

乳制品中脂溶性维生素检测的 前处理方法研究进展

赵晓童^{1,2}, 李晓敏^{1*}

(1. 中国计量科学研究院化学计量与分析科学研究所, 北京 100029; 2. 北京化工大学化学学院, 北京 100029)

摘要: 脂溶性维生素品种丰富、结构类似、极性不同、在食品基质中含量差异大; 化学稳定性差, 在光、氧、酸、碱等条件下易降解, 因此多目标物高效前处理、降低基体干扰等关键技术是脂溶性维生素准确定量面临的挑战。本文综述了近年来从不同乳制品中提取脂溶性维生素的研究进展, 主要介绍了液液萃取、固相萃取、分散液液微萃取、磁性固相微萃取、QuEChERS 等传统及新型提取与净化技术在乳制品中脂溶性维生素前处理中的应用, 概述了多种前处理技术的特点, 分析了新型前处理技术在减缓维生素降解速度和减少基质效应方面的优势及其发展的局限性; 展望了不同形式的维生素同时提取的发展趋势以及现行国家标准方法前处理技术多样化的发展前景, 以期对复杂基质中痕量组分的提取提供借鉴意义。

关键词: 乳制品; 脂溶性维生素; 前处理技术

Research progress on pretreatment methods of fat-soluble vitamins detection in dairy products

ZHAO Xiao-Tong^{1,2}, LI Xiao-Min^{1*}

(1. Division of Chemical Metrology and Analytical Science, National Institute Metrology, Beijing 100029, China;
2. Institute of Chemistry, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

ABSTRACT: Fat-soluble vitamins are rich in variety, similar in structure, different in polarity and different in content in food matrix. The chemical stability is poor, and it is easy to degrade under the conditions of light, oxygen, acid, alkali, etc.. Therefore, the key technologies such as efficient pretreatment of multi-target and reducing matrix interference are the challenges faced by the accurate quantification of fat-soluble vitamins. This paper reviewed the research progress of extracting fat-soluble vitamins from different dairy products in recent years, mainly introduced the application of traditional and new extraction and purification technologies such as liquid-liquid extraction, solid-phase extraction, dispersed liquid-liquid microextraction, magnetic solid-phase microextraction and QuEChERS in the pretreatment of fat-soluble vitamins in dairy products, summarized the characteristics of various pretreatment technologies, and analyzed the advantages and development limitations of new pretreatment technologies in slowing down vitamin degradation rate and reducing matrix effect, and prospected the development trend of simultaneous extraction of different forms of vitamins and the development prospect of diversified pretreatment technologies of current national standard methods, in order to provide reference for the extraction of trace components in complex matrix.

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFC1604803)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Plan of China (2019YFC1604803)

***通信作者:** 李晓敏, 博士, 副研究员, 主要研究方向为分析化学。E-mail: lixm@nim.ac.cn

***Corresponding author:** LI Xiao-Min, Ph.D, Associate Professor, Division of Chemical Metrology and Analytical Science, National Institute Metrology, Beijing 100029, China. E-mail: lixm@nim.ac.cn

KEY WORDS: dairy products; fat-soluble vitamins; pretreatment technology

0 引言

维生素是机体维持正常代谢和功能所必需的一类化合物^[1]。根据维生素的溶解性可以分为水溶性维生素与脂溶性维生素^[2]。脂溶性维生素主要包括: 维生素 A、D、E、K 4 种^[3-5], 其中维生素 A 的存在形式包括: 视黄醇、视黄醛、视黄酸、视黄醇乙酸酯、视黄醇棕榈酸酯等^[4,6]; 维生素 D 主要是维生素 D₂ 与 D₃^[7]; 天然存在的维生素 E 有 4 种生育酚和 4 种生育三烯酚共 8 种类似物^[8]; 维生素 K 有 K₁、K₂、K₃、K₄ 4 种形式, 其中维生素 K₁(叶醌)和维生素 K₂(MK-*n*, 其中 *n* 是侧链的异戊烯基单元数)是脂溶性维生素^[5,9]。目前在乳制品中脂溶性维生素的主要检测形式包括: 全反式视黄醇、顺式视黄醇、视黄醇乙酸酯、视黄醇棕榈酸酯; 维生素 D₂ 与 D₃; 4 种生育酚、生育三烯酚、 α -生育酚醋酸酯; 维生素 K₁ 与 K₂(表 1)。脂溶性维生素对人体有着不可或缺的作用^[6], 缺乏或过量补充脂溶性维生素会引发人的生理功能障碍或出现中毒反应^[10-11]。

