

王霞, 朱金锦, 曹雁平. 烘焙类食品中叶黄素酯提取及检测方法建立 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(1): 304–310. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040184

WANG Xia, ZHU Jinjin, CAO Yanping. Extraction and Detection Method of Lutein Ester in Bakery Food[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(1): 304–310. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040184

烘焙类食品中叶黄素酯提取及检测方法建立

王霞^{1,2}, 朱金锦^{1,2}, 曹雁平^{1,2,*}

(1.北京市食品添加剂工程技术研究中心, 北京工商大学, 北京 100048;

2.北京工商大学食品与健康学院, 北京 100048)

摘要:为检测烘焙类食品中的叶黄素酯以及筛选无乙醚的萃取溶剂, 本文对烘焙产品中的叶黄素酯皂化时间、KOH 浓度以及不同萃取溶剂的萃取效果进行研究。结果表明检测烘焙食品中叶黄素酯的皂化最优条件为: 2 g 样品(面糊/面团), 0.2 g BHT, 10 mL 无水乙醇, 10 mL 60 g/100 mL KOH 水溶液, 室温振荡 3 h。萃取溶剂环己烷:正己烷:乙酸乙酯=1:2:2 为最佳萃取剂, 回收率为 94.31%~103.83%, 精密度实验相对标准偏差均小于 5%。表明该方法适合于烘焙类食品中叶黄素酯的提取及检测。

关键词:叶黄素酯, 高效液相色谱法, 烘焙食品, 检测, 皂化

中图分类号:TS201.1

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2022)01-0304-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021040184

本文网刊:



Extraction and Detection Method of Lutein Ester in Bakery Food

WANG Xia^{1,2}, ZHU Jinjin^{1,2}, CAO Yanping^{1,2,*}

(1.Beijing Food Additive Engineering Technology Research Center, Beijing Technology & Business University, Beijing 100048, China;

2.School of Food and Health, Beijing Technology & Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: In order to detect the lutein esters in bakery products and select the extraction solvents without ether, this paper studied the saponification time, KOH concentration of lutein esters in bakery products, and the extraction effect of different extraction solvents. The results showed that the optimal conditions for detecting saponification of lutein esters in baked food were: 2 g sample (batter/dough), 0.2 g BHT, 10 mL absolute ethanol, 10 mL 60 g/100 mL KOH aqueous solution, shook at room temperature for 3 h. The extraction solvent cyclohexane:n-hexane:ethyl acetate=1:2:2 was the best extractant, the recovery rate was 94.31%~103.83%, and the relative standard deviation of the precision experiment was less than 5%. These indicated that the method was suitable for the extraction and detection of lutein esters in baked food.

Key words: lutein esters; high performance liquid chromatography; bakery food; detection; saponification

叶黄素酯, 一种由游离叶黄素和脂肪酸酯化形成的脂溶性类胡萝卜素脂肪酸酯^[1-2], 存在于蔬菜、水果、谷物^[3]、微藻中^[4], 主要来源于万寿菊^[5-6], 是叶黄素在自然界中的主要存在形式^[7], 在日光照射、强酸和高温环境下降解速率小于叶黄素, 在中性和碱性条件下较为稳定^[8-9]。研究发现增加游离叶黄素和叶黄素酯的摄入能够预防老年性黄斑病变(Age-related Macular Degeneration, AMD)^[10], 游离叶黄素和叶黄素酯均能显著提高血清叶黄素浓度和黄斑色素光密度(Macular Pigment Optical Density, MPOD), 两者

之间无明显差异, 被认为是有效的叶黄素补充剂^[11], 而且叶黄素酯分解得到的叶黄素其生物利用率优于游离叶黄素^[12]。2008 年, 国家卫生部批准叶黄素酯为功能性新资源食品, 已经应用于曲奇饼干、蛋糕、酸奶、压片糖果等食品的加工^[13-16]。

万寿菊中叶黄素酯的提取方法包括有机溶剂提取、微波提取、超声辅助提取、酶辅助提取、超临界提取和亚临界提取等, 其中最常用的是有机溶剂提取法^[17-20]。天然叶黄素酯种类较多, 在进行定量分析时, 一般以全反式叶黄素的含量表示, 因此需进行碱

收稿日期: 2021-04-26

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目(2016YFD0400802)。

作者简介: 王霞(1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然色素的稳定性, E-mail: 1930201033@st.btbu.edu.cn。

* 通信作者: 曹雁平(1961-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品化学, E-mail: caoy@th.btbu.edu.cn。

皂化前处理,将叶黄素酯皂化成叶黄素^[21-23]。目前食品中叶黄素的提取检测采用 GB 5009.248-2016《食品安全国家标准 食品中叶黄素的测定》法,而添加到烘焙食品中的叶黄素酯需要将食品中的油脂和叶黄素酯皂化,国标中没有推荐方法,因此有必要研究皂化条件。此外,国标采用的叶黄素萃取溶剂体系有乙醚,属于受到严格安全管理的易制爆危险化学品,销售、储存和使用要求高。本文以烘焙食品为实际体系,对食品中的叶黄素酯和油脂进行皂化条件研究,另筛选不含乙醚的叶黄素萃取溶剂体系,为高效、低成本地提取叶黄素奠定一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

