DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251115005
引用格式: 卫星辰, 李阳, 宋媛媛, 等. 植物甾醇样品制备和检测方法研究现状与趋势[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(5): 72–79.
WEI XC, LI Y, SONG YY, *et al*. Current status and trends of sample preparation and detection methods for phytosterols [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(5): 72–79. (in Chinese with English abstract).

植物甾醇样品制备和检测方法研究现状与趋势

卫星辰[1,2], 李　阳[2,3], 宋媛媛[2], 薛加雯[2], 邓伶俐[1], 张　辉[2,3*]

(1. 湖北民族大学生物与食品工程学院, 恩施　445000; 2. 嘉兴未来食品研究院, 嘉兴　314000;
3. 浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 杭州　310058)

摘　要: 植物甾醇是一类具有环戊烷多氢菲母核的三萜类天然活性化合物, 广泛应用于食品、医药以及化妆品等领域, 对植物甾醇进行精准的分析是保障其功效与质量的基础。但是植物甾醇在复杂基质中形态多样、含量低且存在大量的异构体, 这些问题给定性和定量分析带来极大的挑战。本文系统回顾了植物甾醇从样品的前处理方法到定量检测分析方法的研究进展。首先梳理了从传统皂化法到固相萃取法、加速溶剂萃取法以及超临界流体萃取法等现代前处理技术的发展现状及其适用场景, 然后重点分析了气相色谱法(gas chromatography, GC)、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)及其与质谱(mass spectrum, MS)联用技术的相关原理与性能差异。进一步指出当前分析技术趋向于前处理方法的绿色化与自动化、检测手段的多维联用与智能化, 以及形态的精准分析与组学研究的方向。本文通过系统梳理分离检测技术的研究现状与发展方向, 以期为植物甾醇的深入研究、标准建立及产业化应用提供技术参考。

关键词: 植物甾醇; 检测技术; 气相色谱法; 高效液相色谱法

Current status and trends of sample preparation and detection methods for phytosterols

WEI Xing-Chen[1,2], LI Yang[2,3], SONG Yuan-Yuan[2], XUE Jia-Wen[2],
DENG Ling-Li[1], ZHANG Hui[2,3*]

(1. *College of Biological and Food Engineering*, *Hubei Minzu University*, *Enshi* 445000, *China*;
2. *Jiaxing Institute of Future Food*, *Jiaxing* 314000, *China*;
3. *College of Biosystems Engineering and Food Science*, *Zhejiang University*, *Hangzhou* 310058, *China*)

ABSTRACT: Phytosterols are a class of important triterpene natural active compounds with a cyclopentane perhydrophenanthrene nucleus. They are widely used in the fields of functional foods, pharmaceuticals and cosmetics. Their accurate analysis is crucial for ensuring the efficacy and quality of products. However, phytosterols in complex matrices show various forms, low contents and numerous isomers. These characteristics bring great challenges to the qualitative and quantitative analysis of phytosterols. This article systematically reviewed the research progress of phytosterols, covering the pre-treatment methods of samples as well as the quantitative

收稿日期: 2025-11-15
基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(C 类)(32502402); 浙江省“尖兵”“领雁”研发攻关计划项目(2023C02044)
第一作者: 卫星辰(2000—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为油脂加工与营养。E-mail: wxsc595876@163.com
***通信作者:** 张辉(1981—), 男, 教授, 主要研究方向为脂质化学与功能健康、蛋白/活性肽及其应用。E-mail: hubert0531@zju.edu.cn

detection and analysis methods. First, this paper reviewed the development status and applicable scenarios of modern pretreatment technologies, from traditional saponification extraction methods to solid-phase extraction, accelerated solvent extraction and supercritical fluid extraction. Then the key analysis focused on the relevant principles and performance differences of gas chromatography (GC), high performance liquid chromatography (HPLC) and their combined techniques with mass spectrometry (MS). It further pointed out that current analytical technologies were developing in the direction of greener and more automated pretreatment methods, multi-dimensional and intelligent detection approaches, and accurate morphological analysis and omics research. This paper systematically reviewed the current research status and development trends of separation and detection technologies, aiming to provide a systematic technical reference and strategic guidance for in-depth research, standard establishment, and industrial application of phytosterols.

KEY WORDS: phytosterols; detection technology; gas chromatography; high performance liquid chromatography

0　引　言

植物甾醇是一类以环戊烷多氢菲为骨架的三萜类天然生物活性化合物[1], 广泛存在于植物油、坚果、豆类等植物源性食品中[2–3]。根据 C-4 位甲基取代数目, 植物甾醇可分为 4-无甲基甾醇、4 -单甲基甾醇和 4,4-二甲基甾醇[4–5]。目前已发现的天然植物甾醇超过 250 种[6–7], 除常见的 β-谷甾醇、菜油甾醇和豆甾醇外[8], 三萜烯醇作为其结构相关类别也在该体系中占据重要地位。因其具有降低胆固醇、抗炎、抗氧化及抗癌等多种生理功能[9–12], 这类化合物在食品、医药与化妆品等领域应用广泛[13–14]。

植物甾醇的分析与科学研究对于拓展其应用解决干扰与分离难题至关重要。在天然样品中, 植物甾醇常与脂质、蛋白质、色素等多种干扰组分共存[11,15–16]; 同时它们可能以不同形式存在, 如游离甾醇或各类酯(脂肪酸酯、阿魏酸酯等), 导致分析形态复杂, 前期纯化富集困难。植物甾醇还包含一系列结构高度相似的异构体(例如 β-谷甾醇与豆甾醇), 这对色谱分离技术要求更高。所以这些挑战共同推动着植物甾醇分析技术的不断进步。