近年来, 乳制品中脂溶性维生素的分析成为研究热点, 2001 年至 2021 年, 在 Web of Science 数据库上, 乳制品中脂溶性维生素及其测定方法的文献数量显著增加, 其中综述主要涉及食品、血浆以及其他生物体中脂溶性维生素检测技术的研究进展^[3,7,11-13], 乳制品中脂溶性维生素前处理的综述较少。高效前处理技术是准确定量的关键, 因此, 本文综合分析了乳制品中脂溶性维生素前处理技术的

研究进展, 对脂溶性维生素的准确定量以及促进食品安全检测有积极意义。

1 前处理技术

前处理是脂溶性维生素定量分析的关键步骤, 主要包括: 皂化、酶解、提取和净化等操作, 实现对目标物的提取, 并去除多糖、蛋白质、脂质等干扰组分。

1.1 皂化酶解处理

乳制品基质复杂, 包括多糖、脂类、蛋白质等。乳制品中的脂质, 如甘油三酯、磷脂、甾醇等与脂溶性维生素具有相似的溶解度^[14-15], 会影响脂溶性维生素的提取与净化; 大分子蛋白质也会包埋分析物, 影响测定, 降低分析物回收率, 造成色谱污染, 缩短色谱柱寿命^[3,16]。因此, 在对样品提取与净化前, 一般会进行皂化或酶解处理, 皂化可以水解基质中的脂质和酯形式的维生素^[17]; 酶解包括脂肪酶或蛋白酶水解, 释放出包埋的分析物, 利于脂溶性维生素的提取与检测。

皂化处理可将乳制品中视黄醇乙酸酯、视黄醇棕榈酸酯等维生素 A 转化成视黄醇, 将维生素 E 醋酸酯等转化成生育酚检测^[15]。皂化的溶剂一般使用 50% (w/v) 的 KOH 或 NaOH 水溶液和乙醇混合, 热皂化反应在 60~90°C 下, 冷皂化在常温下处理^[18]。热皂化温度较高, 会造成分析物的损失, 如视黄醇会发生热异构化, 转变为视黄醛, 导致测量

表 1 脂溶性维生素的参数及化学性质

Table 1 Parameters and chemical properties of fat-soluble vitamins

	名称	分子式	CAS	影响维生素化学稳定性的参数
维生素 A	全反式视黄醇	C ₂₀ H ₃₀ O	68-26-8	对光、氧、酸敏感
	顺式视黄醇	C ₂₀ H ₃₀ O	2052-63-3	
	视黄醇乙酸酯	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	127-47-9	
	视黄醇棕榈酸酯	C ₃₆ H ₆₀ O ₂	79-81-2	
维生素 D	维生素 D ₂	C ₂₈ H ₄₄ O	50-14-6	对光、氧、酸敏感; 受热异构化; 对碱稳定
	维生素 D ₃	C ₂₇ H ₄₄ O	67-97-0	
	α -生育酚	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	59-02-9	
	β -生育酚	C ₂₈ H ₄₈ O ₂	148-03-8	
维生素 E	γ -生育酚	C ₂₈ H ₄₈ O ₂	54-28-4	对光和氧敏感; 在光和氧的保护下, 对碱稳定
	δ -生育酚	C ₂₇ H ₄₆ O ₂	119-13-1	
	生育三烯酚	C ₂₉ H ₄₄ O ₂	58864-81-6	
	α -生育酚乙酸酯	C ₃₁ H ₅₂ O ₃	7695-91-2	
维生素 K	维生素 K ₁	C ₃₁ H ₄₆ O ₂	84-80-0	对光、酸和碱敏感; 对热和氧稳定
	甲萘酮-4 (MK-4)	C ₃₁ H ₄₀ O ₂	11032-49-8	
	甲萘酮-7 (MK-7)	C ₄₆ H ₆₄ O ₂	2124-57-4	

结果偏低^[17]。热皂化不适用维生素 K 及其同系物,其在高温下被碱性环境快速分解,可采用冷皂化的方式对维生素 K 的同系物进行处理^[3,19]。GENTILI 等^[19]在室温避光条件下比较 KOH 和 K_2CO_3 两种皂化条件对维生素 K 的提取结果显示 K_2CO_3 提取,分析物峰信号更小, KOH 在水解甘油酯和释放维生素方面更有效。此外,当使用 K_2CO_3 时,几乎在维生素 K_1 相同的保留时间检测到干扰峰,维生素 K_1 检测结果准确性较差。