叶黄素酯浸膏 河北晨光生物科技集团股份有限公司;低筋蛋糕粉 新良面粉公司;鸡蛋 北京德青源公司;烘焙细砂糖 结晶糖粉,广州华糖食品有限公司;Crisco 人造黄油 美国 J. M. Smucker 公司;无碘食用盐 中盐集团;碳酸氢钠 食品级,上海枫未实业有限公司;碳酸氢铵 食品级,海洋食品有限公司;双效泡打粉 北京古松食品有限公司;氢氧化钾 分析纯,福晨(天津)化学试剂公司;2,6-二叔丁基对甲酚(BHT) 分析纯,上海麦克林生化科技有限公司;无水乙醇、甲基叔丁基醚、甲醇、环己烷、正己烷 色谱纯,北京迈瑞达科技有限公司;乙醚 分析纯,北京迈瑞达科技有限公司;乙酸乙酯、丙酮 分析纯,福晨(天津)化学试剂公司;叶黄素标准品 97% 纯度,美国 Chromadex 公司。

HM600 和面机 海氏 Hauswirt 公司;打蛋器 千团精工厨具(浙江)公司;KB5010 振荡器 其林贝尔仪器制造有限公司;RE-52AA 旋转蒸发仪 上海亚荣公司生化仪器厂;ME203E 分析天平 德国赛多利斯公司;TDZ4-WS 离心机 湖南赫西仪器装备有限公司;W2695 高效液相色谱 配有二极管阵列检测器,美国 Waters 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备 蛋糕制备工艺:参考 El-Sayed M^[24] 玛芬蛋糕的制作并做修改,将 90 g 全蛋液低速打散,加入含有叶黄素酯的黄油中;加入 70 g 糖和 1 g 盐;加 30 g 水;加 130 g 低筋蛋糕粉和 4 g 泡打粉,用刮刀翻拌;再放入到和面机中,第 4 挡搅拌 5 min,第 5 挡搅拌 10 min,制成面糊。

蛋卷制备工艺:借鉴《焙烤食品工艺》^[25],将 165 g 人造黄油软化,与 0.06 g 叶黄素酯浸膏混合;180 g 全蛋液和 2 g 盐、90 g 细砂糖混合加入油脂中;加入 110 g 低筋蛋糕粉搅匀;再放入到和面机中,第 4 挡搅拌 5 min,第 5 挡搅拌 10 min,制成面糊。

饼干制备工艺:参考 Zou 等^[26] 酥性饼干的制作并修改,称取 0.05 g 叶黄素酯浸膏与软化后的 20 g 人造黄油混匀;将 30 g 细砂糖、1 g 盐、0.8 g 碳酸氢钠、0.4 g 碳酸氢铵放入 16 g 水中搅拌;相互混匀,

与 70 g 低筋魔堡蛋糕粉混合制成面团,用刮刀翻拌直至颜色均匀分布在面团中。

1.2.2 叶黄素酯浸膏中的叶黄素组成分析 叶黄素酯浸膏溶液的配制:取一定量的叶黄素酯浸膏溶解于 0.1% BHT 无水乙醇中,配制 0.5 mg/L 叶黄素酯浸膏溶液,用 0.22 μm 尼龙膜过滤,进行色谱分析。

1.2.3 叶黄素酯皂化条件研究 叶黄素酯的皂化^[27]:准确称取 2 g 样品(面糊或者面团)于 50 mL 离心管中,加入 0.2 g BHT 和 10 mL 无水乙醇,振荡均匀。分别加入 10 mL 20、40、60 g/100 mL KOH 水溶液,涡旋振荡 1 min 混匀,用锡纸包裹样品后在室温下分别振荡 1、2、3、4 h,每个样品 5 次平行。

皂化后的样品加入 10 mL 萃取剂避光振荡 5 min 后,4500 r/min 离心 3 min,再重复提取 2 次,合并提取液。萃取后的样品以 10 mL 水洗涤,4500 r/min 离心 3 min 分层,再重复洗涤 1 次,合并有机相。在水温 30℃ 下旋转蒸发至近干,用 0.1% BHT 乙醇溶液润洗圆底烧瓶并振荡溶解残渣^[28],最终定容于 25 mL 棕色容量瓶中,过 0.22 μm 尼龙膜,进行色谱分析。

1.2.4 萃取溶剂筛选 吸取 5 mL 0.02 g/100 mL 的叶黄素酯乙醇溶液于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 60 g/100 mL KOH,10 mL 0.1% BHT 无水乙醇,涡旋振荡 1 min 混匀,室温下皂化 3 h,每个样品平行 5 次。皂化后的样品处理同 1.2.3。

参照国标^[28]、孔凡华等^[29]、溶剂极性,萃取溶剂体系选取见表 1。

表 1 萃取溶剂体系
Table 1 Extraction solvent

萃取溶剂体系	溶剂体系比例
萃取溶剂体系1	环己烷:正己烷:乙酸乙酯=1:2:2
萃取溶剂体系2	环己烷:正己烷:丙酮=2:2:1
萃取溶剂体系3	正己烷:丙酮=7:3
萃取溶剂体系4	正己烷:乙酸乙酯=7:3