近年来, 植物甾醇分析技术体系不断完善, 样品制备从以往耗时耗力的传统皂化法, 逐渐转向高效、自动化的固相萃取法(solid-phase extraction, SPE)、加速溶剂萃取法(pressurized liquid extraction, PLE)等现代技术。检测技术则从早期普遍采用的分光光度法、薄层色谱法(thin-layer chromatography, TLC), 已发展为以气相色谱法(gas chromatography, GC)、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)为核心的分析平台, 并越来越多地与质谱法(mass spectrum, MS)联用, 从而在分离效率、特异性与灵敏度上实现了整体提升[17–19]。当前该领域呈现出“免衍生化”和“衍生化结合高分辨质谱”方向发展的趋势。“免衍生化”主要在于简化操作步骤、满足高通量检测的需求; 衍生化结合高分辨质谱的技术, 则致力于解决复杂样品基质中植物甾醇的全谱分析和结构确认的挑战。

本文系统回顾了植物甾醇分析从样品前处理到仪器定量检测的完整方法流程。文章首先总结了样品前处理技术从经典手段向现代高效纯化与富集的演进路径, 然后梳理了检测技术在“高通量筛查”和“高精度解析”两大目标下的发展进程, 并剖析了 GC 和 HPLC 两大平台下各类技术路线的原理、特点、应用场景及局限。在此基础上, 本文还前瞻性地展望了自动化前处理、智能检测协同及分析范式未来的发展方向, 以期为科研产业人员在选择、优化和开发分析方法时提供清晰的技术参考与发展启示。

1　样品前处理

高效的样品前处理是克服基质干扰, 实现甾醇准确定量的关键步骤, 其技术发展正从单一、耗时的传统方法逐步向根据样品特性与分析目标灵活选择的绿色、高效、自动化方向演进。

1.1　传统经典前处理方法-皂化法

皂化法[20]作为经典的前处理方法, 它是基于碱催化水解反应将甾醇酯转化为游离甾醇, 再经有机溶剂萃取实现纯化, 操作成熟、试剂成本低, 适用于基质相对简单的样品(如纯植物油), 目前仍是国际官方分析化学家协会(Association of Official Analytical Chemists, AOAC)等标准方法体系中的核心步骤。例如赵茜茜等[21]采用皂化法从文冠果种仁油中提取植物甾醇, 结合结晶步骤使粗甾醇的纯度从 14%提高到 55%。但是该方法流程烦琐、耗时长、溶剂用量大, 同时强碱与高温条件可能导致部分甾醇结构分解。所以在实际应用中, 皂化法正逐渐成为复杂样品分析的预处理手段或标准对照方法, 不再是高通量分析的首选方案。

1.2　现代高效前处理方法

为提升效率、环保性及自动化水平, 适用于批量样品、痕量甾醇或复杂基质的分析技术已成为主流, 呈现出精准化与绿色化的发展特征。

1.2.1　固相萃取法

SPE 基于色谱分离原理, 借助固定相对甾醇选择性吸附与洗脱实现甾醇纯化与富集[22–24], 这种方法选择性强、

可控性高已成为主流手段。通过优化吸附剂(如反相净化的 C_{18}、正相分离的硅胶)和洗脱溶剂, 可有效去除油脂、色素等干扰物, 尤其适用于血浆、组织及食品等复杂基质中的甾醇前处理, 具有回收率高、操作简便、节约时间等优势[25]。研究表明, 在优化萃取条件后, SPE 对植物甾醇的回收率稳定在 82.4%~116.3%之间[26]。目前, SPE 正向高选择性吸附剂(如分子印迹聚合物)的开发以及与在线分析系统的集成方向发展, 以进一步提升纯化的自动化与精准度。

1.2.2 加速溶剂萃取法

PLE 亦称加压液体萃取, 通过高压条件下使用高温溶剂(室温至 200 ℃、3.5~20 MPa)实现高效提取[27]。FERREIRA-DE-MELL 等[28]研究发现, 该方法从萝卜籽中提取的植物甾醇含量较超声波辅助法高出 30%。从固体基质(如大豆粉、茶叶)中提取甾醇时, PLE 效率较索氏提取法提升 90%以上, 具有效率高、时间短、溶剂消耗少和自动化程度高等优势[29−30]。但设备投入成本高, 且提取物仍较复杂。因此, 该技术与后续净化步骤的在线联用, 是提升整体流程效率的重要发展方向。

1.2.3 超临界流体萃取法

超临界流体萃取法(supercritical fluid extraction, SFE)以超临界 CO_2 作为萃取介质, 具有绿色、无溶剂残留等特点[31], 非常适合热敏性甾醇的提取。通过添加乙醇等助溶剂可进一步提高甾醇回收率, 是高附加值产品、热敏性植物原料(如名贵草木、保健品原料)分析的理想选择[32]。SFE 的发展体现了前处理工艺对可持续性要求的积极响应, 其应用正从实验室向高端食品、化妆品原料的制备级分析拓展。