除冷皂化法,脂肪酶水解的方式也可以对维生素 K 及其同系物进行处理,但成本较高^[20-21]。对比皂化法,采用低温除脂质或者蛋白酶处理的方式,可有效保留脂溶性维生素中酯类化合物的形式。ROCCHI 等^[22]将液态奶在 $-18^\circ C$ 下低温保存 1 h,有效去除不同类型液态奶中的脂肪,测定 14 种视黄酯。采用蛋白酶酶解法测婴儿配方食品和奶粉中的乙酸视黄酯和棕榈酸视黄酯时,可有效释放被包裹的维生素 A(包括天然酯)^[23]。脂溶性维生素在光和氧气条件下稳定性差,因此,样品在前处理时,可以通过避光、填充氮气、加入抗氧化剂丁基羟基甲苯和抗坏血酸等操作减少脂溶性维生素的降解。

采用皂化技术分析脂溶性维生素 A、D、E、K 时,维生素酯形式在碱性条件下水解,酯形式无法检测;低温储存或蛋白酶酶解可以保留脂溶性维生素原形态,测量信息更全面。同时,脂溶性维生素在热皂化条件下,会导致分析物的损失,尤其是维生素 A;只有较少文献采用低温或蛋白酶酶解的方法对维生素进行研究^[22-24],目前并没有文献对皂化和酶解去除脂质的水解效果进行比较,为进一步消除脂质的影响,有效提取维生素,对两者的水解效果有研究必要。

1.2 样品提取

皂化或酶解处理后,采用液液萃取(liquid-liquid extraction, LLE)提取脂溶性维生素。萃取溶剂主要有正己烷、异辛烷、乙酸乙酯、石油醚、无水乙醚、甲苯等^[25]。GENTILI 等^[17]用正己烷提取牛奶里的维生素 A、D、E、K,回收率在 67%~100%之间。SHEHATA 等^[26]采用正己烷和乙酸乙酯:乙醚:石油醚混合物(20:30:50, V:V:V)提取奶粉中的全反式视黄醇、 α 与 δ -生育酚,并研制标准物质。GUNESER 等^[27]在热皂化水解后用石油醚:乙醚(1:1, V:V)对牛奶中的维生素 A 与 E 进行提取,回收率为 81.86%。NIERO 等^[28]选择 3 mL 正己烷:甲苯(1:1, V:V)提取皂化后牛奶中的 α 和 γ -生育酚,回收率为 89%~107%。GILL 等^[29]采用异辛烷提取牛奶和婴儿配方奶粉中的维生素 D_3 ,回收率在 94.7%~104.7%之间。GENTILI 等^[19]对母乳中维生素 K 同系物采用了过夜冷皂化后用 2 mL 正己烷提取两次,维生素 K_1 、MK-4 和 MK-7 的回收率在 66%~104%之间。提取溶剂除了正己烷外,甲醇、乙腈、二氯甲烷、乙醇和乙

酸乙酯也用于提取脂溶性维生素,但回收率低于 72%^[16,30]。由于脂溶性维生素 logKow 在 8.63~12.18 之间,正己烷、石油醚等弱极性溶剂较极性较强的溶剂提取回收率更高。

LLE 是最常见的脂溶性维生素的提取方式,萃取回收率较高且成本低廉,但仍然存在一些问题,诸如高溶剂消耗和前处理时间长,延长了分析物暴露于热、光和空气中的时间,因此需严格地控制实验操作,减少样品损失。

1.3 样品净化

乳制品基质复杂,为减少测量干扰,常对样品进行净化处理。固相萃取(solid-phase extraction, SPE)是乳制品中脂溶性维生素常用的净化方式。报道有 C_{18} 、HLB、二氧化硅、以及大孔径硅藻土等填料的 SPE 柱。SUNARIC 等^[31]采用 Bond Elut C_{18} SPE 柱对乳制品中 α -生育酚和 α -生育酚醋酸酯净化,甲醇为洗脱剂,回收率在 73%~94%之间。HEUDI 等^[32]检测婴儿配方奶粉中的维生素 A、 D_3 和 E 时,用 Chromabond XTR SPE 柱,正己烷为洗脱剂,回收率在 87%~112%之间。黄旭等^[33]利用串联净化方式对婴儿配方奶粉维生素 D_3 进行处理,先利用 EXtrelut NT20 SPE 柱,用正己烷洗脱,再用正相硅胶萃取柱净化,正己烷:乙酸乙酯(70:30, V:V)洗脱,回收率为 97.7%~101.6%。TRENERRY 等^[34]使用二氧化硅 SPE 柱,正己烷:乙酸乙酯(80:20, V:V)洗脱维生素 D_3 ,回收率在 60%~90%之间。

