

食品中维生素D与25-羟基维生素D检测技术及含量分布研究进展

李兵, 赵海燕*, 屠瑞莹, 柳静, 孟娟, 刘泰然,
杨永红, 肖香兰, 陈东, 周香玉, 赵榕

(北京市疾病预防控制中心 北京市预防医学研究中心, 营养与食品卫生所, 北京 100013)

摘要: 维生素D是一种对于维持人体健康具有重要作用的脂溶性维生素, 25-羟基维生素D是其在人体内循环和存储的主要形式。食品中维生素D和25-羟基维生素D前处理的通常采用碱皂化、有机溶剂提取、固相萃取或者半制备色谱净化; 其测定方法多为放射免疫法和液相色谱法。液相色谱串联质谱凭借高灵敏度和高准确度, 目前在食品中维生素D和25-羟基维生素D测定中发挥重要作用。近年来二维液相色谱和超高效超临界流体色谱由于其强大的分离能力, 在食品中维生素D和25-羟基维生素D的分析中表现出强大的潜力。该文综述了近年来食品中维生素D和25-羟基维生素D的检测方法及二者在动物食品和植物食品中的含量分布研究, 以期建立适合不同食物样品的测定方法, 指导居民合理膳食, 进行膳食摄入量评估等研究工作提供参考。

关键词: 维生素D; 25-羟基维生素D; 食品; 检测方法; 含量分布

中图分类号: O657.7 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2019)04-0495-08

Recent Advances on Determination Techniques for Vitamin D and 25-Hydroxyvitamin D and Their Content Distributions in Foods

LI Bing, ZHAO Hai-yan*, TU Rui-ying, LIU Jing, MENG Juan, LIU Tai-ran, YANG Yong-hong,
XIAO Xiang-lan, CHEN Dong, ZHOU Xiang-yu, ZHAO Rong

(Institute of Nutrition and Food Hygiene, Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing Research Center for Preventive Medicine, Beijing 100013, China)

Abstract: Vitamin D is a fat-soluble vitamin essential to human health, of which 25-hydroxyvitamin D is the major circulation and storage mode in human body. The pretreatment methods for vitamin D and 25-hydroxyvitamin D in foods usually include alkaline saponification, organic solvent extraction and purification by solid phase extraction or semi-preparative chromatography. Traditionally, radioimmunoassay technique and high performance liquid chromatography were used for the determination of vitamin D and 25-hydroxyvitamin D in foods. Nowadays, liquid chromatography-tandem mass spectrometry with higher accuracy and precision has become one of the most important methods in determination of vitamin D and 25-hydroxyvitamin D in foods. Recently, two-dimensional liquid chromatography and ultrahigh performance supercritical fluid chromatography have gradually showed a powerful potential in detection of vitamin D and 25-hydroxyvitamin D in foods for their great separation abilities. The determination techniques for vitamin D and 25-hydroxyvitamin D and their content distributions in animal and plant foods are summarized in this review, in order to provide a reference for future studies such as developing suitable determination methods for different kinds of foods, determining their contents, providing reasonable diet suggestions for residents and dietary intake assessment.

Key words: vitamin D; 25-hydroxyvitamin D; foods; determination; content distribution

维生素D是一类具有胆钙化甾醇生物活性物质的总称, 其中麦角钙化甾醇(维生素D₂)和胆钙化甾

醇(维生素 D₃)是具有生物活性的两种形式,对保持人体钙磷平衡、维持骨骼和牙齿健康具有重要作用。维生素 D 在人体内首先转化为 25-羟基维生素 D,进而代谢为 1, 25-二羟基维生素 D 等活性物质。人体缺乏维生素 D 可导致佝偻病、软骨病等多种疾病^[1],目前维生素 D 缺乏已经成为世界普遍存在的公共卫生问题。人体获取维生素 D 有日光照射和膳食摄入 2 个途径,若能够接受充足的日光照射,人体自身形成的维生素 D 即可满足生理需要,无须额外补充^[1]。而对于无法获得充足日光照射的人群,膳食摄入是其补充维生素 D 的重要途径。因此维生素 D 和 25-羟基维生素 D 在食品中的含量分布十分重要,是开展饮食指导和摄入量评估的重要基础。

天然维生素 D 主要存在于动物性食品(鱼、肉、蛋、奶)和植物性食品(蘑菇、木耳、银耳)中^[2]。25-羟基维生素 D 是维生素 D 的代谢产物,主要存在于动物性食品如鱼、肉、蛋、奶中,有研究表明其生物活性是维生素 D 的 1.5~5.0 倍^[3-5]。由于维生素 D 和 25-羟基维生素 D 在食品中的含量较低,且基质干扰严重,因此已有方法多采用皂化除去油脂等干扰物质后再使用半制备色谱或者固相萃取等前处理步骤进行净化后测定,测定方法主要有放射免疫法和色谱法等。本文综述了近年来食物中维生素 D 和 25-羟基维生素 D 的检测方法,包括前处理方法和测定方法,以及含量分布研究的进展,以期开展相关工作提供理论依据。