目前样品前处理技术正沿着“基准方法标准化”与“现代技术场景化”两个方向并行发展。经典的皂化法因其成熟性与成本优势仍将作为基准方法长期使用; 而 SPE、PLE 与 SFE 等现代技术则根据样品复杂度、分析通量和具体目标进行灵活组合、择优选择。未来的发展前沿, 会把多种技术单元做到在线集成与自动化运行。例如, 将 PLE 自动萃取系统和在线 SPE 净化模块串联衍生化反应器, 可以构建从样品处理到仪器进样的全自动化前处理平台, 在最大程度上减少人为误差, 显著提升分析过程的重现性与整体效率。

2 定量检测方法和发展趋势

准确定量是研究植物甾醇生物活性、推动转化为实际应用的关键环节。在选择检测技术时, 必须综合考量灵敏度、特异性、检测通量以及成本等因素。如表 1 所示, 不同检测方法各具优势, 适用于不同的场景检测[33]。

2.1 气相色谱法及其联用技术

GC 技术凭借其高分离效率, 在甾醇的分析领域占据长期的主导地位。其发展并非单一技术的线性替代, 而是围绕着“快速常规检测”与“深度科学研究”两大目标, 分化为两条清晰且互补的路径, 适配不同场景的需求。

2.1.1 气相色谱-氢火焰离子化检测器

GC-FID 基于含碳有机物在氢火焰中电离产生信号进行检测[34−35], 是植物甾醇日常定量分析的经典参比方法。这种方法凭借出色的稳定性、宽线性范围和较低的运行成本, 已成为植物油、功能性食品等产品例行定量检测的标准化工具。受植物甾醇极性和热稳定性有限的限制, GC-FID 分析必须经过衍生化处理, 所以这种技术进步主要围绕“衍生化步骤的标准化”和“前处理流程一体化简化”展开, 来提升分析效率与结果可靠性。

表 1 植物甾醇常用检测技术

Table 1 Common analytical techniques for phytosterols

检测技术	优点	局限性	适用场景
气相色谱-氢火焰离子化检测器法(gas chromatography-flame ionization detector, GC-FID)	稳定、线性宽、成本低	无定性能力、可能共流出	植物油、简单食品等基质中主要甾醇的常规定量
气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)	高选择性、定性定量一体	成本高、线性范围窄	复杂基质、异构体区分、方法确证
高效液相色谱-紫外检测器法(high performance liquid chromatography-ultraviolet absorption detector, HPLC-UV)	灵敏高、成本低	需紫外吸收、低波长基线漂移	本身具有紫外吸收的甾醇或其衍生物
高效液相色谱-蒸发光散射检测器法(high performance liquid chromatography-evaporative light-scattering detector, HPLC-ELSD)	通用、无需衍生化	响应非线性、灵敏度中等	无紫外吸收甾醇的通用检测
高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)	超高灵敏度和特异性、免衍生	成本高昂、存在基质效应、仪器操作维护复杂	生物样品痕量分析、甾醇酯直接测定、高通量筛查
薄层色谱法	操作简便、可视化筛查	分离能力受限、定量性能较弱	快速初筛、样品预分离
分光光度法	极其简便、成本低廉	仅测总甾醇、受基质干扰	总甾醇含量快速估算

DUONG 等[36]提出“皂化-萃取一步法”, 通过创新前处理工艺将操作时间缩短约 50%, 同时保持高回收率(85%~110%)和优异精密度[相对标准偏差(relative standard deviation, RSD) 0.3%~1.9%], 显著提高检测通量。张二鹏等[37]则聚焦衍生化环节优化, 通过标准化硅烷化步骤, 在 1.5 h 内实现复杂保健品及食品中 5 种甾醇的准确定量, 回收率达 85.4%~104.2%, RSD<5%。这个方法关键在于依托统一衍生策略改善色谱行为, 结合经典内标法提升定量精度。

GC-FID 的突出优势在于方法稳健、成本可控且普及度高, 仍是日常例行分析的首选方案, 在高通量、低成本筛查场景中价值不可替代。但是检测器本身无定性能力, 无法解决色谱共洗脱问题, 仅适用于基质简单、组分已知的质控场景。

2.1.2　气相色谱-质谱法

在引入 MS 检测器后, 赋予了 GC 强大的定性能力, 因此 GC-MS 成为了复杂基质分析和化合物确证的金标准。在植物甾醇的分析领域, GC-MS 按照不同的分析目标, 又进一步分化为两种相互独立又互补的路径, 分别对应了快速筛查和深度解析需求。

第一条路径是“免衍生”快速筛查策略, 这种策略的核心目标是把分析速度和检测通量做到最大化, 更多的用于生产线的实时质控、市场随机抽检以及时间比较紧迫的即时检测场景。这种策略省去了耗费时间的衍生化步骤, 还会优化色谱与 MS 条件, 能直接对游离态或特定形态的甾醇做到快速分析。TAN 等[38]所提出的方法, 避开了传统流程中最耗时的皂化萃取环节, 只用了 10 min 就完成了分离定量, 回收率能达到 89.85%~97.65%, RSD<5.47%, 同时兼顾了效率与准确性。CHEN 等[39]的研究也进一步证明了, 适配的色谱柱(弱极性柱)搭配高灵敏的质谱多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM), 不需要衍生化就达到了痕量级的检测灵敏度。李洁等[40]的所建立的方法推动了实用化的进展, 建立的气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS), 用脂肪水解酶体系替代了传统的皂化工艺, 把前处理的总时长从常规的 7 h 压缩至 2.5 h, 既提升了处理的效率, 又减少了化学试剂的用量、降低环境的负荷。但这种方法更适合目标组分明确、基质干扰容易控制的场景; 面对高蛋白、高脂肪的复杂基质, 或者需要全面分析所有结合态的甾醇时, 简化的前处理操作很难有效去除干扰, 会影响结果的稳定性与可靠性。