SPE 净化可降低基质干扰,用己烷进行液液萃取与用 C_{18} SPE 柱进行固相萃取提取维生素 A、D、E 和 K_1 ,回收率差异小,但色谱分析显示, SPE 净化方法谱图杂峰较少,基质效应小^[35]。SPE 技术对于不同类型脂溶性维生素的同时分析报道较少,研制复合型 SPE 填料实现对脂溶性维生素的高效富集净化有很大的市场需求。

1.4 其他前处理方法

简化、快速、小型化、自动化、成本低的前处理技术是目前脂溶性维生素前处理的发展趋势。基于小型化的分散液液微萃取技术、加压液体萃取技术、超临界流体萃取技术、可重复利用的新型材料磁性固相萃取及 QuEChERS 萃取技术等已经被开发并应用于脂溶性维生素的提取与净化。

分散液-液微萃取(dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)是指萃取剂在分散剂的作用下,在样品中快速分散对目标物质进行萃取,是液液萃取的微型化发展^[36]。此技术包括样品水相、分散剂溶剂和萃取溶剂三元体系。分析脂溶性维生素常用的萃取剂有氯仿、四氯化碳、四氯乙烷等,分散剂有甲醇、乙醇、乙腈等。将萃取剂和分散剂的混合液快速注入水性样品中,形成微小分散液滴组成的浑浊溶液,通过两相之间非常高的接触面积快速提取分析物。由于溶剂液滴比水重,会沉降在离心管的底部,利于分离。VINAS 等^[37]采用 DLLME 结合液相色谱荧光法测

定顺式和反式视黄醇含量, 样品冷皂化后, 以甲醇为分散剂, 四氯化碳为萃取剂对视黄醇进行提取, 并用婴儿配方奶粉 1849a 验证, 测得结果与标准值一致性好。SADRYKIA 等^[38]以乙腈为分散溶剂, 氯仿为萃取溶剂, 用于婴儿配方奶粉中 α -生育酚醋酸酯分离和净化, 无需皂化, 回收率为 89.12%~109.98%。VINAS 等^[39]采用正交试验设计向萃取剂四氯化碳中快速注入分散剂乙腈, 用于提取婴儿食品中维生素 D₂、D₃、K₁、K₂, 回收率为 87%~110%。DLLME 溶剂用量少, 与色谱技术结合可以分析皮升至微升提取物^[38]。

加压液体萃取(pressurized liquid extraction, PLE)是在高压(1600 psi)和高温(50℃)下, 在不锈钢容器操作, 没有光和氧气, 可以减少光热不稳定造成的脂溶性维生素损失^[3]。DELGADO-ZAMARRENO 等^[40]使用甲醇作为萃取剂提取婴儿配方奶粉中维生素 E, 以水性硅藻土作为干燥剂或分散介质, 以防止样品颗粒聚集, 用甲醇稀释提取物后过滤, 直接进行检测, 测得回收率在 92%~106%之间。PLE 自动化程度高、溶剂用量少、提取时间短。

超临界流体萃取(supercritical fluid extraction, SFE)利用压力或温度产生一种超临界流体, 对固体或液体样品的有效组分进行萃取、分离^[41]。BERG 等^[42]使用改性 CO₂ 作为超临界溶剂、水凝胶作为水吸附剂萃取牛奶中的维生素 A 和 E, 在牛奶和奶粉基质中回收率达 76%~101%。TURNER 等^[43]开发了从奶粉中提取维生素 A 和 E 的超临界流体萃取工艺, 静态与动态模式相结合的提取方式, 然后进行皂化, 维生素 A 与 E 的回收率均高于 90%。与溶剂萃取法相比, SFE 不仅可实现自动化, 而且有机溶剂用量少, 萃取速度更快, 效率更高, 对环境友好^[42]。