1.2.5 检测方法

1.2.5.1 高效液相色谱法 HPLC-PDA 条件^[28]: Venusil XBP C₃₀ 色谱柱(5 μm, 250 mm×4.6 mm);柱温:30℃;流动相:甲醇/水(88/12, v/v)和甲基叔丁基醚;梯度洗脱,0~18 min,甲醇/水由 100% 变换至 10%;18.1 min,甲醇/水由 10% 变换至 100%,保留 10 min;流速:1.0 mL/min;检测波长:445 nm;进样量:50 μL。

1.2.5.2 叶黄素酯含量测定

$$X = \frac{c \times V}{m} \times \frac{1}{F} \quad \text{式(1)}$$

式中,X 表示样品中叶黄素酯的含量,μg/g;m 表示样品重量,g;c 表示由标准曲线而得的样液中标准品的含量,μg/mL;V 表示样品最终定容体积,mL;F 表示校正系数。用液相色谱分析试样溶液,将反式

叶黄素与异构体的色谱峰面积加合作为总峰面积,其中反式叶黄素峰面积除以总峰面积所得值为校正系数。本研究中叶黄素酯含量以总叶黄素计。

1.2.5.3 叶黄素标准曲线 准确称取 5 mg 叶黄素标准品,以 0.1% BHT 乙醇溶液溶解并定容于 25 mL 棕色容量瓶,配制 200 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液。母液避光储藏于 -80°C 冰箱。从母液 200 $\mu\text{g/mL}$ 中移取 100、250、500、750、1000、1250、1500 μL 溶液至 10 mL 棕色容量瓶中,用 0.1% BHT 乙醇溶液定容,得到浓度依次为 2、5、10、15、20、25、30 $\mu\text{g/mL}$ 的标准液。将不同浓度的叶黄素标准液用 0.22 μm 尼龙膜过滤,进行色谱分析。以标准工作液的浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制叶黄素的标准曲线。

1.2.6 方法的评价 采用方法回收率、精密度指标评价方法^[29-30]。

分别向 50 mL 离心管中加入 2 mL 30、60、90 $\mu\text{g/mL}$ 叶黄素标品,用 10 mL 去离子水代替上述 60 g/100 mL KOH,加入 10 mL 0.1% BHT 无水乙醇后,漩涡振荡 1 min 混匀,用 1.2.4 筛选出的萃取溶剂体系进行加标回收。在水温 30°C 下旋转蒸发近干,用 0.1% BHT 乙醇溶液润洗圆底烧瓶并振荡溶解残渣,最终定容于 10 mL 棕色容量瓶,每个实验平行 3 组。

1.3 数据处理

用 SPSS 软件对数据进行分析,在数据满足正态分布的前提下用单因素方差分析叶黄素酯含量, $P<0.05$,认为具有显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 叶黄素酯的皂化条件优化及组成分析

用 20、40、60 g/100 mL KOH 水溶液分别在室温下进行 1、2、3、4 h 皂化振荡,得到的叶黄素含量曲线如图 1 所示。由图 1 得知,1~4 h 60 g/100 mL KOH 皂化下蛋糕面糊、蛋卷面糊和饼干面团中皂化出来的叶黄素含量趋于平稳。

图 2 为 20 g/100 mL KOH 皂化后从蛋糕面糊、蛋卷面糊和饼干面团提取的叶黄素乙醇溶液照片,此条件下提取出来的叶黄素乙醇溶液中含有白色的絮状析出物。油脂(如棕榈油、柴油)不能在乙醇中均匀分散,溶解性差,因此推测白色絮状物质为未皂化的油脂^[31]。随着时间的推移,白色絮状物质逐渐减少,可以推断出对于本研究的样品,KOH 皂化焙烤样品中的油脂和叶黄素酯是同时进行的,但是水解油脂速率大于叶黄素酯。在图 1 中 40 g/100 mL KOH 条件下叶黄素含量呈上升趋势,因为碱液浓度的提升加快了 KOH 与油脂、叶黄素酯碰撞的概率。当皂化条件为 60 g/100 mL KOH、3 h 时叶黄素的含量达到最大值,之后趋于平稳。

从图 3(A)可以看出,谱图主要有 4 种峰,其中 d 峰是溶剂中的 BHT,用于阻碍叶黄素酯和皂化出来的叶黄素在操作中的氧化^[32]。与标准反式叶黄素的色谱图对比,确定 a 峰为反式叶黄素。叶黄素酯分