1 样品前处理

1.1 皂化方法

皂化是食品中维生素 D 和 25-羟基维生素 D 检测的常用前处理方法,主要用以去除脂肪等干扰物质达到净化的目的,并使维生素 D 从一些结合物中游离出来进行测定^[6];该方法采用一定量乙醇和氢氧化钾的水或醇溶液在氮气的保护下避光进行皂化反应,皂化前需在样品中加入一定量抗氧化剂(如抗坏血酸、焦性没食子酸、2, 6-二叔丁基-4-甲基苯酚等)以保护目标物不被氧化。皂化有热皂化和冷皂化 2 种,其中热皂化通常在 50~100 °C 下反应 15~120 min,有研究认为较高的温度会引起维生素损失和异构化^[7]。而冷皂化(常温下皂化 15~16 h)则可避免维生素 D 在皂化过程中的损失。

1.2 提取方法

样品皂化后,一般采用有机溶剂提取目标物,常用提取方法为液液萃取法,萃取溶剂通常为石油醚、正己烷、二氯甲烷、丁醇、异辛烷乙醚、异丙醚等单一溶剂或混合溶剂。液液萃取方法简单、易操作,但存在乳化、有机溶剂消耗量大、繁琐费时等问题。固相支撑液液萃取可减少这些问题的发生,该法通常以硅藻土为载体,可为皂化液和提取溶剂提供更大的接触表面积,从而提高提取效率,降低有机溶剂使用量。Strobel 等^[8]采用硅藻土固相支撑液液萃取提取了猪肉、牛肉、羊肉和鸡肉中的维生素 D 和 25-羟基维生素 D,显著缩短样品的前处理时间,减少了有机溶剂用量,但由于萃取柱批次间的差异,会导致结果有偏差,可采用同位素内标校正。

也有研究不皂化而直接使用溶剂提取样品中维生素 D 和 25-羟基维生素 D,如 Höllera 等^[9]采用甲醇提取并测定了猪不同组织中的 25-羟基维生素 D₃,方法的回收率为 80.3%~105%,相对标准偏差(RSD)为 1.0%~26%,检出限为 1~5 ng/g;Jiao 等^[10]采用 Fe₃O₄ 聚吡咯磁性纳米微粒直接从牛奶中提取富集维生素 D₂ 和 D₃,该方法仅需 15 min 和 0.5 mL 有机溶剂,维生素 D₂ 和 D₃ 的回收率为 72%~90%,RSD 为 3.6%~9.9%,检出限分别为 0.02 ng/mL 和 0.05 ng/mL,方法简单快速。

1.3 净化方法

由于食品基质十分复杂,且维生素 D 和 25-羟基维生素 D 的含量较低,为了获得良好的分离度和灵敏度,测定前需采用固相萃取柱或者半制备色谱净化。硅胶固相萃取和正相半制备色谱是常用的净化方法,也有研究将两者联用对样品净化,以达到更好的净化效果。如 Bilodeau 等^[11]先采用硅胶固相萃取柱净化,再分别使用配备有硅胶柱和氨基柱的正相半制备色谱再次净化,测定了肉、蛋、鱼等食品中的维生素 D₃ 和 25-羟基维生素 D₃。张洁等^[12]研究发现,对维生素 D 和 25-羟基维生素 D 含量高的样品可只采用正相半制备色谱净化,而对于含量较低的复杂样品(如猪肉、禽肉等)需联合固相萃取和半制备色谱柱净化。Höllera 等^[9]采用甲醇提取、C₁₈ 固相萃取柱净化测定猪脂肪和皮中的 25-羟基维生素 D₃。李珉等^[13]采用凝胶渗透色谱及液相色谱-串联质谱测定了油脂性食品中维生素 A、D、E,样

品经环己烷-乙酸乙酯(体积比 5:5)提取,采用凝胶渗透色谱净化去除油脂后上机测定,并将分析结果与皂化-液液萃取/液相色谱法进行对比,发现凝胶渗透色谱/液相色谱-串联质谱联用法在检出限、回收率和精密度方面优势明显,不但将单个样品的检测时间从 190 min 缩短至 45 min,且显著减少了人工操作,自动化程度高。

2 仪器方法

食品中维生素 D 和 25-羟基维生素 D 的测定方法有放射免疫法、液相色谱法、液相色谱-质谱法、二维液相色谱法、超临界流体色谱法、薄层色谱法等。其中液相色谱法和液相色谱-质谱法能够对维生素 D₂/D₃、25-羟基维生素 D₂/D₃ 进行有效分离并测定,具有高选择性的特点,成为食品中维生素 D 和 25-羟基维生素 D 的主要测定方法。与液相色谱法相比,液相色谱-质谱法灵敏度更高,特异性更强,但检测成本较高,且对实验人员操作技能的要求更高。

由于食品中维生素 D 和 25-羟基维生素 D 的前处理方法非常繁琐,因此采用内标法能够更精确的定量。维生素 D₂ 和维生素 D₃ 的化学结构非常相似,在进行液相色谱法测定时,可采用维生素 D₂ 和维生素 D₃、25-羟基维生素 D₂ 和 D₃ 互为内标的方法^[14]。液相色谱-质谱测定时,常使用同位素内标,因为除了色谱分离以外,质谱检测器还可根据分子量信息将同位素内标和目标物提取分离。同位素内标与目标物具有相似的分子结构,色谱行为更为相似,可有效校正前处理造成的损失,因此能够获得更好的精密度和准确度^[15-16]。

