

超声辅助酶解—超高效液相色谱—串联质谱法测定禽蛋中叶黄素及天然 VK 同系物

蔡振林¹ 李 涛²

(1. 长沙商贸旅游职业技术学院,湖南 长沙 410116; 2. 湖南省产商品质量检验研究院食品安全监测与预警湖南省重点实验室,湖南 长沙 410111)

摘要: [目的] 通过优化超声辅助酶解方法,建立超高效液相色谱—串联质谱法(UPLC-MS/MS)同时检测禽蛋中叶黄素、天然 VK 同系物叶绿醌(VK₁)、四烯甲萘醌(MK-4)、七烯甲萘醌(MK-7)和九烯甲萘醌(MK-9)的检测方法。[方法] 禽蛋样品经超声辅助酶解后萃取出目标化合物,经 C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 3.0 μm)分离,0.1% 甲酸水溶液—0.1% 甲酸甲醇溶液为流动相,梯度洗脱,APCI 源检测分析,外标法定量。[结果] 超声辅助酶解加酶量为 1 500 U, 酶解时间为 1 h, 叶黄素和天然 VK 同系物在 1.0~5 000.0 ng/mL 范围内线性关系良好, 相关系数 $R^2 > 0.996$ 。检出限为 0.8~1.5 μg/100 g, 定量限为 2.0~5.0 μg/100 g。在加标质量浓度为 10, 20, 100 μg/100 g 时, 平均加标回收率为 80.1%~94.9%, 相对标准偏差为 1.3%~5.5%。[结论] 该法检测效率高, 灵敏度高, 选择性强, 可作为禽蛋中叶黄素和天然 VK 同系物检测方法。

关键词: 禽蛋; 超声; 酶解; 超高效液相色谱串联质谱法; 叶黄素; VK 同系物

Ultrasound assisted enzymatic hydrolysis combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determination of lutein and natural vitamin K homologues in poultry eggs

CAI Zhenlin¹ LI Tao²

(1. Changsha Commerce & Tourism College, Changsha, Hunan 410116, China; 2. Hunan Provincial Key Laboratory of Food Safety Monitoring and Early Warning, Hunan Institute of Commodity Quality Inspection, Changsha, Hunan 410111, China)

Abstract: [Objective] To develop an ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for determining lutein and natural vitamin K (VK) homologues, including phylloquinone (VK₁), menaquinone-4 (MK-4), menaquinone-7 (MK-7), and menaquinone-9 (MK-9), in poultry eggs by optimizing ultrasound assisted enzymatic hydrolysis. [Methods] The target compound is extracted from poultry egg samples by ultrasound assisted enzymatic hydrolysis and then separated on C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 3.0 μm) column with 0.1% formic acid aqueous solution-0.1% formic acid methanol for gradient elution. Meanwhile, the samples are quantified by external standard with APCI source for detection and analysis. [Results] Under the ultrasound assisted enzymatic hydrolysis conditions of enzyme dosage of 1 500 U and hydrolysis time of 1 hour, the linear relationships of lutein and natural VK homologues are good in the range from 1.0 ng/mL to 5 000 ng/mL ($R^2 > 0.996$). The detection limit is 0.8~1.5 μg/100 g, and the quantification limit is 2.0~5.0 μg/100 g. The average recovery of lutein and natural VK homologues is 80.1%~94.9% when the spiked concentration is 10, 20, and

基金项目:湖南省自然科学基金(编号:2022JJ90027)

通信作者:李涛(1984—),男,湖南省产商品质量检验研究院高级工程师,硕士。E-mail:boylitao@163.com

收稿日期:2025-02-19 改回日期:2025-08-07

引用格式:蔡振林,李涛. 超声辅助酶解—超高效液相色谱—串联质谱法测定禽蛋中叶黄素及天然 VK 同系物[J]. 食品与机械,2025, 41(11):35-40.

Citation: CAI Zhenlin, LI Tao. Ultrasound assisted enzymatic hydrolysis combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determination of lutein and natural vitamin K homologues in poultry eggs[J]. Food & Machinery, 2025, 41(11): 35-40.