第二条路径是“衍生化-高分辨全谱解析”, 这条路径追求极致的定性能力与信息深度, 更多会用于甾醇组学的研究、未知甾醇的发现、异构体的精细区分这类前沿科学难题上。这种策略的技术核心是通过衍生化去改善各类甾醇的色谱行为, 减少峰拖尾的状况、提升分离效果, 再结合高分辨质谱或多维色谱的技术, 最大限度上捕获甾醇的结构信息。SCHLAG 等[41]的研究优化了衍生化的条件, 再结合选择离子监测(selected ion monitoring, SIM)及保留指数校正技术, 成功实现了 30 种甾醇及三萜醇的同时检测与精准区分, 还建立了一套以高精度为核心的标准化的分析体系, 这种方法能为复杂样品中多组分甾醇的定性和定量提可靠的参考。XU 等[42]采用了全二维气相色谱-飞行时间质谱法(comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry, GC×GC-TOFMS)的技术, 实现了分离维度的突破性提升: 第一维会依据组分挥发性来做分离, 第二维会依托极性差异做二次分离, 双重的分离机制大幅改善了复杂体系的分离效果, 再结合搭配的飞行时间质谱法(time-of-flight mass spectrometry, TOF-MS)的全谱采集优势, 给结构相似、异构体丰富的植物甾醇家族提供了充足的分离空间和全面的结构信息。这种路径有强大的定性能力和信息捕获量, 是进行深度研究的关键工具。但是这种方法涉及的仪器造价高昂, 海量数据解析需专业的软件与技术人员的支撑, 运营成本偏高, 很难在常规的实验室或生产线的质控中普及。

综上, GC 已形成较为明确的发展格局: GC-FID 凭借良好的经济性和稳定性成为常规定量的主要手段; GC-MS 则根据分析目标不同分为两个方向发展: (1)直接进样结合快速筛查技术, (2)衍生化处理结合高分辨质谱分析技术。未来, 这些技术路径不会走向简单归一, 而是趋向系统级的智能协同。理想应用模式是构建分层解析系统, 先通过高通量、全自动化的免衍生 GC-MS/MS 完成大规模初筛, 快速覆盖批量检测需求; 再由数据系统对异常或复杂样本自动打标, 触发衍生化-高分辨 GC-MS 平台开展针对性深度剖析, 精准解决异构体区分、未知组分识别等难题。

实现这一愿景的关键在于: (1)自动化前处理平台的整合, 打通两条路径的样品制备流程, 实现从样品处理到检测的全链条无人干预; (2)研发智能数据解析工具, 依托算法实现跨平台数据无缝对接, 自动完成异常峰标记、重叠峰解卷积及结构预测, 降低专业操作门槛; (3)强化平台间协同适配, 确保不同技术路径的检测结果可相互验证。归根结底, 植物甾醇 GC 分析技术的未来, 是硬件性能提升、系统集成优化与智能算法迭代的三位一体, 最终实现分析效率、信息深度与应用成本的动态精准平衡, 灵活应对多场景挑战。

2.2　高效液相色谱法

对于不易挥发或热不稳定的甾醇及其衍生物, HPLC 提供了一个无需衍生化就能直接分析的平台。其技术多样性主要体现在检测器的选择及其耦合方式上。

2.2.1　基于通用型/光学检测器的高效液相色谱法

在工业质控与常规研究中, 基于蒸发光散射

(evaporative light-scattering detector, ELSD)、紫外检测(ultraviolet absorption detector, UV)/二极管阵列(diode array detector, DAD)等检测器的 HPLC 方法因其设备普及、成本可控而广泛应用。但是植物甾醇缺乏强紫外吸收，直接 UV 检测灵敏度低，容易受到溶剂和基质干扰，限制了其应用效果。胡宝祥等[43]采用 HPLC-ELSD 测定植物油馏出物，虽无需衍生化且稳定性好(回收率 98.2%~101.8%，RSD<0.7%)，但 ELSD 本身响应非线性、灵敏度通常不高。而尹丹阳等[44]利用 UPLC-DAD 提升分离速度至 15 min，提升的是通量，并低波长 UV 检测的基质干扰问题并没有解决。

针对传统 HPLC-UV 在分析复杂植物油基质时，对低含量、结构相似的三萜烯醇等组分存在灵敏度低、分离选择性不足的问题，前期研究开了一套基于柱前衍生化的高效液相色谱分析方法，通过丹酰氯对山茶油中含量低、异构体众多的三萜烯醇进行柱前衍生化，引入强紫外发色团，从而提升 UV 检测灵敏度，实现准确定量($r^2 \geqslant 0.9992$，RSD<5%)。AKHTAR 等[45]为在同一色谱条件下完成衍生化甾醇与非衍生化三萜类的有效分析，创新性采用“梯度温控-梯度流速”等多参数协同策略，方法线性优异($r^2 \geqslant 0.9998$)，回收率为 80%~105%，RSD 低于 6%，成功解决了发色团与非发色团组分的共洗脱问题，这一进展标志着方法开发从单一条件优化向多维参数协同优化的技术进步，适用于功能食品与营养品补充剂的多组分筛查，兼具高性价比与可靠性。虽对仪器提出特定要求(梯度温控、二极管阵列检测器)，但其提升分析效率与信息深度的价值，使其在相关领域的质控与科研中有广阔应用前景。