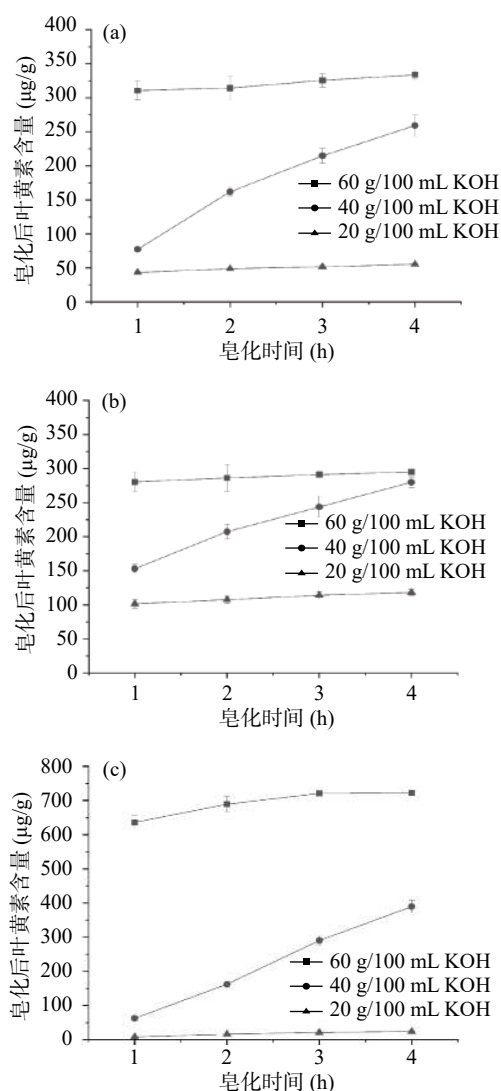


图 1 不同皂化条件下蛋糕面糊(a)、蛋卷面糊(b)、饼干面团(c)中叶黄素的含量

Fig.1 Lutein content in cake batter (a), egg roll batter (b) and biscuit dough (c) in different saponification conditions

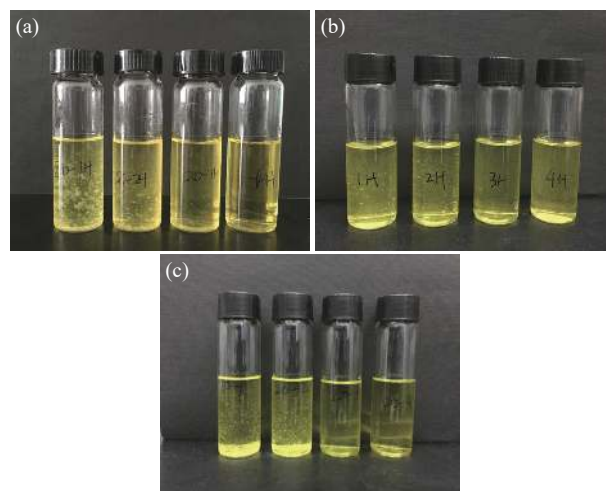


图 2 20 g/100 mL KOH 皂化后从蛋糕面糊(a)、蛋卷面糊(b)和饼干面团(c)提取的叶黄素乙醇溶液图

Fig.2 Lutein ethanol solutions extracted from cake batter (a), egg roll batter (b) and biscuit dough (c) after 20 g/100 mL KOH saponification

注: 图片中的溶液从左到右依次为 1、2、3、4 h。

为单酯和二酯,种类较多,其中含量最多的为叶黄素二棕榈酸酯,与叶黄素二棕榈酸酯标准品的色谱图对比,确定 c 中含有大量的叶黄素二棕榈酸酯,则推断 c 峰为叶黄素二酯。