100 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ with the RSD of 1.3%~5.5%. [Conclusion] This method has high detection efficiency, sensitivity, and selectivity and can be used as a detection method for lutein and natural VK homologues in poultry eggs.

Keywords: poultry eggs; ultrasound; enzymatic hydrolysis; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; lutein; natural VK homologues

叶黄素是一种天然类胡萝卜素,是人类视网膜黄斑的重要组成部分,具有抗氧化和抗炎功能,对于视觉和认知有重要影响^[1~3]。VK是一类结构为2-甲基-1,4-萘醌的脂溶性维生素,主要包括维生素K₁和维生素K₂,维生素K₂通常以甲萘醌(MK-n)表示,是唯一一种具有生物活性的维生素K,维生素K₁可以在体内转化为维生素K₂后被人体利用^[4~6]。VK在凝血功能、维持骨健康和改善心血管疾病等生理功能方面产生重要影响^[7~9]。叶黄素在植物、动物油脂和蛋黄等中广泛存在,而VK₁主要存在于绿色植物,VK₂常见于发酵食品,也部分存在于肉类、乳制品和禽蛋中。现代农业养殖者通过在饲料中强化叶黄素和VK等维生素,从而得到维生素强化的禽蛋。

目前食品中叶黄素和VK同系物检测主要方法有液相色谱法^[10~12]、液相色谱—串联质谱法^[13~15]和毛细管电泳法^[16]。高效液相色谱-UV法检测灵敏度不高,无法满足维生素K检测低限需求,高效液相色谱-FLD法需衍生或还原后检测,且步骤繁琐,高效液相色谱法存在特异性差,难以实现多组分同时检测。鸡蛋中天然VK同系物含量较低,而超高效液相色谱—串联质谱具有高选择性和高灵敏度等特点,适用于鸡蛋中多组分的高通量检测。现有研究中叶黄素和VK检测分析多为单组分研究,研究基质主要包括特殊食品^[17]、乳制品^[18]、油脂^[19]、禽蛋^[20]、果蔬^[21]及血液^[22]等。叶黄素和天然VK的光热稳定性差,叶黄素通常为皂化后提取检测^[23],而皂化过程易破坏VK的醌结构,常为酶解后检测^[24~25]。超声波辅助酶解可显著提升酶解效率,提高检测效率,同时检测禽蛋中叶黄素和天然VK同系物未见报道,研究拟创新鸡蛋中叶黄素、天然VK(叶绿醌、四烯甲萘醌、七烯甲萘醌、九烯甲萘醌)的超声波辅助酶解萃取工艺,建立LC-APCI-MS/MS同时检测叶黄素和天然VK的定性、定量方法,旨在为食品中叶黄素和天然VK的检测、应用和监管提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

禽蛋:市售;
乙醇、乙醚:分析纯,上海安谱实验科技股份有限公司;
甲醇、环己烷、正己烷:色谱纯,上海安谱实验科技股份有限公司;
脂肪酶:酶活>30 U /mg,上海源叶生物科技有限公司;

叶黄素:纯度 88.1%,德国 Merck 公司;

叶绿醌(VK₁):纯度 98.5%,天津阿尔塔科技有限公司;

四烯甲萘醌(MK-4):纯度 99.8%,上海安谱实验科技股份有限公司;

七烯甲萘醌(MK-7):纯度 98.0%,北京坛墨质检科技有限公司;

九烯甲萘醌(MK-9):纯度 98.5%,天津阿尔塔科技有限公司。

1.1.2 仪器与设备

液质谱联用仪:UPLC-TSQ Quantis 型,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;

分析天平:BSA224S 型,德国 Sartorius 公司;

冷冻离心机:Avanti JXN-26 型,美国 Beckman Coulter 公司;