2.2.2 液相色谱与质谱联用法

当分析任务指向生物样品痕量检测、复杂基质中多组分同时分析或甾醇形态直接鉴别时，HPLC-MS/MS 展现出的超高灵敏度与绝对专属性是不可替代的优势。其技术发展一方面聚焦常规筛查效能提升，核心是提高通量与可靠性；另一方面则向超高灵敏与组学分析突破，拓展应用边界。

对常规筛查优化饭方面，通过优化前处理与快速色谱分离，可在短时间内同时测定多种目标物，例如，ZHANG 等[46]通过超声辅助皂化和液液萃取前处理，结合 LC-MS/MS 同时测定山茶油中 8 种活性成分，15 min 内完成分离，并保持良好的灵敏度(检出限 2.0~3.2 ng/mL)和回收率(81.7%~112.0%)，实现了多组分协同分析发展，提升了复杂样品整体分析效率。王宏萍等[47]建立微沸回流提取结合 HPLC-MS/MS 外标法，同步测定 6 种食用植物油中 7 种植物甾醇，其简便快捷的特点体现了技术向常规实验室推广的实用化潜力，但未使用内标校正，可能受基质效应影响。

在超高灵敏与组学分析领域，通过衍生化策略与先进前处理技术的深度耦合实现突破。SUN 等[48]借助衍生化结合超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)，将检出限压至 0.005~0.015 ng/mL 的超痕量级，可直接测定游离态与结合态甾醇，避免衍生化步骤带来的误差与信息丢失。XU 等[49]则以丹酰氯衍生结合超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱仪(ultra performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry, UPLC-QTOF-MS/MS)及前体离子扫描模式，把传统“有限目标定量”升级为“发现导向的全景非靶筛查”，可同时覆盖更多的游离/结合态甾醇，为甾醇组学、物种鉴别及未知物发现提供工具。这种技术因为对仪器、经费以及人员要求很高，暂时无法普及，主要用于前沿科研、标准物质定值以及复杂药物代谢的相关研究方面。综上，HPLC 技术体系的发展已经形成了多层次覆盖，从经济适用的 HPLC-ELSD/UV 方法，到通过柱前衍生化增强型的方案，再到高灵敏度与高特异性的 LC-MS/MS，可全面适配从工业质控到前沿科研的多样化需求。随着仪器微小型化、操作自动化和人工智能(artificial intelligence, AI)数据解析的发展，高灵敏度的 LC-MS/MS 方法正加速应用于日常检测；柱前衍生策略的不断优化，也让传统光学检测器的选择性与检测能力不断提升，在快速现场筛查等特定场景中焕发新生。

2.3 其他方法

TLC 和分光光度法等传统技术在现代分析体系中以其快速、直观、经济的特性，扮演着初筛和总量评估的补充角色，通过与现代技术联用或功能固化，形成特色应用场景。例如 NAUMOSKA 等[50]研发了一套薄层色谱-串联质谱法(thin-layer chromatography-tandem mass spectrometry, TLC-MS^2)流程，能够对蔬菜表皮蜡中的 8 种三萜和 2 种植物甾醇进行定性及半定量分析。该方法前处理简便、无需衍生化、具备直观的可视化筛查能力；结合 MS^2 谱图可进一步解析结构，区分同分异构体。然而分离能力受限，部分化合物需依赖质谱进一步确认，且定量性能较弱，更适用于复杂样品精确定量前的快速初筛与预分离。如今，通过与现代质谱技术联用，TLC 已从传统的离线分离工具发展为集快速筛查、组分分离和结构鉴定于一体的综合平台，适用于复杂样品分析的初步探索与快速表征。

ARAÚJO 等[51]采用经典的 Liebermann-Burchard 显色反应结合紫外-分光光度法(ultraviolet-visible, UV-VIS)，对巴西草药根部的总植物甾醇含量进行测定，回收率在 97.5%~100.4%之间，RSD < 4%，操作简便且成本低廉，适用于资源有限或仅需了解总甾醇含量信息的场景(如原料初筛与工艺监控)。但无法区分甾醇种类，且显色反应易受基质干扰，对试剂用量与反应时间较为敏感。

目前, 传统的检测方法的发展趋势为“角色高度专门化”, 这类方法经济、操作便捷, 在高通量的初筛中有重要作用, 可以与高精尖仪器共同构成多层次分析体系, 满足不同应用场景下的差异化需求。

3　发展趋势与展望

目前, 植物甾醇的分析技术正在稳步升级, 前处理方法正在向绿色高效的方向发展, 检测体系呈现出多维并存、协同互补的新格局, 技术融合与智能化的发展成为核心方向。

在前处理环节中, SPE、PLE、SFE 等高效的现代处理技术正逐步替代耗时的传统皂化法, 未来也会进一步向在线联用与系统微型化的方向继续发展。成熟的在线 PLE-SPE 联用平台或微流控芯片实验室可以在同一封闭体系内完成萃取、净化、富集与进样的操作, 不仅大幅减少了人工操作、降低了溶剂用量和样品的损失, 还提高了分析通量与重现性, 更符合绿色分析化学的发展理念。

