

婴幼儿配方乳粉中维生素 K₁ 的检测

尹丽丽,薛霞,周禹君,郑红,王骏,祝建华*,刘艳明*

(山东省食品药品检验研究院,山东济南 250101)

摘要:研究了高效液相色谱法检测婴幼儿配方乳粉中维生素 K₁ 的关键技术。该方法利用脂肪酶降解试样中的不饱和脂肪酸,经碱皂化,采用正己烷提取,饱和氯化钠(含酚酞溶液)水洗至中性后,再进行浓缩处理,最后用甲醇进行复溶。以甲醇(含冰醋酸、氯化锌和无水乙酸钠)为流动相,通过反相 C₁₈ 色谱柱分离,锌粉还原柱后衍生,荧光检测器检测,外标法定量。实验结果表明:维生素 K₁ 在 0.2~5 μg/mL 范围内线性关系良好($r \geq 0.999$);添加浓度在 5~100 μg/100 g 时,平均回收率为 90%~110%;对三个不同含量的样品进行 6 次独立测定,其相对标准偏差均小于 5%;最低检出限为 1 μg/100 g。该方法操作简单,结果准确,重复性好,可为企业质量控制和政府监管提供有力的技术支持。

关键词:维生素 K₁,婴幼儿配方乳粉,高效液相色谱,柱后反应,荧光

The determination of vitamin K₁ in infant formula

YIN Li-li, XUE Xia, ZHOU Yu-jun, ZHENG Hong, WANG Jun, ZHU Jian-hua*, LIU Yan-ming*

(Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101, China)

Abstract: Key technology research was developed for the determination of vitamin K₁ in infant formula by high performance liquid chromatography (HPLC). The sample was enzymatic hydrolysis by lipase, saponified with alkali, and then extracted with hexane, washed with NaCl saturated solution (containing phenolphthalein solution), and finally, Vitamin K₁ was redissolved in methanol. The vitamin K₁ were separated on a symmetry C₁₈ column (connecting to the zinc reduction column), and detected with fluorescence detection by the mobile phases of methanol dissolving Zinc chloride, sodium acetate and glacial acetic acid. The result show that the linearity of vitamin K₁ was in the concentration ranges of 0.2 to 5 μg/mL, with the good correlation coefficients ($r \geq 0.999$). When the concentration of VK₁ was 5~100 μg/100 g, The average recoveries for the target compounds were between 90%~110%, 6 independent determinations of samples with different contents were carried out with RSD less than 5%. The limit of detection was 1 μg/100 g. The method was easy, accurate and highly reproducible, which could provide strong technical support for enterprise quality control and government regulation.

Key words: VK₁; infant formula; HPLC; post-column reduction; fluorescence

中图分类号: TS252.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)12-0238-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.12.042

引文格式: 尹丽丽,薛霞,周禹君,等. 婴幼儿配方乳粉中维生素 K₁ 的检测[J]. 食品工业科技, 2018, 39(12): 238-241, 249.

维生素 K₁ 又名叶绿基甲萘醌,是促进血液正常凝固及骨骼生长的重要维生素。维生素 K 是肝内合成凝血酶原的必需物质,维生素 K 缺乏时,可导致凝血机制障碍^[1]。经常流鼻血者、近期有严重灼伤或外伤者、正服用抗生素者和早产婴儿等都容易发生维生素 K 缺乏症。在临床上,已将维生素 K₁ 用于获得性维生素 K 依赖性凝血因子缺乏症^[2]、新生儿自然出血症^[3-4]等维生素 K 缺乏症的防治。研究表明,在婴幼儿配方乳粉中添加一定量的维生素 K₁,对于维生素 K 缺乏症有很好的预防作用。

维生素 K₁ 是一种脂溶性维生素,属于多环芳香酮,对热、氧、及水分作用稳定,但在碱性环境下,受

阳光照射会分解。

对于维生素 K₁ 的检测方法主要有毛细管电泳法^[5],分光光度法^[6],液相色谱-紫外检测器法^[7-11],液相色谱-柱后衍生法^[12-14]。其中毛细管电泳法和分光光度法检测步骤繁琐,且精密度不高;高效液相色谱紫外检测器法的灵敏度低;而文献[12-14]中使用高效液相色谱-柱后衍生-荧光检测器时,由于流动相中使用的二氯甲烷对反相色谱系统的脱气包具有强烈的腐蚀作用,对仪器损害较大;此外,国家标准^[15]中使用的四氢呋喃对人体危害较大。目前,国家标准^[15]中,婴幼儿配方乳粉中维生素 K₁ 检测的前处理过程是:用脂肪酶酶解,经碱皂化后,用有机溶