智能数控超声波清洗器:2050T 型,上海安谱实验科技股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液的制备 分别精密称取 5 种维生素各 25.0 mg,用质量分数 0.1% BHT 乙醇溶液溶解并定容至 50.0 mL,得到标准储备液,质量浓度为 0.50 mg/mL。分别精密吸取叶黄素和 MK-9 标准储备液 5.0 mL, VK₁、MK-4、MK-7 标准储备液 1.0 mL 至 50 mL 容量瓶,用质量分数 0.1% BHT 乙醇溶液稀释至刻度,得到混合标准中间液,质量浓度分别为 50.0, 10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。精密吸取混合标准中间液适量,配制混合标准系列溶液,叶黄素和 MK-9 标准系列质量浓度为 5, 10, 50, 100, 200, 500, 1 000, 5 000 ng/mL, VK₁、MK-4 和 MK-7 标准系列质量浓度为 1, 5, 10, 50, 100, 200, 500, 1 000 ng/mL, 现配现用。

1.2.2 检测条件

(1) 液相色谱条件:色谱柱为 Hypersil GOLD C₁₈ (3.0 μm , 100 mm \times 2.1 mm);流动相 A 为 0.1 g/100 mL 的甲酸水溶液,流动相 B 为 0.1 g/100 mL 的甲酸甲醇溶液,梯度洗脱条件为 0~1 min, 85% A, 1.0~1.1 min, 85%~0% A, 1.1~7.0 min, 0% A, 7.0~7.1 min, 0%~85% A, 7.1~10.0 min, 85% A;流量 0.25 mL/min;柱温 30 °C;进样量 5 μL 。

(2) 质谱条件:离子源为大气压化学电离源(APCI);扫描方式为正离子扫描;鞘气压 241 kPa;辅助气压 31.0 kPa;Pos Ion 放电电流 4 μA ;离子传输管温度 325 °C,气化室温度 350 °C。

1.2.3 样品处理 精密称取2 g样品至50 mL离心管中,加入0.1 g BHT、50 mg脂肪酶、10 mL水和5 mL磷酸盐缓冲溶液(pH 8.0),涡旋振荡2 min,超声波辅助酶解1.0 h,加入10 mL乙醇、1 g碳酸钾和15 mL萃取剂($V_{\text{环己烷}}:V_{\text{乙醚}}:V_{\text{正己烷}}=1:2:2$,并含质量分数0.1% BHT),振荡提取10 min,4 ℃、8 000 r/min离心5 min并取上层提取液,重复提取1次,合并上清液,氮吹至近干,以质量分数为0.1% BHT乙醇溶液溶解并定容至10 mL,过膜,上机分析。

1.2.4 数据处理 图谱采集和数据处理采用赛默飞公司Xcalibur软件,图谱由数据处理软件Adobe Illustrator CS3处理所得,所有数据均为平均值,数据分析和绘图由Excel 2016软件完成。

2 结果与分析

2.1 质谱条件优化

通过流动泵分别将5种维生素(质量浓度1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)标准溶液注入质谱仪,通过全扫描发现,在ESI源下,除叶黄素有较低的响应值外,天然VK均无响应,更换APCI源后全扫描,切换正负离子扫描模式,叶黄素和VK均在正离子模式下具有最高响应度。叶黄素和VK为弱极性分子,在ESI源下形成电荷离子较为困难,因此响应度低。在APCI源下,在高压电极作用下,叶黄素和天然VK分子与APCI中产生的溶剂离子反应形成正的分子离子[$\text{Analyte}+\text{H}^+$]⁺。通过SRM扫描,首先优化了APCI源参数,如鞘气压、辅助气压、正离子放电压等,在最优APCI源参数条件下,优化了叶黄素和VK的离子对和碰撞能量等质谱参数,以响应度最高的子离子为定量离子,以响应度次之的子离子为定性离子,并以定性离子和定量离子的相对丰度比进行定性分析。叶黄素和VK同系物质谱条件见表1。