在检测策略上, “快筛”与“精鉴”两条技术路线通过实验室信息管理系统(laboratory information management system, LIMS)和 AI 算法实现智能联动。第一层采用高通量、自动化的“免衍生”GC-MS 或分钟级 LC-MS/MS, 对大批量样品进行快速扫描并实时标记异常峰。第二层由 LIMS 自动触发, 启动衍生化-高分辨 GC-MS 或 UPLC-QTOF-MS/MS 进行深度定性与结构解析。AI 全程参与流程优化, 可自动完成重叠峰解卷积、对全二维气相色谱-飞行时间质谱(comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry, GC×GC-TOFMS)数据降维及基于碎片规律的结构预测, 实现从广筛到精细鉴定的无缝过渡。

随着高分辨质谱的普及, 研究重点已从定量少数几种主要甾醇拓展到“甾醇组学”层面, 单次运行即可同时捕获游离型、酯化型、糖苷化型等多种存在形态, 结合非靶向筛查、形态分析与生物通路分析, 系统揭示不同品种、加工方式或生理状态下甾醇谱的动态变化, 并深入阐明其与降胆固醇、抗炎等健康效应的关联机制, 为功能食品的精准设计、个性化营养干预及植物甾醇新药开发提供分子层面的科学依据。

4　结束语

植物甾醇作为结构复杂、功能多样的三萜类天然活性化合物, 精准的表征和定量分析是实现相关科研创新和产业升级的关键。面对分析困难这一大挑战, 植物甾醇的检测已从单一的方法优化, 逐步转向全流程的优化与多技术协同的系统工程。

本文系统梳理了植物甾醇分析技术的发展现状, 明确了“快速筛查”与“精准解析”两条路线并行互补的发展格局。未来, 随着在线联用平台、AI 解析以及高分辨质谱技术的深度结合, 植物甾醇的分析会更高效、更智能。通过不断推进分析方法的标准化、检测仪器的微型化与各平台之间协同配合, 植物甾醇的分析体系将会更灵活地覆盖从基础研究一直到工业质控的全链条需求, 从而推动这一领域从单纯的定性定量, 到深入阐明作用机制的跨越式发展。

参考文献

[1] MAJUMDER P, ANNEGOWDA HV. Fruit and vegetable by-products: Novel ingredients for a sustainable society [M]. San Diego: Academic Press, 2021.

[2] 王盈盈, 韩羽轩, 张艺元, 等. 不同类型植物甾醇的生理功能及其在食品中的应用研究进展[J]. 中国油脂, 2025, 50(12): 74–82.
WANG YY, HAN YX, ZHANG YY, *et al*. Research progress on physiological functions of different types of phytosterols and their applications in food [J]. China Oils and Fats, 2025, 50(12): 74–82.

[3] 张继红, 谢林志, 周银凡, 等. 植物甾醇的生物学功能及其在畜禽饲粮中的应用研究进展[J]. 湖南畜牧兽医, 2025(3): 59–62.
ZHANG JH, XIE LZ, ZHOU YF, *et al*. Research progress on the biological functions of phytosterols and their application in livestock and poultry diets [J]. Hunan Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025(3): 59–62.

[4] XIE L, ZHANG T, KARRAR E, *et al*. Insights into an α-glucosidase inhibitory profile of 4,4-dimethylsterols by multispectral techniques and molecular docking [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(50): 15252–15260.

[5] 上官佳, 田晓东, 李政, 等. 植物油中 4,4-二甲基甾醇主要组成、生理活性及检测技术进展研究[J/OL]. 中国油脂, 1–14. [2026-01-08]. https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.250368
SHANGGUAN J, TIAN XD, LI Z, *et al*. Research on the main components, physiological activities and detection technology progress of 4,4-dimethylsterol in vegetable oil [J/OL]. China Oils and Fats, 1–14. [2026-01-08]. https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.250368

[6] ZHAO JQ, HAO YY, GONG TT, *et al*. Phytosterol intake and overall survival in newly diagnosed ovarian cancer patients: An ambispective cohort study [J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 974367.

[7] 魏堂鸿, 王苗苗, 王鹏, 等. 植物甾醇在畜禽养殖中应用的研究进展[J]. 中国饲料, 2025(3): 20–25.
WEI TH, WANG MM, WANG P, *et al*. Research progress on the application of phytosterols in animal husbandry [J]. China Feed, 2025(3): 20–25.

[8] 邓莉梅. 不同植物甾醇对脂质体结构稳定性的影响[D]. 广州: 广东工业大学, 2022.
DENG LM. Effects of different plant sterols on the structural stability of liposomes [D]. Guangzhou: Guangdong University of Technology, 2022.

[9] 贾文聪, 方恩华, 吴易峰, 等. 油茶籽油甾醇存在形态及其在精炼和贮

藏过程中动态变化分析[J]. 食品科学, 2021, 42(16): 39–45.
JIA WC, FANG ENH, WU YF, *et al*. Speciation analysis of phytosterols in camellia seed oil and their dynamic changes during refining and storage [J]. Food Science, 2021, 42(16): 39–45.

[10] SHEN M, YUAN L, ZHANG J, *et al*. Phytosterols: Physiological functions and potential application [J]. Foods, 2024, 13(11): 1754.