收稿日期: 2017-10-09

作者简介: 尹丽丽(1987-),大学本科,工程师,研究方向:食品安全分析与风险预警, E-mail: yinli_li@126.com。

* 通讯作者: 祝建华(1962-),硕士,研究员,研究方向:食品安全分析与风险预警, E-mail: zhujianhua9@sina.com。

刘艳明(1981-),博士,研究员,研究方向:食品安全分析与风险预警, E-mail: msymliu@163.com。

剂提取。在此过程中,由于维生素 K_1 在碱性环境中不稳定等原因,往往会导致目标物回收率低,检测结果精密差。

本文采用高效液相色谱-柱后衍生-荧光检测法对婴幼儿配方乳粉中维生素 K_1 的检测进行了系统性的研究。通过优化流动相条件,减少了对反相色谱系统的仪器损害,提高了方法的灵敏度和选择性;针对方法中的关键步骤-酶解、皂化和萃取进行了分析、总结和优化,使维生素 K_1 的检测方法更加稳定可靠。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

维生素 K_1 标准品 Dr.Ehrenstorfer 公司;脂肪酶(酶活力 ≥ 700 U/mg) sigma 公司;甲醇(色谱纯) 美国 Fisher 公司;symmetry C_{18} 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m) 美国 Waters 公司;锌粉还原柱(50 mm $\times$ 4.6 mm) 上海安谱实验科技股份有限公司;正己烷(色谱纯) 美国默克公司;酚酞、无水乙醇、氯化锌、乙酸钠(分析纯) 国药集团化学试剂有限公司;氯化钠(分析纯) 西陇化工股份有限公司;碳酸钾(优级纯) 天津市科密欧化学试剂有限公司;婴幼儿配方乳粉 超市购买某知名品牌。

Waters 2695 型高效液相色谱仪(配荧光检测器) 美国 Waters 公司;AB204-S 型电子天平 瑞士 Mettler Toledo 公司;SB-800DTD 型超声波清洗器 中国宁波新芝生物科技股份有限公司;3-18K 型冷冻离心机 德国 Sigma 公司;mini-Q 型超纯水制备器 美国 MILLIPORE 公司;HGC-24 型氮吹仪 中国 HENGAO 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液的配制

1.2.1.1 标准品溶液的校正 称取维生素 K_1 标准品 20.0 mg 于 10.00 mL 容量瓶中,用正己烷溶解并定容,配制成维生素 K_1 母液。取 200 μ L 维生素 K_1 母液至 25 mL 容量瓶中,用正己烷定容,配制成浓度约为 16 μ g/mL 的校正溶液,用紫外可见分光光度计在 248 nm 条件下校正(校正方法见文献[15])。

1.2.1.2 标准工作液的配制 精确移取经校正过的维生素 K_1 储备液,氮气吹干后,用甲醇溶解,配制成浓度为:0.2、0.5、1、2、5 μ g/mL 的标准工作液。

1.2.2 样品处理过程 准确称取乳粉试样 2.5 g(精确到 0.01 g),于 50 mL 离心管中,加入一定量的脂肪酶后,加入 10 mL(37 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C 温水溶解,涡旋 2~3 min 后,置于(37 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C 恒温水浴振荡器中振荡一定时间,使其充分酶解。取出酶解好的试样,加入 10 mL 无水乙醇,加入一定量的碱,充分混合均匀,进行皂化反应。加入 15 mL 正己烷,涡旋 5 min,进行萃取。5000 r/min 离心 3 min,取上清液至 50 mL 离心管,加入 10 mL 饱和氯化钠溶液和两滴 0.5% 酚酞乙醇溶液,涡旋 5 min,进行水洗。6000 r/min 离心 3 min,取上清液至 50 mL 离心管中,氮气吹干,准确加入 2.00 mL 甲醇复溶,过有机滤膜后,高效液相色谱仪进行测定。