表1 叶黄素和VK同系物的质谱条件

Table 1 MS/MS parameters of lutein and VK homologues

化合物	定性离子对	定量离子对	碰撞电压/eV	去簇电压/V
叶黄素	569.550>551.530	569.550>551.53	11.15	171
	569.550>477.387		11.78	
VK ₁	451.450>187.125	451.450>187.125	23.03	167
	451.450>185.125		21.55	
MK-4	445.450>187.125	445.450>187.125	20.84	129
	445.450>427.375		12.46	
MK-7	649.700>187.054	649.700>187.054	30.61	174
	649.700>463.440		15.07	
MK-9	785.762>187.054	785.762>187.054	36.21	197
	785.762>599.655		16.63	

2.2 色谱条件优化

固定A相为0.1 g/100 mL甲酸水溶液,考察B相分别为乙腈、甲醇、0.1 g/100 mL甲酸甲醇、0.2 g/100 mL甲酸甲醇对叶黄素和天然VK的影响。结果表明,当有机相为乙腈时,叶黄素响应较弱,MK-7离子峰形差且半峰宽度宽,而MK-9未出峰;当有机相为甲醇时,叶黄素响应度弱,且MK-7和MK-9均未出峰。当有机相为0.1 g/100 mL甲酸甲醇时,5种维生素均表现为良好的分离度和响应度;当有机相为0.2 g/100 mL甲酸甲醇时,叶黄素和VK同系物的响应度均有所下降。在有机流动相的选择过程中,发现甲酸可有效促进叶黄素和VK同系物的分离,而有机相中甲酸的浓度对目标化合物的响应度有影响,甲酸可以促进目标化合物的电离从而提高响应度,过高浓度的甲酸也会降低目标化合物的响应度,因此选择有机流动相0.1 g/100 mL甲酸甲醇。在最优质谱条件下和最优色谱条件下叶黄素和天然VK标准溶液定量离子色谱图如图1所示。

2.3 超声辅助酶解前处理条件优化

超声波具有超强的空化、剪切与混合作用,可以提升

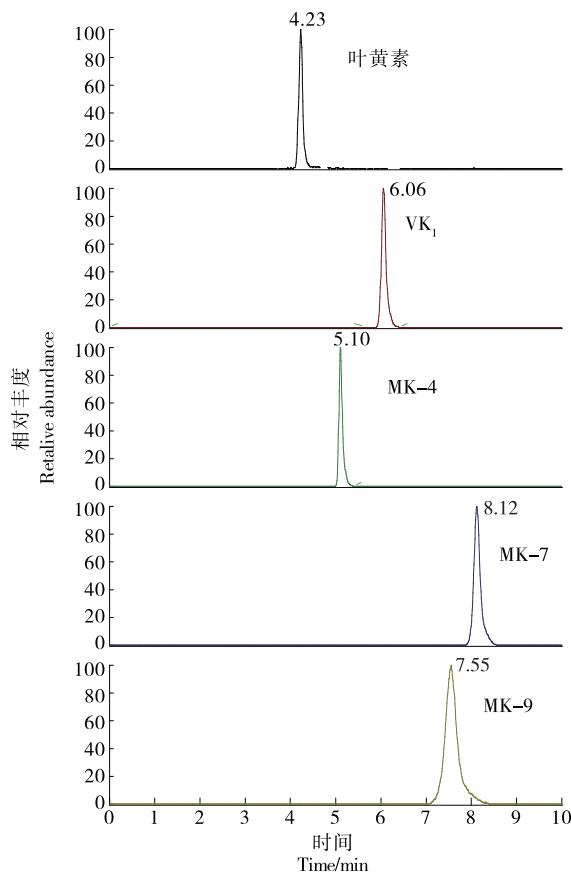


图1 叶黄素和VK同系物定量离子色谱图

Figure 1 Quantitative ion chromatograms of lutein and VK homologues (100 ng/mL)