[11] 文静, 陈海伟, 袁鸣, 等. 植物甾醇的生物学功能和在动物生产中的应用[J]. 现代畜牧科技, 2023(2): 60–62.
WEN J, CHE HW, YUAN M, *et al*. Biological function of phytosterol and its application in animal production [J]. Modern Animal Husbandry Science and Technology, 2023(2): 60–62.

[12] RAMPRASATH VR, AWAD AB. Role of phytosterols in cancer prevention and treatment [J]. Journal of AOAC International, 2015, 98(3): 735–738.

[13] 王亚群, 程芳园, 李文娟, 等. 玉米油脱臭馏出物中植物甾醇酯化及重结晶纯化工艺的优化研究[J]. 粮食与食品工业, 2025, 32(5): 9–13, 17.
WANG YQ, CHENG FY, LI WJ, *et al*. Study on the optimization of esterification and recrystallization purification processes for plant sterols derived from the deodorizer distillate of corn oil [J]. Cereals and Food Industry, 2025, 32(5): 9–13, 17.

[14] 颜华洲, 林安娜, 吴玉凤, 等. 不同加工工艺对茶油中植物甾醇含量的变化分析[J]. 农产品加工, 2025(6): 70–73.
YAN HZ, LIN ANN, WU YF, *et al*. Change analysis of processing technology on phytosterol content in camellia oil [J]. Agricultural Products Processing, 2025(6): 70–73.

[15] DIKSHIT S, BUBNA S, GUPTA A, *et al*. Advances in various techniques for isolation and purification of sterols [J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 57(7): 2393–2403.

[16] 冯睿, 孙存鑫, 赵永锋. 植物甾醇理化性质、功能及其在水产动物中的应用研究进展[J]. 饲料研究, 2025, 48(5): 154–158.
FENG R, SUN CX, ZHAO YF. Research progress on physicochemical properties, functions, and application of phytosterols in aquatic animals [J]. Feed Research, 2025, 48(5): 154–158.

[17] 李栋. 油菜籽在不同热处理加工过程中游离态/结合态植物甾醇的迁移变化研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2023.
LI D. Study on the migration of free/combined phytosterols in rapeseed during different heat treatment pprocesses [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2023.

[18] MOREAU RA, NYSTRÖM L, WHITAKER BD, *et al*. Phytosterols and their derivatives: Structural diversity, distribution, metabolism, analysis, and health-promoting uses [J]. Progress in Lipid Research, 2018, 70: 35–61.

[19] 江舟. 铁皮石斛植物甾醇生物合成相关基因研究进展[J]. 现代园艺, 2025, 48(20): 35–37.
JIANG Z. Research progress on genes related to phytosterol biosynthesis in dendrobium officinale [J]. Modern Horticulture, 2025, 48(20): 35–37.

[20] UDDIN MDS, FERDOSH S, AKANDA MDJH, *et al*. Techniques for the extraction of phytosterols and their benefits in human health: A review [J]. Separation Science and Technology, 2018, 53(14): 2206–2223.

[21] 赵茜茜, 刘俊义, 王柯, 等. 文冠果种仁油中总甾醇的皂化法提取及组成分析[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(10): 1737–1742.
ZHAO XX, LIU JY, WANG K, *et al*. Extraction and identification of total sterol from seed kernel oil of xanthoceras sorbifolia bunge [J]. Natural Product Research and Development, 2015, 27(10): 1737–1742.

[22] ZHENG Y, FANG D, LV Y, *et al*. Current analytical strategies for the determination of phytosterols in vegetable oils [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2024, 131: 106279.

[23] KHATIBI SA, HAMIDI S, SIAHI-SHADBAD MR. Current trends in sample preparation by solid-phase extraction techniques for the determination of antibiotic residues in foodstuffs: A review [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 61(20): 3361–3382.

[24] KARAOGLU O, ALPDOGAN G, ZOR SD, *et al*. Efficient solid phase extraction of α-tocopherol and β-sitosterol from sunflower oil waste by improving the mesoporosity of the zeolitic adsorbent [J]. Food Chemistry, 2020, 311: 125890.

[25] BIAN Y, ZHANG Y, RUAN LY, *et al*. Phytosterols in plant-derived foods: Recent updates in extraction and analysis methods [J]. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 2024: 1–19. DOI: 10.1080/10408347.2024.2427128

[26] LI D, WANG D, XIAO H, *et al*. Simultaneous analysis of free/combined phytosterols in rapeseed and their dynamic changes during microwave pretreatment and oil processing [J]. Foods, 2022, 11(20): 3219.

[27] MUSTAFA A, TURNER C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review [J]. Analytica Chimica Acta, 2011, 703(1): 8–18.

[28] FERREIRA-DE-MELLO BT, STEVANATO N, FILHO LC, *et al*. Pressurized liquid extraction of radish seed oil using ethanol as solvent: Effect of pretreatment on seeds and process variables [J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2021, 176: 105307.

[29] DE-MELLO BTF, IWASSA IJ, CUCO RP, *et al*. Methyl acetate as solvent in pressurized liquid extraction of crambe seed oil [J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2019, 145: 66–73.

[30] PORTILHO-TRENTINI C, DE-MELLO BTF, FERREIRA-CABRAL V, *et al*. Crambe seed oil: Extraction and reaction with dimethyl carbonate under pressurized conditions [J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2020, 159: 104780.

[31] UWINEZA PA, WAŚKIEWICZ A. Recent advances in supercritical fluid extraction of natural bioactive compounds from natural plant materials [J]. Molecules, 2020, 25(17): 3847.

