- [15] 朱洁.在线固相萃取二维液相色谱法测定复合维生素片中的维生素A、D、E[J].中国食品添加剂,2020,31(10):123-128.
ZHU J.Simultaneous determination of vitamin A, D and E in multi-vitamin tablets by online solid-phase extraction two-dimensional liquid chromatography [J]. China Food Addit, 2020, 31 (10): 123-128.
- [16] 陈建彪.在线净化二维液相色谱快速检测食品中维生素A、D、E[J].食品安全质量检测学报,2019,10(6):1726-1733.
CHEN J B.Rapid detection of vitamin A, D and E in food by on-line purification two-dimensional high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10 (6): 1726-1733.
- [17] 刘玉玲,姜成君,龙凌云,等.高效液相色谱法测定保健食品中维生素D₃的含量[J].食品安全质量检测学报,2017,8(5):1622-1628.
LIU Y L, JIANG C J, LONG L Y, et al.Determination of cholecalciferol in health food by high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8 (5): 1622-1628.
- [18] 金小玲,杨新平,张发,等.维生素D₃在DMSO中的热异构化及其异构体在空气中的氧化反应产物的2D NMR研究[C]//第十二届全国波谱学学术会议论文摘要集.2002.

收稿日期:2022-06-21 修回日期:2022-09-07 本文编辑:吉兆洋