磁性固相萃取(magnetic solid phase extraction, MSPE)是以磁性或可磁化的材料作为吸附基质的一种分散固相萃取技术。JIAO 等^[44]通过石墨烯包覆的磁粉(Fe₃O₄@graphene)直接从牛奶样品中捕获维生素 D₂ 和 D₃, 仅用 0.5 mL 溶剂洗脱后进行磁场分离, 回收率为 75.5%~89.3%, 同时该材料显示出长期稳定性, 可重复利用。MSPE 技术有机溶剂消耗少, 操作简单^[45]。卢轶男^[46]使用沉淀聚合合法合成了一种分子印迹聚合物, 实现了对维生素 E 的特异性吸附, 吸附量达 38.76 mg/g, 分子印迹材料在脂溶性维生素的分析方面具有一定的应用前景^[47]。

QuEChERS 方法兼具提取与净化功能, 先用有机溶剂进行提取, 再利用吸附剂填料与提取液基质中的杂质相互作用, 吸附杂质从而达到净化的目的^[48]。KIM 等^[49]采用 QuEChERS 分析维生素强化纳米乳液和强化酸奶中维生素 D₂、D₃、K₁ 和 K₂, 乙腈萃取后离心, 然后将乙腈层采用 MgSO₄ 和 PSA 净化, 离心后过膜检测, 该方法回收率为 104.0%~109.2%, 检出限(limit of detection, LOD)为 0.03~0.25 $\mu\text{g/L}$, 定量限(limit of quantitation, LOQ)为 0.10~0.77 $\mu\text{g/L}$ 。该方法比用 DLLME 婴儿食品中提取维生素 D₂、D₃、K₁、K₂ 的 LOD 与 LOQ

分别提高了 12.4 倍和 5.3 倍^[37,50]。此外, QuEChERS 方法可以避免耗时的皂化步骤, 使用环境友好的溶剂从维生素强化样品中有效提取维生素 D 和 K。

与常规皂化、液液提取、SPE 净化相比, 新型前处理技术在简化、快速、小型化、自动化、成本低等方面都有进步。DLLME 与液液萃取相比, 有机溶剂的消耗少, 提取溶剂一般小于 1 mL, 而液液提取有机溶剂用量一般在 10~50 mL^[29,38,51]。QuEChERS 萃取实验步骤简单, 可实现多类型的维生素提取, 方法 LOQ 较液液提取方法灵敏度高^[17,49]。加压液体萃取在密闭不锈钢容器内操作, 减少了由于光热不稳定导致的维生素的降解, 维生素的回收率比皂化后液液提取回收率高 10%左右^[27,40]。磁性固相萃取材料结合电化学传感器可同时测定多种脂溶性维生素, 且适用于多种不同样品基质^[52], 为脂溶性维生素定量分析提供了一种高性能的选择。新型、绿色前处理技术增加了乳制品前处理过程的选择性, 但由于成本高, 新型提取技术在大规模水平的应用受到限制; 新型前处理方法的提取效果需进一步评估, 评估过程可采用响应面方法进行提取优化, 确定新型前处理方法提取脂溶性维生素的最佳参数, KIM 等^[49]已经用响应面方法对 QuEChERS 萃取进行了参数优化, 获得较好的实验效果。

2 展 望

我国已建立了食品中维生素 A、D、E 的国家标准检测方法 GB 5009.82—2016《食品安全国家标准 食品中维生素 A、D、E 的测定》, 采用液液提取技术, 对于复杂的基体, 可以考虑增加净化技术, 减少基质效应。另外, 可以考虑增加维生素不同形态的测定, 比如生育三烯酚以及不同酯形式维生素等的测定。

除了常规的皂化和液液提取、SPE 净化技术, 许多新兴前处理技术, 包括超临界流体萃取、QuEChERS、新材料 MSPE 等逐渐用于脂溶性维生素的前处理分析, 均有较好的应用效果。综合分析目前的前处理方法, 不同类型脂溶性维生素的同时检测、不同存在形式的全面高效提取技术是发展趋势。在未来的前处理方法研究中, 可重点针对脂溶性维生素稳定性差, 开发便携式一体化密闭式处理系统, 减少光、氧气对维生素的影响。针对乳制品基质复杂问题, 需开发特异性识别的新型材料, 如磁性固相萃取分子印迹材料, 具有较好的应用前景。另外, 自动化提取步骤, 也是前处理技术的发展方向。

参考文献

- [1] KHAYAT S, FANAEI H, GHANBARZEHI A. Minerals in pregnancy and lactation: A review article [J]. J Clin Diagn Res, 2017, 11(9): QE01.
- [2] 周津, 罗格莲, 王代芳, 等. 食品中水溶性维生素 HPLC 检测研究综述 [J]. 河南科技, 2019, (35): 134-136.