[32] JAFARIAN-ASL P, NIAZMAND R, JAHANI M. Theoretical and experimental assessment of supercritical CO_2 in the extraction of phytosterols from rapeseed oil deodorizer distillates [J]. Journal of Food Engineering, 2020, 269: 109748.

[33] 黄何何. 气相色谱-质谱法测定食用植物油中多种植物甾醇含量[J]. 安徽农业科学, 2024, 52(22): 174–177, 182.
HUANG HH. Determination of various phytosterols in edible vegetable oils by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2024, 52(22): 174–177, 182.

[34] XU B, YOU S, ZHOU L, *et al*. Simultaneous determination of free phytosterols and tocopherols in vegetable oils by an improved SPE-GC-FID method [J]. Food Analytical Methods, 2019, 13(2): 358–369.

[35] GARCIA-LLATAS G, ALEGRÍA A, BARBERÁ R, *et al*. Current methodologies for phytosterol analysis in foods [J]. Microchemical Journal, 2021, 168: 106377.

[36] DUONG S, STROBEL N, BUDDHADASA S, *et al*. Rapid measurement of phytosterols in fortified food using gas chromatography with flame ionization detection [J]. Food Chemistry, 2016, 211: 570–576.

[37] 张二鹏, 刘红丽, 卢素格, 等. 衍生化-气相色谱法测定保健食品中植物甾醇含量的方法学研究[J]. 现代疾病预防控制, 2025, 36(9): 687–690, 712.
ZHANG ERP, LIU HL, LU SG, *et al*. Methodological study on the determination of phytosterol content in health foods using derivatization-gas chromatography [J]. Modern Disease Control and Prevention, 2025, 36(9): 687–690, 712.

[38] TAN S, NIU Y, LIU L, *et al*. Development of a GC-MS/SIM method for the determination of phytosteryl esters [J]. Food Chemistry, 2019, 281: 236–241.

[39] CHEN YZ, KAO SY, JIAN HC, *et al*. Determination of cholesterol and four phytosterols in foods without derivatization by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2015, 23(4): 636–644.

[40] 李洁, 李玲, 王艳丽, 等. 非衍生化-气相色谱-串联质谱法测定植物油中 5 种植物甾醇[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(4): 24–31.
LI J, LI L, WANG YL, *et al*. Determination of 5 kinds of phytosterols in vegetable oil by non derivatization-gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(4): 24–31.

[41] SCHLAG S, HUANG Y, VETTER W. GC/EI-MS method for the determination of phytosterols in vegetable oils [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2021, 414(2): 1061–1071.

[42] XU B, ZHANG L, WANG H, *et al*. Characterization and authentication of four important edible oils using free phytosterol profiles established by GC-GC-TOF/MS [J]. Anal Methods, 2014, 6(17): 6860–6870.

[43] 胡宝祥, 卢君, 沈振陆, 等. 植物甾醇 HPLC-ELSD 检测方法研究[J]. 中国粮油学报, 2008(5): 194–196.
HU BX, LU J, SHEN ZL, *et al*. Analysis of phytosterols by HPLC-ELSD [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2008(5): 194–196.

[44] 尹丹阳, 赵莹, 赵迪, 等. 植物甾醇的超高效液相色谱测定方法的研究[J]. 营养学报, 2023, 45(3): 301–305.
YIN DY, ZHAO Y, ZHAO D, *et al*. Determination of sterols by ultra performance liquid chromatography in plant-origin foods [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2023, 45(3): 301–305.

[45] AKHTAR N, KHADIM A, SIDDIQUI AJ, *et al*. Simultaneous quantification and validation of triterpenoids and phytosterols in plant extracts, foods, and nutraceuticals using HPLC-DAD [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2025, 142: 107418.

[46] ZHANG L, WANG S, YANG R, *et al*. Simultaneous determination of tocopherols, carotenoids and phytosterols in edible vegetable oil by ultrasound-assisted saponification, LLE and LC-MS/MS [J]. Food Chemistry, 2019, 289: 313–319.

[47] 王宏萍, 李国琴, 权源, 等. 高效液相色谱-串联质谱测定食用植物油中 7 种植物甾醇含量[J]. 粮食与油脂, 2023, 36(9): 133–136, 144.
WANG HP, LI GQ, QUAN Y, *et al*. Determination of seven phytosterols in edible vegetable oils by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Cereals & Oils, 2023, 36(9): 133–136, 144.

[48] SUN J, ZHAO XE, DANG J, *et al*. Rapid and sensitive determination of phytosterols in functional foods and medicinal herbs by using UHPLC-MS/MS with microwave-assisted derivatization combined with dual ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction [J]. Journal of Separation Science, 2016, 40(3): 725–732.

[49] XU Q, WANG D, LV X, *et al*. Comprehensive profiling and evaluation of free/conjugated phytosterols in crops using chemical derivatization coupled with UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS [J]. Food Chemistry, 2025, 463: 141316.

[50] NAUMOSKA K, VOVK I. Analysis of triterpenoids and phytosterols in vegetables by thin-layer chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2015, 1381: 229–238.

[51] ARAÚJO LBDC, SILVA SL, GALVÃO MAM, *et al*. Total phytosterol content in drug materials and extracts from roots of acanthospermum hispidum by UV-VIS spectrophotometry [J]. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2013, 23(5): 736–742.

(责任编辑: 安香玉　蔡世佳)