1.2.3 高效液相色谱条件 symmetry C_{18} 色谱柱:

250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m; 锌还原柱:50 mm $\times$ 4.6 mm; 流速:1 mL/min; 检测波长:激发波长为 243 nm,发射波长为 430 nm; 进样量:10 μ L; 流动相:甲醇(含有冰乙酸 0.03%,氯化锌 1.5 g/L,无水乙酸钠 0.5 g/L)。

1.2.4 方法学考察

1.2.4.1 线性范围与检出限 将 1.2.1.2 配制的系列标准工作溶液进行液相色谱条件下测定,以维生素 K_1 峰面积为纵坐标,以标准工作溶液的浓度为横坐标,进行标准曲线的绘制。加标空白样品基质按照 1.2.2 样品前处理过程,在 1.2.3 液相色谱条件下进行测定,通过目标物的响应与背景噪音的比值计算维生素 K_1 的方法检出限。

1.2.4.2 精密度实验 对 32、72、115 μ g/100 g 三个不同含量的样品分别进行 6 次独立测定,计算精密度。

1.2.4.3 回收率实验 根据 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范 食品理化检验》的要求,结合实际检测样品中维生素 K_1 的含量,对空白样品进行 5、10、100 μ g/100 g 三个水平的加标测定,计算加标样品测定值与样品测定值之差,通过其差值与实际添加的目标物含量之间的比值计算回收率。

1.3 数据处理

通过与仪器配套的 Empower 3 工作站软件完成数据采集与处理。

2 结果与分析

本文对国家标准^[15]中的关键技术-酶解条件、皂化条件和萃取条件和流动相条件进行研究,经过优化并改进,维生素 K_1 的检测方法更加稳定、可靠。

2.1 酶解条件的选择

前处理过程中,首先用脂肪酶降解试样中的不饱和脂肪酸,在酶解过程中,酶的用量对目标物的提取有一定影响,本文比较了酶解时间和脂肪酶用量不同时,目标物的回收率与精密度。由表 1 可知,酶解 6 h 和 12 h(脂肪酶量为 0.8 g 条件下),对于目标物含量的测定,效果相当,但是由于前处理操作复杂,包括酶解、皂化、萃取、水洗等步骤,如果样品量少,可选择当天酶解 6 h,如果样品量多,当天酶解时间紧迫,建议选择酶解过夜 12 h;另一方面,不同脂肪酶量在酶解 12 h 的条件下,回收率无明显差异,但是酶量越小(即 0.2 g 和 0.4 g 酶量)时,后续的萃取步骤中液液两相分层越不明显,结果的精密度越差,当酶量较大(即 0.8 g 脂肪酶),后续的萃取步骤中液液两相分层明显,结果精密度好,故采用 0.8 g 脂肪酶酶解 12 h 的酶解条件。

2.2 皂化条件的选择

皂化反应中,碱的作用是使酶解后的脂肪生成脂肪酸盐,溶解于水相中,加入量的多少会直接影响回收率。加入量过少会使皂化反应不完全,萃取时不容易分层;过多则会和目标物维生素 K_1 反应,使最后的结果偏低;乙醇的作用是保护维生素 K_1 不参与反应,同时起到消泡促进分层的作用。本文对皂化条件中碱的种类及用量进行了考察,具体结果见表 2。由表 2 可知,皂化用碱若选择 NaOH 溶液

表1 酶解条件的比较

Table 1 Comparison of enzyme solution conditions

	酶解 2 h		酶解 6 h		酶解 12 h	
	回收率 R(%)	精密度 RSD(%)	回收率 R(%)	精密度 RSD(%)	回收率 R(%)	精密度 RSD(%)
酶量 0.2 g	/	/	/	/	87.0	15.0
酶量 0.4 g	/	/	/	/	81.1	9.8
酶量 0.8 g	81.6	11.1	90.1	4.5	92.3	2.1

表2 皂化条件的比较

Table 2 Comparison of saponification conditions

NaOH(10 mol/L,2 mL)		NaOH(10 mol/L,0.5 mL)		K ₂ CO ₃ (1.0 g)	
回收率 R(%)	精密度 RSD(%)	回收率 R(%)	精密度 RSD(%)	回收率 R(%)	精密度 RSD(%)
75.5	15	91.0	9.1	98.1	2.0

