

# 饲料中维生素 A、D、E 的含量测定

## 在线固相萃取-二维高效液相色谱法

### 一、背景

维生素 A、D 和 E 作为饲料的营养添加剂，对动物的健康成长至关重要。维生素 A 可维持动物上皮组织健康，提升免疫功能，并参与骨骼发育；缺乏维生素 A 会导致角膜干燥、呼吸道感染及生产性能下降；维生素 D 可促进钙磷吸收，对骨骼形成至关重要；维生素 D 不足易引发软骨病、佝偻病等；维生素 E 作为抗氧化剂，能够保护细胞免受氧化应激损伤；维生素 E 缺乏会导致肌肉坏死、生殖障碍等问题。

目前饲料中维生素 A、D 和 E 的测定方法主要参考国家标准《GB/T 17817-2024 饲料中维生素 A 的测定 高效液相色谱法》、《GB/T 17818-2025 饲料中维生素 D<sub>3</sub>的测定 高效液相色谱法》和《GB/T 17812-2025 饲料中维生素 E 的测定 高效液相色谱法》，均使用皂化提取法和直接提取法，其中维生素 A 和维生素 D<sub>3</sub> 的皂化提取法中使用了二维色谱系统，但是维生素 A、D 和 E 均是单独测定的，且前处理过程繁琐，试剂消耗量大。本报告采用在线固相萃取方法，使用悟空 K2025 二维液相色谱系统，同时测定饲料中维生素 A、D、E 的含量。该方法摒弃了复杂的样品前处理步骤，显著优化了样品分析流程，大幅提升了分析效率。

### 二、实验过程

## 1 原理

试样经皂化提取后,皂化液经离心、过滤后注入二维液相色谱系统;试样通过在线固相萃取柱浓缩净化后,经一维色谱柱分离维生素 A 和维生素 E ( $\alpha$ -生育酚);再通过中心切割,维生素 D 经切阀、捕集后经二维色谱柱分离为维生素 D<sub>2</sub>和 D<sub>3</sub>。通过保留时间定性,外标法定量。

## 2 试剂与材料

2.1 水:符合 GB/T 6682 的一级水;

2.2 甲醇:色谱纯;

2.3 乙腈:色谱纯;

2.4 无水乙醇:色谱纯;

2.5 50 %乙醇水溶液:将无水乙醇 (2.4) 和水 (2.1) 按 1: 1 的体积比混匀;

2.6 抗坏血酸:分析纯;

2.7 2, 6-二叔丁基对甲基苯酚 (BHT):分析纯;

2.8 BHT-乙醇溶液 (0.01 g/mL):称取 1.0 g BHT (2.7),用 100 mL 无水乙醇 (2.4) 溶解,混匀。临用新制;

2.9 氢氧化钾:分析纯;

2.10 50 %氢氧化钾溶液 (质量分数):称取 50 g 氢氧化钾 (2.9),用 50 g 水 (2.1) 溶解,混匀,冷却后储存于聚乙烯瓶中;

2.11 维生素 A (V<sub>A</sub>) 标准品: CAS 号为 68-26-8, 纯度为 95.6 %;

2.12 维生素 D<sub>2</sub> (VD<sub>2</sub>) 标准品: CAS 号为 50-14-6, 纯度为 98.0 %;

2.13 维生素 D<sub>3</sub> (VD<sub>3</sub>) 标准品: CAS 号为 67-97-0, 纯度为 98.0 %;

2.14 维生素 E ( $\alpha$ -V<sub>E</sub>) 标准品: CAS 号为 10191-41-0, 纯度为 97.8 %;

2.15 配合饲料试样。

### 3 仪器与设备

3.1 二维液相色谱系统: K2025 P4 四元低压输液泵 (SPE)、K2025 P2 二元高压输液泵 (1D)、K2025 P4 四元低压输液泵 (2D)、K2025 AS-TC 自动进样器、K2025 Plus CO 立式柱温箱 (配置两个 2 位 6 通阀)、K2025 UVD 紫外-可见光检测器 (1D)、K2025 UVD 紫外-可见光检测器 (2D)、Wookinglab 2D 二维色谱工作站;

3.2 分析天平: 精确到 0.0001 g;

3.3 超声波清洗机;

3.4 涡旋混合器;

3.5 磁力搅拌器: 带控温功能, 可控温至 80 °C $\pm$ 2 °C;

3.6 离心机:  $\geq$ 8000 r/min;

3.7 具塞离心管: 50 mL, 棕色带刻度;

3.8 容量瓶: 10 mL、100 mL, 棕色带刻度;

3.9 一次性针头注射器;

3.10 0.22  $\mu$ m 微孔有机滤膜。

### 4 色谱方法

a) 切阀示意图:

$V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  的测定包括四个阶段: 第一阶段为进样, 进而对样品进行 SPE 净化; 第二阶段为 SPE 洗脱, 一维系统对  $V_A$  进行测定; 第三阶段为  $V_D$  的捕获与富集; 第四阶段为一维系统继续测定  $\alpha$ - $V_E$ , 二维系统对  $V_D$  进行洗脱、分离及测定。四个阶段阀切换示意图如图 1 所示。