反应物接触面积,提高酶活力,显著提升酶解效率,从而提高检测效率。试验首先固定酶用量,比较超声辅助酶解 0.5~2.0 h 对 5 种维生素回收率的影响,然后在最优超声辅助酶解时间下,比较酶用量 750~6 000 U 对 5 种维生素回收率的影响。样品基质中叶黄素含量采用 GB 5009.248—2016《食品安全国家标准 食品中叶黄素的测定》重复测定确定的基质值。不同超声辅助酶解时间对 5 种维生素回收率影响结果见图 2,随超声辅助时间的延长,样品中脂肪逐步被酶解,脂溶性维生素得到释放,叶黄素和 VK 同系物的回收率逐步升高,当超声时间超过 1.0 h 后,样品中脂肪完全酶解,样品中 5 种维生素完全释放,且随超声时间延长,受光热作用影响,叶黄素和 VK 同系物含量略有降低,因此最佳超声辅助时间为 1.0 h。在最佳超声辅助酶解时间下,不同加酶量对 5 种维生素回收率的影响结果见图 3,随加酶量的增加,脂肪酶解率也逐步提高,叶黄素和 VK 同系物的回收率逐步提高,当加酶量>1 500 U 时,样品中 5 种维生素回收率基本保持不变,表明当加酶量达到一定阈值时,酶解率达到最高值,因此最佳加酶量为 1 500 U。对比 GB 5009.158—2016《食品安全国家标准 食品中维生素 K₁的测定》,试验酶解时间缩短了 50%,加酶量降低了 90%,酶解效率大大提升。

2.4 线性方程、检出限和定量限

空白基质加入一定量的混合标准溶液,按优化的条件试验后上机分析,叶黄素与 VK 同系物信噪比(S/N)≥3 时的浓度为检出限,信噪比(S/N)≥10 时的浓度为定量限,5 种维生素的线性方程、线性范围、检出限和定量限见表 2。结果表明:叶黄素和 MK-9 在质量浓度为 5.0~5 000.0 ng/mL 范围内线性关系良好, $R^2>0.996$, 检出限为

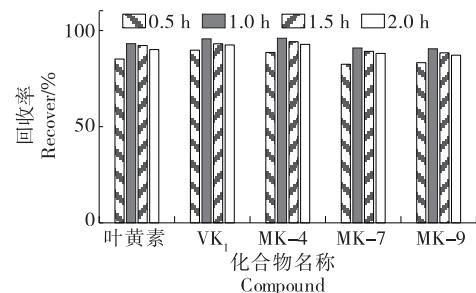


图 2 超声辅助酶解时间对叶黄素和 VK 同系物回收率的影响

Figure 2 Effect of ultrasound assisted enzymatic hydrolysis time on recovery of lutein and VK homologues

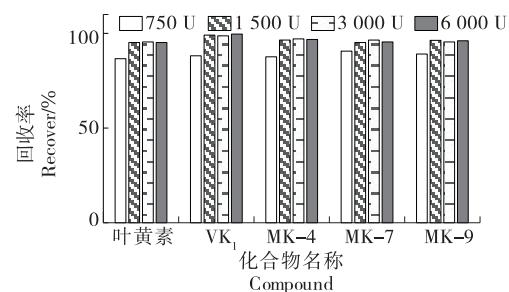


图 3 酶用量对叶黄素和 VK 同系物回收率的影响

Figure 3 Effect of enzyme dosage on recovery of lutein and VK homologues

1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$; VK₁、MK-4 和 MK-9 在质量浓度为 1.0~1 000.0 ng/mL 范围内线性关系良好, $R^2>0.999$, 检出限为 0.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 2.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

表 2 叶黄素和 VK 同系物线性方程、检出限和定量限

Table 2 Calibration curves, detection limit, and quantification limit of lutein and VK homologues

化合物	线性方程	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	R ²	检出限/(10 ⁻² $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	定量限/(10 ⁻² $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
叶黄素	$Y=224.991X-1 272.13$	5.0~5 000.0	0.999 8	1.5	5.0
VK ₁	$Y=8 406.57X-21 927$	1.0~1 000.0	0.999 9	0.8	2.5
MK-4	$Y=2 783.81X-6 653.52$	1.0~1 000.0	0.999 8	0.8	2.5
MK-7	$Y=2 266.76X-6 801.83$	1.0~1 000.0	0.999 6	0.8	2.5
MK-9	$Y=726.05X-1 586.91$	5.0~5 000.0	0.996 1	1.5	5.0