2.1 液相色谱法

液相色谱(主要包括正相高效液相色谱、反相高效液相色谱、二维液相色谱和超高效液相色谱)因其良好的分离能力被广泛用于食品中维生素 D 和 25-羟基维生素 D 的分析。由于正相色谱需使用大量环境不友好的溶剂,因此现在多采用配备 C₁₈ 色谱柱的反相液相色谱对食品中维生素 D 进行测定^[16],随着色谱填料技术的不断发展,也有采用其他色谱柱分离维生素 D 的报道,如 Pokkanta 等^[17]使用 PFP 色谱柱在 30 min 内分离了米糠、植物油中维生素 D₃ 等 18 种化合物。近年来,配备亚 2 μm 直径填料色谱柱的超高效液相色谱发展迅速,因其具有分离度高、分析速度快的特点,逐渐在食品中维生素 D 的检测方面发挥重要作用^[18]。由于样品中维生素 D 的含量很低,且基质干扰严重,因此常规的检测方法先使用正相半制备色谱净化,收集馏分浓缩后再采用反相色谱分离测定,需两台色谱系统,操作繁琐费时。近年来发展起来的二维液相色谱,可以在线使用第一根色谱柱对目标物进行初步分离,再将目标物切割进入第二根色谱柱进一步分离,不仅实现了在线净化,还减少了前处理步骤,缩短了前处理时间、提高了分析效率。二维液相色谱仪器条件的选择需考虑色谱柱的差异性和流动相的兼容性。张艳海等^[19]采用在线二维液相色谱法测定维生素 AD 制剂中维生素 A 和 D 的含量,分别选择 C₈ 柱和极性嵌合的 C₁₈ 柱作为一维和二维色谱柱,以乙腈-甲醇-水作为流动相进行梯度洗脱,得到维生素 D 的回收率为 90.0%~98.9%,RSD 为 1.1%,定量下限为 0.015 mg/L,方法的准确度和精密度良好,大大提高了实际样品的分析效率;林玉宙等^[20]采用在线二维液相色谱测定了婴幼儿配方乳品和婴幼儿米粉中维生素 A、D₃、E 的含量,该方法以超高效 C₁₈ 柱和聚合键合的 C₁₈ 键合相 PHA 柱分别作为一维和二维色谱柱,分别以甲醇-水和乙腈-异丙醇为一维和二维的流动相进行梯度洗脱,得维生素 D₃ 的回收率为 90.1%~99.7%,RSD 为 0.97%,定量下限为 0.005 3 mg/L。且该法与国标 10769-2010 方法检测结果相一致,可用于实际样品的测定。岑建斌等^[21]采用正相二维液相色谱测定了婴幼儿乳粉中维生素 A、D₃、E 的含量,采用 NH₂ 柱和 Silica 柱作为一维和二维色谱柱,均以异丙醇-环己烷(2:98)和正己烷为流动相,方法的平均回收率为 86.7%~90.6%,RSD 为 3.50%~3.83%,定量下限为 0.07 mg/kg,此方法与国标方法 GB5413.9 测定的结果不存在显著性差异,可满足日常乳粉检测的定量需求。

2.2 液相色谱-质谱法

高效液相色谱-质谱法可通过色谱分离目标物,还可根据目标物的质荷比进行定性,具有灵敏度高、选择性好的优点,已成为维生素 D 和 25-羟基维生素 D 的重要分析手段。张洁等^[12]采用高效液相色谱-串联质谱法测定畜禽肉中的维生素 D₃ 和 25-羟基维生素 D₃,方法的加标回收率为 75.0%~

97.1%，RSD为1.9%~5.6%，检出限均为0.60 μg/kg。并且比较了高效液相色谱和高效液相色谱-串联质谱法的测定结果，发现后者的灵敏度和特异性均优于前者，且线性和重现性均更好。Huang等^[22]采用超高效液相色谱-串联质谱测定奶粉中维生素D₂和D₃，两者的加标回收率为100%~108%，RSD为3.7%~8.2%，定量下限为0.11、0.086 IU/mL。该研究还比较了超高效液相色谱-串联质谱和高效液相色谱-串联质谱的测定结果，发现前者能够将保留时间从20 min缩短至10 min，且可以更好地将干扰物与目标物分离，结果准确度更高。

研究表明，衍生可以提高维生素D的离子化效率，降低背景干扰，常用的衍生剂为4-苯基-1,2,4-三唑啉-3,5-二酮(PTAD)。Gomes等^[23]采用液相色谱-串联质谱法测定了母乳、牛奶、羊奶、马奶中的维生素D₂/D₃、25-羟基维生素D₂/D₃、1,25-二羟基维生素D₂/D₃以及24,25-二羟基维生素D₂/D₃，方法的回收率为88.2%~105%，RSD为4.8%~14%。并对比了皂化和沉淀蛋白对萃取的影响，确认沉淀蛋白的效果更好。该研究还优化了使用PTAD进行柱前衍生的方法，发现对5种维生素D类似物，当PTAD与其物质的量之比为10 000:1、反应1 h时产物的灵敏度均最佳。并通过对前端液相色谱条件进行优化，有效降低了基质效应，使25-羟基维生素D及其异构体得到了良好的分离。Gill等^[24]采用超高效液相色谱-串联质谱和PTAD衍生的方法测定了牛奶和奶粉中的维生素D₃，方法的回收率为94.7%~105%，RSD为1.4%~4.5%，该研究表明经PTAD衍生后的产物具有良好的灵敏度和选择性，有效减少了样品前处理时间和液相色谱分离时间。在多家实验室验证研究中^[25]，9家实验室采用液相色谱-串联质谱和PTAD衍生法对婴儿奶粉和营养产品中维生素D₂和D₃进行了测定，重复性RSD为1.9%~5.8%，重现性RSD为6.4%~13%，采用标准物质NIST 1849a进行准确度试验，P值为0.32，表明该方法具有良好的准确度和精密度。Nestola等^[26]采用在线高效液相色谱-气相色谱-质谱法对食品中维生素D₂和D₃进行了测定，定量下限分别为128、157 pg，重复性RSD为1.0%~1.3%，与高效液相色谱/紫外检测器法和高效液相色谱-串联质谱法需使用半制备色谱和固相萃取净化相比，该方法简化了样品前处理步骤，是一种高通量检测方法。