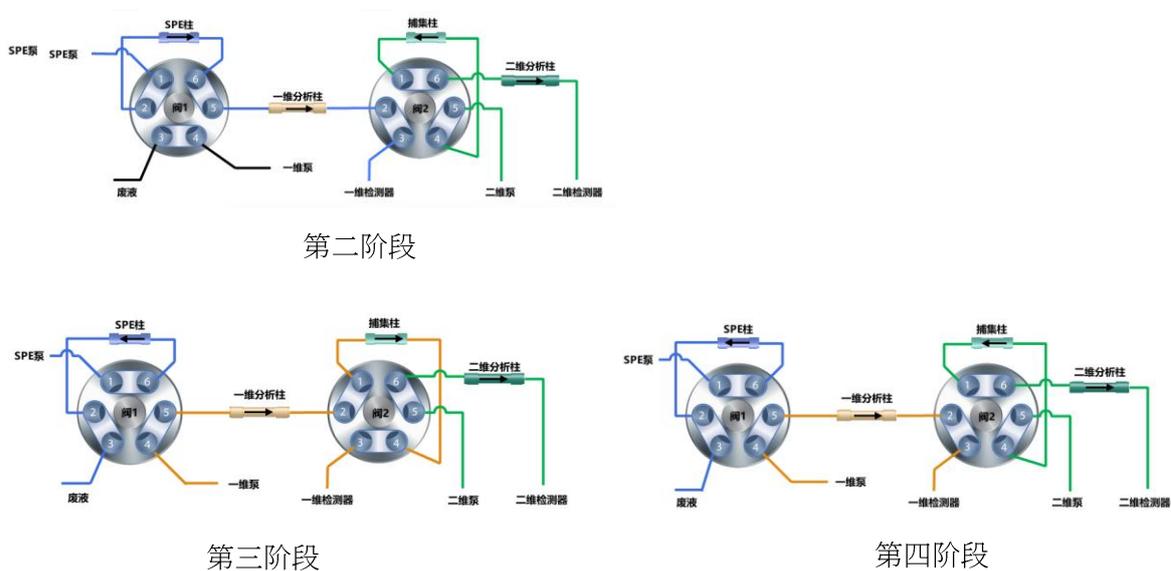


图 1 在线固相萃取-二维高效液相色谱法同时分析  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  阀切换示意图

## b) 色谱条件:

项目	SPE 泵				1D 泵			2D 泵			
	时间 (min)	流动相 A% (乙醇)	流动相 B% (乙腈)	流动相 C% (水)	流动相 D% (异丙醇)	时间 (min)	流动相 A1% (乙醇)	流动相 B1% (水)	时间 (min)	流动相 A% (甲醇)	流动相 B% (乙腈)
梯度表	0.0	50	0	50	0	0.0	80	20	0.0	100	0
	4.0	50	0	50	0	8.0	80	20	7.0	100	0
	4.1	0	100	0	0	18.0	100	0	7.5	2	98
	11.0	0	100	0	0	20.0	100	0	15.0	2	98
	11.1	0	80	0	20	20.5	0	100	20.0	20	80
	20.0	0	80	0	20	22.0	0	100	23.0	20	80
	20.1	50	0	50	0	23.0	80	20	24.0	100	0
	25.0	50	0	50	0	25.0	80	20	25.0	100	0
流速	开始时间 (min)	结束时间 (min)	流速 (mL/min)		开始时间 (min)	结束时间 (min)	流速 (mL/min)				
	0.0	4.0	1.5		0.0	8.0	0.8	0.4 mL/min			
	4.1	25.0	1.0		8.0	18.0	0.8 → 1.5				
					18.0	20.0	1.5 → 1.0				
				20.5	25.0	1.0					
进样量	满环携带进样 100 μL										
样品盘温度	8 °C										
洗针液	50 %乙醇水溶液										
分析柱	Online SPE 柱: 3.0 mm×30 mm, 40 μm				1D 色谱柱: vADE 1D, 4.6 mm×150 mm, 5 μm			2D 色谱柱: vADE 2D, 2.1 mm×100 mm, 3 μm vADE 专用捕集柱: 4.6 mm×10 mm, 5 μm; 保护柱卡套 (专用捕集柱配套使用)			

柱温	35 °C			
切换阀	时间 (min)	A 阀状态	B 阀状态	
	0.0	6-1,2-3,4,5	6-1,2-3,4,5	
	4.0	1-2,3-4,5-6	6-1,2-3,4,5	
	6.0	6-1,2-3,4,5	6-1,2-3,4,5	
	11.0	6-1,2-3,4,5	1-2,3-4,5-6	
	12.5	6-1,2-3,4,5	6-1,2-3,4,5	
检测波长		开始时间 (min)	结束时间 (min)	波长 (nm)
	/	0.0	12.0	325
		12.0	25.0	294
				264 nm

## 5 溶液制备

本实验需在避光条件下操作。

### 5.1 标准溶液配制

5.1.1  $V_A$  标准储备液: 称取  $V_A$  标准品 (2.11) 100 mg, 用无水乙醇 (2.4) 溶解并定容至 100 mL, 混匀, 配制成  $V_A$  浓度为 0.956 mg/mL 的标准储备液;

$V_A$  标准中间液: 吸取  $V_A$  标准储备液 (0.956 mg/mL) 1 mL, 用无水乙醇 (2.4) 稀释并定容至 10 mL, 混匀, 配制成  $V_A$  浓度为 95.600  $\mu$ g/mL 的标准中间液。