2.5 加标回收率与精密度

在空白基质中添加低、中、高 3 个水平叶黄素和 VK 同系物混合标准溶液,3 个水平分别为 10.0, 20.0, 100.0 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, 每个水平进行 6 次平行测试,按建立的最优方法进行处理并上机分析,测定叶黄素和 VK 同系物回收率,计算相对标准偏差(RSD),结果见表 3。当加标水平为 10.0 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 时,回收率为 84.0%~91.1%, RSD 为 3.1%~5.5%;当加标水平为 20.0 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 时,回收率为

80.1%~93.9%, RSD 为 1.3%~5.5%, 当加标水平为 100.0 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 时,回收率为 86.8%~94.9%, RSD 为 2.1%~3.9%, 加标回收率和 RSD 均符合相关标准规范要求。

2.6 样品实际含量检测分析

试验采用所建立方法对不同来源的鸡蛋和不同种类的禽蛋进行了检测分析,不同种类禽蛋中叶黄素和天然 VK 同系物含量见表 4。3 类禽蛋中均检出了叶黄素、VK₁ 和 MK-4,且叶黄素含量较高, VK 含量较低,叶黄素含量

表3 叶黄素和VK同系物加标回收率和精密度
Table 3 Average recovery and precision of lutein and VK homologues ($n=6$)

化合物	10.0 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$		20.0 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$		100.0 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
叶黄素	91.1	5.5	93.9	4.3	94.9	2.1
VK ₁	84.0	4.2	80.1	1.3	93.1	2.5
MK-4	89.8	3.1	86.3	2.7	88.2	3.9
MK-7	88.4	5.4	87.4	5.5	86.8	3.4
MK-9	88.1	5.0	90.3	4.9	89.0	2.1

表4 不同种类禽蛋中叶黄素和VK同系物含量
Table 4 Content of lutein and VK homologues in different types of poultry eggs $\mu\text{g}/100 \text{ g}$

样品	叶黄素	VK ₁	MK-4	MK-7	MK-9
鹌鹑蛋1	861	1.6	29.8	未检出	未检出
鹌鹑蛋2	802	1.5	28.8	未检出	未检出
谷物土鸡蛋	993	2.3	13.1	未检出	未检出
散养蛋	862	1.6	22.4	未检出	未检出
蛋泉山鸡蛋	606	1.9	22.1	未检出	未检出
普通鸡蛋1	1 165	1.6	33.7	未检出	未检出
普通鸡蛋2	966	1.7	30.2	未检出	未检出
普通鸡蛋3	982	1.8	31.5	未检出	未检出
洞庭土鸭蛋	805	1.7	40.4	未检出	未检出
鸭蛋	862	2.1	42.2	未检出	未检出

为606~1 165 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$, VK含量为1.5~2.3 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$, MK-4含量为13.1~42.2 $\mu\text{g}/100 \text{ g}$, MK-7和MK-9均未检出。不同种类禽蛋和鸡蛋中叶黄素、VK₁和MK-4含量标准偏差均>10%,说明禽蛋中叶黄素和天然VK同系物含量具有较大差异性,禽蛋中叶黄素和天然VK同系物含量受禽类品种、生长环境和饲料营养丰富性等多种因素影响,检测结果表明标称为土鸡蛋和土鸭蛋的5种维生素含量上非最高水平。

3 结论

采用超声波辅助酶解法提取叶黄素和天然VK,极大提高了检测效率,研究建立的同时检测禽蛋中叶黄素和天然VK同系物的高效液相色谱—串联质谱法具有效率高、灵敏度高和选择性好等优点。应用所建立的方法对3类禽蛋中的叶黄素和天然VK进行了检测,检测结果表明所有禽蛋中均检出叶黄素、叶绿醌和四烯甲萘醌,但含量存在较大差异,叶黄素含量丰富,可作为人类摄取叶黄素的重要来源。该方法应用于日常检测中可显著提升检测效率,降低检测成本,能满足禽蛋中叶黄素和天然VK的分析要求,可为政府行政监督提供检测技术支持,