2.3 超临界流体色谱法

超临界流体色谱采用二氧化碳和少量有机溶剂为流动相，具有绿色环保的特点，与高效液相色谱相比，可以在更短的时间内实现化合物的良好分离，是近年来快速发展的分析技术。由于二氧化碳属于非极性物质，因此超临界流体色谱非常适合分析疏水性化合物，且可添加不同极性的有机溶剂作为助溶剂，使流动相的极性十分灵活多样，能满足不同极性化合物的分离需要。超高效超临界流体色谱是基于超临界流体色谱的新型分离仪器，与亚2 μm粒径色谱柱联用可进一步提高其分离效率。本实验室采用超高效超临界流体色谱对保健食品中类胡萝卜素和动物肝脏中的维生素A异构体进行分离测定，获得了良好的分离效果^[27-28]。Oberson等^[29]采用超高效超临界流体色谱-串联质谱测定了食品中多种脂溶性维生素，以Acquity UPC² 1-AA(3.0 mm×100 mm, 1.8 μm)为色谱柱，含有10 mmol/L甲酸铵的甲醇-水(98:2)溶液为助溶剂，在柱温为45℃，背压1 856 psi条件下，于7 min内实现了视黄醇乙酸酯、视黄醇棕榈酸酯、视黄醇、α-生育酚、α-生育酚醋酸酯、维生素D₂、维生素D₃、维生素K₁、维生素K₂的分离。所有脂溶性维生素的回收率为90.0%~110%，采用标准物质NIST 1849a进行准确度试验，测定结果与参考值没有统计学差异。Rathi等^[30]以Acquity UPC² BEH Column(3.0 mm×100 mm, 1.7 μm)为色谱柱，异丙醇为助溶剂，在柱温为50℃，背压1 800 psi条件下采用超高效超临界流体色谱对食用油中多种脂溶性维生素进行了测定，在8 min内实现了视黄醇、视黄醇乙酸酯、维生素D₂、维生素D₃、生育酚、维生素K₁、维生素K₂的分离。所有目标物的回收率为69.5%~98.6%，RSD为0.01%~1.8%，定量下限为0.05~3.59 μg/mL。Hamada等^[31]采用超临界流体色谱-反相高效液相色谱-质谱测定了油和脂肪样品中的维生素D，样品经正己烷提取后直接进样分析，超临界流体色谱在线净化，反相高效液相色谱-质谱测定，回收率为84.3%~110%，RSD为5.8%~7.1%，方法显著减少了样品前处理时间，提高了分析效率。

2.4 放射免疫与薄层色谱法

Purchas等^[4]采用Biosource公司的放射免疫分析试剂盒对牛羊肉中25-羟基维生素D₃进行了测定。取1.5 g样品，切碎后以2.5 mL乙腈-水(10:4)萃取3 h，离心后测定。结果发现生肉样品和烹饪后

样品中 25-羟基维生素 D₃ 的变异系数分别为 8.5% ($n = 48$) 和 7.7% ($n = 72$), 检出限为 0.6 ng/mL。Trineeva 等^[32] 以梯度薄层色谱法测定了食品中维生素 A、D₂、E、 β -胡萝卜素, 维生素 D₂ 的检出限为 7×10^{-9} g, RSD 为 4.9%。结果表明薄层色谱具有简单易操作, 低成本的特点, 可用于植物样品、保健食品中多种维生素的测定。