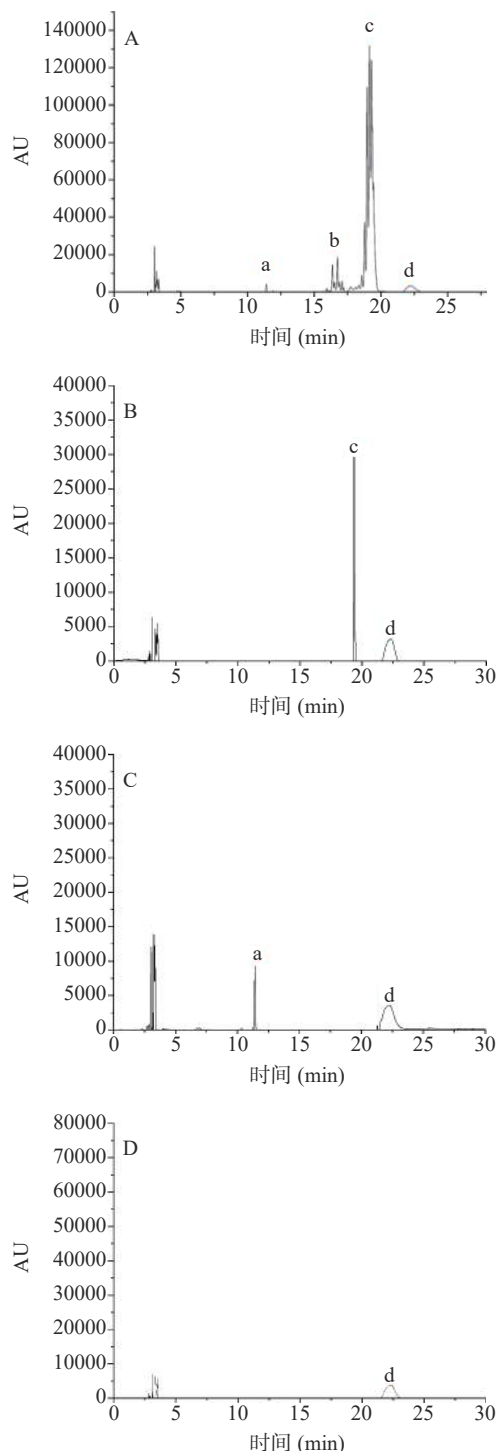


图3 叶黄素酯浸膏(A)、叶黄素二棕榈酸酯标准品(B)、叶黄素标准品(C)、0.1% BHT 乙醇溶剂(D)色谱图

Fig.3 HPLC chromatogram of lutein ester extract(A), lutein dipalmitate standard(B), lutein standard(C), 0.1% BHT ethanol solvent(D)

图4 为用 60 g/100 mL KOH 皂化 3 h 后蛋糕面糊、蛋卷面糊和饼干面团中叶黄素酯的液相色谱图。

由图4可以看出,此皂化条件下的液相色谱图上只有反式叶黄素和其异构体^[33],叶黄素酯皂化完全,说明 60 g/100 mL KOH 室温振荡 3 h,叶黄素酯全部从油中分离且皂化完全。此外,皂化之后,图4(A)中的 b、c 峰消失, a 峰面积增加,则推断 b 峰为叶黄素单酯^[34]。刘春菊等^[35]报道发酵面包中皂化叶黄素酯条件为 160 mL 40 g/100 g KOH 溶液条件下 60 ℃ 回流皂化 3 h,在 60 ℃ 3 h 的皂化过程中,温度可能会对叶黄素造成损失。本方法利用振荡器可以同时皂化更多的样品,耗能低,操作简便,而且有研究证明,影响叶黄素的稳定性因素温度>pH^[36],因此本方法采用室温、高浓度碱的方法进行皂化。

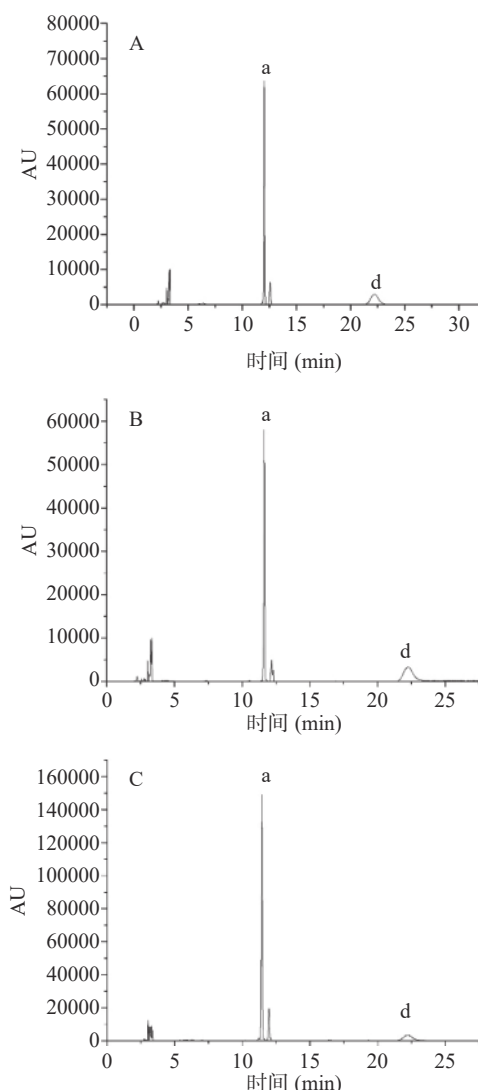


图4 用 60 g/100 mL KOH 皂化 3 h 后蛋糕面糊(A)、蛋卷面糊(B)和饼干面团(C)中叶黄素酯的液相色谱图

Fig.4 HPLC chromatogram of lutein esters in cake batter (A), egg roll batter (B) and biscuit dough (C) after saponification with 60 g/100 mL KOH for 3 h

2.2 萃取溶剂体系的效果分析

所选萃取溶剂体系的效果如表2,其中萃取溶剂体系3的提取效果最差,萃取溶剂体系1、2、4无显著性差异。

表2 不同萃取溶剂体系萃取效果
Table 2 Extraction effect of different extraction solvent systems

萃取溶剂体系	叶黄素含量(μg/mL)
萃取剂1 环己烷:正己烷:乙酸乙酯=1:2:2	25.31 ^a
萃取剂2 环己烷:正己烷:丙酮=2:2:1	25.50 ^a
萃取剂3 正己烷:丙酮=7:3	24.05 ^b
萃取剂4 正己烷:乙酸乙酯=7:3	25.13 ^{ab}

注: 同列不同字母表示各萃取溶剂体系之间存在显著性差异($P<0.05$)。

在萃取过程中,尤其是第二次萃取时(图5),含丙酮组试剂出现明显的三层分层,且中间层颜色较深。对中间层试剂单独处理,进行1.2.3中的去离子水润洗步骤中发现二者不分层,而丙酮与水任意比例互溶,猜测其为丙酮。考虑其中含有一定量的叶黄素,为避免误差,用正己烷进行重复提取,合并有机相。