- ZHOU J, LUO GL, WANG DF, *et al.* Review of HPLC detection of water-soluble vitamins in food [J]. *Henan Sci Technol*, 2019, (35): 134–136.
- [3] FANALI C, DORAZIO G, FANALI S, *et al.* Advanced analytical techniques for fat-soluble vitamin analysis [J]. *TRAC-Trend Anal Chem*, 2017, 87: 82–97.
- [4] BJERKE DL, LI R, PRICE JM, *et al.* The vitamin A ester retinyl propionate has a unique metabolic profile and higher retinoid-related bioactivity over retinol and retinyl palmitate in human skin models [J]. *Exp Dermatol*, 2021, 30(2): 226–236.
- [5] GHEORGHE DC, STEFAN-VANSTADEN RI, VAN SKF. Mini-review: Electrochemical sensors used for the determination of water-and fat-soluble vitamins: B, D, K [J]. *Crit Rev Anal Chem*, 2022. <https://doi.org/10.1080/10408347.2022.2045557>
- [6] KONG L, WANG J, GAO Q, *et al.* Simultaneous determination of fat-soluble vitamins and carotenoids in human serum using a nanostructured ionic liquid based microextraction method [J]. *J Chromatogr A*, 2022, 1666: 462861.
- [7] VARKAL MA, GULENC B, YILDIZ I, *et al.* Vitamin D level, body mass index and fracture risk in children: Vitamin D deficiency and fracture risk [J]. *J Pediatr Orthop B*, 2021, 31(2): e264–e270.
- [8] NIKI E. Lipid oxidation that is, and is not, inhibited by vitamin E: Consideration about physiological functions of vitamin E [J]. *Free Rad Bio Med*, 2021, 176: 1–15.
- [9] HAND I, NOBLE L, ABRAMS SA. Vitamin K and the newborn infant [J]. *Pediatrics*, 2022, 149(3): e2021056036.
- [10] ZHANG Y, ZHOU W, YAN J, *et al.* A review of the extraction and determination methods of thirteen essential vitamins to the human body: An update from 2010 [J]. *Molecules*, 2018, 23(6): 1484.
- [11] ARACHCHIGE GRP, THORSTENSEN EB, COE M, *et al.* Absolute quantification of eleven A, D, E and K vitamins in human plasma using automated extraction and UHPLC-Orbitrap MS [J]. *Anal Chim Acta*, 2021, 1181: 338877.
- [12] KARAZNIEWICZ-LADA M, GLOWKA A. A review of chromatographic methods for the determination of water-and fat-soluble vitamins in biological fluids [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39(1): 132–148.
- [13] TURNER C, KING JW, MATHIASSEN L. Supercritical fluid extraction and chromatography for fat-soluble vitamin analysis [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 936(1–2): 215–237.
- [14] ITKONEN ST, ERKKOLA M, LAMBERG-ALLARDT CJE. Vitamin D fortification of fluid milk products and their contribution to vitamin D intake and vitamin D status in observational studies—a review [J]. *Nutrients*, 2018, 10(8): 1054.
- [15] FURSE S, TORRES AG, KOULMAN A. Fermentation of milk into yoghurt and cheese leads to contrasting lipid and glyceride profiles [J]. *Nutrients*, 2019, 11(9): 2178.
- [16] KARRAR E, AHMED IAM, MANZOOR MF, *et al.* Lipid-soluble vitamins from dairy products: Extraction, purification, and analytical techniques [J]. *Food Chem*, 2022, 373: 131436.
- [17] GENTILI A, CARETTI F, BELLANTE S, *et al.* Comprehensive profiling of carotenoids and fat-soluble vitamins in milk from different animal species by LC-DAD-MS/MS hyphenation [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(8): 1628–1639.