(10 mol/L,2 mL) 回收率低,精密度差,若选择 NaOH 溶液(10 mol/L,0.5 mL)时,精密度差。原因可能是由于两种 NaOH 溶液碱性太高,目标物与碱反应而被分解,故在此条件下不稳定存在;本文在皂化反应中使用 K₂CO₃ 固体,碱性相对低,目标物在此条件下稳定存在,因此具有较高的回收率和精密度。

2.3 萃取条件和水洗条件的比较

萃取是为把目标物维生素 K₁ 从皂化后溶液中萃取出来,也是进一步净化的过程。维生素 K₁ 是脂溶性维生素,故采用有机溶剂正己烷作为萃取溶剂。文章对于萃取次数进行了考察,发现萃取两次和萃取一次的测定结果基本一致,因此,从提高前处理效率的角度,建议萃取一次。

由于维生素 K₁ 对碱液不稳定,所以需要用水把萃取溶剂正己烷中可能携带的碱液洗掉。另外,水洗时加入饱和氯化钠,可防止液液分配过程的乳化。从表 3 中可以看出,增加水洗步骤,可明显提高目标物含量随时间变化的稳定性,但是水洗 2 次,目标物含量损失变大,因此,建议水洗一次。

表3 水洗对目标物含量稳定性的影响

Table 3 Effect of washing on stability of target content

水洗次数	0 次	1 次	2 次
立即测定(μg/100 g)	76.0	73.6	72.8
6 h 后测定(μg/100 g)	68.0	73.6	72.0
12 h 后测定(μg/100 g)	64.0	73.0	72.0

为了使有机相和水相分层明显,保证实验可重复性,水洗过程中需加入两滴酚酞溶液(0.5%)。加入酚酞是否影响目标物含量的测定结果见表 4。从表 4 中可以看出,加入酚酞不影响对目标物含量的测定。

表4 酚酞对目标物的影响

Table 4 Effect of phenolphthalein on target objects

酚酞量	2 滴	0 滴
含量(μg/100 g)	72.0	72.0

2.4 流动相条件的比较

目前,高效液相色谱-柱后衍生-荧光检测的检

测方法中通常流动相含有四氢呋喃或二氯甲烷。国家标准^[15]中流动相使用的四氢呋喃,四氢呋喃对身体危害较大;文献[12-14]中使用的流动相含有二氯甲烷,二氯甲烷对反相色谱系统的脱气包具有强烈的腐蚀性,长期大量使用会造成脱气包渗漏。本文比较了流动相中是否含有二氯甲烷对目标物分离效果的影响,具体谱图见图 1~图 4。图 1 和图 2 为使用流动相 A(甲醇中含有冰乙酸 0.03%,氯化锌 1.5 g/L,无水乙酸钠 0.5 g/L)条件下采集的色谱图。图 3 和图 4 为使用流动相 B(甲醇中含有二氯甲烷 10%,冰乙酸 0.03%,氯化锌 1.5 g/L,无水乙酸钠 0.5 g/L)条件下采集的色谱图。通过比较图 2 和图 4 发现,使用流动相 A(不含二氯甲烷溶液)进行色谱分析,峰型理想,分离效果相对更好。流动相中不含有二氯甲烷,减少了对仪器反相系统的损害,也减少了对身体的危害,故本文使用流动相条件 A。

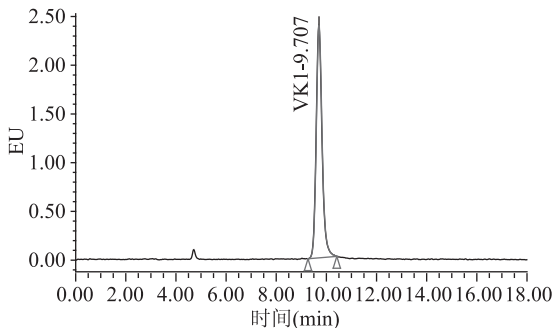


图1 使用流动相 A 条件下采集的标准品色谱图

Fig.1 Chromatogram of standard solution by using phase A

2.5 方法学考察

2.5.1 线性范围与检出限 标准工作溶液线性回归方程为:Y = 2.1E + 6X - 69808,线性相关系数 R² = 0.9995。本文采用加标空白样品基质中标样对应的响应与背景噪音的比值(S/N = 3 计算得到维生素 K₁ 的方法检出限为 1 μg/100 g。