5.1.2  $VD_2$  标准储备液: 称取  $VD_2$  标准品 (2.12) 11.5 mg, 用无水乙醇 (2.4) 溶解并定容至 10 mL, 混匀, 配制成  $VD_2$  浓度为 1.127 mg/mL 的标准储备液;

$VD_3$  标准储备液: 称取  $VD_3$  标准品 (2.13) 12.9 mg, 用无水乙醇 (2.4) 溶解并定容至 10 mL, 混匀, 配制成  $VD_3$  浓度为 1.264 mg/mL 的标准储备液;

VD<sub>2</sub>和 VD<sub>3</sub>混合标准中间液: 分别吸取 VD<sub>2</sub>标准储备液 (1.127 mg/mL) 和 VD<sub>3</sub>标准储备液 (1.264 mg/mL) 各 100 μL, 用无水乙醇 (2.4) 稀释并定容至 10 mL, 混匀, 配制成 VD<sub>2</sub>和 VD<sub>3</sub>浓度分别为 11.270 μg/mL、12.642 μg/mL的混合标准中间液。

5.1.3 α-V<sub>E</sub>标准储备液: 称取α-V<sub>E</sub>标准品 (2.14) 100 mg, 用无水乙醇 (2.4) 溶解并定容至 100 mL, 混匀, 配制成α-V<sub>E</sub>浓度为 0.998 mg/mL的标准储备液;

α-V<sub>E</sub>标准中间液: 吸取α-V<sub>E</sub>标准储备液 (0.998 mg/mL) 1 mL, 用无水乙醇 (2.4) 稀释并定容至 10 mL, 混匀, 配制成α-V<sub>E</sub>浓度为 99.800 μg/mL的标准中间液。

5.1.4 V<sub>A</sub>、V<sub>D</sub>、V<sub>E</sub>混合标准系列工作液: 分别吸取 V<sub>A</sub>标准中间液 200 μL、VD<sub>2</sub>和 VD<sub>3</sub>混合标准中间液 200 μL、α-V<sub>E</sub>标准中间液 2 mL, 用 50 %乙醇水溶液 (2.5) 稀释并定容至 10 mL, 混匀, 配制成混合标准系列工作液, 其中 V<sub>A</sub>的浓度为 1.91 μg/mL, VD<sub>2</sub>的浓度为 225.40 ng/mL, VD<sub>3</sub>的浓度为 252.84 ng/mL, α-V<sub>E</sub>的浓度为 19.96 μg/mL。使用 50 %乙醇水溶液 (2.5) 稀释其余浓度点:

浓度梯度\ 目标物	V <sub>A</sub> (μg/mL)	VD <sub>2</sub> (ng/mL)	VD <sub>3</sub> (ng/mL)	α-V <sub>E</sub> (μg/mL)
STD1	0.04	4.51	5.06	0.39
STD2	0.10	11.27	12.64	0.98
STD3	0.19	22.54	25.28	1.96
STD4	0.38	45.08	50.57	3.91
STD5	0.96	112.70	126.42	9.78
STD6	1.91	225.40	252.84	19.56

## 5.2 试样测定液制备

### 5.2.1 测定液制备

称取饲料试样 (2.15) 5 g (精确至 0.0001 g) , 置于 50 mL 带刻度的棕色具塞离心管中, 加入 1.0 g 抗坏血酸 (2.6) , 再加入 15 mL BHT-乙醇溶液 (2.8) , 加盖密封, 摇匀; 再精密加入 10 mL 50 %氢氧化钾溶液 (2.10) , 边加边摇动, 涡旋混匀后于 80 °C ± 2 °C 条件下避光恒温皂化 30 min, 皂化后立即用冷水冷却至室温; 皂化液用 50 %乙醇水溶液 (2.5) 定容至刻度, 加盖密封, 摇匀; 于 8000 r/min 条件下离心 8 min; 上清液经 0.22 μm 微孔有机滤膜过滤, 取续滤液, 即得试样测定液, 待上机测定。