- [18] LEVEQUES A, OBERSON JM, TISSOT EA, *et al.* Quantification of vitamins A, E, and K and carotenoids in submilliliter volumes of human milk [J]. *J AOAC Int*, 2019, 102(4): 1059–1068.
- [19] GENTILI A, MICCHELI A, TOMAI P, *et al.* Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of vitamin K homologues in human milk after overnight cold saponification [J]. *J Food Comp Anal*, 2016, 47: 21–30.
- [20] INDYK HE, WOOLLARD DC. Vitamin K in milk and infant formulas: Determination and distribution of phyloquinone and menaquinone-4 [J]. *Analyst*, 1997, 122(5): 465–469.
- [21] WOOLLARD DC, INDYK HE, FONG BY, *et al.* Determination of vitamin K₁ isomers in foods by liquid chromatography with C₃₀ bonded-phase column [J]. *J AOAC Int*, 2002, 85(3): 682–691.
- [22] ROCCHI S, CARETTI F, GENTILI A, *et al.* Quantitative profiling of retinyl esters in milk from different ruminant species by using high performance liquid chromatography-diode array detection-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2016, 211: 455–464.
- [23] WOOLLARD DC, BENSCH A, INDYK H, *et al.* Determination of vitamin A and vitamin E esters in infant formulae and fortified milk powders by HPLC: Use of internal standardization [J]. *Food Chem*, 2016, 197: 457–465.
- [24] CHASE JRGW, YE L, STOAKES VC, *et al.* An interlaboratory-verified method for the determination of vitamins A and E in milk-and soy-based infant formula by liquid chromatography with matrix solid-phase dispersion extraction [J]. *J AOAC Int*, 2004, 87(5): 1173–1178.
- [25] CHÁVEZ-SERVÍN JL, CASTELLOTE AI, LÓPEZ-SABATER MC. Simultaneous analysis of vitamins A and E in infant milk-based formulae by normal-phase high-performance liquid chromatography-diode array detection using a short narrow-bore column [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1122(1–2): 138–143.
- [26] SHEHATA AB, RIZK MS, FARAG AM, *et al.* Development of two reference materials for all trans-retinol, retinyl palmitate, α - and γ -tocopherol in milk powder and infant formula [J]. *J Food Drug Anal*, 2015, 23(1): 82–92.
- [27] GUNESER O, YUCEER YK. Effect of ultraviolet light on water-and fat-soluble vitamins in cow and goat milk [J]. *J Dairy Sci*, 2012, 95(11): 6230–6241.
- [28] NIERO G, PENASA M, BERARD J, *et al.* Development and validation of an HPLC method for the quantification of tocopherols in different types of commercial cow milk [J]. *J Dairy Sci*, 2018, 101(8): 6866–6871.
- [29] GILL BD, INDYK HE, WOOLLARD DC. Current methods for the analysis of selected novel nutrients in infant formulas and adult nutritionals [J]. *J AOAC Int*, 2016, 99(1): 30–41.
- [30] BARBA FJ, ESTEVE MJ, FRIGOLA A. Determination of vitamins E (α -, γ - and δ -tocopherol) and D (cholecalciferol and ergocalciferol) by liquid chromatography in milk, fruit juice and vegetable beverage [J]. *Eur Food Res Technol*, 2011, 232(5): 829–836.
- [31] SUNARIC S, LALIC J, SPASIC A. Simultaneous determination of alpha-tocopherol and alpha-tocopheryl acetate in dairy products, plant