图5 不同萃取剂第二次萃取时效果图

Fig.5 Effect diagram of different extractants during the second extraction

因丙酮组萃取过程繁琐,萃取剂1和2无明显差异,乙醚的沸点为34.5℃,乙酸乙酯的沸点为73.94℃,属于低毒性化学品,通过表3对比萃取剂成本,萃取溶剂1成本最低。综上,选择萃取剂1为最佳萃取剂。

表3 萃取溶剂成本对比
Table 3 Comparison of extraction solvent cost

萃取溶剂体系	单位成本 (元/L)	相对国标价格比率 (%)
萃取剂1 环己烷:正己烷:乙酸乙酯=1:2:2	46.6	27.6
萃取剂2 环己烷:正己烷:丙酮=2:2:1	137	81.1
国标萃取剂 环己烷:正己烷:乙醚=1:2:2	169	100

2.3 方法线性范围、检出限

如图6所示,叶黄素在0~30 μg/mL范围内线性关系良好,线性方程为 $y=174.31x-15.898$,相关系数 $R^2=1$ 。根据检出限为信噪比 $S/N=3$ 时的浓度,得到此方法的检出限为0.5 μg/mL。国标方法食品中叶黄素的检出限为3 μg/100 g,经公式(1)换算,检出限为0.012F μg/mL(F为校正系数,反式叶黄素峰面积

除以总峰面积所得值为校正系数, $0<F<1$),色谱条件相同,但检出限存在差异,推测其误差可能为HPLC仪器型号的不同,以及仪器在工作过程中产生的噪音不同。检出限不但与仪器噪音有关,还与样品在处理过程中的每一个环节有关。

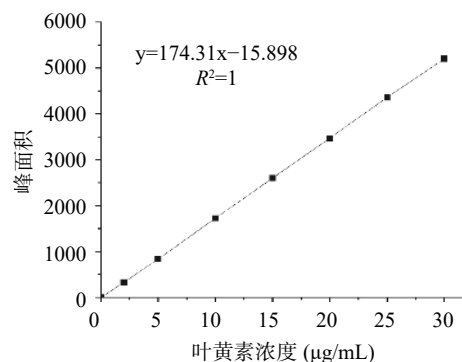


图6 叶黄素的标准曲线

Fig.6 Standard curve of lutein

2.4 方法回收率和精密度

如表4所示,用环己烷:正己烷:乙酸乙酯=1:2:2提取回收,叶黄素回收率为94.31%~103.83%,相对标准偏差均小于5%(1.78%~4.08%)。

表4 叶黄素加标回收和方法精密度结果
Table 4 Lutein spiked recovery and method precision results

编号	加入浓度 (μg/mL)	加入量 (mL)	测得浓度 (μg/mL)	回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
1	30.0	2.0	5.77	96.18	2.96
2	30.0	2.0	6.12	102.01	
3	30.0	2.0	5.98	99.72	
4	30.0	2.0	6.17	102.78	
5	60.0	2.0	11.99	99.91	1.78
6	60.0	2.0	12.08	100.63	
7	60.0	2.0	12.32	102.69	
8	60.0	2.0	12.46	103.83	
9	90.0	2.0	17.34	96.31	4.08
10	90.0	2.0	18.65	103.61	
11	90.0	2.0	16.97	98.00	
12	90.0	2.0	17.64	94.31	

3 结论

通过对烘焙食品中叶黄素酯的皂化条件进行研究,得到最佳皂化时间为3 h, KOH水溶液浓度为60 g/100 mL。此外,通过对比不同萃取溶剂的萃取效果显示,环己烷:正己烷:乙酸乙酯=1:2:2萃取效果较佳,单位萃取剂成本比国标降低了72.4%,该方法精密度的相对标准偏差均小于5%,回收率为94.31%~103.83%,表明该方法准确度较高。

参考文献

- [1] DANIELE Bobrowski Rodrigues, ADRIANA Zerlotti Mercadante, LILIAN Regina Barros Mariutti. Marigold carotenoids: Much more than lutein esters[J]. *Food Research International*, 2019, 119: 653-664.
- [2] EL SAYED M, ABDEL Aal, IWONA Rabalski. Composition of lutein ester regioisomers in marigold flower, dietary supplement,