该试样做两次平行实验, 同时做空白实验。

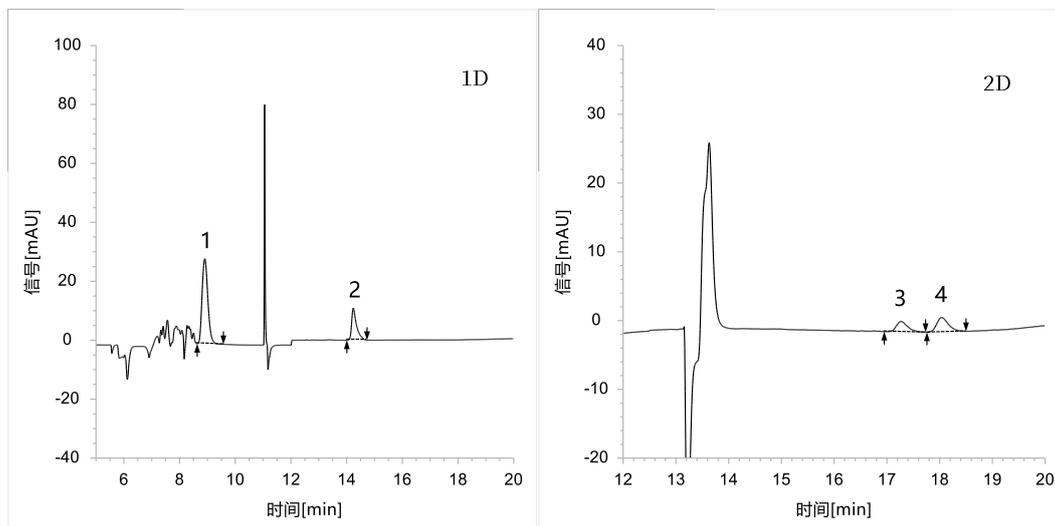
### 5.2.2 加标回收实验

称取饲料试样 (2.15) 2 g (精确至 0.0001 g) , 置于 50 mL 带刻度的棕色具塞离心管中, 依次加入 100 μL V<sub>A</sub> 标准中间液 (V<sub>A</sub> 浓度为 95.600 μg/mL) 、 2.5mL α-V<sub>E</sub> 标准中间液 (α-V<sub>E</sub> 浓度为 97.800 μg/mL) 及 50 μL VD<sub>2</sub> 和 VD<sub>3</sub> 混合标准中间液 (VD<sub>2</sub> 和 VD<sub>3</sub> 浓度分别为 11.270 μg/mL、12.642 μg/mL) , 后续步骤同 5.2.1 试样测定液制备过程, 即得试样加标测定液, 待上机测定。

## 6 实验结果

### 6.1 二维系统色谱图

按照色谱方法 (4), 将  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  混合标准溶液 (STD4) 注入二维系统中进行采集, 一维色谱图和二维色谱图如图 2 所示, 积分结果如表 1 所示。



(1:  $V_A$ ; 2:  $\alpha$ - $V_E$ ; 3:  $VD_2$ ; 4:  $VD_3$ )

图 2 混合标准溶液一维和二维色谱图

表 1 混合标准溶液色谱图积分结果

序号	目标物	保留时间 (min)	峰面积 (mAU.s)	峰高 (mAU)	理论塔板数	分离度	对称/拖尾因子
1	$V_A$	8.908	416.779	28.910	8737	-	1.20
2	$\alpha$ - $V_E$	14.242	133.422	10.933	38320	15.87	1.64
3	$VD_2$	17.275	23.096	1.535	32872	-	1.27
4	$VD_3$	18.050	32.480	2.078	31537	1.97	1.47

由表 1 中数据可知,  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  的理论塔板数范围为 8737~38320, 拖尾因子范围为 1.20~1.64, 均具有较好的峰形;  $VD_2$  和  $VD_3$  的分离度为 1.97, 可实现良好分离。

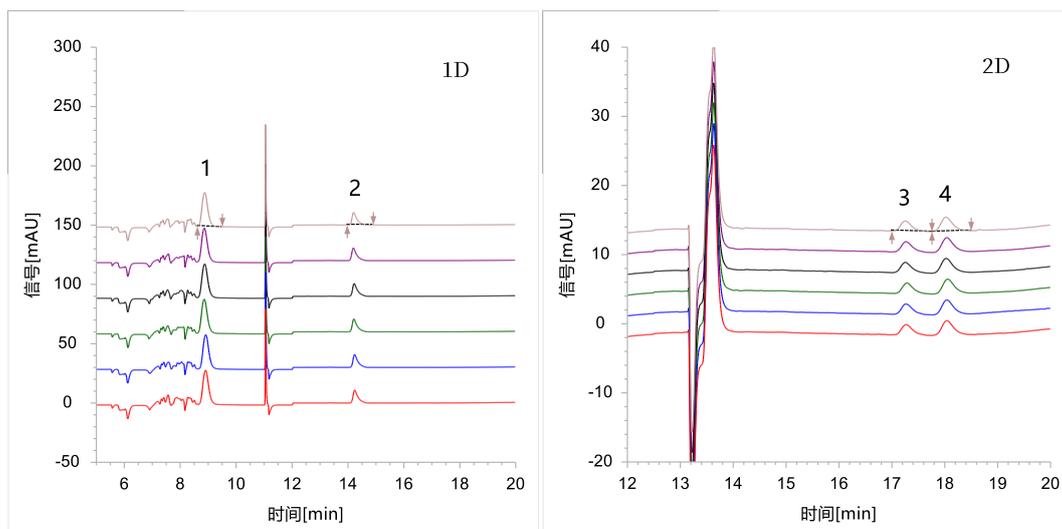
## 6.2 重复性测试

按照色谱方法 (4) , 对  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  混合标准溶液 (STD4) 进行重复性考察, 积分结果如表 2 所示, 叠加图如图 3 所示。

表 2 混合标准溶液连续进样 6 针重复性数据统计表

序号	目标物	项目	1	2	3	4	5	6	平均值	RSD%
1	$V_A$	保留时间 (min)	8.908	8.908	8.858	8.875	8.858	8.875	8.880	0.26
		峰面积 (mAU.s)	416.779	417.388	416.823	417.114	415.930	414.766	416.467	0.23
2	$\alpha$ - $V_E$	保留时间 (min)	14.242	14.233	14.208	14.225	14.192	14.200	14.217	0.14
		峰面积 (mAU.s)	133.422	133.124	133.173	132.897	132.177	132.175	132.828	0.40
3	$VD_2$	保留时间 (min)	17.267	17.267	17.283	17.258	17.267	17.250	17.265	0.06
		峰面积 (mAU.s)	22.599	22.364	22.395	22.474	22.300	22.380	22.419	0.47
4	$VD_3$	保留时间 (min)	18.042	18.042	18.050	18.025	18.042	18.025	18.038	0.06
		峰面积 (mAU.s)	32.439	32.156	32.345	32.528	32.252	32.183	32.317	0.46