2.5.2 精密度实验 由表 5 可见,三个样品的精密度均小于 5%,实验数据稳定,精密度较高。

2.5.3 回收率实验 由表 6 可知,空白样品进行三个水平的加标测定,回收率在 90%~110%之间。本方法

表5 精密度实验结果
Table 5 Results of precision experiment

编号	平行 1	平行 2	平行 3	平行 4	平行 5	平行 6	RSD(%)
1	31.6	30.4	30.8	30.2	30.0	31.9	2.5
2	66.0	66.7	67.1	66.9	67.5	68.0	1.0
3	105	106	108	106	107	105	1.1

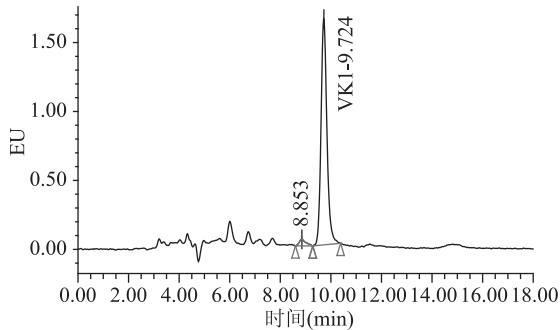


图2 使用流动相 A 条件下采集的样品的色谱图
Fig.2 Chromatogram of samples by using phase A

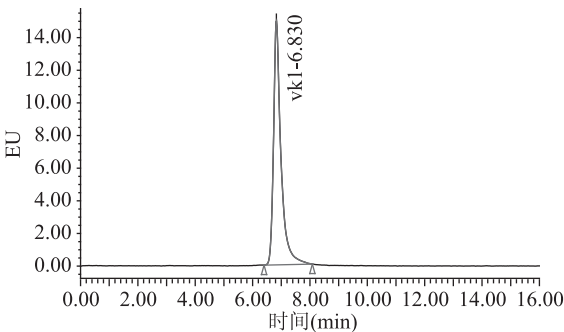


图3 使用流动相 B 条件下采集的标准品的色谱图
Fig.3 Chromatogram of standard solution by using phase B

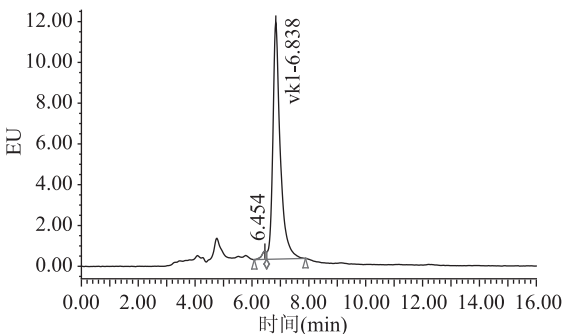


图4 使用流动相 B 条件下采集的样品的色谱图
Fig.4 Chromatogram of samples by using phase B

对乳粉质控样品 NIST SRM 1849a 样品进行检测,测定结果为 0.97 mg/kg,在标定值(1.06 ± 0.17 mg/kg)的偏差范围内。

3 结论

上述实验表明,影响乳粉中维生素 K₁ 测定的关键因素有:酶解条件、皂化条件、萃取条件和流动相条件。本文通过对关键因素的考察,确定了以下实验条件,包括酶解条件:酶解量 0.8 g,酶解时间 12 h;皂化条件:碳酸钾 1.0 g;萃取条件:正己烷萃取一次,饱和氯化钠水洗一次;流动相条件:甲醇(含有冰乙

表6 回收率实验结果
Table 6 Results of recovery

加标量 (μg/100 g)	平行 1 (%)	平行 2 (%)	平行 3 (%)
5	95.1	92.4	93.3
50	91.9	90.7	90.7
100	92.3	95.5	94.7

酸 0.03%,氯化锌 1.5 g/L,无水乙酸钠 0.5 g/L)。

综上所述,本文通过对方法中关键技术条件的优化,使维生素 K₁ 的检测方法操作简单、高效、准确度高,同时减少了对液相色谱仪-反相系统的损伤,降低了对检验人员身体的危害。本方法不仅可以为生产企业控制维生素 K₁ 的添加量、准确标示给予指导,还可以为科研机构积累、总结维生素 K₁ 含量范围及趋势提供技术支持。

参考文献

[1]王丽杰,孙莹.晚发性维生素 K 缺乏致颅内出血患儿的临床特征分析[J].中国医科大学学报,2014,43(10):946-949.