具有实际应用价值。

参考文献

- [1] JOHNSON E J. Role of lutein and zeaxanthin in visual and cognitive function throughout the lifespan[J]. Nutrition Reviews, 2014, 72(9): 605-612.
- [2] BUSCEMI S, CORLEO D, DI PACE F, et al. The effect of lutein on eye and extra-eye health[J]. Nutrients, 2018, 10(9): 1 321.
- [3] 朱丽萍,周建川,严鸿林.叶黄素强化鸡蛋研究进展[J].畜牧产业,2022(3): 62-71.
- [4] ZHU L P, ZHOU J C, YAN H L, et al. Research progress on lutein fortified eggs[J]. Animal Agriculture, 2022(3): 62-71.
- [5] BERENIAN A, MAHANAMA R, KAVANAGH J, et al. Vitamin K series: current status and future prospects[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2015, 35(2): 199-208.
- [6] FANALI C, DORAZIO G, FANALI S, et al. Advanced analytical techniques for fat-soluble vitamin analysis[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2017, 87: 82-97.
- [7] LIU R J, WANG M M, DING L. A novel liquid chromatography-tandemmass spectrometry method for determination of menadione in human plasma after derivatization with 3-mercaptopropionic acid[J]. Talanta, 2014, 128: 51-57.
- [8] LYYTINEN A T, LINNEBERG A. Vitamin K-a scoping review for nordic nutrition recommendations 2023[J]. Food & Nutrition Research, 2023, 23: 67.
- [9] ROUMELIOTIS S, DOUNOUSI E, ELEFTHERIADIS T, et al. Association of the inactive circulating matrix gla protein with vitamin K intake, calcification, mortality and cardiovascular disease: a review[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(3): 628.
- [10] 刘学静,史峻梅,朱丽业,等.维生素K₂的生物学功能研究进展[J].山东医药,2024,64(35): 111-114.
- [11] LIU X J, SHI J M, ZHU L Y, et al. Research progress on the biological functions of vitamin K₂[J]. Shandong Medical Journal, 2024, 64(35): 111-114.
- [12] 兰韬,闫娜,裴栋,等.高效液相色谱法测定鸡蛋、鸡肉中五种类胡萝卜素物质[J].食品工业科技,2021,42(20): 261-267.
- [13] LAN T, YAN N, PEI D, et al. Determination of five carotenoids in eggs and chicken by HPLC[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(20): 261-267.
- [14] 邓梦雅,彭祖茂,朱丽,等.高效液相色谱—荧光检测法测定食品中维生素K₂的含量[J].食品工业科技,2019,40(19): 240-244, 250.
- [15] DENG M Y, PENG Z M, ZHU L, et al. Determination of vitamin K₂ in food by high performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(19): 240-244, 250.