由表 2 中数据可知, 混合标准溶液 (STD4) 连续进样 6 针进行重复性测试,  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  保留时间的 RSD 范围为 0.06 %~0.26 %, 峰面积的 RSD 范围为 0.23 %~0.47 %, 均具有良好的定性定量重复性。

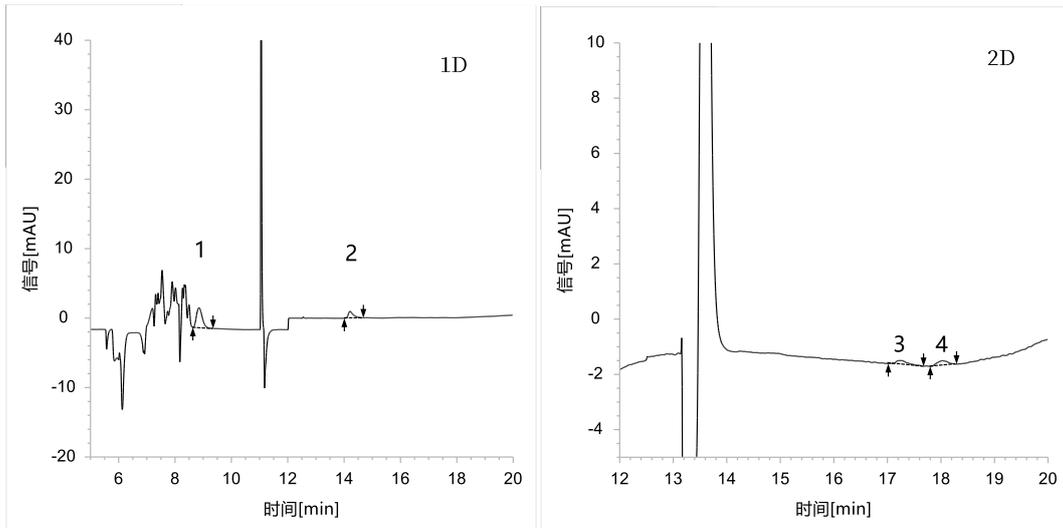


(1:  $V_A$ ; 2:  $\alpha$ - $V_E$ ; 3:  $VD_2$ ; 4:  $VD_3$ )

图3 混合标准溶液连续进样6针叠加色谱图

### 6.3 灵敏度测试

将  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  混合标准溶液 (STD1) 作为灵敏度溶液, 注入二维系统中进行采集, 色谱图如图 4 所示, 计算结果见表 3。



(1:  $V_A$ ; 2:  $\alpha$ - $V_E$ ; 3:  $VD_2$ ; 4:  $VD_3$ )

图 4 灵敏度测试的色谱图

表 3 灵敏度测试结果表

序号	目标物	浓度 ( $\mu$ g/mL)	峰高 (mAU )	噪声 (mAU)	S/N	LOD (ng/mL)	LOD ( $\mu$ g/kg)	LOQ (ng/mL)	LOQ ( $\mu$ g/kg)
1	$V_A$	0.04	2.873	0.018	159.61	0.719	7.19	2.396	23.96
2	$\alpha$ - $V_E$	0.39	0.989	0.018	54.94	21.360	213.60	71.199	711.99
3	$VD_2$	0.0045	0.149	0.021	7.10	1.906	19.06	6.354	63.54
4	$VD_3$	0.0051	0.171	0.021	8.14	1.863	18.63	6.210	62.10

由表 3 中数据可知,  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  的方法检出限范围为 7.19  $\mu$ g/kg~213.60  $\mu$ g/kg, 方法定量限范围为 23.96  $\mu$ g/kg~711.99  $\mu$ g/kg。

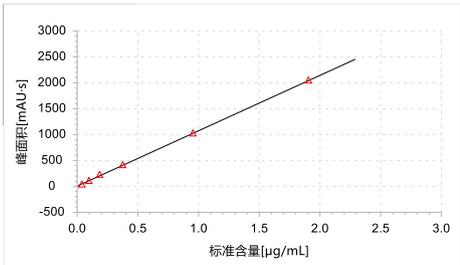
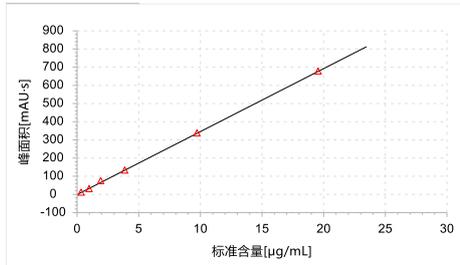
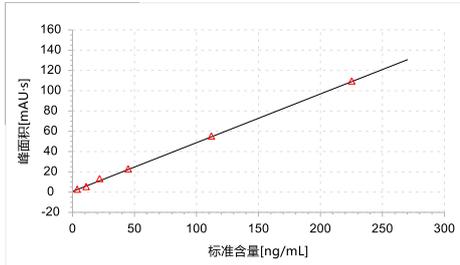
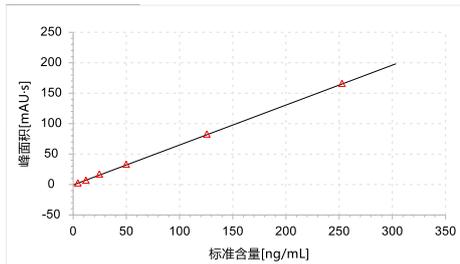
## 6.4 含量测定