- milks and health supplements by using SPE and HPLC method [J]. *Food Anal Methods*, 2017, 10(12): 3886–3901.
- [32] HEUDI O, TRISCONI MJ, BLAKE CJ. Simultaneous quantification of vitamins A, D₃ and E in fortified infant formulae by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1022(1–2): 115–123.
- [33] 黄旭, 袁波, 刘家阳. 固相萃取-高效液相色谱法测定婴幼儿乳粉中维生素 D₃ 的含量[J]. *山东化工*, 2017, 46(8): 82–84.
HUANG X, YUAN B, LIU JY. Determination of vitamin D₃ in infant milk powder with SPE- HPLC [J]. *Shandong Chem Ind*, 2017, 46(8): 82–84.
- [34] TRENERRY VC, PLOZZA T, CARIDI D, *et al.* The determination of vitamin D₃ in bovine milk by liquid chromatography mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2011, 125(4): 1314–1319.
- [35] GOMIS DB, FERNÁNDEZ MP, ALVAREZ MDG. Simultaneous determination of fat-soluble vitamins and provitamins in milk by microcolumn liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2000, 891(1): 109–114.
- [36] 施艺玮, 张宁, 操雯, 等. 分散液液微萃取技术及其在生物样品分析中的研究进展[J]. *色谱*, 2020, 38(5): 491–501.
SHI YW, ZHANG N, CAO W, *et al.* Advances in dispersive liquid-liquid microextraction and its application to analysis of biological samples [J]. *Chin J Chromatogr*, 2020, 38(5): 491–501.
- [37] VINAS P, BRAVO-BRAVO M, LOPEZ-GARCIA I, *et al.* An evaluation of cis-and trans-retinol contents in juices using dispersive liquid-liquid microextraction coupled to liquid chromatography with fluorimetric detection [J]. *Talanta*, 2013, 103: 166–171.
- [38] SADRYKIA F, SHAYANFAR A, VALIZADEH H, *et al.* A fast and simple method for determination of vitamin E in infant formula by dispersive liquid-liquid microextraction combined with HPLC-UV [J]. *Food Anal Methods*, 2019, 12(1): 23–31.
- [39] VINAS P, BRAVO-BRAVO M, LOPEZ-GARCIA I, *et al.* Dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of vitamins D and K in foods by liquid chromatography with diode-array and atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry detection [J]. *Talanta*, 2013, 115: 806–813.
- [40] DELGADO-ZAMARRENO MM, BUSTAMANTE-RANGEL M, GARCÍA-JIMÉNEZ M, *et al.* Off-line coupling of pressurized liquid extraction and LC/ED for the determination of retinyl acetate and tocopherols in infant formulas [J]. *Talanta*, 2006, 70(5): 1094–1099.
- [41] SHARIF KM, RAHMAN MM, AZMIR J, *et al.* Experimental design of supercritical fluid extraction-A review [J]. *J Food Eng*, 2014, 124: 105–116.
- [42] BERG H, TURNER C, DAHLBERG L, *et al.* Determination of food constituents based on SFE: Applications to vitamins A and E in meat and milk [J]. *J Biochem Bioph Meth*, 2000, 43(1–3): 391–401.
- [43] TURNER C, MATHIASSEN L. Determination of vitamins A and E in milk powder using supercritical fluid extraction for sample clean-up [J]. *J Chromatogr A*, 2000, 874(2): 275–283.
- [44] JIAO Z, JIAO S, GUO Z, *et al.* Determination of trace vitamin D in milk samples by graphene-based magnetic solid-phase extraction method coupled with HPLC [J]. *Food Anal Methods*, 2017, 10(3): 820–826.
- [45] 付欣. 新型磁性固相萃取材料的合成, 表征及应用[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2019.
FU X. Synthesis, characterization, application of novel magnetic solid phase extraction materials [D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2019.
- [46] 卢铁男. 维生素 E 分子印迹聚合物的制备及其对维生素 E 吸附性能研究[D]. 武汉: 武汉工程大学, 2019.
LU YN. Preparation and adsorption properties of vitamin E molecularly imprinted polymers [D]. Wuhan: Wuhan Institute of Technology, 2019.
- [47] AZIZI A, BOTTARO CS. A critical review of molecularly imprinted polymers for the analysis of organic pollutants in environmental water samples [J]. *J Chromatogr A*, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460603>
- [48] 万超超. QuEChERS 结合液相色谱-串联质谱检测生物样品中氨基甲酸酯类农药[D]. 北京: 中国人民公安大学, 2019.
WAN CC. Determination of carbamate pesticides in biological samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with QuEChERS method [D]. Beijing: People's Public Security University of China, 2019.
- [49] KIM TE, YOO G, LEE MH, *et al.* Novel QuEChERS-ultra-performance liquid chromatography-atmospheric-pressure chemical ionization tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of vitamin D and vitamin K in vitamin-fortified nanoemulsions [J]. *Food Chem*, 2022, 389: 133009.
- [50] WEI W, YANG J, XIA Y, *et al.* Tocopherols in human milk: Change during lactation, stability during frozen storage, and impact of maternal diet [J]. *Int Dairy J*, 2018, 84: 1–5.
- [51] HUANG B, ZHENG F, FU S, *et al.* UPLC-ESI-MS/MS for determining trans-and cis-vitamin K₁ in infant formulas: Method and applications [J]. *Eur Food Res Technol*, 2012, 235(5): 873–879.
- [52] THANGPHATTHANARUNGRUANG J, YAKOH A, LAOCHAROENSUK R, *et al.* High-efficient of graphene nanocomposite: Application to rapidly simultaneous identification and quantitation of fat-soluble vitamins in different matrix samples [J]. *J Electroanal Chem*, 2020, 873: 114361.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



赵晓童, 硕士研究生, 主要研究方向为分析化学。

E-mail: xtzhao202109@163.com



李晓俊, 博士, 副研究员, 主要研究方向为分析化学。

E-mail: lixm@nim.ac.cn