近年来食品中维生素 D 的部分检测方法见表 1。

表 1 食品中维生素 D 的检测方法
Table 1 Determination methods of vitamin D in foods

Analyte	Matrix	Saponification, Extraction and Purification	Analytical methods	Reference
维生素 D ₂ , D ₃ , 25-羟基维生素 D ₂ , D ₃	猪肉, 牛肉, 羊肉, 鸡肉	皂化(25 °C, 15 h), Chromabond XTR 萃取柱提取, 石油醚洗脱	LC-IT-MS, Silica 柱, 梯度洗脱, 10% 异丙醇正庚烷-正庚烷, 内标法	[8]
25-羟基维生素 D ₃	猪肾, 肝, 肌肉, 脾, 皮肤, 脂肪	甲醇提取, C ₁₈ 固相萃取柱(500 mg)净化	HPLC-MS, Aquasil C ₁₈ 柱, 梯度洗脱: 0.05% 甲酸水-0.05% 甲酸甲醇, 内标法	[9]
维生素 A, D, E	油脂性食品	环己烷-乙酸乙酯(体积比 5:5)提取, 凝胶色谱净化	LC-MS/MS, Hypersil GOLD C ₁₈ 柱, 梯度洗脱: 甲醇-含 0.1% 甲酸的 5 mmol/L 乙酸铵溶液, 外标法	[13]
生育酚, 谷维素, 植物甾醇, 角鲨烯, 维生素 K ₁ , D ₃	米糠, 植物油	米糠依次采用甲醇、二氯甲烷、正己烷提取, 植物油采用二氯甲烷提取	HPLC-DAD-FLD, Kinetex PFP 柱, 梯度洗脱: 甲醇-水, 外标法	[17]
维生素 D ₂ , D ₃	保健食品, 药品	乙醇提取	UPLC, BEH C ₁₈ 柱, 梯度洗脱: 乙腈-0.5% 甲酸水溶液, 外标法	[18]
维生素 A, D ₃ , E	婴幼儿配方奶粉, 米粉	皂化(90 °C, 30 min), 石油醚-乙醚(2:1)提取	2D-HPLC, 一维 Cortec C ₁₈ 柱, 二维 Eclipse PAH 柱, 一维梯度洗脱: 甲醇-水, 二维梯度洗脱: 乙腈-异丙醇, 外标法	[20]
视黄醇及酯, 生育酚及酯, 维生素 D ₂ , D ₃ , K ₁ , K ₂	奶粉, 米粉	2% 乙酸甲醇, 异辛烷提取	UHPSFC, 1-AA 柱, 梯度洗脱: 二氧化碳-10 mmol/L 甲酸铵的甲醇-水(98:2), 内标法	[29]
维生素 D ₂ , D ₃	油脂样品	正己烷提取, SFC 净化, UC-X Diol 柱	SFC-RPLC-MS/MS, Inertsil ODS-P 柱, 等度洗脱: 100% 甲醇, 外标法	[31]
维生素 A, D ₃ , E	乳品	皂化(53 °C, 45 min), 石油醚提取, 在线二维液相色谱一维 Accclaim C ₈ 分析柱净化	2D-HPLC, 在线二维液相色谱二维分析柱 Accucore Polar Premium C ₁₈ 柱, 梯度洗脱: 乙腈-甲醇-水, 内标法	[33]
维生素 D ₂ , D ₃	乳制品	皂化(53 °C, 45 min), 石油醚提取	UPLC-MS/MS, BEH C ₁₈ 柱, 梯度洗脱: 甲醇-水, 外标法	[34]
维生素 D ₂ , D ₃	婴幼儿配方食品	皂化(80 °C, 30 min), 正己烷提取, Silica 固相萃取柱(500 mg)净化	UPLC-MS/MS, Eclipse PAH C ₁₈ 柱, 梯度洗脱: A 为 0.05% 甲酸-5 mmol 甲酸铵水溶液, B 为 0.05% 甲酸-5 mmol 甲酸铵甲醇溶液, 内标法	[35]
维生素 D ₂ , D ₃	婴幼儿配方奶粉	分别加入 20% 柠檬酸水溶液, 二甲基亚砜, 甲醇, 正己烷-甲基叔丁基醚(1:1)提取, ProElut VDC 固相萃取柱(2 g, 12 mL)净化	HPLC-MS/MS, Phenomenex Kinetex C ₁₈ 柱, 梯度洗脱: 水-乙腈, 内标法	[36]
维生素 A, 维生素 D ₂ , D ₃ , E, K ₁	婴幼儿配方奶粉	皂化(50 °C, 60 min), 石油醚提取	UPLC-MS/MS, BEH C ₁₈ 柱, 梯度洗脱: 0.02% 甲酸甲醇-0.1% 甲酸-水溶液, 内标法	[37]

3 食品中维生素 D 与 25-羟基维生素 D 含量分布研究进展

近年来欧洲、美国、韩国等国家和地区都建立了维生素 D 和 25-羟基维生素 D 的食物成分表^[2,38-39]。Yoo 等^[39] 的研究表明韩国人维生素 D 主要膳食来源为鱼和贝类(71.34%)、蛋类(14.89%)。刘琰等参照《日本食品标准成分表》中维生素 D 的数据研究发现, 银耳是中国北京、苏州等八地区学龄前儿童维生素 D 最重要的膳食来源(48.16%), 其次是奶类及奶制品(36.16%)和木耳(5.27%)。并指出我国学龄前儿童维生素 D 摄入水平不容乐观, 建议适量增加维生素 D 的摄入, 同时避免摄入过量^[40]。

3.1 动物性食品中维生素 D 和 25-羟基维生素 D 分布研究进展

Malesa - Cieciewicz 等^[41]对波兰市售鱼中维生素 D 进行了测定,并结合维生素 D 含量数据及鱼类消费量数据,评估了波兰居民鱼类消费来源的维生素 D 摄入量。发现在野生鱼类中波罗的海鲑鱼、鲱鱼中维生素 D₃ 含量较高,分别为 26.5、8.8 μg/100 g,养殖鱼类中罗非鱼中维生素 D₃ 的含量(38 μg/100 g)最高。因此增加鱼肉消费量或改变消费模式可提高维生素 D 摄入量。Padula 等^[42]测定了 22 种野生和养殖鱼中维生素 D₃ 的含量,其中大西洋鲑鱼、金目鲈、海鳟鱼、黄尾狮、熟黑鱼的检出量分别为 5.8、10.7、1.6、1.3、0.6 μg/100 g,黑虎虾和鲍鱼中小于 0.3 μg/100 g。