### 6.4.1 校准曲线绘制

按照色谱方法 (4), 将  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  混合标准系列工作液 (5.1.4) 上机测定, 以浓度

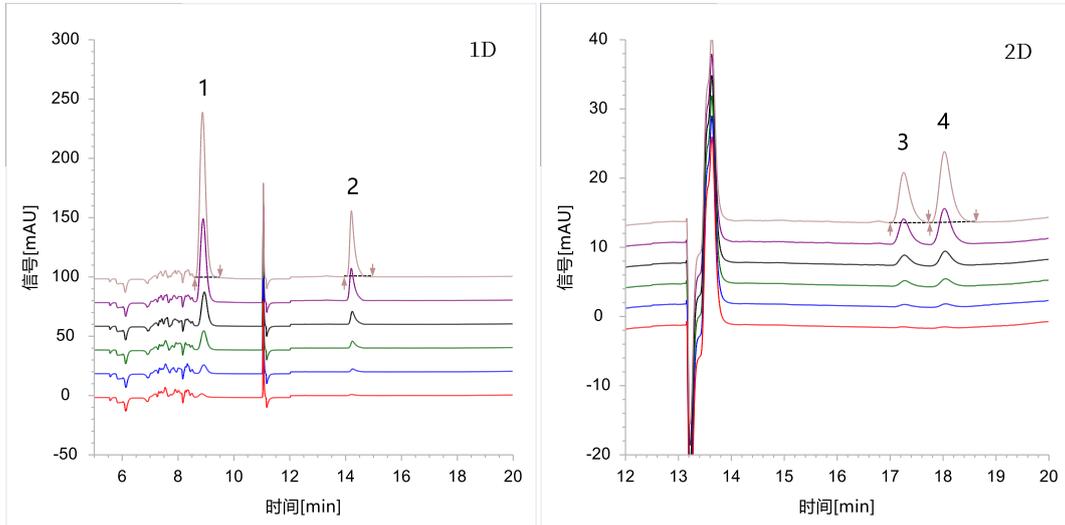
为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线，汇总表如表 4 所示。

表 4 校准曲线、线性范围及方程和相关系数汇总表

序号	目标物	校准曲线	线性范围	线性方程及相关系数 R
1	V <sub>A</sub>		0.04 µg/mL~1.91 µg/mL	$y=1068.92700*x+6.03315$ $R=0.9999$
2	α-V <sub>E</sub>		0.39 µg/mL~19.56 µg/mL	$y=34.66190*x-1.04499$ $R=0.9999$
3	VD <sub>2</sub>		4.51 ng/mL~225.40 ng/mL	$y=0.48101*x+0.64640$ $R=0.9999$
4	VD <sub>3</sub>		5.06 ng/mL~252.84 ng/mL	$y=0.65630*x-0.73693$ $R=0.9999$

由表 4 中数据可知，V<sub>A</sub>、V<sub>D</sub>、V<sub>E</sub> 在其线性浓度范围内均呈现良好的线性关系，相关系数 R 均 > 0.9999。

$V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$ 混合标准系列工作液叠加的色谱图如图 5 所示。



(1:  $V_A$ ; 2:  $\alpha$ - $V_E$ ; 3:  $VD_2$ ; 4:  $VD_3$ )

图 5 混合标准系列工作液叠加色谱图

#### 6.4.2 含量测定

按照色谱方法 (4) , 对空白溶液、试样测定液和试样加标测定液进行采集, 依据公式

(1) 计算试样中  $V_A$ 、 $\alpha$ - $V_E$  的含量, 依据公式 (2) 计算试样中  $V_D$  的含量。

$$X_1 = \frac{C_1 \times V \times 10^3}{m \times 10^3} \quad \text{---公式 (1)}$$

式中:  $X_1$ ---为试样中  $V_A$ 、 $\alpha$ - $V_E$  的含量, 单位为毫克每千克 (mg/kg) ;

$C_1$ ---为从校准曲线计算得到的试样测定液中  $V_A$ 、 $\alpha$ - $V_E$  的浓度, 单位为微克每毫升 ( $\mu\text{g/mL}$ ) ;

V----为试样的定容体积, 单位为毫升 (mL) ;

m----为试样的质量, 单位为克 (g) ;

$10^3$ ----为单位换算系数。

$$X_2 = \frac{C_2 \times V \times 10^3}{m \times 10^6} \quad \text{----公式 (2)}$$

式中:  $X_2$ ----为试样中  $V_D$  的含量, 单位为毫克每千克 (mg/kg) ;

$C_2$ ----为从校准曲线计算得到的试样测定液中  $V_D$  的浓度, 单位为纳克每毫升 (ng/mL) ;

V----为试样的定容体积, 单位为毫升 (mL) ;

m----为试样的质量, 单位为克 (g) ;