- and herbal tea[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(44): 9740–9746.
- [3] FAUZIAH Tufail Ahmad, ROBERT E Asenstorfer, IMELDA R Soriano, et al. Effect of temperature on lutein esterification and lutein stability in wheat grain[J]. *Journal of Cereal Science*, 2013, 58(3): 408–413.
- [4] ELENA Mellado Ortega, SERGIO G Atienza, DÁMASO Hornero Méndez. Carotenoid evolution during postharvest storage of durum wheat (*Triticum turgidum* conv. durum) and tritordeum (*×Tritordeum Ascherson* et Graebner) grains[J]. *Journal of Cereal Science*, 2015, 62: 134–142.
- [5] 马娜, 付晓茜, 孙伟鹏, 等. 万寿菊花酚类物质及叶黄素的微波辅助盐析萃取[J]. *精细化工*, 2017, 34(10): 1139–1147. [MA Na, FU Xiaoqian, SUN Weipeng, et al. Microwave-assisted salting-out extraction of phenols and lutein from marigold flowers[J]. *Fine Chemicals*, 2017, 34(10): 1139–1147.]
- [6] MAHMOUD Khalil, JENS Raila, MOSTAFA Ali, et al. Stability and bioavailability of lutein ester supplements from *Tagetes* flower prepared under food processing conditions[J]. *Journal of Functional Foods*, 2012, 4(3): 602–610.
- [7] 宋幼良, 吴殿星, 钱国壬, 等. 叶黄素研究进展[J]. *农业科技通讯*, 2013(11): 138–140, 98. [SONG Youliang, WU Dianxing, QIAN Guoren, et al. Research progress of lutein[J]. *Bulletin of Agricultural Science and Technology*, 2013(11): 138–140, 98.]
- [8] 李大婧, 方桂珍, 刘春泉, 等. 叶黄素酯和叶黄素稳定性的研究[J]. *林产化学与工业*, 2007(1): 112–116. [LI Dajing, FANG Guizhen, LIU Chunquan, et al. Study on the stability of lutein esters and lutein[J]. *Chemistry and Industry of Forest Products*, 2007(1): 112–116.]
- [9] 李大婧, 刘志凌, 刘春泉. 叶黄素酯和叶黄素的光热降解动力学[J]. *江苏农业学报*, 2008(1): 97–98. [LI Dajing, LIU Zhiling, LIU Chunquan. The photothermal degradation kinetics of lutein esters and lutein[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2008(1): 97–98.]
- [10] ANA Augusta Odorissi Xavier, IRENE Carvajal Lerida, JUAN Garrido Fernandez, et al. *In vitro* bioaccessibility of lutein from cupcakes fortified with a water-soluble lutein esters formulation[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2018, 68: 60–64.
- [11] HIROKO Yoshizako, KATUNORI Hara, YASUYUKI Takai, et al. Comparison of macular pigment and serum lutein concentration changes between free lutein and lutein esters supplements in Japanese subjects[J]. *Acta Ophthalmol*, 2016, 94(6): e411–e416.
- [12] 张慧, 张美荣, 朱宏达. 天然高纯度叶黄素酯的功能和应用[J]. *中国食品添加剂*, 2008(S1): 246–248. [ZHANG Hui, ZHANG Meirong, ZHU Hongda. The function and application of natural high-purity lutein ester[J]. *China Food Additives*, 2008(S1): 246–248.]
- [13] 丁伟. 一种叶黄素酯曲奇及其制备方法: 中国, 112244059A [P]. 2021-01-22. [DING Wei. A lutein ester cookie and its preparation method: China, 112244059A [P]. 2021-01-22.]
- [14] 林晶莹. 一种叶黄素酯酸奶: 中国, CN111903762A [P]. 2020-11-10. [LIN Jingying. A lutein ester yogurt: China, CN111903762A [P]. 2020-11-10.]
- [15] 林晶莹, 丁伟, 范宇. 叶黄素酯蛋糕及其制作方法: 中国, CN111955513A [P]. 2020-11-20. [LIN Jingying, DING Wei, FAN Yu. Lutein ester cake and its making method: China, CN111955513A [P]. 2020-11-20.]
- [16] 刘玉冰. 瓶贴(蓝莓叶黄素酯压片糖果): 中国, CN306303609S [P]. 2021-01-29. [LIU Yubing. Bottle sticker (blueberry lutein ester pressed candy): China, CN306303609S [P]. 2021-01-29.]
- [17] 王彦博, 石燕, 唐慧安. 叶黄素的提取、功效和应用研究进展[J]. *中国酿造*, 2011(7): 1–5. [WANG Yanbo, SHI Yan, TANG Hui'an. Research progress on extraction, efficacy and application of lutein[J]. *China Brewing*, 2011(7): 1–5.]
- [18] 代刚, 苏记, 陈亚平, 等. 超声波提取万寿菊叶黄素酯的研究[J]. *云南化工*, 2010, 37(3): 39–41. [DAI Gang, SU Ji, CHEN Yaping, et al. Extraction of lutein ester from marigold by ultrasonic wave[J]. *Yunnan Chemical Industry*, 2010, 37(3): 39–41.]
- [19] 陈城, 程曦, 黄丛林, 等. 叶黄素的提取方法和功能研究进展[J]. *河北林业科技*, 2016(3): 71–75. [CHEN Cheng, CHENG Xi, HUANG Conglin, et al. Research progress on extraction methods and functions of lutein[J]. *The Journal of Hebei Forestry Science and Technology*, 2016(3): 71–75.]
- [20] 李冰, 刘小波, 张晓雪, 等. 亚临界流体萃取富集金盏花中叶黄素工艺优化[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(23): 129–135. [LI Bing, LIU Xiaobo, ZHANG Xiaoxue, et al. Optimization of subcritical fluid extraction and enrichment of lutein from marigolds[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(23): 129–135.]
- [21] 刘洪海, 杜平, 梁红兵, 等. 万寿菊花中叶黄素酯的提取及皂化工艺[J]. *中国食品添加剂*, 2009(4): 129–134. [LIU Honghai, DU Ping, LIANG Hongbing, et al. Extraction and saponification process of lutein esters from marigold flowers[J]. *China Food Additives*, 2009(4): 129–134.]
- [22] 马空军, 潘言亮, 张卫红, 等. 响应面试验优化万寿菊花中叶黄素酯皂化反应工艺[J]. *食品科学*, 2015, 36(12): 7–11. [MA Kongjun, PAN Yanliang, ZHANG Weihong, et al. Optimization of the saponification process of lutein esters in marigold flowers by response surface experiment[J]. *Food Science*, 2015, 36(12): 7–11.]
- [23] 王振, 韩鲁佳, 王唯涌. 万寿菊中叶黄素的提取皂化工艺[J]. *中国农业大学学报*, 2006(2): 31–34. [WANG Zhen, HAN Lujia, WANG Weiyong. The extraction and saponification process of lutein from marigold[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2006(2): 31–34.]
- [24] ABDEL-AAL El-Sayed M, YOUNG J Christopher, AKHTAR Humayoun, et al. Stability of lutein in wholegrain bakery products naturally high in lutein or fortified with free lutein[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(18): 10109–10117.
- [25] 马涛. 焙烤食品工艺 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 101–103. [MA Tao. Baking food technology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007: 101–103.]
- [26] ZOU Y Y, HUANG C H, PEI K H, et al. Cysteine alone or in combination with glycine simultaneously reduced the contents of ac-