Liu 等^[43]考察了澳大利亚市场上红肉(羊肉、牛肉等)中维生素 D₃ 和 25-羟基维生素 D₃ 的含量,以及纬度的影响。结果发现羊瘦肉中维生素 D₃ 和 25-羟基维生素 D₃ 的含量分别为 0.10 μg/100 g 和 0.20 μg/100 g;羊肉脂肪中分别为 0.88 μg/100 g 和 <0.20 μg/100g;牛瘦肉中分别为 0.12 μg/100 g 和 0.27 μg/100 g;牛肉脂肪中分别为 0.76 μg/100 g 和 0.40 μg/100 g。纬度对于瘦牛肉中二者的含量几乎没有影响,但低纬度的牛肉脂肪中维生素 D₃ 的含量要比高纬度的牛肉高。

Guo 等^[44]测定了鸡蛋中维生素 D₃ 和 25-羟基维生素 D₃ 的含量,结果发现散养和有机饲养的鸡蛋中维生素 D₃ 的含量均高于室内饲养,且 25-羟基维生素 D₃ 的含量在有机鸡蛋中的含量最高,可能与其在饲养过程中受到更多阳光照射相关。研究结果表明鸡蛋中维生素 D 的含量约为 2 μg/个,约为英国 65 岁以上居民膳食维生素 D 推荐摄入量的 20%。Jakobsen 等^[45]测定了奶制品中的维生素 D₂/D₃ 和 25-羟基维生素 D₂/D₃ 的含量。牛奶、奶油、黄油中维生素 D₃ 和 25-羟基维生素 D₃ 的含量为 4.6~196 ng/100 g 和 4.2~96 ng/100 g,牛奶和黄油中维生素 D₂ 分别为 3.4、61 ng/100 g,25-羟基维生素 D₂ 分别为 3.1、58 ng/100 g。Martini 等^[46]测定了食用驴奶中维生素 D 的含量,测得生驴奶中维生素 D₂ 和维生素 D₃ 的含量分别为 1.68、0.60 μg/100 mL,经巴氏杀菌处理后二者的含量为 1.38、0.30 μg/100 mL。研究表明驴奶中二者的含量高于其在牛奶和母乳中的含量,因此食用驴奶可增加维生素 D 摄入量。Gill 等^[47]比较了不同季节牛奶中维生素 D₃ 和 25-羟基维生素 D₃ 的含量,发现维生素 D₃ 的含量范围为 167~615 ng/L,而 25-羟基维生素 D₃ 的含量变化不大,均小于 50 ng/L。

3.2 植物中维生素 D 的含量分布研究进展

Hughes 等^[48]测定了 13 种澳大利亚食用植物和海藻中的维生素 D₂/D₃、25-羟基维生素 D₂/D₃,结果在 5 种样品中检出维生素 D₂,含量为 0.03~0.67 μg/100 g 干重,1 种样品中检出维生素 D₃,含量为 0.01 μg/100 g 干重。Kühn 等^[49]对可可豆及其制品中维生素 D 含量进行了测定,测得黑巧克力中维生素 D₂ 含量为 1.90~5.48 μg/100 g,白巧克力中维生素 D₂ 含量为 0.19~1.91 μg/100 g,巧克力坚果酱中维生素 D₂ 含量为 0.15 μg/100 g。Nölle 等^[50]研究了光照和干燥方式对于蘑菇中维生素 D₂ 含量的影响。结果显示,不切和切片蘑菇经紫外光照射后维生素 D₂ 含量分别为 45、406 μg/g 干重。蘑菇经日晒干燥和太阳能干燥器干燥后维生素 D₂ 含量分别为 36、39 μg/g 干重。由此可见,经紫外光照射、日晒干燥、太阳能干燥器干燥后的蘑菇中均含有较高的维生素 D₂。

4 结论与展望

维生素 D 是维持人体健康的重要脂溶性维生素,食品是其摄入的重要来源之一,因此建立我国维生素 D 食品成分数据库对其摄入量研究具有重要意义,而准确可靠的检测方法是研究的前提和基础。由于食品中维生素 D 和 25-羟基维生素 D 含量较低,且基质干扰较多,因此已有前处理方法多采用繁琐复杂的前处理步骤(如皂化、液液萃取、半制备液相色谱净化等),存在有机溶剂用量大、耗时长、耗费人力物力的缺点,因此研究开发简单快速的前处理方法可以极大地提高样品的检测效率。由于维生素 D₂/D₃、25-羟基维生素 D₂/D₃ 在样品中的含量较低,并且其结构较为相似,因此开发具有高灵敏度、高特异性的检测方法是今后的研究方向。目前食物中维生素 D 的研究多关注肉类食物,对于植物中维生素 D 的研究较少。而我国是植物性食品的消费大国,研究植物中的维生素 D 含量对于提高我国居民的维生素 D 营养水平具有重要意义。

参考文献:

- [1] Erdman J W J, Macdonald I A, Zeisel S H. Present Knowledge in Nutrition Tenth Edition, **2012**.
- [2] Milešević J, Samaniego L, Kiely M, Glibetić M, Roe M, Finglas P. *Food Chem.*, **2018**, 240: 544–549.
- [3] Ovesen L, Brot C, Jakobsen J. *Ann. Nutr. Metab.*, **2003**, 47: 107–113.
- [4] Purchas R, Zou M, Pearce P, Jackson F. *J. Food Compos. Anal.*, **2007**, 20(2): 90–98.
- [5] Tanaka Y, Frank H, Deluca H F. *Endocrinology*, **1973**, 92: 417–422.
- [6] Perales S, Alegría A, Barberá R, Farré R. *Food Sci. Technol. Int.*, **2005**, 11(6): 451–462.
- [7] Fanali C, Dórazio G, Fanali S, Gentili A. *Trends Anal. Chem.*, **2017**, 87: 82–97.
- [8] Strobel N, Buddhadasa S, Adorno P, Stockham K, Greenfield H. *Food Chem.*, **2013**, 138(2): 1042–1047.
- [9] Höller U, Quintana A P, Gössl R, Olszewski K, Riss G, Schattner A, Nunes C S. *J. Chromatogr. B*, **2010**, 878(13): 963–968.
- [10] Jiao Z, Zhang Y, Fan H. *J. Chromatogr. A*, **2016**, 1457: 7–13.
- [11] Bilodeau L, Dufresne G, Deeks J, Clément G, Bertrand J, Turcotte S, Robichaud A, Beraldin F, Fouquet A. *J. Food Compos. Anal.*, **2011**, 24(3): 441–448.
- [12] Zhang J, Zhai Z L, Zhang L F, Ma Q Q, Zhang W, Zhang X Y. *Phys. Test. Chem. Anal.: Chem. Anal.* (张洁, 翟志雷, 张利锋, 马青青, 张伟, 张欣焯. 理化检验—化学分册), **2015**, 11: 1569–1571.
- [13] Li M, Zhang L, Yu T T, Fan Z Y. *Mod. Food Sci. Technol.* (李珉, 张莉, 余婷婷, 范志勇. 现代食品科技), **2018**, 34(9): 1–8.
- [14] GB/T 009.82–2016. Determination of Vitamin A, D and E in Foods. National Standards of the People's Republic of China(食品中维生素A、D、E的测定. 中华人民共和国国家标准).
- [15] Phillips K M, Ruggio D M, Horst R L, Minor B, Simon R R, Feeney M J, Byrdwell W C, Haytowitz D B. *J. Agric. Food Chem.*, **2011**, 59(14): 7841–7853.
- [16] Jones A, Nair S V, Dennis S G R, Andrew S R. *Microchem. J.*, **2018**, 138: 501–508.
- [17] Pokkanta P, Sookwong P, Tanang M, Setchaiyan S, Boontakham P, Mahatheeranont S. *Food Chem.*, **2019**, 271: 630–638.
- [18] Hu D H, Zhang J X, Han H, Wang Y J. *Chin. J. Pharm. Anal.* (胡代花, 张嘉昕, 韩豪, 王永吉. 药物分析杂志), **2016**, 36(8): 1409–1414.
- [19] Zhang Y H, Zhang D W, Cao Y, Jin Y. *J. Instrum. Anal.* (张艳海, 张大伟, 曹莹, 金燕. 分析测试学报), **2016**, 35(1): 28–34.
- [20] Lin Y Z, Wu H, Guo R S, Deng Y F, Huang Y Y, Lin C X. *Sci. Technol. Food Ind.* (林玉宙, 吴宏, 郭荣烁, 邓义方, 黄耀铨, 林春霞. 食品工业科技), **2016**, 37(20): 68–77.
- [21] Cen J B, Ou S J, Zhou L J, Li X Y. *Chin. Dairy Ind.* (岑建斌, 区硕俊, 周朗君, 李秀英. 中国乳品工业), **2017**, 45(2): 43–46.
- [22] Huang M, Winters D. *J. AOAC Int.*, **2011**, 94(1): 211–223.
- [23] Gomes F P, Shaw P N, Whitfield K, Hewavitharana A K. *Anal. Chim. Acta*, **2015**, 891: 211–220.
- [24] Gill B D, Zhu X Z, Indyk H E. *J. AOAC Int.*, **2015**, 98(2): 431–435.
- [25] Gill B D, Indyk H E. *J. AOAC Int.*, **2018**, 101(1): 256–263.
- [26] Nestola M, Thellmann A. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2015**, 407(1): 297–308.
- [27] Li B, Zhao H Y, Liu J, Liu W, Fan S, Wu G H, Zhao R. *J. Chromatogr. A*, **2015**, 1425: 287–292.
- [28] Zhao H Y, Li B, Zhao R, Tu R Y. *Chromatographia*, **2018**, 81(8): 1173–1180.
- [29] Oberson J M, Campos–Giménez E, Rivière J, Martin F. *J. Chromatogr. B*, **2018**, 1086: 118–129.
- [30] Rathi D N, Liew C Y, Fairulnizal M N M, Isameyah D, Barknowitz G. *Food Anal. Method.*, **2017**, 10(4): 1087–1096.
- [31] Hamada N, Guo Y, Ji F, Zhang L, Yamaki S, Li H, Li Y, Hashi Y, Lin J M. *Talanta*, **2018**, 190: 9–14.
- [32] Trineeva O V, Safonova E F, Slivkin A I. *Pharm. Chem. J.*, **2016**, 50(2): 120–125.
- [33] Zhang Y H, Qibuleh H, Jin Y, Wang J, Ma W L. *Chin. J. Chromatogr.* (张艳海, 其布勒哈斯, 金燕, 王佳, 马文丽. 色谱), **2015**, 33(3): 291–297.
- [34] Huo Y M, Wang J, Duan W Z, Xue X, Wang Y L, Yu W J. *J. Instrum. Anal.* (霍艳敏, 王骏, 段文增, 薛霞, 王艳丽, 于文江, 分析测试学报), **2016**, 35(3): 327–331.
- [35] Huang B F, Ke X, Zheng F F, Cai Z X, Lü M L, Ren Y P. *Chin. J. Health. Lab. Technol.* (黄百芬, 柯星, 郑菲菲, 蔡增轩, 吕美玲, 任一平. 中国卫生检验杂志), **2014**, 24(22): 3203–3207.
- [36] Yan L J, Li W B, Hong Y C, Wu M, Xu D M, Lin L Y, Gu C Y. *Chin. J. Chromatogr.* (严丽娟, 李文斌, 洪煜琛, 吴敏, 徐敦明, 林立毅, 顾春燕. 色谱), **2017**, 35(4): 427–431.
- [37] Zhao K X, Lou T T, He J, Chen Q Y, Ge B K, Zheng W J. *J. Instrum. Anal.* (赵孔祥, 娄婷婷, 何佳, 陈其勇, 葛宝坤, 郑文杰. 分析测试学报), **2015**, 34(12): 1372–1376.
- [38] Neufingerl N, Djuwita R, Otten–Hofman A, Nurdiani R, Garczarek U, Muhardi L, Eussen S, Alles M, Sulaeman A, Eilander A. *J. Food Compos. Anal.*, **2016**, 50: 36–48.