[2]席晓芳,朱继红.获得性维生素 K 依赖性凝血因子缺乏症的病因和治夕创探讨[J].中国医刊,2009,44(4):33-34.

[3]万国堂,苏桂华.口服维生素 K₁ 预防婴儿维生素 K 缺乏症的效果观察[J].中华儿童保健杂志 1995,3(4):245-246.

[4]Anewbornmerican Academy of Pediatrics Committee on Fetus and Newborn.Controversies concerning vitamin K and the newborn [J].Pediatrics,2003,112:191-192.

[5] Shiqing Songa, Xiaoming Zhanga, Khizar Hayat, et al. Contribution of beef base to aroma characteristics of beeflike process flavour assessed by descriptive sebsory analysis and gas chromatography olfactometry and partial least squares regression [J].Journal of Chromatography A,2010,1217(49):7788-7799.

[6]李向荣.绿色蔬菜中维生素 K₁ 的薄层_紫外分光光度法测定[J].中国公共卫生,1996,12(8):246.

[7]赵建国,耿聪,齐懿鸣.乳粉中维生素 K₁ 高效液相色谱测定方法的改进[J].分析测试技术与仪器,2005,11(4):311-313.

[8]聂西度.高效液相色谱法测定谷物中维生素 K₁ 的含量[J].食品研究与开发,2005,26(4):130-131.

[9]谭建华,席绍峰.高效液相色谱法测定化妆品中的维生素 K₁ [J].分析测试学报.2012,31(11):1451-1454.

[10]邓峰,周英田.高效液相色谱法对食品中维生素 K₁ 的定量测定[J].色谱,1996,14(3):233-234.

[11]郝岩平,刘波.乳品中维生素 K₁ 的测定[J].中国乳品工业,2003,31(1):30-31.

(下转第 249 页)

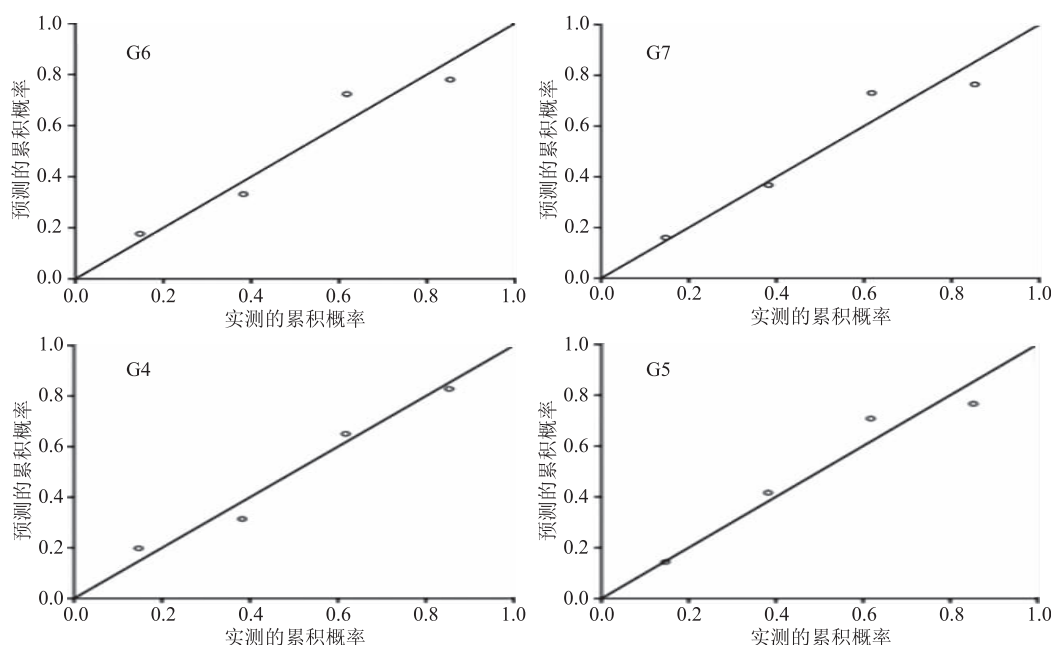


图6 电子鼻和GC-MS得到的挥发性物质实际值与预测值的PLS模型结果

Fig.6 PLS results for the actual and predicted responses of the content of volatile compounds based on E-nose and GC-MS datas