$10^6$ 、 $10^3$ ----为单位换算系数。

空白溶液、试样测定液和试样加标测定液的色谱图如图 6~图 8 所示, 试样中  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  的含量结果见表 5。

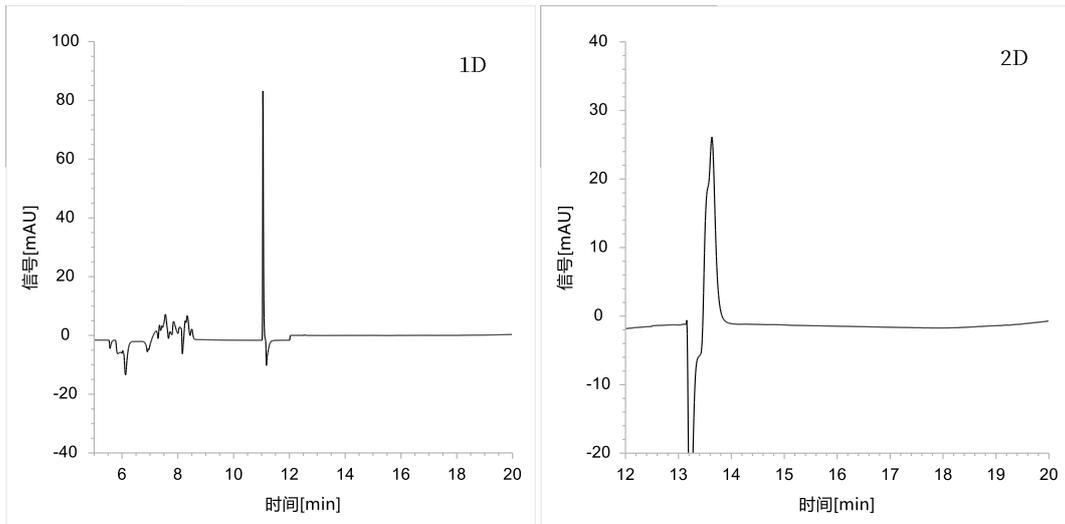
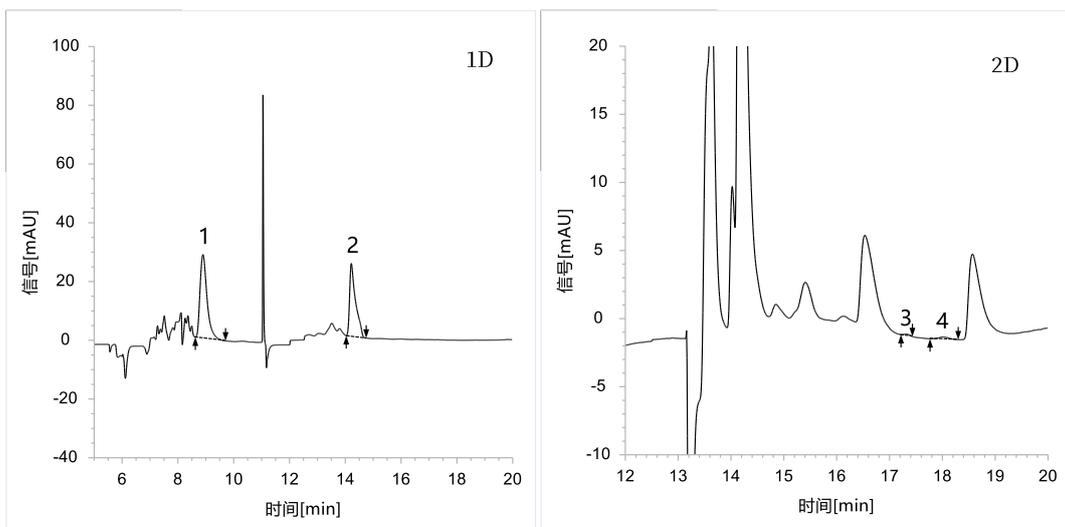
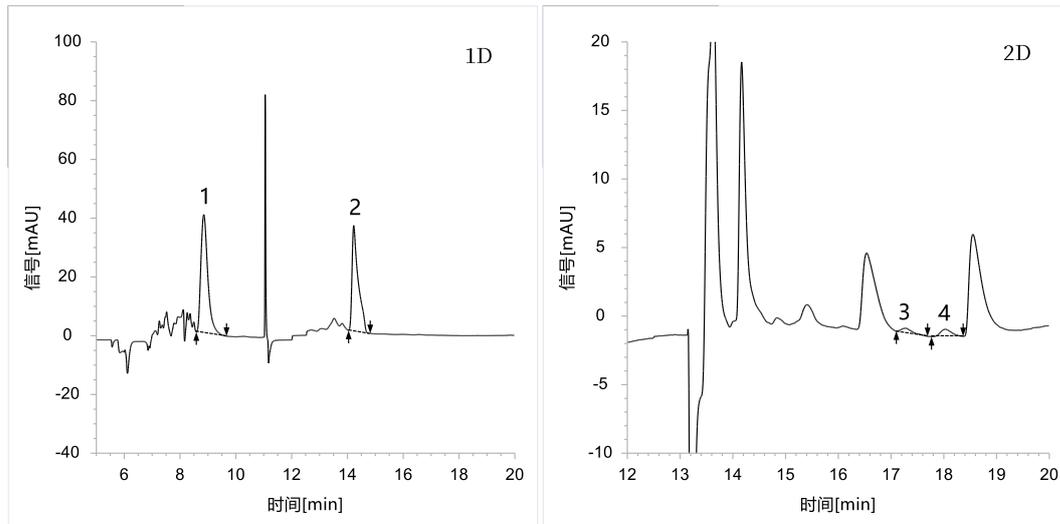