- rylamide and hydroxymethylfurfural[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 63(1): 275-280.
- [27] 张志军, 张飞, 付强, 等. 高效液相色谱法测定不同类别食品中的叶黄素[J]. 广西大学学报(自然科学版), 2019, 44(3): 869-875. [ZHANG Zhijun, ZHANG Fei, FU Qiang, et al. Determination of lutein in different types of food by high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Guangxi University(Natural Science Edition)*, 2019, 44(3): 869-875.]
- [28] 中国卫生和计划生育委员会. GB 5009.248-2016 食品安全国家标准 食品中叶黄素的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [Chinese Health and Family Planning Commission. GB 5009.248-2016 National food safety standard Determination of lutein in food[S]. Beijing: China Standard Press, 2016.]
- [29] 孔凡华, 张一凡, 郭倩, 等. 食品中叶黄素、玉米黄质和 β -隐黄质同时检测方法的建立[J]. 食品工业科技, 2019, 40(11): 229-233, 40. [KONG Fanhua, ZHANG Yifan, GUO Qian, et al. Establishment of a simultaneous detection method for lutein, zeaxanthin and β -Cryptoxanthin in food[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(11): 229-233, 40.]
- [30] 代弟, 那晗, 方秋园, 等. 超高效液相色谱法检测方便面中叶黄素[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(9): 3044-3047. [DAI Di, NA Han, FANG Qiuyuan, et al. Determination of lutein in instant noodles by ultra performance liquid chromatography[J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2020, 11(9): 3044-3047.]
- [31] 丁晓倩. 棕榈油-柴油-乙醇微乳化燃料喷雾特性及发动机性能研究[D]. 西安: 长安大学, 2019. [DING Xiaoqian. Study of spray characteristics and engine performance of palm oil-diesel-ethanol micro-emulsions[D]. Xi'an: Chang'an University, 2019.]
- [32] HOUSSEM Boulebd. Comparative study of the radical scavenging behavior of ascorbic acid, BHT, BHA and Trolox: Experimental and theoretical study[J]. *Journal of Molecular Structure*, 2020, 1201: 127210.
- [33] ZOHREH Sattar, MILAD Iranshahy, MEHRDAD Iranshahi. Lutein is four times more stable in sunflower oil than olive oil at 40 degrees C[J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2019, 121(2).
- [34] ELENA Mellado-Ortega, DÁMASO Hornero-Méndez. Isolation and identification of lutein esters, including their regioisomers, in tritordeum($\times$ *Tritordeum Ascherson* et Graebner) grains: Evidence for a preferential xanthophyll acyltransferase activity[J]. *Food Chemistry*, 2012, 135(3).
- [35] 刘春菊, 谢晓叶, 李大婧, 等. 叶黄素酯在强化面包制作和贮藏中的稳定性[J]. 食品科学, 2016, 37(15): 77-82. [LIU Chunju, XIE Xiaoye, LI Dajing, et al. The stability of lutein esters in the production and storage of fortified bread[J]. *Food Science*, 2016, 37(15): 77-82.]
- [36] 李秀鑫, 吴红艳, 于晓丹, 等. 影响叶黄素稳定性的因素[J]. 食品工业, 2020, 41(10): 71-74. [LI Xiuxin, WU Hongyan, YU Xiaodan, et al. Factors affecting the stability of lutein[J]. *Food Industry*, 2020, 41(10): 71-74.]