- [12] KIM M J, CHIU Y C, KU K M. Glucosinolates, carotenoids, and vitamins E and K variation from selected kale and collard cultivars[J]. *Journal of Food Quality*, 2017, 2017(9): 1-8.
- [13] 彭名军, 刘春生, 毛新武, 等. 高效液相色谱—串联质谱法测定水产鱼类中的角黄素与叶黄素[J]. *现代食品*, 2022(22): 165-170.
- PENG M J, LIU C S, MAO X W, et al. Simultaneous determination of canthaxanthin and lutein in aquatic fish by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Modern Food*, 2022(22): 165-170.
- [14] 公丕学, 廉贞霞, 王艳玲, 等. 同位素内标稀释液质法测定婴幼儿配方奶粉中维生素 K₁[J]. *中国乳品工业*, 2022, 50(2): 50-53.
- GONG P X, LIAN Z X, WANG Y L, et al. Determination of vitamin K₁ in infant formula by isotope internal standard dilution LC-MS/MS[J]. *China Dairy Industry*, 2022, 50(2): 50-53.
- [15] KIM T E, YOO G, LEE M H, 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 Chemistry*, 2022, 389: 133009.
- [16] 梁红艳, 温洁, 姜晓峰. 利用毛细管电泳测定血清中维生素 K 的含量[J]. *中国实验诊断学*, 2003(2): 87-89.
- LIANG H Y, WEN J, JIANG X F. Quantitative analysis of vitamin K in serum using capillary electrophoresis[J]. *Chinese Journal of Laboratory Diagnosis*, 2003(2): 87-89.
- [17] 高敏, 付冉, 武传香, 等. 特殊医学用途婴儿配方食品中叶黄素检测关键控制点研究[J]. *中国食品添加剂*, 2024, 35(11): 26-32.
- GAO M, FU R, WU C X, et al. Analysis of critical control points in the detection of lutein in infant formula food for special medical purposes[J]. *China Food Additives*, 2024, 27(14): 26-32.
- [18] 李慧娟. 乳制品中同时检测维生素 K₁ 和 K₂ 的方法研究[J]. *中国乳业*, 2024(9): 68-72, 79.
- LI H J. Simultaneous determination of vitamin K₁ and K₂ in dairy products[J]. *China Dairy*, 2024(9): 68-72, 79.
- [19] 翟彦伟, 聂玲玲, 吕润豪, 等. 鸡腹脂中四种天然黄色素的检测方法研究[J]. *中国饲料*, 2024(9): 107-112.
- ZHAI Y W, NIE L L, LV R H, et al. Study on detection methods of four natural yellow pigments in chicken belly fat [J]. *China Feed*, 2024(9): 107-112.
- [20] 吕美, 孙一甲, 徐一楠, 等. HPLC 法测定禽蛋蛋黄中玉米黄质和叶黄素[J]. *食品工业*, 2019, 40(6): 269-272.
- LV M, SUN Y J, XU Y N, et al. Detection of zeaxanthin and lutein in various poultry yolk by HPLC[J]. *The Food Industry*, 2019, 40(6): 269-272.
- [21] 于翰宗, 田蒙, 姜山, 等. 高效液相色谱—荧光检测法测定大白菜中维生素 K₁ 含量[J]. *湖北农业科学*, 2022, 61(20): 149-152.
- YU H Z, TIAN M, JIANG S, et al. Determination of vitamin K₁ content in Chinese cabbage by high performance liquid chromatography-fluorescence detection[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2022, 61(20): 149-152.
- [22] 于鹏, 周传贵, 楚士颖, 等. 建立 LC-MS/MS 检测血清中 5 种脂溶性维生素的方法及临床验证[J]. *检验医学与临床*, 2024, 21(6): 721-725, 732.
- YU P, ZHOU C G, CHU S Y, et al. Establishment and clinical validation of LC-MS/MS method for detecting five serum fat-soluble vitamins[J]. *Laboratory Medicine and Clinic*, 2024, 21(6): 721-725, 732.
- [23] 陈万勤, 刘柱, 郑国钢, 等. 冷皂化—高效液相色谱法测定乳制品中叶黄素的 5 种顺反式异构体[J]. *分析化学*, 2015, 43(3): 404-408.
- CHEN W Q, LIU Z, ZHENG G G, et al. Cold saponification method for determination of 5 lutein stereoisomers in dairy products by high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2015, 43(3): 404-408.
- [24] 毛新武, 黄景初, 何淑明, 等. 在线固相萃取—高效液相色谱法快速测定奶粉中的维生素 K₁ 与维生素 K₂[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(16): 5305-5313.
- MAO X W, HUANG J C, HE S M, et al. Rapid determination of vitamin K₁ and vitamin K₂ in milk powder by online solid phase extraction-high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2022, 13(16): 5305-5313.
- [25] 王璐, 张敏, 马晓冲, 等. 高效液相色谱法测定乳粉中 VK₂ (七烯甲萘醌) 含量[J]. *乳业科学与技术*, 2019, 42(6): 30-33.
- WANG Y, ZHANG M, MA X C, et al. Determination of vitamin K₂ (menaquinone-7) in milk powder by high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Dairy Science and Technology*, 2019, 42(6): 30-33.