图 6 空白溶液的色谱图



(1:  $V_A$ ; 2:  $\alpha$ - $V_E$ ; 3:  $VD_2$ ; 4:  $VD_3$ )

图 7 试样测定液的色谱图



(1:  $V_A$ ; 2:  $\alpha$ - $V_E$ ; 3:  $VD_2$ ; 4:  $VD_3$ )

图 8 试样加标测定液的色谱图

表 5 试样中维生素含量及回收率汇总表

序号	目标物	试样	含量 (mg/kg)	偏差 (%)	含量均值 (mg/kg)	加标量 ( $\mu$ g)	回收率 (%)
1	$V_A$	S1	8.26	-0.96	8.30	9.56	116.1
		S2	8.34				
2	$\alpha$ - $V_E$	S1	215.0	-1.51	216.6	244.50	104.8
		S2	218.3				
3	$VD_2$	S1	0.0025	-9.13	0.0026	0.56	80.7
		S2	0.0027				
4	$VD_3$	S1	0.048	4.25	0.047	0.63	91.6
		S2	0.046				

由表 5 中数据可知, 饲料试样中  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  的含量范围为 0.0026 mg/kg~216.6 mg/kg; 两次独立测定结果的相对偏差范围为 -9.13 %~4.25 %; 加标回收实验中,  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  的回收率范围为 80.7 %~116.1 %。

### 三、 结论

本实验使用悟空在线固相萃取-二维液相色谱系统, 搭配 vADE 专用色谱柱, 在一维系统中测定  $V_A$  和  $\alpha$ - $V_E$ , 二维系统中测定  $VD_2$  和  $VD_3$ , 实验结果表明:  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  的理论塔板数范围为 8737~38320, 拖尾因子范围为 1.20~1.64, 均具有较好的峰形;  $VD_2$  和  $VD_3$  的分离度为 1.97, 可实现良好分离; 混合标准溶液连续进样 6 针进行重复性测试,  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  保留时间的 RSD 范围为 0.06 %~0.26 %, 峰面积的 RSD 范围为 0.23 %~0.47 %, 均具有良好的定性定量重复性; 灵敏度测试中,  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  的方法检出限范围为 7.19  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~213.60  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 方法定量限范围为 23.96  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~711.99  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ;  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  在其线性浓度范围内均呈现良好的线性关系, 相关系数  $R$  均  $>0.9999$ ; 饲料试样中  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  的含量范围为 0.0026  $\text{mg}/\text{kg}$ ~216.6  $\text{mg}/\text{kg}$ ; 两次独立测定结果的相对偏差范围为 -9.13 %~4.25 %; 加标回收实验中,  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  的回收率范围为 80.7 %~116.1 %。因此, 悟空在线固相萃取-二维液相色谱系统配置 vADE 专用色谱柱, 可同时快速测定饲料中维生素 A、D、E 的含量。

### 四、 注意事项

- 1 整个实验过程需尽量减少光照;
- 2  $V_A$ 、 $V_D$ 、 $V_E$  标准储备液配制后, 可置于 -20  $^{\circ}\text{C}$  避光保存 1 个月;
- 3 样品前处理过程中, 滴加氢氧化钾溶液时需边加边振摇, 避免局部过热; 整个前处理过程需要尽快完成, 避免试样长期暴露在空气中。

## 附 1: 仪器配置清单

序号	单元
K2025 二维高效液相色谱系统	
A)	Pump Unit 泵单元
	SPE 泵: 四元低压输液泵 (62 MPa)
1	1D 泵: 二元高压输液泵 (62 MPa)
	2D 泵: 四元低压输液泵 (62 MPa)
2	流动相瓶 (肖特瓶, 1 L)
3	溶剂托盘
4	脱气机
5	自动在线清洗系统
B)	Sample Injector 进样器
1	制冷版自动进样器
2	样品瓶 (2 mL, 含瓶盖)
3	脱气组件
4	100 $\mu$ L 定量环
C)	Column Oven 柱温箱
1	立式柱温箱 (室温以下 10 $^{\circ}$ C 至 90 $^{\circ}$ C)
2	2 位 6 通阀 (2 个)
	色谱柱:
	Online SPE 柱: 3.0 $\times$ 30 mm, 40 $\mu$ m;
3	1D 色谱柱: vADE 1D, 4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 $\mu$ m;
	2D 色谱柱: vADE 2D, 2.1 mm $\times$ 100 mm, 3 $\mu$ m;
	vADE 专用捕集柱: 4.6 mm $\times$ 10 mm, 5 $\mu$ m;
	保护柱卡套 (专用捕集柱配套使用)
D)	Detector 检测器 (2 套)
1	紫外-可见光检测器
E)	Workstation 工作站
1	Wookinglab 2D 二维色谱工作站

## 附 2: 悟空 K2025 二维高效液相色谱仪 (可靠、精准、友好、合规)