- [39] Yoo K, Cho J, Ly S. *Nutrients*, **2016**, 8(10): 610.
- [40] Liu Y, Pan Z Q, Wang M C, Tan S J, Wang P Y, Zhang Y M. *Acta Nutrimenta Sinica*(刘琰, 潘子奇, 王美辰, 谭圣杰, 王培玉, 张玉梅. 营养学报), **2016**, 6: 541 - 545.
- [41] Malesa - Cieciewicz M, Usydus Z. *Nutrition*, **2015**, 31(1): 187 - 192.
- [42] Padula D, Greenfield H, Cunningham J, Kiermeier A, McLeod C. *Food Chem.*, **2016**, 193: 106 - 111.
- [43] Liu J, Greenfield H, Strobel N, Fraser D R. *Food Chem.*, **2013**, 140(3): 432 - 435.
- [44] Guo J, Kliem K E, Lovegrove J A, Givens D I. *Food Chem.*, **2017**, 221: 1021 - 1025.
- [45] Jakobsen J, Saxholt E. *J. Food Compost. Anal.*, **2009**, 22(5): 472 - 478.
- [46] Martini M, Altomonte I, Licitra R, Salari F. *J. Dairy Sci.*, **2018**, 101: 8721 - 8725.
- [47] Gill B D, Zhu X, Indyk H E. *Int. Dairy J.*, **2016**, 63: 29 - 34.
- [48] Hughes L, Black L, Sherriff J, Dunlop E, Strobel N, Lucas R. *Nutrients*, **2018**, 10(7): 876 - 884.
- [49] Kühn J, Schröter A, Hartmann B M, Stangl G I. *Food Chem.*, **2018**, 269: 318 - 320.
- [50] Nölle N, Argyropoulos D, Ambacher S, Müller J, Biesalski H K. *LWT - Food Sci. Technol.*, **2017**, 85: 400 - 404.

(责任编辑: 周启动)

161 项行业标准报批公示 涉及 AAS、ICP - AES 等多项仪器分析方法

日前, 工业和信息化部科技司发布通知, 对 161 项行业标准进行报批公示, 包括《风机包装通用技术条件》等 78 项机械行业标准、《扫路车》等 13 项汽车行业标准、《药用 X 射线异物检测机》等 7 项制药装备行业标准、《船舶行业危险作业许可审批管理要求》等 7 项船舶行业标准、《磷矿石采矿和选矿矿渣技术规范》等 5 项化工行业标准、《石油化工氮氧系统设计规范》等 7 项石化行业标准、《冶金企业煤气管道防泄漏排水安全要求》等 8 项冶金行业标准的制修订工作、《二次电池废料化学分析方法第 1 部分: 镍含量的测定 丁二酮肟重量法和火焰原子吸收光谱法》等 5 项有色行业标准、《铜及铜复合板幕墙技术条件》等 5 项建材行业标准、《家用和类似用途一般水质处理器》等 25 项轻工行业标准、《包装用镀铝薄膜》1 项包装行业标准等。

值得注意的是, 本次报批的 161 项行业标准涉及多项仪器分析方法, 如火焰原子吸收光谱法、电感耦合等离子体原子发射光谱法、高效液相色谱法等多项仪器分析方法。

(信息来源: 仪器信息网)