3 结论

通过对不同酒精度的成品酒进行电子鼻检测,结果表明电子鼻可以有效地区分以上酒种。PCA模型的得分在80~100之间被认为是比较好的,表明对样品能够很好的区分开来。DFA模型主要用来预测未知样品,结合使用PCA模型和DFA模型可以有效建立区分辨别不同种类的慕萨莱思。本文中建立基于电子鼻技术对慕萨莱思以及葡萄浓缩汁快速的区分鉴别方法是可行的。

通过主成分分析可知,慕萨莱思中醇类、酯类以及酸类物质是最主要的挥发性组成成分。此外还有酮类、醛类、酚类以及萜烯类等其他挥发性物质含量相对较低,但也共同参与构成慕萨莱思香气物质的感官特异性,对整体挥发性成分的贡献也非常重要。对慕萨莱思挥发性成分贡献较大的物质有苯乙醇、苯乙酸乙酯、己酸、丁二酸二乙酯等。

GC-MS的定量分析结果表明,不同种类的慕萨莱思均能引起葡萄酒中不同香气浓度的差异,从而引起慕萨莱思之间挥发性成分的差异,该差异能够被电子鼻识别区分。GC-MS与电子鼻数据结果建立的PLS模型决定系数均大于90.0%,具有很好的相关性。采用具有“模糊评价”属性的电子鼻技术结合具有“精准检测特性”的GC-MS分析方法可以对不同酒精度的慕萨莱思进行区分。

参考文献

[1] 廖肇羽.历史夹缝中的诗意和浪漫:多维视野下的刀郎文

(上接第241页)

[12] 铁晓威.高效液相色谱柱后衍生法测定食品中的VK₁[J].食品与发酵工业,2002,28(9):34-37.
[13] 姜瑞清.对GB 5413.10-2010中维生素K₁检测的改进研究.中国乳品工业,2011,39(9):50-52.

化[J].喀什师范学院学报,2007,28(4):47-52.

[2] 冯姝.新疆慕萨莱思酵母菌分离鉴定及优势菌遗传多样性分析[D].阿拉尔:塔里木大学,2013:1-2.
[3] 朱丽霞,甄文等.新疆慕萨莱思感官特性定量描述分析[J].食品科学,2013,34(1):38-44.
[4] 朱丽霞,侯旭杰.新疆穆萨莱思葡萄酒品质分析初探[J].酿酒科技,2008(6):68-71.
[5] 牛贵洋,包东东.慕萨莱思中功能成分含量的初步分析[J].中国新技术新产品,2014(22):6.
[6] 张雅茹,侯旭杰.不同厂家慕萨莱思葡萄酒香气成分的GC-MS分析[J].塔里木大学学报,2016(4):8-13.
[7] 糜川清,郭安鹊.感官分析及仪器分析在葡萄酒香气研究中的应用[J].食品科学,2012,33(23):351-355.
[8] 杜锋,雷鸣.电子鼻及其在食品工业的中应用[J].食品科学,2003,24(5):161-163.
[9] Sivalingam D, Bosco J, Rayappan B. Development of E-nose prototype for raw milk quality discrimination [J]. Milchwissenschaft - milk Science International 2012, 67 (4): 381-385.
[10] Haddi Z, Alami H, ElBari N, et al. Electronic nose and tongue combination for improved classification of Moroccan virgin olive oil profiles [J]. Food Research International. 2013, 54 (2): 1488-1498.
[11] 薛婷.电子鼻与GC-MS联用于不同烘烤度橡木片陈酿的葡萄酒的区分研究[D].上海:上海交通大学,2014:1-3.
[12] 李璐.电子鼻结合GC-MS对羊肉掺假鸭肉快速检测[D].咸阳:西北农林科技大学,2016:18-24.
[14] GB 5413.10-2010 婴幼儿食品和乳品中维生素K₁的测定[S].
[15] GB 5009.158-2016 食品安全国家标准 食品中维生素K₁的测定[S].